TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux....5
Liste des figures....6
Liste des annexes....7

Introduction....9

I- Les leptospires, agents de leptospirose....11
A- Historique....11
B- Bactériologie....12
1- Taxonomie....12
a- Place des leptospires dans la classification des espèces....12
b- Classification au sein du genre *Leptospira*....13
Classification phénotypique....13
Classification génotypique....14
Confrontation des deux classifications....14
2- Morphologie....16
a- Morphologie externe....16
b- Ultrastructure par microscopie électronique....17
L'enveloppe externe....18
Les flagelles....18
Le cylindre protoplasmique....19
c- Mécanismes et morphologie des leptospires en division....19
C- Biologie des leptospires....21
1-Génétique des leptospires....21
2- Métabolisme des leptospires....21
3- Culture des leptospires....22

4- Résistances des leptospires....23
D- Propriétés antigéniques , immunologiques et allergiques....23
1- Propriétés antigéniques....23
2- Propriétés immunologiques....24
3- Propriétés allergiques....25
E- Pathogénie....26
1- Conditions de l'infection....26
a- Origines du pouvoir pathogène....26
Mobilité des leptospires....26
Capacité invasive des leptospires....26
Caractères pathogènes de certains éléments constitutifs des leptospires....27
Substances pathogènes....28
b- Facteurs tenant à la sensibilité et à la réceptivité de l'hôte....28
2- Etapes de l'infection....29
a- Phase de contamination....30
b- Phase de dissémination....31
c- Phase de multiplication....32

II- Epidémiologie....33
A- Epidémiologie descriptive....33
1- Répartition géographique....33
2- Evolution dans le temps....35
B- Epidémiologie analytique....36
1- Sources et matières virulentes....36
a- Les organismes vivants....36
b- Matières virulentes....38
2-Contamination du milieu extérieur....39
3- Réceptivité et sensibilité des espèces....40
4- Transmission directe et indirecte....41
5- Voie de pénétration....42
C- Diffusion des leptospires....42

III- Clinique des leptospiroses..... 43
A- Symptomatologie..... 43
1- Forme suraiguë..... 43
2- Forme aiguë..... 44
3- Forme chronique..... 45
a- Avortement..... 45
b- Diminution de la fertilité..... 46
B- Aspect lésionnel..... 47
1- Lésions macroscopiques..... 47
a- Lésions générales..... 47
b- Lésions hépatiques..... 47
c- Lésions rénales..... 47
d- Lésions fœtales et placentaires..... 48
e- Autres lésions..... 48
2- Aspects histologiques..... 48
a- Histologie hépatique..... 48
b- Histologie rénale..... 49
C- Diagnostic..... 49
1- Diagnostic clinique..... 49
2- Diagnostic nécropsique..... 50
3- Diagnostic différentiel..... 50
4- Diagnostic de laboratoire..... 50
a- Mise en évidence de l'agent pathogène..... 51
Prélèvements..... 51
Microscopie..... 52
Mise en culture..... 53
Inoculation..... 54
Coloration en immunohistochimie..... 55
Détection de l'ADN..... 56
b- Diagnostic indirect..... 58

Non spécifique..... 58
Spécifique..... 59

IV- Moyens de lutte..... 67
A- Traitements..... 67
1- Traitements antibiotiques..... 67
2- Traitements symptomatiques..... 69
B- Prévention..... 70
1- Prophylaxie sanitaire..... 70
2- Prophylaxie médicale..... 71
a- Préparation vaccinale..... 71
b- Objectifs de la vaccination..... 73

V- Aspect zoonotique..... 77
A- Epidémiologie..... 77
B- Symptomatologie..... 78
1- Forme biphasique..... 78
2- Forme ictérohémorragique..... 79

C- Modalités de transmission..... 82
D- Maîtrise des risques..... 83
1- Lutte contre les réservoirs..... 83
2- Lutte contre les contaminations humaines..... 84
E- Surveillance des cas de leptospirose humaine..... 85

Conclusion..... 87

Bibliographie..... 89

Annexes..... 99

Liste des tableaux

Tableau 1 : Correspondance entre les génomospecies de *Leptospira* et les sérogroupe

Tableau 2 : Rapports des activités diagnostiques entre 1999 et 2005- G. André Fontaine et al.

Tableau 3 : Réservoirs des différents sérovars présents chez les animaux sauvages et les bovins

Tableau 4 : Valeurs des CMI de différents antibiotiques pour les sérovars *icterohaemorrhagiae* et *hardjo*

Tableau 5 : Présentations des vaccins les plus importants aux U.S.A. avec une protection contre le sérovar *hardjo*

Tableau 6 : Bilan des symptômes associés à un mauvais pronostic

Liste des figures

Figure 1 : Place de l'agent de la leptospirose au sein de l'ordre des *Spirochétales*

Figure 2 : Ultrastructure d'un leptospire d'après Greene, 1990

Figure 3 : Coupe de *leptospira interrogans* d'après Berche P. 1989

Figure 4 : mécanisme de division des leptospires

Figure 5 : Etapes de l'infection par les leptospires

Figure 6 : Modes de transmission de la leptospirose aux bovins

Figure 7 : Technique de laboratoire utilisable en fonction de l'évolution de la maladie

Listes des annexes

Annexe 1 : La leptospirose comme maladie professionnelle, tableau 5 du régime agricole

Annexe 2 : La leptospirose comme maladie professionnelle, tableau 19A du régime général

Rapport-Gratuit.com

INTRODUCTION

La leptospirose est due à des bactéries Gram- appartenant à l'ordre des spirochètes. Leur morphologie particulière, qui est à l'origine de leur nom, est responsable de leur grande mobilité.

Cette maladie dont l'agent a été isolé à la fin du XIXème siècle a été identifiée chez les bovins pour la première fois par Mikhin et Azinow. Il faut attendre les années 50 pour que des études révèlent la présence de foyers de leptospirose en France et notamment en zone charolaise et dans le Cher.

Chez les bovins, l'expression de la maladie est le plus souvent chronique. Il n'est pas rare d'ailleurs d'observer essentiellement des formes subcliniques. Cependant, la leptospirose est responsable de troubles de l'infertilité avec notamment des avortements mais aussi des chutes de production laitière souvent accompagnées d'épisodes de mammites. Le bilan de la leptospirose peut donc être très lourd sur un plan économique.

Il faut aussi noter que la leptospirose est une zoonose, classée parmi les maladies professionnelles.

La difficulté de diagnostic de la maladie couplée à son impact sur la santé animale aussi bien que sur la santé humaine nous à pousser à nous intéresser au statut actuel de cette maladie en France.

Nous avons commencé, tout d'abord, par étudier l'agent pathogène responsable de la leptospirose. Puis, après avoir traité de l'épidémiologie de la maladie, c'est l'aspect clinique qui nous a intéressé avec notamment l'étude des symptômes, des lésions et les différentes étapes de l'examen en vue d'établir le diagnostic. Ensuite, nous présenterons les traitements et les méthodes de prévention. Dans un dernier temps, l'accent sera mis sur les risques encourus par l'homme.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

I-LES LEPTOSPIRES, AGENTS DE LEPTOSPIROSE

A- Historique

A la fin du XIXème siècle, des descriptions font état d'entités cliniques associant ictère et insuffisance rénale aiguë chez des égoutiers [65]. Quelques années plus tard, en 1886, Adolf Weil identifie pour la première fois le syndrome caractérisé par un « ictère hémorragique essentiel » associant splénomégalie, ictère et néphrite [18]. Depuis bien longtemps cependant, en Chine et au Japon, existait une maladie qualifiée de « fièvre d'automne » présentant des symptômes analogues à ceux de la leptospirose. C'est ainsi que l'arrivée en Europe de l'Ouest au XIXème siècle de *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* peut être expliquée par la migration de populations de rats de l'espèce *Rattus norvegicus* en provenance d'Eurasie [65].

En 1907, Stimson par la méthode d'imprégnation argentique met en évidence pour la première fois des organismes spiralés aux extrémités munies de crochets qu'il nomme *Spirocheta interrogans*. Ce n'est qu'en 1916 qu'une équipe de scientifiques japonais dirigés par Inada et Ido isolent chez un cobaye infecté par le sang d'un malade des leptospires et leurs anticorps spécifiques et démontrent ainsi la transmissibilité expérimentale de la maladie [42].

Le rôle du rat dans l'infection de l'homme est démontré en 1917. Il faut attendre 1933 et les travaux de Klarenbeek pour mettre en évidence un premier agent de leptospirose chez les animaux domestiques : *Leptospira interrogans* serovar *canicola* chez le chien [65].

La mise en évidence de la leptospirose bovine se fera en 1937 avec la publication de NA Mikhin et SA Azinow. Selon [42], elle sera suivie par la découverte des formes porcines par Klarenbeek et Gsell et équines par Lurachenko et Novikova.

B- Bactériologie

1- Taxonomie

a- Place des leptospires dans la classification des espèces bactériennes

Les leptospires ont pendant longtemps été considérées comme des protozoaires avant d'être assimilés à la moitié du XXème siècle à des spirochètes, un groupe de bactéries qui a divergé très tôt au cours de l'histoire de l'évolution de ces organismes [29]. Les *Spirochétales* sont un ordre de bactéries se divisant lui-même en deux familles : les *Spirochaetaceae* et les *Leptospiraceae*. Au sein de la famille des *Spirochaetaceae*, se trouvent les genres *Treponema*, *Serpulina* et *Borrelia.* L'agent de la leptospirose, du genre *Leptospira,* appartient à la famille des *Leptospiraceae* (figure 1) [61].

Figure 1 : Place de l'agent de la leptospirose au sein de l'ordre des *Spirochétales* [61]

0100090000037800000002001c000000000040000000301080005000000b0200000000050000
000c02a402e304040000002e0118001c000000fb02100007000000000bc0200000000102022253797374656d0002e304000080c81100e172c73090c01c000c020000e3040000040000002d0100000400000002010100 1c000000fb02dfff000000000000900100000000440001254696d6573204e657720526f6d616e0000000000000000000000000000000000040000002d0101000500000009020000000020d000000320a1e0000000100040000000000e204a30220b20f00040000002d0100000300000000000

b- Classification au sein du genre *Leptospira*

Deux classifications ont été envisagées pour permettre de séparer de la façon la plus juste les organismes composants ce genre. Une première approche a consisté à réaliser une classification phénotypique, alors que dans un second temps, la classification s'est fondée sur des critères génotypiques.

Classification phénotypique

Cette classification repose tout d'abord sur des critères de pathogénicité. Une première distinction a permis de séparer une espèce pathogène, agent de la leptospirose chez l'homme et les animaux, *Leptospira interrogans* d'une espèce saprophyte, *Leptospira biflexa*, isolé de l'environnement. *L. biflexa* peut parfois éventuellement se retrouver chez l'homme ou chez les animaux mais elle n'est dans ce cas de figure qu'une souche commensale et donc non pathogène. La distinction entre ces deux espèces se fait sur deux critères :

-leur température de développement ; en effet, *L. biflexa* se développe à 13°C, alors que *L. interrogans* ne se développe pas à cette température.

-leur sensibilité à la 8-azaguanine à la concentration de 8 µg/ml : *L. biflexa* est résistante à la 8-azaguanine et *L. interrogans* y est sensible [78]. La 8-azaguanine est un analogue des bases purines présentant una activité antinéoplasique. Elle fonctionne comme un antimétabolite et est facilement incorporée au sein de l'ADN.

Il existe une très grande variabilité antigénique au sein du genre *Leptospira*. Pour permettre d'identifier et de classer les différents éléments dans ce genre. Des sérums immuns de lapin présentant un pouvoir agglutinant spécifique ont été utilisés pour séparer les différentes souches de leptospires. La réaction de base à l'origine de cette classification est la réaction d'agglutination-lyse de Martin et Petit [18]. Cette classification a permis la définition de sérovars, chaque sérovar correspondant à une entité possédant une unité antigénique. C'est ainsi que plus de 60 sérovars de *L. biflexa* et plus de 200 sérovars de *L. interrogans* ont été recensés. Cette liste des sérovars n'est d'ailleurs pas exhaustive puisque de nouveaux sérovars actuellement en cours d'identification devraient encore s'y rajouter [65].

Cependant, certains groupes de sérovars possèdent entre eux une communauté antigénique forte, ceci a permis de créer la notion de sérogroupes. Ainsi, actuellement, on compte pour l'espèce *L. interrogans* environ 25 sérogroupes. Ces sérogroupes n'ont pas de raison d'être sur un plan taxonomique mais ils possèdent un intérêt notamment sur un plan épidémiologique.

Classification génotypique

Depuis octobre 1987, une nouvelle classification a été instaurée. Des études d'hybridation ADN-ADN ont montré qu'il existait des relations phylogéniques entre les leptospires pathogènes. Sur

la base de ces hybridations, ont été créés des génomospecies. Au sein des génomospecies on peut trouver à la fois des sérovars issus à la fois de *Leptospira biflexa* et *interrogans*. De cette méthode d'hybridation, sont sortis dix génomospecies de *Leptospira*. Aujourd'hui, après analyse de centaine de souches par des chercheurs du CDC (Centers for Disease Control, Atlanta, U.S.A.) c'est seize génomospecies qui sont finalement répertoriés sans être pour autant tous confirmés pour le moment [65].

Confrontation des deux classifications

Comme expliqué précédemment, les sérovars d'un même sérogroupe peuvent se retrouver dans des génomospecies différents (tableau 1). Des études récentes ont même montrées sur la base de tests d'hybridation d'ADN une hétérogénéité d'appartenance à un génomospecies au sein d'un même sérovar [18]. La complexité de cette nouvelle classification a entraîné l'installation d'un statu quo caractérisé actuellement par la cohabitation des deux classifications. La classification phénotypique continue d'être employée par les cliniciens comme par les épidémiologistes car le classement des souches de leptospires en sérovars et en sérogroupes constitue un repère dans la symptomatologie et même dans l'analyse de la maladie. En effet, les propriétés antigéniques à l'origine de la classification phénotypique sont en lien direct avec l'expression clinique d'une souche donnée [61]. Cependant, la classification génotypique va supplanter à terme la classification phénotypique. En effet, elle repose sur des bases taxonomiques plus pertinentes que la classification sérologique. De plus, elle va permettre des avancées sur le plan diagnostique ; ainsi, cette nouvelle classification va notamment permettre de comparer les isolats avec des souches de référence.

La cohabitation des deux classifications ne manque pas d'entraîner des confusions. Ainsi les espèces *L. biflexa* et *L. interrogans* à la base du modèle phénotypique sont aussi des génomospecies dans le modèle génotypique. Il a donc été proposé de les différencier en employant la terminaison sensu lato (s.l.) pour citer ces souches dans le modèle phénotypique et sensu stricto (s.s.) pour les citer dans le modèle génotypique. Dans notre étude, nous utiliserons la classification phénotypique. Le cas échéant, le recours aux génomospecies de la classification génotypique sera précisé pour éviter les confusions.

Tableau 1 : Correspondance entre les génomospecies de *Leptospira* et les sérogroupes [65]

Génomospecies	Sérogroupes correspondants
L .interrogans	Icterohaemorrhagiæ, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin
L. noguchii	Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona
L. santarosai	Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri
L. meyeri	Ranarum, Semaranga, Sejroe, Mini, Javanica
L. wolbachii	Codice
L. biflexa	Semaranga, Andamana
L. fainei	Hurstbridge
L. borgpetersenii	Javanica, Ballum, Hebdo, Sejroe, Tarrassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis
L. kirschneri	Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola
L. weilii	Celledoni, Icterohaemorrhagiæ, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Manhao, Hebdomadis, Pyrogenes, Sejroe
L. inadai	Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica
L. parva	Turneria

2- Morphologie

a- Morphologie externe

Les leptospires sont des germes flexibles et hélicoïdaux. Ils sont les plus petits des spirochètes. Ils mesurent entre 6 à 20 µm de longueur pour 0,1 µm de diamètre. On retrouve d'ailleurs dans leur nom les locutions grecques « leptos » qui signifie mince et « spira » qui signifie spires [18].

La structure du germe comprend :

-un cylindre protoplasmique hélicoïdal d'une vingtaine à une trentaine de spires régulières et très serrées avec un pas d'hélice à droite. Ce cylindre est entouré par une membrane peptidoglucidique.

-une enveloppe externe qui va engainer tout le germe. Dans l'espace périplasmique du germe, c'est-à-dire entre l'enveloppe externe et la membrane peptidoglucidique du cylindre protoplasmique, on va trouver deux flagelles insérés par un corps basal à chacune des extrémités sub-terminales du cylindre protoplasmique. Les flagelles et le cylindre protoplasmique sont entrelacés sur 1/4 à 1/3 de la longueur du germe [59].

Les leptospires possèdent une enveloppe associant à la fois des caractéristiques des organismes à Gram+ et à Gram- ; cependant ils ne prennent pas la coloration Gram. L'examen direct de la bactérie au microscope va nécessiter un fond noir. Leur visualisation n'est réalisable qu'après imprégnation métallique (coloration argentique), ou après épaississement artificiel par immunoperoxydase ou immunofluorescence [10].

Le corps bactérien des leptospires est incurvé à ses deux extrémités pour former des crochets. Cette structure associée à l'hélice et aux deux flagelles permet une grande mobilité et notamment la réalisation de mouvements d'allongement, de raccourcissement ou enfin de translation [61].

b- Ultrastructure par microscopie électronique

L'étude de leptospires par microscopie électronique va permettre de mettre en évidence l'ultrastructure de ces organismes. A l'intérieur de l'enveloppe externe se trouvent les flagelles et le cylindre protoplasmique. Cependant, il faut préciser que l'ultrastructure observée *in vitro* peut différer de celles de germes pathogènes retrouvés *in vivo*. En effet, les méthodes de préparation du matériel pour microscopie électronique peuvent modifier la structure des souches. Ainsi, par exemple, la structure de souches *hardjo* sauvages différent de celle des souches cultivées en laboratoire par la présence d'inclusions absentes chez les souches cultivées en laboratoire. Cette différence serait due aux conditions de culture en laboratoire. La perte de virulence des souches cultivées en laboratoire pourrait ainsi être expliqué par l'absence de ces inclusions [59]. Dans la figure 2, on peut observer l'ultrastructure d'un leptospire.

Figure 2 : Ultrastructure d'un leptospire [53]

Rapport-Gratuit.com

L'enveloppe externe

Cette enveloppe a une structure trilamellaire. La couche superficielle est dense aux électrons et forme ainsi une ligne sombre, plus ou moins continue. Suivant le traitement utilisé pour colorer la préparation, on peut éventuellement compter jusqu'à cinq couches à cette membrane. L'enveloppe qui engaine totalement le cylindre protoplasmique et les flagelles est souple mais assez peu résistante Elle a une épaisseur de 11 nm [24]. L'enveloppe externe du leptospire a un rôle encore mal connu, elle est cependant indispensable car son absence entraîne la mort du germe.

La composition de l'enveloppe externe en liposaccharides est voisine de la composition de l'enveloppe externe des bactéries Gram-.

Les flagelles

Appelés aussi filaments axiaux, ils sont à l'origine des mouvements de contraction et de rotation du leptospire. Les deux extrémités libres sont orientées vers la partie médiane de l'organisme mais ne se chevauchent pas. Ainsi une coupe transversale réalisée dans la zone médiale ne va pas mettre en évidence de flagelles car l'organisme sur un segment compris entre le tiers et la moitié de sa longueur n'est pas muni de ces filaments (Figure 3).

Figure 3 : Coupe schématique de *Leptospira interrogans* d'après [27]

0100090000037800000002001c000000000040000000301080005000000b0200000000050000
000c02a402e304040000002e0118001c000000fb021000070000000000bc0200000000102022253797374656d0002e304000080c81100e172c73090c01c000c020000e3040000040000002d0100000400000002010100 1c000000fb02dfff000000000000900100000000440001254696d6573204e657720526f6d616e0000000000000000000000000000000000000040000002d0101000500000009020000000020d000000320a1e0000000100040000000000e204a30220b20f00040000002d0100000300000000000

Il est à noter que ce sont les antigènes portés par les filaments axiaux qui sont les premiers éléments constitutifs des germes à réagir avec des anticorps IgG et IgM sélectionnés de lapin

[36].

Le cylindre protoplasmique

Ce cylindre est hélicoïdal et est entouré par une membrane peptidoglucidique. Le cylindre comprend deux chromosomes circulaires de taille inégale (4 500 kb et 350 kb) [18]. La membrane est de structure trilamellaire avec une couche la plus externe aussi large que la couche interne. Cette couche peptidoglucidique apparaît mince, sombre et dense aux électrons [59]. L'épaisseur de la membrane peptidoglucidique est de 7 nm [24].

c- Mécanismes et morphologie des leptospires en division (figure 4)

La division des leptospires se fait de façon transversale. Au microscope classique, on peut observer que les germes sont agités à cette période de mouvements vigoureux. Au microscope électronique, la première étape est constituée par l'apparition de deux courts flagelles insérés l'un près de l'autre en zone médiane. Chacun de ces flagelles pointe en direction des extrémités subterminales de la cellule et du filament axial correspondant. La membrane peptidoglucidique s'invagine alors ensuite entre les deux filaments nouvellement formés créant ainsi deux nouveaux cylindres protoplasmiques dans la même enveloppe externe. La dernière étape est caractérisée par l'invagination de l'enveloppe externe et qui permet alors la séparation des deux nouveaux organismes formés [59].

