

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 SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

MEMOIRE

PRESENTE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

MAGISTER EN SCIENCES VETERINAIRES

Option : Microbiologie Medicale Vétérinaire

**Etude séroépidémiologique de l'infection à
Leptospira interrogans serovar Hardjo dans des
exploitations bovines de la région d'Alger**

Présenté par : Dr. BENSEGHIR Hassane

Devant les membres de jury :

Presidente	: Pr. BOUKHORS K T	Professeur	ENSV-ALGER
Promotrice	: Dr. GHALMI F	Maître de conférences A	ENSV-ALGER
Examinatrice	: Dr. HAFSI F	Maître de conférences A	ENSV-ALGER
Examinatrice	: Dr. AZZAG N	Maître de conférences B	ENSV-ALGER
Examinatrice	: Dr. DERDOUR S.Y	Maître assistante A	ENSV-ALGER

Soutenu le 24/06/2014

Remerciements :

Un grand merci au bon Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la force pour réaliser ce travail

Mes sincères et chaleureux remerciements vont à :

Ma promotrice Dr. GHALMI F malgré vos multiples occupations, vous avez suivi avec rigueur ce travail, cela ne surprend guère quand on connaît vos qualités humaines, intellectuelles et scientifiques. Je suis également très sensible à la sympathie que vous m'avez témoigné tout au long de mes études. Profonde gratitude, respectueuse considération et vive admiration.

Ma présidente de jury, Pr. BOUKHORS K.T, pour avoir accepté la présidence de mon jury. Vos qualités scientifiques et intellectuelles ainsi que votre abord facile forcent mon admiration. Soyez rassurée, honorable maitre, de mon éternelle reconnaissance.

Dr DERDOUR S.Y, d'avoir accepté de faire partie de notre jury. Votre rigueur scientifique et votre sens aigu des relations humaines forcent le respect et l'admiration de tous.

Dr AZZAG N, d'avoir acceptée juger ce travail. Vous avez su nous faire profiter de vos connaissances et compétences dans le domaine de la Microbiologie Médicale.

Un grand merci a tous mes enseignants de l'ENSV pour les connaissances acquises durant ma formation de graduation et post-graduation.

Je tiens également à remercier tous les gens qui ont facilité la réalisation des prélèvements : Amer, Djamila et les gens de LFB (Rabah, Manel et les autres)

Mes années de travail de recherche se sont déroulées au sein de trois laboratoires différents, le laboratoire de parasitologie et microbiologie à l'ENSV et le laboratoire central de la médecine vétérinaire à l'INMV. Je tiens à remercier l'ensemble des membres de ces laboratoires pour leur accueil, leur gentillesse et leur soutien. Je remercie plus particulièrement oncle Ahmed pour sa disponibilité.



Dédicace :

A mes parents

Qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager durant tout mon cursus.

Maigres récompenses pour l'immense travail accompli

Que Dieu vous bénisse et vous protège.

A mes frères et mes sœurs

Pour l'amour qui nous unit. Ce travail est également le fruit de vos nombreux soutiens.

Merci pour votre présence, votre aide et tous vos encouragements.

Que notre fraternité nous unisse toujours dans les joies mais aussi

dans les peines

que Dieu vous accorde sa grâce

A tous mes ami(e)s

En particulier : Khadîdja, Ismail, Samir, Nabil, Younes...

Pour les bons et les difficile moments passés ensemble ; pour vos soutiens.

A mes collègues de l'école doctorale

Hicham, Abderrahmane, Djamila, Siham, Hadjer...

A tous les étudiant(e)s et enseignant(e)s de l'Ecole Nationale

Supérieure Vétérinaire –El-Harrach- Alger.

A ma chère patrie, l'Algérie, terre de mes aïeux.

A tous ceux que je ne saurais citer, mais que je porte dans mon cœur.



Résumé

La leptospirose est une zoonose à distribution mondiale causée par *Leptospira interrogans* responsable de lourdes pertes tant sur le plan économique que sur la santé humaine et animale. Dans ce travail, une étude séroépidémiologique sur l'infection par *Leptospira interrogans* a été menée dans des élevages bovins de la région d'Alger, de mars 2013 à janvier 2014. Un total de 19 fermes choisies au hasard ont été investiguées et le sérum de 205 bovins a été prélevé et testé d'une part par le test MAT pour déterminer la prévalence des anticorps spécifiques de 5 serovars de *L. interrogans* utilisant une agglutination de 50% à une dilution $\geq 1 : 100$ comme seuil de positivité. 29/205 (14,14%) animaux se sont révélés positifs à un ou plusieurs serovars. Les serovars de *Leptospira* les plus prévalents ont été Hardjo et Pomona avec 13 échantillons positifs pour chacun (6,34%) suivi de Canicola (4,39%) et Grippotyphosa (3,90%). Le serovar le moins prévalent a été Icterohaemorrhagiae avec uniquement 2 échantillons positifs (0,97%). D'autre part, la séroprévalence de *L. interrogans* serovar Hardjo a été évaluée par deux kits ELISA différents. Un taux de 4% et 5% ont été obtenus par l'ELISA Bio-X et PrioCheck respectivement. La comparaison entre les différents tests utilisés a montré que le kit ELISA PrioCheck était plus sensible (76,9%) et spécifique (100%) que le kit ELISA Bio-X (sensibilité 46,2% et spécificité 98,6%) et que le MAT reste l'outil sérologique de référence dans le diagnostic d'une infection par *L. interrogans*.

L'étude des différents facteurs de risque potentiels n'a révélé aucun lien statistique avec l'infection par *L. interrogans* serovar Hardjo.

Enfin, l'étude épidémiologique de type cas-témoin n'a montré aucune association significative entre la positivité à *L. interrogans* serovar Hardjo et les avortements présents dans les fermes étudiées.

Mots clés : leptospirose, bovins, MAT, ELISA PrioCheck, ELISA Bio-X, *Leptospira interrogans* serovar Hardjo, séroprévalence, avortement, Alger.

Summary

Leptospirosis is a world wide distribution zoonosis caused by *Leptospira interrogans* responsible for heavy loss both economically and on human health and animal. In this work, a seroepidemiological study on the infection by *L. interrogans* was conducted in cattle farms of the area of Algiers, from March 2013 to January 2014. The total of 19 farms randomly selected were investigated and 205 cattle serum was collected and tested on the one hand by the MAT test to determine the prevalence of specific antibodies 5 serovars of *L. interrogans* using a 50% agglutination at a dilution $\geq 1: 100$ as threshold positivité. 29/205 (14.14%) animals were positive to one or more serovars. *Leptospira* serovars most prevalent were Hardjo and Pomona with 13 samples positive for each (6.34%) followed by Canicola (4.39%) and Grippotyphosa (3.90 %). The less prevalent serovar was Icterohaemorrhagiae with only two positive samples (0.97 %). On the other hand, the seroprevalence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo was evaluated by two different kits of ELISA. A 4% and 5 % were obtained by ELISA Bio-X and PrioCheck respectively. The comparison between different tests used showed that the ELISA kit PrioCheck was more sensitive (76.9%) and specific (100%) to the ELISA kit Bio-X (sensitivity 46.2% and specificity 98.6 %) and MAT remains the tool serologic of reference in the diagnosis of an infection with *L. interrogans*. The study of various potential risk factors showed no statistical association with infection with *L. interrogans* serovar Hardjo.

Finally, epidemiological study of case-control showed no significant association between positivity *L. interrogans* serovar Hardjo and abortions in the farms of study.

Keywords : Leptospirosis, bovine, MAT, PrioCheck ELISA, Bio-X ELISA, *Leptospira interrogans* serovar Hardjo, prevalence, abortion, Algiers.

ملخص

داء اللولبية النحيفة (Leptospirose) هو حيواني المنشأ ذو توزيع عالمي ناجم عن (*Leptospira interrogans*) مسؤول عن خسائر فادحة سواء على الصعيد الاقتصادي أو على صحة الإنسان و الحيوان. في هذا العمل، أجريت دراسة مسح مصلي على العدوى عن طريق (*Leptospira interrogans*) في مزارع لتربية البقر لمنطقة الجزائر العاصمة ، ما بين الفترة الممتدة من مارس 2013 إلى غاية يناير 2014 . تم التحقيق من خلالها في 19 مزرعة اختبرت عشوائيا، حيث جمع فيها 205 عينة من مصل الأبقار واختبارها عن طريق اختبار (MAT). لتحديد مدى انتشار الاجسام المضادة لخمسة (05) serovars من *L. interrogans* باستخدام تراص 50 % في تخفيف $\leq 100/1$ كحد ادني للإيجاب فكانت نتيجة 29 / 205 بقرة (14.14 %) إيجابية لـ (serovars) واحد أو أكثر. وكان serovars من (*Leptospira*) الأكثر انتشارا هو (Hardjo) و بومونا مع 13 عينة إيجابية لكل منهما (6.34 %)، يليه Canicola (4.39 %) و Grippotyphosa (3.90 %). أما serovars الأقل انتشارا فهو Icterohaemorrhagiae مع اثنين فقط من العينات الإيجابية (0.97 %). ومن ناحية أخرى ، تم تقييم المسح المصلي من (*L. interrogans* serovar Hardjo) من قبل نوعين مختلفين من إختبار ELISA . تم الحصول على 4 % و 5 % بواسطة ELISA Bio-X و PrioCheck على التوالي. وأظهرت المقارنة بين الاختبارات المختلفة المستخدمة أن ELISA PrioCheck كان أكثر حساسية (76.9 %)، و خصوصية (100 %) من ELISA Bio-X (46.2 % حساسية و98.6 % خصوصية) و يبقى (MAT) الإختبار المصلي المرجعي في تشخيص العدوى ضد: *Leptospira interrogans* .

أظهرت دراسة مختلف عوامل الخطر المحتملة عدم وجود أي ارتباط إحصائي مع الإصابة بـ: *L. interrogans* serovar Hardjo.

أخيرا، لم تظهر الدراسة الوبائية من نوع (حالات وشواهد) أي ارتباط مهم بين الإيجابية لـ : *L. interrogans* serovar Hardjo و الإجهاض في المزارع المدروسة.

الكلمات الرئيسية : داء اللولبية النحيفة ، الأبقار ، المسح المصلي ، والإجهاض ، الجزائر ، *L. interrogans* serovar Hardjo ، ELISA Bio-X ، ELISA PrioCheck ، MAT.

Table de matière :

INTRODUCTION :	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE "Les leptospires et la leptospirose bovine"	
I. Historique	3
II. Étude de l'agent pathogène	4
1. Taxonomie	4
1.1. Classification des espèces	4
1.2. Classification des serovars et des serogroupes	5
1.2.1. La classification phénotypique ou sérologique :	5
1.2.1. La nouvelle classification par génotypique :	6
2. Biologie des leptospires	8
2.1. Morphologie des leptospires	8
a) Morphologie externe générale	8
b) Ultrastructure microscopique	10
c) Morphologie des leptospires en division	10
d) Particularité génétique des leptospires	11
3. Caractères bactériologiques	12
a) Métabolisme et culture des leptospires	12
4. Caractères antigéniques, immunologiques et allergiques	13
a) Propriétés antigéniques	13
b) Propriétés immunologiques	14
c) Propriétés allergiques	15
III. Pathogénie	15
1. Conditions de l'infection	15
a) Facteurs tenant au pouvoir pathogène des leptospires	15
b) Facteurs tenant à la sensibilité et à la réceptivité de l'hôte	18
2. Étapes de l'infection	19
a) Phase de contamination :	19
b) Phase d'invasion :	20
c) Phase de multiplication :	21
IV. Symptômes et lésions	21
1. Tableau clinique	21
a) Forme suraiguë	22

b)	Formes aiguës	22
c)	Formes subaiguës ou chroniques	23
d)	Aspect zoonotique.....	24
□	Forme anictérique	24
□	Forme ictérique	25
2.	Tableau lésionnel.....	26
a)	Lésions macroscopiques	26
b)	Lésions microscopiques :.....	27
V.	Épidémiologie	28
1.	Épidémiologie descriptive.....	28
a)	Répartition géographique et prévalence :	28
b)	Évolution dans le temps :	31
2.	Épidémiologie analytique	32
a)	Sources et matières virulentes	32
b)	Résistance des bactéries	34
c)	Réceptivité et sensibilité des espèces	36
d)	Voies de pénétration	37
e)	Transmission directe et indirecte.....	37
f)	Modalités de transmission à l'homme.....	38
3.	Épidémiologie synthétique.....	39
VI.	Diagnostic	40
1.	Données cliniques et éléments épidémiologiques	40
2.	Diagnostic nécropsique	40
3.	Diagnostic différentiel	40
4.	Examen de laboratoire	41
a)	Examen direct :.....	41
□	Mise en évidence du pathogène	41
□	Mis en culture :	44
□	Inoculation :	45
□	Immunohistochimie :	46
□	Détection de l'ADN :	46
b)	Examen indirect.....	48
□	Non spécifique	48

□	Spécifique : la sérologie	49
VII.	Moyens de lutte	54
1.	Mesures thérapeutiques	54
a)	Antibiothérapies	54
b)	Symptomatiques	55
2.	Mesures prophylactiques	56
a)	Sanitaires	56
b)	Médicales (vaccins)	57
c)	Maîtrise des risques et lutte contre les contaminations humaines	58
PARTIE EXPERIMENTALE		
I.	MATERIEL ET METHODES	60
1.	Description de la région d'étude.....	60
2.	Description du mode d'élevage bovin	60
3.	Plan d'échantillonnage et prélèvements	60
4.	Établissement d'un questionnaire	62
5.	Collecte des prélèvements et conservation	62
6.	Analyses sérologiques :	62
a)	Technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) pour la détection des anticorps spécifiques de <i>Leptospira interrogans</i> serovar Hardjo ...	63
b)	Le test MAT (Microscopic Agglutination Test).....	64
7.	Analyses statistiques	65
II.	RÉSULTATS.....	68
1.	Étude de la séroprévalence des anticorps spécifiques de <i>Leptospira interrogans</i> par le test MAT	68
1.1.	Séroprévalence globale et par serovar	68
1.2.	Titre en anticorps obtenus en MAT pour les 5 serovars étudiés	70
1.3.	Fréquence des sérums positifs en fonction du nombre de serovar	70
1.4.	Séroprévalence de <i>L. interrogans</i> serovar Hardjo par différentes méthodes sérologiques	70
2.	Comparaison entre les différentes méthodes sérologiques pour la recherche des anticorps spécifiques de <i>L. interrogans</i> serovar Hardjo	71
3.	Étude des facteurs de risque	73
4.	Étude épidémiologique de type cas-témoin.....	75
4.1.	Etude cas-témoin au niveau individuel	75
4.2.	Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation	75

III. DISCUSSION.....	77
Conclusion et recommandations :	88
References bibliographiques	90
ANNEXES	105

Liste des figures :

Figure 1 : La classification des leptospires (Levett, 2001).....	5
Figure 2 : Cliché photographique d'un leptospire visualisé au microscope électronique (Alder et al. 2011)	9
Figure 3 : Structure d'un leptospire (Millet, 1998).....	9
Figure 4 : Diagramme de Venn permettant de visualiser les gènes uniques ou partagés entre ces 3 leptospires (Picardeau et al., 2009).....	11
Figure 5 : Architecture de la membrane des leptospires, contenant des lipoprotéines (dont Lao22 et LipL32), le LPS et des protéines transmembranaires (Haake et Matsunaga, 2010). 14	
Figure 6 : Déroulement d'une infection leptospirosique de manière schématique (Levett, 2001. Boibieux, 2012).	19
Figure 7 : Coupe histologique de rein d'un hamster infecté par une culture de leptospires dérivée de <i>L. kirschneri</i> (Barnett et al., 1999).....	28
Figure 8 : Distribution de la leptospirose dans le monde pour l'année 2011 d'après l'OIE (site officiel de l'OIE)	29
Figure 9 : Biofilm de <i>L. biflexa</i> au niveau d'une interface eau/air vu au microscopej (Ristow et al., 2008).	35
Figure 10 : Interrelations entre les acteurs épidémiologiques de la leptospirose et risque associé (Waikins, 1986 ; Haake et al., 2002 ; Michel, 2002 ; Morgan et al., 2002 ;).....	39
Figure 11 : évolution des possibilités de diagnostic de la leptospirose en fonction du temps d'après Andere-fontaine, 1992.	43
Figure 12 : La courbe cinétique des anticorps anti-leptospires ; d'après Palit et Gulasekharam, 1973 ; Blackmore et al., 1984 ; Bercovich et al., 1990 ; Everard et Bennett, 1990.....	49
Figure 13 : Principe de la méthode ELISA (www.med.univ-rennes1.fr).....	52
Figure 14 : Prophylaxie sanitaire en vue de réduire l'exposition à la leptospirose (Kingscote, 1985 ; Lilenbaum et Souza, 2003 ; Bharti et al., 2006 ; Lilenbaum et al., 2008 ; Vijayachari et al 2008 ; Adler et Moctezuma, 2010).	59
Figure 15 : Répartition géographique des fermes ayant fait l'objet de prélèvements aux seins des communes de la wilaya d'Alger.	61
Figure 16 : Séroprévalence de <i>Leptospira</i> par serovar chez le bovin dans la région d'Alger. 69	
Figure 17 : Pourcentage des 5 serovars sur le nombre total des réactions positives (45).	69

Introduction

INTRODUCTION :

Les leptospires appartiennent au phylum des spirochètes et sont constitués de bactéries saprophytes et pathogènes. Elles doivent leur nom à leur morphologie unique hélicoïdale, flexible et grêle. Les leptospires pathogènes sont regroupés dans l'espèce *Leptospira interrogans* et sont responsables d'une zoonose de répartition mondiale, la leptospirose (Abgueuen et Pichard, 2009). C'est une maladie infectieuse qui touche de nombreux mammifères dont l'homme. Ce dernier est un hôte occasionnel dans un cycle impliquant les animaux sauvages et domestiques. Le réservoir animal, principalement les rongeurs, excrètent les leptospires dans leurs urines et contaminent ainsi l'environnement hydrique, propageant la maladie à d'autres animaux ou à l'homme (OMS, 1987).

La leptospirose est une maladie des zones chaudes et humides. Elle sévit sur tous les continents soit de façon endémique, soit sous forme de cas groupés (anadémies) (Houpikian et al., 2002).

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 (Legrand, 2007).

Chez les bovins, l'expression clinique est le plus souvent chronique. Il n'est pas rare d'ailleurs d'observer essentiellement des formes subcliniques. Cependant, la leptospirose peut se manifester par des troubles de l'infertilité avec notamment des avortements mais aussi des chutes de production laitière, accompagnées souvent d'épisodes de mammites (Guitian et al., 2001 ; Sakhae et al., 2009).

Des avortements sporadiques sont souvent décrits suite à des infections par le serovar Hardjo à l'opposé des épisodes épidémiques d'avortement qui sont plutôt dus aux serovars Pomona ou Grippotyphosa (Grooms, 2006). Les serovars Pomona et Hardjo sont les plus fréquents chez le bétail conduisant à un avortement durant le dernier trimestre de la gestation (Guitian et al., 2001).

Le bilan de la leptospirose peut donc être très lourd tant sur le plan économique que sur la santé humaine et animale d'où notre intérêt porté sur l'étude de la leptospirose bovine dans la région d'Alger.

Au départ de cette étude, rien n'était connu sur la situation de la leptospirose bovine en Algérie. Ce travail avait pour objectif principal de faire un état des lieux de la situation dans la région d'Alger.

Introduction

La première partie de ce travail visait à fournir des informations préliminaires sur la séroprévalence de *L.interrogans* de serovar Hardjo par la technique ELISA dans différentes exploitations bovines de la région d'Alger afin de situer le rôle du bovin comme réservoir potentiel zoonotique et d'estimer le poids réel de cette infection dans la région.

Ensuite, l'objectif suivant était d'estimer la prévalence de cinq serovars de *L.interrogans* par la technique du MAT, afin d'identifier les serovars les plus prévalents chez les bovins laitiers de nos régions.

Un autre objectif important dans cette étude était de réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un lien causal entre la présence des bovins séropositifs à différents serovars de *L.interrogans* et les exploitations pour lesquelles les performances de reproduction ne sont pas satisfaisantes pour raison d'infécondité ou d'avortements.

Dans cette optique et avant d'exposer notre partie expérimentale, nous présenterons de manière détaillée la leptospirose. Nous développerons l'étiologie ainsi que la pathogénie de cette maladie. Puis nous décrirons son cycle épidémiologique, les symptômes et lésions présents. Enfin, nous terminerons par la description des méthodes diagnostiques, thérapeutiques et prophylactiques.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE
Les leptospires et la leptospirose bovine

Les leptospires et la leptospirose bovine

I. Historique

Adolf Weil, un médecin allemand a fait une description détaillée de la maladie en 1886. Le médecin a identifié chez l'humain un syndrome caractérisé par un « ictère hémorragique essentiel » associant un ictère, splénomégalie et surtout des lésions rénales (Andre-Fontaine, 2003). Plusieurs années plus tard, une maladie présentant les mêmes signes que leptospirose a été observée en Chine et Japon qualifiée de « fièvre d'automne ». Sur les coupes des reins d'un patient supposé atteint de la fièvre jaune, Stimson, en 1907, a mis en évidence pour la première fois l'agent causal de la leptospirose par la méthode d'imprégnation argentique. Du fait de la forme spiralée aux extrémités munies de crochets en point d'interrogation, il a nommé *Spirocheta interrogans*. L'isolement de l'agent pathogène a été fait en 1915 par une équipe de scientifiques japonais dirigés par Inada et Ido (Levett, 2001). En 1917, la démonstration du rôle des rats dans l'infection humaine a été établie, ainsi Noguchi a donné le nom du genre *Leptospira* à ce spirochète (Byrne, 1955). Dans la même année, l'Institut Pasteur de France a découvert la réaction d'agglutination-lyse, qui est le test de référence pour le diagnostic sérologique des leptospires, appelé plus tard le test micro-agglutination (MAT) (Baranton et Postic, 2006).

Par la suite, les connaissances sur les leptospires s'élargissent et d'autres sérotypes que celui de *Leptospira icterohaemorrhagiae* ont été identifiés et différenciés par des méthodes sérologiques.

Ce n'est qu'en 1931, que les travaux de deux chercheurs suédois ont mis en évidence un premier agent de leptospirose chez les animaux domestiques à partir des urines d'un chien atteint de néphrite, il s'agit d'un nouveau sérotype, appelé *Leptospira canicola* (Byrne, 1955).

Ensuite, c'est en 1937 que Mikhin et Azinow ont isolé des leptospires chez l'espèce bovine. Cet isolement sera suivi par la découverte des formes porcines par Klarenbeek et Gsell et équines par Lurachenko et Novikova (Legrand, 2007).

Les leptospires et la leptospirose bovine

II. Étude de l'agent pathogène

1. Taxonomie

1.1. Classification des espèces

Le terme « *Leptospira* » vient du grec *lepto* : fin et *spira* : torsade.

Les leptospires sont des bactéries appartenant au sous-embranchement des Protozoobacteria, à l'ordre des Spirochètales. 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 et al., 2003) .

Les Spirochètales sont divisés en deux familles : les Spirochaetaceae et les Leptosiraceae.

Dans la famille des Spirochaetaceae, on trouve les genres *Treponema*, *Serpulina* et *Borrelia*, et dans la famille des Leptosiraceae, on décrit les genres *Leptonema* et *Leptospira*.

Avant 1987, la taxinomie était basée sur le pouvoir pathogène et sur la reconnaissance antigénique réalisée sur le lapin.

Dans le genre *Leptospira*, trois espèces ont été décrites regroupant diverses souches (Andre-Fontaine et Ganiere, 1992) :

- *Leptospira biflexa* sensu lato, regroupant des souches saprophytes, non pathogènes.
- *Leptospira parva* sensu lato, est une espèce non pathogène, isolée d'un échantillon d'albumine des bovins, de l'utérus de la truie et de l'eau.
- *Leptospira interrogans* sensu lato, regroupant les souches pathogènes pour l'Homme et/ou l'animal, et donc responsables de la leptospirose (Levett, 2001), cette maladie est considérée comme une zoonose plus répandue dans le monde (Ristow, 2007).

Tableau 1 : Particularité phénotypique des trois espèces de leptospires connus avant 1987 (d'après Euzéby, 2009).

	<i>L. interrogans</i>	<i>L. parva</i>	<i>L. biflexa</i>
Culture à 13 °C	Non	Non	Oui
Présence de 8-azaguanine	Non	Oui	Oui

La 8-azaguanine est un analogue des bases purines présentant une activité antinéoplasique. Elle fonctionne comme un antimétabolite et est facilement incorporée au sein de l'ADN.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Tableau 2 : Liste des serogroupes et des serovars de leptospires de l'espèce pathogène les plus importants chez l'animal sur le plan épidémiologique.

Serogroupes	Serovar
Australis	Australis Bratislava München
Autumnalis	Autumnalis
Canicola	Canicola
Grippotyphosa	Grippotyphosa
Hebdomadis	Hebdomadis Borincana
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni Icterohaemorrhagiae
Panama	Panama
Pomona	Pomona Mozdok
Pyrogenes	Pyrogenes (zanoi)
Sejroe	Sejroe Hardjo Wolffi Saxkoebing
Tarassovi	Tarassovi
Ballum	Castellonis

1.2.1. La nouvelle classification par génotypique :

Depuis octobre 1987, la taxinomie des leptospires a totalement changé, suite à des études basées sur la parenté de l'ADN, par hybridation des ADN de deux souches différentes. A l'aide de cette méthode, on a pu identifier les genomispecies qui sont des espèces déterminées par des méthodes génétiques spécifiques (Brenner et al., 1999 ; Wangroongsarb et al., 2007). A l'heure actuelle, 20 genomispecies sont définies dans le genre *Leptospira* (Cerquiera et Picardeau, 2009 ; Bourhy et al., 2011) : les pathogènes (regroupant 9 espèces génomiques), les saprophytes (6 espèces génomiques) et les intermédiaires (5 espèces génomiques) (Legkoby et al., 2011 ; Picardeau, 2012 ; Boibieux, 2012).

Les leptospires et la leptospirose bovine

Tableau 3 : Les 20 espèces génomiques du genre *Leptospira* selon la nouvelle classification (Cerquiera et Picardeau, 2009 ; Bourhy et al., 2011).

