

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEUR VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر

EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE PROJET DE FIN D'ETUDES DOCTEUR
VETERINAIRE

THEME

Etude Bibliographique de la Leptospirose Equine

Présenté par :- KHARKHACHE WALID
- MEFLAH MUSTAPHA

Soutenu le 30/06/2013

Le jury :

Présidente : Melle AIT-LOUDHIA K. : Maitre de Conférences (ENSV).
Promotrice : Mme OUSLIMANI-REHAL S : Maitre Assistante (ENSV).
Examineur: Mr BENTCHIKOU T. : Maitre Assistant (ENSV).
Examinatrice: Mme ZENAD W. : Maitre Assistante (ENSV).

Année universitaire : 2012/2013

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, nos plus vifs remerciements s'adressent aux membres du jury pour l'attention qu'ils ont bien voulu porter à notre étude.

MERCI À :

- Melle **AIT-LOUDHIA K.** : Maître de conférences à l'ENSV d'ALGER pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury et porter son appréciation sur notre travail.
- Mme **ZENAD W.** : Maître assistante à l'ENSV d'ALGER qui a accepté de faire parti de notre jury, pour sa disponibilité et sa gentillesse ; sincères reconnaissance.
- Mr **BENTCHIKOU T.** : Maître assistant à l'ENSV d'ALGER pour nous avoir fait l'immense honneur de s'intéresser à ce travail et pour sa participation à notre jury. Sincères gratitude.
- Mme **OUSLIMANI-REHAL S.** : Maître assistante à l'ENSV d'ALGER ; à laquelle nous exprimons notre gratitude pour son aide précieuse, sa bonté et sa disponibilité ; hommage respectueux.

Dédicaces

*Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous avoir guidés
vers le bon chemin,*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui
m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*A mes frères ; Issam , ishak Basem , Marouan, Karim, Younes, et A
mon unique sœur Kenza et ses enfants Rafif et Amira.*

*A ma femme Sarah : A toi qui prends si bien soin de moi, qui me
supporte et qui me faire rire. Pour tout l'Amour que tu me donnes.*

A tous mes amis de Sétif et Bourawi.

A mon binôme Mustapha.

Walid Kharkhache

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A la mémoire de mon **grand-père**.*

A mes chers parents, qui m'ont beaucoup aidé dans mes études, que dieu les protège.

A mes frères, mes sœurs et leurs conjoints

A tous mes amis qui ont fait preuve de courage et patience tout au long de ce travail :

Rabah, Youcef, Housseyn(térigo), Imad, Tarek, Rouger, Bacha, Assem, Djaafar, Djilali, Hamza, Bouzid sans oublier les gens de Sidi Belaabas.

A mon adorable binôme Walid.

A tous mes amis de Relizane.

Meftah Mustapha

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
ALAT : Alanine Amin transférase
ARN : Acide ribonucléique
ARNr : ARN ribosomique
ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay
EMJH : Milieu Ellinghausen-McCullough
Modifié par Johnson et Harris
GRAM : type de bactérie, positif ou négatif
IgG : Immunoglobuline G
IgM : Immunoglobuline M
IM : Intramusculaire
IV : Intraveineux
Kg: kilogramme
L: Valence vaccinale Leptospirose
LCR: Liquide céphalo-rachidien = LCS liquide
Cérébro-spinal
LPS: Lipopolysaccharide
MAT: Test d'agglutination microscopique
mg: Milligramme
ml: Millilitre
PCR : Polymérase chaine réaction
pH : Potentiel hydrogène
SC : sous cutané
UI: Unité internationale
X : multiplication

Liste des Photos :

Pages

Photo 01 : Uvéite.....	17
Photo 02 : Photophobie et œdème palpébral sur un cheval atteint d'uvéite.....	18
Photo 03 : Première période d'uvéite.....	20
Photo 04 : Coloration verdâtre sur un cheval atteint d'uvéite.....	21

Liste des Figures :

Pages

Figure 01 : Classification des Leptospires.....	03
Figure 02 : Représentation schématique d'un Leptospire.....	05
Figure 03 : <i>Leptospira interrogans</i>	05
Figure 04 : Pathogénie générale d'une infection leptospirosique.....	14
Figure 05 : Description de l'œil.....	19

SOMMAIRE :

INTRODUCTION

- I. Définition de la leptospirose
- II. Agent pathogène
- III. Taxonomie
- IV. Biologie des Leptospires
 - IV.1 Caractères morphologiques
 - IV.2 Caractéristiques métaboliques
 - IV.3 Cultures des leptospires
 - IV.4 Propriétés membranaires des Leptospires
- V. Epidémiologie
 - V.1 Répartition géographique
 - V.2 Résistance
 - V.3 Réservoirs
 - V.4 Sources et matières virulentes
 - V.5 Réceptivité et sensibilité
 - V.6 Mode de transmissions et voies de contaminations
 - V.6.1 Transmission directe
 - V.6.2 Transmission indirecte
- VI. Pathogénie
 - VI.1 Phase de pénétration
 - VI.2 Phase de multiplication et invasion
 - VI.3 Phase de localisation
 - VI.4 Phase d'excrétion
 - VI.5 Phase de guérison
- VII. Etude clinique
 - VII.1 chez l'homme
 - VII.2 chez le cheval
 - VII.2.1 Forme aiguë
 - VII.2.2 Forme subaiguë
 - VII.2.3 Forme oculaire
 - VII.2.4 Atteinte du tractus génital

VIII. Lésions

VIII.1 Lésions macroscopiques

VIII.1.1 Lésions oculaires

VIII.1.2 Lésions rénales

VIII.1.3 Lésions fœtales et placentaires

VIII.2 Lésions microscopiques

VIII.2.1 Lésions hépatiques

VIII.2.2 Lésions rénales

IX. Diagnostic

IX.1 Diagnostic clinique

IX.2 Diagnostic de laboratoire

IX.2.1 Méthodes directes

IX.2.1.1 Examen en microscope à fond noir

IX.2.1.2 Observation après coloration

A/ Imprégnation argentique

B/ Acridine orange

C/ Immunofluorescence

IX.2.1.3 Détection de l'ADN leptospirosique

A/ Principe

B/ PCR

IX.2.2 Méthodes indirectes

IX.2.2.1 Macroagglutination sur lame 'TR'

IX.2.2.2 Technique E.L.I.S.A

IX.2.2.3 Test d'Agglutination microscopique MAT

IX.2.2.4 Dot Blot

X. Moyens préventifs

X.1 Prophylaxie sanitaire

X.2 Prophylaxie médicale

XI. Traitements

CONCLUSION

Références bibliographiques

INTRODUCTION :

La leptospirose est une maladie infectieuse provoquée par une petite bactérie, le leptospire, qui appartient au genre *Leptospira*. Cette bactérie se transmet à l'Homme par contact direct ou indirect (le plus souvent via l'eau présente dans le milieu) avec un animal.

La contamination des chevaux par les leptospires n'est plus à prouver, en effet la leptospirose a été diagnostiquée chez les chevaux dans de nombreux pays ; la particularité de cette pathologie réside dans le fait que le cheval ne présente pas de signes pathognomoniques et peut donc être porteurs et excréteurs des leptospires sans pour autant manifester de signes.

Nous avons voulu à travers ce travail, faire un état des connaissances actuelles sur le sujet, en mettant l'accent sur les différentes méthodes de diagnostic ainsi que les moyens curatifs et préventifs.

I. Définition de la leptospirose :

Anthropozoonose de répartition mondiale, la leptospirose est une infection bactérienne qui revêt des formes très variables et d'intensités très différentes. Elle atteint les animaux domestiques et sauvages ainsi que l'homme, qui est fréquemment le révélateur d'une infection animale inapparente. (TRAP, 1988).

II. Agent pathogène :

La leptospirose est due aux leptospires qui sont des bactéries appartenant à l'ordre des *Spirochaetales*. Dans cet ordre, ils appartiennent à la famille des *Leptospiraceae* et dans cette famille, ils représentent le genre des *Leptospira*. Après certaines controverses dans le monde des bactériologistes, il a été admis grâce à l'étude des séquences des ARN ribosomiaux que le genre *Leptospira* constitue en soi un groupe entier dans la famille des *Leptospiraceae*. (AUBRY, 2012).

III. Taxonomie :

Avant 1989, on distinguait classiquement dans ce genre deux espèces regroupant divers souches :

- * *Leptospira biflexa* sensu lato, regroupant des souches saprophytes, non pathogènes.
- * *Leptospira interrogans* sensu lato, regroupant les souches pathogènes pour l'homme et/ou l'animal, et donc responsable de la leptospirose. (Voir figure 01) (AUBRY, 2012).

Il existe deux types de classifications :

Classification sérologique ou phénotypique :

Il s'agit de la classification la plus ancienne, datant des années 80, mais toujours la plus utilisée actuellement. Elle correspond à la notion de sérovars et sérogroupes.

Les leptospires sont répartis en sérovars, taxons de base. Un sérovar est une souche ou un groupe de souches se distinguant par un ou plusieurs antigènes à leur surface qui leurs sont propres. Ces antigènes provoquent la production d'anticorps agglutinants, non protecteurs qui sont à la base de la réaction sérologique.

L.interrogans rassemble environs 250 sérovars alors que *L.biflexa* n'en regroupe qu'une soixantaine.