Figure 4 : Mécanisme de division des leptospires

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

0100090000037800000002001c0000000000040000000301080005000000b02000000000
50000000c02a402e304040000002e0118001c000000fb02100007000000000bc020000000
0010202225379737465 6d0002e304000080c81100e172c73090c01c000c020000e30400000
40000002d0100000400000002010100 1c000000fb02dfff0000000000009001000000000440
001254696d6573204e657720526f6d616e0000000000000000000000000000000040000
002d0101000500000009020000000 20d000000320a1e0000000100040000000000e204a302
20b20f00040000002d010000030000000000
0100090000037800000002001c0000000000040000000301080005000000b02000000000
50000000c02a402e304040000002e0118001c000000fb02100007000000000bc020000000
0010202225379737465 6d0002e304000080c81100e172c73090c01c000c020000e30400000
40000002d0100000400000002010100 1c000000fb02dfff0000000000009001000000000440
001254696d6573204e657720526f6d616e0000000000000000000000000000000040000
002d0101000500000009020000000 20d000000320a1e0000000100040000000000e204a302
20b20f00040000002d010000030000000000
0100090000037800000002001c0000000000040000000301080005000000b02000000000
50000000c02a402e304040000002e0118001c000000fb02100007000000000bc020000000
0010202225379737465 6d0002e304000080c81100e172c73090c01c000c020000e30400000
40000002d0100000400000002010100 1c000000fb02dfff0000000000009001000000000440
001254696d6573204e657720526f6d616e0000000000000000000000000000000040000
002d0101000500000009020000000 20d000000320a1e0000000100040000000000e204a302
20b20f00040000002d010000030000000000

C- Biologie des leptospires

1-Génétique des leptospires

Les leptospires sont assez proches sur un plan phylogénique des autres spirochètes. Ces bactéries possèdent un génome d'environ 5 000 kb répartis en deux chromosomes. Le plus grand compte 4 500 kb et le plus petit en compte 350. Les leptospires ne possèdent pas de plasmides répertoriés jusqu'alors. Des cartes génétiques ont été réalisées pour les sérovars *pomona* et *icterohaemorrhagiæ*.

Cependant, l'étude du génome des leptospires a été ralentie en l'absence de vecteurs navettes efficaces. Ce n'est plus le cas aujourd'hui car un bactériophage LE1 a été mis au point et va sûrement permettre de réaliser des avancées dans la compréhension des leptospires au niveau moléculaire [65].

2- Métabolisme des leptospires

Les leptospires nécessitent des conditions particulières pour pouvoir se développer. Ces organismes sont tout d'abord aérobies stricts. Sur un plan énergétique, ce sont de bactéries chimio-organotrophes qui n'ont comme source d'énergie et de carbone que les acides gras à longue chaîne. Ces longues chaînes d'acide gras sont métabolisées par β-oxydation [65]. Les sucres tels que les hydrates de carbone et les acides aminés ne sont pas indispensables à leur métabolisme. Les apports azotés ne se font que par l'ion ammonium. Un apport vitaminique (vitamine B1 et B12) ainsi que de fer ferreux est nécessaire en tant que facteurs de croissance [27].

En ce qui concerne l'activité enzymatique de ces bactéries, elles sont à la fois oxydase et catalase positive. Il existe une activité lipasique chez *L. biflexa* alors que celle-ci est faible à absente chez *L .interrogans* [61].

3- Culture des leptospires

Les leptospires sont les spirochètes les plus faciles à cultiver. Cependant, les souches pathogènes sont moins évidentes à mettre en évidence et il faut souvent compter plusieurs semaines avant de pouvoir isoler des souches. Par exemple, il faut jusqu'à 8 semaines d'incubation pour isoler le sérovar *hardjo* [37].

Des conditions doivent être rassemblées pour permettre la croissance des leptospires [10] :

un pH compris entre 6,8 et 7,4 ; une protection vis-à-vis de la lumière ; une source d'azote fournie par l'ion ammonium et une source d'énergie et de carbone fournie par des acides gras à longue chaîne ; une température comprise entre 28 et 30°C.

Les premières cultures de leptospires ont été réalisées sur du sérum de lapin par Ellinghausen et Johnson. L'intérêt de l'albumine a rapidement été démontré et a ainsi ouvert la voie à la préparation de milieux semi synthétiques à base de sérumalbumine bovine. Les acides gras à longue chaîne, nécessaires à la croissance des bactéries, sont apportés par l'hydrolyse des esters de Tween 80. Cependant l'hydrolyse de ces esters libère des acides gras à activité toxique. Cet effet toxique est neutralisé par l'apport de l'albumine qui fournit un substrat non toxique. L'association de Tween 80-albumine complémenté en vitamines et en fer ferreux constitue le milieu d'Ellinghausen et Mac Cullough (milieu EM) mis au point en 1965 [37].

Actuellement, le milieu le plus utilisé par les laboratoires est le milieu EMJH (Ellinghausen, Mac Cullough codifié par Johnson et Harris en 1967) qui correspond à une modification du milieu EM.

Il est enfin nécessaire d'ajouter aux milieux EM et EMJH des substances qui vont permettre d'éviter la croissance de contaminants en même temps que les leptospires. Il est possible d'ajouter des antibiotiques tels que la néomycine, la polymyxine B, la rifampicine ou encore la vancomycine. Un autre moyen de lutte contre la prolifération des contaminants est l'ajout de 5-fluorouracile. En effet, les leptospires n'incorporent que les bases puriques. L'adjonction du 5-fluorouracile qui inhibe la croissance des bactéries pyrimidinodépendantes permet donc la sélection des souches de leptospires [18].

4- Résistance des leptospires

Les leptospires possèdent un caractère de résistance très paradoxale. En effet, le facteur déterminant de la culture des leptospires est sans aucun doute le pH. Ce pH optimal est compris entre 6,8 et 7,4. Les leptospires tolèrent d'ailleurs beaucoup mieux les milieux alcalins qu'acides. C'est ainsi que suivant le pH, les produits biologiques contaminés auront un rôle épidémiologique variable. Par exemple, les espèces à urine acide telles que le chien auront une efficacité épidémiologique plus limitée que celles à urine plutôt basique telles que les rongeurs [18]. Il en est de même pour les produits biologiques contaminés qui subissent une acidification rapide et brutale tels que la viande et le lait. Dans ces circonstances, les leptospires présents sont rapidement inactivés. La température va aussi constituer un paramètre essentiel dans le développement des bactéries. Ainsi si une température de 20°C constitue une température optimale, les températures qui sont proches de zéro sont néfastes et une température de -20°C est fatale aux leptospires [6].

Par ailleurs les leptospires sont aussi très sensibles aux ultraviolets ainsi qu'aux températures négatives. Cette sensibilité élevée aux conditions de pH, de température, d'éclairement rend ainsi la bactérie fragile. Cependant, dans des conditions particulières telles qu'un milieu aqueux légèrement alcalin, il est possible d'observer une forte résistance des leptospires. Ainsi, on peut retrouver des souches de leptospires actives dans ces milieux après plusieurs mois voire plusieurs années [18]. Le sol humide est ainsi un bon milieu de contamination. Il a été démontré que dans des conditions de pH et de température favorables, les leptospires pouvaient persister jusqu'à 43 jours dans l'environnement [27].

D- Propriétés antigéniques, immunologiques et allergiques

1- Propriétés antigéniques

Le caractère antigénique des leptospires est porté par différents constituants de la bactérie.

En premier lieu, un des éléments majeurs porteurs d'antigènes est le LLS (lipopolyoside-like-substance). C'est un ensemble d'antigènes lipopolysaccharidiques qui forme une partie de

l'enveloppe du leptospire. Sa constitution est proche du LPS (LipoPolySaccharide) des bactéries à Gram- mais sans posséder cependant la même activité endotoxinique [78].

Une autre différence, qui permet de distinguer l'antigénicité du LLS et celle du LPS, est l'utilisation d'un récepteur différent pour l'activation des macrophages. En effet, par le biais du LLS, les macrophages sont activés par les Toll-Like Receptor 2 (TLR2) alors que dans le cas des bactéries Gram- possédant un LPS conventionnel, l'activation des macrophages se fera par l'intermédiaire d'un Toll-Like Receptor 4 (TLR4)[29].

Les déterminants antigéniques présents sur l'enveloppe externe des bactéries au sein du LLS, par l'utilisation d'anticorps monoclonaux vont permettre d'établir la classification par sérovar. Ainsi les anticorps à action agglutinante produits contre les déterminants antigéniques du LLS sont spécifiques d'un sérovar, au mieux d'un sérogroupe. Cependant la spécificité de la réaction immunitaire est surtout décrite contre les antigènes du LLS et il a été mentionné des anticorps produits par d'autres déterminants antigéniques possédant une activité immunogène beaucoup plus large.

Ces autres déterminants antigéniques évoqués ci-dessus sont tout d'abord des antigènes nommés antigènes H, protéiques issus des flagelles. Il existe aussi d'autres déterminants antigéniques issus de l'enveloppe externe dont l'origine précise est encore inconnue aujourd'hui mais qui n'appartiennent pas au LLS. Ces antigènes vont jouer un rôle important dans la réaction d'agglutination-lyse [27].

Les déterminants antigéniques, quelle que soit leur origine, possèdent donc une activité immunogène importante. Cependant, il est à noter que les leptospires pathogènes peuvent présenter une instabilité antigénique [59].

2- Propriétés immunologiques

Dans la majeure partie des études, la réaction immunitaire entraînée par la présentation des déterminants antigéniques est décrite comme essentiellement à médiation humorale. Notamment, les lipopolysaccharides du LLS évoqués plus tôt sont les immunogènes majeurs au cours de l'infection chez l'homme. De plus, ils sont en mesure d'induire une protection de courte durée

chez le hamster [65].

La réaction immunitaire à médiation humorale est caractérisée par deux vagues successives d'anticorps. La première est composée d'IgM (Immunoglobulines M) qui arrêtent la prolifération des leptospires sans cependant détruire les populations bactériennes présentes. La deuxième vague est composée d'IgG qui sont à l'origine d'une réponse immunitaire plus spécifique qui détruisent les leptospires présents [61].

La réaction immunitaire fait d'ailleurs partie intégrante de la pathogénie de la leptospirose puisque, après une phase de bactériémie correspondant au stade aigu de la maladie, succéde une phase immune avec l'apparition d'anticorps dans le flux sanguin. Cette phase immune, malgré l'absence de lésions histopathologiques visibles, peut souvent s'avérer extrêmement grave. D'ailleurs, la quantité d'immun complexes circulants va être directement corrélée au degré de sévérité de l'affection [65]. Cependant, l'intensité de la réaction immunitaire n'est pas liée à son efficacité, c'est-à-dire à l'élimination de la bactérie. En effet, il existe des sites d'échappement à la réaction immunitaire tels que les yeux, le système nerveux central ou les organes génitaux.

Une composante cellulaire dans la réaction immunitaire a été évoquée, à l'origine de phénomènes de sensibilisation cellulaire aux conséquences très mal connues encore pour le moment [18].

3- Propriétés allergiques

Un allergène appelé leptospirine a été utilisé, à l'origine sur des porcins, en test intradermique dans le but de diagnostiquer la leptospirose. Des études comparées sur des populations humaines, porcines et bovines, équines et canines ont permis de mettre en évidence une corrélation entre la réaction sérologique positive à la leptospirose et un test intradermique positif. Le test intradermique positif est objectivé par un érythème au point d'inoculation [59].

Cependant, des anticorps peuvent être retrouvés dans le sang suite à l'injection de l'allergène par voie intradermique et ceci jusqu'à 6 à 8 semaines après la réalisation du test intradermique. Ceci va entraîner le risque d'apparition de faux-positifs si le test est répété moins de huit semaines après un test antérieur. De plus, le test intradermique pourra se positiver même en présence de souches de leptospires saprophytes telles que *L. biflexa*. Pour ces raisons, le test intradermique

n’est pas utilisé pour diagnostiquer une infection par la leptospirose [59].

E- Pathogénie

1- Conditions de l’infection

a- Origines du pouvoir pathogène

Il est à noter tout d’abord qu’il est difficile d’évaluer la pathogénie réelle *in vivo* d’une souche de leptospire. En effet, la virulence d’une souche se perd lors de cultures *in vitro.* Le passage sur des animaux sensibles est alors nécessaire pour pouvoir conserver ce pouvoir pathogène [78].

Mobilité des leptospires

L’extrême mobilité des leptospires est un des éléments de leur pouvoir pathogène. Cette mobilité, qui correspond à la capacité à se développer dans des milieux de densité élevée, est aussi caractérisée par la possibilité de traverser les membranes biologiques. C’est ainsi que les leptospires sont doués de propriétés invasives [78]. Cette mobilité est dite « en tire-bouchon » : elle leur permet de se mouvoir au niveau du point d’entrée sans créer de dégâts et de réaction inflammatoire. Leur détection à l’entrée est donc très difficile [27]. Elle leur permet d’échapper au système immunitaire non spécifique de l’hôte représenté et notamment les monocytes [18].

L’étude du génome des leptospires a notamment montré cette importance de la mobilité, en effet, pour le génome des leptospires compte 4 768 gènes répertoriés et parmi ceux-ci, au moins cinquante sont dévolus au mouvement de la bactérie [29].

Capacité invasive des leptospires

La pathogénicité des leptospires est aussi expliquée par leur capacité de pénétration membranaire ainsi que leur propriété d’adhérence. Ainsi, chez le hamster les leptospires vont se comporter comme des pathogènes extracellulaires mais il va cependant être possible de les retrouver dans des cellules et notamment dans des cellules myocardiques. Ces observations ont été faites aussi

bien *in vivo* qu'*in vitro.* Il a été démontré *in vitro* que cette capacité invasive ainsi que l'adhérence est directement liée au pouvoir pathogène de la souche [78].

C'est ainsi que l'on va trouver à la surface de souches pathogènes telles que *L. interrogans serovar icterohaemorrhagiæ,* une protéine qui va se lier spécifiquement à la fibronectine. Cette protéine est absente de la surface des souches non pathogènes. Cette protéine d'attache est suspectée d'avoir un rôle dans l'adhésion initiale et dans le passage cutané ou muqueux [29].

Caractère pathogène de certains éléments constitutifs des leptospires

Bien que le LLS des leptospires ne possède pas l'activité endotoxinique du LPS des bactéries Gram- conventionnelles, il possède une activité pathogène et ceci aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Cette activité est notamment marquée par l'induction de la production de TNFα (Tumor Necrosis factor) par les monocytes ainsi que l'apoptose des hépatocytes [18].

Cependant, le LLS n'est pas le seul élément constitutif responsable du pouvoir pathogène des leptospires. Des protéines membranaires vont intervenir et notamment des porines telles que les OMP_1 (Outer Membrane Protein). Ces porines font partie des éléments constitutifs des leptospires retrouvés dans la lumière de tubules rénaux et ce, jusqu'à 28 jours après l'infection. On peut alors suspecter le rôle de ces porines dans l'induction et le maintien des néphrites interstitielles leptospirosiques [25].

Parmi ces éléments constitutifs présentant une activité pathogène, on retrouve également des phospholipases. C'est le cas des hémolysines telles que l'Haemolysis-associated protein-1 (HAP_1) ou des sphingomyélinases, telles que les sphingomyélinases C du sérovar *hardjo* dont le gène *sphA* a été cloné et séquencé [89]. Ces phospholipases sont actives sur les membranes cellulaires et vont ainsi expliquer les lyses cellulaires et notamment celle d'hépatocytes, des cellules endothéliales ou des cellules sanguines (globules rouges et plaquettes). Il apparaîtrait que seules les souches pathogènes présentent un chimiotactisme pour l'hémoglobine [108]. Cependant le rôle de ces hémolysines n'est pas encore bien défini.

Rapport-Gratuit.com

Substances pathogènes

L'examen anatomopathologique des organes d'animaux infectés par la leptospirose a montré la disparité entre les graves troubles fonctionnels et la discrétion des lésions histologiques. C'est ainsi que l'hypothèse de l'existence d'une toxine et notamment une endotoxine relarguée lors de la lyse des leptospires pourrait expliquer les symptômes [27]. Des publications appuient l'hypothèse du rôle des toxines ou d'enzymes produites par les leptospires dans leur pathogénicité [64]. Cependant, il n'a pas encore été montré de façon expérimentale que ces substances interviendraient dans le caractère pathogène des leptospires.

b- Facteurs tenant à la sensibilité et à la réceptivité de l'hôte

Il est tout d'abord important de noter que, selon l'espèce touchée par la leptospirose, l'expression des symptômes sera diverse. Ainsi, chez l'homme et le chien, l'expression sera le plus souvent aiguë alors que les formes subaiguës à chroniques prédominent chez les ruminants et les porcins notamment.

A l'intérieur d'une même espèce, comme les bovins, on peut aussi souligner une variabilité de réaction de l'hôte à l'infection par les leptospires. La variation de la réaction de l'hôte à l'infection peut ainsi être expliquée par :

-Le statut de l'animal : les animaux possédant un système immunitaire « naïf » vis-à-vis de la leptospirose tels que les animaux nouvellement introduits ou encore les primipares seront beaucoup plus sensibles à l'infection, de même que les animaux immunodéprimés tels que les animaux atteints par exemple par la rhinotrachéite bovine infectieuse (IBR) ou par la diarrhée virale bovine (BVD) [18].

-L'état vaccinal : en France, il n'existe actuellement pas de vaccin contre les leptospires possédant une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) française. Mais des pays comme les Etats-Unis, les Pays-Bas, le Royaume-Uni, l'Espagne, le Portugal ou encore l'Italie utilisent la vaccination à grande échelle. La vaccination peut interférer sur le développement et les conséquences de l'infection. En effet, un protocole vaccinal correctement appliqué permet

l'apparition d'anticorps qui agglutinent la souche infectieuse. Cependant, les antécédents vaccinaux ne permettent pas d'exclure une leptospirose car les préparations vaccinales actuellement mises sur le marché ne permettent d'induire une protection qu'uniquement vis-à-vis d'un sérogroupe [27].

-La réaction immunitaire de l'hôte : il semble que l'expression des symptômes est en partie dépendante de l'intensité de la réaction immunitaire. En effet, une réaction immunitaire déficiente entraînera généralement l'apparition de signes cliniques sévères. A l'inverse, en cas d'emballement de la réaction immunitaire, l'organisme de l'hôte peut entraîner des phénomènes d'auto-immunité avec notamment la formation de complexes immuns à l'origine de symptômes tels que la méningite d'origine leptospirosique [18, 29].

L'expression de la leptospirose est donc dépendante à la fois du caractère pathogénique de la souche infectieuse mais aussi de la réaction de l'hôte à l'infection.

2- Etapes de l'infection

L'infection par les leptospires se fait en plusieurs étapes (figure 5). Tout d'abord, l'infection commence par une phase de contamination au cours de laquelle les bactéries infectantes vont pénétrer dans l'organisme. Dans un second temps, les leptospires vont passer dans le compartiment vasculaire où ils vont se multiplier et entamer leur migration. Enfin, a lieu une phase de multiplication pendant laquelle les bactéries qui se sont rendues dans les organes cibles (foie, reins) vont se multiplier et éventuellement pouvoir être excrétées dans le milieu extérieur [65].

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

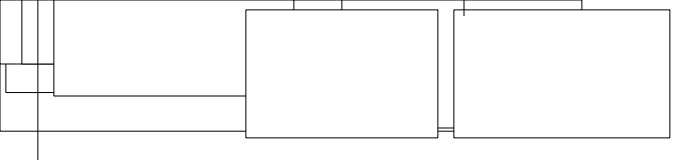

Figure 5 : Etapes de l'infection par les leptospires [61]

JOUR 0

JOUR 4

JOUR 7

JOUR 14

a<u>Phase de contamination</u>

a Phase de contamination

La transmission des leptospires se fait essentiellement par contact avec un milieu aqueux contaminé. Le passage des leptospires se fait :

-après passage de muqueuses, même saines [11] : buccale, nasale …

-après passage de peau présentant des excoriations ou des plaies,

-au travers de la peau saine si cette dernière est en contact suffisamment longtemps avec un environnement humide contaminé.

- par voie trans-placentaire,

- par voie vénérienne,

Une fois entrés dans l'organisme, les leptospires vont migrer vers le compartiment sanguin avant d'entrer dans la phase de multiplication.

bPhase de dissémination

La phase de leptospirémie peut durer de 4 à 12 jours et correspond à l'incubation de la maladie. Au cours de cette phase, les bactéries se disséminent dans le sang. C'est ainsi que, lorsque les signes cliniques commencent à se manifester, on trouve des bactéries partout dans l'organisme.

Les lésions anatomopathologiques seraient la conséquence d'une vascularite généralisée. Cette atteinte de l'endothélium vasculaire va entraîner une augmentation de la perméabilité vasculaire et une diminution de l'oxygénation des tissus. Mais la gravité des symptômes n'est d'ailleurs pas corrélée à l'importance des lésions. Une hypothèse propose que les symptômes soient la conséquence de l'action d'une endotoxine libérée lors de la lyse des bactéries. Il n'existe cependant pas de vérification expérimentale de cette théorie [27].

Après la phase de leptospirémie, les bactéries vont ensuite migrer vers les organes cibles et notamment dans les organes du système du système réticulo-endothélial.

cPhase de multiplication

Dans le foie infecté, se produit une prolifération des cellules de Küpffer et des cellules multinucléées apparaissent. La vascularite évoquée précédemment va entraîner un dysfonctionnement des hépatocytes se manifestant cliniquement par un ictère et des manifestations hémorragiques (défaut de synthèse des facteurs de coagulation d'origine hépatique).

