

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	11
I- ÉTIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE	13
1- Classification	13
a) Classification des espèces	13
b) Classification des sérovars et des sérogroupe	16
2- Morphologie des leptospires	23
a) Morphologie externe générale	23
b) Ultrastructure microscopique	24
c) Morphologie des leptospires en division	27
3- Caractères bactériologiques	29
a) Métabolisme des leptospires	29
b) Particularité génétique des leptospires	29
c) Culture des leptospires	31
4- Caractères antigéniques, immunologiques et allergiques	33
a) Propriétés antigéniques	33
b) Propriétés immunologiques	35
c) Propriétés allergiques	36
II- PATHOGÉNIE DE LA LEPTOSPIROSE	37
1- Conditions de l'infection	37
a) Facteurs tenant au pouvoir pathogène des leptospires	37
b) Facteurs tenant à la réceptivité et à la sensibilité de l'hôte	43
2- Étapes de l'infection	45
a) Phase de contamination du chien	47
b) Phase d'invasion	47
c) Phase de multiplication	48
III- SYMPTÔMES ET LÉSIONS	51
1- Symptômes	51
a) Forme suraiguë	51
b) Formes aiguës	51
c) Formes subaiguës ou chroniques	55
d) Autres formes	56
2- Lésions	59
a) Lésions macroscopiques	59
b) Lésions microscopiques	60

IV- ÉPIDÉMIOLOGIE	63
1- Épidémiologie descriptive	63
2- Épidémiologie analytique	65
a) Sources de bactéries	65
b) Résistance des bactéries	71
c) Réceptivité et sensibilité des espèces	72
d) Voies de pénétration	74
e) Transmission directe et indirecte	75
3- Épidémiologie synthétique	77
V- DIAGNOSTIC	79
1- Non spécifique	79
a) Éléments épidémiologiques	79
b) Modifications des paramètres de laboratoire	79
c) Radiographie-échographie	84
2- Spécifique	87
a) Prélèvements	87
b) Diagnostic direct	90
c) Diagnostic indirect	97
VI- TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE	105
1- Traitement	105
a) Antibiothérapie	105
b) Symptomatique	108
2- Prophylaxie	111
a) Sanitaire	111
b) Médicale (vaccin)	111
VII- LA LEPTOSPIROSE DU CHIEN : UNE ZOONOSE SOUS ESTIMÉE	115
1- Épidémiologie	115
2- Symptômes	117
3- Diagnostic	119
4- Traitement	121
5- Prophylaxie	123
VIII- LÉGISLATION	125
CONCLUSION	127
ANNEXES	
BIBLIOGRAPHIE	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des principaux sérovars de *Leptospira interrogans*

Tableau 2 : Liste alphabétique des sérogroupes de *Leptospira interrogans*

Tableau 3 : Influence de la spécificité du sérovar sur la transmission et l'expression de la leptospirose chez le chien

Tableau 4 : Réservoirs des principaux sérovars susceptibles de contaminer le chien

Tableau 5 : Prévalence de l'infection chez certaines espèces sauvages en France

Tableau 6: Principales modifications des paramètres de laboratoire lors de leptospirose canine

Tableau 7 : Concentration minimum d'inhibition ($\mu\text{g/ml}$) de différents antibiotiques contre *Leptospira interrogans*

Liste des figures

Figure 1 : Place de l'agent de la leptospirose parmi les bactéries voisines

Figure 2 : Ultrastructure des leptospires pathogènes

Figure 3 : Chromosome de *Leptospira interrogans*

Figure 4 : Variabilité des réponses du chien à une infection leptospirosique

Figure 5 : Étapes de l'infection par des leptospires

Figure 6 : Représentation schématique de la transmission des leptospires

Figure 7 : Cinétique de la maladie

Liste des annexes

Annexe 1 : Tableau 5 du régime agricole

Annexe 2 : Tableau 19 A du régime général

INTRODUCTION

Les leptospires sont des bactéries Gram négatif, anaérobies strictes, appartenant à l'ordre des Spirochétales, à la famille des *Leptospiraceae* et au genre *Leptospira*. Elles doivent leur nom à leur morphologie unique hélicoïdale, flexible et grêle. Elles sont extrêmement mobiles.

Les leptospires qui sont pathogènes sont regroupées dans l'espèce *Leptospira interrogans*. Elles sont responsables d'une maladie grave chez le chien, décrite depuis 1899 : la leptospirose. Les leptospires infectent de nombreux autres mammifères ainsi que l'homme.

La maladie présente un important polymorphisme de symptômes et la diversité des organes atteints rend le diagnostic clinique de la maladie très difficile. En effet, la leptospirose peut présenter une forme aiguë, mais aussi des formes subaiguës et chroniques. La pluralité des manifestations cliniques explique en partie qu'elle semble actuellement en ré émergence. Le vaccin est largement utilisé dans l'espèce canine, il s'agit cependant d'un vaccin bivalent efficace contre seulement deux sérovars.

C'est pour ces principales raisons que nous avons jugé utile de réaliser une synthèse bibliographique la plus complète possible de la leptospirose canine

Nous suivrons un plan classique pour cette thèse : Nous étudierons d'abord l'étiologie de la maladie et sa pathogénie. Puis, nous décrirons les symptômes et lésions de la maladie chez le chien, quel est son cycle épidémiologique, quels sont les moyens de diagnostic et quels sont les moyens de lutte pour cette affection. Enfin, nous terminerons cette thèse sur les risques potentiels de la leptospirose canine pour l'homme.

I- ÉTIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE

1. CLASSIFICATION

a) Classification des espèces

Les leptospires appartiennent à l'ordre des Spirochétales. Cet ordre a longtemps été assimilé aux protozoaires. Il est désormais considéré comme un ordre à part depuis le milieu du 20^{ème} siècle (BHARTI AR *et al.*, 2003).

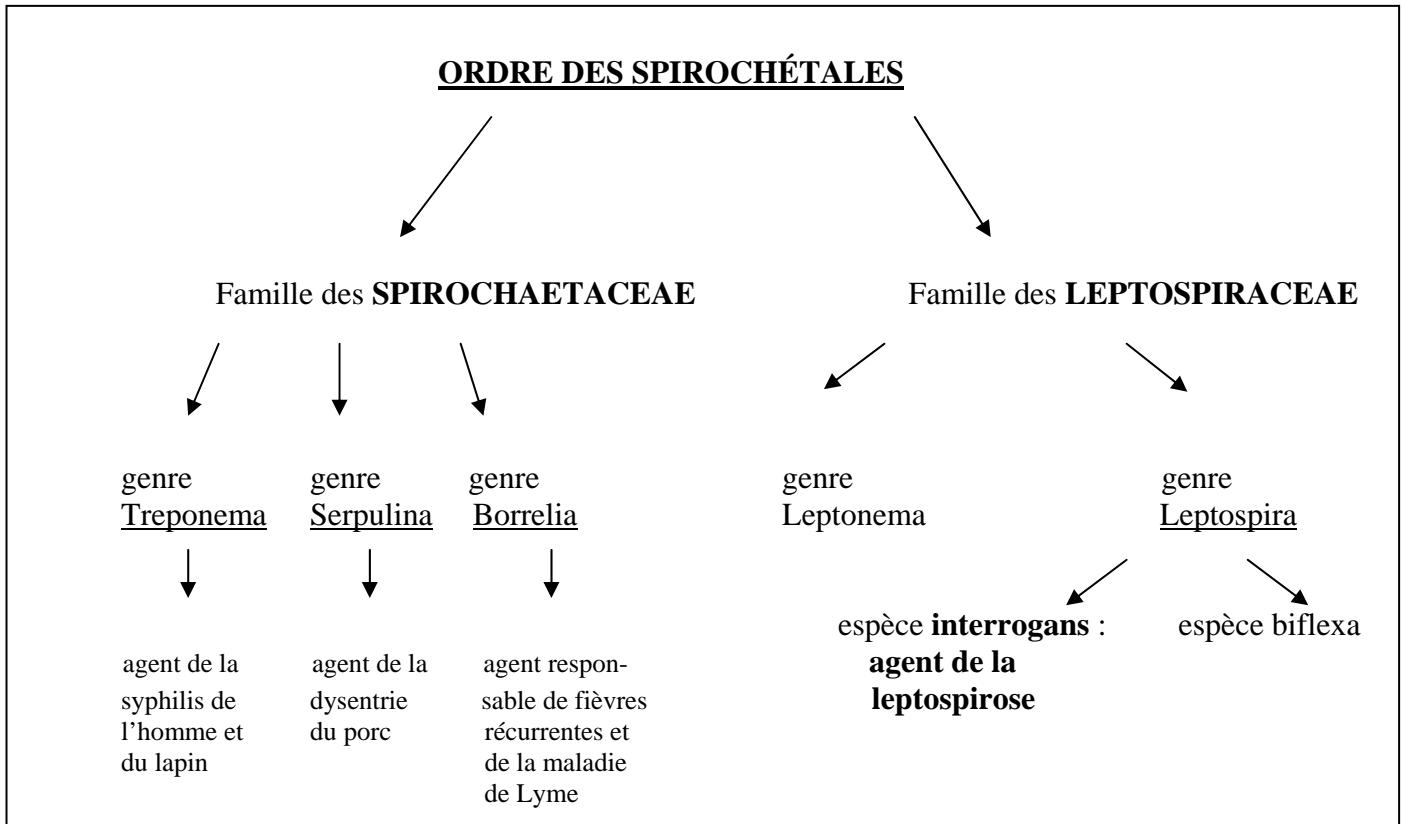
Les Spirochétales sont un ordre de bactéries divisé en deux familles : les *Spirochaetaceae* et les *Leptospiraceae*.

Dans la famille des *Spirochaetaceae*, on trouve les genres *Treponema*, *Serpulina* et *Borrelia*.

Dans la famille des *Leptospiraceae*, on trouve les genres *Leptonema* et *Leptospira*.

La figure 1 ci-après présente la place de l'agent de la leptospirose parmi les bactéries voisines.

Figure 1 : Place de l'agent de la leptospirose parmi les bactéries voisines
D'après MILLET AS, 1998
(les genres soulignés regroupent les espèces pathogènes pour les mammifères)



Dans le genre *Leptospira* est regroupé un certain nombre d'espèces selon les classifications.

Selon la taxinomie la plus ancienne, c'est-à-dire celle d'avant octobre 1987 qui est fondée d'une part sur le pouvoir pathogène et d'autre part sur la reconnaissance antigénique faite sur le lapin, le genre *Leptospira* comprend trois espèces : *Leptospira interrogans* regroupant les souches pathogènes pour l'homme et/ou l'animal, *Leptospira biflexa* rassemblant les souches non pathogènes isolées de l'eau, de la boue et parfois de l'homme ou de l'animal et *Leptospira parva* non pathogène et isolée de l'eau (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

En plus de ces deux précédents critères de classification, les espèces du genre *Leptospira* se distinguent par deux principaux caractères phénotypiques qui sont leur température de développement et leur sensibilité à la 8-azaguanine à la concentration de 250 mcg/ml (BERCHE P, 1989 ; PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

Leptospira biflexa et *Leptospira parva* se développent à 13°C. *Leptospira interrogans* ne se développe pas à 13°C.

Leptospira biflexa est résistante à la 8-azaguanine alors que *Leptospira interrogans* et *Leptospira parva* sont sensibles à la 8-azaguanine.

Leptospira parva présente des caractères phénotypiques particuliers et les études d'hybridation ADN-ADN confirment que cette espèce doit être placée dans un genre différent de celui de *Leptospira interrogans* et de *Leptospira biflexa*.

Aujourd'hui, cette espèce est admise dans le nouveau genre dénommé « *Turneria* ». Nous considérerons donc que cette espèce n'appartient plus au genre *Leptospira*.

La taxonomie des leptospires a totalement changé en octobre 1987 suite aux études d'hybridation ADN-ADN. Celles-ci mettent en évidence l'existence d'au moins cinq nouvelles génomospecies au sein de l'espèce *Leptospira interrogans* et d'au moins 2 nouvelles génomospecies au sein de l'espèce *Leptospira biflexa*.

Ainsi, 8 génomospecies sont définis : *Leptospira weilii*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira noguchii*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira kirshneri*, *Leptospira meyeri*, *Leptospira inadai* et *Leptospira interrogans*.

Ensuite en 1992, RAMADASS P *et al.* ont décrit l'espèce *Leptospira kirshneri*.

En 1998, PEROLAT P *et al.* ont proposé l'espèce *Leptospira fainei*.

Et enfin, BRENNER DJ *et al.* ont validé en 1999, l'espèce *Leptospira alexanderi*.

Finalement, le nombre d'espèces dans le genre *Leptospira* est à l'heure actuelle de douze auquel s'ajoutent au moins quatre génotypes qui ne sont pas encore nommées.

Dans notre étude nous prendrons comme référence l'ancienne classification en considérant qu'il n'existe que deux espèces de leptospires dans le genre *Leptospira* : *Leptospira interrogans* qui regroupe toutes les souches pathogènes pour l'homme et les animaux et *Leptospira biflexa* qui ne comporte que des bactéries saprophytes libres, vivant dans les eaux peu profondes. Celles-ci sont peu intéressantes en médecine vétérinaire parce que rarement associées à des infections chez les mammifères.

Ces deux espèces sont indiscernables morphologiquement.

b) Classification des sérovars et des sérogroupes

Chacune des deux espèces, saprophyte ou pathogène, est subdivisée en sérovars sur la base de la composition antigénique des bactéries.

Le taxon de base pour les leptospires est le sérovar et représente une souche homogène de leptospires.

Le nombre de sérovars est variable selon les années et les auteurs. *Leptospira interrogans* est ainsi divisée en plus de 200 sérovars et la grande diversité des souches de l'espèce *Leptospira interrogans* a conduit sur la base d'arguments sérologiques à différencier de multiples sérovars en sérogroupes. Les sérovars d'un même sérogroupe sont caractérisés par des homologies antigéniques reconnues sur le lapin (ANDRE-FONTAINE G, 2002).

Le tableau 1 présente une liste non exhaustive des sérovars de *Leptospira interrogans*.

Tableau 1 : Liste des principaux sérovars de *Leptospira interrogans*D'après, Internet, <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/serointerro.htm>

Serovar	Strain	Serogroup	Country	Source
Australis	Ballico	1	Australia	Human
Bangkok	Bangkok-D92	1	Thailand	Dog
Bratislava	Jez-Bratislava	1	Czechoslovakia	Hedgehog
Fugis	Fudge	1	Malaysia	Human
Hawain	LT 62-68	1	New Guinea	Bandicoot
Jalna	Jalna	1	Czechoslovakia	Yellow throat mouse
Lora	Lora	1	Italy	Human
Muenchen	Munchen C 90	1	Germany	Human
Wewak	LT 65-68	1	New Guinea	Dog
Autumnalis	Akiyami A	2	Japan	Human
Bankinang	Bangkinang I	2	Indonesia	Human
Bulgarica	Mallika	2	India	Human
Carlos	C-3	2	Philippines	Toad
Mooris	Moores	2	Malaysia	Human
Rachmati	Rachmat	2	Indonesia	Human
Weerasinghe	Weerasinghe	2	Sri Lanka	Human
Bataviae	Van Tienen	4	Indonesia	Human
Losbanos	LT 101-69	4	Philippines	Rat
Paidjan	Paidjan	4	Indonesia	Human
21-74	21-74	4	Brazil	?
26-73	3859	4	Indonesia	?
Benjamin	Benjamin	5	Indonesia	Human
Bindjei	Bindjei	5	Indonesia	Human
Broomi	Patane	5	Australia	Human
Canicola	Hond Utrecht IV	5	Netherlands	Dog
Dukou	83194	5	China	?
Jonsis	Jones	5	Malaysia	Human
Kuwait	136/2/2	5	Kuwait	Rat
Portlandvere	MY 1039	5	Jamaica	Human
Qunjian	7957	5	China	Rat
Schueffneri	Vleermuis 90C	5	Indonesia	Bat
Sumneri	Sumner	5	Malaysia	Human
Djasiman	Djasiman	8	Indonesia	Human

Gurungi	Gurung	8	Malaysia	Human
Sentot	Sentot	8	Indonesia	Human
Grippotyphosa	Andaman	9	?	?
Liangguang	1880	9	China	Rat
Muelleri	RM 2	9	Malaysia	Rat
Valbuzzi	Valbuzzi	9	Australia	Human
Hebdomadis	Hebdomadis	10	Japan	Human
Kremastos	Kremastos	10	Australia	Human
Birkini	Birkin	11	Malaysia	Human
Budapest	PV-1	11	Hungary	Lab rat
Copenhageni	M20	11	Denmark	Human
Gem	Simon	11	Sri Lanka	Human
Honghe	H2	11	China	Human
icterohaemorrhagiae	RGA	11	Belgium	Human
Lai	Lai	11	China	Human
Mankarso	Mankarso	11	Indonesia	Human
Monymusk	LT 75-68	11	Jamaica	Rat
Mwogolo	Korea	11	Korea	Human
Naam	Naam	11	Indonesia	Human
Nanxi	HK6	11	China	Human
Smithi	Smith	11	Malaysia	Human
82224	82224	11	China	?
Lanka	R 740	13	Sri Lanka	Human
Szwajizak	Szwajizak	16	Australia	Human
Cornelli	CB	18	USA	Cow
kennewicki	LT 1026	18	USA	Bovine
Monjakov	Monjakov	18	USSR	Human
Pomona	Pomona	18	Australia	Human
Abramis	Abraham	19	Malaysia	Human
Biggis	Biggs	19	Malaysia	Human
Camlo	LT 64-67	19	Vietnam	Human
Guaratuba	An 7705	19	Brazil	Opossum
Manilae	LT 398	19	Philippines	Rat
Pyrogenes	Salinem	19	Indonesia	Human
Robinsoni	Robinson	19	Australia	Human
Zanoni	Zanoni	19	Australia	Human
Evansi	267-1348	20	Malaysia	Water

Waskurin	LT 63-68	21	New Guinea	Bandicoot
geyaweera	Geyaweera	22	Sri Lanka	Human
haemolytica	Marsh	22	Malaysia	Human
Hardjo	Hardjoprajitno	22	Indonesia	Human
Jin	A81	22	China	Human
medanensis	Hond HC	22	Indonesia	Dog
Recreo	380	22	Nicaragua	Opossum
Ricardi	Richardson	22	Malaysia	Human
roumanica	LM 294	22	Romania	<i>Mus musculus</i>
saxkoebing	Mus 24	22	Denmark	Wood mouse
Wolffi	3705	22	Indonesia	Human
AGC	AGC	25	Peru	Human

Finalement, l'espèce *Leptospira interrogans* comprend 25 sérogroupes différents. Le tableau 2 présente la liste alphabétique de ces sérogroupes.

Une étude sérologique a mis en évidence que 6 sérogroupes sont épidémiologiquement importants en France : *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Autumnalis*, *Australis*, *Grippotyphosa* et *Pyogenes* (ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 1994).

Cette classification est importante pour le vétérinaire praticien puisque l'expression clinique de la maladie dépend entre autres des propriétés de la souche infectante. Ainsi, des souches appartenant à un même sérogroupe entraîneront une symptomatologie semblable.

De plus, chaque sérogroupe tend à être associé à un hôte particulier, par exemple, *L. icterohaemorrhagiae* et le rat, *L. canicola* et le chien. Il y a cependant de nombreuses exceptions. Ainsi, un même sérogroupe peut se trouver chez plusieurs hôtes et un même hôte peut héberger plusieurs sérogroupes (ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001).

Tableau 2 : Liste alphabétique des sérogroupe de *Leptospira interrogans*
 D'après Internet, <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Interrogans.htm>

Numéro	Sérogroupe
1	Australis
2	Autumnalis
3	Ballum
4	Bataviae
5	Canicola
6	Celledoni
7	Cynopteri
8	Djasiman
9	Grippotyphosa
10	Hebdomadis
11	Icterohaemorrhagiae
12	Javanica
13	Louisiana
14	Lyme
15	Manhao
16	Mini
17	Panama
18	Pomona
19	Pyrogenes
20	Ranarum
21	Sarmin
22	Sejroe
23	Shermani
24	Tarassovi
25	Nouveau ou non désigné

2. MORPHOLOGIE DES LEPTOSPIRES

a) Morphologie externe générale

Les leptospires sont les plus petits des spirochètes. Comme l'indique leur étymologie : « lepto » = fin, grêle et « spira » = spire, les leptospires sont des bactéries hélicoïdales, flexibles et grêles. Leur diamètre est inférieur à 0,22 µm et leur longueur est comprise entre 6 et 25 µm selon les souches et la culture (HOVIND-HOUGEN K, 1981).

Leur forme est celle d'une spirale constituée d'une vingtaine à une trentaine de spires régulières et très serrées, à l'exception d'une ou quelques ondulations lâches et dont le pas d'hélice est à droite.

Dans l'espace périplasmique de chaque germe, il existe deux flagelles rendant les leptospires mobiles, chacun étant inséré à l'extrémité subterminale de la cellule. Chaque flagelle et le cylindre cytoplasmique sont entrelacés sur 1/3 ou 1/4 de la longueur de la cellule (HOVIND-HOUGEN K et BIRCH-ANDERSEN A, 1981).

Une ou deux extrémités sont recourbées en crochet mais peuvent temporairement rester droites (SCHOENAERS et KAECKENBEECK, 1971).

Les leptospires ne prennent pas la coloration de Gram et du fait de leur diamètre si faible, les leptospires ne peuvent être visibles microscopiquement sans un fond noir. Leur visualisation n'est possible qu'après imprégnation métallique (coloration argentique), ou après épaississement artificiel par « coloration » immunoperoxydasique ou immunofluorescente (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

En utilisant ces techniques de visualisation, un observateur expérimenté pourra ainsi distinguer que les leptospires sont des bactéries mobiles. Des mouvements de rotation autour de leur axe sont visibles, sont également visibles des mouvements d'allongement, de raccourcissement ou enfin des mouvements de translation.