Ces nombreux sérovars peuvent ensuite être rassemblés en sérogroupe. Un sérogroupe est un ensemble de souches qui portent des antigènes communs à leur surface, ainsi on peut regrouper les sérovars apparentés au sein d'un sérogroupe. les 250 sérovars de *L.interrogans* sont ainsi répartis en 25 sérogroupe. (AUBRY, 2012)

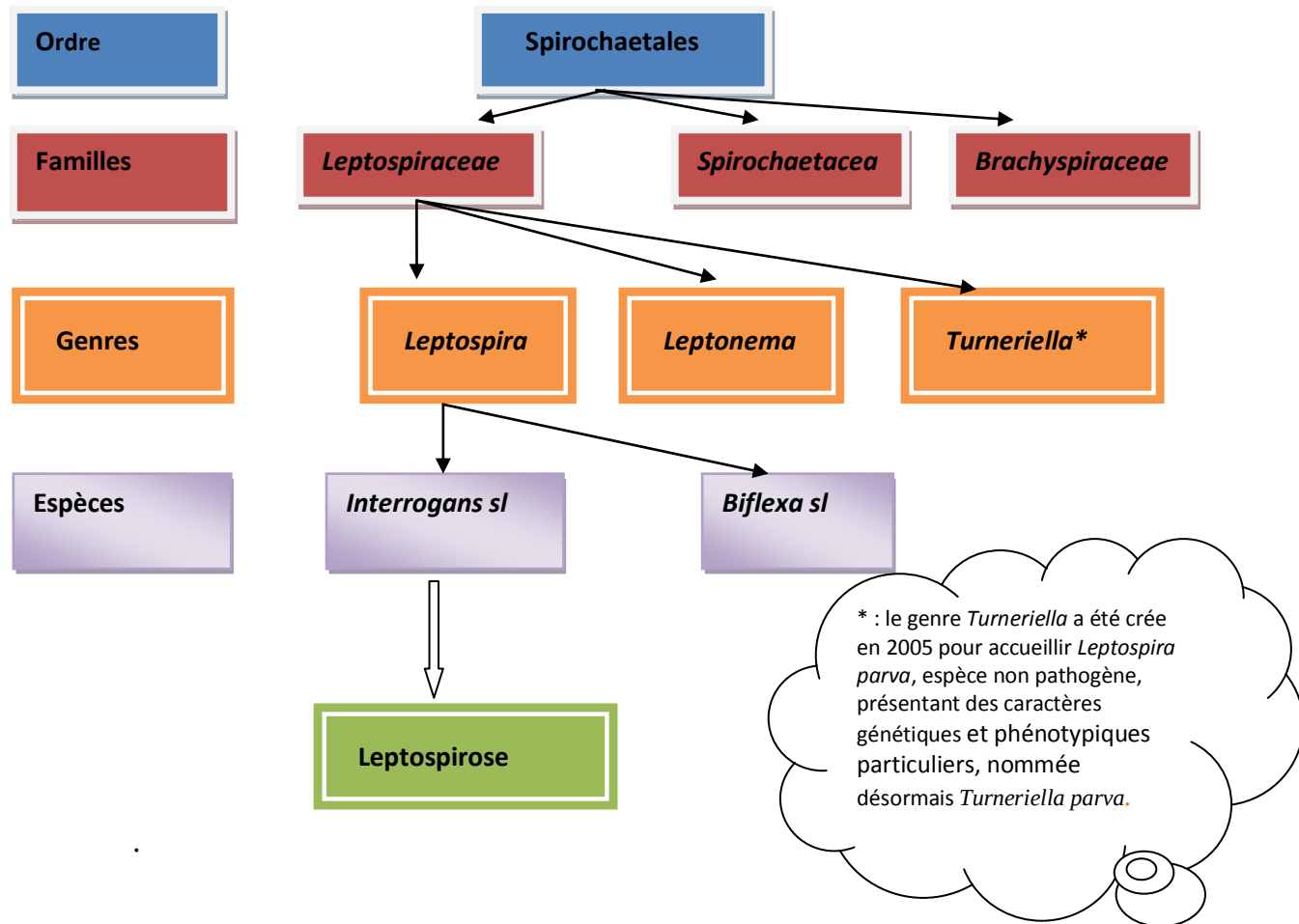


Figure 01 : classification des leptospires. (BONTEMPS, 2012).

Nouvelle classification ou génotypique :

Depuis 1987, des études d'hybridation ADN-ADN ont modifié radicalement la taxonomie des leptospires, les classant cette fois en génomospecies selon des critères génétiques. les génomospecies ou espèces génomiques sont des espèces déterminées par des méthodes génétiques.

Cependant ces espèces ne font pas clairement de distinction entre espèces pathogènes et non pathogènes, elles regroupent parfois des sérovars de *L.interrogans* et d'autres de *L.biflexa*. Il en découle donc que des sérovars pathogènes cohabitent avec des sérovars qui ne le sont pas, au sein d'une même espèce génomique. De plus cette classification peut séparer les souches d'un même sérovar dans plusieurs espèces génomiques différentes.

Ainsi on distingue 3 grands groupes de leptospires, les pathogènes (regroupant 9 espèces génomiques), les saprophytes (6 espèces génomiques) et les intermédiaires (5 espèces génomiques).

Cette classification génotypique, bien que très intéressantes se révèle totalement incompatible avec la classification sérologique précédente.

La classification en sérovars et sérogroupes reste la plus courante car elle apporte des informations notamment sur la clinique, l'épidémiologie.... (**BONTEMPS, 2012**) le sérovar *BRATISLAVA* (sérogroupe *AUSTRALIS*) est le plus souvent isolé chez le cheval

IV. Biologie des leptospires:

IV.1 Caractères morphologiques :

Le mot leptospire vient du grec « leptos » qui veut dire fin, grêle. Le terme « spira » signifie spire, tour. Les leptospires sont en effet des bactéries spiralées, hélicoïdales, extrêmement fines et flexibles (*voir figure 02*), caractérisées par leur faible diamètre de 0,1µm pour 6-20µm de longueur.

Le grand nombre, l'aspect très serré des spires orientées dans le sens des aiguilles d'une montre, et la présence au centre de la cellule de deux endoflagelles lui permettent une grande mobilité. (**BONTEMPS, 2012**).

On observe fréquemment la présence de crochets aux extrémités (*voir figure 03*). Une membrane extérieure, à triple feuillet, limite la cellule, tandis qu'une membrane cytoplasmique, également triple, entoure le cytoplasme.

En raison de leur faible diamètre cellulaire, les leptospires sont souvent visualisés au microscope à fond noir ou en contraste.

Toutes les espèces de leptospires ont une morphologie semblable avec des différences mineures ne permettant pas de distinguer, morphologiquement les espèces saprophytes des espèces pathogènes, ou mêmes les différentes souches pathogènes entre elles. (**LAMRANI ALLAOUI, 2008**).



Figure 02 : représentation schématique d'un leptospire

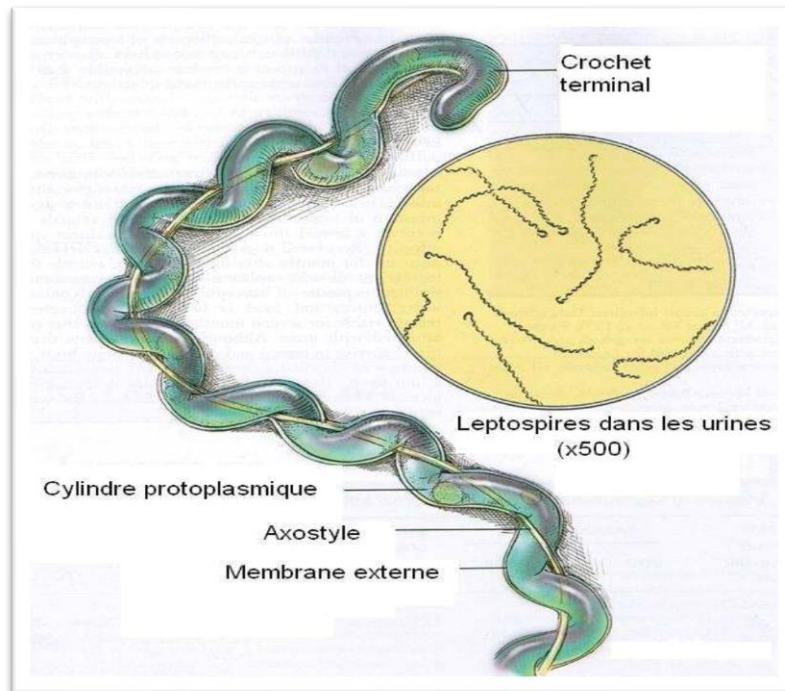


Figure 03 : *leptospira interrogans* d'après (BERCHE, 1989).

IV.2 Caractéristiques métaboliques :

Les leptospires sont des bactéries aérobies strictes, avec une température optimales de croissance de 28à30°C. Ils produisent des catalases et des oxydases et se développent dans des milieux enrichis avec des vitamines (B2 et B12 sont des facteurs de croissance), des acides gras à longues chaines, (LAMRANI ALLAOUI, 2008) et des sels d'ammonium, source d'azote, sous forme inorganique (BONTEMPS, 2012).

Les acides gras à longues chaines (et non les glucides) sont utilisés comme source unique de carbone et sont métabolisés par oxydation. (LAMRANI ALLAOUI, 2008).

IV.3 Culture des leptospires :

Les paramètres physico-chimiques doivent être les suivants ; une température optimale entre 28 et 32°C (mais croissance encore possible au-delà des 39°C), un pH stable entre 7.2 et 7.6, de l'obscurité et de l'oxygène mais pas trop (un agitateur magnétique peut être utile). Le temps de dédoublement se situe théoriquement entre 6 et 8h dans les meilleures conditions, du fait du temps de fission très long chez les leptospires pathogènes, mais couramment cela prend approximativement 16h. De plus, un temps de latence pouvant aller jusqu'à plusieurs jours avant le début de la croissance est souvent décrit. La culture est une étape nécessitant du temps et pouvant réclamer jusqu'à 16 semaines.

Une fois la croissance débutée, il faut veiller à ce que la concentration du milieu en leptospires ne soit pas excessive car cela engendre une lyse massive. Ainsi, il faut veiller à régulièrement réaliser des sous cultures (=repiquage) et des dilutions.

Concernant le milieu, il faut que tous les composés essentiels, cités précédemment, soient présents. Plusieurs milieux de cultures ont été décrits dans la littérature, notamment des milieux liquides contenant du sérum de lapin, mais le milieu le plus utilisé en pratique courante est l'EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris), milieu contenant de l'acide oléique et de l'albumine de sérum bovin. La culture de certaines souches peut cependant nécessiter un ajout de sérum de lapin ou de pyruvate. La contamination par d'autres bactéries est à éviter à tout prix. L'ajout de certains antibiotiques (néomycine...) ou de 5-fluorouracil sont ainsi souvent nécessaires. Des milieux sans protéines ont par la suite été utilisés pour permettre la production de vaccin. Le milieu peut être rendu semi-solide en rajoutant de l'agar à faible concentration, puis le stockage définitif se fera par lyophilisation ou congélation à -70°C. Des milieux solidifiés par de l'agar ou de la gomme Gellan permettent à la fois la croissance bactérienne, l'identification, la séparation de différentes cultures bactériennes et la visualisation de la production d'hémolysine. Le stockage des leptospires sur le long terme se fait également dans de l'azote liquide et constitue une méthode efficace pour conserver la virulence des souches. **(BONTEMPS, 2012).**

IV.4 Propriétés membranaires des leptospires.