Les lésions provoquées par la vascularite au niveau rénal seraient responsables d'un dysfonctionnement tubulaire (tubulonéphrite interstitielle). Les leptospires vont s'accumuler dans les tubules rénaux avant d'en être éventuellement excrétés. L'animal devient alors porteur et éventuellement excréteur et ce, pendant plusieurs mois si les leptospires conservent un tropisme dans l'hôte favorable à l'excrétion.

Suite à cette infection tissulaire se développe une réaction immunitaire à l'origine de la phase dite immunologique. Cette phase est caractérisée par l'apparition d'anticorps circulants qui vont être à l'origine d'atteintes hépato-rénales sévères associées à des signes cutanés ou encore méningés [27].

II- EPIDEMIOLOGIE

AEpidémiologie descriptive

1- Répartition géographique

La leptospirose connaît une répartition mondiale. Cependant, bien que les symptômes exprimés par les différents sérovars soient assez semblables, il est intéressant de préciser que la localisation géographique est souvent associée à un type précis de leptospires.

Ainsi en France des rapports annuels d'activités diagnostiques ont été édités par l'équipe du professeur Geneviève André-Fontaine au sein de l'unité de recherche de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires (Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes). Ces rapports concernant plusieurs espèces ont été réalisés dans le cadre d'une activité de diagnostic. Les résultats ne doivent donc pas être envisagés comme des prévalences représentatives d'une espèce donnée mais plutôt comme des prévalences observées sur des animaux suspects cliniques [11-13, 16, 17, 19-21]. Ces résultats sont consignés dans le tableau 2.

Ainsi chez les bovins, la population de bovins soumis aux analyses était une population sujette à des affections chroniques. Ces populations étaient essentiellement constituées d'animaux issus d'exploitations présentant des performances de reproduction non satisfaisantes. Les analyses ne concernent pas uniquement les animaux présentant ces troubles de reproduction mais les cheptels dans leur ensemble. Le diagnostic proposé est donc un diagnostic de troupeau.

Le diagnostic de laboratoire utilisé est le test de référence sérologique : le test d'agglutination microscopique (M.A.T.). Les prévalences des différents sérogroupes de leptospires ont été réalisées à l'aide de panels de sérogroupes habituellement trouvés chez des populations de bovins français métropolitains. Ainsi on trouve les sérogroupes :

Icterohaemorrhagiæ (I.H.), *Autumnalis* (AUT), *Grippotyphosa* (G.T.), *Sérovar hardjo* (Har), *Australis* (AUS) ainsi que le complexe *Sejroe/Hebdomadis* renommé *Sejroe* depuis 2003 (SEJ/HEB puis SEJ).

Tableau 2 : Rapports des activités diagnostiques entre 1999 et 2005 de l'unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires (ENV Nantes) [11-13, 16, 17, 19-21]
Les sérogroupes numérotées correspondent à l'ordre décroissant d'apparition par année des différents sérogroupes.

Année	Population échantillon	Prévalence de Sérologie positive	Sérogroupe 1	Sérogroupe 2	Sérogroupe 3	Sérogroupe 4	Sérogroupe 5
1999	2205 bovins	18,6%	AUS	I.H.	G.T.	SEJ/HEB	
2000	2315 bovins	17,9%	G.T	SEJ/HEB, AUS		I.H.	
2001	2411 bovins	16,4%	SEJ/HEB, G.T., AUS			Har	I.H.
2002	3495 bovins	23,1%	SEJ/HEB	G.T., Har		I.H., AUS	
2003	3041 bovins	14,2%	SEJ	G.T., AUS		I.H.	
2004	2369 bovins	17,0%	I.H.	AUS	SEJ	G.T.	
2005	2525 bovins	14,4%	I.H.	G.T.	AUT	AUS	SEJ
2006	1842 bovins	13,1%	I.H.	AUS	SEJ	G.T.	AUT

On remarque une alternance dans la prédominance des sérogroupes d'une année sur l'autre. Cependant, quatre de ces sérogroupes reviennent de façon constante avec des proportions toujours assez élevée à l'intérieur de l'hexagone. Ce sont les sérogroupes *Icterohaemorrhagiæ, Grippotyphosa, Australis* et *Sejroe.*

Une autre étude datant de 1999 s'est intéressée à la prévalence de la leptospirose dans les cas d'avortements dans les départements de Loire-Atlantique et de Côtes d'Armor. Il s'est avéré que

la leptospirose était impliquée dans 6,2% des avortements dans les Côtes d'Armor et dans 19,5% des avortements en Loire-Atlantique. Les sérogroupes *Autumnalis* et *Australis* étaient prédominants en Côtes d'Armor, alors que le sérogroupe *Grippotyphosa* était prédominant en Loire Atlantique [57].

A l'étranger, il semblerait que les sérovars dominants soient différents de ceux présents en France. Ainsi, aux Etats-Unis, on va retrouver essentiellement les sérogroupes *Australis* et *Sejroe*. Une étude menée par PCR (Polymerase Chain Reaction) sur des urines de bovins dans un abattoir au Texas et publiée en 2003 a montré qu'un tiers des bovins abattus étaient infectés par les leptospires. Cependant cette étude ne s'applique qu'à la population de bovins abattus dans cet abattoir et ne préjuge en aucun cas de la prévalence de la leptospirose dans l'ensemble des Etats-Unis [103].

2- Evolution dans le temps

La forme principale d'expression de la leptospirose est enzootique. Cependant, il peut arriver que la leptospirose se déclare de façon épizootique dans certains foyers isolés entraînant alors des épisodes de mammites et/ou d'avortements [6].

L'infection leptospirosique est fonction de la saison. Il semblerait ainsi que les valeurs de pluviométrie les plus élevées correspondent avec les pics d'infection. Cette corrélation est aussi à rattacher au type de sérovar incriminé. En France, ce sont les souches *grippotyphosa* et *hardjo* qui semblent prédominer en période de fin d'été ou de début d'automne essentiellement [84]. Dans le cas de figure du sérovar *hardjo*, il semblerait que ce soit les périodes comprises entre les mois d'octobre et janvier-février qui soient les plus propices à l'infection par la leptospirose.

La cinétique de l'infection est caractérisée par un épisode aigu qui va ensuite disparaître ou persister sous forme latente. La forme aiguë va toucher quasi exclusivement les animaux jeunes ainsi que les animaux nouvellement introduits.

B- Epidémiologie analytique

1- Sources et matières virulentes

a- Les organismes vivants (figure 6)

L'infection par la leptospirose peut se faire tout d'abord entre animaux domestiques. Ainsi parmi les populations d'animaux domestiques infectés par la leptospirose, on va trouver des animaux malades mais surtout des animaux en incubation, porteurs sains qui ont, soit guéris cliniquement de la leptospirose, soit sont porteurs chroniques sans avoir jamais exprimé de symptômes de la maladie. L'importance des porteurs chroniques sains peut être objectivée par la grande fréquence des réponses positives aux tests sérologiques. Il semblerait d'ailleurs qu'à l'échelle de l'individu, l'efficacité épidémiologique de la maladie soit inversement corrélée à la gravité des symptômes entraînés par l'infection. Ainsi, un animal devient contagieux quand les leptospires se retrouvent dans les tubules rénaux, prêts à être excrétés. Une phase d'état discrète pourra donc être suivie d'une phase d'excrétion longue et efficace. Ceci signifie que, statistiquement, l'excrétion sera plus forte si la phase aiguë de la maladie n'a pas été trop intense chez l'animal malade.

Une autre voie de transmission de la leptospirose est représentée par la faune sauvage. En effet, de nombreuses espèces sauvages peuvent être des hôtes naturels ou accidentels. Ils sont souvent résistants à la leptospirose mais sont malgré tout infectés. Ces animaux sont donc qualifiés de «réservoirs» dans la mesure où ils sont réceptifs à l'infection et où ils assurent la survie et la persistance des leptospires. Ils sont responsables de la dissémination dans l'environnement des leptospires après multiplication de ces derniers dans les tubules rénaux. Les espèces de la faune sont souvent rendues responsables de l'infection des animaux domestiques. Cependant il semblerait que le sérovar *hardjo* soit spécifique de l'espèce bovine [46].

Figure 6 : Modes de transmission de la leptospirose aux bovins

0100090000037800000002001c0000000000040000000301080005000000b0200000000050000

Les espèces sauvages sont souvent porteuses d'un type particulier de sérovar. Le tableau 3 récapitule les principaux sérovars portés par les espèces sauvages et susceptibles de contaminer les bovins. Les principales espèces sauvages à l'origine de l'infection des bovins par la leptospirose. D'autres espèces sauvages peuvent également être responsables de cette infection des bovins : c'est le cas par exemple de rongeurs comme les campagnols, de carnivores sauvages, d'oiseaux ou encore de poissons, de reptiles ainsi que de batraciens d'eau douce [87].

Tableau 3 : Réservoirs des différents sérovars présents chez les animaux sauvages et les bovins [29]

Sérovars incriminés	Réservoirs d'animaux domestiques et sauvages
Icterohaemorrhagiæ	Rat gris (*Rattus norvegicus*), sanglier, cervidés, renard
Pomona	Porc, bovins, moufette, opossum, lièvre
Grippotyphosa	Raton laveur, moufette, opossum
Hardjo	Bovins
Ballum	Souris (*Mus musculus*), sanglier, cervidés, renard, rat noir (*Rattus rattus*)
Australis	Hérisson

b- Matières virulentes

La pathogénie de l'infection par la leptospirose distingue une phase de leptospirémie pendant les

Rapport-Gratuit.com

4 à 10 premiers jours de l'infection suivie par un ciblage des bactéries pour des organes cibles et notamment une localisation rénale à l'origine d'une leptospirurie. Cette leptospirurie est à l'origine, notamment, de l'excrétion des bactéries.

L'urine est donc la principale matière virulente. La durée et l'intensité de l'excrétion urinaire de leptospires vont être fonction notamment des sérovars impliqués mais aussi de l'espèce et de l'âge de l'animal impliqué. C'est ainsi que pour le sérovar *pomona*, la leptospirurie sera de 3 mois alors que dans le cas de l'infection par *hardjo,* l'efficacité épidémiologique accentuée avec une leptospirurie qui va pouvoir perdurer pendant jusqu'à 20 mois [6]. La persistance des leptospires dans les reins est liée vraisemblablement à leur localisation intracellulaire qui leur assure une protection efficace contre les anticorps produits par la réaction immunitaire humorale de l'hôte et contre des éventuels traitements antibiotiques.

Le lait constitue lui aussi une matière virulente. Il est possible d'avoir une infection verticale par transmission de leptospires, par le biais d'un lait contaminé, de la mère à son veau. Cependant l'acidification lactique, ainsi que l'existence de facteurs lytiques et d'anticorps dans la sécrétion lactée fait de cette dernière un milieu peu favorable à la survie de leptospires. De plus, la phase d'état est souvent caractérisée par un épisode de mammites et/ou une chute de production : cette voie de transmission est donc plutôt anecdotique [105].

Les sécrétions et excrétions génitales ainsi que les produits d'avortements sont aussi considérés comme des matières virulentes. Chez les bovins, les leptospires peuvent persister jusqu'à trois mois dans l'utérus non gestant [105] et jusqu'à cinq mois dans l'utérus gestant. Dans le cas d'avortement, l'excrétion de germes dans le milieu extérieur a lieu pendant une huitaine de jours [56]. L'excrétion de leptospires va aussi pouvoir se poursuivre dans les secrétions utérines dans les semaines qui suivent l'avortement mais aussi suite à un vêlage à terme sur une vache infectée par la leptospirose. Dans les tissus du fœtus avorté, on va trouver aussi de nombreux leptospires qui, après avoir survécu quelques jours, vont rapidement être détruits du fait de l'altération de l'avorton.

Des expériences ont été menées pour tenter d'objectiver les risques de transmission de la maladie lors de ponction d'ovocytes ou de transplantation embryonnaire. Il s'est avéré que lors de collecte d'ovocytes par ponction folliculaire sur une donneuse infectée expérimentalement, 1 ovocyte sur

un total de 29 ovocytes s'est révélé infectés. Sur les 24 embryons collectés par lavage utérin, 7 sont infectés. Le transfert d'embryons collectés chez une donneuse infectée expérimentalement n'entraîne cependant pas de contamination de la receveuse [30].

Chez le mâle, le sperme peut être parfois très riche en leptospires. Ainsi des leptospires ont été retrouvés dans le sperme de taureaux infectés expérimentalement [91] et naturellement [60]. Des études ont d'ailleurs montré le rôle de la voie séminale dans l'infection par les leptospires [92, 44]. Les leptospires peuvent survivre dans le sperme de taureau non congelé mais également dans le sperme congelé sans traitement antibiotique [44].

2- Contamination du milieu extérieur

Les matières virulentes émises par les animaux infectés dans le milieu extérieur vont augmenter encore leur efficacité épidémiologique en contaminant le milieu extérieur, à savoir les bâtiments d'élevage, le sol des pâtures et surtout l'eau. Une fois libérés dans le milieu extérieur, les leptospires ne sont cependant pas capables de se multiplier. La résistance des leptospires dans le milieu extérieur est très élevée, sous réserve néanmoins que ce dernier possède des caractéristiques physiques et chimiques compatibles avec la survie du leptospire dans l'environnement [6]. En terme de pH, il est nécessaire que celui-ci soit légèrement alcalin. En effet, un pH acide ou même légèrement acide va entraîner la destruction des leptospires [2]. La température joue aussi un rôle dans la survie des bactéries. Le taux d'humidité doit être élevé. C'est ainsi que les étangs, les mares, les abords de rivières, les zones marécageuses ou encore les litières peu entretenues vont constituer d'excellents milieux pour la survie des leptospires. Enfin, les leptospires sont sensibles aux ultraviolets, le milieu de survie des bactéries doit donc être protégé de la lumière et surtout des rayons solaires [6].

3- Réceptivité et sensibilité des espèces

Facteurs dépendant de l'agent infectieux : l'infection par les leptospires va pouvoir présenter de nombreuses manifestations et sera fonction du pouvoir pathogène de la souche infectante. Ainsi, toutes les souches de leptospires ne possèdent pas la même virulence. Cependant, à chaque souche de leptospire correspond une dose infectieuse, à savoir la quantité minimale de leptospires nécessaires pour induire la maladie. En dessous de cette dose, il ne sera pas possible pour les

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

leptospires infectants de déclencher la maladie. La valeur de la dose infectieuse va dépendre aussi bien de la souche infectante que de l'espèce hôte [18].

Facteurs dépendant de la sensibilité et de la réceptivité de l'hôte : la leptospirose touche principalement des populations d'animaux jeunes et de femelles, et notamment de femelles gestantes. Cependant, des études sérologiques montrent que les traces du passage d'un épisode infectieux sont présentes dans des proportions encore plus importantes dans des populations mâles que dans des populations femelles [47]. Le sexe est ainsi plus considéré comme un facteur de sensibilité plutôt que comme un facteur de réceptivité.

On peut ensuite s'intéresser à la conduite d'élevage comme nouveau facteur de sensibilité. Ainsi, en premier lieu, l'état sanitaire des cheptels peut agir sur la sensibilité des animaux vis-à-vis de l'infection par les leptospires. En effet, des cheptels soumis à des épisodes infectieux chroniques tels que le BVD ou à l'IBR vont être plus sensibles à une atteinte par la leptospirose et l'expression de la maladie sera dans ce cas de figure souvent plus sévère que dans le cas de cheptels indemnes de pathologies infectieuses récurrentes.

La possibilité pour les bovins de passer la période estivale en pâture va augmenter la cohabitation éventuelle avec les espèces de la faune sauvage, réservoirs de la leptospirose. C'est ainsi que ces animaux seront plus sensibles à la leptospirose car ils seront plus sujets à l'infection par les sérovars pathogènes véhiculés et disséminés par les espèces sauvages. Mais l'élevage en stabulation peut aussi favoriser l'infection par la leptospirose. Ainsi, des animaux se côtoyant sur la litière d'une même stabulation vont être plus sujets à l'infection et ce, par le biais, notamment, des leptospires présents dans les urines d'animaux déjà infectés. Les conditions d'hygiène vont aussi intervenir dans la sensibilité d'un cheptel à s'infecter ; ainsi la persistance d'une litière souillée par des urines contenant leptospires augmente encore les risques d'infection d'animaux sains se trouvant dans le même environnement.

Le type de production va aussi influer sur la sensibilité d'un cheptel vis-à-vis de l'infection par la leptospirose. C'est ainsi que les veaux laitiers auront plus de risques de contracter l'infection leptospirosique que les veaux allaitants. En effet, les veaux laitiers, séparés très tôt du cheptel adulte, ne pourront pas développer une immunité au contact d'animaux porteurs et risqueront alors davantage de contracter une leptospirose précoce.

4- Transmission directe et indirecte

● Transmission directe : Cette transmission peut se faire de façon horizontale ou verticale. Dans le cas d'une transmission verticale, il a été démontré dans le cas du sérovar *hardjo*, que l'infection pouvait être transmise au fœtus *in utero*. Cette infection transmise de la mère au fœtus peut, soit provoquer un avortement, soit entraîner la naissance d'un veau qui sera infecté chronique. Il a ainsi été possible de mettre en évidence par épreuve sérologique ou par observation directe l'infection transmise au fœtus [52, 48]. La transmission verticale peut aussi se réaliser par le biais de l'ingestion de la sécrétion lactée. En effet, le jeune peut se contaminer lors de la prise de lait maternel, surtout en période de localisation mammaire des leptospires mais aussi en phase septicémique. Il est cependant à noter que la chute de production laitière limite l'impact de cette voie de contamination.

La transmission horizontale est la voie de transmission privilégiée. Les contacts entre animaux sont responsables de la majorité des nouvelles contaminations. Ces contacts peuvent se produire au sein de la stabulation, ou même en salle de traite dans le cas des troupeaux laitiers. Ces contacts entre animaux se font par l'intermédiaire d'aérosols, d'urine par exemple, qui vont être responsables de la contamination des animaux. Les contacts vénériens participent également à la transmission des leptospires d'un animal infecté à un animal sain [44, 92]

● Transmission indirecte : Malgré leur fragilité, dans des conditions favorables, notamment dans l'eau, les leptospires vont pouvoir se conserver pendant un certain temps dans le milieu extérieur. C'est ainsi que les leptospires excrétés par les urines ou dans les sécrétions des vaches avortées, lorsque les conditions le permettent peuvent survivre, notamment dans l'eau. Des sécrétions ou des urines d'animaux d'espèces de la faune sauvage peuvent également contaminer le milieu extérieur.

5- Voies de pénétration

Les voies de contamination majeures sont les voies cutanées et muqueuses. La peau macérée, lorsque le réglage de la machine à traire entraîne des phénomènes de traite humide par exemple, ou blessée est une porte d'entrée aisée pour les leptospires.

De même, le contact des leptospires avec les muqueuses s'il est prolongé et étroit va être aussi à l'origine de la pénétration des bactéries à l'intérieur de l'organisme. Les muqueuses buccales, oculaires mais aussi pituitaires peuvent être alors la voie d'entrée de leptospires par le biais de gouttes d'urines aérosolisées au sein de la stabulation par exemple [6].

C- Diffusion des leptospires

La présence d'animaux porteurs latents sans manifestation de symptômes est à l'origine de la migration de certains sérovars par le biais d'échanges commerciaux de bétail. Ainsi, il semblerait que la diffusion importante du sérovar *hardjo* soit due aux migrations et importations de bovins et notamment de cheptels Prim'holstein [105]. Il est possible aussi dans le futur d'assister à l'extension de zones de certains sérovars. C'est le cas par exemple du sérovar *pomona* qui pour l'instant ne se trouve pas présent en France mais dont la signalisation dans les pays scandinaves fait craindre, à la faveur d'importations, un déplacement au sein de l'hexagone.

III- CLINIQUE DES LEPTOSPIROSES

A- Symptomatologie

La leptospirose chez les bovins est le plus souvent infra clinique [46]. La proportion d'animaux infectés dépend de facteurs tels que l'âge, le sexe, l'immunité due aux premiers contacts avec les souches pathogènes. Les symptômes sont d'ailleurs d'une intensité différente en fonction des souches infectantes et de la sensibilité individuelle des animaux touchés.

Les sérogroupes dominants en France sont : *Australis*, *Sejroe*, *Grippotyphosa*. Le sérovar *hardjo* est le plus fréquent mais des cas d'infection à serovar *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae*, *bratislava*, *tarassovi*, *autumnalis*, *australis*, *hebdomadis*, *bataviae* ont aussi été répertoriés sur le territoire français.

Chez les bovins, il sera nécessaire d'envisager l'infection par les leptospires à l'échelle du groupe. Les formes subaiguës à chroniques vont dominer chez ces animaux. Cependant, des formes suraiguës à aiguës sont aussi mentionnées.

1- Forme suraiguë

L'évolution peut être suraiguë et notamment chez le jeune. Cette évolution est d'autant plus foudroyante que le sujet atteint est jeune. Le symptôme prédominant est une hémoglobinurie qui précède souvent de peu la mort. On va aussi observer une diminution de l'appétit, l'apparition d'un ictère [76] et une diarrhée séreuse, hémorragique avec épreinte et ténesme [84].