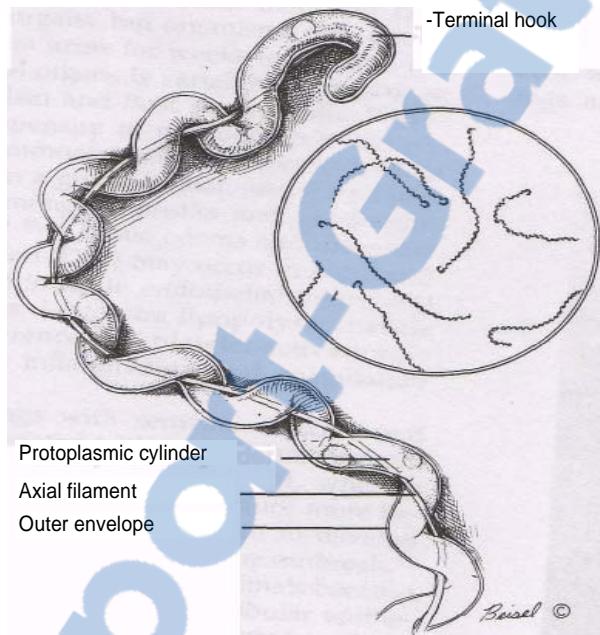
b) Ultrastructure microscopique

Au microscope électronique, sur une coupe transversale, on peut observer la structure des leptospires commune aux différents spirochètes constituée de l'enveloppe externe, des flagelles et du cylindre protoplasmique (HOVIND-HOUGEN K, 1981).

La figure 2 présente cette ultrastructure.

Figure 2 : Ultrastructure des leptospires pathogènes

D'après GREENE CE, 1990



- L'enveloppe externe

On considère en général que cette enveloppe est constituée de trois couches de lipoprotéines, de liposaccharides et de mucopeptides antigéniques. Mais d'après HOVIND-HOUGEN K, 1981, certains auteurs démontrent une composition en cinq couches. En général, l'observation de trois ou cinq couches est liée à la variation des métaux lourds utilisés pour la coloration de la préparation.

Quoiqu'il en soit, l'enveloppe externe forme une gaine autour de l'ensemble cellulaire qui est souple, élastique mais peu résistante. D'après AURAN NE *et al.*, 1972, son épaisseur est de 11 nm.

On notera que la composition des liposaccharides des leptospires est proche de celle des bactéries Gram négatif mais avec une activité endotoxique moindre. L'enveloppe externe est distincte de la couche rigide constituée par le peptidoglycane constitué d'acide diaminopimélique à la différence des autres spirochètes qui contiennent surtout de l'ornithine.

Le rôle de cette enveloppe est inconnu mais on sait que sa perte conduit à la mort du leptospire.

D'après CULLEN PA *et al.*, 2003, les protéines présentes à la surface de cette enveloppe externe ont une organisation structurale caractéristique. De même que l'invasine de *Yersinia pseudotuberculosis* et l'intimine de *E.coli*, les protéines des leptospires ont des domaines « immunoglobulin-like ». C'est pour cette raison qu'on les désigne également par le terme Lig (leptospiral Ig-like).

LigA et LigB qui ne diffèrent que par leur extrémité terminale (LigB ne possède qu'une unique extrémité carboxylique terminale) sont ancrées dans l'enveloppe externe. Elles sont visibles au microscope électronique. Des études sont en cours pour déterminer quel est le rôle des protéines Lig dans l'attachement à la cellule hôte et dans l'invasion des leptospires.

- Les filaments axiaux ou flagelles

Ils sont insérés à l'extrémité subterminale du cylindre protoplasmique. Ils sont au nombre de deux le plus souvent, chacun étant attaché à une extrémité. Mais d'après CHANG A et FAINE S, 1970, il arrive que certaines leptospires possèdent 3 filaments axiaux, deux étant situés à une même extrémité et le troisième à l'autre bout.

Chaque flagelle est inséré par un corps basal et entrelacé avec le cylindre protoplasmique. Les extrémités libres sont situées dans la région médiane et ne se chevauchent pas en général.

Ces filaments axiaux constituent l'appareil locomoteur et confèrent aux leptospires la réalisation des mouvements très actifs de contraction et de rotation.

D'après CHARON NW *et al.*, 1992, le système de mobilité des spirochètes est inhabituel car les filaments flagellaires sont internes et protégés par la membrane externe.

Enfin, il est intéressant de noter d'après l'étude réalisée par CHANG A et FAINE S, 1970, qui font réagir des filaments axiaux de *Leptospira* avec des anticorps IgM et IgG de lapins, que les filaments axiaux sont les premiers éléments constitutifs des leptospires démontrés comme précipitant avec ces antigènes.

- Le cylindre protoplasmique

Enroulé en hélice, il correspond au corps cellulaire caractérisé par un cytoplasme sans mitochondries mais constitué de ribosomes et d'un noyau. Il est entouré par une membrane peptidoglycique. Celle-ci a souvent une structure trilaminaire avec une couche externe plus large que la couche interne. Elle est située à la périphérie de la membrane cytoplasmique. Son épaisseur d'après AURAN NE *et al.*, 1972, est de 7 nm.

c) Morphologie des leptospires en division

Les leptospires se divisent transversalement. D'après HOVIND-HOUGEN K, 1981, le premier signe de la division peut-être observé au microscope électronique : deux courts flagelles sont insérés l'un près de l'autre dans la zone médiane de la cellule. Chaque extrémité de ces flagelles est orientée vers celle du flagelle plus âgé. Puis, il y invagination de la membrane peptidoglycanique qui sépare les deux nouvelles cellules à l'intérieur d'une enveloppe commune. Enfin, l'enveloppe externe s'invagine et les deux cellules sont ainsi séparées.

Il faudra cependant préciser pour conclure sur la morphologie des leptospires que celle-ci est surtout fondée sur l'observation de cultures adaptées au laboratoire. Or des études ont montré que les souches adaptées perdent de leur virulence. Ainsi pour certaines souches, l'ultrastructure décrite ci-dessus est très différente de leur structure chez l'animal *in vivo*.

3. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES

a) Métabolisme des leptospires

Les leptospires ont des propriétés métaboliques particulières (BERCHE P, 1989 ; PEROLAT P et BARANTON G, 2000) :

Ce sont des bactéries chimio-organotrophes qui utilisent les acides gras à longue chaîne comme seule source d'énergie et de carbone. Les hydrates de carbone et les acides aminés ne sont pas indispensables à leur métabolisme. Les bases pyrimidiques ne sont pas incorporées par les leptospires.

L'ion ammonium est la seule source d'azote.

Les vitamines B1, B12 et le fer ferreux sont des facteurs de croissance indispensables.

Pour les souches exigeantes, le pyruvate de sodium et le glycérol facilitent la croissance.

Les leptospires ont une activité enzymatique particulière.

Ce sont des bactéries aérobies strictes, possédant une activité enzymatique catalase positive et oxydase négative.

Leptospira interrogans a une activité lipasique très faible ou absente contrairement à *Leptospira biflexa*.

b) Particularité génétique des leptospires

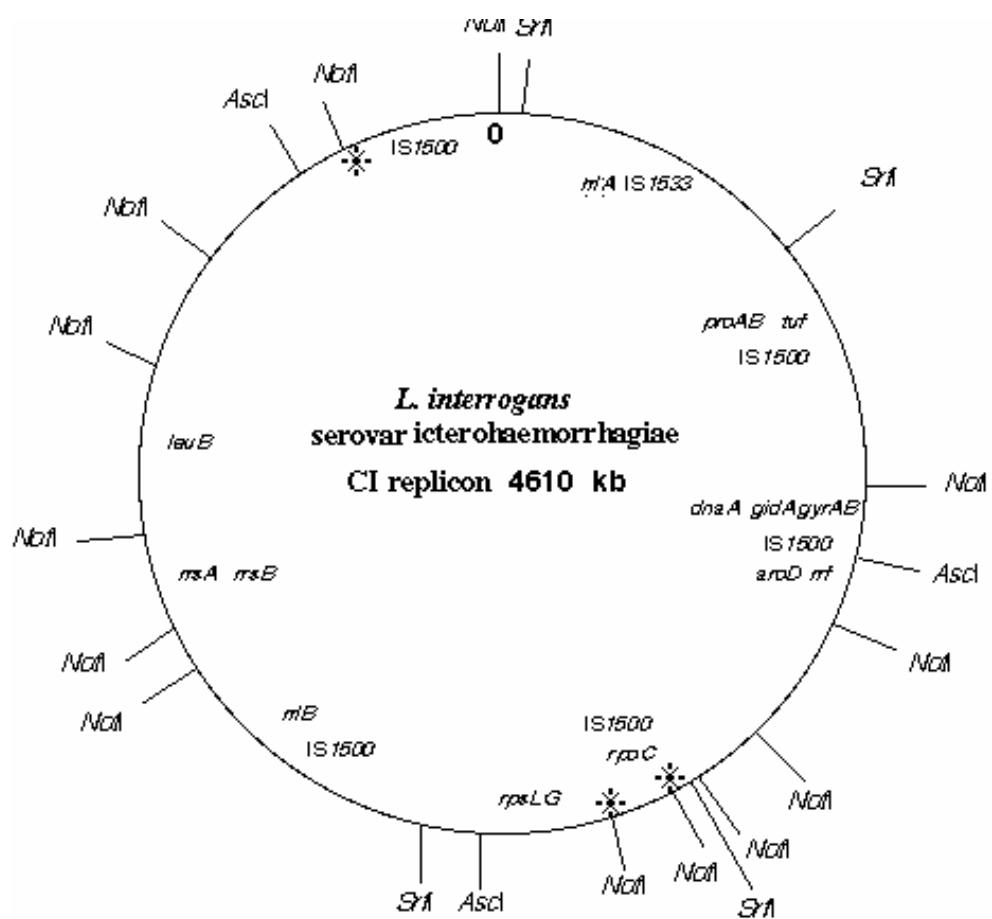
Le génome des leptospires est constitué de deux chromosomes circulaires, l'un de 3850 à 5450 kb et l'autre de 350 kb. Ce dernier, dénommé petit chromosome n'est pas un plasmide du fait qu'il contient le gène codant pour l'enzyme aspartate bêta semi-aldéhyde deshydrogénase (PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

D'après BHARTI AR *et al.*, 2003, sur les 4768 gènes identifiés dans la séquence génomique des leptospires, au moins cinquante interviennent dans la motilité des leptospires.

La figure 3 représente ce chromosome.

Figure 3 : Chromosome de *Leptospira interrogans*

D'après Internet, <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/MAPli.GIF>



c) Culture des leptospires

Les leptospires sont des bactéries très exigeantes sur le plan de la culture. Différents éléments doivent être présents dans le milieu de culture pour que les leptospires puissent se développer.

Un milieu favorable au développement des leptospires aura les propriétés mentionnées ci-après (ANDRE- FONTAINE et GANIÈRE JP, 1992 ; ELLIS WE, 1992) :

- un pH alcalin (pH allant de 7,2 à 7,6)
- une protection vis-à-vis de la lumière
- une température de 28°C avec un intervalle allant de 10 à 37°C
- une source de carbone : des acides gras
- une source d'azote : des sels d'ammonium
- de l'albumine

En pratique, la plupart des laboratoires utilisent des milieux semi-synthétiques (CINCO M, 1981 ; PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

Il existe le milieu à l'albumine bovine avec du Tween 80 (milieu d'Ellinghausen et Mac Cullough : EM).

Ce milieu constitué de protéines, de vitamines, d'albumine et de Tween 80, a pour intérêt que les esters de Tween 80 apportent les acides gras que les leptospires ne peuvent synthétiser *de novo*. En plus, l'effet toxique dû aux acides libres obtenus à partir de l'hydrolyse de ces esters est neutralisé par l'albumine qui leur fournit un substrat non toxique.

Il existe également le milieu codifié par Johnson et Harris : EMJH qui est actuellement le plus utilisé. Ce milieu correspond à une modification du milieu d'Ellinghausen et Mac Cullough.

A ces milieux sont ajoutés différentes substances pour parfaire la sélectivité de la culture.

L'adjonction de 5-fluoro-uracile ($150 \mu\text{g}/\text{ml}$) rend partiellement sélectif le milieu de culture. De même, certaines cultures emploient de la néomycine (5-25 mg /ml), du sulfathiazole (50 mg/ml) et /ou de la cycloheximide (0,5 mg/l). En revanche, seules les souches saprophytes sont résistantes à la 8-azaguanine ($225 \mu\text{g}/\text{ml}$).

D'une manière générale, lorsque l'on cultive des leptospires, il est prudent de faire plusieurs ensemencements de milieu semi- solide avec et sans ces additifs.

De plus, le sang et les tissus peuvent retarder la croissance des leptospires dans les milieux artificiels. Il est donc meilleur d'ensemencer de faibles inoculums en dilutions croissantes ($10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$).

Enfin, en ce qui concerne les exigences de développement des leptospires en culture, une longue période d'incubation est nécessaire. Cela a pour conséquence que les recherches nécessitant une croissance rapide comme la génétique ou le diagnostic sont délicates.

Ainsi, d'un point de vue pratique l'isolement des leptospires à partir de l'hôte demande plus de deux semaines et parfois trois ou quatre mois comme cela est le cas pour le sérovar *hardjo*.

Finalement, les leptospires sont très fragiles *in vitro* et sont également sensibles dans les milieux biologiques. En revanche, comme nous le verrons plus loin, ces bactéries sont assez résistantes dans le milieu extérieur surtout si les conditions d'hygronométrie et de température sont respectées.

4. CARACTÈRES ANTIGÉNIQUES, IMMUNOLOGIQUES ET ALLERGIQUES

a) Propriétés antigéniques

Trois principaux constituants des leptospires ont des propriétés antigéniques (PEROLAT P et BARANTON G, 2000 ; HOVIND-HOUGEN K, 1981) :

1. L'enveloppe externe est l'élément structural le plus immunogène des leptospires (BROWN JA *et al.*, 1991).

Selon BARANTON G, 2003, les pathogènes bactériens activent le système immunitaire inné de l'hôte par des récepteurs qui reconnaissent des composants conservés des bactéries tels que le LPS, des peptidoglycans, des lipoprotéines, ou des fragments d'ADN....

Il a montré que le LPS active les macrophages par stimulation des récepteurs CD14 et TLR2.

Le complexe antigénique majeur est le « lipopolysaccharide-like substance » ou LLS qui induit la réponse humorale sérovar-spécifique. Ces antigènes lipopolysaccharidiques, proches du LPS des bactéries Gram négatif mais sans effet endotoxique, sont porteurs d'épitopes dont la répartition varie selon les sérovars permettant via des anticorps monoclonaux de proposer des schémas d'identification par réaction d'agglutination (GUERREIRO H *et al.*, 2001). Ces lipopolysaccharides sont les immunogènes majeurs au cours de l'infection humaine et sont de plus en mesure d'induire une protection de courte durée chez le hamster. Pour qu'il soit possible d'induire une séroprotection expérimentale chez cet animal de laboratoire il faut que la souche d'épreuve appartienne sinon au même sérovar, au moins au même sérogroupe que la souche d'épreuve. D'après BHARTI AR *et al.*, 2003, le LPS active les macrophages via le récepteur (TLR)2 alors que les bactéries GRAM négatif

activent le (TLR)4. D'après BROWN JA *et al.*, 1991, l'immunisation expérimentale de hamsters avec du LPS est efficace.

Les variations de la composition en carbohydrate du LPS reflète la diversité antigénique des leptospires pathogènes (GUERREIRO H *et al.*, 2001 ; KOIZUMI N *et al.*, 2003).

KOIZUMI N *et al.*, 2003, identifient deux protéines immunogènes homologues nommées LigA-m et LigB-m à partir de *Leptospira interrogans* sérovar *manilae*. Ces deux protéines sont proches du LigA identifié comme immunogène chez *Leptospira interrogans* sérovar *pomona* (PALANIAPPAN RU *et al.*, 2002).

En conclusion, ces différents éléments de la membrane externe sont donc très immunogènes. D'après des études menées sur des animaux d'expérimentation par SONRIER C *et al.*, 2001, le LPS induit une immunité protectrice contre un même sérovar alors que les autres protéines décrites ci-dessus peuvent induire une immunité protectrice contre un sérovar hétérologue. Ces protéines pourraient donc être de bonnes candidates pour un nouveau vaccin qui protégerait alors contre les différents sérovars.

2. Les hémotoxines produites par les leptospires conduisent à la formation d'anticorps neutralisants.
3. Les filaments axiaux des leptospires présenteraient enfin des propriétés antigéniques. Ces propriétés antigéniques ont été décrites par AURAN NE *et al.*, 1972, chez le lapin.

b) Propriétés immunologiques

Les auteurs se contredisent sur les propriétés immunologiques des leptospires. Pour certains l'immunité serait uniquement humorale, alors que pour d'autres elle serait humorale et cellulaire.

A priori, l'immunité à médiation humorale n'est pas le seul élément de la protection (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992). Ceci peut être objectivé expérimentalement par le fait qu'un animal vacciné et contrôlé sérologiquement par la méthode de référence actuelle (test de micro agglutination) peut n'avoir développé qu'un titre modéré alors qu'il résiste à l'épreuve virulente. NAIMAN BM *et al.*, 2001, montrent dans leur étude que l'immunité contre la leptospirose n'est pas seulement humorale mais également cellulaire. Celle-ci étant induite par la vaccination.

Comme l'indiquent HEATH SE et JOHNSON R, 1994, suite à l'infection d'un chien par des leptospires, deux types d'anticorps sont produits : Dans un premier temps des IgM sont produits. Ils sont dirigés contre les antigènes spécifiques et non spécifiques des sérovars présents à la surface externe des spirochètes. Ces IgM retardent la multiplication des leptospires sans les inhiber totalement.

Puis des IgG issus d'une réponse humorale plus spécifique sont produits. Ceux-ci lysent les leptospires circulant. Ces IgG dirigés contre les sérovars leptospira peuvent être décelés par la méthode ELISA six mois après la vaccination et douze mois après une exposition naturelle.

Quoiqu'il en soit, la durée de l'immunité acquise après une infection naturelle est inconnue. Les leptospires peuvent échapper au système immunitaire du fait de leur séquestration dans les tubules rénaux ou dans des tissus protégés du système immunitaire comme les yeux ou le cerveau. Elles peuvent ainsi persister pendant des mois voire des années chez les chiens même si une réponse humorale importante a lieu. L'agglutination des titres en anticorps n'est pas proportionnelle à la protection (COYNE MJ *et al.*, 2001).

c) **Propriétés allergiques**

SHONBERG A, 1981, a utilisé un allergène appelé leptospirine en test intradermique pour le diagnostic des leptospiroses animales. Les sérotypes utilisés sont *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *pomona*, *grippotyphosa*, *taraso*, *patoc* et *sao paulo*.

Son injection induit l'apparition d'un érythème quelques heures après.

II- PATHOGÉNIE DE LA LEPTOSPIROSE

1. CONDITIONS DE L'INFECTION

L'installation des lésions principales dépend des caractères du sérogroupe et des capacités de défense du chien infecté.

a) Facteurs tenant au pouvoir pathogène des leptospires

- Pouvoir pathogène naturel

Chaque sérovar tend à être associé à un hôte particulier. Par exemple, *Leptospira canicola* est généralement associé au chien. Il y a cependant de nombreuses exceptions. Ainsi, un même sérovar peut se trouver chez plusieurs espèces et un même hôte peut héberger plusieurs sérovarts. D'après WOHL JS, 1996, quand l'infection d'un hôte est accidentelle alors les signes cliniques exprimés sont plus sévères et la phase d'invasion est d'une durée plus courte.

D'après MILLET AS, 1998, les différentes leptospires impliqués dans la leptospirose du chien ont les caractéristiques résumées dans le tableau 3 ci-après.

Tableau 3 : Influence de la spécificité du sérovar sur la transmission et l'expression de la leptospirose chez le chien

D'après MILLET AS, 1998

Sérovars spécifiques	Sérovars non spécifiques
<ul style="list-style-type: none">- Forte contagiosité- Infection rénale et émission d'urines riches en leptospires	<ul style="list-style-type: none">- Fort pouvoir pathogène- Infection rénale de courte durée- Faible contagiosité- Faible susceptibilité- Réponse immunitaire forte

Ensuite, chaque sérogroupe a un pouvoir pathogène plus ou moins important. Ainsi, le sérogroupe *Icterohaemorrhagiae* est considéré par exemple, comme ayant un fort pouvoir pathogène. Il faut tout de même relativiser l'importance de son pouvoir pathogène en précisant que sa répartition géographique est particulièrement fréquente. Cela explique pourquoi celui-ci donne souvent des réponses séropositives. Ces résultats sont inversés pour le sérogroupe *Canicola*. C'est pourquoi, d'après ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 1994, l'agressivité des souches infectieuses n'est pas propre à tel ou tel sérogroupe mais à leur importante représentativité sérologique.

- Origine du pouvoir pathogène

- Mobilité des leptospires

Pour PEROLAT P et BARANTON G, 2000, la mobilité très importante des leptospires, qui sont capables de se mouvoir dans des milieux de viscosité élevée, contribue à leur pathogénicité. En effet, les leptospires peuvent ainsi franchir les barrières cutanéo-muqueuses, l'humeur aqueuse ou le corps vitré. D'ailleurs d'après BHARTI AR *et al*, 2003, sur les 4768 gènes identifiés dans la séquence génomique des leptospires, au moins cinquante interviennent dans la motilité des leptospires. Cette mobilité permet de plus l'échappement aux mécanismes de défense humorale et cellulaire de l'hôte.

- Capacité invasive des leptospires

La capacité invasive des leptospires semble également être une des composantes importantes de leur pathogénicité.

TOSHIHIRO I et RYO Y, 1987, ont examiné l'attachement des leptospires à la membrane extra cellulaire de fibroblastes de souris. Ils ont constaté que plus une souche est virulente, plus son adhésion à cette membrane est importante. Inversement, moins une souche est virulente, moins l'adhésion est marquée.

TOSHIHIRO I et RYO Y, 1987, ont également étudié l'effet de la température sur l'adhésion des souches virulentes de *copenhageni* à la membrane extra-cellulaire. Les résultats de cette étude montrent qu'une augmentation de la température s'accompagne d'une augmentation de l'adhésion, avec un pic d'attachement de 30 à 37°C. De même, THOMAS DD et HIGBIE LM, 1990, qui ont réalisé des études similaires sur des cellules eucaryotes, obtiennent ce pic d'adhésion sur des cellules rénales à une température de 37°C. En revanche à 4°C, cette adhésion est réduite de 95% comparée à celle à 30°C.

Selon DOBRINA A *et al.*, 1995, l'adhérence des neutrophiles circulants aux cellules endothéliales vasculaires est essentielle pour leur migration dans les tissus.

Deux mécanismes d'adhérence sont connus :

Un mécanisme dépendant des cellules endothéliales où celles-ci exposeraient un phénotype pro-adhésiant pour les neutrophiles. Celui-ci consiste à exprimer des molécules d'adhérence.

Un mécanisme dépendant des neutrophiles où les autres types de stimuli induisent l'expression et/ou l'activation de molécules d'adhérence sur la surface de ces cellules.