Les leptospires présentent une double membrane typique, dont la composition en lipopolysaccharides de la membrane externe se rapproche des bactéries à GRAM négatif,

avec toutefois une activité endotoxique moins marquée (Par exemple, pour une souris, les LPS des leptospires sont environ 12 fois moins léthaux que ceux d'E.coli). Une certaine ressemblance aux bactéries à GRAM positif réside également car la couche de peptidoglycane est intimement associée à la membrane cytoplasmique. Ces bactéries sont ainsi sensibles à la plupart des antibiotiques, cependant elles ne prennent pas la coloration de GRAM.

Ces bactéries ne restent visibles que par microscopie à fond noir après coloration argentique ou épaissement artificiel par immunoperoxydase ou immunofluorescence. (BONTEMPS, 2012).

V. Epidémiologie :

V.1 Répartition géographique :

L'épidémiologie de la leptospirose est étroitement liée aux conditions hygrométriques. Les leptospires peuvent survivre très longtemps dans les eaux douces, pour peu que le pH soit neutre ou légèrement alcalin et la température élevée. La leptospirose a une répartition mondiale, touchant à la fois les pays industrialisés et ceux en voie de développement. L'incidence de la maladie est cependant plus élevée dans les régions tropicales où l'environnement est plus chaud et humide, propice à la survie des leptospires dans le milieu. Cette maladie présente un caractère saisonnier, avec un pic estivo-automnal en zones tempérées s'expliquant par les chaleurs et intempéries de cette période, et pendant la saison des pluies pour les régions plus chaudes. (HAS, 2010).

V.2 Résistance :

Qu'ils soient pathogènes ou saprophytes, les leptospires ont globalement besoin des mêmes conditions de vie au niveau nutriments, pH... Par contre, ils sont détruits par la dessiccation, la chaleur (56°C) (HAS, 2010), les UV avec une survie maximale de 6 heures (ILM, 2007), les pH acides ou extrêmement alcalins, les antiseptiques classiques et la congélation hormis des conditions bien précises (lors du stockage après mise en culture par exemple) (HAS, 2010).

V.3 Réservoirs:

Les leptospires saprophytes sont des organismes aquatiques, ils vivent à l'état libre dans des eaux plutôt stagnantes et n'utilisent pas nécessairement d'animal hôte dans leur cycle de vie. Ils se nourrissent de matière organique microscopique en décomposition dans l'eau et peuvent survivre et se reproduire n'importe où s'il y a de l'eau et de la matière organique convenable. Ils ne peuvent pas être responsables d'infections graves mais peuvent entraîner des tests positifs lors d'analyses de la sécurité de l'eau par exemple. La présence de ces leptospires dans l'eau n'apporte aucune indication sur l'impureté de cette eau ou la possible présence de leptospires pathogènes.

Les leptospires pathogènes ont besoin d'un hôte pour réaliser leur cycle de vie. Même lors de cultures en laboratoire dans des milieux appropriés, ils ne sont pas capables de donner une colonie stable dans le temps hors d'un hôte. Sans lui, ils ne peuvent se reproduire, même si quelques scissions binaires ont été déjà rapportées hors d'un hôte. Ces bactéries peuvent cependant survivre hors de l'hôte, si les conditions le permettent. Ainsi elles peuvent survivre plusieurs semaines dans des étendues d'eau stagnantes (égouts, marais, boues, étangs...), sans que leur nombre n'augmente. **(FISSOLO, 2012).**

Les animaux infectés, en temps que réservoirs (principalement les lapins, les rats et les hérissons), porteur latent ou malades, excrètent des leptospires essentiellement par voie urinaire. Les bactéries sont logées chez l'animal dans les tubules rénaux dans lesquels les bactéries sont ancrées à la paroi au moyen de leurs crochets, et aussi dans le tractus génital **(BOSCHAT-BOHIN, 2001).**

De nombreuses espèces animales peuvent être réservoirs pour plusieurs sérovars, certains auteurs citent les chevaux comme réservoirs de leptospires du sérotype *Australis* et plus particulièrement du sérovars *bratislava*. Cette notion de cheval réservoir est inexacte dans sa dénomination car par définition, un réservoir n'est pas atteint cliniquement par le portage ; or, le cheval est atteint cliniquement après un temps de portage et d'excrétion relativement long ; comme l'ont suggéré VALON F. et MOHAMMED H.O [VALON F. MOHAMMED H.O ; 2002] lors de la session leptospirose et ophtalmologie du congrès AVEF (association vétérinaire équine française) en 2002, il conviendrait plutôt dans ce cas d'évoquer le cheval comme porteur excréteur. **(FISSOLO, 2012).**

V.4 Sources et matières virulentes :

La source « originelle » des leptospires est principalement constituée par les urines d'animaux infectés. En effet, ces urines sont à l'origine de la contamination du milieu ; eau, sol etc. C'est à partir de ce milieu, dans lequel les leptospires ne font que survivre, que la plupart des hommes et animaux se contaminent. La contamination au contact direct d'un animal infecté est rare, cela se déroule généralement suite à l'émission d'urines contaminées conséquence d'une leptospirose avec atteinte rénale.

Il existe de très nombreux animaux susceptibles d'être infectés par les leptospires, dont environ 150 espèces de mammifères. Tout animal infecté est une possible source de contamination, cependant les leptospires sont censés disparaître de l'organisme par la suite, grâce à la réponse immunitaire mise en place par l'animal, et par un éventuel traitement.

Le vrai problème vient surtout des porteurs rénaux chez qui l'infection passe inaperçue, elle est asymptomatique, et pourtant il y a excrétion de leptospires dans les urines du fait de l'atteinte rénale chronique. Cette excrétion peut être intermittente ou continue et durer quelques mois jusqu'à des années voire toute une vie.

Le plus grand réservoir est ainsi représenté par certains rongeurs sauvages, porteurs sains mais excréteurs, notamment les rats et souris.

Du fait de leur présence massive en tout lieu de la planète, de la difficulté de les maîtriser, et surtout leurs capacités à excréter un grand nombre de leptospires dans leurs urines, les rongeurs constituent donc une source majeure d'infection (**ANDRE-FONTAINE, 2005**).

La présence des leptospires dans les urines n'est possible qu'à condition que les urines soient à pH neutre ou alcalin, les leptospires ne pouvant survivre dans les milieux acides. Ainsi les urines naturellement basiques comme chez les herbivores notamment les chevaux, ou les urines de carnivores principalement les chiens (normalement acides) alcalinisées par un régime alimentaire particulier ou lors d'affection rénale, présenteront un plus grand nombre de leptospires excrétés (**BONTEMPS, 2012**).

V.5 Réceptivité et sensibilité :

De nombreux animaux sauvages sont des réservoirs de leptospires. Ceci s'explique par le fait qu'ils sont réceptifs, c'est-à-dire qu'ils sont capables de multiplier le germe, et ce de

manière prépondérante. Dans certains cas ils ne sont pas sensibles à la maladie et ne manifeste donc aucuns signes ; les rats et les lapins en sont les meilleures exemples.

D'autres espèces, en plus d'être réceptives, sont sensibles aux leptospires et donc peuvent déclarer la maladie ; l'homme, les carnivores, les ruminants, les équidés, les suidés et autres, tant sauvages que domestiques. Ces animaux servent également de réservoirs, de manière plus ou moins efficace.

Chaque espèce peut être infectée par différents sérovars, cependant, selon les régions du monde, certains sérovars semblent être adaptés à leur hôte et l'infecter préférentiellement (BONTEMPS, 2012).

V.6 Mode de transmission et voies de contaminations :

Il existe deux modes de transmission de la leptospirose : une transmission directe et une transmission indirecte.

V.6.1 Transmission directe :

La principale matière virulente d'un animal réservoir ou d'un animal infecté par des leptospires est l'urine. la transmission directe par les urines souillées est une des principales voies de contamination qui touche à la fois les animaux mais également l'homme. les leptospires sont capables de traverser les muqueuses saines ou une peau comportant une micro-lesion. les animaux peuvent également être infectés par passage transplacentaire, par coït et par l'allaitement.

V.6.2 Transmission indirecte :

La transmission indirecte est réalisée lors d'un contact entre muqueuse saine ou une peau lésée avec un milieu extérieur préalablement souillé par des urines contaminées (FISSOLO, 2012).

VI. Pathogénie :

La connaissance de la pathogénie de la leptospirose est principalement basée sur l'étude des modèles d'animaux expérimentaux (cobaye, hamster mais pas sur la souris car elle est résistante). En effet, la virulence du germe décroît rapidement dans les conditions *in vitro* et le passage à un animal sensible est nécessaire à la conservation du pouvoir pathogène.

Un certain nombre de propriétés semblent jouer un rôle important dans la pathogénie **(FISSOLO, 2012)**.

Tout d'abord, *la morphologie et la mobilité* particulières des leptospires, leur permet de passer les barrières cutanées et muqueuses puis d'envahir le sang et les organes, même denses, comme l'humeur aqueuse ou l'humeur vitré. **(FAO/OMS, 2004)**.

L'effet direct du LPS (activité endotoxinique controversée), et d'autres toxines comme des hémolysines et des lipases, sur les tissus de l'animal infecté. En effet, l'hémolyse est causée par des phospholipases ; la phospholipase A commune à toutes les leptospires pathogènes ou non, et la sphingomyélinase C retrouvée chez certaines souches pathogènes, comme *Leptospira interrogans*. Cette sphingomyélinase jouerait également un rôle dans la libération et l'obtention du fer et des acides gras, nécessaires aux leptospires, après avoir lysé les érythrocytes ou d'autres cellules. De plus les produits de dégradation des sphingomyélinases pourraient avoir un rôle en tant que second messenger **(FAO/OMS, 2004)**.