Les formes infectantes sont dues à des souches non adaptées à l'espèce telles que les sérogroupes *Pomona*, *Icterohaemorrhagiæ*, *Grippotyphosa* [46]. Le traitement est souvent illusoire une fois l'hémoglobinurie installée.

2- Forme aiguë

Elle touche essentiellement des animaux adultes. L'évolution se fait sur une durée de 3 à 8 jours qui correspondent à la phase de bactériémie.

Le premier symptôme observé au cours de cette forme aiguë est une baisse de la production laitière. Le lait peut avoir alors une couleur rosée avec la présence éventuellement de caillots de sang. Les animaux vont se tarir en 3 à 4 jours [101]. Les quatre quartiers de la mamelle sont atteints et celle-ci devient flasque [46]. On ne retrouve dans les échantillons de lait aucun germe classique responsable de mammites mais on peut retrouver chez les bovins des leptospires dans les glandes mammaires des animaux infectés. Des tests ont été mis au point pour rechercher par ELISA les anticorps spécifiques de *L. hardjo* dans du lait de mélange. Cette méthode à coût réduit qui permet de dresser un bilan sanitaire d'un élevage vis-à-vis de la leptospirose est déjà utilisée pour d'autres maladies et va nécessiter quelques aménagements pour être applicable en routine [81].

Le comptage cellulaire révèle un nombre de leucocytes très élevé [70]. Le traitement ne va pas influer sur l'évolution de la maladie et les animaux atteints vont retrouver une production laitière normale deux semaines après le début de l'épisode [46].

Lors de cette phase aiguë, vont apparaître dans le même temps que la chute de production laitière des signes généraux. La température rectale va augmenter (40 à 41°C), les muqueuses deviennent ictériques et dans la majorité des cas, une hémoglobinurie apparaît associée à une polyurie.

D'autres formes peuvent s'ajouter. C'est ainsi que *L. pomona* peut provoquer des épisodes de néphrite aiguë [28]. Des cas de méningite sont possibles qui seraient la conséquence d'une réaction d'immun-complexes [27]. Enfin, une dermatite nécrosante peut se déclarer lors d'infection par *L. grippotyphosa* [46].

3- Forme chronique

La leptospirose se manifeste majoritairement chez les bovins sous la forme chronique et notamment par des troubles de la reproduction [18]. Ces troubles de la reproduction se manifestent notamment par des avortements et une baisse de la fertilité.

a- Avortements

L'infection par la leptospirose chez la femelle gestante entraîne dans un délai de deux à dix semaines un avortement, la naissance de fœtus mort-né ou de veau prématuré. Les avortements se déroulent dans le dernier tiers de la gestation [101].

Les leptospires vont migrer par le biais du placenta de la mère infectée vers le fœtus. *L. borgpetersemii* sérovar *hardjo* montre une adaptation particulière pour survivre dans le tractus génital de la vache. Il est impliqué dans les avortements entre le 4ème et le 8ème de gestation. Ces leptospires ont été mis en évidence dans des cellules trophoblastiques. Ces dernières étaient en regard des villosités cotylédonnaires, ce qui permettait une contamination du placenta. Le fœtus peut alors être contaminé par le biais de la veine ombilicale [70].

Lors d'avortements, les leptospires peuvent être associés à d'autres germes tels que *Campylobacters* [46] ou des agents parasitaires tels que *Neospora* [74]. La leptospirose est à l'origine de 3% des avortements en France chez les bovins [101]. Il semblerait d'ailleurs que les leptospiroses soient souvent sur diagnostiquées, et ce, au détriment des néosporoses [93].

On ne retrouve pas nécessairement de lésions spécifiques sur le fœtus cependant des descriptions font état d'ictère des tissus sous-cutanés chez les avortons des derniers mois de gestation. Chez les fœtus nés vivants, les lésions sont celles similaires à des cas d'anoxie : des pétéchies sur la surface du thymus, de la thyroïde, des poumons, du cœur et de la plèvre pariétale [28]. La présence d'anticorps spécifiques anti-leptospires n'est pas systématique.

On va constater aussi des vêlages à terme de veaux malades suivis de non délivrance à l'origine d'endométrite et de stérilité [101]. Ces veaux vont présenter souvent, à la naissance, un développement très inférieur à la norme associé à de l'anoxie et à des cas de mortalité en per et post-partum. Des études ont montré le rôle joué par l'infection leptospirosique dans le syndrome

du veau faible. En effet, il existe une relation entre une infection du placenta par les leptospires et une diminution du poids moyen des veaux à la naissance inférieur. Il semblerait néanmoins que ce syndrome du veau faible associe, en plus des leptospires, plusieurs autres agents infectieux et notamment *A. pyogenes* ou *bacillus* [95].

b- Diminution de la fertilité

Des études ont révélé le rôle joué par *L. interrogans* sérovar *hardjo* dans la chute des performances de reproduction. C'est ainsi qu'une étude portant sur l'analyse des résultats de reproduction de cheptels sur une durée de quarante ans a permis d'associer les plus mauvais bilans de reproduction avec les années où l'infection leptospirosique a été diagnostiquée [39].

C'est essentiellement le sérovar *hardjo* qui est responsable des troubles de la fertilité en France. Chez des animaux séropositifs pour *L. hardjo*, la durée vêlage-insémination fécondante est allongée et le nombre d'inséminations par insémination fécondante est plus élevé que chez les femelles séronégatives [55].

Il a été tenté d'expliquer ces troubles de la fertilité en comparant les valeurs de la progestéronémie à différentes périodes du cycle sur des animaux séropositifs et séronégatifs pour *L. interrogans* sérovar *hardjo*. Le taux de progestérone sanguin des animaux séropositifs était significativement plus bas que celui des animaux séropositifs au milieu de la phase lutéale. Cette valeur de la progestéronémie inférieure à la norme peut être un facteur explicatif à ces troubles de la fertilité. Cependant, la pathogènie des leptospires reste encore difficile à appréhender [40].

B- Aspect lésionnel

1- Lésions macroscopiques

a- Lésions générales

L'examen nécropsique peut révéler un ictère généralisé, des hémorragies multiples et des pétéchies ou ecchymoses localisées à la peau, aux muqueuses, aux séreuses et aux parenchymes [88]. L'ensemble des viscères des cavités thoracique (cœur et poumons) et abdominale (estomacs et intestins) ainsi que la graisse présentent une coloration jaunâtre très nette [76].

Sur le plan cutané, on va trouver des oedèmes cutanés laissant exsuder une sérosité qui se dessèche, des lésions nécrotiques des extrémités, ou encore des ulcères de la troisième paupière [84].

Quelquefois, il y a élimination par l'anus d'un liquide sanguinolent. Lors de l'incision de la peau, on va observer un œdème diffus, jaunâtre du tissu sous-cutané. Un liquide séreux, jaunâtre peut s'échapper la cavité abdominale.

Les muscles squelettiques ont une couleur de chair cuite objectivée en incisant les masses musculaires des membres postérieurs.

b- Lésions hépatiques

Le foie est de taille normale ou légèrement hypertrophié. Il présente une coloration plus pâle que la normale. Son parenchyme est d'aspect terreux et de couleur jaune. Le foie peut présenter une accentuation de la lobulation. La vésicule biliaire a un aspect caractéristique : elle est distendue par une bile pâteuse de couleur noir brillant [76]. Les lésions hépatiques sont corrélées à l'atteinte des systèmes enzymatiques hépatiques.

c- Lésions rénales

Les reins vont présenter un aspect caractéristique. Leur surface est hétérogène, elle varie du brun foncé au noir avec de petites zones nécrotiques plus sombres. Morphologiquement, les reins sont souvent tuméfiés, hypertrophiés et paraissent congestionnés. Ils peuvent même apparaître

Rapport-Gratuit.com

hémorragiques. La zone corticale est foncée et le calice est ictérique. La vessie, quant à elle, est distendue par une urine sombre.

d- Lésions fœtales et placentaires

En règle générale, les lésions observées sur les avortons sont non spécifiques et résultent essentiellement de l'autolyse. Parfois pour les avortons dans le dernier stade de gestation, on peut observer un ictère des tissus sous-cutanés.

Pour les fœtus nés vivants, au contraire, on va observer des lésions similaires à celles produites par l'anoxie, c'est-à-dire des pétéchies sur la surface du thymus, de la thyroïde, des poumons, du cœur et de la plèvre pariétale. Des cas de lésions vasculaires sévères ont été rapportés dans le cas de fœtus avortés par *L. hardjo* ou *L. icterohaemorrhagiae* essentiellement dans le foie mais aussi à un moindre degré, dans les méninges cérébrales et les septa interlobulaires des poumons. Il se produit alors une congestion vasculaire, une nécrose et une hémorragie périvasculaires.

Dans les cas d'avortements à *L. pomona*, les cotylédons peuvent apparaître jaunâtres et avasculaires de façon uniforme [28].

e- Autres lésions

La rate, parfois légèrement hypertrophiée, apparaît aussi ictérique. A l'incision, on constate que l'aspect de la pulpe est normal ou légèrement moins ferme que la normale.

Dans le cas de pneumonie atypique à leptospires, les poumons sont marqués par des plages hémorragiques.

2- Lésions histologiques

Les lésions microscopiques se trouvent essentiellement dans le foie et dans les reins.

a- Histologie hépatique

Les lésions hépatiques sont celles d'une hépatite dégénérative. Les hépatocytes vont présenter un aspect dégénéré : le cytoplasme de ces cellules est envahi de granules éosinophiliques. Le noyau

est petit, rétracté ou lysé. Il peut arriver que les hépatocytes soient binucléés. Certains hépatocytes vont présenter des noyaux pycnotiques ou caryolytiques ainsi que des cytoplasmes irréguliers.

Il existe des zones de nécrose focales qui sont entourées d'infiltration de cellules lymphatiques. On trouve aussi souvent une cholestase intra-hépatique [61].

b- Histologie rénale

Les reins sont le siège d'une néphrite interstitielle aiguë ou subaiguë. Le réseau capillaire rénal est congestionné, et à un infiltrat cellulaire inflammatoire à cellules mononucléées est présent. L'espace interstitiel est envahi par des cellules inflammatoires (monocytes, macrophages, plasmocytes, lymphocytes).

Les tubules contournés proximaux et distaux présentent également des lésions sous forme de cellules dégénérescentes, de granulations hyalines ou de cellules nécrosées. Il n'y a pas de lésions observées usuellement sur le glomérule [61].

C- Diagnostic

1- Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique est très difficile à établir en raison de la grande diversité des tableaux cliniques que possède la leptospirose. Cependant, des éléments épidémiologiques peuvent orienter ce diagnostic clinique ; en effet, en présence d'élevages infestés de rats, lors de contacts avec des eaux douces qui abritent des rongeurs ou enfin lors de pâture sur des parcelles où vivent de nombreux micromammifères, la suspicion clinique de leptospirose est possible. D'autre part, la catégorie d'animaux atteints va aussi pouvoir orienter le diagnostic clinique ; ainsi, si les animaux touchés sont des animaux jeunes ou nouvellement introduits dans le cheptel, on peut alors suspecter une pathologie infectieuse de type leptospirose [18].

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

2- Diagnostic nécropsique

Ce diagnostic va se faire à l'observation des lésions post-mortem décrites auparavant dans cette étude. Cependant, ces lésions ne seront observables que dans les cas d'épisodes aigus. C'est ainsi que de nombreuses formes de leptospirose, même mortelles ne seront pas caractérisées par des lésions nécropsiques caractéristiques et franches.

3- Diagnostic différentiel

En ce qui concernent les formes aiguës, le syndrome ictérohémorragique est caractérisé par une hépatonéphrite. Les symptômes principaux d'hépatonéphrite que sont l'ictère et l'urine foncée doivent être différenciés d'autres maladies infectieuses telles que la piroplasmose. Il faut aussi penser à une origine toxique. C'est ainsi qu'une intoxication par le cuivre peut présenter un tableau clinique similaire [18].

Dans le cas des formes chroniques, le diagnostic différentiel doit prendre en compte les différentes causes d'avortements et/ou de troubles de la fertilité. Ainsi en cas d'avortements, on pourra penser à des maladies infectieuses incluant bien évidemment la leptospirose mais aussi la brucellose, la salmonellose, la néosporose ou encore la fièvre Q. Il faudra aussi prendre en compte les causes d'avortements autres qu'infectieuses, telles que les causes mécaniques ou encore iatrogènes, même si elles sont bien moins fréquentes que les causes infectieuses [101].

4- Diagnostic de laboratoire

Ce diagnostic de laboratoire va comprendre plusieurs types de méthodes. Il va ainsi être possible de mettre en évidence directement l'agent pathogène. De manière indirecte, il va être possible de réaliser des examens non spécifiques tels que les examens hématologiques ou biochimiques. Les examens spécifiques vont faire intervenir les réactions immunitaires et notamment, les réactions humorales.

a- Mise en évidence de l'agent pathogène

Prélèvements

Les prélèvements peuvent être de différentes natures mais leur séquence suit toujours une chronologie précise [78]. Quel que soit le type de prélèvement, celui-ci doit être effectué avant toute antibiothérapie et ne doit pas être congelé [61].

Dans le sang, les prélèvements doivent être faits dans les 12 premiers jours de l'infection [27]. Ceci correspond de façon pratique à la période comprise dans les 10 jours qui suivent l'apparition de la fièvre. Les prélèvement de sang doivent comporter au moins 1 mL de sang veineux et doivent être recueillis sur des tubes EDTA ou héparine. Le tube citraté est à proscrire car le milieu citraté va entraîner une acidification du milieu néfaste aux leptospires [78]. Il est conseillé de réaliser plusieurs prélèvements sur plusieurs jours d'affilée pour le même sujet car la présence des leptospires dans le sang est intermittente. L'ensemencement doit se faire rapidement après le prélèvement : les prélèvements sont ainsi inoculés sur des tubes contenant un milieu liquide en quantité variable de manière à réaliser différentes dilutions. En effet, un excès de sang inhiberait la croissance bactérienne [27].

Les leptospires peuvent aussi être isolés du liquide céphalo-rachidien (LCR) au cours de la deuxième semaine qui va suivre l'infection. Un demi mL de LCR est suffisant pour la mise en évidence des leptospires. Cette mise en évidence se fera directement grâce au microscope à fond noir [27].

Les bactéries vont ensuite se multiplier dans différents organes et notamment dans les tubules rénaux. La leptospirurie débute à partir du 10ème jour d'infection et peut persister pendant plusieurs semaines à plusieurs mois avec une moyenne de vie de quatre semaines. La période optimale de prélèvements pour les urines sera aux alentours de la 3ème ou de la 4ème semaine d'infection [41]. Le prélèvement d'urine se fera dans les conditions d'asepsie les meilleures possibles. En pratique, après injection de diurétique tel que le furosémide par voie intraveineuse, on procédera à une désinfection locale puis on récupérera les urines en milieu de miction [27]. Il est conseillé de procéder à plusieurs prélèvements sur plusieurs jours d'affilés pour le même sujet et d'alcaliniser les prélèvements plutôt que de les recueillir dans une solution tamponnée stérile [61]. Les urines doivent être ensemencées dans l'heure qui suit le prélèvement. Si ce délai entre

le prélèvement et l'ensemencement ne peut être respecté, les prélèvements doivent être conservés à +4°C et à l'obscurité.

Des prélèvements peuvent aussi être effectués sur les organes internes tels que le foie, les reins, l'encéphale ou les glandes surrénales. A la faveur d'une autopsie d'un animal malade, d'un avorton ou d'un veau mort-né. Ces prélèvements doivent être réalisés très rapidement après la mort car sinon l'autolyse va entraîner la destruction des leptospires. De plus la contamination par d'autres germes dans les tissus peut perturber la détection des leptospires. L'utilisation de substances inhibitrices (tels que le 5-fluorouracil) permet d'éviter cette contamination [105]

Microscopie

La visualisation des leptospires au microscope, du fait de leur faible dimension (moins de deux micromètres) se fera sur un microscope à fond noir. L'observation se fera entre lame et lamelle avec un grossissement de 250 [41]. La visualisation de ces leptospires va nécessiter un opérateur attentif et expérimenté qui s'appuiera, pour leur mise en évidence, sur leur morphologie caractéristique en filament incurvé et leur mobilité en rotation, flexion et translation.

Pour observer les leptospires sur le microscope à fond noir, il faut examiner les échantillons dans les heures qui suivent leur prélèvement. En effet, les leptospires sont vite lysées au sein des milieux biologiques.

L'observation se fait en général sur des prélèvements urinaires. Il est aussi possible d'utiliser du sang. La réalisation d'une double centrifugation sur le sang (1000g pendant 10 minutes puis 4000g pendant 20 minutes) va permettre d'éliminer les cellules dans un premier temps puis de concentrer les leptospires ensuite [78]. Les prélèvements de LCR ne contiennent pas assez de leptospires pour permettre une identification convenable par microscopie à fond noir [65].

Cependant cette méthode apparaît peu sensible. Ainsi le seuil de détection est d'au moins 10^4 bactéries par mL de liquide de prélèvement. De plus, la spécificité de ces tests est mauvaise ; en effet, des filaments de fibrine ou des débris cellulaires peuvent être source d'erreur et entraîner l'apparition de faux positifs [41].

Cette méthode ne permet pas non plus de distinguer les leptospires saprophytes des leptospires

pathogènes étant donné que le sérotypage n'est pas réalisable [68]. Il semblerait même qu'il ne soit pas réalisable par cette méthode de différencier les différents genres de spirochètes. Ainsi, la différenciation entre *Leptospira*, *Leptonema* et *Turneria* par exemple ne serait pas possible par microscopie [61].

Une autre méthode de détection lors de l'observation au microscope de coupes tissulaires est la coloration de Levatidi qui correspond à une imprégnation métallique. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle nécessite l'utilisation de prélèvements non-autolysés.

C'est ainsi que la bactérioscopie au moyen de microscope à fond noir n'a qu'une valeur d'orientation et doit être confirmée par la culture.

Mise en culture

La mise en culture permet l'établissement d'un diagnostic de certitude. Comme pour l'observation au microscope à fond noir, la mise en culture doit être faite dans les heures qui suivent la réalisation du prélèvement. Les souches ne vont pousser que dans des milieux spécifiques évoqués auparavant. Cependant toutes les souches ne vont pas pousser sur le même milieu, certaines vont avoir une meilleure croissance dans le milieu avec sérum, d'autres ont une croissance optimale dans le milieu EMJH. Ce dernier nécessite une préparation assez complexe et va pouvoir se conserver pendant une durée de 3 à 6 mois à 4°C. Pour obtenir le plus de chance de réussite de culture, il est conseillé d'ensemencer au moins deux milieux différents semi solides, l'un à base de sérum, et un milieu EMJH.

Ces milieux sont rendus partiellement sélectifs par l'ajout de différents inhibiteurs qui vont permettre d'éliminer les éventuels contaminants. Ainsi, on va pouvoir utiliser le 5 fluorouracil (à la dose de 150 µg/mL), la néomycine (5 à 25 mg/mL), le sulfathiazole (50 mg/mL) et/ou le cycloheximide (0,5 mg/mL).

Ces substances peuvent potentiellement inhiber de façon simultanée la croissance des leptospires. Deux types de cultures vont donc être réalisées : une avec et l'autre sans inhibiteur [41].

Lors de culture à partir de prélèvements sanguins, on va diluer 1 mL de sang dans 10 mL de milieu. On réalise ensuite des dilutions en série au dixième sur cinq tubes afin de limiter le

pouvoir inhibiteur du sang sur les cultures [78]. On utilise la même procédure pour les cultures de LCR.

Les urocultures doivent être réalisées dans des conditions d'asepsie les plus strictes. Etant donné le faible diamètre des leptospires et leur type de mobilité, ils passent au travers des membranes de filtres. Ainsi, la filtration sur filtre à membrane cellulosique ou à base de polycarbones dont le diamètre des pores est de 0,45 mm puis 0,22 mm va permettre d'isoler les leptospires des produits contaminés.

L'incubation des cultures se fait à l'obscurité à température de 30°C. Il faut maintenir une agitation régulière des leptospires pour favoriser la croissance de ces bactéries aérobies. La croissance de ces bactéries sur le milieu de culture va nécessiter 4 à 8 semaines. Les cultures sont observées au microscope à fond noir toutes les semaines et il est conseillé de repiquer de façon systématique les tubes de culture primaire. Pour conclure à la négativation d'une culture, il faut attendre au moins deux mois [61].

Inoculation

Les méthodes d'inoculation peuvent paraître dépassées. Si le matériel est obtenu aseptiquement, la culture peut suffire. Cependant, la croissance des leptospires *in vitro* n'est pas toujours optimale. De plus pour conserver son pouvoir pathogène, les leptospires doivent effectuer des passages sur des espèces sensibles [41].

Les sujets de choix pour l'inoculation sont les hamsters ou les cobayes de moins de 150 grammes (2 à 3 semaines d'âge). Il est possible d'utiliser d'autres espèces pour cette manipulation, par exemple le rat, la souris, le chien, le poussin, la gerbille ou encore le chinchilla. Cependant pour toutes les espèces utilisées, il est obligatoire que tous les animaux proviennent d'élevages clos, indemnes de leptospirose. Les espèces choisies pour l'inoculation, et notamment les cobayes et les hamsters, sont sensibles à l'infection par les souches de nombreux sérogroupes : sérogroupes *Icterohaemorrhagiæ, Hebdomadis, Pyrogenes, Autumnalis, Pomona*… Mais ces animaux sont aussi assez souvent sensibles à des souches non pathogènes qu'il va être possible d'isoler dans leur sang puis dans leur tissu rénal [27].