Genomispécies pathogènes	Genomispécies saprophytes	Genomispécies intermédiaires
<i>L. interrogans</i>	<i>L. biflexa</i>	<i>L. inadai</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>L. wolbachii</i>	<i>L. broomii</i>
<i>L. kirshneri</i>	<i>L. vantheilii</i>	<i>L. fainei</i>
<i>L. weilii</i>	<i>L. meyeri</i>	<i>L. wolffii</i>
<i>L. santarosai</i>	<i>L. terpstrae</i>	<i>L. licerasiae</i>
<i>L. noguchii</i>	<i>L. yanagawae</i>	
<i>L. kmetyi</i>		
<i>L. alexanderi</i>		
<i>L. alstoni</i>		

Bien que cette taxinomie génotypique apparaisse comme intéressante, elle se révèle toutefois incompatible avec la taxinomie sérologique. En effet, tous les serovars d'un même serogroupe n'appartiennent pas à la même espèce ou génotype, chaque espèce est constituée de souches appartenant à plusieurs serogroupes et les souches d'un même serovar peuvent être réparties entre différentes espèces (Leveti, 2001 ; Euzéby, 2009). Pour éviter la confusion, il a été proposé l'utilisation de la terminaison sensu lato pour les souches dans la classification sérologique et la terminaison sensu stricto pour les souches de la nouvelle classification.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Tableau 4 : Correspondance entre les genomospecies de *Leptospira* et les serogroupes (Levett, 2001).

Genomospecies	Serogroupes correspondants
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippytyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin
<i>L. noguchii</i>	Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona
<i>L. santarosai</i>	Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippytyphosa, Sejroe, PomonaJavanica, Sarmin, Cynopteri
<i>L. meyeri</i>	Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica
<i>L. wolbachii</i>	Codice
<i>L. biflexa</i>	Semarang, Andamana
<i>L. fainei</i>	Hurstbridge
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica, Ballum, Hebdo, Sejroe, Tarassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis
<i>L. kirschneri</i>	Grippytyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola
<i>L. weilii</i>	Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Manhao, Hebdomadis, Pyrogenes, Sejroe
<i>L. parva</i>	Turneria
<i>L. inadai</i>	Lyme, Shermani, Ictérohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica

2. Biologie des leptospires

2.1. Morphologie des leptospires

a) Morphologie externe générale

Pour observer les leptospires, il est indispensable de disposer d'un microscope à fond noir ou à contraste de phase : ils sont les plus petits spirochètes connus, ce sont en effet des bactéries hélicoïdales, extrêmement fines et flexibles (Ellis, 1981), leur taille varie de 6 à 25 μm de long et ont un diamètre de 0,20 μm (Bharti et al., 2003), la forme est spiralée, constituée de vingt à trente hélices très serrés, dont l'amplitude est d'environ 0,1 à 0,15 μm et le pas (longueur d'onde) est d'environ 0,5 μm (Faine et Stallman, 1982 ; Levett, 2001).

Plusieurs facteurs contrôlent la morphologie des leptospires : en premier lieu, on a le serovar ; tous les serovars n'ont pas la même morphologie, par exemple, Hardjo est plus petit que Icterohaemorrhagiae, en second on a l'âge de la culture ; dans des anciennes cultures, les spires se relâchent pour donner des formes allongées, sphérulées ou amassées les une aux

Les leptospires et la leptospirose bovine

autres, par contre au début de la culture elles apparaissent bien resserrées (Levett, 2001 ; Adler et Moctezuma, 2010).



Figure 2 : Cliché photographique d'un leptospire visualisé au microscope électronique (Alder et al. 2011)

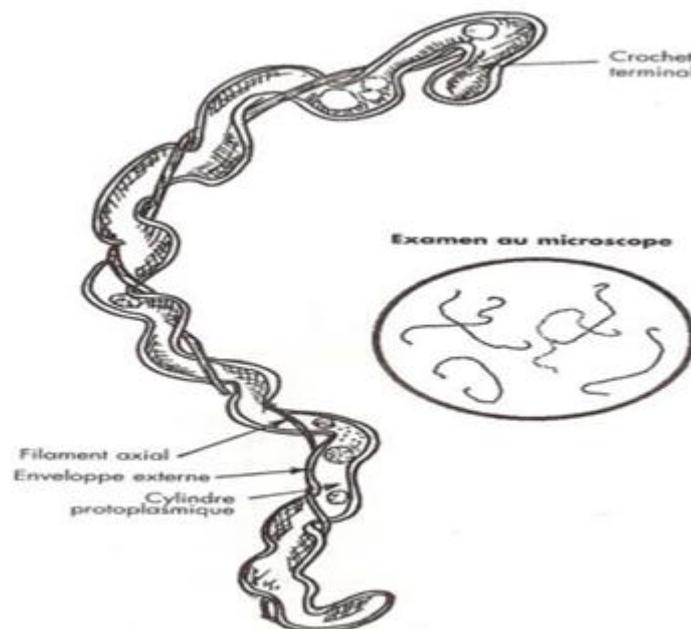


Figure 3 : Structure d'un leptospire (Millet, 1998).

Les extrémités de la bactérie sont pointues et, une ou les deux, sont repliées en forme de crochets mais peuvent temporairement rester droites (Hovind-Hougen, 1981). Les leptospires présentent deux flagelles internes situés sous l'enveloppe externe. Chacune flagelle et cylindre sont entrelacés sur environ 1/3 ou 1/4 de la longueur de la cellule, sans chevauchement central (Legrand, 2007), assurant la mobilité des bactéries en trois mouvements différents : de translation, la rotation et l'allongement (Bharti et al., 2003).

Les leptospires et la leptospirose bovine

b) Ultrastructure microscopique

La microscopie électronique révèle les trois composants structuraux essentiels : l'enveloppe externe, les flagelles et le cylindre protoplasmique.

L'enveloppe externe :

C'est une gaine couvrant toute la bactérie, avec une structure trilamellaire. Elle est élastique, souple mais assez peu résistante, mesurant de 10 à 11 nm d'épaisseur (Auran et al., 1972).

Elle est composée de lipopeptide, mucopéptides antigéniques et lipopolysaccharides. Ces derniers ont une composition voisine à celle des enveloppes externes des bactéries Grams négatives.

Les flagelles (filaments axiaux) :

Ils sont au nombre de deux flagelles situés à chaque extrémité du cylindre protoplasmique (Levett, 2001 ; Bharti et al., 2003). Cependant, il arrive que certains leptospires possèdent 3 filaments axiaux, deux étant situés à une même extrémité et le troisième à l'autre bout (Chang et Faine, 1970). Ils sont fixés par un corps basal et entrelacés avec le cylindre protoplasmique. Les deux extrémités libres sont orientées vers la partie médiane de l'organisme mais ne se chevauchent pas (Hovind-Hougen, 1981 ; Berech, 1989). Les flagelles correspondent à l'appareil locomoteur de la bactérie et permettent aux leptospires la réalisation des mouvements de contraction et de rotation.

Le cylindre protoplasmique :

C'est le corps cellulaire de la bactérie, il est de forme hélicoïdale et entouré par une membrane peptidoglycannique trilamellaire avec une couche la plus externe aussi large que la couche interne. Son épaisseur est de 7 nm (24) (Legrand, 2007). Le cylindre comprend un cytoplasme sans mitochondries, un noyau et deux chromosomes circulaires de taille inégale (4 500 kb et 350 kb) (Andre-Fontaine, 2003).

c) Morphologie des leptospires en division

D'après Hovind-Hougen, 1981, le microscope électronique ne peut nous permettre d'observer que les leptospires se divisent de façon transversale. Le mécanisme commence par l'apparition de deux nouveaux courts filaments axiaux insérés l'un près de l'autre dans la partie médiane de la bactérie. Chaque nouveau flagelle est orienté vers les extrémités subterminales de la cellule et vers celle du flagelle plus âgé correspondant. Ensuite, il y'a invagination de la membrane peptidoglycannique entre les deux filaments nouvellement formés entraînant la séparation des deux nouvelles cellules à l'intérieur d'une enveloppe commune.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Enfin, la séparation aura lieu des deux nouvelles cellules après invagination de l'enveloppe externe.

d) Particularité génétique des leptospires

Les avancées sur le génome bactérien ont mis en évidence chez les leptospires la présence de deux chromosomes circulaires de taille inégale pour les espèces pathogènes et trois chromosomes pour des espèces saprophytes (Legrand, 2007).

Tableau 5 : Taille des chromosomes de quelques souches de *Leptospira* (Picardeau et al., 2009).

Tailles espèces	Chromosome1=C1 (paires de bases)	Chromosome2=C2 (paires de bases)	Chromosome3=P74 (paires de bases)
<i>L. borgpetersenii</i>	3 614 456	317 335	
<i>L. interrogans</i>	4 277 185	350 181	
<i>L. biflexa</i>	3 603 977	277 995	74 116

L. interrogans et *L. borgpetersenii* ont de nombreux gènes communs, mais absents chez *L. biflexa*, ce qui renforce le fait que ces gènes jouent un rôle dans la pathogénie (Picardeau et al., 2009 ; Adler et al., 2011).

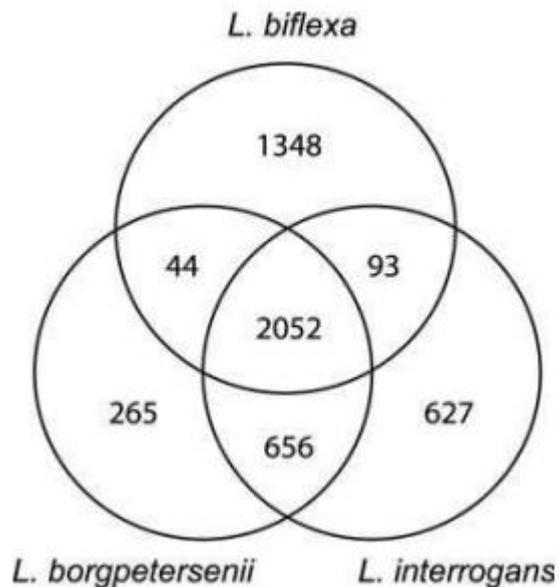


Figure 4 : Diagramme de Venn permettant de visualiser les gènes uniques ou partagés entre ces 3 leptospires (Picardeau et al., 2009).

Les leptospires et la leptospirose bovine

Le grand chromosome est un plasmide et le petit chromosome n'est pas un plasmide du fait qu'il contient le gène *asd* codant pour l'enzyme aspartate bêta semi-aldéhyde déshydrogénase employée dans la biosynthèse des acides aminés et de la paroi (Euseby, 2009).

3. Caractères bactériologiques

a) Métabolisme et culture des leptospires

Les leptospires sont des bactéries aérobies strictes, catalase positive et/ou oxydase positive et chimio-organotrophe (Levett, 2001), qui utilisent des acides gras à longue chaîne (au moins 14 atomes de carbone) comme seule source de carbone et d'énergie et sont apportés par l'hydrolyse des esters de Tween 80, métabolisés ensuite par β oxydation. Ils sont incapables de métaboliser les hydrates de carbone et ne nécessitant pas d'acides aminés pour la croissance, excepté la glutamine et l'asparagine (Berech, 1989). Les leptospires n'incorporent pas les bases pyrimidiques et l'adjonction de 5-fluoro-uracile (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) est mise à profit pour rendre partiellement sélectifs les milieux de culture (Euseby, 1999).

Les déchets produits du métabolisme des acides gras sont détoxifiés par l'utilisation de l'albumine sérique par la bactérie (Cinco, 1981). Les leptospires ont besoin d'ammonium comme seule source d'azote (Berech, 1989 ; Perolat et Baranton, 1990 ; Cinco, 1990 ; Levett, 2001). En culture, cet élément est apporté sous forme de sels d'ammonium, d'acides aminés qui subiront une désamination. L'urée peut également être utilisée comme source d'azote, ce qui pourrait expliquer le tropisme des leptospires pour les tubules rénaux (Lupo, 2002).

Parmi les autres facteurs de croissance, signalons les vitamines, notamment B1 et B12 (Choy et al., 2007), ainsi que le phosphate, le calcium, le magnésium et surtout le fer qui sont indispensables (Faine et Stallman, 1982 ; Adler et Moctezuma, 2010). Certaines leptospires sont halophiles et nécessitent un apport en sodium (Lupo, 2002).

Les conditions physico-chimiques favorables au développement des leptospires doivent être les suivants : une protection vis-à-vis de la lumière (obscurité), un pH légèrement alcalin (pH allant de 7,2 à 7,6), une température de 28°C avec un intervalle allant de 10 à 37°C (Andre-Fontaine et Ganiere, 1992 ; Ellis, 1992).

Ainsi, à partir de ces éléments, Ellinghausen et McCullough créent en 1965 un milieu de culture appelé le milieu d'EM (Cinco, 1981). Ce milieu a ensuite été modifié par Johnson et Harris, qui est maintenant connu sous le nom de tween-albumine ou d'Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (milieu EMJH) et est le milieu le plus utilisé actuellement par les laboratoires (Ristow, 2007). La contamination par d'autres bactéries est à éviter à tout prix, notamment en médecine vétérinaire où les bactéries contaminantes sont plus abondantes.

Les leptospires et la leptospirose bovine

L'ajout de certaines substances comme la néomycine, du sulfathiazole et la cycloheximide a permis d'éviter cette contamination. En outre, seules les souches saprophytes sont résistantes à la 8-azaguanine (225 µg/ml) (Cinco, 1981 ; Perolat et Baranton, 2000). Les leptospires ont un temps de génération lent (temps de doublement de 4 à 5 heures pour les serovars saprophytes, et de 8 à 12 heures pour les serovars pathogènes). Par conséquent, leur culture est lente et difficile, leur incubation dure couramment 3 à 4 semaines. En pratique l'isolement du leptospire serovar Hardjo à partir de l'hôte prend 3 à 4 mois. Les colonies se développent sous la surface du milieu.

L'azote liquide permet le stockage des cultures de leptospires à long terme et la conservation de la virulence des souches (Adler et Moctezuma, 2010).

4. Caractères antigéniques, immunologiques et allergiques

a) Propriétés antigéniques

Les différents constituants de la bactérie ont des propriétés antigéniques.

En premier lieu, l'enveloppe externe porte un élément très immunogène qui est le lipopolyoside-like-Substance ou « LLS », sa constitution est proche de celle du LPS « lipopolysaccharide » des bactéries à Gram- mais sans même effet endotoxinique (Perolat et Baranton, 2000). Il est un ensemble d'antigènes lipopolysaccharidiques, ces derniers portent d'épitopes dont la répartition varie selon les serovars. L'utilisation d'anticorps monoclonaux vont permettre d'établir des schémas de classification des serovars par réaction d'agglutination (Guerreiro et al., 2001). Ainsi, les anticorps à action agglutinante produits contre les déterminants antigéniques du LLS sont spécifiques d'un serovar, au mieux d'un serogroupe. 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. D'après Bharti et collaborateurs, en 2003, le LLS active les macrophages via le récepteur (TLR) 2 alors que les bactéries Gram négatif activent le (TLR) 4. Cela serait dû à la particularité du lipide A qui le compose et qui est reconnu par les cellules de l'immunité innée des espèces de rongeurs réservoirs des leptospires, mais pas par celle de l'homme (Nahori et al., 2005).

Des protéines transmembranaires de la membrane externe sont exprimées lors d'infections : par exemple, OmpL1, LipL32, LipL41 ont été décrites. LipL41 et OmpL1 sont hautement conservées chez les leptospires pathogènes et sont capables d'induire ensemble une réponse immunitaire protectrice (Adler et Faine, 2002).

Les leptospires et la leptospirose bovine

humorale plus spécifique responsable de la lyse des leptospires présents (Heath et Johnson, 1994). Par la méthode ELISA, ces IgG peuvent être décelés six mois après la vaccination et douze mois après une exposition naturelle.

Les leptospires peuvent échapper au système immunitaire quand ils sont localisés dans les tubules rénaux essentiellement ou dans des tissus protégés du système immunitaire comme les yeux ou le cerveau (Heath, 1999). Cependant, l'agglutination des titres en anticorps n'est pas proportionnelle à la protection (Coyne et al., 2001).

c) Propriétés allergiques

L'injection intradermique d'un allergène des leptospires « leptospirine » a permis d'obtenir une réaction d'hypersensibilité retardée et spécifique, elle est présentée sous forme d'un érythème dans les 8h à 24h si les animaux sont positifs (Schonberg, 1981 ; berech, 1989), cette propriété a été utilisée pour diagnostiquer la leptospirose par allergie cutanée sur des lapins et des porcs.

En effet, le test intradermique n'est pas utilisé pour diagnostiquer une infection par la leptospirose (Hovind-hougen, 1981) pour les raisons suivantes : obtention d'un résultat positif même en présence des souches de leptospires saprophytes comme *L. biflexa* et l'injection intradermique de l'allergène entraîne dans certain temps l'apparition des anticorps dans le sang et ceci jusqu'à 6 à 8 semaines après la réalisation du test intradermique créant donc des problèmes de faux positifs.

III. Pathogénie

1. Conditions de l'infection

a) Facteurs tenant au pouvoir pathogène des leptospires

✚ Notion de dose infectieuse :

Le pouvoir pathogène des différents serovars n'est pas homogène. Cependant, la pénétration d'une quantité suffisante de leptospires pathogènes dans l'organisme de l'hôte est une condition pour que l'infection se développe. Si ceux-ci sont en quantité insuffisante, il n'y aura pas d'infection possible (Andre-Fontaine, 2004).

✚ Pouvoir pathogène naturel :

Chaque espèce tend à être associée à un serovar particulier. Par exemple les bovins sont généralement associés au *Leptospira hardjo*. Néanmoins, un même hôte peut être infecté par plusieurs serovars, de même qu'un même serovar peut se trouver chez plusieurs espèces. En effet, quand un hôte est infecté accidentellement, les signes cliniques exprimés sont plus sévères et la phase d'invasion est d'une durée plus courte (Wohl, 1996).

Les leptospires et la leptospirose bovine

Origine du pouvoir pathogène :

❖ La morphologie et la mobilité particulière des leptospires :

leur confèrent la capacité de se mouvoir dans des milieux de viscosité élevée, contribuant à leur pathogénicité (Perolat et Baranton, 2000), ce qui leur permet de franchir les barrières cutanéomuqueuses ou d'envahir des milieux denses comme l'humeur aqueuse ou le corps vitré chez l'homme et le cheval. En effet, les leptospires franchissent les points d'entrée sans créer de dégâts ou de réaction inflammatoire par des mouvements qui sont dites « en tire-bouchon ». Cette mobilité permet de plus l'échappement aux mécanismes de défense humorale et cellulaire de l'hôte. Bharti et collaborateurs, 2003, ont montré que sur les 4768 gènes identifiés, au moins cinquante interviennent dans la mobilité des leptospires. Ce qui montre l'importance de la mobilité.

❖ Capacité invasive des leptospires :

L'attachement des leptospires à la membrane extracellulaire de l'hôte est un caractère important pour une souche pathogène. En effet, plus une souche est virulente, plus son adhésion à cette membrane est importante et l'inverse est correcte (Toroshihiro et Ryo, 1987). Thomas et Higbie, en 1990, ont avéré que la température influence sur l'adhésion. En effet, une augmentation de la température s'accompagne d'une augmentation de l'adhésion avec un pic d'attachement sur des cellules rénales à une température de 37°C. Au contraire à 4°C, cette adhésion est réduite de 95% comparée à celle à 30°C.

Plusieurs éléments interviennent dans l'adhésion. En effet, un certain type d'adhésine, les endostatines, qui font partie des OMPs (les protéines de la membrane externe), ont un rôle dans l'interaction avec la fibronectine et la laminine de la matrice extracellulaire de l'hôte d'une part, et dans la liaison avec le facteur H du complément d'autre part. Les endostatines sont présentes uniquement chez les souches pathogènes (Stevenson et al., 2007). Aussi, les protéines de surfaces immunoglobuline-like (ligA, ligB et ligC), la laminine, le collagène et l'élastine ont rôle dans l'adhésion. La protéine ligB en particulier a l'aptitude de se lier au fibrinogène et de réguler la thrombose et la fibrinolyse, ce qui explique les symptômes observés lors de leptospirose aiguë (hémoptyisie, thrombocytopénie) (Lin et al., 2011). En revanche, d'après Adler et collaborateurs, 2011, malgré que ces protéines soient présentes uniquement chez les espèces pathogènes, elles ne sont toutefois pas indispensables à la virulence. D'autres éléments interviennent dans l'adhésion comme la lipoprotéine de surface loa22 et la protéine lipL32 (Hoke et al., 2008). Ces protéines bactériennes jouent ainsi un rôle majeur dans la colonisation des tissus hôtes.

Les leptospires et la leptospirose bovine

❖ Caractère pathogène de certains éléments constitutifs des leptospires :

Les facteurs de virulence des leptospires résident essentiellement dans le lipopolysaccharide (LPS) et dans les protéines de la membrane externe (OMPs). En effet, le LPS présente une activité endotoxinique controversée. Il stimule la phagocytose et la production de cytokine TNF alpha (Tumor Necrosis factor) par les monocytes humains, ainsi, il est responsable de formation des agglutinations à l'origine d'une thrombocytopénie, par son stimulation et l'adhésion des polynucléaires neutrophiles aux cellules endothéliales et aux plaquettes (Levett, 2001). Le LPS entraîne la libération de médiateurs pro-inflammatoires et de cytokines par sa fixation sur les récepteurs CD 14 de la surface des macrophages et monocytes.

D'autre part, le LPS induit l'apoptose de lymphocytes de la rate après avoir réalisé une activation non spécifique des cellules B (Isogai et al., 1998).

D'après Barnett et collaborateurs, 1999, la présence de LPS, une porine ompL1 et certaines lipoprotéines dont LipL41 dans la lumière des tubules rénaux 10 jours et 28 jours post infection est indicateur que ces composants auraient un rôle dans l'induction et la persistance des néphrites interstitielles leptospirosiques.

❖ Substances pathogènes :

Les toxines des leptospires se résument à des hémolysines (des phospholipases ainsi que des sphingomyélinases présentes dans la majorité des serovars pathogènes), une collagénase et des protéases.

En effet, l'hémolyse est causée par des phospholipase (commune à toutes souches pathogènes ou non des leptospires) et la sphingomyélinase C présente chez certaines souches pathogènes, comme *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. Selon les souches, ces sphingomyélinases sont sécrétées ou faire partie de la membrane externe des leptospires. Les études montrent une certaine homologie dans les séquences codant cette sphingomyélinase C et celles codant pour la β-hémolysine de *Staphylococcus aureus* et 3 autres sphingomyélinases de certaines souches de *Bacillus cereus*. Les sphingomyélinases ont pour cible, les érythrocytes et certainement d'autres cellules dont la membrane est constituée de phospholipides (Bernheimer et Bey, 1986). Et par la lyse de ces cellules, les sphingomyélinases ont également un rôle dans la libération et l'obtention du fer et des acides gras, nécessaires aux leptospires. Ainsi les produits de dégradation des sphingomyélinases pourraient avoir un rôle en tant que second messenger (Bernheimer et Bey, 1986 ; Segers et al., 1990).

Les leptospires et la leptospirose bovine

Enfin, une autre catégorie d'hémolysines, des protéines homologues à des protéines animales ont un rôle important dans l'hémostase (acétylhydrolase du facteur PAF « platelet activating factor », facteur Von Willebrand) ont été découvertes et expliquent les cas sévères d'hémorragie et d'hémoptyisie observés lors d'infection par *L. interrogans* (Ren et al., 2003). En outre, les leptospires utilisent l'urée comme principale source d'azote, pour cette raison elles présentent une affinité pour la lumière des tubules rénaux. Les serovars pathogènes possèdent même une activité uréasique pour maintenir un pH alcalin qui leur est favorable (Bontemps, 2012).

En effet, il existe une possibilité d'une pénétration intracellulaire. Des leptospires ont été observés à l'intérieur de cellules rénales et hépatiques, de manière *in-vivo* mais cela n'a pas été prouvé *in vitro* (Bontemps, 2012).

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

Il est important de signaler que, la plupart des espèces animales sont dites réceptives, c'est-à-dire les leptospires peuvent se multiplier une fois entrées dans leur organisme. En revanche, tous les animaux ne sont pas sensibles à présenter la maladie ; c'est le cas de certains rongeurs et des lagomorphes qui peuvent juste héberger le germe. Mais les animaux sensibles souffrent de la maladie à des degrés différents selon l'espèce touchée, par exemple des symptômes de forme aiguë chez l'homme et le chien et souvent chronique chez les ruminants et les porcs (Legrand, 2007).

L'expression des symptômes sera diverse à l'intérieur d'une même espèce, comme le bovin, la réaction de l'hôte envers l'infection est variables selon les facteurs suivants :

- ❖ Le statut immunitaire de l'hôte : Les individus immunodéprimés à cause d'une maladie intercurrente comme la diarrhée virale bovine (BVD) ou par la rhinotrachéite bovine infectieuse (IBR), de même que les animaux nouvellement introduits ou encore les primipares seront beaucoup plus sensibles à l'infection (Andre-Fontaine, 2003).
- ❖ L'état vaccinal : Dans les pays pratiquant la vaccination à grande échelle (les Etats-Unis, les Pays-Bas, le Royaume-Uni et l'Espagne), la vaccination peut interférer sur le développement de l'infection. En effet, un animal correctement vacciné est moins susceptible de développer de la maladie, mais il peut l'exprimer lors de son exposition à un serogroupe autre que vaccinal (Berech, 1981).
- ❖ La réaction immunitaire de l'hôte : Lorsqu'elle n'est pas adéquate, des symptômes importants seront présents, allant jusqu'à la mort de l'animal. Si une réponse immunitaire est efficace, on peut avoir une destruction des leptospires et guérison de

Les leptospires et la leptospirose bovine

l'hôte. Cependant, les leptospires sont capables d'échapper au système immunitaire en colonisant les tubules rénaux proximaux (Kossey, 2004 ; Hugonnard et Francey, 2012 ; Boibieux, 2012).

L'expression clinique de la maladie dépend à la fois du caractère pathogénique et de la spécificité de la souche infectieuse mais aussi des pouvoirs de défense de l'animal infecté.

2. Étapes de l'infection

Le schéma général de l'infection leptospirosique se déroule en plusieurs étapes. D'abord, en une phase de contamination qui correspond à la pénétration des germes dans l'organisme hôte. Puis, en une phase d'invasion au cours de laquelle les leptospires se multiplient et entament leur migration dans le sang. Enfin, une phase de colonisation de différents organes cibles à lieu, dont le foie et les tubules rénaux dans lesquels les leptospires vont se multiplier et être excrétées dans le milieu extérieur (Levett, 2001).