Il a été montré que les espèces pathogènes avaient l'incroyable capacité d'adhérer fortement aux cellules animales, notamment au niveau des tubules rénaux.

L'infection leptospirosique d'un cheval peut être décrite en cinq parties : une phase de pénétration, une phase de multiplication et d'invasion, une phase de localisation, une phase d'excrétion et une phase de guérison **(VALON, 1998)**.

VI.1 Phase de pénétration :

La phase de pénétration est la phase durant laquelle l'équidé se contamine. L'entrée des leptospires peut s'effectuer à travers les muqueuses saines (muqueuses digestives, génitales, conjonctives et naso-pharyngiennes) ou à travers une peau lésée.

Des micro-lésions sont suffisantes pour la pénétration des leptospires en raison de leur faible taille. Ainsi, lors de dermites du paturon ou du canon ou lorsque la peau est amenée à macérer dans de l'eau, de la boue, ou dans la sueur, le cheval peut se contaminer. Aucune lésion des muqueuses ou cutanée ne résulte suite à l'entrée de ces bactéries dans le corps **(VALON, 1998)**.

VI.2 Phase de multiplication et d'invasion :

La phase de multiplication et d'invasion est immédiate après la phase de pénétration. Lors de cette phase, les bactéries se multiplient dans le torrent sanguin par lequel elles sont véhiculées ; cette phase correspond à la bactériémie. Elle intervient entre le 2^{ème} et le 10^{ème} jour après l'entrée des bactéries dans le corps (**VALON, 1998**).

Le développement de l'infection est alors régi par divers facteurs comme l'appartenance des leptospires impliqués à un séroroupe pathogène, la virulence du ou des sérovars incriminés mais également le statut immunitaire de l'équidé atteint (**FISSOLO, 2012**).

Cette phase comporte également une notion d'invasion car les leptospires commencent à atteindre des organes cibles comme le rein (**VALON, 1998**).

VI.3 Phase de localisation :

La phase de localisation intervient lorsque le système immunitaire de l'hôte n'est pas capable de juguler l'infection. Les leptospires quittent le sang et envahissent massivement les tissus.

L'infection peut persister même lorsque les anticorps circulants sont opérationnels. En effet, les leptospires vont se localiser dans des tissus immunologiquement protégés. Parmi ces localisations se trouvent les tubules rénaux, les yeux, la lumière utérine, le système nerveux central et notamment les méninges et l'encéphale (**FISSOLOS, 2012**).

VI.4 Phase d'excrétion :

Lors de la phase d'excrétion, il y a dissémination des leptospires dans l'environnement. Elle débute en générale vers le 10^{ème} jour après l'entrée des bactéries dans le corps mais dans certains cas, cette phase peut débuter dès le 3^{ème} jour.

La durée de persistance des bactéries dans ces tissus est fonction de l'adaptation entre l'hôte et le sérovar ; au moins l'hôte est adapté, au plus l'excrétion sera brève. En cas d'adaptation entre l'hôte et le sérovar, cette phase peut perdurer pendant toute la vie de l'animal.

Durant la leptospirémie, toutes les sécrétions du corps sont virulentes. Pendant la phase chronique, l'élimination est essentiellement urinaire. Cependant, il faut noter que chez les porteurs chroniques, on peut parfois assister à une nouvelle leptospirémie correspondant à une phase de multiplication secondaire (FISSOLOS ,2012).

VI.5 Phase de guérison :

La dernière phase de l'infection leptospirosique est la phase de guérison. Cette phase peut être plus ou moins longue à être initiée. Elle est sous la dépendance de nombreux facteurs reposant autant sur la virulence de sérovar incriminé et de son importance quantitative ainsi que sur les capacités immunitaires de l'organisme infecté (VALON, 1998) (*voir figure 04*).

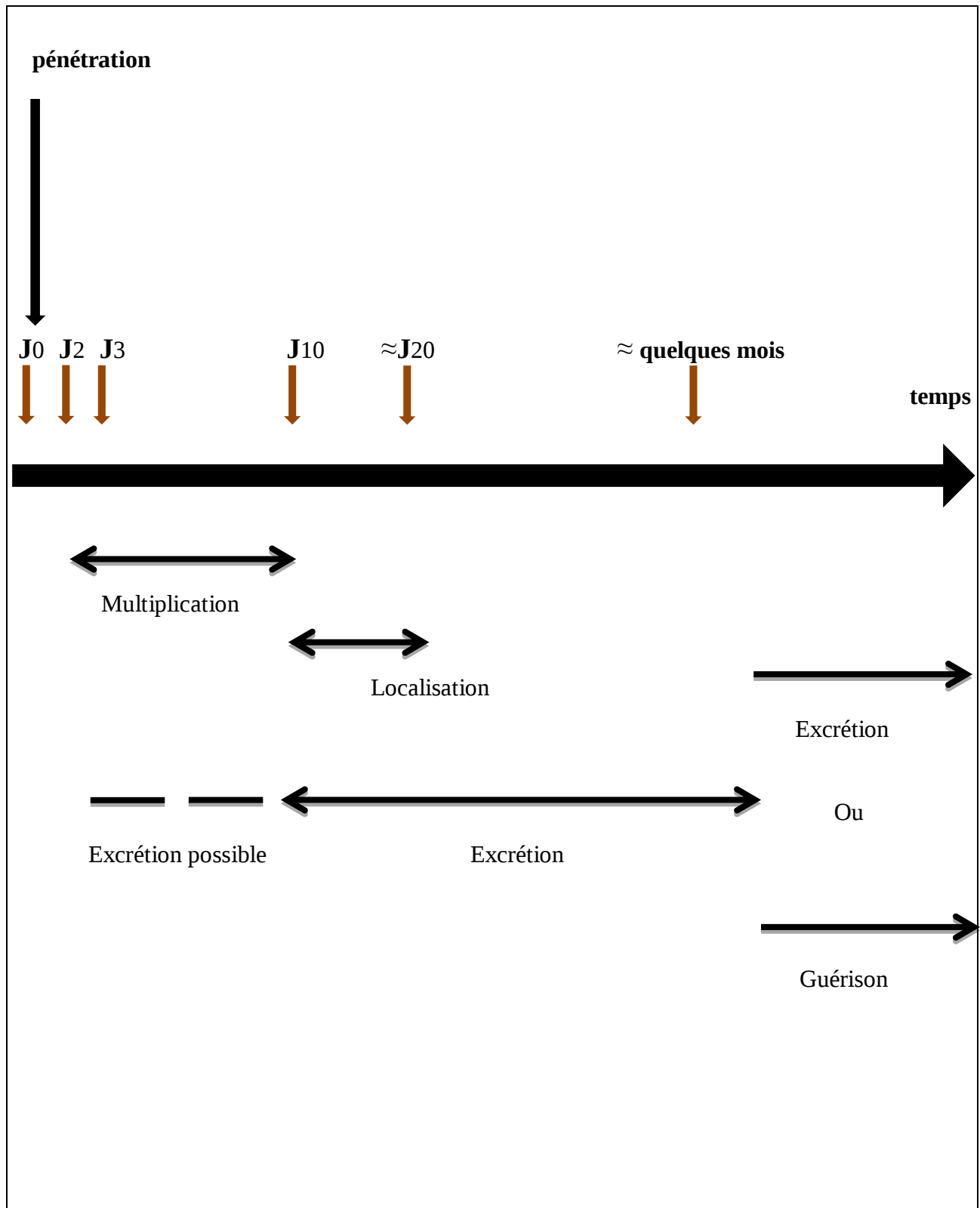


Figure 04 : pathogénie générale d'une infection leptospirosique. (FISSOLO, 2012).

VII. Etude clinique :

VII.1 Chez l'homme :

Chez l'homme, les leptospiroses sont principalement des zoonoses professionnelles ou des zoonoses de loisir.

Les maladies professionnelles sont observées chez des individus en contact direct avec le germe (personnel de laboratoire), chez des individus en contact avec des animaux infectés ou leurs organes et chez des individus travaillant dans un environnement contaminé par l'urine des animaux infectés.

L'homme est sensible à tous les sérovars de *Leptospira interrogans sensu lato* et 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 toutefois, les sérovars *hardjo*, *grippotyphosa* ou *pomona* et surtout les sérovars *icterohaemorrhagiae*, *copenhageni* et *bataviae* sont réputés plus pathogènes. Aucun syndrome clinique particulier ne peut être rattaché à tel ou tel sérovar et la leptospirose de l'homme est typiquement une maladie biphasique. Dans une première phase, qualifiée de leptospirémique, les symptômes apparaissent brutalement : fièvre, céphalée, myalgies, éventuellement des signes digestifs ou respiratoires. Après une amélioration de l'état général, la seconde phase ou phase immune, coïncide avec l'apparition des anticorps et elle donne lieu à des signes cliniques variés.

La forme ictérique sévère (maladie de Weil) est relativement rare (environ 5% des cas).

Elle débute par un tableau septicémique (fièvre élevée, céphalées, prostration, troubles de la conscience, ...) puis la fièvre commence à diminuer vers le 5^{ème} jour.

La deuxième phase, au cours de laquelle apparaissent les anticorps (vers le 10^{ème} jour), est caractérisée par une insuffisance rénale, des hémorragies diffuses, une atteinte hépatique (avec parfois un ictère flamboyant), un rash cutané, des signes méningés et myocardiques.

L'ictère disparaît progressivement entre le 15^{ème} et le 25^{ème} jour et cette disparition peut être accompagnée d'une remontée thermique. Le taux de mortalité qui varie entre 15 et 40% et dépend des moyens de réanimation disponibles.

Les formes non ictériques sont très diverses : syndrome grippal avec atteintes multiviscérales, syndrome hémorragique, atteinte neuro-méningée, insuffisances rénales, atteintes respiratoires avec hémorragies pulmonaires, simple malaise général avec fièvre et myalgies, ...

L'évolution peut être bénigne ou conduire à la mort. Des complications oculaires telles que uvéite, irido-cyclite, kératite, rétinite hémorragique, peuvent provoquer une cécité (**BARANTON et POSTIC, 1989**).