Pour chaque échantillon de la souche à analyser, plusieurs animaux sont utilisés et inoculés.

L'inoculat, injecté par voie intra péritonéale, est composé de 0,5 à 1 mL de liquide pathologique (lait, sang, urine) [68].

Les premiers symptômes se caractérisent par l'apparition d'un pic de température (40-41°C) vers le 3-4ème jour suivant l'inoculation. Les signes cliniques sont évidents à partir du 5ème jour : ictère, prostration, amaigrissement.

Les animaux sont observés tous les jours. L'évolution de l'infection est déterminée par l'analyse du liquide péritonéal prélevé dans le quadrant inférieur de l'abdomen à l'aide d'une fine pipette capillaire et observé ensuite au microscope à fond noir. Si l'animal meurt, une autopsie est aussitôt pratiquée et les reins, le foie ainsi que du sang sont aussitôt prélevés en vue de les mettre en culture.

Ce moyen diagnostique est peu utilisé. En effet, tous les sérovars ne vont pas présenter de signes cliniques sur les animaux inoculés. De plus la sensibilité des animaux à l'infection provoquée par l'inoculation est variable. En conséquence, cette méthode est peu employée pour les examens de routine par les laboratoires.

Colorations en immunohistochimie

Ces colorations se font à partir de biopsie rénale, ou à partir de prélèvements de reins, de foie, d'urine ou de sang. La technique immunoenzymatique de référence est la coloration à l'immunoperoxydase. Une fois le prélèvement fixé, on y ajoute des immunoglobulines dirigées contre le type de leptospire étudié puis la préparation est mise en contact successivement avec un antisérum de lapin conjugué à une peroxydase et avec un substrat de l'enzyme. Ce substrat, après action de l'enzyme, produit un précipité marron.

L'observation se fait au microscope simple avec un grossissement x1000. Les leptospires prennent une coloration brun rougeâtre reconnaissable. Cette méthode présente l'avantage d'associer la spécificité sérologique (reconnaissance du genre *Leptospira*) avec la reconnaissance morphologique et ceci grâce à la coloration. De plus, elle va aussi éliminer les artefacts tels que les résidus de fibrine [42].

La détection des leptospires par immunoperoxydase est plus sensible que la coloration de

Levaditi qui correspond à une méthode de coloration argentique (sur 39 cas suspectés de leptospirose, 19 sont confirmés par immunoperoxydase quand seulement 6 le sont par la coloration de Levaditi) [86].

Cependant, cette méthode présente l'inconvénient de posséder une faible sensibilité et ce, d'autant plus que les leptospires sont souvent présents en faible quantité dans les échantillons prélevés. L'immunohistochimie ne permet pas de savoir quel sérovar est infectant.

L'immunofluorescence est une technique d'immunohistochimie particulière.Cette technique est réalisée à partir d'urine de bovins [65]. Elle a pour intérêt d'être rapide et d'avoir une bonne sensibilité. On peut utiliser des échantillons congelés ce qui résout le problème de la conservation qui, pour des prélèvements frais, n'était que de quelques heures. Cependant, l'interprétation est difficile et va nécessiter une technique de laboratoire qualifiée [32].

La technique d'immunofluorescence va permettre le diagnostic des leptospiroses fœtales. Des immunoglobulines de lapin spécifiques des leptospires sont utilisés puis la préparation est mise en contact avec un antisérum de lapin conjugué à un fluorochrome. La mise en évidence est faite au moyen d'un microscope à fluorescence. Cette technique peut se pratiquer sur des coupes congelées de rein fœtal et nécessite l'utilisation d'antisérums polyclonaux de bonne qualité. Cependant, on ne peut pas identifier le sérovar en cause [28].

Détection de l'ADN

La latence élevée du diagnostic fourni par la culture ainsi que l'apparition souvent tardive des anticorps spécifiques à pousser à chercher d'autres méthodes de diagnostic de laboratoire [78].

. La détection de l'ADN se fait au moyen de la PCR. La PCR permet d'amplifier en quelques heures un segment d'ADN qui sera recopié en plusieurs millions de copies [75]. Cette technique semble pouvoir apporter beaucoup au diagnostic de la leptospirose. L'amorce utilisée est composée de 331 paires de bases appartenant au gène *rrs* codant pour l'ADN ribosomal *16s* [69].

En effet, cette méthode permet notamment de distinguer les formes pathogènes des formes saprophytes [65]. De plus, le diagnostic va pouvoir se faire très rapidement. L'autre intérêt est qu'il n'est pas nécessaire d'avoir des prélèvements intacts. Ainsi les prélèvements peuvent être

envoyés au laboratoire sans se soucier des délais ni de l'état de conservation des organes avant autopsie [18]. Enfin, cette méthode peut être utilisée sur des patients ayant déjà reçu un traitement antibiotique [65].

L'ADN des leptospires peut être extrait du sang, du lait, de l'urine, de l'humeur aqueuse, de la semence de taureau ou encore du LCR [65]. Dans le sang, il faudra éviter d'utiliser des milieux héparinés car ils vont risquer de diminuer la sensibilité de la PCR [29].

Dans la semence de taureau, une étude sur 26 sérovars de *L. interrogans, L. borgpetersenii, L. santarosai, L. noguchii* et *L. biflexa* a permis d'amplifier les 26 souches à partir de 100 bactéries/mL. A l'aide d'endonucléases, tous les sérovars ont pu être classés en huit groupes distincts [58]. La comparaison réalisée entre des PCR, des cultures réalisées sur semence et des sérologies a permis de mettre en évidence la plus grande sensibilité de la PCR par rapport aux cultures et aux sérologies. En effet, quand 80% des échantillons de sperme sont positifs à la P.C.R., seulement 25% à 45% des sérologies le sont. Les cultures restent négatives mais cela peut s'expliquer par la contamination des prélèvements de semence par d'autres bactéries qui inhibent la croissance des leptospires [57]. D'autres études menées sur le sérovar *hardjobovis* ont montré sensibilité plus élevée de la PCR par rapport aux méthodes d'immunofluorescence ou la culture [67].

Dans l'urine, il est possible de réaliser des PCR. Cependant, la présence d'inhibiteurs nécessite d'utiliser une PCR immunomagnétique ou MIPA (magnetic immuno PCR assay). La méthode MIPA a été testée et a permis de mettre en évidence 76% de cultures d'urine positives [104].

La PCR a été aussi comparée aux méthodes d'observation au moyen du microscope à fond noir notamment. Ces études révèlent la sensibilité plus élevée de la PCR aussi bien sur sang que sur urine ou lait [62]. La PCR va aussi permettre de différencier les souches de leptospires des autres spirochètes telles que les *Borrelia* par exemple [82].

Cette technique est donc très sensible et extrêmement spécifique. Cependant sa complexité nécessite qu'elle soit réalisée et interprétée à la lueur de connaissances de laboratoire solide.

Rapport-Gratuit.com

b- Diagnostic indirect

Non spécifique

● *Modifications hématologiques [61]*

-Modifications leucocytaires : l'infection aiguë de leptospirose entraîne également une leucopénie transitoire suivie par une leucocytose qui concerne essentiellement la lignée granulocytaire.

-Modifications des globules rouges : les modifications hématologiques concernent essentiellement les leucocytes mais on peut cependant trouver des perturbations dans les lignées érythrocytaires. Ainsi, les phases aiguës de leptospirose peuvent entraîner une anémie régénérative normochrome et modérée (chez les bovins, une anémie modérée équivaut à une hématocrite de 25 à 30%). Cette intensité de l'anémie est souvent associée à la gravité de l'évolution.

-Modifications des plaquettes : cette modification se manifeste essentiellement par une thrombocytopénie, dans les trois à cinq premiers jours de l'infection. Elle touche entre le quart et la moitié des animaux atteints de leptospirose en phase aiguë. La conséquence de cette thrombocytopénie est chez certains animaux une coagulation intravasculaire disséminée.

Cependant les résultats d'un bilan hématologique doivent être interprétés avec prudence. En effet, les modifications des valeurs ne sont en aucun cas significatives d'une leptospirose et ne sont pas systématiques dans toutes les infections à leptospires.

● *Modifications biochimiques [18]*

Ces modifications biochimiques traduisent le tropisme des leptospires pour leurs organes cibles ; ainsi, les paramètres modifiés vont signifier les insuffisances organiques produites par la maladie au niveau du foie et des reins.

-Modifications des paramètres rénaux : Dans les cas d'atteinte aiguë ou chronique, on note une augmentation nette de l'urémie et de la créatinémie. La kaliémie sera augmentée uniquement lors des atteintes aiguës, alors que l'on notera une hyperphosphorémie et une hypocalcémie lors

d'atteintes chroniques.

-Modifications des paramètres hépatiques : En phase aiguë, les principales modifications vont concerner les marqueurs de la cytolyse hépatique. Ces dommages hépatocellulaires seraient dus à l'action directe des toxines de leptospires ou à la persistance de ces dernières dans le foie [63]. On peut noter aussi une augmentation de la bilirubine conjuguée qui signera un ictère hémolytique souvent d'origine hépatique ou encore une augmentation de la bilirubine totale mettant en évidence une affection hépatobiliaire. Les acides biliaires peuvent se trouver aussi augmentés, signe d'une cholestase hépatique.

● *Modifications urologiques*

La principale modification est lors de l'observation de cylindres dans le culot urinaire. On n'observe pas de modifications de l'albuminurie qui reste constante. Les leptospires vont s'accumuler dans l'urine. Cependant, le portage rénal, bien toléré par l'animal, ne va pas entraîner de modifications significatives des paramètres urinaires [18].

Spécifique

La difficulté de réaliser les tests bactériologiques a poussé à se tourner vers les réactions sérologiques comme moyens de diagnostic. Il va être possible de mettre en évidence des anticorps dans le sang de l'animal atteint dans les 8 à 10 jours qui suivent l'apparition des symptômes, soit 10 à 12 jours après l'infection.

Si une forme aiguë est suspectée, il faudra réaliser deux prélèvements sanguins à 8 à 10 jours d'intervalle. Il ne faudra pas hésiter à placer l'animal sous traitement antibiotique même si ce dernier risque de retarder l'apparition des anticorps.

Les différents tests spécifiques indirects proposés sont le M.A.T., les méthodes ELISA directe et indirecte ainsi que la réaction de fixation du complément.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

● *le test de micro agglutination : M.A.T.*

C'est la méthode de référence utilisée pour diagnostiquer la leptospirose. M.A.T. signifie « test de microagglutination » et correspond à l'ancienne « réaction d'agglutination-lyse ». Ce test de microagglutination permet de déterminer le sérogroupe d'origine de la souche infectante [9].

La réaction de microagglutination utilise l'activité agglutinante de différentes dilutions de sérums sur des groupes d'antigènes cultivés en laboratoire. Si le sérum testé contient des anticorps, ils vont provoquer l'agglutination des souches de leptospires cultivées expérimentalement. L'agglutination est ensuite objectivée sur microscope à fond noir [84]. La batterie d'antigènes est composée de souches représentatives des sérogroupes dominants afin de pouvoir se rapprocher au maximum du sérovar recherché [78]. Au total, chaque laboratoire d'analyse possède une vingtaine de souches de référence qui correspondent souvent à des sérovars choisis en fonction de leur répartition géographique.

Une réaction sera considérée comme positive si, à une dilution donnée et pour l'antigène testé, au moins 50% des leptospires sont agglutinés (la lecture est assurée par comparaison avec un antigène témoin qui fixe le seuil de positivité). Le titre seuil de positivité (c'est-à-dire l'inverse de la dernière dilution pour laquelle est observée la réponse positive) est fixé à 100. Cependant, le titre agglutinant est considéré comme significativement corrélé à une réaction sérologique récente s'il est supérieur ou égal à 400.

Il existe une autre méthode qui va consister à réaliser des dilutions successives du sérum à tester en microplaques et à lire les résultats d'agglutination directement dans les cupules de réaction. Les deux méthodes différent par le caractère direct ou indirect de la lecture du test. Des études ont tenté de comparer le M.A.T. traditionnel et celui en lecture directe. Il s'est avéré qu'il n'existait pas de différences significatives en terme de spécificité et de sensibilité entre ces deux méthodes [9].

Il est possible de rencontrer des réactions croisées entre sérovars, ce qui est une limite de la sérologie. Cependant, souvent le titre homologue est supposé être plus élevé que le titre hétérologue. Ces réactions croisées peuvent être expliquées par l'existence de coagglutinines dans le sérum qui sont responsables de l'agglutination d'une même souche pour plusieurs

sérogroupes. Les réactions croisées vont diminuer avec le temps écoulé depuis l'infection ainsi seul un sérum tardif va permettre d'identifier certainement une souche [61].

Les anticorps agglutinants seront des IgM en début de réaction puis plus tardivement deviendront des IgG. Le M.A.T. ne permet pas de distinguer si les anticorps agglutinants sont de type IgM ou IgG.

Il va être intéressant de posséder des commémoratifs cliniques et épidémiologiques joints aux prélèvements car ils vont permettre d'ébaucher une cinétique de l'infection. Dans les cas de suspicion de leptospirose en phase aiguë, il est souvent conseillé d'effectuer une cinétique sur deux prélèvements à 15 jours d'intervalle pour dater plus précisément la date d'infection. Ainsi en cas de cinétique ascendante, on va pouvoir conclure à un stade évolutif de la maladie [28].

Cependant, dans les cas de leptospirose sous forme chronique, les anticorps vont diminuer sur plusieurs mois (entre 3 et 6 mois) et vont pouvoir ensuite persister à des taux résiduels jusqu'à plusieurs années. Ainsi, il ne sera pas pertinent, suite à un épisode abortif, d'effectuer des prélèvements à 15 jours d'intervalle en vue d'établir une cinétique car les titres en anticorps vont être statiques ou décroissants du fait du délai entre l'infection et l'avortement (l'avortement peut se produire dans les deux à dix semaines qui vont suivre l'infection) [28].

Dans ces cas de troubles chroniques, il va être souhaitable de privilégier le diagnostic de troupeau. En effet, le diagnostic individuel est très difficile et notamment dans les cas d'avortements [8]. Pour confirmer une suspicion lors d'avortements, il faudra ainsi tester au moins 10 animaux et au mieux 10% du cheptel [49].

Pour les cheptels vaccinés, l'interprétation de la sérologie va être plus difficile. Cependant, souvent les titres issus de la vaccination auront une valeur inférieure à ceux d'une infection naturelle. La vaccination va produire également une augmentation des anticorps contre de multiples sérovars alors que l'infection naturelle n'entraînera, elle, souvent que la formation d'anticorps ciblés contre un unique sérovar (si l'on excepte l'action des coagglutinines qui, en début d'évolution de la maladie, peuvent entraîner l'agglutination de plusieurs sérovars) [26].

Enfin l'administration de traitements antibiotiques ou corticoïdes va pouvoir moduler la réponse immunitaire humorale et influer ainsi sur la production et la durée d'élaboration des anticorps

testés avec le M.A.T.

Le M.A.T. est une méthode sensible, spécifique et quantitative mais elle est très lourde dans sa réalisation. En effet, elle nécessite l'entretien de nombreuses souches vivantes de leptospires. Peut ainsi se poser le problème de la reproductibilité dans le temps et entre les différents laboratoires. De plus, à part les cas de séroconversions ou ceux présentant une augmentation significative des taux d'anticorps à 15 jours d'intervalle, on ne va pas obtenir de résultats positifs ou négatifs mais ce test va permettre d'établir un profil sérologique qui, couplé à la clinique et à l'épidémiologie, va permettre de pencher ou pas en faveur de l'infection leptospirosique.

D'autres épreuves sérologiques ont été recherchées en vue de faciliter la mise en évidence des anticorps anti-leptospires mais aussi de permettre de détecter plus précocement ces anticorps lors de phase aiguë de leptospirose.

● *Le test ELISA*

L'ELISA (Enzym Linked ImmunoSorbent Assay) est une méthode immunoenzymatique qui se sert d'un marqueur du même nom pour mettre en évidence la liaison anticorps-antigène. L'antigène utilisé à l'origine était issu de la souche *L. biflexa* sérovar *patoc* ayant subi un traitement au formaldéhyde et ayant été chauffée [78]. Il est placé dans des microplaques munies de cupules aux parois adsorbantes et à la dilution souhaitée, cupules dans lesquelles on va ajouter le sérum à tester. Des enzymes telles que la peroxydase, fixées à des anti-IgM, bovins par exemple, sont ensuite ajoutées puis la solution est rincée. La quantité d'anticorps lié à l'enzyme fixé à la cupule est donc proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-leptospires présente dans le sérum. Les résultats de l'ELISA sont objectivés au moyen d'un photomètre [42].

Des études ont été menées pour tester les antigènes utilisés comme réactifs. Ainsi on s'est intéressé aux antigènes provenant de l'enveloppe externe de *L.interrogans sérovar hardjo* types *hardjoprajitno* et *hardjobovis*. Leur utilisation est simple et facile à reproduire. De surcroît, l'utilisation de ces antigènes ne présente pas de risque pour les utilisateurs [96].

Il est possible d'utiliser pour la méthode ELISA des anticorps monoclonaux spécifiques qui vont réagir contre un épitope donné provenant d'anticorps liés aux antigènes testés. Dans l'étude présentée, les antigènes étaient issus de cellules entières tués des sérovars *canicola, copenhageni,*

grippotyphosa, hardjobovis, pomona et *sejroe*. Des études ont montré l'intérêt de ces anticorps monoclonaux dans la réalisation des tests ELISA [97-99, 107]. Ainsi par exemple, l'utilisation d'anticorps monoclonaux de souris dirigés contre des immunoglobulines IgG_1 bovines et conjugués à la peroxydase de raifort a été utilisé et a été incorporé dans un test ELISA qui a montré une sensibilité de 93,5% et une spécificité de 94,7%. De plus, sur des bovins infectés de manière expérimentale, les anticorps ont pu être mis en évidence par cette méthode dès la première semaine suivant l'infection [100].

Notamment, l'ELISA est utilisé pour la détection des sérovars *pomona* et *hardjo* [2] et de nombreux tests ont été commercialisés pour diagnostiquer ces sérovars. Pour le sérovar *grippotyphosa*, la comparaison des tests ELISA et M.A.T. a révélé une sensibilité inférieure de l'ELISA et une spécificité équivalente [77]. Cependant, en dehors du cas du sérovar *grippotyphosa*, cette méthode présente une meilleure sensibilité au M.A.T., elle est de plus facile à réaliser, rapide et objective. Il reste encore à mettre au point des tests ELISA spécifiques d'un antigène donné. Ce test reste donc actuellement essentiellement un test de dépistage mais ne permet pas de mettre en évidence la souche de leptospires responsable de la maladie.

● *La réaction de fixation du complément*

Cette réaction a été mis au point en 1959. Elle utilise en général l'antigène *L. biflexa patoc* merthiolaté. Le test consiste à associer le sérum à tester, le complément et l'antigène puis après incubation du mélange, on y ajoute un système hémolytique révélateur. Ce système hémolytique révélateur comprend des globules rouges et des anticorps anti-globules rouges. La lecture du test est fondée sur l'observation d'une hémolyse, l'absence d'hémolyse signe alors la présence d'anticorps anti-leptospire [42].

Cette méthode est beaucoup moins sensible que le test de microagglutination. Il semble que les anticorps intervenant dans la réaction de fixation du complément ne sont présents que pendant une courte période. Ainsi pour obtenir une réaction de fixation du complément chez les bovins, il faut l'effectuer pendant les dix premiers jours de la maladie [71].

Pour ces raisons, ce test n'est actuellement pratiquement plus usité et se trouve supplanté par l'ELISA.

●*L.A.T. ou latex agglutination test* [83]

Ce test semi-quantitatif est utilisé en médecine humaine et vétérinaire pour la détection des anticorps anti-leptospires. Le principe est de mélanger un volume équivalent de sérum à tester et de particules de latex sensibilisés, après agitation du milieu on va y ajouter du sérum hyperimmun antileptospirosique de lapin comme contrôle positif et comme témoin négatif, on utilise du PBS (solution saline de phosphate tamponné) et du sérum de lapin sain. Des études ont été effectuées en vue de comparer son efficacité à celui du test ELISA. Sur une population de 65 animaux testés de manière indifférenciée (bovins et chiens), 63,1% sont testés positivement avec L.A.T. et 69,2% le sont avec l'ELISA Le test ELISA reste donc plus sensible que le L.A.T. mais la rapidité (les résultats peuvent être obtenus en deux à dix minutes après le début des analyses), la simplicité et le moindre coût du L.A.T. explique l'intérêt de son utilisation pour le dépistage de la leptospirose.

● *Test d'agglutination macroscopique*

Ce test utilise essentiellement le sérovar *patoc*, chauffé et formolé. Il est peu utilisé car réputé peu sensible. Cependant, des études récentes ont montré qu'il avait une sensibilité et une spécificité équivalentes au test ELISA mais qu'il restait cependant réactif moins longtemps post-infection que l'ELISA ou le M.A.T [35, 72]. En effet, le test d'agglutination macroscopique ne détecte que les IgG alors que l'ELISA ou le M.A.T. détecte les IgG mais aussi les IgM [42].