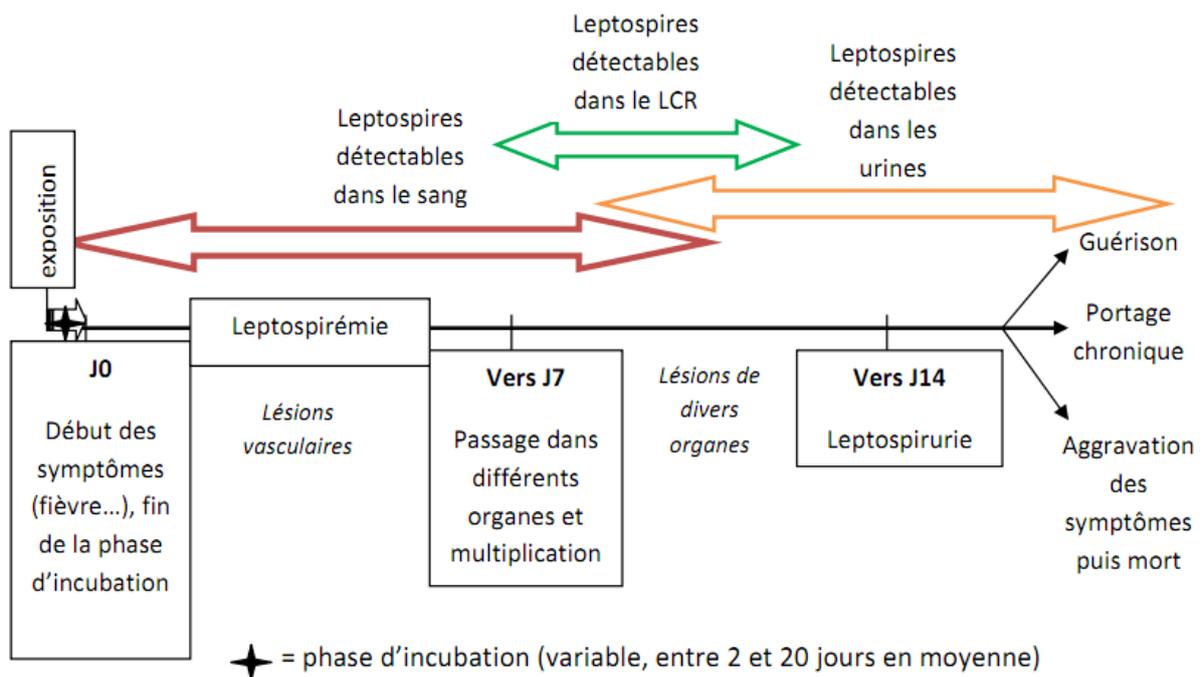


Figure 6 : Déroulement d'une infection leptospirosique de manière schématique (Levett, 2001. Boibieux, 2012).

a) Phase de contamination :

La pénétration des leptospires dans l'organisme se fait principalement par voie cutanéomuqueuse (Andre-Fontaine, 2004). En effet, la voie transcutanée regroupe : présence de plaies, d'égratignures, d'excoriations ou de lésions plus profondes, aussi à partir d'une peau saine si cette dernière est en contact suffisamment longtemps avec l'eau contaminée. Les

Les leptospires et la leptospirose bovine

zones de peau fine comme l'oreille ou les espaces interdigités sont considérées également des voies d'entrées.

Les muqueuses, même saines regroupent : buccales, oculaires, nasales et génitales. La transmission vénérienne et le passage des leptospires de la mère au fœtus sont possible (Coghlan et Bain, 1969 ; Colin, 2000). En outre, des études ont montré une contamination digestive après l'ingestion d'un aliment souillé par les leptospires. En effet, un chien thaïlandais a été atteint de la leptospirose suite à la consommation de viande crue, ou un cas humain après consommation de jambon en Suisse. Cependant, ces cas de transmission par voie alimentaire sont exceptionnels (Coghlan, 1981 ; Sykes et al., 2011). La présence du germe dans la salive est rare, la morsure seule ne suffit souvent pas à transmettre des leptospires. Généralement, la contamination se fait via des urines, des eaux contaminées et des végétaux souillés et ne se fait pas au contact direct des animaux (Colin, 2000 ; Terpstra et al., 2004 ; Goldstein, 2010).

b) Phase d'invasion :

Après le passage de la barrière cutanéomuqueuse, les leptospires entrent dans la circulation sanguine qui est un milieu propice à leur multiplication. Cette phase correspond à la leptospirémie ou bactériémie et peut durer de 4 à 10 jours (Millet, 1998 ; Pages, 2001), c'est à ce stade qu'il est possible de réaliser une hémoculture pour faire le diagnostic de leptospirose. Lors de cette phase, le leptospire et ses toxines provoquent des lésions vasculaires différentes et ça dépend du serovar impliqué ainsi que de la teneur des cellules érythrocytaires de l'hôte en phospholipide (Andre-Fontaine et Ganiere, 1992). Ces lésions varient d'une vascularite, saignements, parfois CIVD (coagulation intravasculaire disséminée), thrombocytopénie, hyperfibrinolyse et une splénomégalie (Andre-Fontaine et Ganiere, 1992 ; Pages, 2001). Les premiers signes généraux sont souvent de la fièvre, une léthargie, faiblesse et une anorexie (Greene, 1984).

Il faut noter que cette phase passe inaperçue chez la plupart des rongeurs (Andre-Fontaine, 2004).

Après la phase de bactériémie, les leptospires vont ensuite diffuser vers les organes cibles et notamment dans les organes du système réticulo-endothélial (foie et les reins).

c) Phase de multiplication :

Elle correspond à la colonisation tissulaire et atteinte de divers organes par les leptospires. En effet, ces derniers se concentrent dans le foie et les reins qui sont les organes les plus ciblés, mais il y'a d'autres organes touchés comme : les organes génitaux, la rate, le cerveau, les poumons, le tube digestif, les yeux, etc...(Millet, 1998). Les leptospires provoquent des lésions vasculaires au niveau de ces tissus qui sont à l'origine des phénomènes ischémiques variables selon l'organe : dysfonctionnement des hépatocytes se manifestant cliniquement par un ictère et des manifestations hémorragiques (défaut de synthèse des facteurs de coagulation d'origine hépatique), nécrose des tubules rénaux et dysfonctionnement tubulaire (tubulonéphrite interstitielle), myosite, méningite, avortement, etc...

L'accumulation des leptospires dans les tubules rénaux conduit l'animal à en devenir excréteur, cette leptospirose apparaît vers 10-15 jours après infection (Haddad et al., 2008), il devient alors porteur et éventuellement excréteur, ce qui constitue un risque épidémiologique majeur. Même si l'animal survit à l'infection et est cliniquement guéri, il peut rester porteur de leptospires pendant plusieurs mois.

En même temps à cette infection tissulaire se développe une réaction immunitaire spécifique (apparition des anticorps sous forme d'IgM puis d'IgG, qui permettront l'osponisation et la phagocytose du leptospire par les macrophages) (Vautier, 1998 ; Adler et Moctezuma, 2010), d'après Andre-Fontaine, 2002, Ces anticorps agglutinants ne sont détectables qu'à partir d'une dizaine de jours après l'infection. Cette réaction est à l'origine de certains phénomènes immunopathologiques comme l'uvéite chez le cheval et la néphrite interstitielle par lésion glomérulaire chez le chien. Ainsi, elle provoque une atteinte hépato-rénale sévère associée à des signes cutanés ou encore méningés (Berech, 1989).

IV. Symptômes et lésions

1. Tableau clinique

Les manifestations cliniques de la leptospirose sont protéiformes, elles dépendent des caractères de la souche infectante selon le serogroupe mis en cause et des capacités de défense de l'animal infecté (Andre-Fontaine et Ganiere, 1992 ; Ellis, 1992). La durée d'incubation est en moyenne d'une à deux semaines (entre deux jours et trois semaines pour les extrêmes (Guerra, 2009).

Chez les bovins, la forme clinique habituellement décrite est le plus souvent infra clinique (Ellis, 1981). En effet, les formes subaiguës et chroniques sont dominantes mais les formes suraiguës et aiguës sont aussi présentes.

Les leptospires et la leptospirose bovine

a) **Forme suraiguë**

La mort est foudroyante et survient brutalement en quelques heures. Les symptômes n'ont pas vraiment le temps de s'installer. Les jeunes sujets sont plus touchés que les sujets âgés (Pages, 2001 ; Andre-Fantaine, 2004).

Les souches responsables sont souvent non adaptées à l'espèce comme les serogroupes : Ictérohaemorrhagiæ, Pomona, Grippytyphosa (Ellis, 1981).

b) **Formes aiguës**

D'après Faine et collaborateurs, 1999, dans certains cas, chez les veaux notamment et par le serovar Pomona, l'infection se manifeste par un syndrome fébrile, de l'anorexie, une anémie hémolytique, de l'ictère, une hémoglobinurie, une congestion pulmonaire et parfois une méningite et de la mortalité chez environ 15% des cas. En effet, des retards de croissance manifestes et des lésions rénales suffisantes pour induire des saisies à l'abattage sont présentées chez les animaux convalescents.

Un cadavre ictérique avec une distension de la vésicule biliaire, une splénomégalie et une glomérulopathie aiguë sont des lésions décrites par l'autopsie (Gaumont, 1983 ; Brugere-Picoux, 1994 ; Alagninouwa et Becker, 2012).

Chez les vaches laitières, le premier symptôme observé est une chute soudaine et importante de la production laitière pendant 2 à 10 jours et souvent une mammite atypique, avec tous les quartiers de la mamelle atteints et celle-ci devient flasque (Ellis, 1981), et un lait grumeleux, rosâtre, teinté éventuellement de sang. Le tarissement se fera en 3 à 4 jours (Thiermann, 1984).

L'analyse bactériologique de lait ne révèle aucun germe classique responsable de mammites mais on peut isoler des leptospires. Ainsi, l'analyse cytologique montre un nombre très élevé de leucocytes. Des tests ont été mis au point pour rechercher par ELISA les anticorps spécifiques de *L. hardjo* dans du lait de mélange. Cette forme clinique est appelée le « milk-drop syndrome ». Le traitement n'a aucune influence sur l'évolution de la maladie et les vaches guérissent relativement vite et la production lactée retrouve la normale en une quinzaine de jours (Brown et al., 1995 ; Alagninouwa et Becker, 2012). Certaines complications vers une forme ictéro-hémoglobinurique peuvent être observées.

Parallèlement à cette mammite, des signes généraux vont apparaître, une augmentation de la température rectale (40 à 41 °C), des muqueuses ictériques ainsi qu'une hémoglobinurie peuvent apparaître associées à une polyurie.

Les leptospires et la leptospirose bovine

c) Formes subaiguës ou chroniques

La forme chronique de la leptospirose touche surtout les femelles et se manifeste par des troubles de la reproduction (Andre-Fontaine, 2003). Ces troubles se traduisent par des avortements et une baisse de la fertilité.

a- Avortements :

Chez la vache gestante, l'infection par *Leptospira interrogans* serovar Hardjo entraîne un avortement dans un délai de 4 à 12 semaines (Ellis, 1998), la naissance de fœtus mort-né ou de veau faible, infecté et présentant une dégénérescence du foie ou des reins (Bolin et al., 1999). D'après Giles et collaborateurs, 1983, les survivants deviennent fréquemment des porteurs chroniques. Les avortements se déroulent dans le dernier tiers de la gestation (Tainturier et al., 1997b). Une rétention placentaire est accompagnée chez au moins 20% des vaches qui avortent entre octobre et janvier.

Les leptospires vont migrer par le biais du placenta de la mère infectée vers le fœtus. *L. borgpetersemii* serovar Hardjo montre une adaptation particulière pour survivre dans le tractus génital de la vache. Il est impliqué dans les avortements entre le 4^{ème} et le 8^{ème} mois de gestation. Ces leptospires ont été mis en évidence dans des cellules trophoblastiques. Ces dernières étaient en regard des villosités cotylédonnaires, ce qui permettait une contamination du placenta. Le fœtus peut alors être contaminé par le biais de la veine ombilicale (Murray, 1999).

D'autres germes peuvent être associés à l'infection leptospirosique en cas d' avortements chez la vache, comme les agents bactériens tels que les campylobacters (Ellis, 1981) ou parasitaires comme *Neospora caninum* (Otter et Wilson, 1997).

Les avortons ne présentent pas de lésions spécifiques pour l'infection par les leptospires. Les lésions se manifestent généralement par un ictère des tissus sous cutanés de l'avorton. En outre, les lésions des fœtus nés vivants se manifestent par des pétéchies sur la surface des poumons, du cœur, de la plèvre pariétale, du thymus, et de la thyroïde (Berger, 1999).

Autre aspect de la maladie comme l'endométrite qui est causée par la naissance à terme des veaux malades avec non délivrance (Tainturier et al., 1997). Cependant, à la naissance, la taille et le poids de ces veaux sont inférieurs à la norme associant de l'anoxie et des cas de mortalité en post-partum.

b- Diminution de la fertilité

Dhaliwal et collaborateurs, en 1996, ont révélé le rôle joué par *L. interrogans* serovar Hardjo dans la baisse des performances de reproduction après avoir analysé des résultats de reproduction du cheptel bovin pendant quarante ans. Ils ont trouvé que les mauvais bilans de reproduction sont associés avec les années où l'infection leptospirosique a été diagnostiquée.

En France, les problèmes de fertilité sont causés par le serovar Hardjo. Ce dernier entraîne un allongement de la durée vèlage-insémination fécondante et une augmentation de nombre d'inséminations par insémination fécondante (Guitian et al., 1999).

Dhaliwal et collaborateurs, en 1997, ont mesuré les valeurs de la progesteronémie à différentes périodes du cycle sur des animaux séropositifs et séronégatifs pour *L. interrogans* serovar Hardjo a fin de connaître la cause des troubles de la fertilité. Ils ont trouvé que la progesteronémie des animaux séropositifs était significativement plus basse que celle des animaux séropositifs au milieu de la phase lutéale ce qu'a pu expliquer ces troubles de fertilité. Cependant, la pathogénie des leptospires reste encore difficile à appréhender.

d) Aspect zoonotique

L'homme est sensible à tous les serovars de *Leptospira interrogans* sensus lato et aucun symptôme n'est pathognomonique de tel ou tel serovar, bien que certains aient tendance à être associés avec une certaine gravité de la maladie.

La leptospirose chez l'homme se représente généralement sous deux formes ; une forme subaiguë ou pseudo-grippale et une forme ictérique ou pluriviscérale avec une incubation généralement de 5 à 15 jours, mais varie entre 2 et 30 jours.

♣ **Forme anictérique**

C'est la forme subclinique et représente 80% des cas de la leptospirose humaine, elle est caractérisée par des symptômes peu spécifiques qualifiés d'un syndrome grippal avec :

- ◆ un état fébrile biphasique d'apparition brutale, avec frissons, courbatures et fièvre à 39-40°C.
- ◆ des douleurs abdominales, musculaires, articulaires et maux de tête
- ◆ des suffusions conjonctivales et des pétéchies sont souvent notées.
- ◆ un érythème cutané transitoire et une hépato-splénomégalie.

Ce syndrome pseudo-grippal, pouvant réapparaître après 3-4 jours de rémission avec des symptômes plus intenses.

Cette forme peut être due à *L. Icterohaemorrhagiae*, même s'il n'y a pas d'ictère.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Lorsque l'homme est atteint par cette forme, la mortalité sera quasi nulle et en absence d'antibiothérapie, les signes cliniques régressent en 5 à 6 jours après la production des anticorps protecteurs (Levett, 2001 ; Brown et Prescott, 2008 ; Boibieux, 2012).

♣ **Forme ictérique**

La forme ictérique sévère ou maladie de Weil est une forme moins fréquente, entre 5 à 10% des cas (plutôt 20% en France). Elle est classiquement due à *L. Icterohaemorrhagiae*. Le taux de mortalité est relativement élevé entre 2 et 30% selon les zones géographiques (environ 8% en France) ce qui explique la gravité de cette forme par rapport à la précédente car les signes cliniques évoluent rapidement, et les patients sont souvent pris en charge trop tard (Levett, 2001 ; Terpstra al , 2004 ; Boibieux , 2012).

Les signes cliniques de cette forme débutent par un syndrome pseudo-grippal comme précédemment décrit, puis c'est dans la deuxième phase qu'apparaissent des signes d'atteintes divers :

- ◆ ictère de type cholestatique dit « flamboyant » car il y a une surcoloration jaune des muqueuses, déjà congestionnées, par une bilirubine conjuguée ou mixte. Il est pathognomonique au niveau de la sclère oculaire ;
- ◆ une insuffisance rénale aiguë (néphrite tubulo-interstitielle aiguë très fréquente, dans 16 à 40% des cas). Elle se traduit cliniquement par une oligurie, voire anurie, hématurie et une modification des paramètres biochimiques. L'oligurie est le signe d'un pronostic très sombre et nécessite souvent une dialyse ;
- ◆ des hémorragies : hémorragies digestives, purpuras et épistaxis ;
- ◆ des troubles respiratoires de type toux, dyspnée, hémoptysie et détresse respiratoire ; Des hémorragies pulmonaires, essentiellement intra-alvéolaires peuvent entraîner la mort du patient.
- ◆ des problèmes cardiaques : péricardite, myocardite, collapsus et des anomalies sur l'ECG (troubles de la conduction auriculo-ventriculaire) ;
- ◆ une méningite lymphocytaire avec myalgie, maux de tête, raideur de la nuque et des vomissements ;
- ◆ des avortements, des morts fœtales et néonatales ont été décrits mais sont rares.

(Levett, 2001 ; Sertour et al., 2002 ; Bharti et al., 2003 ; Langston et Heuter, 2003 ; Jaureguiberry et al., 2005).

Les leptospires et la leptospirose bovine

2. Tableau lésionnel

a) Lésions macroscopiques

- Lésions générales :

Lors de l'examen nécropsique, on peut mettre en évidence un ictère généralisé, des hémorragies multiples et des pétéchies ou ecchymoses localisées sur la peau, les muqueuses internes comme externes, les séreuses et les parenchymes (Schoenaers et Kaeckenbeeck, 1971). Une coloration jaunâtre très nette est présentée sur l'ensemble des viscères, des cavités thoraciques (cœur et poumons) et abdominales (estomacs et intestins) ainsi que la graisse (Perez bonilla et al., 1983).

Rautureau, en 2003, a mentionné la présence d'œdèmes dans le tissu sous-cutané et rétro-péritonéal laissant exsuder une sérosité qui se dessèche, des lésions nécrotiques des extrémités, ou encore des ulcères de la troisième paupière.

En incisant les masses musculaires des membres postérieurs, les muscles squelettiques ont une couleur de chair cuite objectivée. L'urémie provoque des ulcères au niveau de la cavité orale et gastrique (Greenlee, 2004).

- Lésions rénales :

Morphologiquement, les reins vont souvent apparaître tuméfiés, hypertrophiés et congestionnés. Ils peuvent même dans certains cas apparaître hémorragiques. Ces lésions congestives prédominent dans les formes aiguës (Osborne et al., 1976). La surface des reins est lisse, hétérogène avec différentes tâches nécrotiques sombres et sa couleur varie de brun foncé au noir. Il y a aussi la présence d'un œdème péri rénal (Greenlee, 2004 ; Pages, 2001).

- Lésions hépatiques :

Le foie apparaît hypertrophié, friable avec accentuation de sa lobulation, ses lobes sont décolorés (jaune, marron) (Bishop, 1979 ; Pages, 2001 ; Greenlee, 2004). La vésicule biliaire est distendue par une bile pâteuse de couleur noir brillant (Perez bonilla et al, 1983). Les lésions hépatiques sont corrélées à l'atteinte des systèmes enzymatiques hépatiques.

- Lésions fœtales et placentaires :

Pour les avortons, l'autolyse est la cause des lésions non spécifiques observées, ainsi on peut mettre en évidence un ictère des tissus sous-cutanés.

Au contraire, pour les fœtus nés vivants, on va constater des lésions comparables à celles produites par l'anoxie, avec des pétéchies sur la surface de la thyroïde, de thymus, des poumons, du cœur et de la plèvre pariétale. Dans le cas de fœtus avortés par *L. hardjo* ou *L. icterohaemorrhagiae*, des cas de lésions vasculaires sévères essentiellement dans le foie mais

Les leptospires et la leptospirose bovine

aussi à un moindre degré, dans les méninges cérébrales et les septa interlobulaires des poumons ont été observés. Il se produit alors une congestion vasculaire, une nécrose et une hémorragie périvasculaires.

Les cotylédons sont aussi touchés dans le cas d'avortement à *L. pomona*, qui sont apparus jaunâtres et avasculaires de façon uniforme (Berger, 1999).

- Autres lésions :

Au niveau des poumons, on observe des œdèmes secondaire à une pneumonie, congestion et pétéchies sur le parenchyme pulmonaire et quelque fois une hémorragie pulmonaire (Pages, 2001 ; Greenlee, 2004)

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

b) Lésions microscopiques :

Les reins et le foie sont les organes essentiellement concernés par les lésions histologiques.

a- Histologie rénale :

D'après Yang et collaborateurs, en 2002, il y a une néphrite interstitielle aiguë ou subaiguë accompagnée d'une congestion plus ou moins intense du réseau capillaire du rein et d'une intense infiltration cellulaire (polynucléaires) et d'une nécrose des tubules rénaux (figure 07). Ces cellules sont principalement des monocytes, des macrophages, des plasmocytes et des lymphocytes. Les cellules de la bordure en brosse des tubules sont absentes ou réduites et les glomérules sont atteints, ce qui expliquerait la protéinurie observée cliniquement en cas de leptospirose (Levett, 2002).

L'épithélium des tubules contournés proximaux et distaux présente également des lésions. Ceux-ci peuvent présenter des cellules dégénérantes, des granulations hyalines ou des cellules nécrosées. Le glomérule ne présente pas réellement des lésions microscopiques (Kossey-vrain, 2004).

Les leptospires et la leptospirose bovine

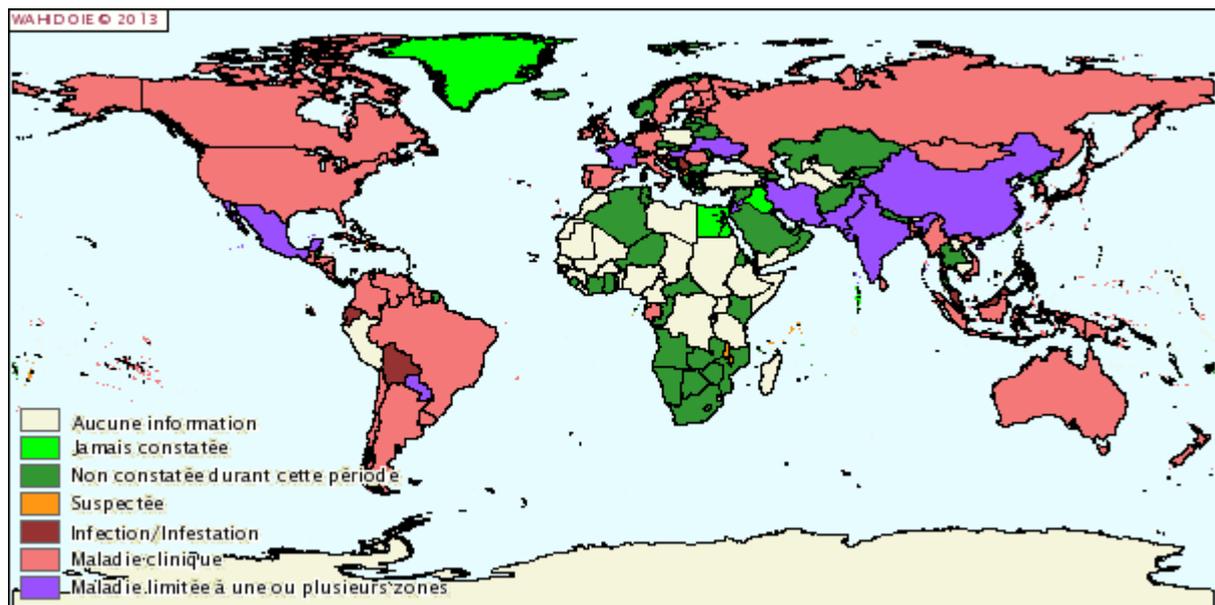


Figure 8 : Distribution de la leptospirose dans le monde pour l'année 2011 d'après l'OIE (site officiel de l'OIE).

On remarque que presque tout le monde est touché par la leptospirose. Cependant, l'incidence de la leptospirose est plus élevée dans les régions tropicales ou chaudes (propice à la survie des leptospires dans le milieu) qu'en zones tempérées. Le manque de données sur le continent africain ne permettant pas de conclure sur la prévalence dans cette région du globe. En effet, il est intéressant de préciser que la localisation géographique est souvent associée à un type précis de leptospires.

L'Algérie comme tous les pays du monde a connu plusieurs cas de leptospirose. En effet, une étude a été faite dans la wilaya de Tizi-ouzou entre 2005 et 2008 par Afiri et collaborateurs, ils ont trouvé 88 cas de leptospirose humaine dont 7.95 % dus au serogroupe Sejroe. Tous les patients sont des éleveurs de bovins. Le taux de létalité dans cette épidémie est de 2.27 %. Une autre épidémie a été déclarée dans la wilaya de Sétif en 2010 où 27 personnes ont été infectées après avoir consommé de l'eau des puits contaminés par le passage de rats, 3 personnes sont décédées et le reste a été hospitalisé et guéri (<http://www.forum-algerie.com/actualite-algerienne>). Dans le monde les derniers rapports indiquent que le taux d'incidence est approximativement de 0,1 à 1/100 000 cas par an pour les climats tempérés et de 10 à 100/100 000, soit une incidence 100 fois plus élevée, en régions tropicales. Lors d'épidémie ou chez les personnes hautement exposées, l'incidence s'élève même à 100/100 000 (Terpstra, 2004). Par exemple l'incidence annuelle peut atteindre 467.8 cas pour un million d'individus à Loei en Thaïlande (Pappas et al., 2008).

Les leptospires et la leptospirose bovine

de Marmara pour déterminer la séroprévalence de leptospirose chez les bovins, a montré que sur 922 sérums examinés par le MAT (Micro Agglutination Test), 31 bovins (3.4%) avaient des titres en anticorps antileptospirosiques supérieurs ou égaux à 100 envers un ou plusieurs antigènes. La séroprévalence selon les serovars individuels était : Hardjo (2.8%), Grippotyphosa (0.4%) et Pomona (0.2%) (Kocabiyik et Cetin, 2004).