DOBRINA A *et al.*, 1995, montrent également que les peptidoglycans des leptospires induisent une activité pro-adhésante pour les neutrophiles sur des cultures de cellules endothéliales humaines. Cette activité est liée à l'expression de protéines dont la synthèse est dépendante de l'expression de molécules d'adhésion spécifique sur la surface des cellules endothéliales. Cette étude montre que les leptospires stimulent l'adhérence des neutrophiles aux cellules endothéliales vasculaires.

D'après BHARTI AR *et al.*, 2003, une protéine se liant à la fibronectine serait spécifiquement exprimée à la surface des souches virulentes de *L. interrogans*, sérovar *icterhaemorrhagiae*, mais pas à la surface des souches non virulentes. Cette protéine aurait un rôle important dans l'adhésion initiale des leptospires et dans leur invasion cutanée ou muqueuse.

Le ligand qui permet l'adhésion cellulaire doit être associé à un facteur de virulence. On ne sait toujours pas pour l'instant si cette liaison se fait suivant une réaction ligand-récepteur ou non.

- Substances pathogènes

Enfin, certaines substances produites par les leptospires interviendraient dans le pouvoir pathogène de ces bactéries. D'après LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003, et d'après WHOL JS, 1996, les toxines et enzymes produites par les leptospires contribueraient en partie à leur pathogénicité. Certaines toxines qui sont vraisemblablement des hémolysines ont été isolées.

D'après CULLEN PA *et al.*, 2003, ces hémolysines auraient un rôle important dans la pathogénicité des leptospires. Certaines de ces protéines ont été clonées, séquencées et codent pour des phospholipases ou des sphingomyelinases, qui ont pour cibles les érythrocytes et certainement d'autres cellules dont la membrane est constituée de phospholipides (BERNHEIMER AW et BEY RF, 1986).

Les lipopolysaccharides stimuleraient l'adhérence des neutrophiles et l'activation plaquettaire qui sont à l'origine des anomalies inflammatoires et sanguines présentées par le chien atteint.

Il a été mis en évidence par différents laboratoires une substance lipopolysaccharide-like mais il n'a pas été montré que celle-ci interviendrait dans le caractère pathogène des leptospires (FARR RW, 1995).

- Pathogénicité de certains éléments constitutifs des leptospires

Des éléments constitutifs des leptospires présenteraient également une pathogénicité. D'après SRIVASTAVA SK, 2002, le LPS des leptospires serait un des éléments responsables des lésions tissulaires. Celui-ci montre que le LPS extrait de *pyrogenes* est toxique pour les cellules de lapin, puisque celles-ci perdent leur forme après incubation avec le LPS. En revanche, aucun caractère hémolytique n'est relevé dans cette étude. D'autres études menées par SRIVASTAVA SK, 2002, ont eu le même résultat avec des cellules de souris.

D'autre part, ISOGAI E *et al.*, 1998, montrent que le LPS induit l'apoptose de lymphocytes de rate. Celle-ci est précédée d'une activation non spécifique des cellules B.

BARNETT JK *et al.*, 1999, ont mis en évidence que la membrane externe des leptospires pathogènes contiennent le LPS, une porine ompL1 et certaines lipoprotéines dont LipL41. Ces différents composants seraient toujours présents dans la lumière des tubules rénaux 10 jours et 28 jours post infection. Ils auraient donc un rôle dans l'induction et la persistance des néphrites interstitielles leptospirosiques.

- Pathogénicité des leptospires chez l'hôte

Les leptospires virulentes possèdent une importante capacité à adhérer aux différentes cellules voire de pénétrer à travers les cellules endothéliales et de dissocier les hépatocytes (ANDRE- FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

La pathogénicité vasculaire des leptospires résident dans le fait que celles-ci sont à l'origine d'une sévère vascularite avec des lésions endothéliales résultant d'une atteinte des capillaires, un œdème tissulaire, une diathèse hémorragique et parfois une coagulation intravasculaire disséminée.

L'insuffisance rénale a pour origine des lésions tubulaires liées à la colonisation des leptospires dans les cellules épithéliales tubulaires rénales et à leur multiplication.

L'augmentation de taille rénale intervient également dans cette perte fonctionnelle puisqu'elle est à l'origine d'une diminution de filtration glomérulaire et d'hypoxie.

En conclusion, l'expression de ce pouvoir pathogène relatif à l'espèce de leptospires infectante peut faire évoluer la maladie d'une forme asymptomatique vers une forme icterohémorragique grave. Ce pouvoir pathogène est également lié à la sensibilité et à la réceptivité de l'hôte.

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

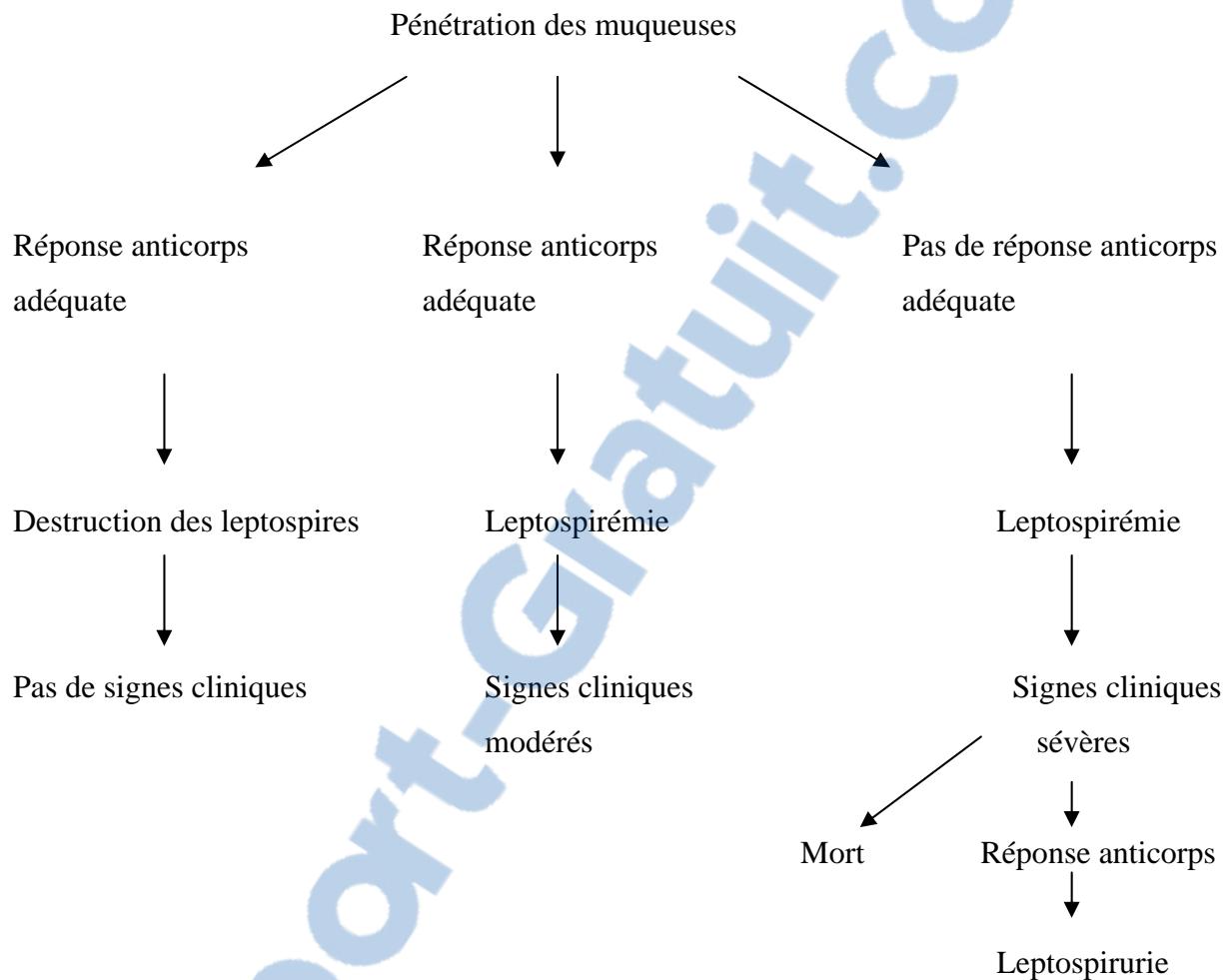
Différents facteurs tenant au chien infecté sont prépondérants pour l'évolution de la maladie (ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 1994) :

- Le statut immunitaire : un chien immunodéprimé montre une très forte sensibilité à l'infection leptospirosique.
- L'âge : l'importance de l'infection leptospirosique augmente avec l'âge du chien.
- L'état vaccinal du chien interfère sur le développement et les conséquences de l'infection : un chien correctement vacciné présente des anticorps agglutinant la souche infectieuse, ce qui permet sa phagocytose après opsonisation.
- La réaction immunitaire du chien devant l'infection : Le développement d'une réponse immunitaire peut entraîner une élimination des bactéries et la guérison, mais le germe peut également persister dans des sites comme les tubes rénaux proximaux, d'où la leptospiurie.

La réponse d'un hôte à une infection leptospirosique est donc variable. L'expression clinique de la maladie dépend à la fois du caractère pathogénique de la souche infectieuse mais aussi des pouvoirs de défense de l'animal infecté. (MULLER A *et al.*, 1999)

La variabilité des réponses du chien à une infection leptospirosique est résumée dans la figure 4.

Figure 4 : Variabilité des réponses du chien à une infection leptospiroïque
D'après BALDWIN CJ et ATKINS C, 1987

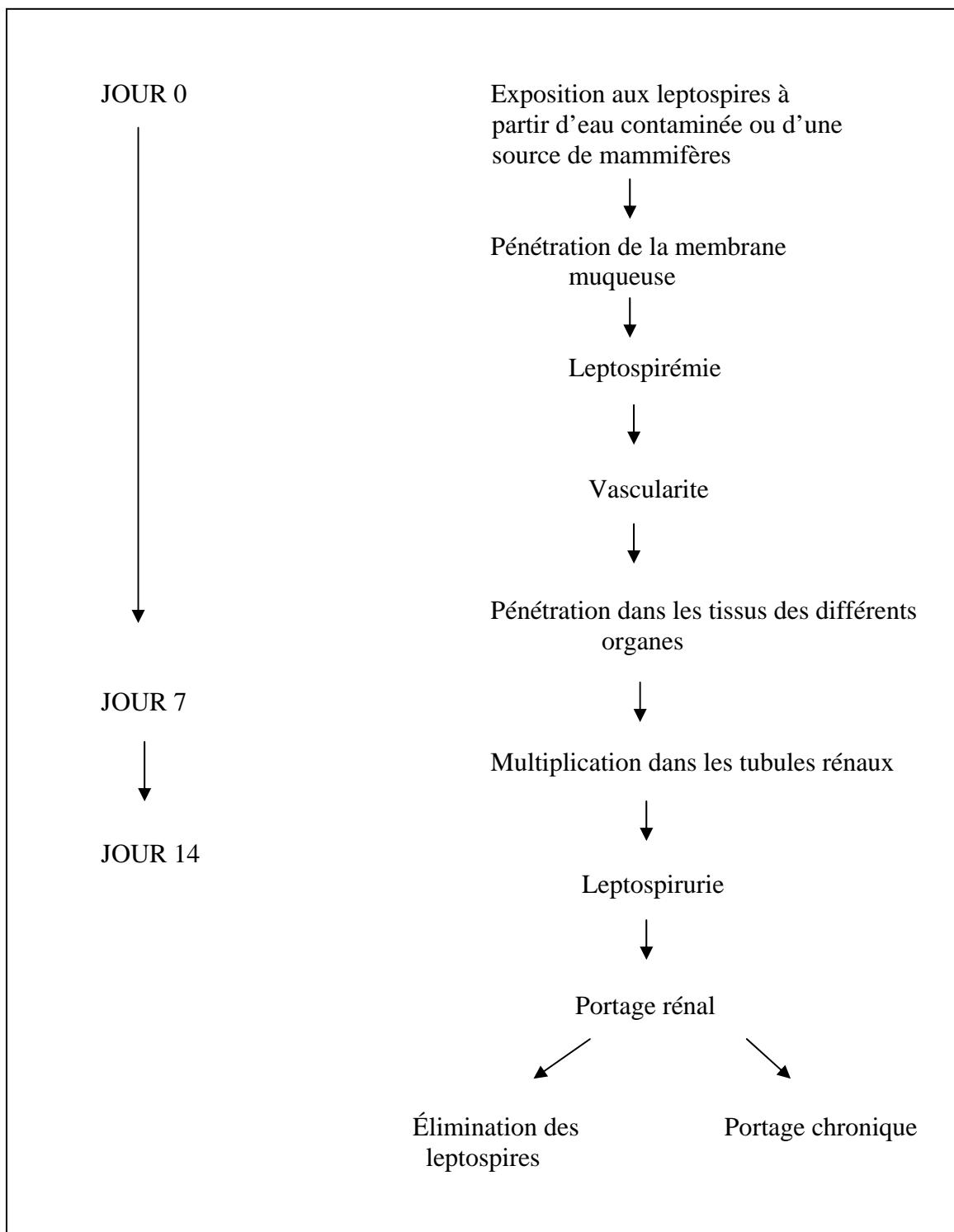


2. ÉTAPES DE L'INFECTION

Le schéma général de l'infection leptospirosique se fait en différentes étapes. D'abord, en une phase de contamination du chien au cours de laquelle les germes vont pénétrer dans l'organisme hôte. Puis, en une phase d'invasion où les leptospires se multiplient dans le sang. Enfin, en une phase de colonisation de différents organes, dont les tubules rénaux dans lesquels les leptospires vont se multiplier et être excrétés.

Ces différentes étapes de l'infection sont représentées dans la figure 5.

Figure 5 : Étapes de l'infection par des leptospires
D'après WOHL JS, 1996



a) Phase de contamination du chien

Cette infection se fait (WOHL JS, 1996 ; MILLET AS, 1998):

- après pénétration à travers les muqueuses: oculaire, buccale, nasale,...
- ou à partir de lésions cutanées (plaies, égratignures)
- ou par les régions à peau fine (oreilles par exemple).

Des cas d'infection ayant une origine vénérienne ou placentaire sont également rapportés.

Les leptospires sont présentes dans l'eau, l'urine, voire dans la carcasse d'animaux infectés. ANDERSON JF *et al.*, 1993, relatent le cas particulier de l'isolation de *leptospira interrogans* sérovar *grippotyphosa* à partir de la peau d'un chien.

Après le passage de la barrière cutanée ou muqueuse, les leptospires entrent dans l'espace vasculaire qui est un milieu propice à leur multiplication.

b) Phase d'invasion

La phase de leptospirémie peut perdurer de 4 à 12 jours après l'exposition.

Les toxines bactériennes entraînent des lésions des parois des capillaires sanguins ce qui provoque des saignements et parfois même des troubles de la coagulation (CIVD : coagulation intravasculaire disséminée), hyperfibrinolyse et une thrombocytopénie (GREENE CE, 1984). Une hypertrophie de la rate et des signes généraux tels qu'anorexie, faiblesse, léthargie, fièvre, sont également fréquents.

Cette phase d'invasion dépend de la virulence de la souche : les sérovars ayant une action hémolytique sont différents selon les espèces. En effet, ces variations seraient sous la dépendance de la teneur en phospholipides de la membrane des globules rouges sensible à une phospholipase produite par les leptospires (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

Durant cette période il est possible de tenter une hémoculture ce qui sera impossible ultérieurement (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

Puis les leptospires vont diffuser dans les différents tissus cibles particulièrement dans le foie et les reins.

c) **Phase de multiplication**

L'interaction des leptospires avec les cellules est à l'origine de coagulopathie, d'hypoxie tissulaire, d'agrégation plaquettaire avec activation du système de coagulation et de fibrinolyse (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

Les organes majoritairement touchés par les leptospires sont le foie et les reins. Mais le tissu pulmonaire, les organes génitaux, le tube digestif, le système nerveux ou les yeux peuvent également être infectés (MILLET AS, 1998).

Parallèlement à cette infection tissulaire se développe une réaction immunitaire spécifique (apparition d'anticorps de type IgG et IgM détectables après une dizaine de jours d'infection).

Cette réaction pourrait conduire à certains phénomènes immunopathologiques comme l'uvéite couramment décrite chez le cheval, mais rare chez le chien, ou la néphrite interstitielle par lésion glomérulaire. Dans certains cas, une importante élévation des IgM anti-leptospires peut même provoquer une activation excessive du complément. Celle-ci a pour conséquence un

élargissement des réactions inflammatoires, une augmentation de la perméabilité vasculaire, un œdème interstitiel, une leucocytose et dans quelques cas une coagulation intravasculaire disséminée (HARTMAN EG *et al.*, 1986).

La localisation rénale des leptospires conduit le chien à en devenir excréteur, ce qui constitue un risque épidémiologique majeur. Même si le chien survit à l'infection et est cliniquement guéri, il peut rester porteur de leptospires pendant plusieurs mois. Dans ce cas, l'excrétion est intermittente car dépendante de l'inhibition ou non de l'adhérence des leptospires aux cellules des tubules rénaux par la concentration en anticorps.

III- SYMPTÔMES ET LÉSIONS

1. SYMPTÔMES

L'expression clinique et le pronostic dépendent des caractères de la souche infectante selon le sérogroupe mis en cause et des capacités de défense de l'animal infecté (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992 ; ELLIS WE, 1992).

La leptospirose peut prendre quatre grandes formes d'expression clinique : suraiguë, aiguë, subaiguë ou chronique.

a) Forme suraiguë

Une forme suraiguë sans symptomatologie caractéristique peut survenir et provoquer la mort brutale de l'animal.

b) Formes aiguës

En général, on décrit deux types de formes aiguës. La première se traduit sous la forme d'une gastro-entérite hémorragique et la deuxième sous une forme icéro-hémorragique (ANDRE-FONTAINE G, 2002 ; ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1990 ; KALIN M *et al.*, 1999).

- Gastro-entérite hémorragique ou typhus du chien ou maladie de Stuttgart

C'est la forme d'évolution la plus rapide. Le temps d'incubation est variable, mais dure en moyenne de trois à six jours.

- Symptômes généraux

L'animal présente une hyperthermie sévère (supérieure à 40°C) et un état de prostration intense en relation avec une flaccidité musculaire.

- Symptômes digestifs

Ils sont violents et se manifestent par des vomissements et des diarrhées hémorragiques. Les douleurs abdominales associées rendent l'animal très rapidement anorexique.

L'animal présente une insuffisance hépatique sévère aiguë ou subaiguë.

- Symptômes rénaux

Il y a un dysfonctionnement total des reins qui entraîne une oligurie génératrice d'urémie et de créatinémie.

Les urines sont colorées et très foncées.

- Signes hémorragiques

Des pétéchies, méléna, épistaxis et hématémèse dominent le tableau des symptômes hémorragiques.

Des hémorragies sont visibles sur les muqueuses cutanée, intestinale et rétinienne.

D'après HIGGINS R, 1981, la diathèse hémorragique est l'une des manifestations les plus typiques de la leptospirose aiguë.

- Atteinte de l'appareil cardiorespiratoire

Dans certains cas, une tachypnée, une tachycardie et une augmentation du temps de recoloration capillaire sont également notées.

Atteint par cette forme aiguë de leptospirose, le chien sans traitement meurt d'un choc cardiovasculaire et d'hypothermie en moins de 24 heures. La fulgurance de cette forme ne laisse pas le temps à une atteinte hépatique ou rénale de s'installer.

Cette forme de létalité extrêmement rapide est actuellement beaucoup plus rare que la forme ictéro-hémorragique classique.

- Forme ictéro-hémorragique ou maladie de WEIL

D'après SCHOENAERS F et KAECKENBEECK A, 1971, cette maladie a pour agent habituel *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Cependant d'autres leptospires peuvent conduire à cette maladie.

Cette forme moins fulgurante que la forme précédente a un tropisme essentiellement hépatique.

Le temps d'incubation est de trois à six jours.

- Symptômes généraux

L'animal présente une hyperthermie moins sévère et un abattement moins prononcés que dans la forme précédente.

- Symptômes digestifs

Les vomissements du chien représentent le signe d'appel de cette forme de leptospirose.

Ils sont incoercibles et conduisent très rapidement le chien à un état de déshydratation souvent létale d'autant plus que la fonction rénale est très amoindrie.

- Atteinte hépatique

C'est seulement une dizaine de jours après l'infection que l'atteinte hépatique se manifeste.

L'animal va présenter un ictère franc qui a une coloration très vive et qui est communément nommé ictère *flamboyant ou capucine*.

L'urine émise sera très colorée du fait de la richesse en bilirubine. Quelquefois, la choléstase intra hépatique sera suffisamment importante pour colorer les selles en gris.

- Atteinte rénale

S'ajoute très fréquemment une néphrite tubulaire aiguë.

En général, cette forme est tout aussi fatale pour le chien bien qu'elle soit moins fulgurante que la forme précédente. Le chien succombe en trois à six jours une fois que l'ictère et les hémorragies se sont déclarées.

En pratique, on associe sans confirmation bactériologique les phénomènes hémorragiques et l'ictère à *L. icterohaemorrhagiae* et la néphrite à *L. canicola*.

De même d'après MULLER A, 1999, les animaux infectés par *L. pomona* ou *grippotyphosa* présentent une insuffisance rénale aiguë.

Ces associations sont cependant hâties car la plupart des sérovars, comme le montre l'étude de BOUTILIER P *et al.*, 2003, sont capables de causer toutes les formes possibles de leptospirose dans chaque espèce animale. Pour un même sérovar on peut avoir des symptômes différents.

c) Formes subaiguës ou chroniques

Ces formes se rencontrent généralement chez les chiens qui survivent aux formes aiguës de leptospirose.

Les deux principaux organes touchés dans ces formes subaiguës observées chez le chien sont le rein et le foie.

- Néphrites leptospirosiques

La maladie dans ce type de forme chronique va conduire à l'apparition d'une néphrite tubulo-interstitielle chronique conduisant à un syndrome urémique.

Les symptômes rénaux peuvent être frustes tant qu'au moins trente pour cent des néphrons restent fonctionnels.

L'un des premiers signes clinique est une polyuro-polypsie. Lors de stades avancés, celle-ci s'accompagne de vomissements et de diarrhées pouvant être fatales à l'animal après installation d'un coma urémique.

- Hépatites leptospirosiques

Une hépatite chronique active apparaît et va progressivement altérer la santé du chien.