VII.2 Chez le Cheval :

Nous pouvons citer les formes aiguës, subaiguës en fonction des sérovars en cause, de l'état de résistance des animaux, etc.

Mais aussi les symptômes liés à l'atteinte de certains organes : tractus génital, système urinaire et système oculaire (**GROSBOIS et al., 2011**).

VII.2.1 Forme aiguë :

Après une courte incubation (2 à 4 jours) on note une brusque hyperthermie (40,5 à 41°C) accompagnée d'une anorexie, de léthargie et d'une forte dyspnée. Très rapidement ces premiers signes cliniques s'accompagnent de perturbations de l'hémogramme: thrombocytopénie, anémie, leucocytose, élévation du fibrinogène. Dans certains cas on peut observer de l'hémoglobininurie associée à de l'ictère pendant 2 à 4 jours. Dans d'autres cas des pétéchies ou des suffusions apparaissent au niveau des muqueuses conjonctivales, génitales et buccales. Des troubles nerveux (ataxie, troubles de la démarche, etc.) peuvent également survenir lors d'atteinte du système nerveux centrale.

VII.2.2 Forme subaiguë :

L'infection par les leptospires ne s'accompagne pas toujours de symptômes caractéristiques. Légère hyperthermie, baisse des performances, appétit modifié, légère asthénie sont parfois les seuls troubles observés. A noter également l'apparition d'un ictère.

Dans toutes les formes cliniques décrites, on peut observer une excrétion urinaire des leptospires pendant des périodes relativement longues (jusqu'à 3/4 mois). Les animaux infectés, même sans symptomatologie marquée, représentent une source non négligeable de contamination pour les autres chevaux de l'effectif (**GROSBOIS et al., 2011**)

VII2.3 Forme oculaire :

Dans un premier temps suspectée, puis longtemps controversée, on sait aujourd'hui avec certitude que l'une des manifestations cliniques de la leptospirose chez les équidés est l'apparition d'une uvéite récurrente ou d'une kératite à médiation immune. ces deux pathologies se manifestent dans la plupart des cas des mois après l'infection (**BEGON, 2003**). (Voir photo 01).



Photo 01 : Uvéite (www.1cheval.com)

Cette uvéite peut se manifester de manière récurrente ou périodique (d'où l'ancienne appellation de " Fluxion périodique"). Il a été démontré que des leptospiroses expérimentales aussi bien que naturelles ont été suivies 12 à 24 mois plus tard par de l'uvéite

Les premiers signes cliniques sont de l'épiphora, un blépharospasme, de la photophobie, du myosis et un œdème cornéen et palpébral. La conjonctive est très enflammée et on note une hypertrophie des vaisseaux peri-cornéens (voir photo 02).



Photo 02 : *photophobie et œdème palpébral sur un cheval atteint d'uvéïte*
(www.1cheval.com)

Un examen plus complet de l'œil permet d'apercevoir des synéchies dans la chambre antérieure de l'œil (adhésion de l'iris à la cornée), bien que ces lésions soient plus fréquemment observées lors de récurrences. Les synéchies de la chambre postérieure (adhésion du cristallin à l'iris) sont plus rarement observées. Une rémission de ces signes oculaires aigus survient le plus souvent pour réapparaître quelques mois plus tard. A la longue on note une microphthalmie, une baisse de la tonométrie, une opacification du cristallin, une dépigmentation de la rétine en forme d'aile de papillon autour du nerf optique. (Voir figure 05).

L'évolution vers la cécité est souvent de règle.

Cette irido-cyclite est le résultat de la formation d'immun-complexes au niveau de la chambre antérieure de l'œil. Des pauci-recontaminations par des leptospires viendraient aggraver ce processus auto-immun et seraient responsables de l'aspect récidivant de cette affection. Bien que d'autres facteurs étiologiques (*Onchocerca* spp) puissent être à l'origine d'ophtalmies périodiques, la mise en évidence de *Leptospira* dans la chambre antérieure de

l'œil par PCR s'avère positive dans plus de 80% des cas de fluxion périodique (**BEGON, 2003**). Les sérotypes impliqués dans cette infection persistante sont le plus souvent *L. pomona*, *L. grippotyphosa*, ou *L. australis* (**AMORY et PITEL, 2007**).

Nous pouvons noter également d'autres signes oculaires à savoir :

Une tuméfaction des paupières ainsi qu'une congestion des muqueuses conjonctivales

Un myosis et une coloration grisâtre de l'iris peuvent également être observés.

(**DOLGOPOLOFF, 1986**).

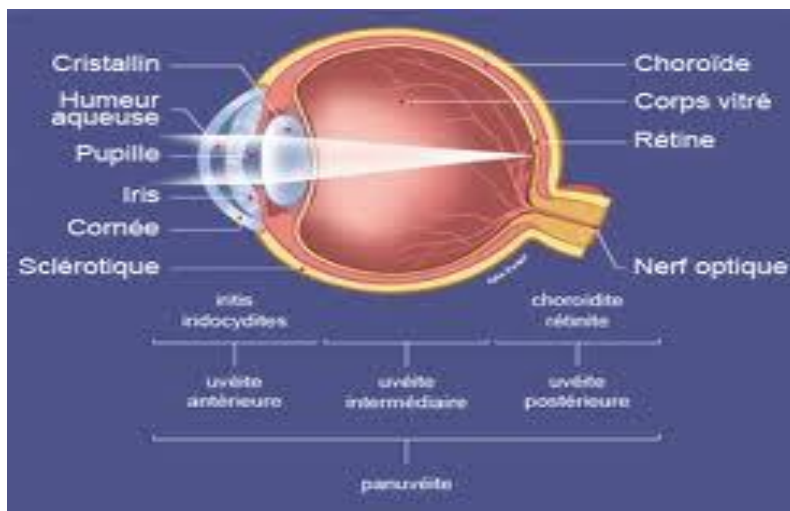


Figure 05 : Description de l'œil (www.1cheval.com)

VII.2.4 Atteinte du tractus génital :

Les juments infectées ne présentent généralement pas de signes cliniques prémonitoires à l'avortement ou à l'expulsion, à terme d'un poulain mort-né. Elles ont souvent un titre sérique élevé en anticorps correspondant à un ou plusieurs sérovars de leptospires. L'avortement survient tardivement, entre le 6ème mois et le terme de la gestation. Parfois, la jument infectée met bas un poulain vivant, prématuré voire à terme. Ces poulains infectés in utero sont généralement faibles et ictériques et ne peuvent survivre qu'à la faveur d'une réanimation associant des antibiotiques adaptés (**VALON et CHAFFAUX, 2009**).

La jument est-elle infectée permanente ou accidentelle? La réponse semble dépendre, en fait, du sérogroupe (groupe de sérovars). On remarque par exemple pour le sérovars

Bratislava (séro groupe *australis*) une certaine adaptation à l'espèce équine qui se traduit par une très forte réceptivité et une faible sensibilité des chevaux. Cette hypothèse se fonde sur la séroprévalence très élevée des anticorps *Bratislava* dans différentes populations équines du monde entier. Dans ce cas, la transmission serait avant tout directe par contact avec l'urine infectée d'un congénère ou par voie vénérienne. L'animal resterait porteur toute sa vie, souvent de manière asymptomatique.

En revanche, les études menées en Amérique du Nord montrent que la majorité des juments qui avortent sont infectées par d'autres sérogroupes provenant d'autres espèces animales.

Les juments doivent donc, dans ce cas, être considérées comme des infectées accidentelles. L'excrétion des leptospires dans les urines est alors plus ou moins limitée dans le temps. Elle est cependant souvent supérieure à quelques semaines, rendant la contagion entre animaux possible pendant cette période. Pour ces sérogroupes, la maladie est initialement transmise de manière indirecte par contact avec de l'urine d'hôtes infectés permanents (vache, rongeurs...) (TRUFFERT, 2009).

VIII. Lésions :

VIII.1 Lésions macroscopiques :

VIII.1.1 Lésions oculaires :

***première période (3 à 5 jours)**

La cornée prend une teinte blanchâtre

L'iris prend une coloration grisâtre (Voir photo 3).



Photo 03 : Première période d'uvéite

***deuxième période (3 à 5 jours)**

La cornée reprend partiellement sa transparence

L'humeur aqueuse reprend sa transparence

Coloration jaune verdâtre de l'iris (*Voir photo 04*)



Photo 04 : coloration verdâtre sur un cheval atteint d'uvéite

***troisième période (6 à 10 jours)**

La cornée redevient transparente

L'iris reprend une teinte normale. (DOLGOPOLOFF, 1986)

VIII.1.2 Lésions rénales :

Une hypertrophie rénale bilatérale est souvent observée chez les chevaux atteints de leptospirose (FISSOLO, 2012).

VIII.1.3 Lésions fœtales et placentaires :

Chez le fœtus, le foie est décoloré de couleur jaune avec une nécrose multifocale.

La taille et la forme du foie sont normales.

Le cordon ombilical présente une inflammation et il est également de couleur jaune.

Les poulains atteints d'une leptospirose par contamination intra-utérine présentent dès la naissance un ictère, des autopsies ont révélé un foie friable avec une congestion et une hypertrophie des reins et de la rate. L'ictère est généralisé à l'ensemble des organes et de nombreuses hémorragies sont présentes.

Le poulain peut également manifester une hématurie (**FISSOLO, 2012**).

Chez la femelle on retrouve des lésions de dégénérescence de l'épithélium placentaire (**DOLGOPOLOFF, 1986**).

VIII.2 Lésions microscopiques :

VIII.2.1 Lésions hépatiques :

- * Foie congestionné.
- * Présence de foyers de nécrose.
- * Vacuolisation (discrète) du cytoplasme.
- * Infiltration avec dégénérescence cellulaire.

VIII.2.2 Lésions rénales :

- * Congestion des reins.
- * Aspect dégénératif et hémorragique de la médullaire (**DOLGOPOLOFF, 1986**).
- * Néphrite tubulo-interstitielle sous jacente (**FISSOLOS ,2012**).

IX. Diagnostic :

IX.1 Diagnostic clinique :

Impossible dans les formes inapparentes, il ne peut être envisagé que pour les formes cliniques.

Le diagnostic clinique est difficile à établir du fait de la très grande variabilité des signes cliniques et de l'aspect sporadique que prend le plus souvent la maladie. (**DOLGOPOLOFF, 1986**).