Au Québec, le nombre de cas de leptospirose bovine diagnostiqués dans les laboratoires du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ) est en recrudescence. Il est passé de 22 animaux positifs dans 8 fermes en 2005, à 48 animaux positifs dans 24 fermes différentes en 2006, soit deux fois plus d'animaux et trois fois plus de fermes (tableau n° 07).

Tableau 7 : Nombre de bovins testés, de bovins et de fermes positifs en 2005 et en 2006 (Vincent et al., 2007).

Espèce animale	Nombre d'animaux testés		Nombre d'animaux positifs		Nombre de fermes différentes touchées	
	2005	2006	2005	2006	2005	2006
Bovins	474	631	22	48	8	24

Au Brésil, une étude menée sur la séroprévalence bovine a révélé 46.9% de positifs pour le serovar *L. hardjo* sur 379 échantillons de sérum de bovins testés (Lilenbaum et Souza, 2003).

b) Évolution dans le temps :

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

De façon générale, la leptospirose s'exprime sous forme enzootique, néanmoins des formes épizootiques sont aussi déclarées dans quelques épisodes de mammites et/ou d'avortement (Andre-Fontaine et al., 1985a).

Cette maladie présente un caractère saisonnier, Il semblerait ainsi que les valeurs de pluviométrie les plus élevées correspondent avec les pics d'infection, 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 (Levett, 2001). Dans le cas du serovar Hardjo, il semblerait que ce soit les périodes comprises entre les mois d'octobre et janvier-février qui soient les plus propices à l'infection par la leptospirose.

2. Épidémiologie analytique

a) Sources et matières virulentes

1) Sources de la bactérie

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

Il existe de très nombreux animaux susceptibles d'être infectés par les leptospires, dont environ 150 espèces de mammifères (Sykes et al. 2011). Tout animal infecté est une possible source de contamination.

— Les animaux domestiques : les ruminants, les porcins, les équidés et les carnivores peuvent exprimer la maladie, mais surtout des animaux en incubation, porteurs sains qui ont, soit guéri cliniquement de la leptospirose, soit sont porteurs chroniques sans avoir jamais exprimé de symptômes de la maladie. Ces derniers sont les vrais problèmes où 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.

Les hamsters et les cobayes sont des espèces réceptives à la leptospirose, de plus, elles deviennent cliniquement résistantes à partir de l'âge de 4 à 6 mois. Les lagomorphes sont quant à eux naturellement réceptifs, mais peu sensibles (Andres-Fantaines, 2004).

— Les animaux sauvages : de nombreuses espèces sauvages peuvent être des hôtes naturels ou accidentels. 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. Les rongeurs sont le réservoir principal de leptospires et n'ont aucun signe clinique de la maladie. Ils s'infectent en général précocement, par contact entre eux, et excrètent durant toute leur vie les leptospires dans leurs urines. La prévalence d'excrétion augmente avec l'âge de l'animal (Levett, 2001).

Parmi ces rongeurs, on retrouve en premier plan le rat, c'est pour ça que la leptospirose a été nommée la « maladie des égoutiers », ainsi la souris, le campagnol agreste, le mulot, le rat musqué et le ragondin peuvent être contaminants (Michel, 2001 ; Aviat, 2004). Ils sont capables d'excréter un grand nombre de leptospires dans leurs urines, jusqu'à 10^8 bactéries par millilitre, les rongeurs constituent donc une source majeure d'infection (Adler et Moctezuma, 2010).

Les leptospires et la leptospirose bovine

Les marsupiaux, les mammifères insectivores (musaraignes notamment) et les chauves-souris font aussi partie des espèces réservoirs pour la leptospirose (Bunnell et al., 2000), ainsi que le lièvre, le hérisson, les cervidés, les sangliers et les renards (Treml et al., 2003).

La plupart des serovars infectants ont un hôte spécifique et ils ne peuvent pas se répliquer à l'extérieur de cet hôte. Chaque serovar possède une ou plusieurs espèces réservoirs mais peut également avoir un hôte secondaire occasionnel. Le réservoir varie selon les serovars. Les principaux serovars portés par les espèces sauvages et susceptibles de contaminer les bovins sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8 : Réservoirs des différents serovars présents chez les animaux sauvages et les bovins (Bharti et al., 2003).

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

2) Matières virulentes

L'infection leptospirosique commence par une phase de leptospiémie qui dure 4 à 10 jours au cours de laquelle le sang et certains liquides biologiques tels le LCR sont alors virulents, Mais le sang et LCR sont situés 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. Après le 10^{ième} jour, les leptospires vont se localiser dans les différents organes cibles et notamment au niveau des reins à l'origine d'une excrétion massive des bactéries dans les urines.

Les urines deviennent donc la matière virulente par excellence et ce, pendant quelques jours à plusieurs mois. En effet, la persistance des portages rénaux pendant plusieurs mois assure l'émission prolongée des leptospires dans l'environnement, cette persistance dans les reins est liée à leur localisation intra-cellulaire qui les protège très probablement des anticorps produits

Les leptospires et la leptospirose bovine

par la réaction immunitaire humorale de l'hôte et des antibiotiques. La durée et l'intensité de l'excrétion urinaire de leptospires vont être en fonction notamment des serovars impliqués mais aussi de l'espèce et de l'âge de l'animal impliqué. Par exemple, l'élimination urinaire de Canicola est de 3 mois par contre les bovins peuvent excréter des leptospires jusqu'à 20 mois après l'infection lorsqu'il s'agit de hardjo (Andre-Fontaine et al., 1985a). Ainsi, les urines naturellement basiques chez les herbivores ou les urines de carnivores (normalement acides) alcalinisées par un régime alimentaire particulier ou lors d'affection rénale, présenteront un plus grand nombre de leptospires excrétés (Andre-Fontaine et al., 1988a).

Le lait doit également être considéré comme matière virulente. Une transmission verticale de la mère à son petit est possible. Cependant, l'acidification lactique et l'action lytique de certains composants du lait rendent ce dernier peu favorable à la survie des leptospires.

Enfin, les sécrétions et excréments génitaux dont le sperme constituent des matières virulentes potentielles (Kiktenko et al., 1976). Les leptospires peuvent en effet persister jusqu'à cinq mois dans l'utérus gestant et peuvent persister jusqu'à trois mois dans l'utérus non gestant (Thiermann, 1984). Lors d'avortement mais aussi suite à un vêlage à terme sur une vache infectée par la leptospirose, l'excrétion de leptospires dans le milieu extérieur se prolonge pendant environ une semaine (Hathaway et al., 1982), et l'avorton constitue donc une matière virulente. D'après Bielanski et collaborateurs, en 1998, le transfert d'embryons collectés chez une donneuse infectée expérimentalement n'entraîne cependant pas de contamination de la receveuse.

b) Résistance des bactéries

Les milieux électifs du genre *Leptospira* varient ainsi de l'eau ou de la boue aux tissus de mammifères hôtes colonisés durant l'infection chronique ou aiguë (Picardeau et al., 2009).

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, parmi ces conditions la présence d'un environnement liquide, à pH neutre ou légèrement alcalin (pH 7,2 à 8), c'est ainsi que suivant le pH, les produits biologiques contaminés auront un rôle épidémiologique variable. Par exemple, les espèces à urine acide telles que le chien auront une efficacité épidémiologique plus limitée que celles à urine plutôt basique telles que les rongeurs (Andre-Fontaine, 2003). Il doit aussi charger de matières organiques et à l'abri des rayons ultraviolets

Les leptospires et la leptospirose bovine

capables de les inactiver. La température doit être douce, de l'ordre de 20°C, car les leptospires sont sensibles à la chaleur (Luciani, 2004 ; Zunino et Pizarro, 2007). Du fait de ces propriétés, les leptospires sont sensibles à la chaleur (> 60°C), à la salinité, aux ultraviolets, aux désinfectants classiques (alcool, ammoniums quaternaires, aldéhydes), aux pH acides ou très alcalins (>8) et à la dessiccation (INRS, 2009). Ainsi, les températures qui sont proches de zéro sont néfastes et une température de -20°C est fatale aux leptospires (Andre-Fontaine et al., 1985a).

Les leptospires peuvent former des biofilms d'architecture spécifique sur des surfaces abiotiques *in vitro* (figure ci-dessous). Un biofilm est une communauté de cellules vivant en symbiose au sein d'une matrice protectrice qu'elles synthétisent. La formation de biofilms pourrait être l'un des principaux facteurs présidant à leur survie à long terme dans un environnement aqueux, il jouait également un rôle important dans le maintien du portage chronique de *L. interrogans* chez les hôtes réservoirs (Ristow et al., 2008). En effet, Ce biofilm permet aux bactéries de survivre dans des milieux inhospitaliers et de résister aux biocides et antibiotiques.

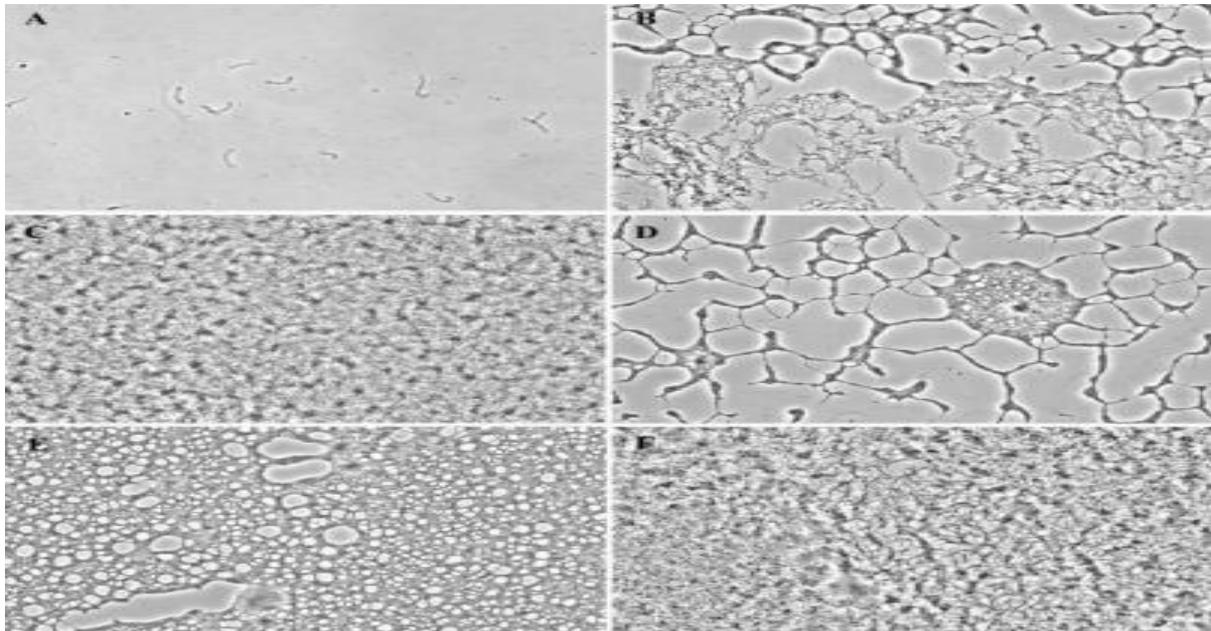


Figure 9 : Biofilm de *L. biflexa* au niveau d'une interface eau/air vu au microscope, A : quelques leptospires isolés au bout d'1h, B : structure formée d'agrégats cellulaires à 24h, C : bactéries attachées à une matrice amorphe à 2j, D : structure moins dense sous le biofilm à 2j, E : agrégats cellulaires avec des zones dépourvues de cellules et de matrice à 4j, F : pellicule richement cellulaire à 4j (Ristow et al. 2008).

Les leptospires et la leptospirose bovine

c) Réceptivité et sensibilité des espèces

- Facteurs dépendant de la souche infectieuse :

Le pouvoir pathogène des leptospires détermine les manifestations cliniques et varie en fonction de la souche infectant les bovins. Il existe des souches 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. En revanche, chaque souche de leptospire correspond une dose infectieuse, qu'est la quantité minimale de bactéries nécessaires pour induire la maladie. En dessous de celle-ci les leptospires ne peuvent pas envahir l'organisme et ne peuvent donc pas déclencher la maladie (Andre-Fontaine et Ganiere, 1992 ; Andre-fontaine et al., 2001).

- Facteurs de réceptivité et de sensibilité des animaux infectés :

Le facteur déterminant la sensibilité de l'hôte est l'espèce. Pour chaque serovar, au moins une espèce hôte assure le rôle de réservoir, contribuant au maintien de la maladie et à sa dissémination. L'hôte principal se caractérise ainsi par sa haute réceptivité et sa faible sensibilité. Ces hôtes sont donc une source potentielle d'agent pathogène pour d'autres animaux dits hôtes accidentels, dont la réceptivité est faible et la sensibilité forte. Les hôtes accidentels développent généralement des symptômes plus marqués que les réservoirs (Langston et Heuter, 2003). Ainsi, le chien est une espèce très sensible pouvant présenter des formes létales foudroyantes, alors que le rat ne présentera aucun symptôme et les bovins sont une espèce à sensibilité intermédiaire (Andre-Fantaine, 2001).

Le sexe est ainsi plus considéré comme un facteur de sensibilité plutôt que comme un facteur de réceptivité. La leptospirose touche beaucoup plus des populations des animaux des femelles que des mâles, et notamment des femelles gestantes.

Un nouveau facteur de sensibilité est présenté par la conduite d'élevage. En effet, l'état sanitaire des troupeaux peut influencer sur la sensibilité des animaux vis-à-vis de l'infection par les leptospires. Cependant, il est avéré que les troupeaux soumis à des épisodes infectieux chroniques tels que le BVD ou à l'IBR vont être plus sensibles à une atteinte par la leptospirose et l'expression de la maladie sera souvent plus sévère que dans le cas de cheptels indemnes de pathologies infectieuses récurrentes.

Les pâturages près des eaux stagnantes, des zones marécageuses et des étangs vont augmenter le risque d'infection des élevages extensifs par les leptospires vue que les cheptels de ce système seront en contact direct avec la source des leptospires. Ainsi, un autre risque pour ce système d'élevage réside dans la cohabitation prolongée avec les espèces de la faune sauvage,

Les leptospires et la leptospirose bovine

réservoirs de la leptospirose. Mais l'élevage en stabulation peut aussi favoriser l'infection par la leptospirose. En effet, une litière souillée par des urines d'animaux déjà infectés par les leptospires avec un manque d'hygiène vont augmenter encore les risques d'infection d'animaux sains se trouvant dans le même cheptel.

On peut ensuite s'intéresser au type de production comme facteur de sensibilité d'un cheptel vis-à-vis de l'infection par la leptospirose. En effet, les veaux laitiers, séparés très tôt du cheptel adulte, ne pourront pas développer une immunité au contact d'animaux porteurs et risqueront alors davantage de contracter une leptospirose précoce. Par contre, les veaux allaitants auront moins de risque de contracter l'infection leptospirosique des faits de recevoir une quantité suffisante des anticorps, transmis par le colostrum et le lait des mères.

d) Voies de pénétration

Nous avons déjà vu que les leptospires pénètrent principalement par voie cutanéomuqueuse ; c'est-à-dire par voie transcutanée (favorisée par la présence d'abrasions, des microlésions, d'excoriations, d'une peau fine ou ayant séjourné longtemps en milieu aqueux contaminé) ou muqueuse (buccale, oculaire, génitale et pituitaire) par le biais de gouttes d'urines aérosolisées au sein de la stabulation par exemple (Andre-Fontaine et al., 1985b). La transmission du germe lors de la gestation, les morsures de sangsues, par ingestion ou même par transfusion sanguine est également possible (Colin, 2000 ; Andre-Fontaine, 2004 ; Sykes et al., 2011).

e) Transmission directe et indirecte

La contamination des bovins se fait, soit directement au contact de l'animal excréteur, soit indirectement à partir des matières virulentes présentes dans l'environnement.

- **Transmission directe :** intervient quand le sang ou un autre fluide corporel contenant des leptospires, elle fait intervenir la voie horizontale et verticale. En effet, la transmission verticale peut être transplacentaire, cette infection transmise de la mère au fœtus peut, soit provoquer un avortement, soit entraîner la naissance d'un veau qui sera infecté de façon chronique. La transmission verticale peut aussi se réaliser lors de la tétée d'une mère infectée (Vijayachari et al., 2008). Les jeunes peuvent s'infecter au moment où il y'a une mammite leptospirosique ou en phase septicémique de la maladie.

La transmission horizontale reste la plus dominante par le biais des contacts étroits entre les animaux contaminés par les leptospires et sains. Cependant, par l'intermédiaire d'aérosols, d'urine par exemple, les animaux se contaminent dans les salles de traite ou dans les abreuvoirs ou par contact entre les animaux. Ainsi, la maladie peut se transmettre par contact

Les leptospires et la leptospirose bovine

sexuel entre les animaux malades et les animaux sains (Sleight, 1965 ; Eaglesome et Garcia, 1997). L'infection peut également être transmise lors d'insémination artificielle et de transplantation embryonnaire.

- Transmission indirecte : demeure le mode de contamination le plus fréquent et correspondant à une infection à partir d'un environnement contaminé. Elle se fait par l'intermédiaire des rivières, des lacs, des étangs, des eaux souillées par des sécrétions des vaches ayant avortées, d'urine, de la boue ou des égouts des animaux réservoirs ou la faune sauvages.

Des hypothèses ont été formulées sur la transmission indirecte mais jamais confirmées. Les oiseaux aquatiques pourraient transférer les leptospires d'un milieu à un autre par l'intermédiaire de leurs palmes et de leurs plumes, les arthropodes (tiques et puces) ainsi que certains reptiles et vers auraient un rôle de vecteur passif.

f) Modalités de transmission à l'homme

L'homme peut s'infecter de deux façons, soit de manière directe à partir du contact avec un animal infecté, soit de manière indirecte via l'environnement (figure 10).

La transmission directe bien que possible, reste relativement rare et se fait principalement lors du rapport sexuel, de la grossesse. la contamination au contact d'un animal infecté est rare, cela se déroule généralement suite à l'émission d'urines contaminées conséquence d'une leptospirose avec atteinte rénale ou lors de portage rénal chronique.

Ainsi du point de vue professionnel, les éleveurs, les vétérinaires, le personnel d'abattoir, les inspecteurs des viandes, les bouchers etc. ont un risque accru du fait de leur contact direct avec un animal potentiellement infecté (Alagninouwa et Becker, 2012). Ils sont le plus souvent contaminés par le serovar hardjo, dont les bovins constituent l'espèce réservoir. Aux États-Unis, éleveurs et vétérinaires constituent les catégories professionnelles les plus touchées par la leptospirose. En revanche, la transmission d'homme à homme est pour ainsi dire inexistante (Vijayachari et al., 2008 ; Adler et Moctezuma, 2010). Le serovar infectant peut varier en fonction du mode de contamination. Ainsi, les personnes contaminées à partir de l'environnement présentent quant à elles majoritairement des titres en anticorps élevés pour le serovar Ictérohaemorrhagiae (Waitkins, 1986).

Concernant les personnes s'adonnant à des activités de loisir aquatiques, elles sont particulièrement exposées, les risques concernent encore le contact animal, comme lors de la chasse, mais surtout l'exposition à des zones souillées par les réservoirs des leptospires

Les leptospires et la leptospirose bovine

surtout la faune sauvage, comme lors de la pêche, de baignades en eau douce, ou lors de canotage (Nardone et al., 2002).

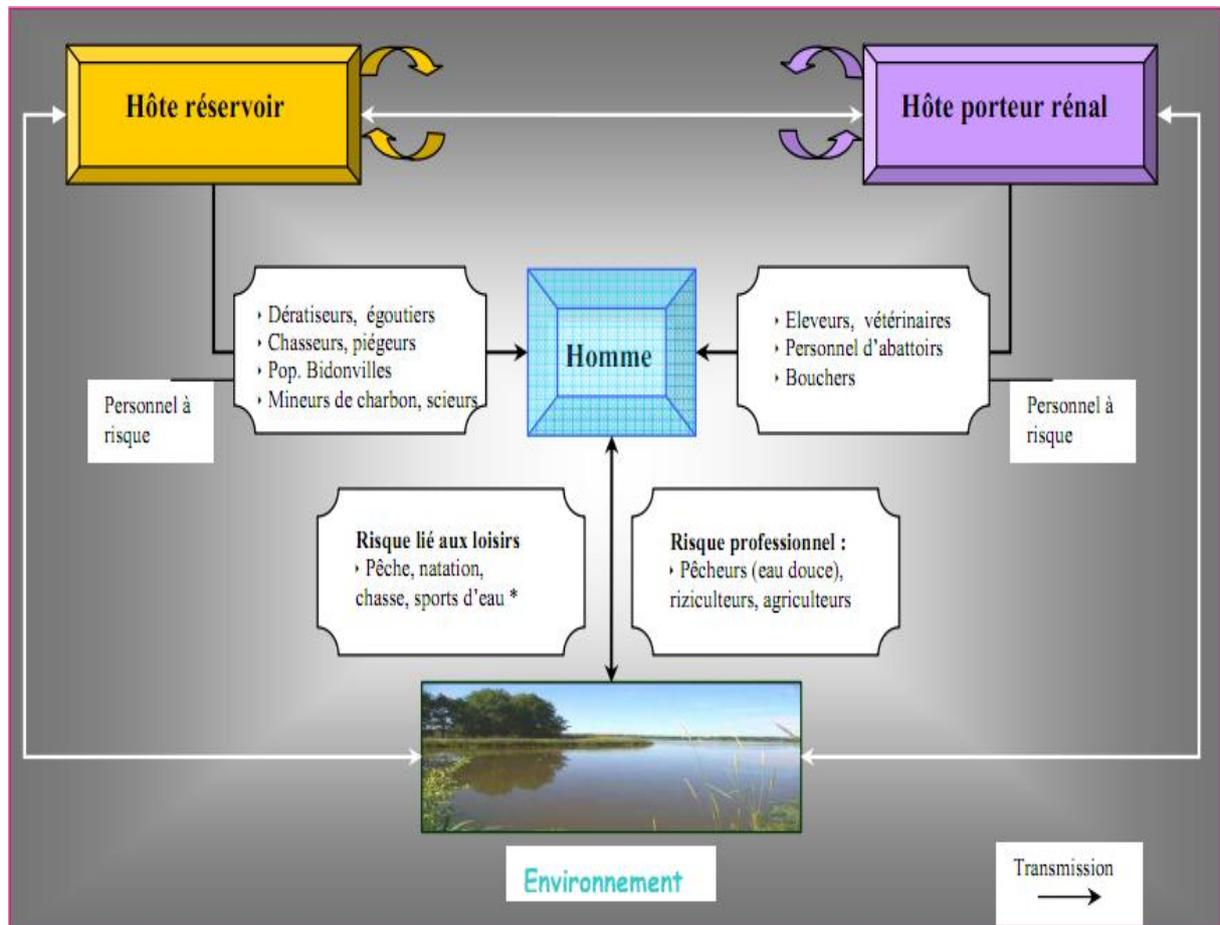


Figure 10 : Interrelations entre les acteurs épidémiologiques de la leptospirose et risque associé (Waikins, 1986 ; Haake et al., 2002 ; Michel, 2002 ; Morgan et al., 2002 ;).

3. Épidémiologie synthétique

La diffusion et la pérennité de la leptospirose sont expliquées par la large marge zoologique des espèces réceptives.

Les leptospires ont un caractère saisonnier : Il existe un lien étroit entre les cas de leptospirose et les conditions hydrométriques (pluies, humidités et inondations) (Levett, 2001). Les périodes comprises entre les mois d'octobre et janvier-février où les valeurs de pluviométrie sont plus élevées, soient favorables pour l'infection des bovins par le serovar Hardjo.

L'épidémiologie de la leptospirose évolue sans cesse avec le temps et cette évolution est difficilement prévisible. D'après Andre-Fontaine et Ganiere, 1990, les leptospires induites

Les leptospires et la leptospirose bovine

par Hardjo se développent rapidement dans les élevages. En revanche, les leptospiroses induites par Canicola disparaissent des pays européens.

VI. Diagnostic

1. Données cliniques et éléments épidémiologiques

Le tableau clinique de la leptospirose n'est absolument pas pathognomonique et les signes cliniques sont très divers rendant le diagnostic clinique difficile à établir. Ce manque de spécificité clinique aboutit fréquemment à une sous-estimation des diagnostics de leptospirose. Cependant, des éléments épidémiologiques peuvent orienter ce diagnostic clinique. En effet, des élevages situés à côté des étangs, des lacs et des rivières sources permanentes des leptospires, surtout s'ils renferment des rongeurs ou lors leurs infestations par des rats, enfin lors de contacts des animaux avec de phone sauvage dans les pâturages, la suspicion clinique de leptospirose est possible. D'après Andre-Fontaine, en 2003, on peut suspecter une pathologie infectieuse de type leptospirosique lorsque les animaux touchés sont des animaux jeunes ou nouvellement introduits dans le cheptel.

2. Diagnostic nécropsique

À l'autopsie, on observe fréquemment des hémorragies cutanées, conjonctivales ou muqueuses. Le conjonctif sous-cutané, le péritoine, les plèvres, le péricarde et les méninges peuvent être ictériques, avec des pétéchies ou des suffusions. Les nœuds lymphatiques sont hypertrophiés et parfois hémorragiques.

Le foie est de taille normale ou hypertrophié, de couleur pâle ou jaune et présente des suffusions superficielles. Les lésions les plus significatives se situent au niveau rénal, quels que soient l'espèce et le serovar en cause. Les reins sont hypertrophiés et de couleur jaune-vert quand l'animal est ictérique, avec des hémorragies sous-capsulaire. Mais ces lésions ne seront observables que dans les cas d'épisodes aigus et ne sont pas pathognomoniques, même pour les avortons, les lésions observées ne sont pas caractéristiques et ni spécifiques.