D'après ADAMUS C *et al.*, 1997, la leptospirose est, à l'exception de l'infection par le virus CAV-1, la seule maladie infectieuse à l'origine d'une hépatite chronique. Dans l'étude de ADAMUS C *et al.*, 1997, l'infection leptospirosique conduit à une fibrose caractéristique qui divise les lobules du foie et une choléstase lui est associée.

Les dommages hépatiques sont représentés le plus souvent par un ictere, une diminution du taux d'albumine sérique, une augmentation du taux de globulines et un défaut de production de facteurs dépendants de la vitamine K.

Il est relevé d'après LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003, que les chiens de moins de 6 mois sont les chiens qui présentent le plus de symptômes hépatiques.

D'après ADAMUS C *et al.*, 1997, *L. interrogans* aurait un effet cytotoxique direct sur l'endothélium et les membranes cellulaires du foie. Des glycoprotéines des leptospires interviendraient également dans la pathogénicité.

d) Autres formes

- Troubles respiratoires

D'après MULLER A, 1999, ils se manifestent sous forme de pharyngite ou d'amygdalite qui conduisent à des symptômes de toux et à de la dyspnée. Dans certains cas, ces troubles respiratoires peuvent se compliquer en oedème pulmonaire non cardigénique, à de l'hémoptysie ou conduire à une pneumonie secondaire. Selon BAUMAN D et FLUCKIGER M, 2001, ces signes de lésions pulmonaires sont plus souvent visibles radiographiquement que cliniquement.

Il est difficile de savoir dans quelle proportion ces troubles respiratoires se manifestent chez les chiens atteints de leptospirose. D'après LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003, ces troubles respiratoires concernent un nombre restreint de chiens infectés dont le pourcentage varie de trois à vingt pour cent. Alors que pour TREVEJO RT *et al.*, 1995, des symptômes pulmonaires modérés sont retrouvés dans 20 à 70 % des cas.

- Troubles ophtalmiques

Une pénétration des leptospires dans l'humeur aqueuse durant la phase septicémique est possible. La persistance des leptospires dans cette partie de l'œil peut durer des mois et conduire à une uvéite chronique.

Une réaction entre les antigènes leptospirosiques et les tissus oculaires seraient à l'origine des symptômes.

D'après une étude menée par THIRUNAVUKKARASU PS *et al.*, 1995, les manifestations oculaires notables sont par ordre décroissant :

- Une congestion de la membrane muqueuse
- Une congestion de la sclère
- Un ictère de la membrane muqueuse

Pour DZIEZYC J, 2000, les uvéites peuvent être présentes lors d'infection aiguë. Celles-ci peuvent apparaître des semaines voire des mois après cette phase aiguë.

LAJEUNESSE J et DI FRUSCIA R, 1999, dans leur étude de cas cliniques observent une hémorragie sous-conjonctivale bilatérale.

- Troubles nerveux

Des atteintes du système nerveux central sont également décrites avec comme manifestation majeure, une méningite aseptique. La pénétration des leptospires a lieu au début de la phase septicémique.

Cette inflammation responsable des symptômes nerveux est certainement liée à la formation du complexe anticorps-antigènes.

D'après PONCELET L *et al.*, 1991, une polymyosite peut également être associée à une infection leptospirique, le sérovar en l'occurrence effectivement impliqué étant *L. australis*. D'après BRAUND BG, 1997, une polymyosite induite par *L. icterhaemorrhagiae* est également possible.

Les symptômes sont une faiblesse du port de tête, une douleur au dos et des difficultés pour porter les membres en semi-flexion. Dans l'étude menée par LAJEUNESSE J et DI FRUSCIA R, 1999, ces symptômes sont également retrouvés chez un chien.

Dans l'étude des trente six cas de BIRNBAUM N *et al.*, 1998, neuf chiens présentent des douleurs musculaires résultant d'une myosite.

D'après BRAUND BG, 1997, le diagnostic de myosite est confirmé par un dosage sérique de la créatine phosphokinase et par un examen électromyographique (EMG) qui révèle des potentiels spontanés anormaux. En revanche, l'examen anatomopathologique des biopsies musculaires est peu évocateur.

Il est donc clair que les symptômes de la leptospirose sont très polymorphes et peuvent revêtir des formes tout à fait atypiques. Comme le montre d'ailleurs l'article de BORDES F, 2001, avec l'émergence de nouveaux sérovars des formes très déconcertantes peuvent apparaître.

2. LÉSIONS

a) Lésions macroscopiques

- Lésions générales

L'examen nécropsique peut mettre en évidence un ictere généralisé, des hémorragies multiples et des pétéchies ou ecchymoses localisées à la peau, aux muqueuses, aux séreuses et aux parenchymes (SCHOENAERS F et KAECKENBEECK, 1971).

Les lésions les plus caractéristiques si elles sont présentes sont situées dans les reins et le foie.

- Lésions rénales

Morphologiquement les reins sont souvent tuméfiés, hypertrophiés et paraissent congestionnés. Ils peuvent même dans certains cas apparaître hémorragiques. Ces lésions congestives prédominent dans les formes aiguës (OSBORNE CA *et al.*, 1976). D'après BALDWIN CJ et ATKINS CE, 1987, durant la phase subaiguë de la maladie les reins apparaissent hypertrophiés avec une surface lisse. Leur surface est hétérogène avec différentes taches. A ce stade les lésions glomérulaires sont souvent absentes mais un amincissement de la capsule de Bowman est visible.

- Lésions hépatiques

Le foie peut apparaître hypertrophié, décoloré et friable. D'après BALDWIN CJ et ATKINS CE, 1987, le foie peut également présenter une accentuation de sa lobulation.

Les études menées sur ces atteintes hépatiques ont montré que la lésion hépatique fondamentale a pour principale cause l'atteinte des systèmes enzymatiques.

- Lésions pulmonaires

D'après BADIOLA J *et al.*, 1983, les poumons d'hamsters infectés par *hardjo* ont des foyers hémorragiques à l'examen nécropsique dès le deuxième jour suivant l'infection. De même, une infection par *swajizak* conduit à des lésions pulmonaires chez le hamster qui sont encore plus hémorragiques que celles induites par une infection par *hardjo*.

D'après l'étude de GREENLEE J *et al.*, 2004, de nombreuses pétéchies sont retrouvées sur des poumons de chiens.

- Lésions de la rate

Des lésions de la rate où celle-ci paraît hypertrophiée sont également notées à l'examen nécropsique de chiens (LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003).

Il faut préciser que les lésions de ces différents organes ne sont visibles que si elles ont eu le temps de s'installer. Lors de formes fulgurantes aucune lésion caractéristique ne sera visible à l'inverse des formes chroniques. En effet, dans les cas de formes chroniques les reins et le foie présentent des zones de fibrose qui peuvent faire perdre à ces organes leur structure. Cette fibrose est la conséquence de l'inflammation chronique induite par l'infection leptospirosique (GREENE CE, 1990).

b) Lésions microscopiques

De même que pour les lésions macroscopiques, des lésions microscopiques peuvent être caractéristiques d'une infection leptospirosique avec des lésions particulièrement visibles sur les reins et le foie (HARTMAN EG *et al.*, 1986 ; SCANZIANI E *et al.*, 1994 ; GREENLEE J *et al.*, 2004).

- Lésions rénales

Une néphrite interstitielle aiguë ou subaiguë est visible. On observe une congestion plus ou moins intense du réseau capillaire du rein associée à un infiltrat cellulaire inflammatoire à cellules mononucléées. L'espace interstitiel est envahi par des cellules inflammatoires. Ces cellules sont principalement des monocytes, des macrophages, des plasmocytes et des lymphocytes. Ces cellules infiltrantes sont présentes autour des artères inter lobaires et inter lobulaires.

L'épithélium des tubules contournés proximaux et distaux présente également des lésions. Ceux-ci peuvent présenter des cellules dégénérées, des granulations hyalines ou des cellules nécrosées.

Le glomérule ne présente pas réellement des lésions microscopiques.

- Lésions hépatiques

Les lésions hépatiques sont celles d'une hépatite dégénérative.

Elles montrent une dissociation hépatocytaire particulière. Les hépatocytes présentent un aspect dégénéré.

Le cytoplasme est envahi de granules éosinophiles avec un petit noyau.

Le noyau est rétracté ou lysé. D'après BISHOP L *et al.*, 1979, il y a également une perte généralisée de la basophilie. Le noyau est généralement vésiculaire et pâle. Il arrive parfois que les hépatocytes soient binucléées. Dans certaines coupes des hépatocytes présentent des noyaux pyknotique ou caryolytique et des cytoplasmes irréguliers.

Des zones de nécrose localisées peuvent être visibles entourées d'infiltration de cellules lymphatiques

Il existe souvent une choléstase intra hépatique.

Des zones de fibrose et de nécrose près de l'espace porte peuvent également être visibles dans les cas chroniques. D'après ADAMUS C *et al.*, 1997, dans des cas avancés de leptospirose canine une fibrose étendue est visible avec une désorganisation de l'architecture lobulaire, une nécrose hépatocellulaire et souvent une accumulation de cuivre intra cellulaire.

Les canaux biliaires peuvent être hypertrophiés.

- Lésions pulmonaires

A l'examen histologique de poumons de chiens : des lésions hémorragiques, des lésions congestives, de l'œdème et une infiltration tissulaire par les neutrophiles ou des lymphocytes ont été relevées (LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003 ; GREENLEE J *et al.*, 2004).

IV- ÉPIDÉMIOLOGIE

1. ÉPIDÉMIOLOGIE DESCRIPTIVE

La leptospirose canine a une répartition mondiale. Elle existe sur tous les continents (ACHA PN et SZYFRES B, 1989).

Dans nos régions tempérées elle sévit pendant les saisons chaudes et pluvieuses. On note chez le chien une incidence plus élevée de la maladie en été du fait des baignades plus fréquentes et en automne pour les chiens de chasse qui sont en contact avec de l'eau. Ceci est confirmé par l'étude de BOUTILIER P *et al.*, 2003, et par l'étude de WARD MP *et al.*, 2002.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE ANALYTIQUE

a) Sources de bactéries

De très nombreuses espèces animales : mammifères, oiseaux, reptiles, amphibiens, poissons, oiseaux et invertébrés peuvent être infectées par des leptospires (TRAP D, 1993).

Parmi les mammifères domestiques : les ruminants, les porcins, les équidés et les carnivores peuvent être atteints.

Parmi les mammifères sauvages : les cervidés et les lagomorphes sont infectés (ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001).

En revanche d'après HANSON LE, 1982, les mammifères marins ne sont pas touchés du fait de l'importante concentration en sel de l'eau de mer. Il existe cependant des exceptions puisqu'en 1971 le sérovar *pomona* a causé la mort de lions de mer sur la côte californienne. Mais la contamination par les leptospires aurait été terrestre.

En tout, 160 espèces de mammifères ont été recensées comme pouvant être infectées par les leptospires. Mais pour certains d'entre eux cette infection n'entraîne pas de troubles cliniques ce qui rend l'épidémiologie de la leptospirose très complexe (ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001).

Les sources de contamination sont représentées par les animaux malades, les animaux infectés asymptomatiques et les animaux sauvages.

- Transmission de la maladie par la faune sauvage

Les espèces sauvages peuvent être des hôtes naturels ou accidentels de leptospires. Certaines espèces animales sont naturellement résistantes à la leptospirose mais sont infectées. Elles servent de réservoir en étant réceptives à l'infection et en assurant la multiplication des leptospires dans leurs reins. Ensuite la maladie est disséminée par les urines alors que ces animaux sont des porteurs asymptomatiques. D'après ANDRE-FONTAINE G, 2002, l'efficacité

d'un réservoir réside dans l'équilibre de celui-ci avec les leptospires. Cet équilibre est lié aux propres facteurs de limitation de l'invasion microbienne de l'hôte qui sont génétiques et/ou immunologiques.

Les animaux sauvages, surtout les rongeurs, sont les réservoirs de nombreux sérovars. Une espèce sauvage peut être un hôte naturel pour certains sérovars et un hôte accidentel pour d'autres.

Trois espèces de rongeurs sont associés à la leptospirose (VANASCO NB *et al.*, 2003) :

- *Mus musculus* ou souris domestique qui est le réservoir habituel de *ballum*
- *Rattus norvegicus* ou rat brun qui est en général le réservoir des sérovars *icterohaemorrhagiae* et *copenhageni*
- *Rattus rattus* ou rat noir qui est le réservoir habituel d'*icterohaemorrhagiae* et *ballum*.

L'infection du rat est connue et telle qu'elle a conduit la leptospirose à être dénommée la « maladie des égoutiers ». En effet, le contact avec un rat quelle que soit son espèce zoologique constitue un risque épidémiologique de la maladie.

Les leptospires pénètrent dans l'organisme d'un rat, restent un temps variable dans son système sanguin, puis gagnent le rein qui est l'organe cible. Cliniquement le rat ne présente aucun symptôme alors que les bactéries sont régulièrement éliminées et disséminées dans les urines.

Un rat peut rester infecté de longs mois voire toute sa vie. Il constitue ainsi un très bon réservoir. On considère épidémiologiquement qu'un réservoir est d'autant plus efficace que sa survie n'est pas altérée alors qu'il entretient la pression infectieuse en multipliant l'agent infectieux et assure sa dissémination par les matières virulentes (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992).

Tous les rongeurs mais aussi de nombreux autres petits mammifères comme le hérisson jouent un rôle similaire. La plupart des sérovars infectants ont un hôte spécifique et ils ne peuvent pas se répliquer à l'extérieur de cet hôte. Chaque sérovar possède une ou plusieurs espèces réservoirs mais peut également avoir un hôte secondaire occasionnel.

Le réservoir varie selon les sérovars. Les principaux réservoirs pour certains sérovars sont énumérés dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4 : Réservoirs des principaux sérovars susceptibles de contaminer le chien

D'après SERVANTIE J-J A, 2000

Sérovar	Réservoir
Canicola	Chien
Icterohaemorrhagiae	Rat (<i>Rattus norvegicus</i>), sanglier, cervidés, renard
Pomona	Porc, bovins, mouffette, opossum, lièvre
Grippotyphosa	Raton laveur, mouffette, opossum
Hardjo	Bovins
Bratislava	Porc
Ballum	Souris (<i>Mus musculus</i>), sanglier, cervidés, renard
Australis	Hérisson

Ces données générales varient en fonction de l'environnement. Ainsi, le développement des friches agricoles augmente la pression de population des animaux de la faune sauvage. Il existe des évolutions de population en relation avec les activités humaines. C'est pourquoi les rongeurs aquatiques comme le rat musqué ou le campagnol aquatique sont en compétition inégale avec le ragondin qui a été initialement introduit en France pour sa fourrure. Même si les élevages n'existent plus, le ragondin qui n'a pas de prédateur naturel a colonisé de façon intense la quasi-totalité des départements français. Celui-ci étant infecté par *Icterohaemorrhagiae* et *Sejroe* et excrétant ces bactéries, sa pression démographique devient préoccupante.

Le tableau 5 présente la prévalence de l'infection chez certaines espèces d'animaux sauvages en France.

D'autre part, certains sérogroupes tels que *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. grippotyphosa* et *L. pomona* sont cosmopolites alors que d'autres sont plus rares (SCHOENAERS F, 1971).

Enfin, parmi les représentants de la faune sauvage, il reste les suidés sauvages qui sont des excréteurs urinaires potentiels de la maladie.

Tableau 5 : Prévalence de l'infection chez certaines espèces sauvages en France

D'après TRAP D, 1993. Pourcentages d'animaux sauvages à réactions sérologiques positives (épreuve de micro agglutination supérieure ou égale à 1/100)

Campagnols Roussâtres	Mulots gris	Ragondins	Cerfs	Sangliers	Renards
9,6	34,4	47,4	21,2	67,3	28,9

- Infection du chien

Le chien est une espèce particulièrement sensible cliniquement. Les deux sérogroupes dominants dans cette espèce sont *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola*. Mais d'autres sérogroupes tels qu'*Australis* et *Pyrogenes* peuvent infecter le chien. La sensibilité du chien devant *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola* a conduit à élaborer un vaccin pour ces deux sérogroupes. Mais la vaccination n'empêche pas l'infection du chien par ces deux sérogroupes et à fortiori par les autres sérogroupes n'entrant pas dans la composition du vaccin. Ainsi d'après BROWN CA *et al.*, 1996, l'incidence de la maladie attribuée aux sérovars *canicola* et *icterohaemorrhagiae* a diminué alors que l'incidence de la maladie attribuée aux autres sérovars tels que *grippotyphosa*, *pomona* et *bratislava* a augmentée.

Le chien vacciné peut donc devenir un porteur excréteur urinaire épidémiologiquement aussi dangereux que d'autres espèces.

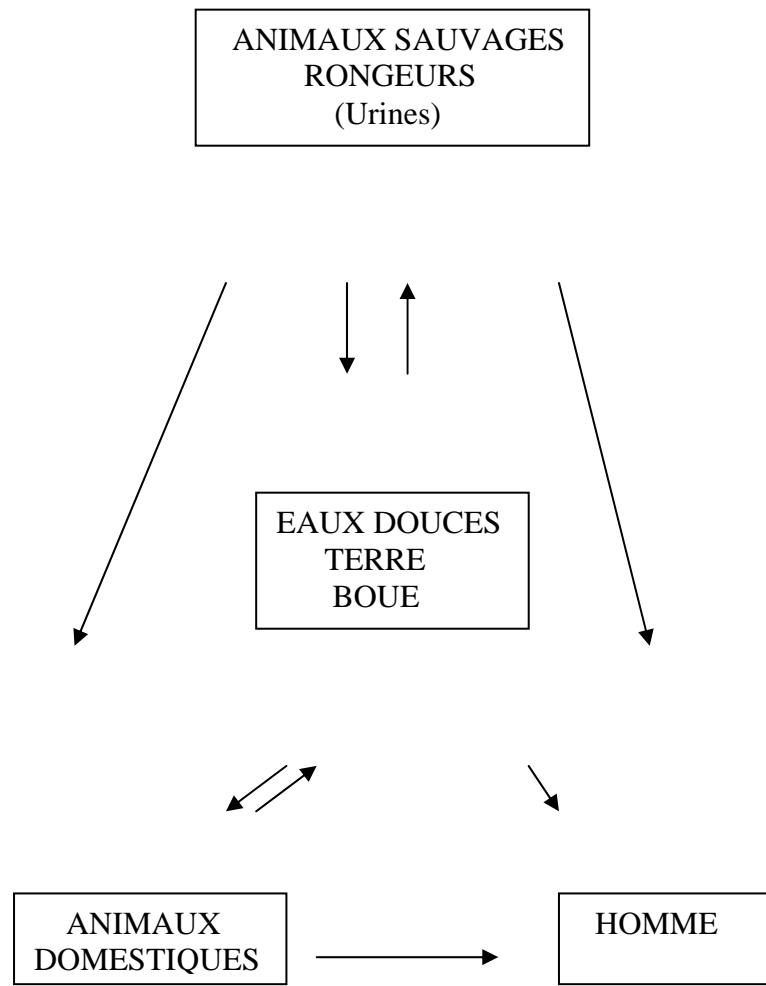
- Matières virulentes

Au cours de la première phase de l'infection les leptospires se multiplient dans le sang de l'animal. Le sang est donc la matière virulente la plus précoce. Mais le sang est un liquide biologique situé à l'intérieur de l'organisme et donc plus difficilement contaminant pour l'espèce réceptrice d'autant plus que la septicémie ne dure que quelques jours.

Ensuite l'urine devient la matière virulente. En effet, les reins sont l'un des tissus cibles des leptospires après la phase de septicémie et ces bactéries peuvent y rester plusieurs semaines. D'après ANDRE-FONTAINE G, 2002, cette persistance des leptospires dans le rein est liée à leur localisation intracellulaire qui les protège très probablement des anticorps et des antibiotiques. L'urine est une matière virulente d'autant plus efficace que celle-ci est émise dans le milieu extérieur pendant un temps minimum de quelques semaines.

La transmission de la maladie est résumée dans la figure 6.

Figure 6 : Représentation schématique de la transmission des leptospires
D'après TOMA B *et al.*, 2002



b) Résistance des bactéries

Les leptospires pathogènes ne se multiplient pas en dehors de l'organisme de l'animal. Pour qu'un foyer de leptospirose puisse se produire, en plus des animaux porteurs, il faut des conditions ambiantes favorables à la survie de l'agent dans l'environnement extérieur (ANDRE-FONTAINE et GANIÈRE JP, 1992; ELLIS WE, 1992).

Les leptospires sont des bactéries très fragiles. Elles se lysent très rapidement (quelques heures dans l'urine, 48 h dans un tissu).

Un milieu légèrement alcalin ou neutre leur est favorable alors que toute acidification les détruit.

Le froid est nocif à leur survie. Une température de 4°C est néfaste et une température de -20°C est fatale. Leur température de survie optimale est située entre 19 et 30°C.

Elles doivent de plus être protégées des ultraviolets pour survivre.

Enfin le taux d'humidité de l'environnement doit être très élevé.

En d'autres termes, l'urine de chien qui est souvent acide n'est virulente que pendant un temps restreint. En revanche, les étendues d'eau stagnantes et les terrains inondés riches en matières organiques constituent des milieux favorables à la survie des leptospires.

Par exemple, *hebdomanis* peut survivre jusqu'à trois mois et demi à la surface d'un sol marécageux à un pH compris entre 7,5 et 7,8 (TOMA B *et al.*, 2002).

On qualifie les leptospiroses de « maladies hydriques » du fait que les eaux boueuses contaminées véhiculent ces germes.

Il existe de plus une corrélation entre la pluviosité et la prévalence de la maladie (WARD MP, 2002 ; VENKATARAMAN KS *et al.*, 1992 ; PRESCOTT JF *et al.*, 2002).

Les inondations peuvent être associées à des augmentations des cas de leptospirose chez les chiens (RENTKO VT *et al.*, 1992).

c) Réceptivité et sensibilité des espèces

- Facteurs dépendant de la souche infectieuse

Le pouvoir pathogène des leptospires varie en fonction de la souche infectant le chien. Certaines souches sont très virulentes et peuvent induire une maladie létale à très faible dose de contamination, alors que d'autres ne seront pathogènes qu'à partir d'une dose très élevée. Les facteurs de virulence des souches de leptospires sont très mal connus. Quelle que soit la souche incriminée, il existe une quantité minimale de bactéries nécessaires pour induire la maladie. C'est la notion de dose infectieuse. En dessous de celle-ci les leptospires ne peuvent pas envahir l'organisme et ne peuvent donc pas conduire à l'infection de celui-ci (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992 ; ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001).