Les signes qui doivent retenir l'attention et entraîner la suspicion, même lorsqu'ils apparaissent isolément sont :

Les atteintes oculaires avec essentiellement l'opacification de la cornée associée à une tuméfaction des paupières et un larmolement abondant (**DOLGOPOLOFF, 1986**).

Les avortements en particulier dans le dernier tiers de la gestation et précédé quelques semaines auparavant par de la faiblesse de l'hyperthermie et des troubles de la locomotion. A noter que si l'avortement se produit tard dans la gestation et si le poulain survit, ce dernier montre en générale de la faiblesse et de l'ictère (**AMORY et PITEL, 2007**).

L'ictère et les atteintes rénales : ces dernières peuvent se traduire par de l'anurie ou oligurie et hémoglobinurie (**DOLGOPOLOFF, 1986**).

IX.2 Diagnostic de laboratoire :

IX.2.1 Méthodes directes :

Les méthodes de diagnostic direct nécessitent l'isolement des leptospires à partir de milieux biologiques issus de l'animal infecté. Ces prélèvements bactériologiques doivent être effectués selon les règles de l'asepsie afin de ne pas contaminer le prélèvement et avant toute antibiothérapie. Leur transport doit être rapide, afin que l'ensemencement soit réalisé moins de 6 heures après le prélèvement, et avec un conditionnement permettant la réfrigération et non la congélation . Le vétérinaire doit se protéger contre cette zoonose, et l'utilisation de gants lors des prélèvements est donc recommandée.

Les tissus issus d'un cadavre, préférentiellement rénaux, doivent être prélevés aseptiquement et conditionnés avec l'adjonction d'une solution d'albumine sérique d'origine bovine.

Pour le sang, un tube sec est utilisé si l'ensemencement est immédiat, sinon on utilise un tube hépariné (15 à 20 U.I.). Cette prise de sang n'a d'intérêt que dans les 10 premiers jours de la maladie car la phase septicémique n'est présente que pendant cette période.

L'urine ne doit être prélevée qu'à partir de la deuxième semaine d'évolution et sur un laps de temps de 30 jours. Si l'ensemencement n'est pas pratiqué immédiatement, l'urine doit être réfrigérée à 4°C. (**BOSCHAT-BOHIN, 2001**).

IX.2.1.1 Examen en microscope à fond noir :

Utiliser pour l'observation microscopique des leptospires, un microscope pourvu d'un condenseur à fond noir, d'ouverture 0.6-0.9 qui permet une observation avec des objectifs à sec. Ce procédé présente une commodité et une sécurité d'utilisation très satisfaisante. **(BARANTON et POSTIC, 1989).**

Pour réaliser cet examen, le sang doit subir une double centrifugation : une première centrifugation de 1000 tours par minute pendant 10 minutes puis une deuxième centrifugation à 4000 tours par minute pendant 20 minutes. Les urines ou le liquide céphalo rachidien peuvent être également centrifugés. Le liquide prélevé pour observation doit être le plus proche possible du culot de centrifugation qui est la zone de concentration des leptospires.

Cette technique présente cependant de nombreuses difficultés :

- Elle nécessite un prélèvement très frais,
- Son seuil de détection est élevé (10^4 bactéries par ml.) ce qui diminue sa sensibilité,
- Elle ne permet pas de différencier les leptospires pathogènes des leptospires saprophytes,
- Elle est dépendante de l'excrétion des leptospires.

Pour l'ensemble de ces raisons, cet examen est plus à considérer comme un examen d'orientation et doit toujours être confirmé par une culture bactériologique. Il est rarement pratiqué sur le terrain **(FISSOLO, 2012).**

IX.2.1.2 Observation après coloration :

L'observation après coloration est une autre technique d'observation directe. Il existe trois grandes techniques de coloration : **(FISSOLO, 2012).**

A/ Imprégnation argentique :

Des colorations dérivées des techniques de Dieterle et de Warthin-Starry sont utilisées pour la détection des spirochètes dans les tissus .l'imprégnation argentique repose sur les propriétés réductrices de la surface des leptospires et autres spirochètes ; mais certains éléments tissulaires peuvent également être argyrophiles .Les spirochètes apparaissent en noir sur un fond pale ou incolore.

Cette méthode a les mêmes défauts de sensibilité et de spécificité que la microscopie en

fond noir, les résultats sont peu satisfaisants et l'utilisation en pratique courante est réduite. Son intérêt est limité à la mise en évidence des leptospires sur des échantillons pathologiques déjà fixés ou inclus dans la paraffine. (**BARANTON et POSTIC, 1989**).

B/ Acridine orange :

La coloration à l'acridine orange à l'avantage d'avoir un protocole de réalisation assez simple. Le prélèvement est disposé sur une lame puis fixé à l'éthanol. Cette lame est ensuite colorée pendant 2 minutes à l'aide d'un mélange contenant 10 mg d'acridine orange et 100 ml de tampon acétate pH 3,5.

La lame peut alors être observée à l'aide d'un microscope à fluorescence et d'un objectif à immersion. Cette technique met en évidence la morphologie des leptospires (**FISSOLO, 2012**).

C/ Immunofluorescence :

Les frottis tissulaires et les coupes histologiques peuvent être examinés par cette méthode. Les frottis et les empreintes doivent être fixés dans l'acétone ou l'éthanol absolu (travailler sous hotte aspirante).

Les coupes histologiques sont fixées au formol ; les rincer à l'ammoniac pour neutraliser le formol avant l'application de l'antisérum et du conjugué fluorescent.

Utiliser une lampe à vapeur de mercure avec un condenseur à fond noir, associer un objectif 40x ou 60x à un oculaire 10x.

L'intensité de la fluorescence est appréciée subjectivement par rapport à une culture positive utilisée comme témoin. (**BARANTON et POSTIC, 1989**).

IX.2.1.3 Détection de l'ADN leptospirosique :

A. Principe :

L'ADN leptospirosique issu des prélèvements infectés est mis en évidence par une sonde molécule capable de reconnaître avec précision cet ADN et de le révéler grâce à son marquage.

Trois types de sondes ont été utilisées afin de détecter l'ADN leptospirosique :

- L'ADN chromosomique marqué et dénaturé.
- Des fragments d'ADN clonés avec des fragments connus ou inconnus.
- Une sonde d'oligonucléotides.

L'intérêt de cette technique tient à sa rapidité, mais l'inconvénient majeur porte sur sa sensibilité qui varie en fonction de la séquence d'ADN utilisée dans la sonde (séquences d'ADN répétitives, séquences spécifiques du génotype, et du type de prélèvements). Afin d'augmenter sa sensibilité, l'hybridation est précédée de la P.C.R. (**BOSCHAT-BOHIN, 2001**).

B. P.C.R. (Polymerase Chain Reaction) :

L'amplification génique par polymérase Chain réaction dite PCR est une technique découverte en 1983 par Kary MULLIS. Elle fera l'objet du prix Nobel de chimie en 1993. Son but est de synthétiser in vitro une séquence d'acides désoxyribonucléiques (ADN) afin de pouvoir la visualiser alors que le prélèvement initial contient une quantité de matériel génétique insuffisante (**FISSELO, 2012**).

Le principe consiste à faire rechercher le brin d'ADN que l'on veut multiplier et son brin complémentaire par deux amorces (polynucléotide de quelques nucléotides, complémentaire d'un locus en amont et proche du locus à multiplier), chacune spécifique à un des brins. Lorsque l'amorce est fixée sur le brin, l'enzyme capable de lire le brin d'ADN (ADN polymérase) peut se fixer sur l'amorce et commencer à lire le brin. Au fur et à mesure de la lecture, l'enzyme est capable de polymériser le brin complémentaire, si elle est en présence de nucléotides utilisables pour la formation du brin complémentaire ou brin hybride.

La séquence d'ADN à polymériser doit être la plus représentative de la phylogénie bactérienne et la plus stable possible. Ce n'est pas une séquence d'ADN codant pour une protéine mais pour un acide nucléique ribosomal. La technique P.C.R. semble être la technique d'avenir pour le diagnostic de leptospirose : rapidité, sensibilité et simplicité (**Freney et al., 2007**).

Elle permet un diagnostic direct (sang, LCR ou urines) dès le premier jour de la maladie. Elle se négative rapidement, vers le 10^{ème} jour (**AUBRY, 2012**).

IX.2.2 Méthodes indirectes:

IX.2.2.1 Macroagglutination sur lame ou épreuve à l'antigène 'TR':

Le TR est l'un des premiers tests à se positiver en cas de leptospirose. (**BARANTON et POSTIC, 1989**).

Le principe consiste à rechercher les éventuels anticorps antileptospirosiques produits par l'animal suspecté d'atteinte leptospirosique, à l'aide d'un antigène préparé et commun à tous les leptospires. Pour cela on met en contact sur une lame, une goutte de sérum dilué de l'animal suspect et une goutte d'une solution contenant des antigènes thermorésistants (dit TR) préparée à partir d'une souche aquicole, *Leptospira biflexa* souche *patoc*. Si le sérum contient des anticorps antileptospirosiques, ceux-ci se fixent sur les bactéries, provoquant une agglutination macroscopique, visible à l'œil nu. C'est la technique indirecte la plus précoce : Les complexes antigènes-anticorps agglutinent 8 jours après le début des symptômes. Cependant cette technique est de faible sensibilité et de faible spécificité. De plus cette réaction ne détecte que les anticorps de type IgM, produits précocement mais sur une courte durée (quelques mois), rendant cette technique inutilisable lors de maladie chronique. C'est pourquoi elle n'est pas très utilisée en médecine vétérinaire (**BOSCHAT-BOHIN, 2001**).

IX.2.2.2. Technique E.L.I.S.A :

Technique immunoenzymatique de détection des antigènes. Elle utilise une microplaque sensibilisée avec des antigènes de leptospires. La sensibilité est de 97,2%, la spécificité de 99,1% (**AUBRY, 2012**).

Après incubation, lavage, l'antiglobuline marquée par une enzyme est ajoutée (anticorps anti-IgM couplés à une peroxydase). Puis le substrat chromogène est ajouté (ABTS, H_2O_2). La quantité de substrat oxydé, appréciée par l'intensité de la réaction colorée, est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans le sérum testé.