3. Diagnostic différentiel

Selon la forme de l'infection aigüe ou chronique, les signes cliniques de la leptospirose peuvent être confondus avec plusieurs maladies infectieuses. Pour la forme aigüe ou ictérohémorragique dont le foie et les reins sont touchés en entraînant l'apparition d'un ictère avec des urines foncées, elle doit être différenciée avec d'autres maladies infectieuses telles que la piroplasmose. Même les causes toxiques peuvent provoquer des problèmes hépatorénaux identiques à celles des leptospires. Andre-Fontaine, 2003, a mentionné que l'intoxication par le cuivre peut engendrer un tableau clinique similaire.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Concernant la forme chronique de la leptospirose, des avortements ou troubles de la fertilité ont été décrits. Il faut penser alors à différentes causes d'origine infectieuse ou iatrogène. En effet, en cas d'avortements, on pourra penser à des maladies infectieuses incluant bien évidemment la leptospirose, mais aussi la brucellose, la salmonellose, la néosporose ou encore la fièvre Q. D'après Tainturier et collaborateurs, 1997b, même si les causes mécaniques sont bien moins fréquentes que les causes infectieuses, il faut prendre en compte les causes mécaniques dans le diagnostic des avortements.

4. Examen de laboratoire

Tout un panel de méthodes a été développé au fil des ans pour tenter d'améliorer le diagnostic de la leptospirose. Classiquement, on distingue les méthodes de détection de la bactérie, de ses antigènes ou de son matériel génétique et de celles de révélation des anticorps.

a) Examen direct :

L'examen direct est un diagnostic par mise en évidence de la bactérie. La mise en évidence se fait par visualisation de la bactérie permettant une identification directe ou par des techniques de détection d'ADN spécifique.

➤ Mise en évidence du pathogène

◆ Prélèvements

D'après, Euzeby, en 2009, pour éviter de tomber sur un faux positif, il est prié de réaliser correctement les prélèvements pour la réalisation d'un examen bactériologique direct. Pour que le laboratoire reçoive des prélèvements exploitables, trois conditions sont impératives à satisfaire :

D'abord, il faut que les prélèvements soient effectués avant la mise en place de toute antibiothérapie. Ils ne doivent pas être congelés dans toutes les constances (Kossey-Vrain, 2004) ;

Deuxièmement, ils doivent être effectués d'une façon judicieuse ; il faut respecter, au moins en théorie, les délais durant lesquels les leptospires sont présents dans le tissu ou le fluide prélevé, vu que les leptospires migrent dans le corps au cours du temps ;

Enfin, il faut transporter les prélèvements dans de bonnes conditions : il est impératif de placer les leptospires dans un milieu permettant leur survie jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

Différents échantillons peuvent être prélevés pour observer des leptospires : des fluides de l'organisme (sang, urines, lait, liquide cébrospinal, péritonéal ou thoracique) ou des organes internes (rein, foie, poumon, avortons, cerveau, appareil génital etc.) (OIE, 2009). Mais leur séquence suit toujours une chronologie précise (figure 11).

Les leptospires et la leptospirose bovine

Le sang, est l'échantillon le plus approprié, il contient des leptospires durant la phase de bactériémie, qui pourront être mis en culture durant les dix premiers jours après le début des symptômes. Au moins 1 ml de sang veineux doit être collecté de manière aseptique sur tube hépariné pour la culture (tube sec pour une sérologie, tube EDTA pour la PCR, le tube citraté est à proscrire car le milieu citraté va entraîner une acidification du milieu néfaste aux leptospires) (Perolat et Baranton, 2000).

- Ensuite, à partir du liquide cébrospinal, les leptospires peuvent être isolés au cours de la deuxième semaine qui va suivre l'infection. Le microscope à fond noir est un moyen pour la mise en évidence des leptospires dans un échantillon de liquide céphalo-rachidien (Berech, 1989).

Plus tardivement, on pourra réaliser un prélèvement d'urine, la leptospirurie se manifeste à partir du dixième jour suivant les premiers symptômes et devient maximale vers la troisième ou quatrième semaine d'infection (Bharti et al., 2003). Pour le recueil des urines, deux cas de figures sont disponibles : soit, le laboratoire est à moins d'une heure et dans ce cas, l'urine peut être déposée directement ; soit, il est nécessaire d'effectuer un envoi. Dans ce dernier cas, l'animal devrait recevoir avant le prélèvement du bicarbonate de sodium afin de réaliser une alcalinisation des urines ou à défaut, il faudrait ajouter à l'urine prélevée une solution tamponnée stérile afin de diluer l'acidité des urines qui est nocive à la survie des leptospires. Pour la technique de prélèvement, il faut que cela se réalise dans les conditions d'asepsie les meilleures possibles et après injection de diurétique tel que le furosémide par voie intraveineuse, augmenterait les chances de détecter des leptospires, on procédera à une désinfection locale puis on récupérera les urines en milieu de miction (Berech, 1989). Les animaux porteurs peuvent excréter des leptospires dans leurs urines pendant plusieurs années de façon intermittente. Ainsi, trouver des leptospires dans les urines, sans symptômes associés ni sérologie effectuée, traduit un état de porteur et non pas forcément une infection aiguë. A l'inverse, l'excrétion étant intermittente, ne pas trouver de leptospires dans les urines, indique que l'individu n'excrète pas une quantité suffisante de leptospires pour être détectés au moment du test. Dans certains cas, comme par exemple lors du retour d'un étalon ayant été infecté dans son élevage, l'obtention de trois tests sur les urines, successivement négatifs, à sept jours d'intervalle, objective le fait qu'il n'y ai plus d'excrétion de leptospires dans les urines. Les urines devront être conservées entre 2 C° et 4 C° et à l'obscurité.

Des tissus ou organes peuvent être utilisés post mortem, pour mettre en évidence des leptospires, principalement par la mise en culture. La présence de leptospires dans des

Les leptospires et la leptospirose bovine

organes de fœtus mort-né ou avorté, permet par exemple de diagnostiquer une infection aiguë du fœtus résultant d'une leptospirose chronique chez la mère. Ainsi, les prélèvements doivent être réalisés très rapidement après la mort car sinon l'autolyse va entraîner la destruction des leptospires. De plus la contamination par d'autres germes dans les tissus peut perturber la détection des leptospires. L'utilisation de substances inhibitrices (tels que le 5-fluorouracil) permet d'éviter cette contamination (Thiermann, 1984).

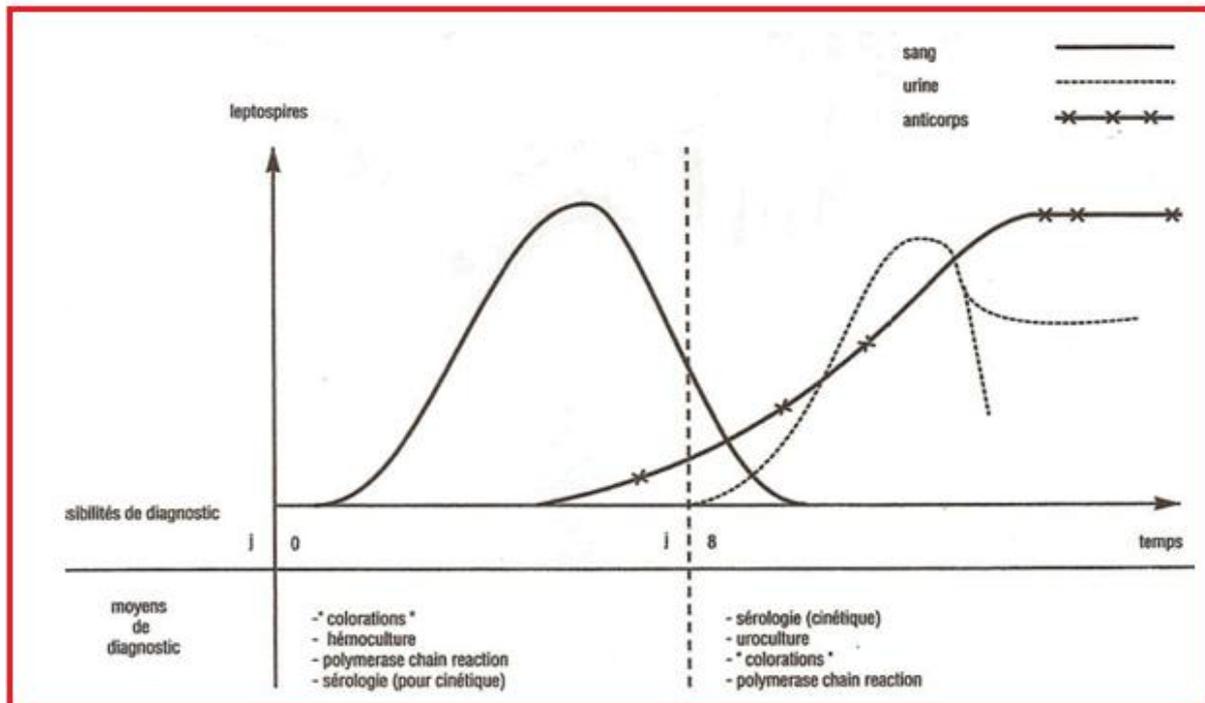


Figure 11 : Evolution des possibilités de diagnostic de la leptospirose en fonction du temps d'après Andre-Fantaine, 1992.

◆ Microscopie :

L'observation directe des leptospires est possible sur un prélèvement qui vient d'être réalisé ce qui est rarement le cas en pratique courante. Cette observation est réalisée au moyen d'un microscope à fond noir. L'observation se fera entre lame et lamelle avec un grossissement de 250 (Dikken, 1981). L'observateur étudie la morphologie caractéristique des leptospires en filament incurvé ainsi que leur mobilité particulière qui s'effectue par rotation, flexion et translation.

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 va permettre d'éliminer les cellules dans un premier temps puis de concentrer les leptospires ensuite (Perolat et Baranton, 2000). Les

Les leptospires et la leptospirose bovine

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 (O'keefej, 2002).

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. Ensuite, la spécificité de ces tests est mauvaise ; en effet, des filaments de fibrine ou des débris cellulaires peuvent être source d'erreur et entraîner l'apparition de faux positifs (Dikken, 1981). Ce qui requiert un opérateur expérimenté. De plus, elle ne permet pas de différencier les leptospires pathogènes des leptospires saprophytes. Ainsi, la différenciation entre *Leptospira*, *Leptonema* et *Turneria* par exemple ne serait pas possible par microscopie (Kossey-vrain, 2004).

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 (Johnson, 1976). Il est rarement pratiqué sur le terrain.

➤ **Mis en culture :**

Cette technique permet d'établir un diagnostic de certitude. Le prélèvement une fois effectué doit être mis en culture le plus rapidement possible. La culture est délicate et très longue (environ 13 semaines) (Levett, 2001) et se réalise sur le sang, les urines et le liquide céphalo-rachidien. Elle se fait dans des milieux spécifiques pour leptospires : le milieu Ellinghausen et McCullough modifié par Johnson et Harris (EMJH). Ce dernier nécessite une préparation assez complexe et va pouvoir se conserver pendant une durée de 3 à 6 mois à 4°C. Avant ensemencement, le sang ou les urines sont dilués dix fois afin de diminuer le rôle d'éventuels inhibiteurs (Perolat et Baranton, 2000). Afin de limiter les contaminants, certains laboratoires réalisent systématiquement une filtration des prélèvements. Elle est réalisée avec des membranes de porosité 0,45 μ m ou de 0,22 μ m. Le milieu de culture peut être rendu sélectif par l'addition de 5 fluoro-uracile à raison de 100 μ g/ml, ou de fosfomycine à 400 μ g/ml ou de néomycine à 300 μ g/ml (O'keefej, 2002).

Une fois les milieux ensemencés, ils sont placés en étuve à 30°C, à l'obscurité et en maintenant une agitation régulière pour faciliter leur croissance. Les cultures sont observées au microscope à fond noir les jours 1, 2, 3 post incubation puis une fois par semaine pendant 5 semaines minimum. On ne peut conclure à la négativité de la culture qu'au bout de deux mois au minimum (Kossey-vrain, 2004). Ce temps très long est en relation avec le temps de

Les leptospires et la leptospirose bovine

doublement considérable des leptospires qui est de près de vingt heures.

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

➤ **Inoculation :**

On peut avoir recours à l'inoculation à l'animal (cobaye ou hamster). Cependant, tous les serovars ne provoquent pas des signes cliniques évidents et la sensibilité des animaux varie selon les individus.

L'observation des leptospires au microscope à fond noir ou la mise en culture peut être difficile lorsque le prélèvement est trop contaminé ou que les leptospires sont présents en faible quantité. L'inoculation à l'animal d'expérimentation est très sensible, il favorise la multiplication des leptospires et facilite leur l'identification. Ainsi, le passage sur l'animal sensible est indispensable pour conserver le pouvoir pathogène (Perolat et Baranton, 2000).

Le cobaye et le hamster de moins de 150 g (2 à 3 semaines d'âge) sont les animaux de choix. Cependant, la souris, le chinchilla, le chien, la gerbille et le poussin peuvent être utilisés pour cette manipulation (Dikken, 1981). En effet, les signes cliniques et les lésions induits chez ces animaux infectés par des leptospires sont similaires à ceux d'animaux infectés naturellement. Ces animaux de laboratoire doivent provenir d'élevages clos où il n'existe pas de leptospirose. Pour chaque échantillon, plusieurs animaux sont utilisés et inoculés à raison de 0.5 à 1 ml par voie intrapéritonéale de liquide pathologique (lait, sang, urine) (Mathon, 1979). La maladie débutant 3 à 10 jours après l'inoculation et les signes cliniques sont évidents à partir du 5ème jour : ictère, prostration, amaigrissement. L'observation des animaux se fait tous les jours et tous les symptômes sont relevés quand ils existent. Pour déterminer s'il se produit une phase de leptospiémie, un examen au microscope à fond noir du liquide péritonéal est réalisé régulièrement pendant la phase présumée de la maladie. Les échantillons de liquide péritonéal sont prélevés dans le quadrant inférieur de l'abdomen à l'aide d'une fine pipette capillaire. Si un échantillon se révèle positif en microscopie à fond noir, du sang est prélevé et mis en culture. Si un animal meurt, l'autopsie est pratiquée, le foie et les reins sont mis en culture.

Ce moyen de diagnostic présente de nombreuses limites. En effet, les leptospires perdent rapidement leur virulence *in vitro*. Ainsi, tous les serovars ne vont pas présenter de signes cliniques évidents sur les animaux inoculés. De plus, la sensibilité des animaux est variable

Les leptospires et la leptospirose bovine

d'un animal à un autre. En conséquence, c'est pour ces différentes raisons que ce moyen diagnostique est peu utilisé.

➤ Immunohistochimie :

Les colorations se font à partir de sang, d'urine et 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.

Les techniques de coloration par imprégnation argentiques sont d'un intérêt limité. On leur préfère la coloration à l'immunoperoxydase. Une fois le prélèvement fixé, on y ajoute des immunoglobulines dirigées contre le type de leptospire étudié puis la préparation est mise en contact successivement avec un antiserum de lapin conjugué à une peroxydase et avec un substrat de l'enzyme. Ce substrat, après action de l'enzyme, produit un précipité marron. Les leptospires prennent une coloration brun rougeâtre reconnaissable visualisée au microscope simple. L'avantage de cette technique réside dans l'association de la spécificité sérologique et la reconnaissance morphologique. Ainsi, elle permet de différencier des leptospires des artefacts tels que les résidus de fibrine à condition que leur intégrité antigénique soit conservée (Drugeot, 1988).

En revanche, cette méthode présente l'inconvénient de ne donner aucune indication quant à l'identité du serovar infectant. On l'utilise plutôt pour déterminer la présence du genre *Leptospira*.

L'immunofluorescence est une technique d'immunohistochimie particulière. Cette technique met en jeu des réactions immunologiques révélées par des réactifs colorés. Elles nécessitent l'utilisation d'antisérums spécifiques et qui sont généralement réservés à des laboratoires spécialisés. L'observation de la morphologie des leptospires s'effectue au microscope à fluorescence et l'interprétation est difficile et va nécessiter une technique de laboratoire qualifiée (Bolin, 1996). Elle a l'avantage d'être rapide, facile et sa sensibilité pour la détection du serovar Hardjo dans l'urine de bovin est inférieure à la sensibilité des méthodes moléculaires, mais comparable, voire supérieure à celle de la culture (Bolin et al., 1989).

➤ Détection de l'ADN :

En raison des difficultés du diagnostic bactériologique classique, des techniques d'amplification génique par Polymerase Chain Reaction (PCR) ont été proposées. Ce sont des tests récents, basés sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), une méthode d'amplification du génome de l'agent pathogène. Ce sont les données apportées par le séquençage des génomes des leptospires qui ont permis le développement du diagnostic par

Les leptospires et la leptospirose bovine

PCR. Ainsi, dans un échantillon donné, des fragments génomiques spécifiques de leptospires peuvent être mis en évidence (Andre-Fontaine, 2002).

En pratique, des amorces ont été utilisées (courtes séquences de nucléotides spécifiques au genre *Leptospira* ou même spécifiques de certains serovars) visant en général les gènes codant l'ARNr 16s ou 23s, les gènes lipL32, fib1, secY, gyrB et rrs (Djelouadji et al., 2012) en présence de nucléotides et d'une enzyme active à haute température (l'ADN polymérase). Après des cycles alternant hautes et basses températures, on obtient un grand nombre de séquences d'ADN leptospirosique.

Plusieurs protocoles de PCR destinés à détecter l'ADN des leptospires ont été développés depuis les années 1990. La différence entre ces protocoles réside dans le choix des amorces utilisées. Par exemple, la technique de Merien et collaborateurs, en 1992, est basée sur l'amplification d'une séquence de 331 paires de bases du gène rrs spécifique du genre *Leptospira*. Cette PCR mise au point permettait d'affirmer ou d'infirmer la présence de leptospires, mais elle ne permet pas de différencier les souches pathogènes des souches saprophytes dans des prélèvements cliniques. Ensuite, d'autres techniques ont été proposées afin de pouvoir distinguer les souches pathogènes des souches saprophytes. Elles sont basées sur une amplification d'une séquence du gène rrs mais avec deux jeux d'amorces différents ; l'un spécifique des souches pathogènes et l'autre spécifique des souches saprophytes (Murgia et al., 1997). Dès lors, cette technique s'avère très utile en diagnostic dans la mesure où le praticien à défaut de connaître le serovar se voit confirmer par le laboratoire la présence de leptospires pathogènes (Desbrosse et Pronosts, 2006).

La PCR se fait généralement sur sang ou urines, mais cela peut éventuellement se faire sur le liquide cébrospinal, l'humeur aqueuse, le lait ou sur la semence de taureau (Levett, 2001). Dans le sang, il faudra éviter d'utiliser des milieux héparinés car ils vont risquer de diminuer la sensibilité de la PCR (Bharti et al., 2003). Pour les urines, une préparation des échantillons avant la PCR par un procédé magnétique particulier, semble être prometteur. Celui-ci utilise des billes magnétiques recouvertes d'anticorps anti-leptospires permettant d'augmenter la détection des leptospires dans les urines (OIE, 2009).

La PCR est une méthode rapide, permettant un diagnostic précoce (avant la séroconversion). De plus, c'est un outil diagnostique relativement sensible et spécifique. La limite de détection des leptospires par PCR est d'environ 10^3 bactéries/ml (Van et al., 1989 ; Djelouadji et al., 2012). Ainsi, Heinemann et collaborateurs, 1999, ont réalisé une comparaison entre des PCR, des cultures réalisées sur semence et des sérologies, il a permis de mettre en évidence la plus

Les leptospires et la leptospirose bovine

grande sensibilité de la PCR par rapport aux cultures et aux sérologies. En effet, quand 80% des échantillons de sperme sont positifs à la PCR, seulement 25% à 45% des sérologies le sont et les cultures restent négatives. D'autres études menées sur le serovar Hardjo ont montré une sensibilité plus élevée de la PCR par rapport aux méthodes d'immunofluorescence ou la culture (Masri, 1997).

Il faut également noter qu'une PCR positive chez un animal ayant déjà commencé un traitement antibiotique, peut signifier la présence de leptospires dans l'organisme, mais sous une forme non viable, les leptospires étant tués mais pas encore totalement éliminés (Sykes et al., 2011).

b) Examen indirect

➤ Non spécifique

◆ Modifications des paramètres de laboratoire

D'après Baldwin et collaborateurs, 1987, on peut résumer les modifications des paramètres de laboratoire en trois aspects :

a- HÉMATOLOGIE

- Leucopénie en phase précoce de la maladie.
- Leucocytose dans les stades plus avancés avec : 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 érythrocytes.

b- BIOCHIMIE

◆ Lors d'atteinte rénale

- Élévation de l'urémie, de la créatinémie et de la phosphorémie.
- Déséquilibres ioniques : hyponatrémie, hypochlorémie, hypokaliémie et hypophosphatémie

◆ Lors d'atteinte hépatique

- Augmentation de l'activité sérique des PAL, ALAT, ASAT, LDH et bilirubinémie.
- Hypoalbuminémie et une augmentation d'amylase.

c- ANALYSES URINAIRES

- Isosthénurie, glycosurie, protéinurie et bilirubinurie
- Dans le culot de sédimentation urinaire : érythrocytes, globules blancs et cylindres.

Les leptospires et la leptospirose bovine

➤ Spécifique : La sérologie

Compte tenu de la difficulté de la mise en évidence bactériologique des leptospires, le diagnostic des leptospiroses est assuré essentiellement par sérologie. Cette dernière ne permet pas une mise en évidence directe des leptospires, mais elle révèle la présence d'anticorps anti-leptospires. Ce diagnostic sérologique n'est possible qu'environ 10 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. Deux prélèvements espacés de 8 à 10 jours sont nécessaires à l'établissement du diagnostic de certitude des formes aiguës.

Les IgM apparaissent en moins d'une semaine puis les IgG apparaissent. Les IgM disparaissent rapidement alors que les IgG persistent pendant des mois, voir des années (figure 12, ci-dessous).

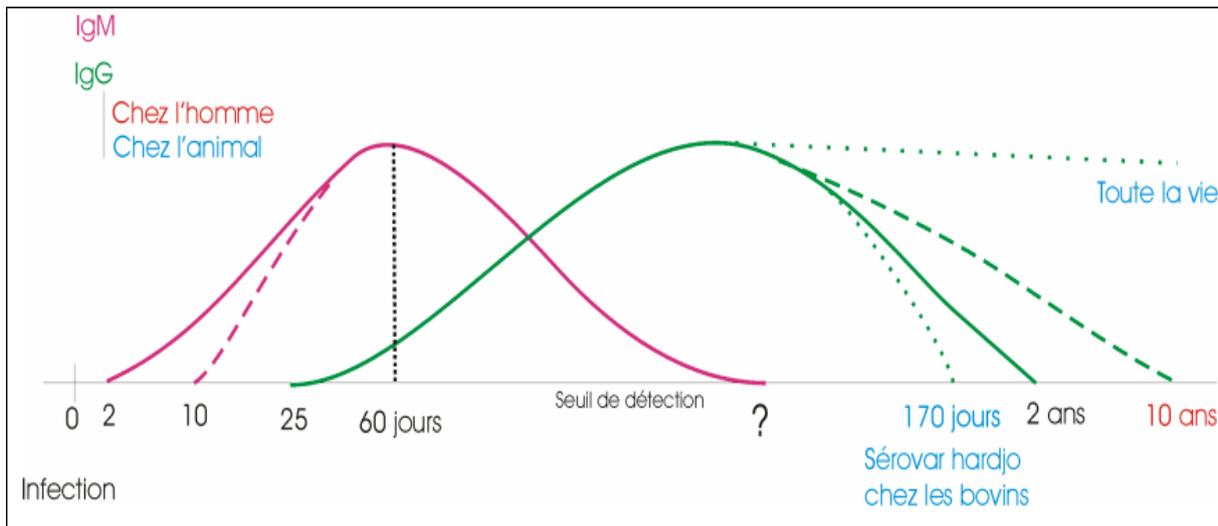


Figure 12 : La courbe cinétique des anticorps anti-leptospires ; d'après Palit et Gulasekharan, 1973 ; Blackmore et al., 1984 ; Bercovich et al., 1990 ; Everard et Bennett, 1990.

Les différentes techniques de diagnostic indirect comportent le test de microagglutination microscopique, l'ELISA directe et indirecte ainsi que la réaction de fixation du complément.

- le test de microagglutination microscopique (MAT = Microscopic Agglutination Test) :

Est le « gold standard », il est le plus utilisé pour le diagnostic de la leptospirose et est considéré par beaucoup comme le test de référence. Cette méthode, anciennement désignée sous le terme de réaction d'agglutination-lyse de Martin et Pettit mise au point en 1918, consiste à mettre en présence le sérum suspect à une dilution donnée avec des souches vivantes de leptospires de différents serovars cultivées expérimentalement. La présence

Les leptospires et la leptospirose bovine

d'anticorps agglutinants (seuls détectés par ce test) se traduit par l'agglutination des leptospires observée par microscope à fond noir (Rautureau, 2003). La batterie d'antigènes est composée de souches représentatives des serogroupes dominants afin de pouvoir se rapprocher au maximum du serovar recherché (Perolat et Baranton, 2000).

Un sérum est positif, à une dilution donnée, pour la souche testée, si au moins 50% des leptospires sont agglutinées par rapport à une souche témoin qui fixe le seuil de positivité (c'est-à-dire l'inverse de la dernière dilution pour laquelle est observée la réponse positive) (Sykes et al., 2011). Cette valeur reste assez subjective car elle est estimée visuellement. Chez les bovins, ce seuil est fixé à 1/100, mais pour les autres animaux, les seuils varient en fonction du contexte épidémiologique. En effet, Une multiplication par quatre du taux d'anticorps est considérée comme significative d'une infection en cours.

Il existe une autre méthode qui consiste à réaliser des dilutions successives du sérum en micro plaques, type ELISA, et à lire directement l'agglutination dans les cupules où a lieu l'agglutination. Des études ont tenté de comparer le MAT traditionnel et celui en lecture directe. Ces études comparatives n'ont pas pu mettre en évidence une sensibilité ou une spécificité absolue pour chaque méthode (Andre-Fontaine et al., 1988a).

Il est possible de rencontrer des réactions croisées entre serovars. En effet, les anticorps agglutinants produits par un animal en réponse à l'infection par un serovar réagissent souvent avec d'autres serovars. Par conséquent, le sérum d'un animal infecté par un serovar unique peut entraîner l'agglutination de plusieurs serovars (Bolin, 1996). Les réactions croisées vont diminuer avec le temps écoulé depuis l'infection, ainsi seul un sérum tardif va permettre d'identifier certainement une souche (Kossey-vrain, 2004). Aussi, lors de coagglutination, on considère généralement que le serovar infectant est celui pour lequel on observe le titre en anticorps le plus élevé dans le sérum du patient. Les titres les plus faibles sont alors attribués aux réactions croisées.