●*MCAT ou micro capsule agglutination test* [42, 61]

Ce test utilisant un polymère synthétique a été démontré comme plus sensible que le M.A.T. ou l'ELISA au cours des premiers jours de la phase de l'infection leptospirosique. L'avantage de cette méthode est qu'elle peut être aisément standardisée d'une espèce à l'autre sans avoir à prendre en compte des modifications quant à la composition du sérum.

Le diagnostic de laboratoire est une étape incontournable dans la mise en évidence de la leptospirose. Les méthodes de mise en évidence par isolement ne sont cependant que difficilement envisageables en pratique car la culture et l'identification des leptospires sont très difficiles à réaliser. La P.C.R. est beaucoup plus fiable. Le problème réside cependant dans la nature du prélèvement à réaliser. Actuellement, il semblerait que, lors d'avortement ce soient les

cotylédons placentaires qui soient les prélèvements de choix.

La méthode de référence reste encore aujourd'hui le M.A.T.. Sa complexité de réalisation a poussé à développer d'autres épreuves sérologiques. C'est le cas de l'ELISA par exemple. La figure 3 présente les différentes techniques utilisables en fonction du stade d'évolution de la maladie.

Quelles que soient les méthodes utilisées, leur interprétation doit être faite en fonction de la situation épidémiologique et clinique. Le profil sérologique du cheptel sera toujours plus pertinent à réaliser et plus fiable à interpréter qu'une sérologie individuelle [22].

Figure 7 : Techniques de diagnostic de laboratoire utilisables en fonction de l'évolution de la maladie.

0100090000037800000002001c0000000000400000003010800050000000b0200000000050000
000c02a402e304040000002e0118001c000000fb02100007000000000bc0200000000102022253797374656d0002e304000080c81100e172c73090c01c000c020000e3040000040000002d0100000400000002010100 1c000000fb02dfff0000000000009001000000000440001254696d6573204e657720526f6d616e0000000000000000000000000000000000040000002d0101000500000009020000000020d000000320a1e0000000100040000000000e204a30220b20f00040000002d010000030000000000

----------→

----------]

Phase immunitaire

Phase aigue : *leptospirémie* *leptospirurie*

Diagnostic direct : **Diagnostic direct :**

Prélèvements : sang, lait Prélèvements : urine, cotyledon, avorton

-Observation -Observation

-PCR -PCR

-culture -culture

-inoculation 10 jours -inoculation

----------→

Sérologie : diagnostic indirect

-M.A.T.

-E.L.I.S.A.

-Fixation du complément

IV- MOYENS DE LUTTE

A- Traitements

1- Traitement antibiotique

En médecine humaine, des études ont été menées pour tester l'intérêt de l'utilisation des antibiotiques dans le traitement de la leptospirose. L'étude des paramètres tels que le temps de retour aux valeurs usuelles des normes biochimiques, la durée de l'hyperthermie ou le taux de mortalité a été utilisée. Il s'est alors avéré qu'il n'existait pas de différence significative entre l'utilisation ou non d'antibiotiques [29]. Cependant, il semblerait que l'utilisation des antibiotiques appropriés durant la phase initiale de la maladie a montré une diminution dans la durée de l'expression des symptômes de la maladie. L'objectif du traitement antibiotique est de lutter contre la mise en place de lésions hépatiques ou de lésions rénales. Ces lésions sont souvent responsables de la mort de l'animal lors d'épisode aigu chez les bovins.

Le traitement antibiotique sera d'autant plus efficace qu'il sera mis en place rapidement après le début de l'infection. En effet, c'est pendant la phase septicémique, durant les douze premiers jours, que l'action des antibiotiques est la plus évidente alors que l'utilisation de ces antibiotiques pendant la phase immunologique n'empêche souvent pas l'excrétion urinaire des leptospires [27]. Compte tenu des caractères épidémiologiques de la leptospirose chez les bovins, il est nécessaire lors de la mise en place de traitements de l'appliquer à l'ensemble des bovins du cheptel [7].

Les leptospires sont, comme nous l'avons vu, des bactéries extrêmement fragiles et notamment aux antibiotiques. Ainsi, jusqu'alors on ne connaît pas de mécanismes de résistances de ces bactéries aussi bien envers les familles d'antibiotiques bactéricides que parmi les familles de bactériostatiques.

In vitro, la gamme d'antibiotiques efficaces contre les leptospires est extrêmement large. L'ampicilline est l'antibiotique qui présente la CMI la plus basse [73].

Rapport-Gratuit.com

Le tableau 4 présente les CMI des différents antibiotiques pour les sérovars *icterohaemorrhagiae* et *hardjo*. Cependant il semblerait que la corrélation entre sensibilité in vitro et in vivo ne soit pas évidente. Cet écart serait vraisemblablement dû à la difficulté qu'ont certains antibiotiques tels que les macrolides par exemple à se concentrer dans les reins, lieu de persistance des leptospires [4].

Tableau 4 : Valeurs des CMI de différents antibiotiques pour les sérovars *icterohaemorrhagiae* et *hardjo* [79]. Ces CMI sont mesurées en µg/ml.

Antibiotiques	Sérovar *icterohaemorrhagiae*	Sérovar *hardjo*
Pénicilline G		<0,8
Pénicilline A : ampicilline		<0,8
Pénicilline A : amoxycilline	$<5.10^{-3}$	
Tétracycline	0,25	1,6- 3,1
Streptomycine		<0,8
Sulfaméthazine		200

L'antibiotique de choix actuel lors d'épisode de leptospirose est la dihydrostreptomycine qui est jusque là le plus efficace et le plus spécifique des antibiotiques [84]. Cet antibiotique est injecté par voie intra-musculaire à la posologie de 25 mg/kg pendant au moins trois jours. La concentration de dihydrostreptomycine dans les reins va permettre d'éliminer les leptospires qui persistent dans les tubules rénaux [4].

L'utilisation des pénicillines G entraîne aussi lors d'épisode aigu, une diminution de la température chez les sujets infectés. Cependant, l'administration de pénicilline G doit se faire à la posologie de 6 millions UI/24h pendant au moins une semaine. Pour une meilleure efficacité des pénicillines G, leurs injections doivent être répétées toutes les 4 heures en début d'évolution. De plus, les pénicillines G sont responsables de nombreux épisodes allergiques. Pour ces raisons,

chez les animaux de rente, la dihydrostreptomycine a donc été préférée aux pénicillines G [27, 29].

Cependant, il se trouve que les antibiotiques de choix que sont actuellement la dihydrostreptomycine et ses dérivés seront bientôt interdits sur les animaux de rente aux Etats-Unis. Dans cette optique, de nombreuses études ont été entreprises en vue de trouver d'autres antibiotiques qui présenteraient la même efficacité contre les leptospires. C'est ainsi que l'amoxycilline, après des études sur le sérovar *hardjo,* semble pouvoir être une alternative pour le traitement antibiotique de la leptospirose chez les bovins [94]. Ceci d'autant que l'amoxycilline possède un cycle entéro-hépatique qui lui permet d'être en contact avec les leptospires dans le foie.

Des études ultérieures réalisées sur le sérovar *hardjo* ont étudié l'efficacité de trois autres antibiotiques que sont la tilmicosine, l'oxytétracycline et le ceftiofur. L'oxytétracycline longue action à la posologie de 20 mg/kg par voie intra-musculaire provoque l'arrêt de l'excrétion de leptospires dans les urines chez des bovins infectés expérimentalement. De même, les urines ne contiennent plus de leptospires chez des animaux traités pendant 5 jours à la dose de 2,2 mg/kg de ceftiofur par voie sous-cutanée. L'utilisation de tilmicosine a donné aussi dans cette étude des résultats très satisfaisants. Sous réserve d'une comparaison économique, ces antibiotiques peuvent alors se révéler intéressants pour remplacer la dihydrostreptomycine [5, 106].

2- Traitement symptomatique

Il va être nécessaire de mettre en place un traitement qui va soutenir les fonctions de l'animal affectées par l'infection. Cette thérapeutique symptomatique comprend des anti-hémorragiques, des hépatoprotecteurs et éventuellement des corticoïdes.

La lutte contre les leptospiroses comprend donc un volet thérapeutique mais, pour diminuer la pression épidémiologique dans l'environnement des animaux infectés, il faut y associer une prophylaxie aussi bien sanitaire que médicale.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

B- Prévention

La prophylaxie comprend à la fois un volet sanitaire et un volet médical qu'il est nécessaire d'associer pour envisager mettre en place une protection efficace contre la leptospirose.

1- Prophylaxie sanitaire

Cette prophylaxie sanitaire va s'articuler autour de plusieurs axes complémentaires.

Dans le cas d'élevage infecté, dans un premier temps, il va être nécessaire de mettre en place une lutte active contre les animaux porteurs pour éviter que ces animaux ne transmettent la maladie [51]. Tout d'abord, il va falloir isoler les animaux porteurs excréteurs. Il s'avère cependant que ces animaux sont pour la plupart sérologiquement muets, cet isolement va donc être difficile à réaliser en pratique. De même, les animaux sains doivent être mis à l'écart des environnements à risque et des sources d'eau. Il est nécessaire de procéder à une désinfection avec du nitrate de chaux des locaux d'élevage et de proposer un traitement médicamenteux à l'ensemble des animaux du cheptel [84].

Dans un second temps, la lutte doit se porter sur l'élimination des réservoirs de la maladie représentés par les espèces de la faune sauvage. La lutte contre les petits mammifères va permettre de limiter le risque de contamination des bovins et va aussi faire diminuer la pression infectieuse dans l'environnement et notamment dans l'environnement hydrique. Cependant, cette lutte contre les réservoirs ne permet jamais d'éliminer totalement le risque causé par la faune sauvage. Les voies de lutte contre ces réservoirs sont de façon pratique des campagnes de dératisation ou de désinfection de l'environnement.

Il va être aussi nécessaire de gérer l'environnement, source de persistance des bactéries excrétées dans le milieu extérieur. Cette gestion va passer par un la mise en place d'un écoulement efficace des eaux usées au sein des stabulations contenant des animaux infectés. De plus, il va falloir aussi assainir les pâtures où se trouvent des animaux excrétant les leptospires. Cet assainissement va comprendre un drainage des pâtures puis l'épandage de substances stérilisantes telles que le nitrate de chaux, la cyanamide calcique ou encore des superphosphates.

La prophylaxie sanitaire compte aussi un volet associé à la gestion du risque lors du transport de

bovins. Ainsi, Selon le code international sanitaire, lors d'échanges internationaux, il doit être procédé à un dépistage sérologique caractérisé par deux tests de microagglutination réalisés à trois semaines d'écart avec une titre seuil de positivité supérieur à 100. Ce dépistage sérologique est associé à deux injections de dihydrostreptomycine à quinze jours d'écart [7]. Cependant, le dépistage sérologique peut poser des difficultés du fait de la grande variabilité des antigènes utilisés dans le M.A.T. d'un laboratoire à l'autre.

Un dernier aspect de cette prévention sanitaire correspond à l'information des acteurs qui participent au contrôle de la maladie tels que les vétérinaires, les médecins, les laboratoires. Il est nécessaire enfin d'alerter les populations à risque du caractère zoonotique de la maladie.

Dans les pays où la pression infectieuse est forte, il est illusoire de compter sur la seule prophylaxie sanitaire pour juguler l'évolution de la maladie. Il faut alors mettre en place une prophylaxie médicale pour permettre une lutte plus efficace et ce, notamment pour permettre de limiter les conséquences économiques de la maladie.

2- Prophylaxie médicale

Dans les zones où la pression infectieuse entraînée par les leptospires est trop forte, la prophylaxie médicale s'avère fort utile pour juguler la leptospirose.

a- Préparation vaccinale

Quelque soit le pays, la préparation vaccinale est toujours établie selon le même modèle. Les vaccins sont obtenus à partir de souches de leptospires cultivés sur un milieu sans albumine. Ces souches sont ensuite inactivées par le phénol ou le formol. Les doses vaccinales sont concentrées à 200 millions de germes par millilitre [102]. Ces doses vaccinales sont ensuite adjuvés à l'aide d'hydroxyde d'aluminium. Des nouveaux vaccins sont actuellement en cours de réalisation qui utilisent des extraits cellulaires comme agents actifs.

Généralement, dans la majorité des cas aux Etats-Unis, le vaccin concerne le sérovar *hardjo* du sérogroupe *Sejroe* (certains de ces vaccins sont répertoriés dans le tableau 5). En effet, actuellement la lutte est surtout centrée contre ce sérovar en raison de son aspect enzootique ; de plus le sérovar *pomona* est aujourd'hui beaucoup moins fréquemment rencontré, sans doute

notamment du fait que les campagnes de vaccination à son égard ont porté leurs fruits [34]. Aujourd'hui, cependant on trouve beaucoup de vaccins comportant plusieurs valences. Ainsi aux U.S.A., on trouve de façon commune des vaccins pentavalents comportant les sérovars *pomona, grippotyphosa, canicola, icterohaemorrhagiae* et *hardjo.*

Tableau 5 : Principaux vaccins disponibles aux Etats-Unis comportant une protection contre le sérovar *hardjo* [106].

	Spirovac®	LeptoBovHB®	VL5 SQ®	Vira Shield 6+L5®
Laboratoire fabricant	Pfizer Animal Health	Scheringh Plough Animal Health	Intervet	Novartis Animal Health
Sérovars *hardjo*	*L. hardjobovis*	*L. hardjobovis*	*L. hardjoprajitno*	*L. hardjobovis*
Origine de la souche	Australie	Australie	Europe	U.S.A.
Association à d'autres valences dans la préparation vaccinale	Oui	Non	Oui	Oui
Durée de l'immunité induite	12 mois	12 mois	Pas de données	Pas de données

Les vaccins utilisés sont tous adaptés à la situation antigénique et donc aux sérovars dominants du pays dans lequel ils vont être utilisés. De même, la vaccination n'est pas réalisable et pertinente dans tous les pays où l'on a diagnostiqué de la leptospirose. Ainsi, la France ne pratique actuellement pas de vaccination contre la leptospirose bovine alors que des pays voisins et/ou européens la pratiquent à grande échelle. C'est le cas de l'Italie, de l'Espagne, des Pays-Bas, du Royaume Uni ou encore du Portugal [18]. Cependant, en France, la situation est différente ; en effet, l'important réservoir que constitue la faune sauvage est omniprésent et des

paramètres tel que le climat par exemple vont influencer l'épidémiologie de la maladie.

Des études épidémiologiques réalisées par Geneviève André-Fontaine et al. ont mis en évidence les trois sérovars prédominants aujourd'hui dans les élevages en France : en tête vient le sérovar *australis*, puis le sérovar *sejroe/hebdomadis* (comprenant le sérovar *hardjo*) et enfin le sérovar *grippotyphosa*. La vaccination si elle était initiée en France devrait donc se servir d'un vaccin comprenant ces trois valences.

Il n'existe donc pas de vaccin pour la leptospirose bovine en France. Cependant dans la lutte contre la leptospirose canine, il existe un vaccin bivalent comprenant les sérovars *ictérohaemorrhagiae* et *canicola*. La différence entre ces sérovars utilisés pour la vaccination canine et la prévalence des sérovars retrouvés lors de leptospirose bovine en France explique l'absence d'utilisation du vaccin canin pour protéger les bovins.

Dans le cas d'un troupeau sain, le protocole vaccinal comprend généralement une primo vaccination composée de deux injections sous-cutanées réalisées chez le jeune à un mois d'intervalle puis d'un rappel vaccinal réalisé tous les ans ou tous les 6 mois [3]. Dans le cas de figure de troupeau en milieu infecté, la vaccination va concerner tous les animaux et la primo vaccination va concerner aussi les adultes. Dans certaines zones aux Etats-Unis, la vaccination de rappel se fait même trois fois dans l'année contre les infections à sérovar *hardjo* [34].

b- Objectifs de la vaccination

Deux buts vont être recherchés lors de l'élaboration et de l'utilisation d'un vaccin. De plus cette vaccination devrait permettre d'associer une lutte contre l'expression clinique de la maladie mais aussi une action contre la contamination rénale par les leptospires et donc l'excrétion urinaire de ces mêmes leptospires [14].

Dans un premier temps, il faut que le vaccin soit à l'origine de l'atténuation voire de la disparition des symptômes et de l'expression clinique de la maladie. C'est ainsi que les troubles de la reproduction entraînés par la leptospirose doivent être jugulés par la vaccination. Des études ont été réalisées aux Etats-Unis et notamment en faisant intervenir un vaccin monovalent dirigé contre *L. borgpetersenii* sérovar *hardjobovis* sur des animaux d'un troupeau positif. Un lot vacciné et un lot non vacciné sont comparés : les performances de reproduction étaient nettement

améliorées dans le lot vacciné et notamment le taux de fécondation en 1ère IA [54]. Dans une autre étude réalisée au Royaume-Uni, dans des élevages positifs, l'incidence des avortements se révèle être significativement différente entre les animaux vaccinés et les animaux non vaccinés: elle est de 0,85% pour le lot d'animaux vaccinés et de 4,95% pour le lot d'animaux non vaccinés [80]. La protection induite est cependant sérogroupe dépendante. Il faut donc veiller à utiliser des vaccins contenant les bonnes souches.

Dans un second temps, on recherche un vaccin qui limite le portage et l'excrétion des leptospires. Cet objectif est difficile à réaliser. De nombreuses études ont révélé qu'aux U.S.A. la vaccination contre la leptospirose ne protégeait pas contre l'infection rénale par les leptospires et n'empêchait pas l'excrétion de ces bactéries dans les urines [34]. De plus, même dirigés contre un même sérovar, tous les vaccins ne possèdent pas tous la même efficacité surtout quand il s'agit de leur capacité à « blanchir » les urines des animaux infectés. D'autres études [33] ont comparé l'efficacité du vaccin de référence utilisé aux Etats-Unis contre le sérovar *hardjo* et un autre vaccin commercial utilisé aussi aux Etats-Unis contre ce même sérovar *hardjo*. Seize semaines après vaccination, les animaux de l'étude ont été inoculés par voie conjonctivale ou intrapéritonéale. Tous les animaux vaccinés avec le vaccin de référence présentent des leptospires dans leurs urines, signe de l'infection rénale par les bactéries (examen des urines une à deux fois par semaine pendant onze à quatorze semaines après inoculation). Dans le cas des animaux vaccinés, avec le vaccin commercial, il n'a été mis en évidence aucune trace de leptospires dans les urines de ces animaux. De plus les animaux vaccinés avec le vaccin commercial possèdent des titres en anticorps beaucoup plus élevés que les titres des animaux vaccinés avec le vaccin de référence [33]. Ces comparaisons vaccinales, en particulier sur l'inhibition de l'excrétion, prêtent à polémiques et leur compréhension nécessite encore des éclaircissements objectifs [50].

Les vaccins présents actuellement sur le marché impliquent à la fois une immunité humorale induite et une immunité cellulaire. Ce volet cellulaire est essentiellement apporté par les adjuvants du vaccin qui induisent pendant plusieurs mois après la vaccination une réponse de type Th1 caractérisée par la production d'interféron gamma par les cellules T. Cette réponse serait à l'origine d'une protection croisée entre sérovars plus étendue [23].

V- ASPECT ZOONOTIQUE

A- Epidémiologie

Les leptospiroses humaines semblent ne concerner qu'une population très réduite. En effet, si l'on se réfère à une étude de 1983, elles ne concernent, en France, que 443 cas diagnostiqués par sérologie positive [27]. D'autres études réalisées par le C.N.R. (Centre National de Référence : l'Institut Pasteur) entre 1988 et 2003 ont révélé une incidence de cas située entre 250 à 450 cas par an [85]. Cependant, il semble que les leptospiroses humaines soient beaucoup plus fréquentes que les relevés statistiques ne le laissent paraître. En effet, cette maladie est largement sous-diagnostiquée chez l'Homme : d'une part, les cliniciens ne pensent pas toujours à cette hypothèse diagnostique, d'autre part, la fréquence des formes anictériques complique encore la mise en évidence de la leptospirose.

La leptospirose est actuellement reconnue en France comme une maladie professionnelle. Les activités à risque comprennent notamment des activités qui exposent à un contact direct avec les animaux réservoirs. C'est le cas pour les éleveurs, les vétérinaires ou encore les personnels d'abattoir. Dans la population touchée par la leptospirose, 80% est de sexe masculin. De plus parmi les personnes atteintes, 30% exercent une activité à risque. Parmi les personnes atteintes exerçant une activité à risque, 50% sont issues de l'agriculture ou de l'élevage [85].

Les sérovars les plus impliqués en France dans les formes humaines de leptospirose sont *icterohaemorrhagiae* dans 37% des cas, *grippotyphosa* dans 23% des cas et enfin *australis* dans 8% des cas. La fréquence de ces sérovars varie cependant beaucoup d'un pays à l'autre [27].

Les animaux d'élevage représentent un réservoir important et jouent donc un rôle non négligeable dans la contamination humaine par la leptospirose. Ainsi sur 90 personnes contaminées par la leptospirose suite à des contacts avec des animaux réservoirs, 15 avaient contracté la leptospirose par contacts avec des bovins [15]. D'autre part, si l'on se réfère à l'étude épidémiologique réalisée en France en 2004 sur 2300 bovins présentant des troubles de la reproduction, 17% se

Rapport-Gratuit.com

sont révélés positifs à l'issue de test de microagglutination (M.A.T.). L'exposition des éleveurs aux animaux porteurs susceptibles de transmettre la leptospirose ne peut donc pas être qualifiée de rare [43].