- Facteurs de réceptivité et de sensibilité des animaux infectés

Le facteur espèce joue un rôle déterminant dans la sensibilité devant les leptospires. Ainsi, le chien est une espèce sensible aux leptospires et peut présenter des formes létales à la suite d'une infection par des leptospires.

Ensuite d'après WOHL JS, 1996 la pathogénicité d'une infection leptospirosique varie en fonction de la nature de l'hôte. Si l'infection concerne le chien alors qu'il est un hôte accidentel, elle sera beaucoup plus grave cliniquement que si le chien est l'hôte spécifique.

Il ne semble pas que la race du chien infecté soit un facteur de réceptivité ou de sensibilité (LAJEUNESSE J et DI FRUSCIA R, 1999). En fait, certaines races seraient plus exposées aux leptospires que d'autres telles que les races de chien de chasse. C'est pourquoi ces races seraient plus touchées par la maladie.

Il semblerait également d'après WARD MP *et al.*, 2002, que les chiens de grand format sont plus touchés que les autres. Ceci s'explique aisément par le fait que ces chiens sont plus souvent dans le milieu extérieur que les chiens de plus petit format.

L'âge semble également être un facteur de sensibilité. Selon ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001, le colostrum transmettrait des anticorps au nouveau-né qui lui assurerait une protection transitoire vis-à-vis des leptospires présents dans l'environnement immédiat des nouveau-nés. D'après l'étude des 677 cas de WARD MP *et al.*, 2002, le risque majeur de contamination par les leptospires pour le chien se situe entre quatre et dix ans. D'après BIRNBAUM N *et al.*, 1998, la médiane se situe à 7,4 ans. Et d'après FORREST LJ *et al.*, 1998, la période critique se situe entre 5,7 et 6,9 ans.

Cette tranche d'âge est certainement la plus touchée car elle représente la période durant laquelle les animaux ont le maximum d'activité dans le milieu extérieur ce qui augmente le risque d'exposition aux germes.

D'après ADIN CA et COWGILL LD, 2000, le sexe aurait une influence sur la réceptivité à l'infection. En effet, les mâles seraient plus atteints que les femelles. Certaines études décriraient même une prédisposition des mâles à la maladie. Cette hypothèse est également soutenue par BALDWIN CJ et ATKINS CE, 1987 ; RENTKO VT *et al.*, 1992 et WARD MP *et al.*, 2002.

Enfin, l'état immunitaire de l'animal intervient dans la sensibilité. Un chien correctement vacciné doit pouvoir résister à une infection massive de leptospires.

Comme le précisent BALDWIN CJ et ATKINS CE, 1987, un chien âgé correctement vacciné a moins de risque d'être infecté par rapport à un chien plus jeune mais non vacciné. En revanche, même si la vaccination diminue la pathogénicité de *canicola* chez le chien, elle ne prévient pas l'infection et n'empêche pas que ce chien pourra devenir un porteur chronique.

La primo vaccination réalisée par deux injections à trois ou quatre semaines d'intervalle provoque une réponse immunitaire complexe mesurable par les anticorps agglutinants. Ceux-ci ne persistent dans l'organisme que trois ou quatre mois après la vaccination. Mais avec la répétition des injections de rappel, on constate une persistance de plus en plus forte des anticorps agglutinants. La réponse immunitaire de l'animal s'installe donc progressivement.

Le chien peut cependant être exposé à d'autres sérogroupes que ceux présents dans les vaccins. Il existe une protection croisée induite par un antigène sur des animaux immunocompétents. Un chien bien vacciné développe donc une protection efficace face aux deux sérovares participant à l'élaboration du vaccin et face aux autres souches à des degrés différents. Ces animaux correctement vaccinés développeront des formes chroniques de la maladie.

d) Voies de pénétration

La plupart des sérovars se multiplient dans les reins des espèces infectées et sont rejetés dans les urines. L'urine constitue donc la matière infectante par excellence. Mais celle-ci peut également contaminer l'eau.

Le chien va donc s'infecter lors d'une exposition à de l'urine ou à de l'eau contaminée, d'autant plus que les leptospires pénètrent très facilement dans les muqueuses ou dans la peau quand celle-ci est le siège de micro lésions. Les leptospires développent un chimiotactisme intense pour l'hémoglobine et un chien porteur de lésions cutanées risque une contamination massive par les leptospires. La zone privilégiée de passage des leptospires est l'espace interdigité dont le tégument est fragile et souvent le siège de ces micro lésions. Les muqueuses pituitaire et oculaire sont des portes d'entrée efficaces mais nécessitent un contact étroit de l'animal avec la matière virulente et ne sont donc que très rarement incriminées.

e) **Transmission directe et indirecte**

La contamination du chien se fait, soit directement au contact de l'animal excréteur, soit indirectement à partir des matières virulentes présentes dans l'environnement (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992 ; ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001).

- Directe

Le chien peut se contaminer directement s'il entre en contact avec des animaux excréteurs urinaires que ceux ci soient d'autres chiens ou soient des rongeurs sauvages.

- Indirecte

Cette voie de contamination est la plus fréquente. Elle se fait par l'intermédiaire des rivières, des lacs, des étangs, des eaux souillées par l'urine, de la boue ou des égouts.

Le chien se contamine à partir des urines d'un animal excréteur quelle qu'en soit l'espèce.

3. ÉPIDÉMIOLOGIE SYNTHÉTIQUE

Les leptospiroses ont un caractère saisonnier : l'été pour le chien de compagnie qui se baigne au cours des loisirs de son maître et l'automne pour les chiens de chasse (LAJEUNESSE J et DI FRUSCIA R, 1999 ; PRESCOTT JF *et al.*, 2002).

L'épidémiologie de la leptospirose évolue avec le temps et cette évolution est difficilement prévisible. D'après ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1990, les leptospiroses induites par *Canicola* disparaissent des pays européens. En revanche, les leptospiroses induites par *Hardjo* se développent rapidement dans les élevages. De même, le centre national de référence à Paris indique l'importance du sérogroupe *Australis* dans l'Ouest de la France chez l'homme et les animaux.

V- DIAGNOSTIC

1. NON SPÉCIFIQUE

a) Éléments épidémiologiques

Un chien qui s'est baigné dans des eaux douces 5 à 10 jours avant l'apparition de symptômes orientera le praticien vers l'hypothèse d'une leptospirose. De plus, un chien au contact de la faune sauvage pourra s'être facilement contaminé, soit par pénétration au niveau des muqueuses, soit par une blessure cutanée (ANDRE-FONTAINE G, 2002).

b) Modifications des paramètres de laboratoire

Les principales modifications des paramètres de laboratoire lors de leptospirose canine sont résumées dans le tableau 6 et concernent des modifications hématologiques, biochimiques et urinaires.

- Modifications hématologiques

Ces modifications hématologiques d'après ANDRE-FONTAINE G, 2002, seraient liées à la présence de différentes cytolysines dont une hémolysine.

- Modifications des globules rouges

On peut observer dans certains cas une anémie régénérative normochrome et modérée. Mais celle-ci est rare et de manière générale, l'essentiel des modifications hématologiques concerne les globules blancs.

- Modifications des globules blancs

Lors de la première phase de la maladie (autour du 4^{ème} jour de l'infection expérimentale), on observe une leucopénie qui est transitoire suivie d'une leucocytose importante conséquente à l'augmentation des polynucléaires neutrophiles. En général, il y a plus de 20 000 neutrophiles/mm³.

- Modifications des plaquettes

Une thrombocytopénie peut apparaître très tôt et simultanément à la perturbation des systèmes de coagulation. Comme le précisent BOUTILIER P *et al.*, 2003, celle-ci serait rapportée dans 25 à 55% des cas. En général, elle se manifeste dans les trois à cinq premiers jours de l'infection. Il est rapporté dans certains cas une augmentation du temps de thrombine et de prothrombine, et une diminution des facteurs VIII et V. Il a également été noté par NAVARO CE et KOCIBA GJ, 1982, une augmentation de la production du fibrinogène plasmatique et des produits de dégradation de la fibrine, et une variation du taux de sédimentation des érythrocytes.

Chez certains chiens des cas de coagulation intravasculaire disséminée ont même été signalés. Expérimentalement des cas de coagulation intravasculaire disséminée ont été reproduits avec le sérovar *L. icterohaemorrhagiae* (HIGGINS R, 1981).

Ces modifications hématologiques sont d'une importance variable et en fonction de l'état clinique du chien elles pourront revenir à la normale aussi rapidement qu'elles étaient devenues anormales.

Interpréter un examen hématologique lors d'une suspicion de leptospirose est donc très difficile car le profil hématologique d'un animal varie d'un jour à l'autre et au cours de cette fluctuation des valeurs usuelles sont retrouvées.

- Modifications biochimiques (ANDRE-FONTAINE G, 2002)

Ces modifications biochimiques sont en rapport avec les insuffisances organiques engendrées par la maladie :

- Atteinte rénale

Celle-ci peut être aiguë ou chronique.

Les atteintes aiguës conduisent à une augmentation de la créatinémie et de l'urémie. Une hypokaliémie est également relevée.

Les atteintes chroniques conduisent à une augmentation de la créatinémie et de l'urémie. Dans ces cas, on peut noter une valeur de la kaliémie normale ou une hypokaliémie, une hyperphosphorémie et une hypocalcémie.

- Atteinte hépatique

Les marqueurs de la cytolysé hépatique (ASAT ou aspartate aminotransférase et ALAT ou alanine aminotransférase) sont les paramètres de choix pour diagnostiquer les formes aiguës de leptospirose.

L'augmentation de l'ALAT reflète mieux chez le chien la cytolysé hépatique que l'ASAT. D'après LAJEUNESSE J ET DI FRUSCIA R, 1999, ces dommages hépatocellulaires sont liés à l'action directe des toxines de leptospires ou à la persistance intra hépatique de celles-ci.

L'augmentation de la bilirubine conjuguée signe un ictere hémolytique qui est souvent d'origine hépatique.

L'augmentation de la bilirubine totale met en évidence une affection hépato biliaire.

L'augmentation des acides biliaires traduit un dysfonctionnement hépatique. Ce désordre hépatique résulte, soit de lésions hépatocytaires, soit de la diminution de la vascularisation hépatique liée à des phénomènes de cirrhose.

L'augmentation des PAL ou phosphatases alcalines peut également être notée et traduit une choléstase.

- Analyse d'urine

En général, la densité urinaire est normale ou diminuée. Dans l'article de BROWN JA *et al.*, 1996, sur huit chiens, six ont une urine isosthénurique dont la valeur oscille de 1,006 à 1,013. Les deux autres chiens ont une densité urinaire normale à 1,026 et à 1,041.

D'après WHOL JS, 1996, une glycosurie est fréquente et présente dans plus de cinquante pour cent des cas de chiens infectés par *pomona* ou *grippotyphosa*. Dans l'étude de RENTKO VT *et al.*, 1992, la glycosurie est présente dans trente cinq pour cent des cas. Dans la mesure où cette glycosurie n'est pas concomitante d'une hyperglycémie, elle est le signe d'une tubulopathie proximale.

La leptospirose provoque une augmentation de l'excrétion des molécules de faible poids moléculaire qui met en évidence des lésions tubulaires. Ces lésions sont également en relation avec une fuite d'ions sodium, potassium et de phosphore. La leptospirose provoque également une augmentation de l'excrétion des molécules de poids moléculaire moyen qui met en évidence des lésions glomérulaires quand la maladie persiste depuis un certain temps. La présence d'IgG retrouvés dans les urines de certains chiens confirme ces lésions glomérulaires (ZARAGOZA C *et al.*, 2003).

Tableau 6: Principales modifications des paramètres de laboratoire lors de leptospirose canine

D'après BALDWIN CJ *et al.*, 1987

<u>HÉMATOLOGIE</u>
Leucopénie en phase précoce de la maladie
Leucocytose dans les stades plus évolués
Neutrophilie considérable, monocytose, lymphopénie, éosinopénie
Anémie modérée normocytaire, normochrome pouvant être régénérative
Thrombocytopénie
Augmentation du fibrinogène sanguin, des produits de dégradation de la fibrine et du taux de sédimentation des erythrocytes
<u>BIOCHIMIE</u>
<i>Lors d'atteinte rénale</i>
Elévation de l'urémie, de la créatinémie et de la phosphorémie
Déséquilibres hydroélectriques
<i>Lors d'atteinte hépatique</i>
Augmentation de l'activité sérique des PAL, ALAT, ASAT, LDH et bilirubinémie
<u>ANALYSES URINAIRES</u>
Isosthénurie, glycosurie, protéinurie et bilirubinurie
Erythrocytes, globules blancs et cylindres dans le culot de sédimentation urinaire

c) Radiographie- Échographie

- Radiographie abdominale

D'une manière générale, la radiographie abdominale n'apporte pas d'image caractéristique. Dans certains cas, une splénomégalie ou un épanchement rétro-péritonéal peuvent être visibles (LAJEUNESSE J et DI FRUSCIA R, 1999).

- Échographie abdominale

De même, les images visibles sur une échographie abdominale ne sont pas typiques d'une leptospirose. Ce sont des images d'hyperéchogénicité du cortex rénal, une splénomégalie ou une hépatomégalie.

Dans l'étude de cas de FORREST LJ *et al.*, 1998, une bande dans la médulla d'échogénicité élevée est visible sur certains chiens contaminés par des leptospires. A l'examen histologique cette bande hyperéchogène est associée à de l'hémorragie, congestion, oedème et nécrose. D'après ces auteurs, ces signes associés de lésions échographiques et nécropsiques ne sont visibles que chez des chiens atteints de formes rénales de leptospirose.

Des éffusions périnéphriques sont également visibles chez certains chiens mais celles-ci ne sont pas spécifiques de la leptospirose.

- Radiographie pulmonaire

La lésion la plus caractéristique présente sur une radiographie pulmonaire correspond, si elle est visible, à une augmentation de la densité pulmonaire interstitielle. Celle-ci peut-être associée à des dommages vasculaires et à une diathèse hémorragique.

D'après LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003, cette densité pulmonaire interstitielle est le plus généralement localisée en région caudo-dorsale. Ceci est confirmé par l'article de BAUMANN D et FLUCKIGER M, 2001, où l'atteinte pulmonaire en partie dorsale est présente chez les cinq chiens de cette étude. En revanche, seulement trois chiens sur cinq présentent des lésions pulmonaires ventrales.

Ces lésions seraient liées à des dommages de l'endothélium pulmonaire et à une augmentation de la perméabilité capillaire pulmonaire.

En conclusion, en ce qui concerne les lésions pulmonaires, pour BAUMANN D et FLUCKIGER M, 2001, quand un chien présente une insuffisance rénale aiguë et que ses radiographies pulmonaires montrent des lésions d'opacification interstitielles diffuses, il faut alors inclure dans le diagnostic différentiel d'hémorragie pulmonaire une infection leptospirosique.

2. SPÉCIFIQUE

a) Prélèvements

- Nature des prélèvements pour la mise en culture

Pendant la phase d'invasion les leptospires se multiplient et se développent dans le sang. Lorsque les signes cliniques sont présents, on peut réaliser une prise de sang pour mettre en évidence la leptospirémie. Celle-ci peut se poursuivre jusqu'à deux semaines après le début de l'infection.

Les bactéries se disséminent ensuite dans différents organes avec une localisation préférentielle dans les reins. Ainsi, une leptospiurie se manifeste à partir du dixième jour et devient maximale vers la troisième ou quatrième semaine d'infection (DIKKEN H, 1981).

Des prélèvements de liquide céphalo rachidien sont également réalisables du cinquième au quinzième jour de la maladie.

Enfin d'après THIERMANN AB, 1984, des prélèvements d'organes post mortem ne sont possibles que s'ils sont réalisés très rapidement après la mort de l'animal car l'autolyse rapide entraîne la destruction des leptospires et la contamination par d'autres germes.

- Précautions à prendre lors du prélèvement

Quel que soit le prélèvement effectué, celui-ci doit être effectué avant toute antibiothérapie et ne doit pas être congelé.

Les prélèvements de sang se font dans un délai de dix jours après le début des symptômes.

En général, le prélèvement se fait sur tube hépariné (15-20 UI d'héparine) préférable au tube citraté qui acidifie le milieu pour les mises en culture et aux sels d'EDTA utilisés pour les examens cytologiques.

Le liquide céphalo rachidien peut servir à la mise en culture et doit être prélevé dans les cinq à quinze premiers jours de la maladie.

Les urines peuvent être ensemencées à partir de la troisième semaine et jusqu'à un mois après le début des symptômes.

D'après THIERMANN AB, 1980, pour pallier l'acidité des urines néfaste au développement des leptospires, il faut les alcaliniser au préalable par une médicalisation au bicarbonate de sodium plutôt que de les recueillir dans une solution tamponnée stérile.

De plus, si les urines ne sont pas ensemencées immédiatement ou dans l'heure qui suit le prélèvement, il faut les conserver à + 4°C et à l'obscurité.

Enfin, on effectue différents examens dans le temps car la leptospiurie est intermittente.

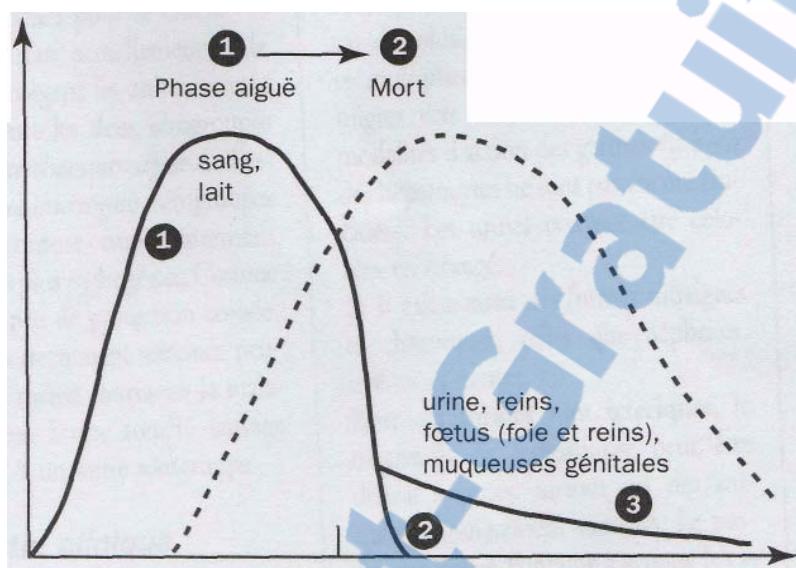
Les tissus seront prélevés dans des conditions d'asepsie parfaite et recueillis dans 100 ml d'albumine sérique bovine (THIERMANN AB, 1984).

La cinétique de la maladie est représentée dans la figure 7.

Figure 7 : Cinétique de la maladie (ANDRE-FONTAINE G)

D'après VAUTIER M, 1998

Concentration en leptospires



Infection TO 8/10 jours

— Concentration en leptospires dans les tissus ou les liquides physiologiques
--- Taux d'anticorps dans le sang

b) Diagnostic direct

• Microscopie

Pour que l'observation des leptospires soit visible du fait de leur diamètre inférieur à deux micromètres, il faut utiliser un microscope à fond noir au grossissement 250 et les observer entre lame et lamelle. Les leptospires ne sont pas visibles avec un microscope ordinaire.

Leur morphologie caractéristique en filament incurvé et leur mobilité par rotation, flexion et translation les rendent reconnaissables par des yeux expérimentés. La confusion des leptospires avec des filaments de fibrine (pseudo-spirochètes) ou différents débris cellulaires est effectivement fréquente (DIKKEN H, 1981 ; BOLIN CA, 1996).

De plus, il faut réaliser l'observation des prélèvements dans les heures qui suivent leur recueil car les leptospires sont rapidement lysées dans les milieux biologiques.

L'observation se fait en général à partir d'urine. Cette méthode est peu sensible et n'est utilisable que sur des animaux présentant une leptospurie supérieure à dix mille germes par millilitre (ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992). Du fait de ce seuil de détection élevé, il faut utiliser des matériaux biologiques où la concentration en leptospires est susceptible d'être importante. Les mêmes immunocolorations peuvent être employées sur un culot urinaire après centrifugation à 3000 g.

Du sang ou des extraits de reins broyés peuvent également être utilisés pour réaliser l'observation. D'après PEROLAT P et BARANTON G, 2000, une double centrifugation doit être réalisée pour le sang. Une première centrifugation à 1000g pendant dix minutes élimine les cellules et une deuxième à 4000g pendant vingt minutes concentre les leptospires.

Il faut également préciser que cette technique présente l'inconvénient de ne pas différencier les leptospires pathogènes des leptospires saprophytes ni de différencier le genre *Leptospira* des genres *Leptonema* et *Turneria*.

Finalement cet examen direct des leptospires n'est pas un examen de certitude car peu spécifique et peu sensible, mais un examen d'orientation rapide préalable à d'autres examens.

- Mise en culture

La mise en culture permet un diagnostic de certitude mais sa réalisation est très délicate. En effet, le développement des leptospires nécessite un milieu de culture particulier lui-même variable en fonction de la souche de leptospires. Cette mise en culture doit être réalisée rapidement après le prélèvement.

La croissance des leptospires est bonne pour certaines souches sur un milieu avec sérum. Elle nécessite pour d'autres un milieu EMJH. C'est pourquoi la mise en culture se fait en général sur ces deux milieux semi solides (+/- 0,2% de gélose).

Différents inhibiteurs sont également employés pour éviter une contamination de ces milieux (DIKKEN H, 1981 ; PEROLAT P et BARANTON G, 2000):

- Le 5 fluorouracil à la dose de 150 µg/ml
- La néomycine à la dose de 5 –25 mg/ml
- Le sulfathiazole à la dose de 50 mg/ml
- Et/ou la cycloheximide à la dose de 0,5 mg/ml

Comme ces substances sont également susceptibles d'inhiber la croissance des leptospires, deux types de culture sont réalisés, l'une avec ces additifs et l'autre sans.

De plus, il est recommandé d'ensemencer de faibles inoculums et plusieurs tubes de milieux en dilution croissante (0,1 ; 0,01 ; 0,001, 0,0001). En effet, le sang prélevé sur héparine et les tissus peut altérer la croissance des leptospires *in vitro*.

Les prélèvements d'urine ne peuvent être utilisables en culture que s'ils sont réalisés dans des conditions d'asepsie parfaite sous cystocenthèse. Mais les urocultures sont d'une rentabilité faible et ne sont possibles qu'à partir de la troisième semaine.