Dans les cas de troubles chroniques, il va être souhaitable de privilégier le diagnostic de troupeau. En effet, le diagnostic individuel est très difficile et notamment dans les cas d'avortements (Andre-Fontaine et al., 1988a). Pour confirmer une suspicion lors d'avortements, il faudra ainsi tester au moins 10 animaux et au mieux 10% du cheptel (Ellis, 1994).

Cependant, la technique de microagglutination a plusieurs avantages, donc c'est une méthode qualitative (elle permet de connaître contre quel serogroupe les anticorps sont dirigés) et quantitative (le titre sérologique informe sur l'existence d'un contact avec les antigènes des

Les leptospires et la leptospirose bovine

leptospires, et s'il s'agit d'une infection récente, en cours, ou résultante d'une vaccination). Il est important de connaître l'historique vaccinal de l'animal, car il pourra présenter des anticorps dirigés contre les serovars vaccinaux, sans pour autant avoir été infecté. Souvent les titres issus de la vaccination auront une valeur inférieure à ceux d'une infection naturelle.

Pourtant le MAT est une méthode sensible, spécifique et quantitative, elle présente tout de même des inconvénients. En effet, cette technique est de réalisation difficile : il faut manipuler et entretenir les souches de leptospires au laboratoire. Son interprétation délicate est réservée aux laboratoires spécialisés. Or, la culture hebdomadaire répétée de souches représente un danger pour le personnel de laboratoire. Un autre désavantage de cette technique consiste en un risque permanent de contamination croisée des cultures d'antigènes, nécessitant la vérification périodique de chaque serovar (Levett, 2001). Ainsi, le MAT ne permet pas de distinguer si les anticorps agglutinants sont de type IgM ou IgG.

En dépit de ces inconvénients, le MAT reste la méthode la plus appropriée dans le cadre d'études épidémiologiques de séroprévalences, puisqu'elle peut être appliquée à n'importe quelle espèce animale. De plus, le panel d'antigènes peut être modifié à volonté (Levett, 2001).

Du fait de la complexité de mise en œuvre du MAT, d'autres tests sérologiques rapides utilisables lors d'infection aiguë ont été développés.

● Le test ELISA :

La méthode ELISA (Enzym Linked Immuno Sorbent Assay) permet, à partir de préparations d'antigènes (extraits de la souche *L. biflexa* serovar patoc) par un traitement au formaldéhyde et chauffage (Perolat et Baranton, 2000) mis en présence du sérum à tester, de mesurer les taux d'anticorps IgG et IgM produits contre les leptospires. Cette méthode fait intervenir une enzyme qui engendre une réaction colorimétrique en cas de positivité de l'échantillon, comme schématisé sur la figure 13. La lecture du résultat se fait alors au moyen d'un lecteur de plaque Elisa ou bien un spectrophotomètre (Drugeot, 1988).

Les leptospires et la leptospirose bovine

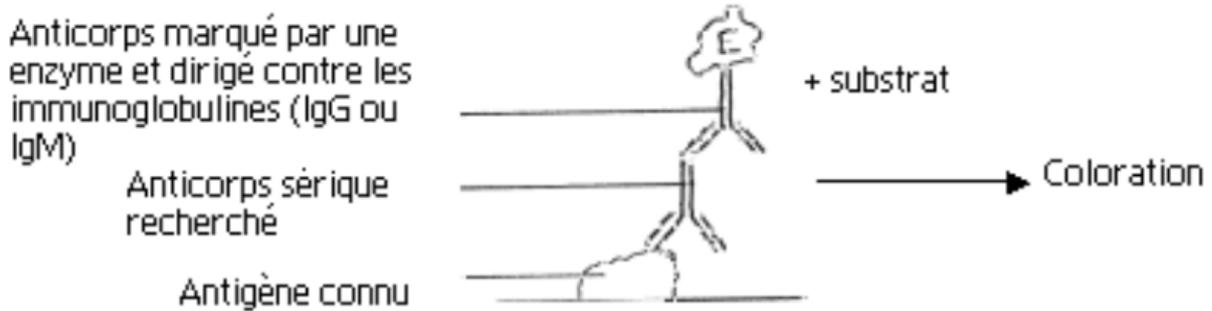


Figure 13: Principe de la méthode ELISA (www.med.univ-rennes1.fr).

Les anticorps IgM étant décelables dès la première semaine de maladie, il devient possible de confirmer rapidement le diagnostic de leptospirose et, par là même, d'initier un traitement antibiotique approprié au moment où il est susceptible d'avoir le plus d'efficacité (Levett, 2004).

Les IgG ne sont détectables qu'à partir de deux à trois semaines après l'infection mais persistent plusieurs mois (titre maximal un mois après l'infection). En effet, la lipoprotéine recombinante rLipL32 constitue un antigène utilisable dans la détection d'IgG par ELISA chez les bovins. Une étude récente réalisée sur sérums de bovins a en effet montré que l'antigène LipL32 avait une sensibilité aussi bonne que la détection par agglutination microscopique (MAT) (Quaresma Bomfim et al., 2005). La sensibilité de rLipL32 s'est avérée légèrement moins bonne que celle du MAT dans des études de diagnostic de leptospires humaines et canines (97% de sensibilité et de spécificité par rapport au MAT pour la leptospirose canine). De nombreux tests basés sur la détection d'IgG par ELISA sont aujourd'hui disponibles en médecine vétérinaire. Ces tests sont bien souvent spécifiques de serovars : Hardjo et Pomona pour les bovins et Hardjo pour les moutons par exemple (Levett, 2001). Pour le serovar Grippotyphosa, la comparaison des tests ELISA et MAT a révélé une sensibilité inférieure de l'ELISA et une spécificité équivalente (Perolat et al., 1981).

L'intérêt spécifique de cette méthode est de permettre de différencier un animal récemment infecté (taux d'IgM prépondérant), d'un animal vacciné ou ayant été en contact avec l'agent infectieux plus de trois mois auparavant (taux d'IgG élevé) (Langston et Heuter, 2003 ; Bolin, 1996).

L'ELISA présente une meilleure sensibilité au MAT, il est de plus spécifique, simple, facile à réaliser, rapide de détection des anticorps et objectif. Il reste encore à mettre au point des tests ELISA spécifiques d'un antigène donné. Sous sa forme actuelle, l'ELISA est considéré

Les leptospires et la leptospirose bovine

comme un test de dépistage mais ne permet pas de mettre en évidence la souche de leptospires responsable de la maladie.

En pratique vétérinaire, la technique par fixation du complément peut être également utilisée, mais cela est moins standardisé (Levett, 2001).

Autres tests :

D'autres méthodes sont utilisées dans le diagnostic des leptospires parmi ceux :

La réaction de fixation du complément est une méthode qui a surtout été utilisée en médecine humaine (Nicolescu, 1981). Elle est beaucoup moins sensible que le test de microagglutination. En général, l'antigène utilisé provient de la *L. biflexa* patoc merthiolaté. Cette méthode n'est utilisable que pendant une brève période chez les bovins, car les anticorps intervenant dans la réaction disparaissent après dix jours (Nicolescu, 1981).

Le test de macro-agglutination sur lame utilise un antigène thermorésistant préparé à partir d'une souche de *L. biflexa* patoc. Ce test est facilement mis en œuvre, très simple mais sa mauvaise sensibilité et surtout sa mauvaise spécificité le rend inadapté pour le diagnostic (Peillier, 1989). En revanche, le test d'agglutination macroscopique ne détecte que les IgG alors que l'ELISA ou le MAT détecte les IgG mais aussi les IgM (Drugeot, 1988).

Le LAT ou latex agglutination test est une méthode simple, économique et a une rapidité d'action spectaculaire en donnant les résultats dans un délai de deux à dix minutes, mais elle apparue moins sensible que le test d'ELISA. En effet, dans une étude sur une population de 65 animaux testés de manière indifférenciée (bovins et chiens), 63,1% sont testés positivement avec LAT. et 69,2% le sont avec l'ELISA (Legrand, 2007).

En conclusion, on retiendra sur les différentes techniques de diagnostic qu'il n'y a pas une seule technique qui puisse être recommandée pour toutes les situations cliniques mais plusieurs. En effet, la technique de microscopie sur fond noir est déconseillée car son manque de sensibilité et de spécificité la rend peu fiable. La culture bactérienne est également déconseillée dans un but diagnostique car elle est longue et difficile à réaliser. Les techniques immunohistochimiques et d'immunofluorescence directe peuvent être intéressantes mais manquent de sensibilité et sont peu disponibles en routine. Les progrès de la biologie moléculaire présentent un intérêt évident. Le développement de la PCR permet un diagnostic précoce avec une forte sensibilité. Cette méthode est de plus en plus utilisée. La sérologie est la méthode de confirmation. Cependant, le test de référence reste encore aujourd'hui le MAT, sa complexité de réalisation a poussé à développer d'autres épreuves sérologiques, c'est le cas de l'ELISA par exemple.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Tableau 9 : Principaux avantages et inconvénients des tests diagnostiques.

	Avantages	Inconvénients
Microagglutination	Disponible en routine Permet parfois de déterminer le séro groupe infectant	Réactions croisées Impact de la vaccination Cinétique souvent indispensable
ELISA	Distinction IgM et IgG	Peu disponible en routine
Microscopie sur fond noir	Facile à réaliser	Très peu sensible et très peu spécifique
Immunofluorescence directe	Ne dépend pas de la viabilité des bactéries	Le nombre et l'intégrité des bactéries conditionnent la sensibilité Peu disponible en routine
Culture bactérienne		Longue et difficile Nécessite de bactéries vivantes
PCR	Très sensible Diagnostic précoce	Sensible aux contaminations Doit être réalisée avant toute antibiothérapie

VII. Moyens de lutte

1. Mesures thérapeutiques

Le traitement de la leptospirose revêt deux aspects : d'une part le traitement étiologique qui consiste en une antibiothérapie ciblée et d'autre part un traitement de soutien à visée symptomatique.

a) Antibiothérapies

Le traitement antibiotique de la leptospirose a pour objectif de diminuer la réplification des leptospires, de limiter la leptospiémie et de raccourcir la phase d'excrétion urinaire, ainsi de lutter contre la mise en place de lésions hépatiques ou de lésions rénales.

Le traitement antibiotique de la leptospirose est d'autant plus efficace qu'il est initié précocement lors de la maladie aiguë et est pris d'une façon régulière en respectant sa durée de traitement. Idéalement, celui-ci doit être entrepris dans les 7 à 10 jours succédant l'infection.

In vitro, les leptospires s'avèrent très sensibles à la majeure partie des antibiotiques. L'ampicilline, l'amoxicilline, la pénicilline G, la streptomycine et l'erythromycine présentent les CMI les plus basses (Prescott, 1991).

Le tableau ci-dessous présente la concentration minimum d'inhibition (CMI) des antibiotiques habituellement utilisés lors de leptospirose.

Les leptospires et la leptospirose bovine

Tableau 10 : Concentration minimum d'inhibition ($\mu\text{g/ml}$) de différents antibiotiques contre *Leptospira interrogans* (Prescott, 1991).

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

D'une manière générale, la gamme d'antibiotiques efficaces contre les leptospires est extrêmement large. Cependant cette sensibilité *in vitro* n'est pas corrélée à leur sensibilité *in vivo*. Cet écart serait vraisemblablement dû à la difficulté qu'ont certains antibiotiques tels que les macrolides par exemple à se concentrer dans les reins, lieu de persistance des leptospires (Alt et Bolin, 1996).

En effet, chez les bovins, une injection unique d'oxytétracycline (20 mg/kg intra musculaire (IM)), de tilmicosine (10 mg/kg SC) ou d'une association pénicilline et dihydrostreptomycine (25 mg/kg IM) peut être efficace ; ce dernier reste cependant l'antibiotique considéré comme le plus efficace, il suffit à interrompre l'excrétion urinaire de leptospires et la maladie. Il est possible d'employer le ceftiofur (20mg/kg SID pendant 3j, ou 5 mg/kg SID pendant 5j, IM) (Alt et al., 2001). Cette efficacité permet d'envisager une utilisation préventive d'antibiotiques à tout le troupeau et le milieu désinfecté afin de réduire la contamination entre individus (Grooms, 2006).

b) Symptomatiques

L'antibiothérapie est souvent accompagnée de fluidothérapie pour rétablir l'équilibre hydro-électrolytique et de traitement symptomatique selon la forme clinique développée. En effet, cette thérapeutique symptomatique comprend des antihémorragiques, des hépatoprotecteurs et éventuellement des corticoïdes.

Une étude menée en Turquie a montré que l'utilisation d'une transfusion sanguine comme traitement adjuvant à l'antibiothérapie et à l'administration de vitamine B améliore le traitement des cas sévères de leptospirose du bétail. Ainsi, le travail mené sur 42 animaux

Les leptospires et la leptospirose bovine

présentaient des signes cliniques et ont excrété des spirochètes dans leurs urines. Ensuite, ils ont classé ces animaux en deux groupes ; le groupe I (n=21) a reçu un traitement associant dihydrostreptomycine-pénicilline et vitamine, les animaux du groupe II (n=21) ont reçu le même traitement, plus une transfusion sanguine entière prise sur des donateurs en bonne santé. Ils ont trouvé que 12 animaux de groupe I (57.1 %) et 19 du groupe II (90.5 %) ont survécu (Ozkanlar et al., 2010).

2. Mesures prophylactiques

a) Sanitaires

La prophylaxie sanitaire peut diminuer le risque d'infection en agissant à trois niveaux : l'isolement des malades, la lutte contre les réservoirs et enfin l'assainissement de l'environnement (Barwick et Al., 1997).

Il faut absolument isoler les malades. En effet, les animaux atteints de leptospirose peuvent excréter des leptospires dans leurs urines pendant 16 semaines (Robinson et Sprayberry, 2009) ; il convient donc de les isoler du reste du cheptel pendant cette même période. Pour les animaux porteurs excréteurs, il s'avère cependant que ces animaux sont pour la plupart sérologiquement muets, cet isolement va donc être difficile à réaliser en pratique. En outre, une stratégie fondée sur l'abattage systématique de bovins infectés a été envisagée en l'absence d'alternatives (Vijayachari et al., 2008). Les personnes en contact avec ces bovins 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 (Barwick et al., 1988).

Le plan d'isolement des animaux à la suite d'un avortement leptospirosique est comme suit : d'abord, nettoyer et désinfecter entièrement l'endroit où l'animal 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. Ensuite, isoler la femelle ayant avorté de tous les autres animaux de l'élevage. Puis, procéder à un dépistage de tous les animaux de l'élevage par MAT. Sinon, tester à minima toutes les femelles gestantes. Tous les animaux ayant un test positif doivent être isolés. Les animaux négatifs doivent être testés après deux ou trois semaines et s'ils deviennent positifs, ils doivent être isolés. Enfin, une femelle gestante infectée, traitée ou non, peut donner naissance à un veau infecté ou non. Si un traitement approprié est institué, ce

Les leptospires et la leptospirose bovine

dernier peut parfois survivre. Il doit alors rester isolé des autres animaux car son urine est fortement infectée (Valon et Chaffaux, 2009).

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 élevages et de leur contact avec les sources d'eau. Cette lutte peut se traduire par la mise en place de pièges à rongeurs, de raticides ou encore par des campagnes de dératisation et de désinfection de l'environnement.

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 la mise en place d'un écoulement efficace des eaux usées au sein des stabulations contenant des animaux infectés, assainir les pâtures où se trouvent des animaux excréant les leptospires par un drainage des pâtures puis l'épandage de substances stérilisantes telles que le nitrate de chaux, la cyanamide calcique et assécher les mares et les zones marécageuses afin d'éviter toute stagnation d'eau. Si cela est impossible, il convient de ne pas mettre les bovins en pâture dans de tels environnements.

Lors d'échanges internationaux, selon le code international sanitaire, un dépistage sérologique est pratiqué par deux tests de microagglutination réalisés à trois semaines d'écart avec un titre seuil de positivité supérieur à 100. Ce dépistage sérologique est accompagné de deux injections de dihydrostreptomycine à quinze jours d'écart (Andre-Fontaine et al., 1985b).

b) Médicales (vaccins)

La vaccination des bovins est possible et est très utilisée aux USA, Amérique Latine, Royaume Uni, Italie etc... L'efficacité protectrice de leptospires tués (serovar Hardjo) chez le bétail est corrélée à la propension à stimuler une réponse Th1 caractérisée par un largage d'interférons γ . La plupart des vaccins bovins comprennent le serovars Hardjo. Ces vaccins sont préparés à partir de souches de leptospires cultivés sur un milieu sans albumine. Puis, ces souches sont ensuite inactivées par le phénol ou le formol. Ensuite, les doses vaccinales sont concentrées à 200 millions de germes par millilitre (Tainturier et al., 1997). Enfin, ces doses vaccinales sont adjuvées à l'aide d'hydroxyde d'aluminium.

Cependant, ce sont des vaccins inactivés dont le protocole vaccinal d'un troupeau sain est à peu près semblable à celui du chien, il comprend généralement une primo vaccination composée de deux injections sous-cutanées réalisées chez le jeune à un mois d'intervalle puis d'un rappel vaccinal réalisé tous les ans ou tous les 6 mois (Allen et al., 1982), mais dans le

Les leptospires et la leptospirose bovine

cas d'un troupeau en milieu infecté, la vaccination va concerner tous les animaux et la primo vaccination va concerner aussi les adultes. Dans certaines zones aux États-Unis, la vaccination de rappel se fait même trois fois dans l'année contre les infections à sérovar hardjo (Bolin, 2005). Cette vaccination s'est révélée être très efficace, en évitant les troubles de la reproduction, les animaux porteurs et le nombre d'animaux sensibles à la maladie. Le portage rénal est ainsi réduit et le risque est diminué pour les hommes manipulant les bêtes ou leur viande. Cependant, la durée de protection vaccinale est très limitée et ne permet pas d'enrayer complètement la maladie (Gaumont, 1983 ; Alagninouwa et Becker, 2012).

c) Maîtrise des risques et lutte contre les contaminations humaines

La lutte contre les contaminations humaines passe d'abord par des mesures d'hygiène, de protections individuelles, information et la formation des personnes exposées ou à risque, mais s'inscrit également dans un dessein global qui intéresse la collectivité toute entière comme s'illustre la figure ci-dessous (figure 14).

Les leptospires et la leptospirose bovine

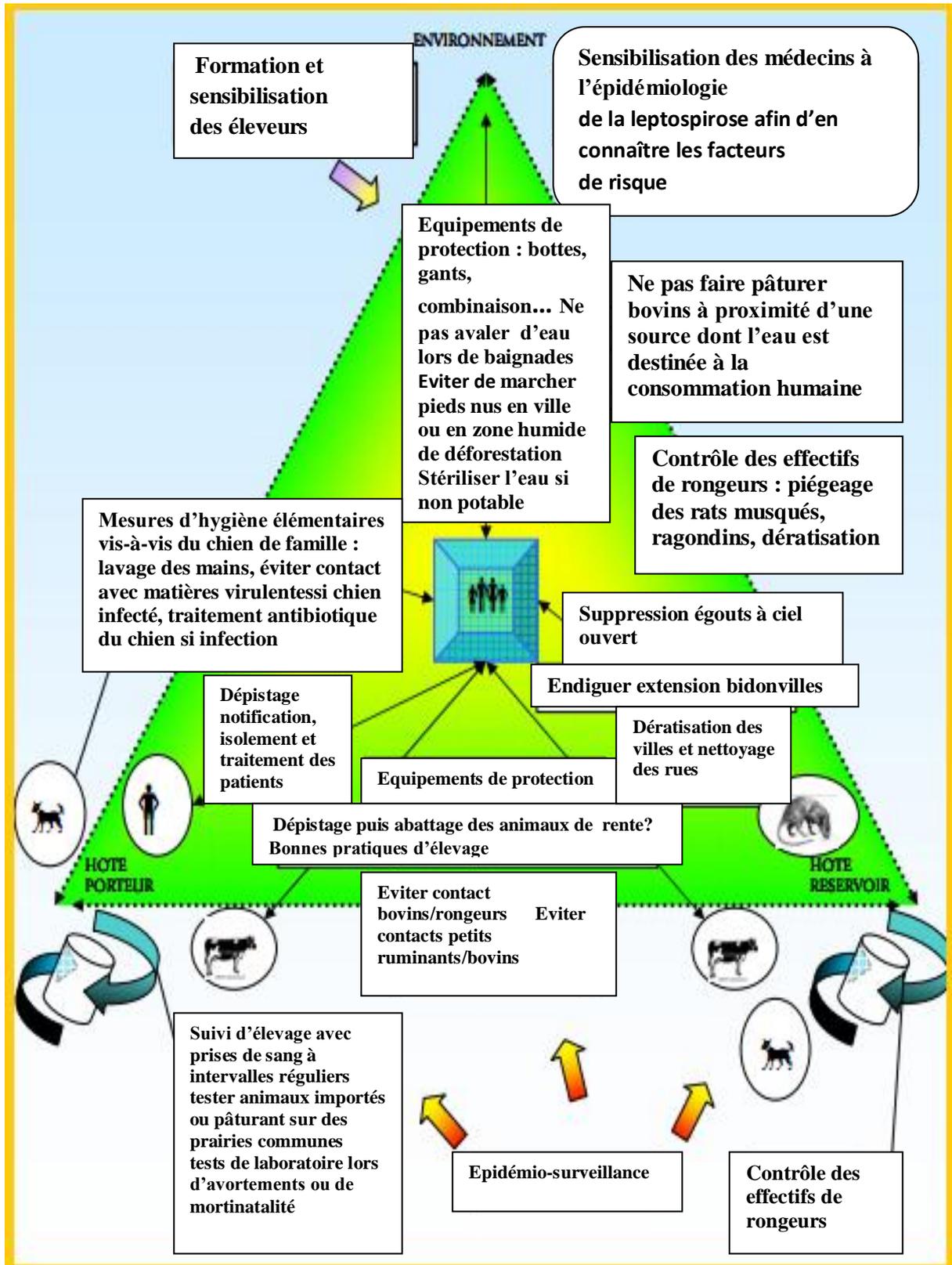


Figure 14 : Prophylaxie sanitaire en vue de réduire l'exposition à la leptospirose (Kingscote, 1985 ; Lilenbaum et Souza, 2003 ; Bharti et al., 2006 ; Lilenbaum et al., 2008 ; Vijayachari et al 2008 ; Adler et Moctezuma, 2010).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel et méthodes

1. Description de la région d'étude

Notre étude a été menée dans la région d'Alger. Il s'agit de la Wilaya la plus peuplée d'Algérie, même si sur le plan superficie, elle est la plus petite (809,22 Km²). Elle est limitée par la mer méditerranée au Nord, par la wilaya de Blida au Sud, par la wilaya de Tipaza à l'Ouest et par la wilaya de Boumerdés à l'Est. Le linéaire côtier s'étend sur une longueur de 80 Km. Elle est composée de treize Daïras, chacune comprenant plusieurs communes pour un total de cinquante-sept communes.

2. Description du mode d'élevage bovin

Trois différentes catégories de populations bovines ont fait l'objet de cette étude (selon MADR, 2009) :

- les bovins laitiers modernes (BLM). Il s'agit d'un cheptel bovin de 120 000 à 130 000 vaches importées à haut potentiel génétique, soit autour de 9% à 10 % de l'effectif national, et assure environ 40% de la production totale de lait de vache ;
- les bovins laitiers améliorés (BLA). Il s'agit d'un cheptel issu de multiples croisements entre les populations locales et les races importées. Ils concernent des étables de taille relativement réduite (1 à 6 vaches). Ce cheptel est estimé à 555 000 têtes, soit 42% à 43% de l'ensemble du troupeau, et assure près de 40% de la production nationale ;
- les bovins laitiers locaux (BLL) : plus de la moitié des bovins est localisée dans les régions de l'Est algérien. Le cheptel local qui représente 48% du cheptel national assure 20% de la production.

3. Plan d'échantillonnage et prélèvements

Un échantillon aléatoire de 205 prélèvements sanguins de vaches âgées entre 2 à 13 ans provenant de 17 communes de la wilaya d'Alger a été effectué. Au total 19 exploitations bovines ont été concernées par notre étude (tableau11 et figure 15 ci-dessous).

Dans chaque ferme, au moins 10 % des vaches ont été sélectionnées (ayant avorté ou non, malade ou non, gestante ou non, de différents âge et race).

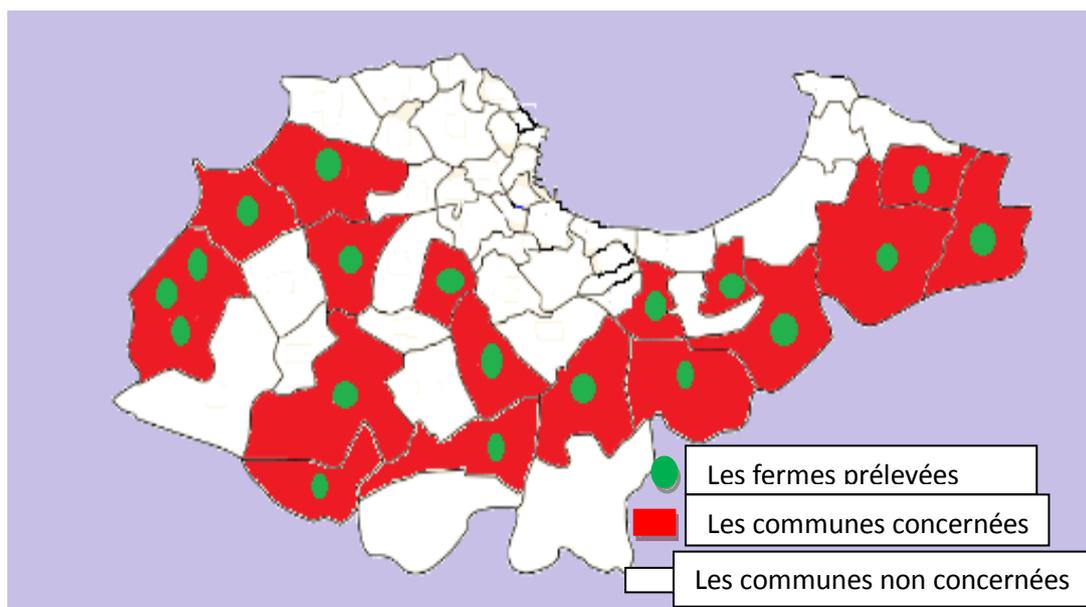


Figure 15: Répartition géographique des fermes ayant fait l'objet de prélèvements aux seins des communes de la wilaya d'Alger.