Ce test détecte qualitativement les anticorps de type IgM et IgG dans les sérums. En effet, les IgM sont produites par l'organisme dès la période d'incubation de la maladie pour atteindre un maximum la première semaine des signes cliniques et décroître jusqu'au deuxième mois post-infection, alors que les IgG ne sont détectables que quelques semaines après le début de l'infection pour atteindre le même titre que les

IgM deux à trois mois post-infection. Ceci permet de différencier une leptospirose aiguë d'une leptospirose chronique. Cette réaction est simple, rapide, sensible et spécifique (**BOSCHAT-BOHIN, 2001**).

IX.2.2.3. Test d'agglutination microscopique (ou M.A.T.) :

Le test MAT est la technique sérologique de référence pour le diagnostic de la leptospirose. Le principe de cette technique consiste à incuber le sérum du cheval avec différentes souches de leptospires. L'agglutination est visualisée au microscope à fond noir avec différentes dilutions (**HAS, 2010**).

Le degré d'agglutination d'une culture de leptospires, par des sérums hyper immuns de lapin, produits contre des souches de référence, utilisés à des dilutions croissantes. Pour une dilution donnée, le test est positif si moins de 50% des leptospires restent libres par rapport à un témoin négatif.

Dans le cas d'un diagnostic indirect, le sérum à tester est mis au contact de différentes souches de leptospires vivants, et mis en incubation. Si l'animal a déjà été en contact avec les antigènes d'une de ces souches, ses anticorps (IgM en début d'infection puis IgG) spécifiques de la souche contaminant agglutinent les leptospires correspondants. Après réaction, chaque test est lu au microscope à fond noir. La lecture est subjective, elle est aidée par la comparaison avec des sérums témoins. Comme pour le test de référence, la réaction est dite positive si moins de 50% des leptospires restent libres par rapport au témoin négatif. Afin de quantifier la réaction, le sérum est dilué de deux en deux, chaque dilution subit la MAT pour chaque souche, et le titre est défini comme étant la dilution de sérum maximale (donc la concentration en anticorps la plus faible) pour laquelle moins de 50% des leptospires restent libres. Pour l'espèce canine, le titre pour une souche donnée est dit significatif, c'est à dire représentatif d'un contact antérieur entre l'animal et le sérovar si celui-ci est égal ou supérieur à 80.

La réaction ne permet pas de différencier, pour un sérotype utilisé en vaccination, les anticorps issus de la vaccination et ceux issus d'un contact avec une souche sauvage.

Ce diagnostic n'est possible que 10 à 12 jours après le début des symptômes, et le délai s'allonge si :

- l'animal a reçu une antibiothérapie précoce, car la pression d'infection étant moins forte les lymphocytes T, activateurs de la réaction immunitaire, ne sont pas stimulés.

- Inversement, la réaction immunitaire sera plus précoce si l'animal a déjà été en contact préalablement avec les antigènes de la souche (vaccination ou infection).

Les anticorps agglutinants appartiennent à la classe des IgM au début de l'infection (décelables dès la première semaine de signes cliniques) et aussi à la classe des IgG par la suite (quelques semaines après l'infection). **(BOSCHAT-BOHIN, 2001).**

IX.2.2.4 Dot blot :

Cette méthode de diagnostic indirect mise au point par l'équipe de Mme ANDRE-FONTAINE G. et présentée lors de la 26^{ème} Journée de Recherche Equine en 2000 a été développée uniquement pour les chevaux afin de palier aux problèmes spécifiques d'interprétation de la MAT chez les équidés. Son but est la mise en évidence d'anticorps dirigés contre des protéines de la membrane externe des leptospires c'est à dire des anticorps dirigés contre des protéines de leptospires obtenues dans un extrait dépourvu de LPS. Ce test serait plus spécifique chez le cheval et ce notamment à des stades chroniques ou tardifs.

La technique repose sur une fixation des antigènes sur une membrane de nitrocellulose, puis une fixation des anticorps spécifiques. Les éventuels complexes antigène-anticorps sont alors révélés par une réaction colorimétrique sous forme d'un point coloré (nommé dot).

L'avantage majeur de ce test est une plus grande sensibilité que le MAT mais également une interprétation moins délicate.

D'après les premiers résultats de Mme ANDRE-FONTAINE G. et son équipe, les anticorps détectés correspondraient à une réaction spécifique intervenant dans les cas récidivants. Il conviendrait donc d'utiliser cette technique lors de cas chroniques lorsque les résultats des MAT sont faibles **(FISSOLO, 2012).**

X. Moyens préventifs :

X.1 Prophylaxie sanitaire :

La prophylaxie sanitaire peut diminuer le risque d'infection en agissant à trois niveaux : la lutte contre les réservoirs, l'assainissement de l'environnement et enfin l'isolement des malades.

La lutte contre les réservoirs par leur élimination est difficile. En effet, de nombreux animaux sont des réservoirs potentiels. Cependant, une lutte est tout de même possible : elle consiste à limiter le nombre de rongeurs dans les écuries. Cette lutte peut se traduire par la mise en place de pièges à rongeurs, de raticides. Si la diminution de rongeurs présents dans l'écurie est effective, le pic automnal de leptospirose constaté lorsque les chevaux rentrent à l'écurie devrait s'atténuer.

Les leptospires peuvent survivre pendant 6 mois dans un environnement favorable, c'est pourquoi l'assainissement de l'environnement est primordial dans les zones endémiques. Il consiste à assécher les mares et les zones marécageuses afin d'éviter toute stagnation d'eau. Si cela est impossible, il convient de ne pas mettre des chevaux en pâture dans de tels environnements.

Enfin, il faut absolument isoler les malades. En effet, les animaux atteints de leptospirose peuvent excréter des leptospires dans leurs urines pendant 16 semaines ; il convient donc de les isoler du reste des chevaux pendant cette même période. Les personnes en contact avec ces chevaux malades devront prendre deux précautions : la première précaution est de ne pas transmettre la leptospirose aux animaux sains notamment par voie indirecte via le matériel qui doit être systématiquement désinfecté après avoir été en contact avec les animaux malades. La deuxième précaution est de veiller à ce que le personnel se protège lui-même.

La leptospirose étant une zoonose grave. Le personnel doit porter des gants en latex et des lunettes de protection afin d'éviter des projections de matière virulente. Comme pour toute maladie contagieuse, il convient de ne pas boire, manger ou fumer pendant la manipulation de ces animaux et cela jusqu'à ce que la personne se soit désinfectée correctement.

**** plan d'isolement des chevaux suite à un avortement leptospirosique.***

1 : nettoyer et désinfecter entièrement l'endroit où la jument a avorté. Aucun animal de l'élevage ne doit avoir un contact direct ou indirect avec un instrument, vêtement ou litière provenant de cet endroit.

2 : Isoler la jument ayant avorté de tous les autres animaux de l'élevage. Le lieu d'isolement doit être choisi de manière à ce que l'urine de la jument ne soit jamais en contact direct ou indirect avec les autres animaux.

3 : une jument gestante infectée, traitée ou non, peut donner naissance à un poulain infecté ou non. Si un traitement approprié est institué, ce dernier peut parfois survivre. Il doit alors être isolé des autres animaux car son urine est fortement infectée.

* Les Administrations vétérinaires des pays importateurs tiennent compte :

Pour les ruminants, les équidés et les porcs domestiques de reproduction ou d'élevage, de la présentation d'un *certificat vétérinaire international* attestant que les animaux :

1. ne présentaient aucun signe clinique de leptospirose le jour de leur chargement.
2. ont séjourné dans une *exploitation* dans laquelle aucun signe clinique de leptospirose n'a été déclaré officiellement pendant les 90 jours ayant précédé leur chargement.
3. ont été soumis à un traitement antimicrobien autorisé à l'efficacité éprouvée conformément aux instructions du fabricant
4. ont été soumis, avec résultat négatif, à une épreuve diagnostique pour la recherche de la leptospirose (si le *pays importateur* le demande). (TRUFFERT, 2009).

La prophylaxie sanitaire reste aujourd'hui le moyen le plus efficace de prévention et de lutte contre la leptospirose (FISSOLO, 2012).

X. 2 Prophylaxie médicale :

Il n'existe pas de vaccin contre la leptospirose destiné aux équidés. Le seul moyen de lutte est donc la prophylaxie sanitaire (FISSOLO, 2012).

L'utilisation hors AMM de vaccins élaborés pour d'autres espèces, carnivores en France et bovins aux U.S.A, est réalisée par certains. Outre le problème évidant de responsabilité professionnelle, le bilan de cette pratique est difficile à évaluer. On sait qu'il existe une séroconversion vis-à-vis des sérogroupes utilisés (Canicola , ictéro-haemorrhagiae, grippotyphosa,..) mais aussi que la protection croisée est limitée. Chez les bovins vaccinés, le portage chronique et les avortements ne sont pas supprimés.

L'administration de vaccins chez des chevaux présentant une uvéite et un taux d'anticorps important est contre-indiquée (hypersensibilité de type III)

La voie de la recherche consiste à isoler les antigènes susceptibles d'induire une réaction immunitaire protectrice vis-à-vis des souches de leptospires pathogènes sans provoquer de réactions immunitaires défavorables (réactions croisées structures oculaires et anticorps

dirigés contre les leptospires). Les protéines de surface ont été caractérisées (Lipoprotéines); elles sont les meilleures « candidates ». Dans un travail préliminaire, une protéine A (OspA) lipoprotéine provenant d'un autre spirochète (*Borrelia burgdoferi*) a été utilisée pour l'élaboration d'un **vaccin ADN** chez la souris et le chien et d'un **vaccin recombinant** chez le chien et le cheval .Ces vaccins sont protecteurs contre la maladie de Lyme mais aussi contre la Leptospirose à *interrogans* sérovar *pomona* .

Lors de conditions extrêmes (inondations des pâtures,...) dans des zones à risques l'administration d'une antibio-prévention est préconisée chez les femelles gestantes surtout lorsqu'une séroconversion est observée (**VALON, 1998**).