Sur des études réalisées à l'étranger, il s'est avéré que la leptospirose est actuellement une maladie en progression manifeste. Ainsi aux USA, cette maladie appelée « maladie des laitiers » (éleveurs laitiers) possède un réel potentiel de progression [1]. Cependant, dans d'autres études réalisées aux Pays-Bas, les conclusions ne sont pas aussi alarmantes ; en effet, sur 102 vétérinaires testés sérologiquement pour la leptospirose, aucun n'a montré d'anticorps contre les leptospires [45].

B- Symptomatologie

La leptospirose est une maladie qui possède des formes multiples d'expression. Cependant, il peut déjà être dégagé deux formes principales de manifestation de la maladie qui sont toutes deux des formes aiguës. Ainsi, on trouve une première forme d'expression caractérisée par une expression biphasique et appelée communément forme anictérique et une forme fulgurante ou forme ictérohémorragique [29]. Dans des études réalisées sur des populations humaines, on rapporte, sur l'ensemble des cas de leptospirose diagnostiqués, que 29,4 % de formes fulgurantes.

a- Forme biphasique

Dans le cas de la forme biphasique, il va exister une phase initiale au cours de laquelle la bactériémie va se mettre en place sans pour autant avoir de symptômes associés. Cette phase d'incubation va s'étaler sur une période de 7 à 15 jours. La deuxième phase va ensuite se manifester par des symptômes extrêmement divers. Ainsi certains patients ne vont pas déclarer de symptômes et la leptospirose reste alors chez eux au stade subclinique. De nombreux patients développent un syndrome pseudo grippal, qui se caractérise par de la fièvre, des nausées, des malaises, des douleurs musculaires et de l'hyperhémie conjonctivale. L'épisode va durer pendant deux à trois jours puis s'interrompre sans laisser de séquelles [18]. Cependant dans certains cas de figure, ce syndrome pseudo grippal peut être suivi par une aggravation brutale des symptômes qui peut viser de multiples organes comme le foie, le système nerveux et/ou le système respiratoire.

b-Forme ictérohémorragique

Une forme extrêmement sévère et suraiguë de la leptospirose est appelée syndrome de Weil. Ce syndrome peut se manifester dans un second temps au cours d'un épisode biphasique ou comme un épisode unique et progressif. Cette forme, qui touche entre 5 et 10% des malades, est caractérisée par un ictère généralisé associé à une insuffisance rénale et des hémorragies multiples. Les valeurs biochimiques se trouvent fortement modifiées : la bilirubinémie est fortement augmentée (le temps pour qu'elle retrouve une valeur normale peut se compter en semaines), les taux sanguins en transaminases restent à des valeurs plutôt modérées alors que l'on assiste en parallèle à une diminution des concentrations en phosphatases alcalines. L'ictère ne semble d'ailleurs pas dû à l'atteinte des hépatocytes, mais plutôt à la cholestase entraînée par l'infection [29]. Le foie peut cependant en cas d'issue favorable à la maladie retrouver un fonctionnement normal sans séquelles.

Une insuffisance rénale est retrouvée dans 16 à 40% des cas de formes ictérohémorragiques. Cette insuffisance n'est habituellement pas accompagnée d'oligurie. On note cependant la présence d'hématurie, de protéinurie et de leucocyturie, signes d'une néphrite. L'oligurie est d'ailleurs un facteur aggravant qui, lorsqu'elle se manifeste, est souvent annonciatrice du décès du patient. Les taux d'amylase sont fréquemment augmentés lors d'épisodes d'insuffisance rénale mais les signes cliniques de pancréatite ne sont que rarement présents (même s'ils sont possibles). Dans ce cas de figure, le patient manifeste une hyperthermie élevée associé à une douleur dans le quadrant supérieur droit de l'abdomen. Le diagnostic doit être différencié de la pancréatite ou de la cholécystite.

Des manifestations hémorragiques sont fréquentes. Des troubles de la coagulation suite à une thrombocytopénie se développent chez 50% des patients présentant des formes ictérohémorragiques. Il ne semble pas que la thrombocytopénie soit la résultante d'un processus pathologique de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) [29]. Cette thrombocytopénie associée à des atteintes endothéliales est à l'origine d'hémorragies pulmonaires, digestives, d'épistaxis, voire de purpura [61].

Des méningites peuvent se déclarer dans un quart des formes ictérohémorragiques. Les symptômes se manifestent dans un premier temps par une diminution des perceptions sensorielles

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

puis ensuite par des symptômes plus classiques lors de méningite : maux de tête, vomissements, et des signes d'irritations des méninges…A l'examen du LCR, on va noter une concentration en protéines augmentée, un taux de glucose normal et une pleïocytose des lymphocytes.

Les symptômes pulmonaires peuvent être présents dans 20 à 70% des formes ictérohémorragiques. Les symptômes peuvent aller de la toux jusqu'au syndrome de détresse respiratoire de l'adulte en passant par l'hémoptysie et la dyspnée. Les troubles pulmonaires ne sont pas rattachés à la présence d'un ictère ; cependant, il faut noter que la dyspnée ou encore l'infiltration alvéolaire sont d'un mauvais pronostic et sont les signes (entre autres) d'une leptospirose sévère.

Les troubles cardiaques dus à l'infection par les leptospires sont sûrement plus fréquents que cela n'est rapporté dans la littérature. On va ainsi pouvoir trouver des anomalies sur l'électrocardiogramme telles que des inversions de l'onde T ou un allongement du segment S-T.

Quasiment tous les patients souffrant de leptospirose aiguë sont sujets à de sévères douleurs musculaires. La plupart de ces patients souffrent de rhabdomyolyse. Les mécanismes à l'origine de cette rhabdomyolyse sont actuellement encore mal connus : on suspecte que les leptospires, au cours de l'infection, puissent libérer des toxines à l'origine de la lyse musculaire ou encore que la présence des leptospires dans les fibres musculaires soit à l'origine d'un processus inflammatoire destructif [29].

L'atteinte oculaire la plus fréquente lors de leptospirose est l'uvéite. Elle peut se manifester jusqu'à dix mois après la phase aiguë de leptospirose. Cette uvéite peut entraîner une cécité pouvant être irréversible. La pathogénie de l'uvéite lors de leptospirose a souvent été expliquée par un dysfonctionnement immunitaire. Cependant, il a été possible de mettre en évidence des leptospires par PCR dans l'humeur aqueuse de patients souffrant d'uvéite. D'autres manifestations oculaires peuvent aussi se manifester lors de leptospirose : choriorétinite, inflammation du nerf optique ou encore œdème de la papille [29]. Des cataractes peuvent également être observées dans de rares cas [61].

Les formes aiguës à suraiguës prédominent donc dans le tableau clinique des leptospiroses humaines. Les formes subaiguës et chroniques ne sont quasiment pas décrites chez l'homme.

Les signes associés à un mauvais pronostic sont présentés dans le tableau 6.

La leptospirose peut se révéler mortelle en l'absence d'un diagnostic associé à un traitement précoce. Suivant les pays, les taux de létalité s'échelonnent entre 2 et 20% de la population de malades. Cependant, lors de rémission, après une longue convalescence, les organes les plus touchés dans la majorité des cas (le foie et les reins) ne gardent pas de séquelles de l'épisode de leptospirose.

Tableau 6 : Bilan des symptômes associés à un mauvais pronostic chez l'Homme

Symptômes associés à un mauvais pronostic
Infiltration alvéolaire
Dyspnée
Thrombocytopénie
Oligurie
Concentration de créatine supérieure à 265 µmol/L
Taux de potassium supérieur à 4 mmol/L

C- Modèle de transmission

Chez les animaux atteints de leptospirose, de nombreuses voies peuvent être à l'origine de la transmission de la maladie. Les sécrétions issues de l'utérus d'un animal infecté sont contaminantes pour l'homme. Ainsi en cas d'avortement, l'avorton mais aussi les sécrétions utérines ainsi que le placenta sont une voie de contamination éventuelle au cours de leur prise en charge mais aussi au cours de manœuvre obstétricale. Le lait peut aussi être une voie de contamination pour l'homme. Cependant, il faut rappeler que, chez les bovins, la maladie s'accompagne fréquemment chez les femelles d'une chute de production laitière, ce qui diminue les risques de transmission par ce fluide. Cependant, la matière contaminante majeure reste l'urine dans laquelle on peut retrouver des leptospires plusieurs mois après l'infection de l'animal excréteur [66].

Le mode de pénétration des leptospires est le passage des barrières cutanéo-muqueuses. C'est ainsi que les leptospires peuvent traverser les muqueuses, même saines, lors de contacts longs. Ce sont les muqueuses buccales, nasales ou oculaires qui sont le plus souvent en cause. L'infection par voie cutanée se fera sur des sites de lésions cutanées comme par exemple des plaies, des excoriations ou de la peau macérée [85].

La contamination peut être directe ou indirecte. Dans le cas d'une contamination directe, l'homme va s'infecter au contact de l'animal excréteur. Cette contamination se fait par le contact avec des sécrétions contenant des leptospires lors de palpations vaginales des bovins ainsi que lors de la manipulation de produits infectés (avortons, placenta…) mais aussi par le biais d'aérosols, d'urine par exemple. Il est aussi possible pour l'homme de s'infecter au contact d'animaux de la faune sauvage ou de carnivores domestiques (chiens de chasse). Le mode de contamination le plus fréquent est la voie indirecte. Dans ce cas de figure, l'homme va s'infecter au contact de l'environnement souillé par des animaux infectés. Il est intéressant de noter que les pics de l'infection correspondent souvent à des saisons avec une pluviométrie élevée qui ont pour conséquence un mauvais drainage des pâtures et donc une persistance d'eau stagnante au contact des bêtes, condition propice à la survie des leptospires [66].

Un cas de transmission d'homme à homme verticale a été publié. Dans ce cas de figure, une jeune femme a été infectée par la leptospirose. Elle a donnée naissance à un enfant qui a déclaré à

son tour un épisode de leptospirose 21 jours après le pic de bactériémie de sa mère. Des leptospires ont été retrouvés dans le lait de la mère qui a allaité son enfant au cours de la phase bactériémique de la maladie. L'hypothèse de transmission par le lait lors de l'allaitement est donc vraisemblablement l'explication de la transmission de la leptospirose de la mère à son enfant [31].

D- Maîtrise des risques

La maîtrise des risques va passer par une lutte constituée de deux volets majeurs. En premier lieu, les mesures de lutte vont s'attaquer à l'émission des leptospires. Cette phase va comporter notamment une lutte active contre les réservoirs de la maladie. Dans un second temps, la lutte va s'attacher à éviter la contamination humaine par la leptospirose.

1-Lutte contre les réservoirs

Cette action va d'abord consister en une lutte sévère contre les réservoirs sauvages essentiellement constitués par les rongeurs sauvages. C'est ainsi qu'il va être préconisé de dératiser de façon périodique les bâtiments d'élevage, de protéger les locaux de stockage d'aliments, de drainer les zones humides et les terrains marécageux aux abords des locaux d'élevage ou au sein des pâtures, de nettoyer avec des désinfectants iodés les surfaces et les sols souillés par de l'urine de rongeurs.

En ce qui concerne les réservoirs domestiques constitués notamment par les bovins, il va être intéressant de réaliser un abreuvement des animaux avec de l'eau potable dans des bacs, plutôt que de laisser les bovins s'abreuver dans des sources naturelles ou des eaux stagnantes où la concentration de leptospires peut être très importante. Les espèces domestiques doivent être tenues séparées au sein des bâtiments et des pâtures. Dans le cas d'avortements, une attention très spécifique doit être portée à la gestion des matériaux issus de l'avortement tels que le placenta, l'avorton ou encore les écoulements génitaux. Ces mesures passent par l'élimination systématique des placentas, avortons, écoulements génitaux et par un curage des litières en contact avec les matières organiques souillées. Les animaux ayant avorté doivent être isolés du reste du cheptel pour éviter les contaminations au sein du troupeau mais aussi avec les hommes.

Pour les animaux issus de cheptels infectés, une antibiothérapie à base de pénicillines ou de cyclines va permettre de limiter l'excrétion des leptospires dans le milieu extérieur. Ce traitement va aussi dans le même temps guérir les animaux malades. Ce traitement va permettre de réduire l'expression clinique de la maladie mais ne va cependant pas permettre de contrôler l'infection. L'administration de streptomycine à but prophylactique va permettre de réduire l'excrétion et le portage des leptospires même si l'efficacité ne concerne pas tous les sérovars (comme le sérovar *hardjo* par exemple). La vaccination n'est pas employée en France pour les animaux de rente mais seulement pour les chiens. Les sérovars employés pour la vaccination du chien (sérovar *canicola* et *icterohaemorrhagiae*) ne protégent pas contre les sérovars les plus fréquents à l'origine de leptospirose chez les bovins.

2- Lutte contre la contamination humaine

Cette lutte repose essentiellement sur la mise en place de mesures d'hygiène. Associées à ces mesures d'hygiène, il est nécessaire d'insister sur l'information et la formation des personnes exposées ou à risque.

Dans le cadre d'une activité à risque, il va être nécessaire d'appliquer scrupuleusement des mesures sanitaires. Ainsi, pour les vétérinaires et les éleveurs de bovins, le port de gants doit être systématique lors de soins à des animaux malades. Ces gants sont notamment indispensables lors de sondage urinaire, de manipulation obstétricale ou lors de manipulation de placenta ou d'avorton suite à un épisode d'avortement. Si l'on est amené à manipuler ou à entrer en contact avec des urines ou des eaux souillées, il est nécessaire de porter des vêtements de protection qui doivent être changés régulièrement. Lors de la manipulation de bovins, les plaies cutanées doivent être protégées au moyen de pansements imperméables. Après cette manipulation, les mains et les bras doivent être nettoyés à l'eau et au savon [85].

Comme pour le vaccin vétérinaire, le vaccin humain ne protége que contre un seul sérovar éventuellement transmis par les bovins : le sérovar *icterohaemorrhagiae*. La vaccination doit donc être raisonnée et adaptée au cas par cas. Ainsi, la vaccination n'est pas recommandée de manière systématique chez les vétérinaires.

Le traitement antibiotique à la suite d'une exposition ou d'un contact avérés avec des bovins

infectés est possible. On peut utiliser des pénicillines à la dose de 2 millions U.I. toutes les 8 heures par voie intra-veineuse pendant une semaine. Ce traitement est actif à la fois contre les stades précoces et tardifs de la maladie. L'ampicilline par voie orale est aussi un bon traitement lors de mise en place précoce [78]. Enfin le traitement à la doxycycline semble lui aussi apporter de bons résultats. Il n'est cependant pas prouvé qu'un traitement préventif à base de doxycycline puisse avoir un intérêt en pratique.

E- Surveillance des cas de leptospiroses humaines

Les leptospiroses constituent aussi un risque en terme de santé humaine. Ainsi cette maladie est à l'origine de nombreux cas humains dont certains s'avèrent létaux.

Les leptospiroses humaines ne sont plus des maladies à déclarations obligatoires depuis 1986. Cependant, cette maladie reste une maladie professionnelle dont la liste est consultable sur le site de l'INRS (Institut Nationale de Recherche et de Sécurité). Les métiers concernés par les infections à *Leptospira interrogans* sont ainsi consultables dans les tableaux 5 et 19A des maladies professionnelles (annexe 1 et 2). Des fiches pratiques sur les principales zoonoses rencontrées en milieu professionnel sont établies pour répondre aux interrogations des travailleurs exposés. L'objectif de ces fiches est d'aider à l'évaluation des risques et de présenter des mesures de prévention applicables, y compris les principales consignes d'hygiène.

Il est intéressant de noter que l'association de mesures hygiéniques simples ainsi que l'information efficace et ciblée des populations à risques permettent d'éviter de nombreux cas humains, notamment dans les populations d'éleveurs et de vétérinaires.

CONCLUSION

La leptospirose est actuellement en France une affection assez fréquente mais très difficile à diagnostiquer. L'examen clinique ne permet que rarement d'établir un diagnostic fiable. L'amélioration du diagnostic repose éventuellement sur une utilisation plus large de la PCR qui permet une mise en évidence simple, efficace et relativement peu onéreuse.

L'impact de cette maladie au sein des cheptels bovins français reste cependant difficile à apprécier réellement car la recherche de leptospires n'est que rarement demandée par les praticiens et ceci souvent faute de moyens financiers ou d'hypothèse diagnostique.

Les formes aiguës de leptospirose doivent être suspectées lors d'affections comportant les symptômes suivants (seuls ou associés) : ictère ou hémoglobinurie. Le syndrome de chute en lait, l'hyperthermie ou encore la méningite, lorsqu'on les retrouve associés, font aussi partie des symptômes devant faire penser à une forme de leptospirose aigüe.

Par ailleurs, lors de troubles multifactoriels tels que les baisses de performances de reproduction (infertilité, avortement, naissance de foetus mort-né…), le praticien devra penser à inclure dans son diagnostic différentiel les formes chroniques de leptospirose

Rapport-Gratuit.com

BIBLIOGRAPHIE

1. Leptospirosis cases rising in United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1998, **212**(4), 472.

2. ADLER, B., D.V. COUSINS, S. FAINE and M. ROBERTSON, Bovine IgM and IgG response to Leptospira interrogans serovar hardjo as measured by enzyme immunoassay *Vet. Microbiol.*, 1982, **7**, 577-585.

3. ALLEN, J.D., C.L. MENEY and C.R. WILKS, Evaluation of hardjo-pomona vaccine to prevent leptospira in cattle exposed to a natural challenge with Leptospira interrogans serovar hardjo *Aust. Vet. J.*, 1982, **58**, 93-96.

4. ALT, D.P. and C. BOLIN, Preliminary evaluation of antimicrobial agents for treatment of Leptospira interrogans serovar infection in hamsters and swine *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 59-62.

5. ALT, D.P., R.L. ZUERNER and C.A. BOLIN, Evaluation of antibiotics for treatment of cattle infected with Leptospira borgpetersenii serovar hardjo. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* 2001, **219**(5), 636-639.

6. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and A. BOUKERROU, Données actuelles sur la leptospirose des animaux d'élevage 1- étiologie, symptômes, épidémiologie. *Rev. Méd. Vét*., 1985, **136**, 627-637.

7. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and A. BOUKERROU, Données actuelles sur la leptospirose des animaux d'élevage: 2- lutte, diagnostic, dépistage, prophylaxie. *Rev. Méd. Vét.*, 1985, **136**, 693-700.

8. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and M.A. QUINIOU, Prévalence des anticorps antileptospirosiques chez les bovins chez les bovins en Loire-Atlantique: 1- Etude comparative dans des cheptels avec et sans antécédent abortif. *Rec. Méd. Vét.*, 1988, **164**, 391-395.

9. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and M.A. QUINIOU, Sérologie des leptospiroses animales: qualités analytiques comparées de la technique à lecture directe en microplaques et de la technique en plaques à lecture sur lame. *Bull. lab. Vet*., 1988, **29/30,** 63-69.

10. ANDRE-FONTAINE, G. and J.P. GANIERE, *Encycl. Vét.: médecine générale. Leptospirose canine*. 1992: Ed. Paris: Technique, 1-7.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

11. ANDRE-FONTAINE, G. and N. RUVOEN CLOUET, Rapport d'activité diagnostique leptospirose 1999. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 1999, 7p.

12. ANDRE-FONTAINE, G., N. RUVOEN CLOUET, I. SUARD and C. FILLONNEAU, Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2000. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2000, 8p.

13. ANDRE-FONTAINE, G., Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2001. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2001, 8 p.

14. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and N. RUVOEN CLOUET, Impact de la leptospirose en reproduction bovine. *Vet repro.*, 2001, 43-46.

15. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and N. RUVOEN CLOUET, Les zoonoses infectieuses des animaux de rente. *Méd. Mal. Infect.,* 2001, **31**(2), 143-158.

16. ANDRE-FONTAINE, G., I. SUARD, C. FILLONNEAU and L. CHERRUAUD, Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2002. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2002, 10p.

17. ANDRE-FONTAINE, G., I. SUARD and C. LEFUR, Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2003. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2003, 10p.

18. ANDRE-FONTAINE, G., Leptospirose, in *Principales maladies infectieuses et parasitisme du bétail, Europe et régions chaudes. Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires* P.C. LEFEVRE, J. BLANCON, and R. CHERMETTE, Editors. 2003, édition Paris : TEC et DOC, 993-1005.

19. ANDRE-FONTAINE, G., C. LEFUR, J. BELLIN and L. MENARD Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2004. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2004, 10p.

20. ANDRE-FONTAINE, G., C. LEFUR, J. BELLIN and C. ROBAST, Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2005. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2005, 11p.

21. ANDRE-FONTAINE, G., C. LEFUR, J. BELLIN, S. ROCHEREAU, F. AVIAT and S. RAVELOARISOA, Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2006. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2006, 11p.

22. ANDRE-FONTAINE, G. KODJO, A. Leptospiroses et troubles de la reproduction. *Journées Nationales des GTV*. Nantes*,* 23-25/05/2007. Paris, 327-330.

23. ANDRE-FONTAINE, G. La leptospirose bovine. Intérêts de la vaccination dans la lutte. *Journées nationales des GTV*. Nantes, 23-25/05/2007, Paris, 330-334.

24. AURAN, N.E., R.C. JOHNSON and D.M. RITZI, Isolation of the outer sheath of Leptospira and its immunogenic properties in hamster. *Infect. Immun.*, 1972, **5**(6), 968-975.