Du liquide céphalo rachidien peut être utilisé pendant la deuxième semaine de la maladie. Il faudra bien entendu évaluer le risque hémorragique auparavant. Une quantité de 0,5 ml de LCR est nécessaire pour la mise en culture.

En général l'incubation des prélèvements se fait à 30°C, à l'obscurité et en maintenant une agitation régulière pour faciliter leur croissance, le métabolisme des leptospires étant aérobic.

Chaque semaine ces prélèvements sont observés au microscope à fond noir et un repiquage systématique des tubes de culture primaire est recommandé après une incubation de quinze jours.

La mise en culture nécessite au minimum une dizaine de jours mais en général un mois est nécessaire et on ne peut conclure à la négativité de la culture qu'au bout de deux mois au minimum. Ce temps très long est en relation avec le temps de doublement considérable des leptospires qui est de près de vingt heures.

Finalement, même si la mise en culture donne un diagnostic de certitude qui permet d'identifier la souche précisément infectante, celui-ci est tardif et très coûteux. C'est pourquoi en pratique cet examen est très peu utilisé.

- Inoculation

Les leptospires se développent mal *in vitro* alors que l'inoculation à l'animal d'expérimentation est très sensible.

De plus, l'étude de la virulence *in vitro* est difficile car elle se perd rapidement lors des subcultures et le passage sur l'animal sensible est indispensable pour conserver le pouvoir pathogène (PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

- Les animaux d'expérimentation

Certaines espèces sont adaptées aux leptospires. En général, l'animal de choix pour ces études expérimentales est le hamster (LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003 ; ALT DP et BOLIN, CA, 1996 ; VAN DEN INGH et HARTMAN, 1986). En effet, les signes cliniques et les lésions induits chez le hamster infecté par des leptospires sont similaires à ceux d'animaux infectés naturellement.

De même selon SONRIER C, 2001, le cobaye âgé de moins de trois mois est un très bon modèle expérimental de la leptospirose.

La souris, le chinchilla, la gerbille et le poussin peuvent également être utilisés. Selon YUKAWA M *et al.*, 1990, la gerbille de Mongolie est très utile dans la mesure où elle est sensible à différents sérovars : *canicola*, *autumnalis*, *javanja*, *pyrogenes* et *hebdomalis*.

Quelle que soit l'espèce animale utilisée pour l'expérimentation, les animaux doivent venir d'élevages clos où il n'existe pas de leptospirose.

- Matériel et méthode

Pour chaque échantillon, plusieurs animaux sont utilisés et inoculés à raison de 1 à 2 ml d'inoculum par voie intra péritonéale. La maladie débute dans un délai de trois à dix jours après l'inoculation.

En général, l'observation des animaux se fait tous les jours et tous les symptômes sont relevés. Il arrive cependant qu'aucun signe clinique n'apparaisse et que la température corporelle reste inchangée. C'est pourquoi pour mettre en évidence une leptospirémie, il est recommandé d'effectuer un examen au microscope à fond noir du liquide péritonéal. Des échantillons de liquide péritonéal sont prélevés dans le quadrant inférieur de l'abdomen trois à dix jours après l'inoculation intra péritonéale et sont examinés au microscope à fond noir.

Si l'échantillon se révèle positif, du sang est prélevé par ponction cardiaque et mis en culture. Si l'animal meurt l'autopsie est aussitôt pratiquée. Le foie, les reins et le cerveau sont prélevés et inoculés dans un milieu semi-solide.

Cette technique présente de nombreuses limites. D'une part parce que les leptospires perdent rapidement leur virulence *in vitro* et d'autre part parce que tous les sérovars ne provoquent pas de signes cliniques évidents. Enfin, la sensibilité des animaux est variable d'un animal à un autre.

C'est pour ces différentes raisons que ce moyen diagnostique est peu utilisé. Il ne doit pas l'être dans la mesure du possible pour des raisons éthiques et pour limiter les risques de contamination.

- Immunofluorescence

Cette technique a pour intérêt d'être rapide et d'avoir une bonne sensibilité. En plus, elle peut être utilisée sur des échantillons congelés. Le problème est que son interprétation est difficile et nécessite une technique de laboratoire qualifiée.

Pour l'instant ce diagnostic n'est utilisé qu'au Canada et que dans certains laboratoires de recherche (BOLIN CA, 1996).

- Colorations en immunohistochimie (BOLIN CA, 1996)

Ces colorations se font à partir de biopsie rénale ou à partir de prélèvements de rein ou de foie post-mortem en sachant que les prélèvements de foie donnent des résultats beaucoup moins spécifiques. On ne voit pas les leptospires dans les tissus en utilisant des colorations de routine mais on peut voir une inflammation rénale caractéristique.

Le désavantage majeur de cette technique est sa faible sensibilité alors qu'en plus les leptospires sont souvent présentes en faible nombre dans les tissus infectés, particulièrement dans les cas de leptospirose chronique où les chiens ont eu un traitement antibiotique au préalable.

Cette technique présente l'inconvénient supplémentaire de ne pas permettre de savoir quel est le sérovar infectant. Pour le connaître des études sérologiques ultérieures doivent être réalisées.

- Détection de l'ADN (CAI HY *et al.*, 2002 ;
HARKIN KR *et al.*, 2003)

Du fait de la difficulté du diagnostic bactériologique classique et du diagnostic sérologique, des techniques de détection d'ADN dans les échantillons ont été proposées.

Deux types de tests sont possibles :

Soit une détection de l'ADN par des sondes qui détectent l'ADN des leptospires ;

Soit une technique d'amplification génique utilisant par PCR de l'ADN dans les tissus ou dans les liquides biologiques.

Les sondes d'ADN ne sont pas utilisées d'après VAUTIER M, 1998, parce qu'elles présentent un nombre d'inhibiteurs trop élevés. Cette technique manque aussi de sensibilité et est très difficile à réaliser. Elle est uniquement utilisée chez l'homme et seulement en phase septicémique.

En revanche, la PCR est utilisée et est certainement une technique d'avenir.

La PCR ou polymerase chain reaction permet d'aller chercher le matériel génétique au cœur de la cellule de l'agent infectieux que l'on recherche.

Cette technique permet d'amplifier enzymatiquement *in vitro*, en quelques heures, un segment d'ADN en plusieurs millions d'exemplaires présent dans un échantillon. Cela signifie de plus que l'intégrité bactérienne n'a pas à être conservée comme elle doit l'être pour la culture.

La sensibilité de cette technique est très élevée. En effet, elle est capable de détecter dans un prélèvement biologique une molécule d'ADN dont la taille n'excède pas cent paires de nucléotides (PELLERIN JL, 1989).

En pratique d'après MERIEN F *et al.*, 2000; KUMAR *et al.*, 2001, cette technique ne nécessite que 1 ml de sang total sur EDTA ou 5 à 10 ml d'urine additionnée de 0,5% de formol. En début d'infection il est recommandé de privilégier les prélèvements de sang alors qu'en phase chronique la recherche doit être effectuée dans les urines.

Les procédés sur des échantillons de tissus sont plus difficiles et la présence d'inhibiteurs à l'amplification génique peut donc donner des faux négatifs (BOLIN CA, 1996).

Il existe une grande divergence des génotypes. Il faut donc choisir une amorce qui permet l'amplification de séquences communes à toutes les souches de leptospires.

L'amplification d'une séquence de 331 paires de bases du gène *rrs* (codant l'ARN ribosomal 16S) spécifique du genre *Leptospira* couplée à l'hybridation par une sonde complémentaire a été mise au point à l'institut Pasteur. Cette technique permet un diagnostic rapide et peut donner des résultats positifs dès le premier jour d'évolution de la maladie sur des échantillons de sang ou d'urine. L'agent pathogène a également pu être mis en évidence dans l'humeur aqueuse (PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

Des études menées par KUMAR AS *et al.*, 2001, utilisant cette séquence ont obtenu des résultats positifs.

D'après ANDRE-FONTAINE G et GANIÈRE JP, 1992, cette technique permettrait la détection de moins de cent leptospires dans la totalité de l'échantillon traité.

Cette technique est donc sensible et très spécifique. Malheureusement, sa complexité et sa sensibilité aux contaminations d'ADN exogènes font qu'elle peut donner beaucoup de faux positifs.

Cette technique doit donc être interprétée avec beaucoup de connaissance sur les procédés utilisés en laboratoire.

c) Diagnostic indirect

Compte tenu de la difficulté du diagnostic bactériologique, la sérologie est une méthode de choix pour le diagnostic de la leptospirose.

Les anticorps dirigés contre les leptospires sont détectables sur un animal sans contact antérieur avec ces agents pathogènes, vers le huitième ou le dixième jour de l'infection, soit dix à douze jours après l'apparition des symptômes. Il faut préciser qu'un traitement antibiotique retarde l'apparition des anticorps et peut même fausser les résultats sérologiques. Malgré cela, lors d'une suspicion d'une forme aiguë, il faut mettre en place le traitement antibiotique avant le résultat sérologique. Deux prélèvements seront effectués à huit ou dix jours d'intervalle.

Les différentes techniques de diagnostic indirect comportent le test de micro-agglutination microscopique, l'ELISA directe et indirecte, et la réaction de fixation du complément.

- LE MAT ou test de micro-agglutination microscopique (BOLIN CA, 1996 ; MULLER A *et al.*, 1999 ; PEROLAT P et BARANTON G, 2000)

C'est la technique de référence qui détermine le titre sérique d'anticorps anti-leptospires.

Cette technique permet de déterminer le sérogroupe et le sérovar infectant.

Le MAT consiste à mettre en présence le sérum du chien malade à tester à différentes dilutions avec un milieu liquide contenant des cultures vivantes de leptospires puis à évaluer le degré d'agglutination au microscope à fond noir. Chaque milieu contient un sérovar différent.

Si le sérum contient des anticorps, ceux-ci provoquent une agglutination des leptospires.

Le Code Zoonosanitaire International fixe 200 comme titre seuil de positivité. Une autre méthode consiste à réaliser des dilutions successives du sérum en micro plaques, type ELISA, et à lire directement l'agglutination dans les

cupules où à lieu l'agglutination. Elle a été comparée à la technique de référence par ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 1988. Cette étude comparative n'a pas pu mettre en évidence une sensibilité ou une spécificité absolue pour chaque méthode. En pratique sont réalisées des dilutions successives et l'agglutination est ensuite appréciée au microscope à fond noir.

Cette technique nécessite de posséder toutes les souches de référence représentatives des principaux sérogroupes afin de pouvoir confirmer sérologiquement une infection causée par un sérovar inconnu. Elle nécessite également de posséder leurs antisérum.

Elle est réservée à des laboratoires hautement spécialisés. Pour un laboratoire de référence, la gamme comprend une vingtaine de souches de référence ainsi que des souches qui ont été isolées localement et qui sont en général plus sensibles. Le sérovar saprophyte patoc fait également partie de la gamme car il est agglutiné en présence d'anticorps induits par de nombreux sérovares pathogènes.

On considère qu'un sérum est positif à une dilution donnée et pour la souche testée si au moins 50% des leptospires se sont agglutinées par rapport à un témoin antigène.

Les réactions croisées entre différents sérovares sont possibles et donnent souvent des augmentations de titre pour plusieurs sérovares. D'après SCANZIANI E *et al.*, 1994, cela représente la limite de la sérologie. On considère que le sérovar infectant est celui pour lequel le titre est le plus élevé.

Pour avoir une réponse positive avec ce test il faut que la maladie se soit déclarée depuis au moins 8 à 10 jours, les meilleurs résultats sont obtenus entre le 21^{ème} et le 28^{ème} jour post-infection (VENKATARAMAN KS *et al.*, 1994).

Les anticorps agglutinants sont des IgM, puis de manière tardive et inconstante des IgG. Cette technique ne permet pas de différencier les IgG des IgM.

Il est vrai que les anticorps agglutinants sont spécifiques de sérogroupes, mais il existe une certaine communauté antigénique entre les sérogroupes. Cela peut conduire à des résultats positifs pour un sérogroupe avec ce test alors qu'en réalité c'est un autre sérogroupe qui est réellement infectant. Il y a de nombreuses coagglutinines qui varient dans le temps (MULLER A *et al.*, 1999).

D'après TOMA B *et al.*, 2002, au début de maladie la présence de coagglutinines dans le sérum peut fausser les résultats. En effet, ces anticorps sont responsables de l'agglutination de plusieurs sérovars. Les réactions croisées diminuent avec le temps. L'identité du sérovar responsable de la maladie n'est donc pas certaine au début de la maladie. Seul un sérum tardif permet de préciser le sérogroupe en cause.

Le profil sérologique varie selon le sérogroupe.

Les anticorps vont diminuer en plusieurs mois (3 à 6 mois) et peuvent persister à des taux résiduels pendant plusieurs années. Pour différencier un début de leptospirose d'une infection antérieure ou d'une vaccination, il est nécessaire de réaliser une cinétique de l'apparition des anticorps en faisant deux prélèvements à au moins dix ou quinze jours d'intervalle et de tenir compte des éléments cliniques et chronologiques. Ainsi, on aura moins de risques d'erreurs par excès.

De même si une antibiothérapie a été mise en œuvre avant d'effectuer les prélèvements, il faut tenir compte que celle-ci peut avoir retardé l'apparition des anticorps, diminuer leur titre ou même « négativé » ce test. De même, l'administration de corticoïdes peut également moduler cette réponse sérologique.

Enfin, d'après TOMA B *et al.*, 2002, lorsqu'un sérovar très rare dans un pays ou nouveau est responsable de la maladie et si celui-ci n'appartient pas à la gamme d'antigènes habituellement utilisés, alors il peut y avoir une erreur par défaut.

En conclusion, on n'obtiendra pas avec ce test un résultat positif ou un résultat négatif mais un profil sérologique plus ou moins en faveur d'une infection leptospirosique.

- ELISA (HEATH SE et JOHNSON R 1994 ; PEROLAT P et BARANTON G, 2000)

Cette technique utilise un antigène non purifié extrait de la souche *L. biflexa* sérovar patoc par un traitement au formaldéhyde et chauffage.

La mise en évidence des anticorps se fait avec un anti-IgM humain couplé à la peroxydase. Le titre seuil est fixé à 400.

Les IgM initiaux dirigés contre les antigènes spécifiques et non spécifiques de certains sérovars situés sur la membrane externe des spirochètes ralentissent leur croissance mais ne les inhibent pas complètement.

D'après BOLIN CA, 1996, les IgM sont détectables une semaine après l'infection avant que les anticorps agglutinants ne soient déjà présents.

Après quelques jours les IgG lysent les leptospires circulants. Cependant, les leptospires peuvent échapper au système immunitaire du fait de leur séquestration dans les tubules rénaux ou dans des tissus protégés de la réponse immunitaire, comme les yeux ou le cerveau.

Les IgG peuvent être décelés par la méthode ELISA six mois après une vaccination et douze mois après une exposition naturelle.

Cette méthode permet donc de différencier une infection évolutive d'une maladie antérieure par la mise en évidence des IgM.

Comme l'indique BOLIN CA, 1996, les chiens qui sont atteints d'une forme aiguë de leptospirose auront avec cette technique ELISA, un titre élevé en IgM et relativement bas en IgG. En revanche, les chiens qui sont vaccinés ou qui ont eu une leptospirose il y a quelques semaines auront un titre élevé en IgG et bas en IgM.

Cette méthode est très sensible et très spécifique mais ne donne pas de bons résultats lors d'infection à *Grippotyphosa*. En effet d'après PEROLAT P et BARANTON G, 2000, elle donne 45% de négatifs pour un sérogroupe représentant 19% des cas en 1996 en France métropolitaine. Les résultats pour *Australis* ne sont pas satisfaisants non plus.

Il est toujours question de mettre au point un test ELISA avec un antigène spécifique des souches pathogènes. D'après FLANNERY B *et al.*, 2001, le LIPL32 serait un très bon antigène spécifique.

- ELISA INDIRECTE

Une technique ELISA indirecte a été développée pour la détection d'anticorps anti-leptospires dans des sérum de chien (RIBOTTA MJ *et al.*, 2000).

L'antigène spécifique a été produit à partir de *Leptospira interrogans* sérovar *Pomona*.

Cette préparation antigénique a réagi avec les sérum de lapin contre les sérovars *Bratislava*, *Pomona*, *Autumnalis*, *Grippotyphosa* et *Icterohaemorrhagiae*.

La spécificité de cette technique est très élevée et supérieure à celle du MAT.

Cette épreuve est facile à standardiser et est plus avantageuse d'un point de vue technique que le MAT car sa préparation antigénique peut être préparée en routine et en grandes quantités.

- LA RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT

Cette technique d'après NICOLESCU M, 1981, est jugée trop complexe pour des laboratoires régionaux n'effectuant qu'un petit nombre de réactions.

- LAT ou latex agglutination test

Cette méthode de détection des anticorps a été testée par RAMADASS P *et al.*, 1999 et comparée par rapport à l'ELISA.

Sur les 276 échantillons testés les résultats sont un peu moins bons qu'avec l'ELISA. En effet, on obtient 85,9% de positivité avec l'ELISA et 84,8% avec le LAT. Mais cette différence de résultats reste vraiment peu significative.

Mais le LAT a pour intérêt sa simplicité et son économie. Il ne nécessite pas de matériel coûteux ou spécialisé. En plus, il est d'une rapidité d'action spectaculaire en donnant les résultats dans un délai de deux à dix minutes.

- MCAT ou micro capsule agglutination test

ARIMITSU Y *et al.*, 1989, ont développé un MCAT pour la détection des anticorps leptospirosiques. Comparativement au MAT cette technique est plus sensible lors des premières étapes de la maladie alors que les IgM sont encore prédominants et des titres élevés en anticorps peuvent être obtenus même quand le MAT est encore négatif. Ceci se produit par exemple au cinquième jour de l'infection. Le pic des titres est atteint au septième jour et décroît progressivement jusqu'au onzième jour.

Ce test peut donc être utile pour diagnostiquer précocement la leptospirose canine.

En conclusion, on retiendra sur les différentes techniques de diagnostic qu'il n'y a pas une seule technique qui peut être recommandée pour toutes les situations cliniques mais plusieurs. En effet, l'utilisation de tests différents permet d'avoir un maximum de sensibilité et de spécificité pour établir le diagnostic. On recommande pour chaque cas de réaliser un test sérologique combiné à une technique permettant d'identifier l'organisme dans les tissus ou les liquides biologiques.

Lors de difficultés ou lors de cas problématiques il est préférable de contacter le personnel d'un laboratoire de référence pour prélever les échantillons et interpréter les résultats.

La conduite à tenir devant une suspicion de leptospirose est d'après WOHL JS, 1996, la suivante :

- 1- Prélever des échantillons de sérum pour le MAT
- 2- Prélever des urines pour le microscope à fond noir s'il est disponible
- 3- Biopser les reins
- 4- Si on obtient un titre en anticorps supérieur à 1/800, on peut conclure à une leptospirose

Des titres de convalescence seront obtenus en 2 à 4 semaines

- 5- Si on obtient un titre inférieur à 1/800, il faut s'orienter vers les techniques d'anticorps fluorescents, ELISA, PCR ou la culture des organismes

Des titres de convalescence seront obtenus en 2 à 4 semaines.

VI- TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

1. TRAITEMENT

Le traitement de la leptospirose est double. Il consiste en une antibiothérapie et en un traitement symptomatique.

a) Antibiothérapie

D'après PRESCOTT JF, 1991, les leptospires sont sensibles à la majeure partie des antibiotiques. *In vitro*, l'ampicilline, l'amoxycilline, la pénicilline G, la streptomycine et l'erythromycine présentent les CMI les plus basses.

Le tableau 7 présente la concentration minimum d'inhibition de différents antibiotiques couramment utilisés lors de leptospirose canine.

Tableau 7 : Concentration minimum d'inhibition ($\mu\text{g/ml}$) de différents antibiotiques contre *Leptospira interrogans*

D'après PRESCOTT JF, 1991

Molécules	Serovar testé : <i>hardjo</i>	Serovar testé: <i>Icterohaemorrhagiae</i>
Penicilline G (unités/ml)	Inférieur à 0,8	
Ampicilline	Inférieur à 0,8	
Amoxycilline		Inférieur à 0,005
Tétracycline	1,6-3,1	0,25
Streptomycine	Inférieur à 0,8	
Erythromycine		0,005
Lincomycine		0,25
Sulfamethazine	200	

D'une manière générale, comme le précisent ALT DP et BOLIN CA, 1996, les leptospires sont sensibles à de nombreux antibiotiques *in vitro*. Cependant, cette sensibilité *in vitro* n'est pas corrélée à leur sensibilité *in vivo*. La différence entre les résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* est due à l'insuffisance de concentration de certains antibiotiques dans les reins qui sont le site de persistance des leptospires.

Dans des études réalisées *in vivo* sur le hamster infecté, l'ampicilline, la bacampicilline, la mezlocilline et le cefotaxime se sont révélées efficaces pour le traitement de la maladie que cela soit en phase aiguë ou en phase de portage rénal (PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

D'après PRESCOTT JF, 1991, des études similaires menées sur des souris, des hamsters ou des cobayes, ont également établi l'efficacité de la pénicilline G, des tétracyclines, de la streptomycine et de l'erythromycine dans le traitement de la leptospirose.

Enfin, de nombreuses études menées sur des animaux de laboratoire ont mis en évidence l'efficacité d'une administration unique par voie intra musculaire de

25 mg/kg de dihydrostreptomycine pour éliminer les leptospires dans le rein. Cette efficacité remarquable serait attribuée à la combinaison d'une action bactéricide et à la persistance des leptospires dans le tissu rénal. Des doses élevées de tétracyclines ou d'erythromycine peuvent quelquefois stopper la leptospurie des animaux de laboratoire. En revanche, la pénicilline G n'y arrive pas.

Le traitement antibiotique de la leptospirose a pour objectif de diminuer la réPLICATION DES LEPTOSPIRES, de limiter la leptospirémie et de raccourcir la phase d'excrétion urinaire.

La pénicilline est la molécule de choix dans le traitement des leptospiroses et peut être utilisée dès le début de l'affection. La pénicilline G procaïne à la dose de 40.000 à 80.000 U/Kg par jour répartie en deux prises ou non, administrée par voie intramusculaire ou sous cutanée est la forme de pénicilline la plus employée pour la leptospirose (WHOL JS, 1996).

Il faut cependant préciser, comme le rappellent ANDRE-FONTAINE *et al.*, 1994, que les pénicillines sont actives sur les leptospires en multiplication. Ceci a pour conséquence que leur activité est limitée du fait du temps de génération des leptospires qui est d'environ dix heures.