Tableau 11 : Tableau récapitulatif du nombre de vaches et de fermes prélevées par commune de la wilaya d'Alger.

Les communes	nombre de fermes prélevées	nombre de vaches prélevées
ZERALDA	3	27
ROUIBA	1	9
CHEREGA	1	11
BIRTOUTA	1	16
AIN TAYA	1	15
BAB EZZOUER	1	10
OULED FAYET	1	11
EUCALYPTUS	1	10
BARAKI	1	6
REGHAIA	1	20
EL HARRACH	1	4
SAOULA	1	10
TESSALA EL MERDJA	1	10
KOUBA	1	10
DER ELBEIDA	1	10
STAOUELI	1	16
DOUERA	1	10

4. Établissement d'un questionnaire

Un questionnaire épidémiologique a été distribué à l'éleveur afin de relever si des épisodes d'avortement ont été observés ou non. Ce questionnaire nous a permis aussi d'analyser les facteurs de risque potentiels liés à l'infection par *Leptospira interrogans* et/ou l'avortement.

Le questionnaire comporte des éléments en relation avec :

- les fermes visitées (présence d'avortement ou non, type de stabulation, type de production, nombre de bovins.....)
- Les vaches prélevées (race, âge, signes cliniques.....)

Le questionnaire est joint en annexe.

5. Collecte des prélèvements et conservation

Cette étude a été réalisée durant la période allant d'avril 2013 à mars 2014. Nous avons prélevé des échantillons de sang à partir de la veine caudale. Une quantité de 5 à 10 ml a été récupérée dans des tubes vacutainer sous vide, stériles, les tubes sont ensuite numérotés.

Les prélèvements sanguins sont transportés sous couvert du froid, dans une glacière à 4 °C, tenus en position droite, et ce jusqu'au laboratoire de microbiologie à l'ENSV où le sang recueilli a été centrifugé pendant 5 à 10 minutes à 3000 tours/minute.

Les sérums ainsi obtenus ont été transférés immédiatement dans des tubes eppendorf® et stockés rapidement dans un congélateur à -20°C.

6. Analyses sérologiques :

Les analyses sérologiques des 205 sérums collectés ont eu lieu à l'Institut National de Médecine Vétérinaire d'El Harrach (INMV).

Pour la mise en évidence des anticorps dirigés contre *Leptospira interrogans* serovar Hardjo, nous avons utilisés deux tests ELISA différents. Les trousse Bio-X Diagnostics et PrioCHECK L. HARDJO Ab.

Le Test d'agglutination microscopique (MAT) a été utilisé pour tous les échantillons de sérum, tel que décrit précédemment (Wasinski et Pejsak, 2010). Ce test nous a servi non seulement pour confirmer les résultats obtenus par les tests ELISA, mais aussi pour identifier différents serovars de l'espèce *L. interrogans* tels : Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Canicola.

a) Technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) pour la détection des anticorps spécifiques de *Leptospira interrogans* serovar Hardjo

Le principe général des deux tests ELISA utilisés pour la recherche des anticorps spécifiques de *Leptospira interrogans* serovar Hardjo est le suivant :

La réaction comporte en général 3 étapes distinctes :

1. Chaque échantillon est déposé dans une cupule sensibilisée par LPS de *Leptospira*. Les anticorps éventuellement présents dans l'échantillon se lient à l'antigène bactérien.
Il se forme des complexes LPS-anticorps par lesquels les anticorps bovins se trouvent fixés sur les parois du puits.
2. Après lavage, un anticorps conjugué peroxydase est ajouté. Il vient se fixer sur les immunoglobulines préalablement captées, aboutissant à la formation d'un complexe : (Ag LPS) – (Ac anti LPS) – (conjugué peroxydase).
3. Après lavage, l'excès de conjugué est éliminé par lavage. L'enzyme liée au complexe est révélée par addition d'un substrat qu'elle transforme en un produit coloré. Après arrêt de la réaction enzymatique, les densités optiques sont mesurées par spectrophotomètre.
La présence ou l'absence d'anticorps est déterminée à partir de valeurs seuils obtenues en fonction du témoin positif.

♦ Trousse ELISA du laboratoire Bio-X Diagnostics

Il s'agit d'un ELISA de type indirect dont le mode opératoire est le suivant :

Succinctement, les sérums à tester ainsi que les contrôles positif et négatif fournis dans le kit ont été dilués au 1/100, avant d'être déposés dans les puits de la plaque de 96 puits sensibilisés avec l'antigène spécifique de *L. interrogans* serovar Hardjo. Puis une quantité de 100µl des contrôles et des sérums dilués est disposée dans la plaque selon le catalogue. Au terme d'une incubation de la plaque dans un couvercle d'une heure à 21 °C, les puits ont été lavés trois fois et 100µl d'anticorps monoclonal dirigé contre les anticorps anti- *L. interrogans* serovar Hardjo (IgG) couplé à la peroxydase (le conjugué) a été rajouté et la plaque remise en incubation dans un couvercle pendant 1 heure à 21 °C. Après un deuxième lavage de trois fois, une quantité de 100µl du substrat chromogénique (3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine, TMB) a été ajouté à la plaque et après une incubation de 10 minutes à 21 °C +/- 3 °C à l'obscurité et sans couvrir, la réaction a été arrêtée par l'addition de 50µl d'acide sulfurique (H₂SO₄). Les densités optiques (DO) ont été ensuite lues au spectrophotomètre (lecteur ELISA) à une longueur d'onde de 450 nm.

♦ Kit ELISA du laboratoire PrioCHECK L. HARDJO Ab

Il s'agit d'un ELISA de type indirect dont le mode opératoire est le présent :

Le kit ELISA PrioCHECK L. HARDJO Ab est presque identique à celui de Bio-X Diagnostics avec quelques différences dans la composition du coffret, mode de préparation des dilutions.

Cent microlitres des sérums témoins (contrôle positif, contrôle négatif et contrôle positif faible) et à tester dilués au 1/200 dans le tampon ELISA sont déposés dans les cupules de la plaque.

Après une incubation à 37 °C pendant 60 min, les plaques sont lavées six fois avec la solution de lavage. On dépose dans toutes les cupules 100 µl du conjugué (anti-IgG bovines conjuguées à la peroxydase de raifort) dilué au 1/30 dans le tampon ELISA. Après 60 min d'incubation à 37 °C, les plaques sont lavées six fois avec la solution de lavage. On ajoute à chaque cupule 100 µl de la solution de révélation (substrat chromogénique, 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine, TMB). Après 15 min d'incubation à 22°C on ajoute à chaque cupule 100 µl de la solution d'arrêt. La lecture des densités optiques de chaque cupule est faite à l'aide d'un spectrophotomètre avec un filtre de 450 nm.

b) Le test MAT (Microscopic Agglutination Test)

Ce test a été mené selon les normes de l'OIE appliqués aux tests de diagnostic pour les animaux terrestre 2008.

Le test MAT a été réalisé sur des souches vivantes appartenant au serogroupe L. interrogans entretenues et cultivées au laboratoire des analyses microbiologiques de l'Institut Scientifique de Santé Publique de Brussels (WIV-ISP). Le procédé en est le suivant :

Les souches de référence de *Leptospira interrogans* ont été cultivées pendant 7 à 10 jours dans un milieu liquide pur culture pour leptospires (GRA- Sina) à 29±1°C. Les cultures viables avec des densités de l'ordre de 2×10^8 leptospires/ml sont utilisées comme antigènes.

La densité des leptospires a été évaluée en utilisant une chambre de comptage (Petroff - Hauser USA) et observée au microscope à fond noir.

Ainsi, cinq souches de références de *Leptospira interrogans* ont été utilisées comme antigènes incluant Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Canicola.

Tous les sérums (205) ont été dilués en série dans une solution tampon phosphate (PBS) en utilisant une plaque de microtitrage (Greiner). Nous avons commencé par une dilution de 1 :50 ensuite une dilution de 2 en 2 a été appliquée (1 dans 100, 200, 400, 800 et 1600).

Matériel et méthodes

Ensuite, un volume de chaque antigène, égal au volume du sérum dilué, est additionné à chaque puits, donnant la dilution finale du sérum de 1/100. Donc, nous avons rajouté 10 µl de sérum dilué dans 10µl de l'antigène approprié sur une lame microscopique qui était placée dans une boîte de pétri tapissée d'un papier humide pour éviter l'évaporation et incubée à 30°C pendant 90Mn. Enfin, la lame a été examinée sous microscopie à fond noir (Olympus BX50). Un antigène contrôle et deux sérums contrôles (positif et négatif) ont été utilisés à chaque fois. Les titres ≥ 100 ont été considérés comme +. Le titre final a été déterminé comme étant le plus élevé

La dilution finale est définie comme la dilution du sérum qui donne 50 % d'agglutination, laissant 50 % des bactéries libres, en comparaison avec une culture témoin diluée au 1/2 dans du tampon phosphate.

Le degré de réaction est interprété par estimation du pourcentage des Leptospires qui ont agglutiné. Si 100 % des leptospires ont agglutiné, la réaction est de 4+ ; 3+ est égal approximativement à 75 % d'agglutination ; 2+ est égal à 50 % ; et 1+ est égal à moins de 50 %.

7. Analyses statistiques

Les différences dans les proportions ont été statistiquement analysées et comparées en utilisant le test d'indépendance des proportions basé sur la distribution de probabilités de X^2 (Yates corrected) ou test Fisher exact quand c'est nécessaire, afin de déterminer des différences dans les prévalences entre les groupes. Les calculs de chi carré sur les tables de contingence ont été réalisés grâce à l'utilisation des formules appropriées (disponibles en ligne http://www.alyabbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre.html).

Les différences dans les prévalences ont été considérées comme statistiquement significatives lorsque $p < 0,05$.

Les comparaisons de méthode avec calcul de la spécificité, la sensibilité, l'exactitude et du Kappa de Cohen ont été réalisées grâce à l'utilisation du WinEpiscopo 2.0 (disponible en ligne : <http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscopo>).

Le Kappa de Cohen (k) est un coefficient destiné à mesurer l'accord entre deux variables qualitatives ayant les *mêmes modalités*. Classiquement, il est utilisé afin de mesurer le degré de concordance entre les stades attribués par deux juges. Il peut également être appliqué afin de mesurer un accord intra-observateur. Il a été calculé et évalué comme décrit auparavant (Kirkwood et Sterne, 2003).

Matériel et méthodes

Le coefficient k est toujours compris entre -1 et 1 (accord maximal). Habituellement, on utilise le « barème » suivant pour interpréter la valeur k obtenue :

- < 0 Grand désaccord
- 0.00 – 0.20 Accord très faible
- 0.21 – 0.40 Accord faible
- 0.41 – 0.60 Accord moyen
- 0.61 – 0.80 Accord satisfaisant
- 0.81 – 1.00 Accord excellent

Le test de Mc Nemar a été appliqué aux résultats des tests d'analyses et les valeurs p ont été en utilisant ce site <http://marne.u707.jussieu.fr/biostatg/?module=tests/macnemar>

Le test a été considéré comme significativement différent du test de référence lorsque $p < 0,05$ (Kirkwood et Sterne, 2003).

La puissance d'association entre la séropositivité à *L. hardjo* et les avortements a été mesurée par l'odds ratio (OR) ou le Risque relatif (RR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC). Les analyses statistiques ont été menées grâce au site suivant disponible en ligne <http://easycalculation.com/statistics/odds-ratio.php>

Tableau 12 : procédure de calcul les valeurs d'OR

	Malade	Sain	total	RR
Exposé	A	B	E=A+B	$\frac{(A/E)}{(C/NE)}$
Non exposé	C	D	NE=C+D	
Total	A+C	B+D	A+B+C+D	
Taux d'exposition	A/(A+C)	B/(B+D)		
Odd d'expostion	A/C	B/D		
Odds ratio	$\frac{(A \times D)}{(B \times C)}$			

Matériel et méthodes

Pour calculer l'intervalle de confiance de cette estimation, on se place sur l'échelle logarithmique. La variance du logarithme du risque relatif (RR) ou de l'odds ratio (OR) est approximativement :

$$\text{Var}(\ln RR) = 1/A - 1/E + 1/C - 1/NE$$

$$\text{Var}(\ln OR) = 1/A + 1/B + 1/C + 1/D$$

On calcule alors l'intervalle de confiance à 95 % du RR ou de l'OR en passant à l'exponentielle, selon :

$$IC_{95\%}(RR) = [\exp(\ln \hat{RR} - 1.96 \times \sqrt{\text{Var}(\ln \hat{RR})}); \exp(\ln \hat{RR} + 1.96 \times \sqrt{\text{Var}(\ln \hat{RR})})]$$

Même chose pour l'Odds Ratio

Test de la valeur du risque relatif ou de l'odds ratio

Usuellement, on comparera la valeur du Risque Relatif ou de l'Odds Ratio estimé à 1, afin de pouvoir conclure à l'existence d'un risque augmenté (RR ou OR >1) ou diminué (RR ou OR <1). L'hypothèse nulle testée est :

Ho : RR ou OR = 1

Contre l'alternative

H1 : RR ou OR ≠ 1

CHAPITRE II

LES RESULTATS

II. RÉSULTATS

1. Étude de la séroprévalence des anticorps spécifiques de *Leptospira interrogans* par le test MAT

1.1. Séroprévalence globale et par serovar

Sur un total de 205 sérums issus de 19 exploitations bovines différentes, les résultats ont montré que 29 (14,14%) animaux se sont révélés positifs à un ou plusieurs serovars de *Leptospira interrogans* à une dilution $\geq 1:100$ (tableau 13).

Tableau 13 : Résultats des analyses sérologiques obtenus par différents tests pour la mise en évidence des anticorps dirigés contre différents serovars de *L. interrogans*.

Test	ELISA Bio-X	ELISA PrioCheck	MAT	Titre	Serovar
R29406	+	-	+	1:100	Pomona-Grippotyphosa
R37785	+	-	+	1:100	Pomona-Grippotyphosa
IT2708	-	+/-	+	1:100	Hardjo-Pomona
AIN 1486	+	+	+	1:800	Hardjo- Pomona
AIN 0764	+	+	+	1:1600	Hardjo- Pomona-Canicola
B 26	-	+/-	+	1:100	Hardjo
B 28	-	+/-	+	1:100	Canicola
B 36	-	+/-	+	1:100	Grippotyphosa
R19349	-	+/-	+	1:100	Pomona
T 13	-	+/-	+	1:100	Canicola
T 16	-	+/-	+	1:100	Hardjo-Grippotyphosa
T1 10	-	+/-	+	1:100	Canicola
K13	-	+/-	+	1:100	Grippotyphosa
K 14	-	+/-	+	1:100	Hardjo-Pomona
D4	-	+/-	+	1:100	Icterohaemorrhagiae
D9	-	+/-	+	1:100	Canicola
D07210	+	+	+	1:800	Hardjo-Grippotyphosa-Canicola
D42324	+	+	+	1:800	Hardjo- Pomona-
EST3717	+	+	+	1:1600	Hardjo- Pomona-Canicola
EST 8399	+	+	+	1:800	Hardjo- Pomona-Canicola
IT2 5002	-	-	+	1:100	Pomona
IT25016	-	-	+	1:200	Hardjo
BAB02	-	-	+	1:100	Pomona
B1 2753	-	-	+	1:100	Canicola
2848	-	-	+	1:400	Pomona-Grippotyphosa
B22	-	-	+	1:100	Hardjo
T12	-	-	+	1:100	Grippotyphosa
07422	-	-	+	1:100	Canicola
07481	-	-	+	1:200	Hardjo- Icterohaemorrhagiae

Pour les deux tests ELISA, les résultats ne concernent que le serovar Hardjo.

RESULTATS

Les serovars de *Leptospira* les plus prévalents ont été Hardjo et Pomona avec 13 échantillons positifs pour chacun (6,34%), suivi par Canicola (4,39%), puis Grippotyphosa (3,90%), et enfin, le serovar le moins prévalent a été Icterohaemorrhagiae avec uniquement 2 échantillons positifs (0,98%) (voir figure 16). Le titre en anticorps le plus fréquent a été 1 :100 (54,34%) et le titre le plus élevé est 1 :1600 (13,04%) (voir tableau 14).

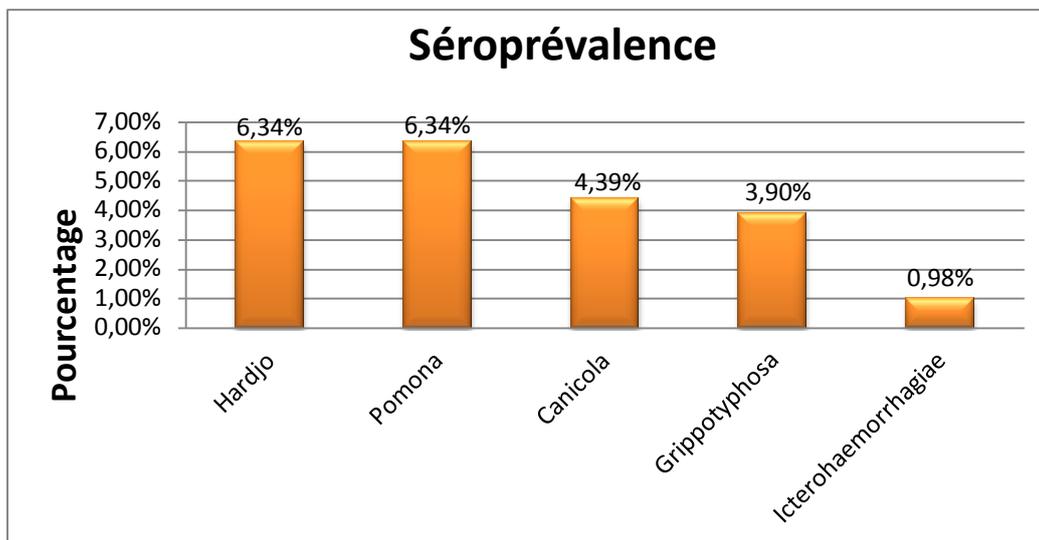


Figure 16 : Séroprévalence de *Leptospira* par serovar chez le bovin dans la région d'Alger

Sur 45 réactions positives à plus d'un serovar, nous avons constaté que les serovars Hardjo et Pomona sont toujours à la tête des cinq serovars testés avec 28,88% chacun. Le serovar Icterohaemorrhagiae est le moins prévalent avec 4,44% (voir figure 17 et tableau 13).

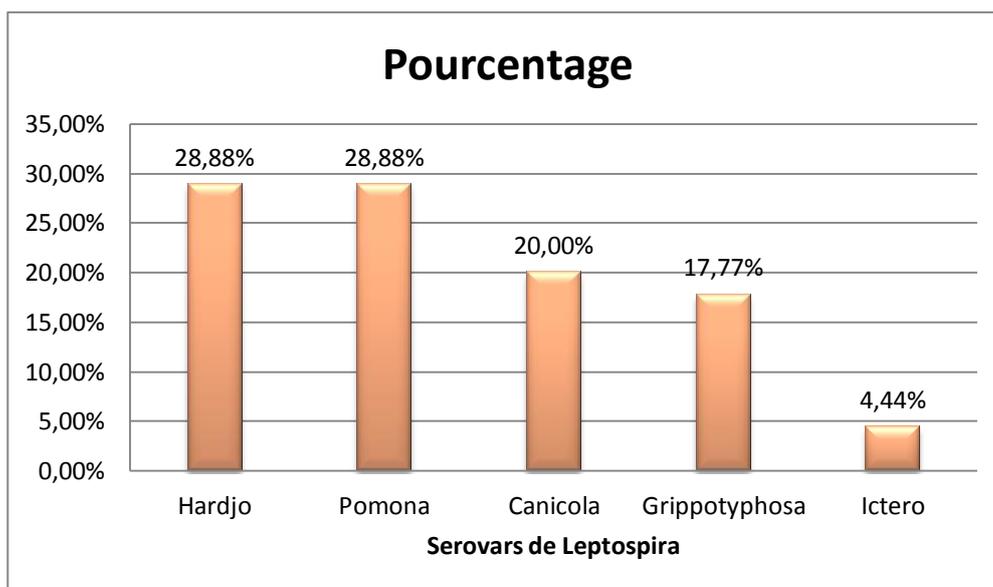


Figure 17 : Pourcentage des 5 serovars sur le nombre total des réactions positives (45).

RESULTATS

1.2. Titre en anticorps obtenus en MAT pour les 5 serovars étudiés

Le tableau 14 ci-dessous montre les titres positifs en anticorps enregistrés contre les serovars Hardjo et Pomona (13), Canicola (9), Grippotyphosa (8) et Icterohaemorrhagiae (2).

Tableau 14 : Nombre et fréquence des échantillons de sérums avec des titres positifs contre chaque serovar et à différentes dilutions (n,%).

Serovar	1 :100	1 :200	1 :400	1 :800	1 :1600	Total
Hardjo	5 (10,86)	2 (4,34)	0 (0)	4 (8,69)	2 (4,34)	13 (28,88)
Pomona	7 (15,21)	0 (0)	1 (2,17)	3 (6,52)	2 (4,34)	13 (28,88)
Icterohaemorrhagiae	1 (2,17)	0 (0)	0 (0)	1 (2,17)	0 (0)	2 (4,44)
Grippotyphosa	6 (13,04)	0 (0)	1 (2,17)	1(2,17)	0 (0)	8 (17,77)
Canicola	5 (10,86)	0 (0)	0 (0)	2 (4,34)	2 (4,34)	9 (20,00)
Total	24 (53,33)	2 (4,44)	2 (4,44)	11 (24,44)	6 (13,33)	45 (100)

1.3. Fréquence des sérums positifs en fonction du nombre de serovar

Onze sérums positifs l'était contre plus d'un serovar (tableau 15). Cependant, nous avons mis en évidence 45 réactions positives contre différents serovars de *L. interrogans* (tableau 13 et 14)

Tableau 15 : Répartition des sérums positifs en fonction du nombre de serovars reconnus par MAT (dilution 1 :100).

Nombre de serovars	Nombre de sérums positifs	Fréquence (%) N=205
1	17	8,29
2	7	3,41
3	4	1,95
Total	29	14,14

1.4. Séroprévalence de *L. interrogans* serovar Hardjo par différentes méthodes sérologiques

Un total de 205 sérums ont été analysés avec deux kits ELISA différents (BioX et PrioCheck) et par le test MAT, pour la recherche des anticorps spécifiques de *L.interrogans* serovar Hardjo. Les résultats de la séroprévalence en fonction du test utilisé sont repris dans le tableau ci-dessous.

RESULTATS

Tableau 16 : Séroprévalence de *L. interrogans* serovar Hardjo en fonction de la méthode sérologique utilisée.

Test sérologique	Échantillons positifs	Échantillons négatifs	Séroprévalence (%)
MAT	13	192	6,34%
ELISA Bio-X	8	197	4%
ELISA PrioCheck	10	195	5%

2. Comparaison entre les différentes méthodes sérologiques pour la recherche des anticorps spécifiques de *L. interrogans* serovar Hardjo

Les performances des kits ELISA ont été évaluées en prenant comme test de référence le MAT (tableaux 17 et 18).

Tableau 17 : Comparaison de l'ELISA PrioCheck avec le MAT pris comme test de référence.

Tests	MAT		
	Positifs	Négatifs	Total
ELISA PrioCheck			
Positifs	10	0	10
Négatifs	3	192	195
Total	13	192	205

Nous avons calculé pour le test ELISA PrioCheck, la sensibilité, la spécificité, l'exactitude, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar par rapport au test MAT pris comme test de référence. Nous avons constaté que pour l'ELISA PrioCheck, la sensibilité était de 76,9%, la spécificité était de 100% et l'exactitude de 98,5%.

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohena montré un coefficient $k=0,86$ ce qui correspond à une bonne concordance entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes ($p>0.05$).

RESULTATS

Tableau 18 : Comparaison de l'ELISA Bio-X avec le MAT pris comme test de référence.

Tests		MAT		
		Positifs	Négatifs	Total
ELISA Bio-X	Positifs	6	2	8
	Négatifs	7	190	197
Total		13	192	205

Par ailleurs, nous avons calculé pour le test ELISA Bio-X, la sensibilité, la spécificité, l'exactitude, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemara par rapport toujours au test MAT pris comme test de référence. Nous avons constaté que pour l'ELISA Bio-X, la sensibilité était de 46,2%, la spécificité était de 98,6% et l'exactitude de 95,7%.

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.54$ ce qui correspond à une concordance modérée entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes ($p > 0.05$).

Ensuite, les deux tests ELISA ont été comparés entre eux (tableaux 19 et 20).

Tableau 19 : Comparaison de l'ELISA Bio-X avec l'ELISA PrioCheck pris comme test de référence.

Tests		ELISA PrioCheck		
		Positifs	Négatifs	Total
ELISA Bio-X	Positifs	6	2	8
	Négatifs	4	193	197
Total		10	195	205

Si on considère l'ELISA PrioCheck comme test de référence, on obtient pour l'ELISA Bio-X les résultats suivants : sensibilité 60,0%, spécificité 99,0 % et exactitude 97,0%, un coefficient de Kappa de Cohen $K= 0,65$ montrant une concordance modérée entre les deux méthodes et le test de Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes ($p>0.05$).

RESULTATS

Tableau 20 : Comparaison de l'ELISA PrioCheck avec l'ELISA Bio-X pris comme test de référence.

Tests	ELISA Bio-X			
	Positifs	Négatifs	Total	
ELISA PrioCheck	Positifs	6	4	10
	Négatifs	2	193	195
	Total	8	197	205

Si on considère maintenant l'ELISA Bio-X comme test de référence, on obtient pour l'ELISA PrioCheck les résultats suivants : sensibilité 75,0%, spécificité 99,7 % et exactitude 97,0%, le coefficient Kappa de Cohen = 0.65 et le test de Mc Nemar qui ne montre pas de différences significatives entre les 2 tests ($p > 0.05$).

3. Étude des facteurs de risque

Nous avons vérifié si les facteurs suivants : race, l'âge, la saison, l'état général de l'animal, la gravidité, la parité, les signes cliniques, les antécédents pathologiques et les avortements étaient des facteurs de risque pour la positivité à la leptospirose (tableau 21).

RESULTATS

Tableau 21 : Étude des facteurs de risque vis-à-vis des résultats du MAT.