25. BARNETT, J.K., D. BARNETT, C.A. BOLIN, T.A. SUMMERS, E.A. WAGAR and N.F. CHEVILLE, Expression and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infect. Immun.*, 1999, **67**(2), 853-861.

26. BARR, B.C. and M.L. ANDERSON, Infectious diseases causing bovine abortion and foetal loss *Vet. Clinic North Am.: food animal practice*, 1993, **9**, 343-368.

27. BERCHE, P., *Leptospires. Bactériologie médicale. 2ème édition*. 1989, Ed. Paris : Flammarion médecine et science, 1046-1057.

28. BERGER, E., *Contribution à l'étude des avortements d'origine infectieuse non brucellique chez les bovins: étude rétrospective dans les Groupements de Défense Sanitaire des Côtes d'Armor, de la Côte d'Or, de la Loire-Atlantique et de la Manche* Thèse Méd. Vét. ENVA, 1999, N°46, 117 p.

29. BHARTI, A.R., J.E. NALLY, J.N. RICALDI, M.A. MATTHIAS, M.M. DIAZ, M.A. LOVETT *et al.*, Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *the Lancet, infectious disease 2003*, **3**, 57-771.

30. BIELANSKI, A., O. SURUJBALLI, E. GOLSTEYN THOMAS and E. TANAKA, Sanitary status of oocytes and embryos collected from heifers experimentally exposed to Leptospira borgpetersenii serovar hardjobovis. *Anim. Reprod. Sci.*, 1998, **54**(2), 65-73.

31. BOLIN, C.A. and P. KOELLNER, Human-to-human transmission of Leptospira interrogans by milk. *J. Infect. Dis.*, 1988, **158**(1), 246-247.

32. BOLIN, C.A., Diagnosis of leptospirosis: a re-emerging disease of companion animals. *Semin. Vet. Med. Surg*., 1996, **11**, 166-171.

33. BOLIN, C.A. and D.P. ALT, Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to Leptospira borgpetersenii serovar hardjo. *Am. J. Vet. Res.,* 2001, **62**(7), 995-1000.

34. BOLIN, C., Vaccination for leptospirosis: does it pay? *Cattle Practice,* 2005, 4-5.

35. BRANDAO, A.P., E.D. CAMARGO, E.D. da SILVA, M.V. SILVA and R.V. ABRAO, Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis. *J. Clin. Microbiol*., 1998, **36**, 3138-3142.

36. CHANG, A. and S. FAINE, Electron-microscopic evidence for reactions of axial filaments of leptospira with IgM and IgG antibodies. *Bull. W.H.O*., 1970, **43**, 571-577.

37. CINCO, M., Culture des leptospires. *Méd. Mal. Infect*., 1981, **11**(12), 57-59.

38. DEAS, W., Non-Brucella abortion in cattle. *In practice*, 1981, **3**, 14-19.

39. DHALIWAL, G.S., R.D. MURRAY and W.A. ELLIS, Reproductive performance of dairy herds infected with Leptospira interrogans serovar hardjo relative to the year of diagnosis. *Vet. Rec.,* 1996, **138**(12), 272-276.

40. DHALIWAL, G.S., R.D. MURRAY, H. DOBSON and W.A. ELLIS, *Effect of Leptospira interrogans serovar hardjo infection on progesterone concentrations in heifers.* Vet. Rec., 1997, **140**(1), 19-20.

41. DIKKEN, H., *Diagnostic direct des leptospiroses humaines. Méd. Mal. Infect*, 1981, **11**(2), 95-99.

42. DRUGEOT, T., *Diagnostic sérologique de la leptospirose bovine: étude expérimentale d'une microagglutination simple à l'aide d'une souche vivante de Leptospira biflexa*, Thèse Méd. Vét. ENVN, 1988, N°74, 51 p.

43. DUFOUR, B. and E. COLLIN, Risques de zoonoses pour les éleveurs de bovins. *Bulletin des GTV* 2006, **33**, 75-79.

44. EAGLESOME, M.D. and M.M. GARCIA, Disease risks to animal health from artificial insemination with bovine semen. *Rev. Sci. Tech.*,1997, **16**(1), 215-25.

45. ELBERS, A.R., U. VECHT, A.D. OSTERHAUS, J. GROEN, H.J. WISSELINK, R.J. DIEPERSLOOT et al., Low prevalence of antibodies against the zoonotic agents Brucella abortus, Leptospira spp., Streptococcus suis serotype II, hantavirus, and lymphocytic choriomeningitis virus among veterinarians and pig farmers in the southern part of The Netherlands. *Vet. Q,* 1999, **21**(2), 50-54.

46. ELLIS, W.A., Manifestations cliniques des leptospiroses chez le bétail. *Méd. Mal. Infect*., 1981, **11**, 84-85.

47. ELLIS, W.A., J.J. O'BRIEN and J. CASSELS, Role of cattle in the maintenance of Leptospira interrogans serotype hardjo in Northern Ireland. *Vet. Rec.*, 1981, **118**, 555-557.

48. ELLIS, W.A., J.J. O'BRIEN, S.D. NEIL, H.W. FERGUSON and J. HANNA, Bovine leptospirosis: Microbiological and serological findings in aborted fetuses. *Vet. Rec.*, 1982, **110**, 147-150.

49. ELLIS, W.A., Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clinic North Am.: food animal practice*, 1994, **10**, 463-478.

50. ELLIS, W.A., Leptospirosis, its control, past, present and future. *Cattle practice*, 1999, **7**(1), 53-54.

51. FAINE, S., B. ADLER, C. BOLIN and P. PEROLAT, *Leptospira and leptospirosis*. 2nde ed. Melbourne: MediSci, 1999.

52. GILES, N., S.C. HATHAWAY and A.E. STEVENS, Isolation of Leptospira interrogans serovar hardjo from a viable premature calf. *Vet. Rec.*, 1983, **113**, 174-176.

53. GREENE Dr Vidt's Website, Septembre 2001 [www.drjwv.com/newsletter/img/lepto.jpg], (consulté le 03 septembre 2007).

54. GUARD, C.L., Field trial of vaccination against Leptospira borgpetersenii serovar hardjo bovis in a single new york dairy herd. *Proceeding of 39th animal convention of American Association of Bovine Practitionner Association*. 21-23/09/2006, Saint Paul, Minnesotta, **40**, 160-161.

55. GUITIAN, J., M.C. THURMOND and S.K. HIETALA, Infertility and abortion among first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for Leptospira interrogans serovar hardjo. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* 1999, **215**(4), 515-518.

56. HATHAWAY, S.C., T.W.A. LITTLE and A.E. STEVENS, Serological survey of leptospiral antibodies in sheep from England and Wales. *Vet. Rec.*, 1982, **110**, 99-101.

57. HEINEMANN, M.B., J.F. GARCIA, C.M. NUNES, Z.M. MORAIS, F. GREGORI, A. CORTEZ *et al.*, Detection of leptospires in bovine semen by polymerase chain reaction. *Aust. Vet. J.,* 1999, **77**(1), 32-34.

58. HEINEMANN, M.B., J.F. GARCIA, C.M. NUNES, F. GREGORI, Z.M. HIGA, S.A. VASCONCELLOS *et al.*, Detection and differentiation of Leptospira spp. serovars in bovine semen by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. *Vet. Microbiol.,* 2000, **73**(4), 261-267.

59. HOVIND-HOUGEN, K., Morphologie des leptospires. *Méd. Mal. Infect*., 1981, **11**, 60-70.

60. KIKTENKO, V.S., N.G. BALASHOV and V.N. RODINA, Leptospirosis infection through insemination of animal.. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. and Immunol*., 1976, **20**, 207-213.

61. KOSOSSEY-VRAIN, C., *La leptospirose canine: revue bibliographique*, Thèse Méd. Vét. ENVA, 2004, N°135, 150p.

62. KUMAR, A.S., P. RAMADASS and K. NACHIMUTHU, Use of Polymerase Chain Reaction for the detection of leptospires in clinical samples. *Ind. Vet. J.,* 2001, **78**, 1087-1090.

63. LAJEUNESSE, J. and R. DIFRUSCIA, La leptospirose: une zoonose en réémergence. *Méd. Vét. Québec*, 1999, **29**(4), 209-210.

64. LANGSTON, C.E. and K.J. HEUTER, Leptospirosis, a re-emerging zoonotic disease. *Vet. Clinic North Am.,* 2003, **33**, 791-807.

65. LEVETT, P.N., Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, **14**, 296-326.

66. MAHY, B.W. and C.C. BROWN, Emerging zoonoses: crossing the species barrier. *Rev. Sci. Tech.,* 2000, **19**(1), 33-40.

67. MASRI, S.A., P.T. NGUYEN, S.P. GALE, C.J. HOWARD and S.C. JUNG, A polymerase chain reaction assay for the detection of Leptospira spp. in bovine semen. Can *J. Vet. Res.,* 1997, **61**(1), 15-20.

68. MATHON, F., *Les avortements à leptospire chez les bovins*. Thèse Méd. Vét. ENVT, 1979, N°64, 55 p.

69. MERIEN, F., G. BARANTON and P. PEROLAT, Comparaison of Polymerase Chain Reaction with Microagglutination Test and Culture for diagnosis of leptospirosis. *J. Infect. Dis., 1995,* **172**, 281-285.

70. MURRAY, R.D., Update on leptospira infections in farm animals. *Cattle Practice,* 1999, **7**(1), 55-57.

71. NICOLESCU, M., Diagnostic indirect des leptospiroses humaines. *Méd. Mal. Infect,* 1981, **11**(2), 102-104.

72. NICOLESCU, M., La réaction d'agglutination macroscopique: réaction de dépistage des leptospiroses humaines. *Méd. Mal. Infect*., 1981, **11**(2), 105-108.

73. OIE, S., K. HIRONAGA, A. KOSHIRO, H. KONISHI and Z. YOSHII, In vitro susceptibilities of live leptospira strains to 16 antimicrobial agents *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1983, **24**, 905-908.

74. OTTER, A. and B.W. WILSON, Bovine abortion outbreaks associated with Neospora and other infectious agents. *Vet. Rec.*, 1997, **141**(25), 659-660.

75. PELLERIN, J.L., La P.C.R. (Polymerase Chain reaction): une révolution dans le diagnostic par sondes nucléiques *Point vét.,* 1989, **21**(124), 733-739.

76. PEREZ BONILLA, Q., E. DORADO SANCHEZ and J. BORALLO MIRA, Une enzootie de leptospirose bovine. *Point Vét.*, 1983, **15**(71), 51-54.

77. PEROLAT, P., G. BARANTON and D. POSTIC, Actualité de la leptospirose en France. *Méd. Mal. Infect*., 1981, **11**, 835-839.

78. PEROLAT, P. and G. BARANTON, *Leptospira, précis de bactériologie clinique ed.* Paris, : ESKA, 2000, 1533-1542.

79. PRESCOTT, J.F., Treatment of leptospirosis. *Cornell. Vet.,* 1991, **81**, 7-12.

80. PRITCHARD, D.G. *The present state of leptospirosis diagnosis and control,* 1986, ed. Martinus Nijhoff: Dordecht, Netherlands, 123-148.

81. PRITCHARD, G.C., Bulk milk antibody testing for leptospira hardjo infection. *Cattle Practice*, 1999, **7**(1), 59-61.

82. RAMADASS, P., S. MEERARANI, A.S. KUMAR, M.D. VENKATESHA and K. NACHIMUTHU, Rapid diagnostics of leptospirosis by polymerase chain reaction. *Indian Vet. J.*, 1997, **74**, 457-460.

83. RAMADASS, P., B. SAMUEL and K. NACHIMUTHU, A rapid latex agglutination test for detection of leptospiral antibodies. *Vet. Microbiol.,* 1999, **70**(1-2), 137-140.

84. RAUTUREAU, S., *Bilan du statut sanitaire des bovins et des porcs vis à vis de la leptospirose dans l'union européenne*, Thèse Méd. Vét. ENVN, 2003, N° 29, 75 p.

85. ROY, A.M. and H. TOUBOUL, La leptospirose. *Bulletin des GTV,* 2006.

86. SAGLAM, Y.S., A. TEMUR and A. ASLAN, Detection of leptospiral antigens in kidney and liver of cattle. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 2003, **110**(2), 75-77.

87. SAURAT, P., J. CHANTAL and H. BAUDEAN, La leptospirose: une zoonose majeure. Note 1:épidémiologie générale. *Rev. Méd. Vét*., 1967, **118**, 379-406.

88. SCHOENAERS, F. and A. KAECKENBEECK, *Leptospiroses*. *Maladies infectieuses des animaux*, tome 1. 1971, ed. Derouaux: Liège, 267-274.

89. SEGERS, R.P.A.M., A. VAN DES DRIFT, A. DE NIJS, P. CORCIONE, B.A.M. VAN DER ZEIJST and W. GAASTRA, Molecular analysis a spingomyelinase C gene from leptospira interrogans serovar hardjo. *Infect. Immun.*, 1990, **57,** 2177-2185.

90. SERVANTIE, J.J., *Les zoonoses transmises par les carnivores*, Thèse Méd. Vét. ENVT, 2000, N°31, 309 p.

91. SLEIGHT, S.D., O.A. ATOLLAH and D.J. STEINBAUER, Experimental leptospiral pomona infection in bulls. *Am. J. Vet. Res.*, 1964, **25**, 1663-1668.

92. SLEIGHT, S.D., The role of penicillin and streptomycin in the prevention of transmission of bovine leptospirosis by artificial insemination.. *Am. J. Vet. Res.*, 1965, **26**.

93. SMITH, C.R., M.R. McGOWAN, C.S. McCLINTOK, B.G. CORNEY, P.J. KETTERER, L. SMYTHE *et al.*, Experimental Leptospira borgpetersenii serovar hardjo infection of pregnant cattle. *Aust. Vet. J.,* 1997, **75**(11), 822-82.

94. SMITH, C.R., B.G. CORNEY, M.R. McGOWAN, C.S. McCLINTOK, W. WARD and P.J. KETTERER, Amoxycillin as an alternative to dihydrostreptomycin sulphate for treating cattle infected with Leptospira borgpetersenii serovar hardjo. *Aust. Vet. J.,* 1997, **75**(11), 818-821.

95. SMITH, J.A., D.A. FITZPATRICK and W.A. ELLIS, Stillbirth/perinatal weak calf syndrome: a study of calves infected with Leptospira. *Vet. Rec.,* 1999, **145**(19), 539-542.

96. SURUJBALLI, O.P., R.M. MARENGER, M.D. EAGLESOME and E.A. SUGDEN, Development and initial evaluation of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of Leptospira interrogans serovar hardjo antibodies in bovine sera. *Can. J. Vet. Res.,* 1997, **61**(4), 260-266.

97. SURUJBALLI, O., D. HENNING, R. MARENGER and C. HOWLETT, Development of a monoclonal antibody-based competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of Leptospira borgpetersenii serovar hardjo type hardjobovis antibodies in bovine sera. *Can. J. Vet. Res.,* 1997, **61**(4), 267-274.

98. SURUJBALLI, O., C. HOWLETT and D. HENNING, Production and characterization of monoclonal antibodies specific for Leptospira borgpetersenii serovar hardjo type hardjobovis and Leptospira interrogans serovar hardjo type hardjoprajitno. *Can. J. Vet. Res.,* 1999, **63**(1), 62-68.

99. SURUJBALLI, O. and M. MALLORY, Competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Leptospira interrogans serovar pomona antibodies in bovine sera. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.,* 2001, **8**(1), 40-43.

100. SURUJBALLI, O. and M. MALLORY, An indirect enzyme linked immunosorbent assay for the detection of bovine antibodies to multiple Leptospira serovars. *Can. J. Vet. Res.,* 2004, **68**(1), 1-6.

101. TAINTURIER, D., F. FIENI, J.F. BRUYAS and I. BATTUT, Etiologie des avortements chez la vache. *Point Vét.,* 1997, **28**(183), 1231-1238.

102. TAINTURIER, D., F. FIENI, J.F. BRUYAS and I. BATTUT, Conduite à tenir devant un avortement dans un élevage bovin. *Point vét.*, 1997, **28**(183), 1239-1243.

103. TALPADA, M.D., N. GARVEY, R. SPROWLS, A.K. EUGSTER and J.M. VINETZ, Prevalence of leptospiral infection in Texas cattle: implications for transmission to humans. *Vector Borne Zoonotic Dis.,* 2003, **3**(3), 141-7.

104. TAYLOR, M.J., W.A. ELLIS, J.M. MONTGOMERY, K.T. YAN, S.W. McDOWELL and D.P. MACKIE, Magnetic immuno capture PCR assay (MIPA): detection of Leptospira borgpetersenii serovar hardjo. *Vet. Microbiol.*, 1997, **56**(1-2), 135-145.

105. THIERMANN, A.B., Leptospirosis currents, developments and trends. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, **184**, 722-725.

106. WIKSE, S.E., Update on Leptospira hardjo-bovis control in beef herds. *Proceeding of 39th animal convention of American Association of Bovine Practitionner Association*. 21-23/09/2006, Saint Paul, Minnesotta, **40,** 79-87.

107. YAN, K.T., W.A. ELLIS, D.P. MACKIE, M.J. TAYLOR, S.W. McDOWELL and J.M. MONTGOMERY, Development of an ELISA to detect antibodies to a protective lipopolysaccharide fraction of Leptospira borgpetersenii serovar hardjo in cattle. *Vet. Microbiol.,* 1999, **69**(3), 173-187.

108. YURI, K., Y. TAKAMOTO, M. OKADA, T. HIRAMUNE, N. KIKUCHI and R. YANAGAWA, Chemotaxis of leptospires to hemoglobin in relation to virulence. *Infect. Immun.*, 1993, **61**, 2270-2272.

Rapport-Gratuit.com

ANNEXES

Annexe 1 : La leptospirose comme maladie professionnelle : RÉGIME AGRICOLE Tableau 5

Ce tableau concerne les salariés relevant du régime agricole

Dernière mise à jour : 20 mars 1999 (décret du 19 mars 1999)

Désignation des maladies

Toute manifestation clinique de leptospirose provoquée par *Leptospira interrogans*.
La maladie doit être confirmée par identification du germe ou à l'aide d'un sérodiagnostic d'agglutination, à un taux considéré comme significatif

Délai de prise en charge

21 jours

Liste limitative des travaux susceptibles de provoquer ces maladies

Travaux suivants exposant au contact d'animaux susceptibles d'être porteurs de germe et effectués notamment au contact d'eau ou dans des lieux humides susceptibles d'être souillés par leurs déjections :
- travaux effectués dans les tranchées, les tunnels, les galeries, les souterrains ;
- travaux effectués dans les égouts, les caves, les chais ;
- travaux d'entretien des cours d'eau, canaux, marais, étangs et lacs, bassins de réserve et de lagunage ;
- travaux d'entretien et de surveillance des parcs aquatiques ;
- travaux de drainage, de curage des fossés, de pose de canalisation d'eau ou d'égout, d'entretien et vidange des fosses et citernes de récupération de déchets organiques ;
- travaux effectués dans les laiteries, les fromageries, les poissonneries, les cuisines, les fabriques de conserves alimentaires, les brasseries, les fabriques d'aliments du bétail ;
- travaux effectués dans les abattoirs, les chantiers d'équarrissage, travaux de récupération et exploitation du 5ème quartier des animaux de boucherie ;

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

- travaux de dératisation ;
- travaux de soins aux animaux vertébrés.

Annexe 2 : La leptospirose comme maladie professionnelle : RÉGIME GÉNÉRAL Tableau 19

Ce tableau concerne les salariés relevant du régime générale de la sécurité sociale.

Dernière mise à jour : 29 juillet 1999 (décret du 26 juillet 1999)

Désignation des maladies

Toute manifestation clinique de leptospirose provoquée par *Leptospira interrogans*.
La maladie doit être confirmée par identification du germe ou à l'aide d'un sérodiagnostic d'agglutination, à un taux considéré comme significatif.

Délai de prise en charge

21 jours

Liste limitative des travaux susceptibles de provoquer ces maladies

Travaux suivants exposant au contact d'animaux susceptibles d'être porteurs de germe et effectués notamment au contact d'eau ou dans des lieux humides, susceptibles d'être souillés par les déjections de ces animaux :

- travaux effectués dans les mines, carrières (travaux au fond), les tranchées, les tunnels, les galeries, les souterrains ;
- travaux du génie ;
- travaux effectués dans les égouts, les caves, les chais ;
- travaux d'entretien des cours d'eau, canaux, marais, étangs et lacs, bassins de réserve et de lagunage ;
- travaux d'entretien et de surveillance des parcs aquatiques et stations d'épuration ;
- travaux de drainage, de curage des fossés, de pose de canalisation d'eau ou d'égout, d'entretien et vidange des fosses et citernes de récupération de déchets organiques ;
- travaux effectués dans les laiteries, les fromageries, les poissonneries, les cuisines, les fabriques de conserves alimentaires, les brasseries, les fabriques d'aliments du bétail ;
- travaux effectués dans les abattoirs, les chantiers d'équarrissage,
- travaux de récupération et exploitation du 5e quartier des animaux de boucherie ;

- travaux exécutés sur les bateaux, les péniches, les installations portuaires ;
- travaux des mariniers et des dockers ;
- travaux exécutés dans les cuisines, les fabriques de conserves de viande ou de poisson, les poissonneries ;
- travaux de dératisation ;
- travaux de soins aux animaux vertébrés ;
- travaux dans les laboratoires de bactériologie ou de parasitologie.