Des molécules comme l'ampicilline ou l'amoxycilline (25 mg/kg par voie orale, deux fois par jour) peuvent également être efficaces.

La pénicilline s'excrète principalement par voie rénale. Les chiens souffrant d'azotémie auront donc une dose adaptée. En fonction des cas, la dose pourra ainsi être divisée ou multipliée jusqu'à quatre. Ces valeurs sont estimées en fonction de la diminution du taux de filtration glomérulaire et ce, jusqu'à ce que les troubles de l'azotémie soient résolus.

L'antibiothérapie courante se fait en deux temps.

Elle emploie la pénicilline en première intention. Le traitement devant être commencé avant les résultats sérologiques et sera poursuivi au moins deux semaines après la résolution de l'azotémie.

Ensuite, après la pénicilline il est recommandé de traiter les chiens avec de la doxycycline à la dose de 2,5 à 5 mg/kg par jour, par voie orale et pendant deux

semaines. Cette poursuite de l'antibiothérapie a pour objectif d'éliminer les leptospires présentes dans le rein. Cette molécule a pour intérêt d'être éliminée par voie intestinale. La dihydrostreptomycine et la tétracycline ayant des effets néphrotoxiques ne doivent pas être utilisées chez des chiens présentant une insuffisance rénale.

Dans le cas de formes chroniques, d'après ANDRE-FONTAINE G, 2002, le traitement devra être entrepris durant trois à quatre semaines avec de l'amoxycilline ou de la doxycycline.

b) Symptomatique

- Fluidothérapie

Elle peut avoir plusieurs intérêts : corriger la déshydratation, corriger les troubles électrolytiques et créer une expansion du volume extracellulaire pour limiter les toxines urémiques (ADIN CA et COWGILL LD, 2000 ; GROULADE P, 1995).

- Traitement des complications associées à l'insuffisance rénale

Les troubles gastro-intestinaux et les troubles du métabolisme phosphocalcique peuvent justifier la mise en place d'un traitement symptomatique (LANGSTON CE et HEUTER KJ, 2003).

En conclusion sur le traitement de la leptospirose canine, on peut reprendre le schéma thérapeutique recommandé par WHOL JS,1996 :

- AU DÉBUT DE L'AFFECTION

- 1- Placer un cathéter intraveineux et mettre en place la diurèse
- 2- Commencer une antibiothérapie utilisant la pénicilline
- 3- Mesurer l'excrétion urinaire et la pression veineuse centrale
- 4- Évaluer les capacités de coagulation du patient et les corriger si nécessaire
- 5- Évaluer l'urémie, la créatinémie et réaliser un ionogramme
- 6- Effectuer une perfusion de colloïdes ou transfuser l'animal si le chien est hypoalbuminémique
- 7- Dans le cas d'anorexie prolongée, réaliser une nutrition parentérale ou entérale

- EN PÉRIODE DE CONVALESCENCE

- 1- Instaurer une antibiothérapie employant la doxycycline
- 2- Avertir le propriétaire de la conduite à tenir devant une zoonose : mettre des gants lors du contact avec de l'urine de chien, bien désinfecter à l'iode les sols souillés par l'urine et contacter un médecin

D'une manière générale, on considère que si le diagnostic est précoce et que le traitement est instauré rapidement et de manière correcte, les chances de guérison sont autour de 90%. Mais ces données ne sont pas toujours en relation avec les résultats du terrain.

Pour GROULADE P, 1995, l'électrophorèse des protéines sériques est une bonne valeur pronostic. Dans les cas où passé le quatrième jour de traitement l'état clinique reste inquiétant, une globuline alpha 2 en masse au lieu d'être en pic avec une globuline gamma diminuée ont toujours été marqueur d'une évolution défavorable.

2. PROPHYLAXIE

a) Sanitaire

D'une part elle consiste à limiter les baignades des chiens dans les eaux douces stagnantes et à limiter le contact avec des chiens excréteurs urinaires. Et d'autre part elle consiste à lutter contre les rongeurs sauvages.

b) Médicale (vaccin)

Il existe un vaccin qui protège les chiens contre les deux sérovars les plus retrouvés dans nos régions : *icterohemorragiae* et *canicola*

Une infection par des leptospires ou une vaccination induit la production d'anticorps chez le chien contre différents antigènes. L'étude de GITTON X *et al.*, 1994, montre qu'un chien vacciné contre un sérogroupe et infecté par un autre sérogroupe produit des anticorps contre le sérovar virulent quelques jours avant un chien non vacciné. La vaccination contre un sérogroupe donne une réponse sérologique plus rapide à une souche virulente et du fait d'une immunité humorale efficace une forme moins grave de la maladie se déclare chez des chiens vaccinés.

On considère d'une manière générale que la vaccination permet une protection contre la forme létale induite par *canicola* et *icterohaemorrhagiae* et contre les formes létales induites par les hétérologues tels que *australis*, *autumnalis*, *sejroe* et *pyrogenes* (SONRIER C *et al.*, 2001).

La vaccination permet en général de réduire les symptômes mais n'empêche pas l'état de porteur. Lors de l'étude de ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2003, des chiens même vaccinés peuvent présenter une période de leptospirémie et peuvent excréter des leptospires dans leur urine De plus, la vaccination n'empêche pas l'infection par d'autres sérogroupes voire même par *icterohaemorrhagiae* et *canicola*.

Comme le montre l'étude de cas de LAJEUNESSE J et DIFRUSCIA R, 1999, la vaccination contre la leptospirose a des limites puisque plus de la moitié des chiens atteints par cette maladie étaient vaccinés. Le problème est la recrudescence de certains sérovirs contre lesquels ce vaccin n'est pas dirigé. De plus, les antigènes responsables d'une protection croisée sont peu représentés dans ces préparations vaccinales. Mais ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2001, et ANDRE-FONTAINE G *et al.*, 2003, précisent que sur des animaux immunocompétents au cours des rappels successifs de vaccins, la vaccination favorise une production plus durable des anticorps agglutinants spécifiques mais aussi des anticorps dirigés contre les antigènes communs. Ce sont ces anticorps qui sont capables d'induire une protection croisée. Un animal vacciné développe donc une résistance à l'infection variable pour des leptospires quelle que soit la souche incriminée.

D'après ANDRE-FONTAINE G, 2002, il a déjà été envisagé l'introduction d'autres sérogroupe dans des préparations vaccinales utilisant plus de vingt valences. Mais ces vaccins sont peu immunogènes et trois à six mois après la vaccination, en dehors de tout contact avec des leptospires sauvages, le chien ne présente généralement plus d'anticorps agglutinants détectables.

En pratique les vaccins employés actuellement sont ou non associés à d'autres valences.

Il existe des vaccins contenant la valence Leptospiroses seule.

Des vaccins bivalents associent la valence Leptospiroses et la valence Rage.

Des vaccins contiennent les trois valences Carré, Rubarth et Leptospiroses.

Des vaccins associent quatre valences : Carré, Rubarth, Parvovirose et Leptospiroses ou Carré, Rubarth, Rage et Leptospiroses.

Des vaccins pentavalents associent les valences Carré, Rubarth, Parainfluenza, Parvovirose et Leptospiroses ou les valences Carré, Rubarth, Rage, Parvovirose et Leptospiroses.

Enfin, il existe même des vaccins à six valences qui sont élaborés à partir des valences Carré, Rubarth, Parainfluenza, Parvovirose, Leptospiroses et Rage.

Ces vaccins contre la leptospirose ont la même efficacité qu'ils soient ou non associés à d'autres valences (COOPER PE *et al.*, 1991 ; DESMECHT M, 1982 ; REDDY GS et SRINIVASAN VA, 2002). En effet, ces différents auteurs ont montré qu'il n'y a aucune compétition ni d'interférence entre les différents composants antigéniques des vaccins comportant plusieurs valences. De même, leur administration peut se faire par voie sous cutanée ou par voie intra musculaire avec la même efficacité (COOPER PE *et al.*, 1991).

Pour la fabrication des vaccins on emploie des milieux ne contenant pas de protéines dits protéines free (PF). En effet, cette technique permet de diminuer le risque de choc anaphylactique pouvant survenir lors de la vaccination des chiens (BEY RF *et al.*, 1974 ; CINCO L, 1981).

La composition des vaccins pour la valence Leptospirose est du lysat de culture de leptospires contenant au minimum 800 millions de leptospires sérotypes *canicola* et 800 millions de leptospires sérotypes *icterohaemorrhagiae*, cultivées sur un milieu totalement synthétique et inactivées par le merthiolate.

En pratique, la primo vaccination se fait en deux injections : la première entre la septième et la douzième semaine de vie de l'animal et la seconde trois à quatre semaines plus tard mais pas avant la douzième semaine.

Chez le chien adulte la primo vaccination nécessite deux injections à trois ou quatre semaines d'écart.

La primo vaccination induit une production d'anticorps agglutinants. Mais ces anticorps ne persistent que trois à quatre mois après la vaccination. Cette persistance accroît en durée avec la répétition des injections de rappel. La réponse immunitaire de l'animal s'installe donc progressivement

L'étude d'HARTMAN EG *et al.*, 1984, montre que l'immunité conférée après deux vaccinations avec les vaccins contre *canicola* et *icterohaemorrhagiae* est de trois mois. Ceci est fondé sur les titres en IgG des chiens après ces deux vaccinations.

KLAASEN HLBM *et al.*, 2003, montrent dans leur étude que l'immunité conférée après deux vaccinations avec un vaccin contre la leptospirose canine est d'un an au moins. Un rappel annuel est donc nécessaire. Classiquement, un rappel bi annuel est même recommandé pour les chiens ayant un risque important d'exposition (COYNE MJ *et al.*, 2001).

La vaccination contre la leptospirose, comme pour toute autre vaccination, se fera sur des animaux en parfait état de santé et correctement déparasités. D'autant plus que parfois, l'utilisation de vaccins vivants atténusés peut provoquer un stade transitoire d'immunosuppression après immunisation (STRASSER A *et al.*, 2003).

Les échecs de la vaccination chez les chiens sont difficiles à expliquer. Les principales causes seraient des déficiences immunitaires liées à l'administration concomitante de médicaments, un mauvais protocole de vaccination ou une mauvaise immunité individuelle (DESMECHT M, 1982).

VII- LA LEPTOSPIROSE DU CHIEN : UNE ZOONOSE SOUS ESTIMÉE

Les leptospiroses humaines sont des infections accidentnelles et sont relativement rares avec 300 à 600 cas annuels recensés en France (TOMA B *et al.*, 2002). Mais d'après BARANTON G et POSTIC D, 1993, même si ce nombre peut sembler mineur, la France serait le pays de l'Europe de l'Ouest le plus touché.

En France, la surveillance de cette pathologie est effectuée par le Centre national de référence (CNR) des leptospires. Ce centre reçoit des demandes de sérologie de laboratoires hospitaliers ou d'analyses biologiques et médicales répartis sur l'ensemble du territoire (PERRA A *et al.*, 2001).

1. ÉPIDÉMIOLOGIE

L'homme est sensible à tous les sérovars de *Leptospira interrogans*. La gravité de la maladie dépend plus de l'inoculum, de la virulence de la souche et de la sensibilité individuelle que du sérovar. Tous les sérovars peuvent entraîner une forme grave ou mortelle. Ainsi, aucun syndrome clinique particulier ne peut être rattaché à tel ou tel sérovar (PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

Le chien constitue une source de contamination majeure pour l'homme. En effet comme le précisent HARKIN KR *et al.*, 2003, 8% de chiens normaux cliniquement pourraient excréter des leptospires. L'infection à *L. icterohaemorragiae* est en relation avec l'exposition avec des chiens infectés. Cette infection est la plus couramment diagnostiquée chez l'homme.

La leptospirose peut atteindre l'homme par contamination directe au contact de chiens infectés ou indirectement au contact des eaux souillées.

Selon TOMA B *et al.*, le mode de contamination directe qui se fait par la peau et les muqueuses concerne essentiellement les personnes manipulant des chiens infectés ou leurs organes. Une contamination directe pour les éleveurs et les vétérinaires peut également se produire avec l'aérosol de gouttelettes d'urine formé dans l'élevage ou de la salle de traite.

L'exposition indirecte par contact avec l'eau, le sol ou des aliments contaminés par l'urine d'animaux infectés est le mode d'infection principal.

Les voies d'entrées des germes sont les mêmes que celles du chien (SERVANTIE J-J A, 2000) :

- Par la muqueuse digestive
- Par la muqueuse oculaire
- Par la muqueuse nasale
- A travers la peau
- Par voie transplacentaire

2. SYMPTÔMES

La durée d'incubation est de 7 à 14 jours (GANIERE JP et al., 2001).

Chez l'homme deux périodes de la maladie sont distinguables :

Une première période où sont présents des symptômes de fièvre, des frissons, des douleurs musculaires et des maux de tête. Durant cette période qui dure en général moins d'une semaine, les leptospires peuvent être retrouvées dans le sang ou le liquide céphalo-rachidien.

Puis une deuxième période de la maladie où l'on observe un certain nombre de symptômes variables (PLANK R et DEAN D, 2000 ; SERVANTIE J-J A, 2000) :

- Une atteinte hépatique qui se traduit par un ictère cutanéo-muqueux.
- Une atteinte rénale sous forme de néphrite induisant une protéinurie une hématurie et une leucocyturie.
- Une atteinte neuroméningée : méningite, convulsions, paralysie et coma.
- Une atteinte digestive avec de la diarrhée, des vomissements et des douleurs abdominales.
- Une atteinte respiratoire avec de la toux et de l'hémoptysie (TREVEJO RT et al., 1995).
- Une atteinte cardiaque pouvant se manifester sous la forme d'un collapsus par myocardite aiguë ou une modification de l'ECG (extrasystoles ventriculaires, arythmie...).

- Une atteinte oculaire souvent sous forme d'uvéite. D'après DZIEZYC J, 2000, celle-ci peut se déclarer de un à dix mois après la phase aiguë de la maladie. Il peut même y avoir une récurrence de l'uvéite après un traitement réussi de l'uvéite initiale. Les symptômes oculaires sont uni ou bi latéraux. Ils incluent des précipités cornéens, des synéchies postérieures et des hypopions.

Une cataracte peut apparaître comme séquelle dans quelques cas rares.

- Une atteinte musculaire et articulaire : rhabdomyolyse et arthrite.
- Des manifestations hémorragiques : épistaxis, pétéchies et hémorragies digestives.

SOMERS CJ *et al.*, 2003, ont rapporté un cas de profonde hypoplasie érythrocytaire avec de l'anémie, une réticulocytopenie et une érythrocytopenie associées à une infection leptospirosique. Les leptospires pourraient avoir un effet toxique direct sur les cellules souches érythrocytaires.

- Des méningites aseptiques peuvent se développer suite au passage des leptospires dans le système nerveux central (HEATH SE et JOHNSON, 1994).

La forme la plus dangereuse pour l'homme est la forme inapparente qui est prise pour une simple grippe et qui est traitée par une antibiothérapie de 8 jours. Le risque est que dans les formes graves, après l'arrêt des antibiotiques, on peut observer une rechute conduisant parfois à une insuffisance rénale aiguë ou une méningite pouvant être fatale. Il existe également des formes beaucoup plus graves où la maladie évolue de manière foudroyante en une insuffisance hépato-rénale (maladie de Weil) mortelle (PLANK R et DEAN D, 2000).

3. DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la maladie chez l'homme est double :

Il se réalise soit de manière directe après isolement des leptospires dans le sang ou dans le liquide céphalo-rachidien lors des 5 à 7 premiers jours de la maladie.

A partir du 12^{ème} jour de la maladie on peut les rechercher dans les urines mais leur élimination est intermittente (ACHA PN et SZYFRES B, 1989).

Il se réalise soit de manière indirecte par la mise en évidence d'anticorps apparaissant à partir du 7^{ème} jour. Le malade n'a pas d'anticorps pendant la première semaine. Ils apparaissent au bout de 6 à 7 jours et atteignent un niveau maximal à la troisième ou quatrième semaine. Ainsi, si le premier échantillon est négatif ou légèrement positif et que le second présente une augmentation appréciable du taux des anticorps, alors on peut en déduire qu'il s'agit de leptospirose (ACHA PN et SZYFRES B, 1989).

4. TRAITEMENT

Le traitement est constitué d'une antibiothérapie utilisant de la pénicilline G à la dose de 2 millions U.I. toutes les 8 heures par voie intraveineuse et pendant 7 à 8 jours. La pénicilline est active dans le cas de traitements précoce et de traitements tardifs.

L'ampicilline par voie orale est également une bonne thérapie pour les formes mineures ou pour les traitements précoce (PEROLAT P et BARANTON G, 2000).

WOHL JS, 1996, a montré que la doxycycline est active contre les leptospiroses humaines.

Une rééquilibration hydroélectrolytique et une transfusion peuvent être nécessaires selon les cas.

5. PROPHYLAXIE

- Action contre les réservoirs (TOMA B *et al.*, 2002 ; ACHA PN et SZYFRES B, 1989)

L'action contre les réservoirs englobe :

- La décontamination du milieu extérieur. Elle comprend le nettoyage des sols souillés par les urines à l'aide d'un désinfectant iodé et le drainage des terrains marécageux aux abords des locaux d'élevage.
- La lutte contre les rongeurs sauvages.
- Le contrôle de l'infection chez les chiens. La vaccination des chiens se fait selon le protocole présenté dans la partie prophylaxie médicale de cette thèse. Elle consiste en un rappel annuel pour les chiens ne présentant pas de risques d'exposition accrue et un rappel semestriel pour les chiens présentant des risques particuliers.
- L'hygiène personnelle qui regroupe le port de gants et de bottes pour éviter le contact de la peau avec la boue et l'eau douce des lacs, l'utilisation de gants par les vétérinaires lors de sondage urinaire, le drainage des terrains marécageux et enfin, elle consiste à limiter l'entrée de rongeurs par la construction de bâtiments, par la protection des aliments et l'élimination rationnelle des ordures.

- Prophylaxie médicale

- Une antibioprophylaxie peut être nécessaire dans certains cas comme pour les militaires ou les voyageurs parcourant des zones hautement endémiques (TREVEJO RT *et al.*, 1995).

- Il existe un vaccin en France contre la leptospirose due à *Icterohaemorragiae* recommandé pour les professions à risque (PEROLAT P et BARANTON G, 2000). Elle peut être justifiée pour les personnes exposées aux risques des maladies professionnelles et les personnes pouvant être au contact d'animaux porteurs de leptospires ou de leurs déjections.

En dehors de ces circonstances professionnelles, la vaccination peut être proposée aux voyageurs se rendant dans des lieux éloignés à haute prévalence de leptospirose.

Cette vaccination est recommandée pour les professions à risque par le conseil supérieur d'hygiène publique de France.

D'après TOMA B *et al*, 2002, ce vaccin préparé à partir de souches appartenant au sérogroupe *icterohaemorrhagiae* inactivées par le formol est efficace du fait de l'effet protecteur des anticorps agglutinants contre les leptospires appartenant à ce sérogroupe. Il est en revanche inefficace contre les leptospires appartenant à des sérogroupes différents. La vaccination comporte deux injections à quinze jours d'intervalle, avec un premier rappel quatre à six mois après et un rappel tous les deux ans.

Il n'y a pas de contre-indication à cette vaccination en dehors de forte réaction à une injection antérieure.

En conclusion, la présence de nombreux réservoirs et l'existence de nombreux sérovirs freinent l'efficacité de la prophylaxie de la leptospirose. La maladie humaine a très fortement régressé en Europe, sauf en France qui est certainement l'un des pays de l'Europe de l'Ouest le plus touché.

VIII- LÉGISLATION

Les leptospires de l'espèce *Leptospira interrogans sensu lato* appartiennent au groupe de risque 2 (arrêté du 8 juillet 1994) et leur manipulation nécessite des précautions (hottes, port de gants, imperméables, lunettes protectrices,...).

La leptospirose est une maladie professionnelle mais n'est plus comme le précisent PERRA A *et al.*, 2002, une maladie à déclaration obligatoire depuis 1986. Elle est inscrite dans les tableaux 5 et 19 A des maladies professionnelles (Agriculture et Commerce et Industrie), présentés en annexes 1 et 2.

CONCLUSION

Le vétérinaire praticien est amené très régulièrement à introduire dans son diagnostic différentiel la leptospirose canine. Il me semblait donc intéressant de réaliser une thèse bibliographique sur cette maladie générale du chien qui est une pathologie encore sous estimée en France et qui est pourtant bien souvent létale. Il faut donc penser à cette affection même si le chien est correctement vacciné car celui-ci peut être infecté par un sérovar différent de ceux présents dans le vaccin. De même, il ne faut pas limiter la leptospirose à des expressions cliniques sous forme d'ictère flamboyant ou de néphrite interstitielle. En effet, cette maladie comme beaucoup d'autres évolue cliniquement avec l'émergence de nouveaux sérovars. De plus, elle peut être atténuée par la vaccination.

Il me paraissait également très utile de rappeler l'importance de la leptospirose pour le vétérinaire. Celui-ci est susceptible de contracter l'infection s'il ne respecte pas les règles d'hygiène minimales lors de prélèvement de sang en phase septicémique et lors de sondage urinaire de chien. Son rôle est également d'informer le propriétaire des précautions à prendre au contact de son chien. La leptospirose est une zoonose qui est encore malheureusement, parfois mortelle.

Annexe 1 : Tableau 5 du régime agricole

D'après, Internet, <http://www.inrs.dev.optimedia.fr>.

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

Désignation des maladies

Toute manifestation clinique de la 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 principaux 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 5^{ème} quartier des animaux de boucherie ;

Travaux de dératisation ;

Travaux de soins aux animaux vertébrés.

Annexe 2 : Tableau 19 A du régime général
D'après, Internet, <http://www.inrs.dev.optimedia.fr>
Dernière mise à jour : 29 juillet 1999 (décret du 26 juillet 1999)

Désignation des maladies

Toute manifestation clinique de la 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 principaux 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 5^{ème} 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.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHA PN, SZYFRES B. (1989) Leptospirose *In, OIE*, Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux, 2^{ème} ed. OIE, Paris, 90-97.
- ADAMUS C, BUGGIN-DAUBIE M, IZEMBART A, SONRIER-PIERRE C, GUIGAND L, MASSON MT *et al.* (1997) Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles. *J. Comp. Pathol.*, **117** (4), 311-328.
- ADIN CA, COWGILL LD. (2000) Treatment and outcome of dogs with leptospirosis : 36 cases (1990-1998). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **216** (3), 371-375.
- ALT DP, BOLIN CA. (1996) Preliminary evaluation of antimicrobial agents for treatment of *Leptospira interrogans* serovar *pomona* infection in hamsters and swine. *Am. J. Vet. Res.*, **57** (1), 59-62.
- ANDERSON JF, MILLER DA, POST JE, JOHNSON RC, MAGNARELLI LA, ANDREADIS TG. (1993) Isolation of *Leptospira interrogans* serovar *grippotyphosa* from the skin of a dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **203** (11), 1550-1551.