XI. Traitements :

Le traitement des leptospiroses repose à la fois sur l'administration d'antibiotiques mais également sur le soutien des fonctions vitales. Ainsi, un traitement antibiotique ne peut être administré seul en cas d'atteinte rénale : il doit être accompagné d'une fluidothérapie de soutien de la fonction rénale avec une évaluation régulière de celle-ci notamment au travers d'analyses biochimiques répétées.

Plusieurs antibiotiques peuvent être employés dans le traitement de la leptospirose. Dans tous les cas, le traitement doit être précoce et prolongé. Cependant, la leptospirose étant une maladie protéiforme, le choix de l'antibiothérapie utilisée doit à la fois prendre en compte la forme clinique (suraiguë, aiguë ou chronique), les systèmes organiques touchés (rénal, génital et/ou oculaire) ainsi que les complications associées (insuffisance rénale, hépatique, etc.). Cela est primordial car chaque antibiotique présente des propriétés de diffusion, de concentration et d'élimination propres. Enfin, comme pour toute antibiothérapie, il convient de prendre en considération les effets indésirables des antibiotiques et notamment leur toxicité (**FISSOLO, 2012**).

La pénicilline reste l'antibiotique de choix (Pénicilline procaine, 15.000 UI/kg en IM 2 fois par jour). En cas d'allergie ou d'intolérance aux pénicillines on peut utiliser de l'Oxytétracycline (5 à 10 mg/kg en IV 2 fois par jour).

D'autres anti-infectieux sont utilisables comme le Ceftiofur, 2 à 4 mg/kg/jour en IM.

Les aminosides (streptomycine, gentamycine) semblent peu actifs contre les leptospiroses équine. Il en est de même pour les sulfamides.

La durée du traitement dépend de la gravité des symptômes et surtout de la précocité de sa

mise en œuvre. Un traitement anti-infectieux débuté très précocement peut éviter une atteinte des organes **(TRUFFERT, 2009)**.

Les céphalosporines de première génération et les sulfamides sont à proscrire car ils sont inefficaces **(FISSOLO, 2012)**.

Cependant, maintenant qu'il a été démontré que les leptospires sont présents dans les yeux des chevaux atteints d'uvéïte, la voie est ouverte à des études visant à établir les meilleures façons de traiter cette maladie tenace **(WRIGHT, 2000)**.

De plus, il faut remarquer que l'œil est un organe difficile d'accès pour les antibiotiques qui passent difficilement la barrière hémato-rétinienne et diffusent mal dans l'humeur vitrée.

Des expérimentations ont pu montrer qu'après 21 jours de traitement effectué sur des poneys sains avec de la doxycycline à 5 mg/kg toutes les 12 heures, celle-ci n'a pas pu être détectée dans l'humeur aqueuse avec un seuil de détection de 0,3 ug/ml. Par ailleurs, une étude similaire avec des injections intraveineuses répétées d'enrofloxacin à 7,5 mg/kg a révélé des pics de concentration à 0,32 ug/ml dans l'humeur aqueuse.

Des instillations d'antibiotique par voie topique peuvent contribuer à pallier à ce problème en apportant des concentrations d'antibiotiques adéquates dans l'humeur aqueuse **(FISSOLO, 2012)**.

Les collyres à base de corticostéroïdes et/ou de cyclosporine peuvent être utilisés pour les troubles oculaires engendrés par la leptospirose. Ces traitements locaux sont accompagnés d'injections d'anti-inflammatoire non stéroïdiens (Kétoprofène, Flunixin, Phénylbutazone) pour réduire les processus inflammatoires et combattre la douleur. **(TRUFFERT, 2012)**.

CONCLUSION :

Nous pouvons retenir de ce modeste travail que la leptospirose est une zoonose à ne pas négliger.

La difficulté de cette pathologie réside dans le fait qu'elle passe souvent inaperçue chez le cheval et qui, malgré ce silence symptomatique, excrète la bactérie en quantité suffisante à la contamination du milieu.

La particularité de cette maladie réside également dans le fait que même lorsque le cheval présente des signes, ces derniers ne sont pas pathognomoniques et ne laisse pas penser à une atteinte zoonotique, d'où le danger.

L'accent a été mis sur les méthodes diagnostiques mais également sur les moyens préventifs qui sont là, les principaux éléments de lutte contre cette pathologie. Ainsi, une dératisation fréquente aux niveaux des écuries et l'assainissement de l'environnement en évitant la stagnation des eaux usées sont de règles dans la protections des chevaux, des hommes et de l'environnement contre la leptospirose.

Références Bibliographiques :

- **Amory H. et Pitel, P.H., 2007** : le syndrome piro-like : diagnostic différentiel du syndrome piro-like sur la base des symptômes & cas cliniques de cas de syndrome piro-like incluant les moyens de diagnostic. 35^{èmes} journées AVEF. Centre international de Deauville. France.
- **André-Fontaine G., 2005** : leptospiroses. Ministère de l'agriculture et de la pêche Direction générale de la forêt et des affaires rurales Direction générale de l'alimentation
- **Aubry P., 2012** : Leptospirose. Médecine Tropicale. Diplôme de Médecine Tropicale des Pays de l'Océan Indien.
- **Baranton G. et Postic D., 1989** : Méthodes de laboratoire. Leptospire - Borréliose de Lyme. Institut Pasteur, Collection "Commission des laboratoires de référence et d'expertise de l'Institut Pasteur". Paris,
- **Begon E.J., 2003** : Progrès dans le traitement des uvéites récidivantes du cheval. Etude bibliographique. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. 75pages.
- **Berche P., 1989** : Leptospires. Bactériologie médicale. deuxième édition. Flammarion Médecine et Sciences.
- **Bontemps M., 2012** : La leptospirose humaine en exercice vétérinaire ; point actuel du risque. Thèse pour le grade de docteur vétérinaire. Vetagro sup, campus vétérinaire de LYON.
- **Boschat-Bohin C., 2001** : Etude sérologique d'un cas de leptospirose chronique en élevage de production de chiens. Thèse pour le grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de NANTES.
- **Dolgopoloff N., 1986** : Enquête sur la présence d'agglutinines antileptospirosiques chez les chevaux à la Réunion. N°154.
- **Fissolo C., 2012** : L'uvéite équine leptospirosique : Réalisation d'un guide de la prise en charge vétérinaire. Elaboration d'une étude sur la ponction d'humeur vitrée et la comparaison des diagnostics de laboratoire. Thèse N°011 pour le grade de docteur vétérinaire. Vetagro sup, campus vétérinaire de LYON.
- **Freney J., Renard F., Leclercq R., Riegel F., 2007** : Précis de bactériologie clinique, deuxième édition ESKA.

- **Grosbois F, Pitel P.H., Maillard K., 2011** : Leptospirose des équidés. Les Haras Nationaux.
- **Lamrani Alaoui G., 2008** : La leptospirose ictéro-hémorragique (à propos de 69 cas).Thèse N°061 de Doctorat en Médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté de Médecine et de Pharmacie de FES.
- **Trap D., 1988** : Les petits mammifères sauvages, source de leptospirose. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*
- **Truffert M., 2009** : Avortement chez la jument : la leptospirose, maladie émergente ? *Sciences& pratique. La dépêche vétérinaire N°1022.*
- **Valon F., 1998**: Etude Clinique, diagnostic et traitements des leptospiroses équine. *Prat. Vet. Equine.*
- **Valon F. et Chaffaux S., 2009** : Leptospirose et avortement chez la jument. *Bulletin N°25 RESPE.*
- **Wright B., 2000** : La leptospirose et l'uvéite récidivante du cheval. *Fiche technique originale scientifique vétérinaire, Élevage des chevaux et animaux non traditionnels/MAAARO. Ontario.*

Sites internet :

- **FAO/OMS. 2004** : Leptospiroses. Projet du Code d'usages en matière d'hygiène de la viande. Dans le rapport de la 10^e session de la Commission du Codex sur l'hygiène de la viande. Alinorm 04/27/16. Rome.
ftp://ftp.fao.org/codex/Alinorm04/AL04_16e.pdf.
- **HAS, 2010** : Diagnostic Biologique de la leptospirose. Haute Autorité de Santé. CADRAGE. www.has-sante.fr
- **ILM, 2007** : Analyse de Biologie Médicale. Guide 2007. www.ilm.pf
- www.1cheval.com.

Résumé

La leptospirose est une maladie infectieuse, due à des bactéries du genre *leptospira*, capables d'infecter l'homme et de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages.

L'infection leptospirosique d'un cheval peut entraîner des atteintes spécifiques ou pas : nous citons les avortements, les atteintes rénales, et oculaires.

Le seul moyen de lutte est donc la prophylaxie sanitaire qui peut intervenir à trois niveaux : la lutte contre les réservoirs, l'assainissement de l'environnement et enfin l'isolement des malades

Mots clés : Leptospirose, avortement, sérovars

المخلص:

اللبتوسبيروز هو مرض معدي تسببه بكتيريا اللبتوسبيرا يصيب الانسان و العديد من الحيوانات الاليفة و المتوحشة و يعتبر الحصان خزان بالنسبة للبتوسبيير. هذه الفرضية غير مثبتة و لكن مقبولة من طرف العلماء المختصين في هذا الميدان. في دراستنا المرجعية التي قمنا بها بينت أن عدوى اللبتوسبيير عند الحصان تصيب العديد من الاعضاء مسببة الاجهاض و اصابة الكلى و العين.

الامكانية الوحيدة من اجل مكافحة هذا المرض هي الوقاية الصحية المتمثلة في ثلاث مستويات التالية

- المكافحة ضد الحيوانات التي تعتبر خزانا لهذا المرض

- تطهير المحيط

- عزل الحيوانات المريضة

كلمات مفتاح لبتوسبيروز,اجهاض,سروفر

Abstract:

Leptospirosis is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Leptospira*, able to infect humans and many domestic and wild animal species.

the horse has been an imperfect form a reservoir for *Leptospira*. Although this hypothesis is unproven, it seems to be accepted by the scientific world. The leptospirosique infection of a horse can cause enough damage to specific organs such as abortion, renal or ocular involvement.

The only way to fight is the medical prophylaxis which may occur at three levels: the fight against tanks, environmental remediation and finally the isolation of patients

Keywords: Leptospirosis, abortion, serovars