ANDRE-FONTAINE G. (2002) Actualités sur la leptospirose canine. *Point Vét.*, **33**, 26-31

ANDRE-FONTAINE G, GANIÈRE JP. (1992) Leptospirose canine. *Encycl. Vét. : Médecine Générale*. ed Technique, Paris.1-7.

ANDRE-FONTAINE G, GANIÈRE JP, QUINIOU MA. (1988) Sérologie des leptospiroses animales : le test de microagglutination (M.A.T) qualités analytiques comparées de la technique à lecture directe en microplaques et de la technique en plaques à lecture sur lame. *Bull. Lab. Vét.*, **29/30**, 63-69.

ANDRE-FONTAINE G, RUVOEN-CLOUET N, GANIÈRE JP. (1994) Données récentes sur la leptospirose canine. *Rec. Méd. Vét.*, **170** (10/11),663-668.

ANDRE-FONTAINE G, RUVOEN-CLOUET N, GANIÈRE JP. (2001) Leptospirose canine : actualités épidémiologiques. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, **36**, 565-570.

ANDRE-FONTAINE G, BRANGER C, GRAY AW, KLAASEN HLBM. (2003) Comparison of the efficacy of three commercial bacterins in preventing canine leptospirosis. *Vet. Rec.*, **153** (6), 165-169.

ARIMITSU Y, HARITANI K, ISHIGURO N, KOBAYASHI S. (1989) Detection of antibodies to leptospirosis in experimentally infected dogs using the microcapsule agglutination test. *Br. Vet. J.*, **145**, 356-361.

AURAN NE, JOHNSON RC, RITZI DM. (1972) Isolation of the outer sheath of *Leptospira* and its immunogenic properties in hamsters. *Infect. Immun.*, **5** (6), 968-975.

BADIOLA J, THIERMANN AB, CHEVILLE NF. (1983) Pathologic features of leptospirosis in hamsters caused by *Leptospira interrogans* serovars *hardjo* and *swajizak*. *Am. J. Vet. Res.*, **44** (1), 91-99.

BALDWIN CJ, ATKINS CE. (1987) Leptospirosis in dogs. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, **9** (5), 499-507.

BARANTON G. (16 octobre 1995, modifiée le 27 avril 2003) Rédaction et lecture. In : *Rapport d'activité 2002 de l'Institut Pasteur*, [en-ligne]. Paris : Institut Pasteur, [<http://www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2002/Bmme.htm>] (consulté le 30 avril 2003).

BARANTON G, POSTIC D. (1993) La leptospirose humaine en France de 1986 à 1992. *Méd. Mal. Infect.*, **23**, Spécial, 499-503.

BARNETT JK, BARNETT D, BOLIN CA, SUMMERS TA, WAGAR EA, CHEVILLE NF, et al. (1999) Expression and distribution of letospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infect. Immun.*, **67** (2), 853-861.

BAUMANN D, FLUCKIGER M. (2001) Radiographic findings in the thorax of dogs with leptospiral infection. *Vet. Radiol. Ultrasound*, **42** (4), 305-307.

BERCHE P. (1989) Leptospires. Bactériologie médicale. 2^{ème} ed., Flammarion Médecine et Sciences, chap. 49, 1046-1057.

BERNHEIMER AW, BEY RF. (1986) Copurification of *Leptospira interrogans* serovar *pomona* hemolytic and sphingomyelinase C. *Infect. Immun.*, **54** (2), 262-264.

BEY RF, AURAN NE, JOHNSON RC. (1974) Immunogenicity of whole cell and outer envelope leptospiral vaccines in hamsters. *Infect. Immun.*, **10**, 1051-1056.

BHARTI AR, NALLY JE, RICALDI JN, MATTHIAS MA, DIAZ MM, LOVETT MA *et al.* (2003) Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet*, **3**, 757-771.

BIRNBAUM N, BARR SC, CENTER SA, SCHERMERHORN T, RANDOLPH JF, SIMPSON KW. (1998) Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: serological and clinicopathological features. *J. Small Anim. Pract.*, **39** (5), 231-236.

BISHOP L, STRANDBERG JD, ADAMS RJ, BROWNSTEIN DG, PATTERSON R. (1979) Chronic active hepatitis in dogs associated with leptospires. *Am. J. Vet. Res.*, **40** (1), 839-844.

BOLIN CA. (1996) Diagnosis of leptospirosis: A re-emerging disease of companion animals. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)*, **11** (3), 166-171.

BORDES F. (2001) Leptospirose atypique chez un Jagd Terrier. *Action. Vét.*, n°1558, 12-16.

BOUTILIER P, CARR A, SCHULMAN RL. (2003) Leptospirosis in dogs : a serologic survey and case series 1996 to 2001. *Veterinary therapeutics*, **4** (2), 178-187.

BRAUND BG. (1997) Idiopathic and exogenous causes of myopathies in dogs and cats. *Vet. Med.*, **92**, 629-634.

BRENNER DJ, KAUFMANN AF, SULZER KR, STEIGERWALT AG, ROGERS FC, WEYANT RS. (1999) Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **49**, 839-858.

BROWN JA, LEFEBVRE RB, PAN MJ. (1991) Protein and Antigen Profiles of Prevalent Serovars of *Leptospira interrogans*. *Infect. Immun.*, **59** (5), 1772-1777.

BROWN CA, WAYNE ROBERTS A, MILLER MA, DAVIS DA, BROWN SA, BOLIN CA, et al. (1996) *Leptospira interrogans* serovar *grippotyphosa* infection in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **209** (7), 1265-1267.

CAI HY, HORNBY G, KEY DW, OSUCH MR, GRANT MAXIE M. (2002) Preliminary study on differentiation of *Leptospira grippotyphosa* and *Leptospira sejroe* from other common pathogenic leptospiral serovars in canine urine by polymerase chain reaction assay. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **14** (2), 164-168.

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

CHARON NW, GREENBERG EP, KOOPMAN MBH, LIMBERGER RJ. (1992) Spirochete chemotaxis, motility, and the structure of the spirochetal periplasmic flagella. *Res. Microbiol.*, **143**, 597-603.

CINCO M. (1981) Culture des leptospires. *Méd. Mal.Infect.*, **11**(2), 57-59.

COOPER PE, CHAPPUIS G, SAINT-GERAND A-L, DURET C. (1991) Comparaison de l'efficacité de différents vaccins du chien, utilisés sous forme monovalente ou associée par évaluation des réponses sérologiques et après épreuves virulentes 12, 22 et 26 mois après vaccination. *Bull. Soc. Vét. Prat. Fr.*, **75** (3), 131-152.

COYNE MJ, BURR JHH, YULE TD, HARDING MJ, TRESNAN DB, McGAVIN D. (2001) Duration of immunity in dogs after vaccination or naturally acquired infection. *Vet. Rec.*, **149** (17), 509-515.

CULLEN PA, HAAKE DA, ADLER B. (2003) Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. *Microbiology Reviews*, **67**, 1-28.

DESMECHT M. (1982) Durée de l'immunité conférée par le vaccin de la leptospirose canine chez le hamster. *Ann. Méd. Vét.*, **126**, 55-58.

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

DOBRINA A, NARDON E, VECILE E, CINCO M. et PATRIARCA P. (1995) *Leptospira icterohemorrhagiae* and leptospire peptidoglycans induce endothelial cell adhesiveness for polymorphonuclear leukocytes. *Infect. Immun.*, **63** (8), 2995-2999.

DZIEZYC J. (2000) Canine systemic bacterial infections. *Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Pract.)*, **30** (5), 1103-1107.

ELLIS WE. (1992) Leptospirosis In, OIE, manual of standards, ed. OIE, Paris, 186-196.

FARR RW. (1995) Leptospirosis. *Clin. Inf. Dis.*, **21**, 1-6.

FLANNERY B, COSTA D, CARVALHO PF, GUERREIRO H, MATSUNAGA J, DA SILVA ED, *et al.* (2001) Evaluation of recombinant *Leptospira* antigen-based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for the serodiagnosis of Leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.*, **39** (9), 3303-3310.

FORREST LJ, O'BRIEN RT, TREMELLING MS, STEINBERG H, COOLEY AJ, KERLIN RL. (1998) Sonographic renal findings in 20 dogs with leptospirosis. *Vet. Radiol. ultrasound*, **39** (41), 337-340.

GANIÈRE JP, RUVOEN N, ANDRE-FONTAINE G. (2001) Zoonoses infectieuses d'origine canine et féline. *Méd. Mal. Infect.*, **31** (2), 109-125.

GITTON X, BUGGIN DAUBIE M, ANDRE F, GANIÈRE J-P, ANDRE-FONTAINE G. (1994) Recognition of *Leptospira interrogans* antigens by vaccinated or infected dogs. *Vet. Microbiol.*, **41**, 87-97.

GREENLEE J, BOLIN C, ALT D, CHEVILLE N, ANDREASEN C. (2004) Clinical and pathologic comparison of acute leptospirosis in dogs caused by two strains of *Leptospira Kirschneri* serovar grippotyphosa. *Am. J. Vet. Res.*, **65** (8), 1100-1107.

GREENE CE. (1984) Leptospirosis In: chap 35, Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat, ed. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, Mexixo city, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, 588-592.

GREENE CE. (1990) Leptospirosis In: chap. 45, Infectious disease of dog and cat, ed. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 498-507.

GROULADE P. (1995) Le traitement des formes aiguës de leptospirose, *L'action vétérinaire*, n°981, 14.

GUERREIRO H, CRODA J, FLANNERY B, MAZEL M, MATSUNAGA J, REIS MG, *et al.* (2001) Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. *Infect. Immun.*, **69** (8), 4958-4968.

HANSON LE. (1982) Leptospirosis in domestic animals : The public health perspective. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **181** (12), 1505-1509.

HARKIN KR, ROSHTO YM, SULLIVAN JT, PURVIS TJ, CHENGAPPA MM. (2003) Comparison of polymerase chain reaction assay, bacteriologic culture, and serologic testing in assessment of prevalence of urinary shedding of leptospires in dogs. *J.A.V.M.A.*, **9**, 1230-1233.

HARTMAN EG, VAN HOUTEN M, VAN DER DONK JA. (1984) Humoral immune response of dogs after vaccination against leptospirosis measured by an IgM- and IgG- specific ELISA. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **7**, 245-254.

HARTMAN EG, VAN DEN INGH TSGAM, ROTHUIZEN J. (1986) Clinical, pathological and serological features of spontaneous canine leptospirosis. An evaluation of the IgM- and IgG- specific ELISA. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **13**, 261-271.

HEATH SE, JOHNSON R. (1994) Leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **205** (11), 1518-1523.

HIGGINS R. (1981) A minireview of the pathogenesis of acute leptospirosis. *Can. Vet. J.*, **22**, 277-278.

HOVIND-HOUGEN K. (1981) Morphologie des leptospires. *Méd. Mal. Infect.*, **11**(2), 60-70.

HOVIND-HOGEN K, BIRCH-ANDERSEN A. (1981) Influence des techniques de préparation sur l'ultrastructure des cellules. *Méd. Mal. Infect.*, **11** (2), 71-79.

Institut National de Recherche et de Sécurité. *Site de l'Institut National de Recherche et de Sécurité* [en-ligne], Mise à jour le 20 mars 1999 [<http://www.inrs.dev.optimedia.fr>], (consulté le 15 fevrier 2004).

Institut Pasteur. *Site de l'Institut Pasteur* [en-ligne], Mise à jour le 27 avril 2003 [<http://www.pasteur.fr>], (consulté le 30 avril 2003).

ISOGAI E, ISOGAI H, KUBOTA T, FUJII N, HAYASHI S, INDOH T, TAKAGI S, MIURA H, KIMURA K. (1998) Apoptosis of lymphocytes in mice administered lipopolysaccharide from *Leptospira interrogans*. *Vet. Med. B*, **45**, 529-537.

KALIN M, DEVAUX C, DIFRUSCIA R, LEMAY S, HIGGINS R. (1999) Three cases of canine leptospirosis in Québec. *Can. Vet. J.*, **40** (3), 187-191.

KEENAN KP, ALEXANDER AD, MONTGOMERY CA. (1978) Pathogenesis of experimental *Leptospira interrogans* serovar *bataviae*, infection in the dog: Microbiological, clinical, hematologic, and biochemical studies. *Am. J. Vet. Res.*, **39**, 449-454.

KLAASEN HLBM, MOLKENBOER MJCH, VRIJENHOEK MP, KAASHOEK MJ. (2003) Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalent inactivated vaccine. *Vet. Microbiol.*, **95** (1/2), 121-132.

KOIZUMI N, WATANABE H. (2003) Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. *Vaccine*, **21**, 1-8.

KUMAR AS, RAMADASS P, NACHIMUTHU K. (2001) Use of polymerase chain reaction for the detection of leptospires in clinical samples. *Ind. Vet. J.*, **78**, 1087-1090.

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

LANGSTON CE, HEUTER KJ. (2003) Leptospirosis a re-emerging zoonotic disease. *Vet. Clin. North Am. (Small animal practice)*, **33** (4), 791-807.

MERIEN F, POULIQUEN P, TRONEL JP. (2000) La PCR permet de mieux connaître les leptospiroses. *Sem. Vét.*, n°986, 16.

MILLET AS. (1998) La leptospirose du chien. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, **33**, 19-23.

MULLER A, GAU C, CHETBOUL V, ANDRE-FONTAINE G. (1999) Un cas de cholangio-hépatite associée à une leptospirose chez un chien. *Rec. Méd. Vét.*, **175** (1/2), 63-68.

NAIMAN BM, ALT D, BOLIN CA, ZUERNER R, BALDWIN CL. (2001) Protective Killed *Leptospira borgpetersenii* Vaccine Induces Potent Th1 Immunity Comprising Responses by CD4 and GammaDelta T Lymphocytes. *Infect. Immun.*, **69** (12), 7550-7558.

NAVARO CE, KOCIBA GJ. (1982) Hemostatic changes in dogs with experimental *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* infection. *Am. J. Vet. Res.*, **43**, 904-906.

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

OSBORNE CA, LOW DG, FINCO DR. (1976) La leptospirose. Urologie du chien et du chat, ed. Vigot. Maladies rénales liées aux maladies polysystémiques, chap. 28, 317-321.

PALANIAPPAN RU, CHANG YF, JUSUF SS *et al.* (2002) Cloning and molecular characterization of an immunogenic LigA protein of *Leptospira interrogans*. *Infect.Immun.*, **70** (11), 5924-30.

PELLERIN JL. (1989) LA P.C.R. (Polymerase Chain Reaction) : une révolution dans le diagnostic par sondes nucléiques, *Point. Vét.*, **21** (124), 73-80.

PEROLAT P, BARANTON G. (2000) *Leptospira. Précis de bactériologie clinique*. ESKA, chap 91, 1533- 1542.

PEROLAT P, CHAPPEL RJ, ADLER B, BARANTON G, BULACH D.M., BILLINGHURST ML, *et al.* (1998) *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **48**, 851-858.

PERRA A, SERVAS V, TERRIER G, POSTIC D, BARANTON G, ANDRE-FONTAINE G, VAILLANT V, CAPEK I. (2001) Cas groupés de leptospirose à Rochefort, *Bull. Epidémiol. Hebd.*, **35**, 169-172.

PLANK R, DEAN D. (2000) Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. *Microb. Infect.*, **2**, 1265-1276.

PONCELET L, FONTAINE L, BALLIGAND M. (1991) Polymyositis associated with *Leptospira australis* infection in a dog. *Vet. Rec.*, **129**, 40.

PRESCOTT JF. (1991) Treatment of leptospirosis. *Cornell. Vet.*, **81** (1), 7-12.

PRESCOTT JF, McEWEN B, TAYLOR J, WOODS P, ABRAMS-OGG A, WILCOCK B. (2002) Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. *Can. Vet. J.*, **43** (12), 955-961.

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

RAMADASS P, JARVIS BDW, CORNER RJ, PENNY D, MARSHALL RB. (1992) Genetic characterization of pathogenic *Leptospira* species by DNA hybridization. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **42**, 215-219.

REDDY GS, SRINIVASAN VA. (2002) Comparative efficacy of combined vaccine for canines containing canine distemper, hepatitis, parvovirus, rabies and leptospira antigens and monovalent vaccines. *Ind. Vet. J.*, **79**, 435-439.

RENTKO VT, CLARK N, ROSS LA, SCHELLING SH. (1992) Canine leptospirosis a retrospective study of 17 cases. *Journ. Vet. Intern. Med.*, **6**, 235-244.

RIBOTTA MJ. (2000) Mise au point d'une épreuve ELISA indirecte pour la détection d'anticorps anti-leptospires chez l'espèce canine. *Méd. Vét. Québec*, **30** (4), 201.

RIBOTTA MJ, HIGGINS R, GOTTSCHALK M, LALLIER R. (2000) Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. *Can. J. Vet. Res.*, **64** (1), 32-37.

SCANZIANI E, CRIPPA L, GIUSTI AM, LUINI M, PACCIARINI ML, TAGLIABUE S, CAVALLETTI E. (1995) *Leptospira interrogans* serovar *sejroe* infection in a group of laboratory dogs. *Lab. Anim.*, **29**, 300-306.

SCHOENAERS F., KAECKENBEECK A. (1971) Leptospiroses In: Maladies infectieuses des animaux domestiques, tome 1, ed. Derouaux, Liège, 267-274.

SCHONBERG A. (1981) Tests cutanés et Leptospirose, *Méd. Mal. Infect.*, 1981, **11** (2), 100-101.

SERVANTIE J-J A. (2000) Les zoonoses transmises par les carnivores, thèse pour le doctorat vétérinaire Toulouse, 165-174.

SOMERS CJ, AL-KINDI S, MONTAGUE S, O'CONNOR R, MURPHY PG, JEFFERS M, *et al.* (2003) Erythroid hypoplasia associated with leptospirosis. *Journal of infection*, **47**, 85-86.

SONRIER C, BRANGER C, MICHEL, RUVOEN-CLOUET N, GANIÈRE JP, ANDRE-FONTAINE G. (2001) Evidence of cross-protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine*, **19**, 86-94.

SRIVASTAVA SK. (2002) Properties of lipopolysaccharide antigen of *Leptospira interrogans* serovar *pyrogenes*. *Ind. Vet. J.*, 2002, **79**, 1201-1202.

THIERMANN AB. (1980) Canine leptospirosis in Detroit. *Am. J. Vet. Res.*, **41**(10), 1659-1661.

STRASSER A, MAY B, TELTSCHER A, WISTRELA E, NIEDERMULLER H. (2003) Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 94 (3-4), 113-121.

THIERMANN AB. (1984) Leptospirosis currents, developments and trends. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **184** (6), 722-725.

THOMAS DD, HIGBIE LM. (1990) In vitro association of leptospires with host cells. *Infect. Immun.*, **58** (3), 581-585.

TOMA B *et al.* (2002) La leptospirose. Les zoonoses infectieuses. Polycopié d'enseignement de maladies contagieuses, 52-56.

TOSHIHIRO I , RYO Y. (1987) Leptospiral attachment to extracellular matrix of mouse fibroblast (L929) cells. *Vet. Microbiol.*, **15**, 89-96.

TRAP D. (1993) L'épidémiologie des leptospiroses animales. *Méd. Mal. Infect.*, **23**, 504-506.

TREVEJO RT, RIGAU-PEREZ JG, ASHFORD DA, McCLURE EM, JARQUIN-GONZALEZ C, AMADOR JJ. *et al.* (1998) Epidemic leptospirosis associated with pulmonary Hemorrhage-Nicaragua, 1995, *J. Infect. Dis.*, **178**, 1457-1463.

THIRUNAVUKKARASU PS, SRINIVASAN SR, RATNAM S, GNANAPRAKASAM V. (1995) Ocular manifestations in canine leptospirosis. *Ind. Vet. J.*, **72** (2), 200-201.

VANASCO NB, SEQUEIRA MD, SEQUEIRA G, TARABLA HD. (2003) Associations between leptospiral infection and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. *Prev. Vet. Med.*, **60**, 227-235.

VAN DEN INGH TSGAM , HARTMAN EG. (1986) Pathology of acute *Leptospira interrogans* serotype *icterohaemorrhagiae* infection in the syrian hamster. *Vet. Microbiol.*, **12**, 367-376.

VAUTIER M. (1998) La leptospirose canine: une zoonose sous-estimée. *Action Vét.*, n°1458, 21-24.

VENKATARAMAN KS, NEDUNCHELLIYAN S. (1992) Epidemiology of an outbreak of leptospirosis in man and dog. *Comp. Immunol. Microbiol. Inf. Dis.*, **15** (4), 243-247.

VENKATARAMAN KS, NEDUNCHELLIYAN S, RAMADASS P, RAMKRISHNA J. (1994) Experimental reproduction of canine leptospirosis. *Int. J. Anim. Sci.*, **9**, 233-235.

WARD MP. (2002) Seasonality of canine leptospirosis in the United States and Canada and its association with rainfall. *Prev. Vet. Med.*, **56** (3), 203-213.

WARD MP, GLICKMAN LT, GUPTILL LF. (2002) Prevalence of and risk factors for Leptospirosis among dogs in the United states and Canada: 677 cases (1970-1998). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **220** (1), 53-58.

WATSON ADJ. (1994) Leptospirosis in cats and dogs. *Aust. Vet. J.*, **71** (2), 59.

WILD CJ, GREENLEE JJ, BOLIN CA, BARNETT JK, HAAKE DA, CHEVILLE NF. (2002) An improved immunohistochemical diagnostic technique for canine leptospirosis using antileptospiral antibodies on renal tissue. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **14**, 20-24.

WOHL JS. (1996) Canine leptospirosis. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, **18** (11), 1215-1225.

YUKAWA M, MOCHIZUKI K, IMAMURA S. (1990) Susceptibility of mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) to leptospires and the protective effect of vaccination. *Vet. Microbiol.*, **24**, 63-71.

ZARAGOZA C, BARRERA R, CENTENO F, TAPIA JA, MANE MC. (2003) Characterization of renal damage in canine leptospirosis by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and western blotting of the urinary proteins. *J.Comp. Pathol.*, **129** (2/3), 169-178.