Facteur	Classe	Positifs	Négatifs	Total	p	Conclusion
Race	Montbéliarde	7	111	118	0,37	NS
	Holstein	3	45	48		
	Croisées	1	24	25		
	Brune des alpes	2	6	8		
	Fleckvieh	0	5	5		
	Normande	0	1	1		
Age (an)	De 2 à 4	4	100	104	0,33	NS
	De 5 à 6	7	72	79		
	De 7 à 13	2	20	22		
Saison	Été	0	15	15	0,18	NS
	Automne	7	120	127		
	Hiver	5	31	36		
	Printemps	1	26	27		
État général	Bon	5	80	85	0,9	NS
	Moyen	7	92	99		
	Mauvais	1	20	21		
Gestation	Oui	7	118	125	0,59	NS
	Non	6	74	80		
La parité	Unipare	0	35	35	0,09	NS
	Multipare	13	157	170		
Signes cliniques	Anémie	0	0	0	0,62	NS
	Ictère	0	1	1		
	pétéchies vulvaires et/conjonctivales	0	0	0		
	Hémoglobinurie	0	0	0		
	Fièvre et abattement	1	7	8		
	baisse de la production laitière	0	0	0		
	Aucun signe	12	184	196		
Antécédents pathologiques	Pneumonie	1	21	22	0,35	NS
	Mammite	3	14	17		
	Mérite	0	18	18		
	Indigestion	0	3	3		
	Boiterie	0	10	10		
	Diarrhée	0	10	10		
	Aucuns	9	118	127		
Vaches avortées	Oui	1	7	8	0,47	NS
	Non	12	185	197		

Les tests statistiques d'indépendance (chi carré) indiquent qu'aucun des facteurs testés ne sont révélés significativement associés à la séropositivité pour *Leptospira interrogans* serovar Hardjo ($p > 0,05$).

4. Étude épidémiologique de type cas-témoin

Les fermes qui ont connu des épisodes d'avortement durant les cinq dernières années sont considérées comme des fermes cas et les autres comme des fermes témoins.

4.1. Étude cas-témoin au niveau individuel

Si on considère les animaux en fonction de leur répartition en fermes cas et témoins, on constate (tableau 22) que l'odds ratio n'est pas significativement ($p > 0,05$) différent de 1 et que donc il n'y a pas d'association entre l'exposition à *Leptospira interrogans* de serovar Hardjo et le fait d'appartenir à une ferme cas ou témoin même si le taux d'exposition est plus élevé dans les fermes cas que dans les fermes témoins.

Tableau 22 : Étude cas-témoins au niveau des individus.

Animaux			
MAT	Animaux des fermes Cas	Animaux des fermes Témoins	Total
Exposé	10	3	13
Non exposé	129	63	192
Total	139	66	205
Taux d'exposition	7,2%	4,3%	205
Odd d'exposition	0,08	0,5	
OR (IC 95%)	1,63 (0,43-6,12) P =0,47 NS		

4.2. Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation

Si on considère les fermes, on constate que parmi les 19 fermes testées, 12 étaient des fermes cas et 7 étaient des fermes témoins. L'étude cas-témoins (tableau 23) indique qu'il n'y a pas d'association significative ($p > 0,05$) entre le fait d'être exposé à *Leptospira interrogans* de serovar Hardjo et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. L'odds ratio n'est pas significativement différent de 1 même s'il s'élève à 2,5. Ceci est à mettre en relation avec le faible nombre de fermes testées. Cependant, le taux d'exposition dans les fermes cas (50%) était plus important que celui des fermes témoins (28%)

RESULTATS

Tableau 23 : Étude cas- témoins au niveau des fermes.

MAT	Type de ferme		
	Cas	Témoins	Total
Exposé	6	2	8
Non exposé	6	5	11
Total	12	7	19
Taux d'exposition	50%	28%	
Odds d'exposition	1	0,4	
OR (IC 95%)	2,5 (0,34-18,33) p=0,37 NS		

CHAPITRE III

DISCUSSION

Discussion

III. Discussion

La leptospirose est une maladie zoonotique causée par différents serovars pathogènes appartenant au genre *Leptospira* (Adler et Moctezuma, 2010). Elle est endémique à la plupart des régions tropicales et tempérées (Levett, 2001).

Chez le bovin, son importance sur le plan économique est loin d'être négligeable. En effet, cette affection est responsable de troubles de l'infertilité notamment des avortements mais aussi des chutes de la production laitière accompagnées d'épisodes de mammites (Legrand, 2007).

Au départ de cette étude, rien n'était connu sur la situation de la leptospirose bovine en Algérie. Ce travail avait pour objectif principal de faire un état des lieux de la situation dans la région d'Alger.

Le diagnostic de la leptospirose bovine est souvent un diagnostic complexe et délicat puisque hormis l'avortement, l'infection par *L. interrogans* chez la vache est souvent asymptomatique et passe inaperçue (Ellis, 1981). Par conséquent, le recours aux techniques sérologiques constitue souvent la seule alternative pour dépister les animaux infectés *in vivo*. Dans le cadre de la présente étude, l'utilisation de la technique ELISA a permis de réaliser un dépistage rapide de l'ensemble de l'effectif testé. Le Micro Agglutination Test (MAT) décrit par de nombreux auteurs comme technique de référence a, quant à lui, permis la confirmation des résultats obtenus sur les sérums testés positifs et de lever l'ambiguïté des prélèvements jugés douteux par l'ELISA au cours de la première opération de dépistage (Bourhy et Picardeau, 2012). Le seuil de 1/100 a été retenu comme seuil de positivité signant l'infection à *L. interrogans* chez les bovins (OIE, 2000 ; Cedric, 2012).

Quelle est la séroprévalence vis-à-vis de *L. interrogans* chez les bovins en Algérie ?

Sur un total de 205 sérums testés par le MAT, 29 animaux se sont révélés positifs à un ou plusieurs serovars de *Leptospira interrogans* à une dilution $\geq 1 : 100$ à 50% d'agglutination, soit une séroprévalence de 14,14%.

Il est à rappeler que la séroprévalence chez le bovin varie en fonction du pays, de la région, du type de test sérologique et de la valeur utilisée comme seuil. La comparaison directe de nos résultats avec d'autres travaux similaires doit se faire donc avec prudence, car les études évoquées ont adopté des procédures différentes : des techniques différentes, des valeurs seuils

Discussion

différentes, des échantillons de taille différente ou encore des populations animales différentes. Par conséquent, nous avons discuté la séroprévalence séparément en fonction de la technique utilisée et du serovar recherché (*leptospira interrogans* ou *leptospira interrogans* serovar Hardjo).

De nombreuses études de séroprévalence ont été réalisées dans le monde chez le bovin et des différences considérables parmi les pays ont été rapportées. Cependant, ce travail constituait la première étude d'envergure sur la séroprévalence vis-à-vis de *Leptospira interrogans* chez le bovin en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la Wilaya d'Alger.

Si on se réfère aux travaux publiés sur la séroprévalence chez le bovin en utilisant le MAT comme test de référence, notre séroprévalence globale obtenue pour *Lepstospira interrogans* (14,14%) est assez proche d'autres séroprévalences citées dans d'autres parties du monde. En France (entre 13% et 23%) (Andre-Fontaine et Ruvoen, 1999; Andre-Fontaine et al., 2000 ; 2001 ; 2002 ; 2003 ; 2004 ; 2005 ; 2006), en Iran (15,79%) (Sakhaee et Abdollah pour, 2011), au Mexique (10,33%) (Leon et al., 2008), en Inde (21,18%) (Mariya et al., 2006), au Trinidad (21,5%) (Suepaul et al., 2011), en Afrique du Sud (19,4%) (Hesterberg et al., 2009) et en Thaïlande (9,9%) (Suwancharoen, 2013).

En revanche, des taux de *Leptospira interrogans* beaucoup plus importants ont été obtenus dans d'autres pays. Citons l'exemple du Brésil (83,3%) (Quaresma Bomfim et al., 2005), (46,9%) (Lilenbaum et Souza, 2003), de la Malaisie (27,7%) (El Jalii, 2008), de la Tanzanie (30,3%) (Schoonman et Swai, 2010), de la Colombie (40,5%) (Hernández-Rodríguez, 2011), du Mexique (28,4%) (Segura-Correa et al., 2010) et de la Turquie (32,26%) (Kenar et Ozdemir, 2013).

Des séroprévalences de *Leptospira interrogans* plus faibles que celle obtenue dans cette étude ont été rapportées dans d'autres régions du monde, nous citons l'exemple de l'Espagne (8%) (Alonso-Andicoberry et al., 2001), du Québec, (4,64%) en 2005 et (7,6%) en 2006 (Vincent et al., 2007), de la Turquie (3,4%) (Kocabiyik et Cetin, 2004) et de la Suède (1%) (Lindahl, 2014).

Discussion

*Quelle est la séroprévalence vis-a-vis de *L. interrogans* serovar Hardjo chez les bovins en Algérie ?*

- Par la technique du MAT

Le procédé le plus couramment utilisé pour le diagnostic d'une infection à *Leptospires* chez les animaux et les humains est la détection d'anticorps spécifiques dans le sérum en utilisant le test microagglutination (MAT). L'isolement par culture montre une meilleure sensibilité pour détecter les *Leptospires* chez les bovins, mais il est difficile à réaliser et est souvent infructueux (Thiermann, 1982).

Sur les 205 bovins testés, 13 se sont montrés positifs à *Leptospira interrogans* serovar Hardjo en MAT à un titre de 1/100 et à 50% d'agglutination, ce qui correspondait à une séroprévalence de 6,34 %. Le titre de 1/100 en MAT est considéré comme la dilution la plus appropriée pour la sérologie de *Leptospira interrogans* chez le bovin (Legrand, 2007). En comparant la prévalence sérologique obtenue à celles rapportées dans d'autres études publiées, utilisant le MAT comme test sérologique, il ressort que la séroprévalence chez le bovin en Algérie est bien plus élevée qu'en Iran (0% sur des vaches ayant avorté) (Bahari et al., 2011) et en Espagne (1%) (Alonso-Andicaberry et al., 2001). Par contre, elle est de l'ordre de grandeur de celle observée dans d'autres régions de l'Iran (5,61%) (Sakhaee et Abdollahpour, 2011), en Inde (7,8%) (Deneke et al., 2014), au Trinidad (4,1%) (Sharianne, 2011), au Mexique (2,4%) (Leon et al., 2008) et en Turquie (2,8%) (Kocabiyik et Cetin, 2004).

Cependant, notre séroprévalence est moins importante que celle observée en Mongolie et en Nouvelle Zélande où presque tous les individus étaient séropositifs (80,4%) et (72,6%) respectivement (Odontsetseq et al., 2005 ; Samhuevo et al., 2013). Au Brésil, des taux de 43,5%, 33,6% et 20,6% ont été obtenus respectivement dans des régions différentes du pays (Martins et al., 2012; Quaresma Bonfim et al., 2005 ; Lilenbaum et Souza, 2003). En Afrique précisément en Tanzanie, la prévalence obtenue était de 14,76% (Shoonman et Swai, 2010). En Turquie, d'autres travaux réalisés sur la séroprévalence dans d'autres régions du pays ont montré un taux d'exposition de 22,22% (Kenar et Ozdemir, 2013) et enfin en Malaisie, la prévalence rapportée était de 23,5% (Eljalii, 2008).

- Par la technique ELISA

La technique ELISA a été utilisée précédemment pour la détection des anticorps contre les leptospires chez les bovins (Bercovich, 1990 ; Vongxay et al., 2012 ; Ngbede et al., 2013).

Dans notre étude, nous avons utilisé deux kits différents d'ELISA (ELISA Bio-X et ELISA PrioCheck). Pour déterminer la séroprévalence de *Leptospira interrogans* serovar Hardjo

Discussion

nous avons choisi de prendre en considération les résultats obtenus par l'ELISA PrioCheck car c'est le test qui s'est montré le plus sensible et le plus spécifique comparé à la technique de référence (MAT) (voir plus loin dans comparaison des méthodes).

La séroprévalence obtenue était de 5% (10/205) assez proche de celle obtenue par la technique du MAT (6,34%).

Ce résultat correspond aux prévalences précédemment obtenues utilisant comme test sérologique l'ELISA indirect, au Nigéria (8,44%) (Ngbede et al., 2013) et au Laos (3%) (Vongxay et al., 2012). En revanche, des fréquences d'infections supérieures ont été rapportées au Brésil (83,3%) (Quaresma Bomfim et al., 2005), en Malaisie (56,5%) (Eljalii, 2008), en Irlande (41,75%) (Ryan et al., 2012), en Inde (49%) (Sankar et al., 2010), au Cameroun (30%) (Scolamacchia et al., 210) et en Ouganda (29,35%) (Atherstone et al., 2014).

En Algérie, la leptospirose ou l'infection par *Leptospira interrogans* n'a jamais fait l'objet d'une recherche ni chez les bovins ni chez les autres espèces animales. En revanche, entre 2005 et 2008, Afiri et collaborateurs (2008) ont rapporté 88 cas de leptospirose humaine dans la wilaya de Tizi Ouzou, 7,95 % sont dus au serogroupe sebroe. Une autre épidémie a été déclarée dans la wilaya de Sétif en 2010 où 27 personnes ont été infectées dont 3 personnes sont décédées (<http://www.forum-algerie.com/actualite-algerienne>). Il a été mentionné dans le rapport d'activités de l'Institut Pasteur d'Alger en 2009 que sur 280 sérums humains testés, 101 ont été positifs et 8 douteux. Le test utilisé était la Macro-agglutination à l'antigène TR (IPA, 2009). Ces résultats montrent que la leptospirose a circulé depuis longtemps en Algérie et persiste à ce jour. Il est à rappeler que la leptospirose est actuellement reconnue en France comme une maladie professionnelle. Les activités à risque comprennent notamment des activités qui exposent à un contact direct avec les animaux réservoirs. C'est le cas pour les éleveurs, les vétérinaires ou encore les personnels d'abattoir (Legrand, 2007). Ces derniers sont plus susceptibles d'être infectés par les mêmes serovars du bovin.

D'après nos résultats et ceux obtenus dans d'autres pays du monde, on peut extraire la relation entre les Leptospires et les ressources hydrauliques (eau des rivières, lacs, étangs...). En effet, les pays riches en ressources hydrauliques et les pays tropicaux ont présenté les valeurs de séroprévalence les plus élevées, citons l'exemple du Brésil, de la Nouvelle Zélande, de l'Inde, du Nigeria, du Cameroun...etc. En revanche, les pays ayant une pluviométrie faible avec des ressources hydrauliques rares ont rapporté des valeurs assez faibles comme l'Algérie, l'Iran, la Turquie et la France. Ces ressources naturelles sont susceptibles de favoriser l'entretien de

Discussion

la leptospirose animale, dont l'agent étiologique semble inféodé aux rongeurs et/ou aux eaux stagnantes (étangs et lacs) contaminées par les urines de rongeurs infectés (Bharti et al., 2003 ; Levett, 2004).

Le lien entre l'eau des rivières et la leptospirose n'est pas une découverte récente. Après de fortes pluies ou des inondations, les sols sont lessivés et les leptospires pathogènes se trouvant sur ces sols sont transportés jusque dans les rivières situées en contrebas (Levett, 2001).

Quel est le serovar le plus prévalent chez le bovin en Algérie ?

Dans la présente étude, si on considère les 205 sérums testés, les serovars de *Leptospira* les plus prévalents ont été Hardjo et Pomona avec un taux de 6,34% chacun. Maintenant, si on tient compte des 29 sérums positifs à un ou plusieurs serovars de *Leptospira interrogans*, les serovars Hardjo et Pomona sont toujours à la tête des cinq serovars testés avec 44,82% chacun. Le serovar le moins prévalent a été Icterohaemorrhagiae avec uniquement 2 échantillons (0,97%) positifs si on considère les 205 sérums et un taux de 6,89% si on tient compte des 29 sérums positifs à un ou plusieurs serovars de *Leptospira interrogans*.

Le titre en anticorps le plus élevé était 1/100 (53,33%), suivi par 1/800 (24,44%), 1/1600 (13,33%) ensuite 1/200 et 1/400 avec 13,33% chacun. Ces résultats vont dans le sens d'une infection leptospirale à caractère endémique chez le bovin dans la région d'Alger, ce qui indique que généralement l'infection se manifeste sous forme subclinique.

Onze (n=11) sérums positifs l'étaient contre plus d'un serovar. Cependant, nous avons mis en évidence 45 réactions positives contre différents serovars de *L. interrogans*. Des travaux avec des valeurs différentes ont été rapportées. En effet, une étude similaire à la nôtre menée en Iran par Abdollahpour et collaborateurs (2009), sur un échantillon de 205 sérums ont obtenu une séroprévalence de 25,8 % avec le serovar Canicola qui était le plus prévalent (11,7 %), suivie par Pomona (9,45%), les serovars moins prévalents étaient Hardjo (1 %) et Icterohaemorrhagiae (0.5 %). Le titre en anticorps le plus fréquent était 1/100 et le plus élevé était 1/400. Dans leur étude, 14 sérums positifs l'étaient contre plus d'un serovar et 71 réactions positives contre différents serovars de *L. interrogans* (Abdollahpour et al., 2009). Au Pakistan, Khurshaid et collaborateurs (2013), ont montré que le serovar Pomona était le plus prévalent (25 %), suivi par Grippytyphosa (10 %) ensuite Canicola, Ballum et Icterohaemorrhagiae avec (8,33 %) chacun. Enfin, vient le serovar Hardjo en dernier (3,33 %). Leur étude a aussi montré que la dilution 1/100 était le titre en anticorps le plus fréquent et aucun sérum n'était positif pour plus d'un serovar (Khurshaid et al., 2013).

Discussion

Les travaux de la littérature indiquent que la leptospirose bovine est fréquemment le résultat d'infection par le sérovar Hardjo, mais elle peut également résulter de l'infection par une large variété de serovars dans des lieux spécifiques (Faine et al., 1999). Plusieurs études ont été établies afin de déterminer le serovar dominant responsable de la leptospirose bovine. Les résultats ont montré que le serovar Hardjo a été principalement rencontré dans certains pays européens citons à titre d'exemple : l'Irlande (Egan, 1986), le Royaume-Uni (Pritchard, 1986), le Portugal (Rocha, 1998). En Afrique, citons l'exemple du Nigéria (Ezeh et al., 1989), le Zimbabwe (Feresu, 1987), la Tanzanie (Machang'u et al., 1997) et en Asie, la Malaisie (Bahaman et al., 1997). Le serovar Icterohaemorrhagiae a été observé en Hollande (Hill et Weenink, 1976), le serovar Pomona au Nord d'Espagne (Espí et al., 2000) et le Canada (Prescott et al., 1988), le serovar Grippotyphosa au Nord de la Jordanie (El-Sukhon et al., 1992). Aux États-Unis, Hardjo est le serovar le plus généralement isolé et sérologiquement détecté chez les bovins (Ellis et Thiermann, 1986 ; Miller et al., 1991). Cependant, dans une étude plus récente réalisée au Texas, des sérums obtenus à partir de bovins se sont montrés surtout séropositifs pour le serovar Pomona avec un taux de 22% alors que Hardjo a montré un taux de 15% (Talpada et al., 2003). Au Mexique, 54.1% de bovins étaient séropositifs pour le serovar Hardjo, représentant 62.8% de tous les animaux séropositifs (Segura-Correa et al., 2003). Au Brésil, des anticorps leptospiraux contre le serovar Hardjo ont été mis en évidence chez 46.9% de vaches adultes présentant une baisse de fertilité (Lilenbaum et Souza, 2003). En Australie, les deux serovars Hardjo et Pomona ont été incriminés dans des avortements bovins, cependant, l'incidence de l'infection de hardjo a été beaucoup plus élevée (Slee et al., 1983 ; Jerrett et al., 1984 ; Elder et al., 1985). Le sérovar Hardjo a été le serovar le plus fréquemment détecté (15.8%) dans des troupeaux de bovins du Queensland central (Black et al., 2001).

D'après ces résultats, on constate que chaque serovar est souvent associé à une localisation géographique précise. Ce la peut être la conséquence des facteurs environnementaux. Cependant, le développement de l'infection leptospirale chez l'animal et la survie des leptospires pathogènes en dehors des hôtes exigent un environnement chaud et humide avec un pH proche de neutre (Miller et al., 1991). D'autre part, la résistance des leptospires dans le milieu extérieur est différente d'un serovar à l'autre (Legrand, 2007). En outre, le serovar Pomona possède plusieurs espèces animales réservoirs principaux tels le porc, la mouffette, l'opossum et le lièvre (Bharti et al., 2003). Dans les régions où le bovin cohabite avec ces animaux réservoirs vont augmenter la chance de trouver le serovar Pomona. Dans le même

Discussion

ordre d'idée, les rongeurs sont reconnus comme les réservoirs principaux pour le serovar *Icterohaemorrhagiae* et par conséquent, une séroprévalence élevée de ce serovar chez les bovins signifié une forte infestation de la région par les rongeurs (les bovins sont des hôtes accidentels).

Comparaison entre les différentes méthodes sérologiques pour la recherche des anticorps spécifiques de L. interrogans serovar Hardjo

Dans ce travail, les performances des kits ELISA ont été évaluées en prenant comme test de référence le MAT pour la mise en évidence des anticorps spécifiques de *Leptospira interrogans serovar Hardjo*.

Nous avons utilisé deux kits ELISA différents (Bio-X et PrioCheck) et un MAT.

Nous avons d'abord calculé pour le test ELISA Priocheck, la sensibilité, la spécificité, l'exactitude, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar par rapport au test MAT pris comme test de référence. Nous avons constaté que pour l'ELISA Priocheck, la sensibilité était de 76,9%, la spécificité était de 100% et l'exactitude de 98,5%. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0,86$ ce qui correspond à une bonne concordance entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes ($p>0.05$). Au vue de cette bonne concordance entre les deux tests on en conclut que l'ELISA PrioCheck peut se comporter comme le MAT, le manque de sensibilité est peut-être dû au fait que cet ELISA est basé sur un sonicat de Leptospires qui peut entraîner la perte de certaines épitopes alors que le MAT utilise des leptospires entiers.

Des travaux antérieurs ont déjà comparé le test ELISA PrioCheck avec le MAT pris comme référence. Les résultats obtenus étaient assez similaires aux nôtres. Ainsi, en Inde, Subathra et collaborateurs (2011) ont évalué et comparé le test ELISA avec le MAT sur des sérums de chiens et ont rapporté une sensibilité de 75,46% et une spécificité de 93,29%, Toujours en Inde, des évaluations et comparaisons entre les deux tests mais sur des sérums de bovins ont montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 85,3% (Mariya et al., 2006), une sensibilité de 100% et une spécificité de 97,1% (Deneke et al., 2014). Sur des sérums de bovins, des travaux réalisés en Malaisie et au Brésil ont obtenu une sensibilité et une spécificité de 100% (Eljalii, 2008 ; Queresma Bomfirm, 2005). En Iran, une sensibilité de 100% et une spécificité de 97,1% ont été obtenues (Sankar et al., 2010). Il est à signaler que plusieurs facteurs influencent sur les résultats de comparaison entre la technique ELISA et le

Discussion

test MAT, comme la taille d'échantillon, le kit ELISA utilisé (même laboratoire ou non, le type d'antigène utilisé), le conditionnement du kit, le mode opératoire, l'opérateur... etc.

Par ailleurs, nous avons évalué les performances du test ELISA BIOX par rapport toujours au test MAT pris comme test de référence. Nous avons constaté que pour l'ELISA BIOX, la sensibilité était de 46,2%, la spécificité était de 98,6% et l'exactitude de 95,7%.

Le calcul de Kappa de Cohen a montré un coefficient de $k = 0.54$ ce qui correspond à une concordance modérée entre les deux méthodes.

Le manque de sensibilité est peut-être dû au fait que cet ELISA est basé sur du LPS purifié alors que le MAT permet de détecter les anticorps dirigés contre le LPS mais aussi contre d'autres antigènes de surface.

Cette faible sensibilité observée avec le test ELISA BIOX nous empêche de le recommander pour la détection des anticorps antileptospires chez les bovins causés par le serovar Hardjo. Aussi, ce test a détecté deux échantillons positifs pour le serovar Hardjo qui étaient identifiés par la technique MAT comme positifs pour les serovars Pomona et Grippytyphosa, ce qui signifie que ce test manque aussi de spécificité.

Lorsque nous avons comparé les deux kits d'ELISA entre eux considérant que ELISA Priocheck comme test de référence, nous avons trouvé de nouveau une sensibilité moyenne de l'ELISA Bio-X (60%) et une bonne spécificité (99%) avec une exactitude de 97%. La concordance entre les deux kits était modérée, lorsque nous avons considéré ELISA Bio-X comme test de référence, nous avons trouvé une sensibilité de 75% et une spécificité de 99,7% avec une exactitude de 97%, la concordance entre les deux kits est restée modérée. Ces résultats vont dans le sens que l'ELISA Priocheck est plus performant que l'ELISA Bio-X et il reste un bon moyen de dépistage de la leptospirose bovine causée par le serovar Hardjo en absence du test MAT.

Étude des facteurs de risque

Un autre aspect dans notre travail a été d'étudier les facteurs de risque de la séropositivité vis-à-vis de *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. Pour cela, une enquête séroépidémiologique a été réalisée sur base d'un questionnaire (annexe) rempli dans les 19 fermes étudiées et sur chaque individu prélevé.

Les différents facteurs envisagés et analysés sont repris dans le tableau ci-dessous.

Discussion

Tableau 24 : Résumé de l'analyse des facteurs de risques.

Facteur	Effet
Race	Non significatif
Age (an)	Non significatif
Saison	Non significatif
État général	Non significatif
Gestation	Non significatif
Parité	Non significatif
Signes cliniques	Non significatif
Antécédents pathologiques	Non significatif
Vaches avortées	Non significatif

Les différents facteurs analysés en fonction de leur impact éventuel sur la séroprévalence à *Leptospira interrogans* serovar Hardjo chez le bovin n'ont montré aucune association significative par le test d'indépendance (chi carré).

Dans la littérature, Thiermann a mentionné que la diffusion importante du serovar Hardjo est due aux migrations et importations de bovins et notamment du cheptel Prim'holstein (Thiermann, 1984). En outre, Ngbede et collaborateurs (2013), au Nigeria, ont trouvé une différence significative entre la race et la séropositivité vis-à-vis de *L. interrogans* serovar Hardjo. Cependant, les races autochtones sont apparues significativement plus souvent séropositives que les races exotiques et leurs croisements. En ce qui concerne l'âge, de nombreux travaux ont montré des résultats similaires aux nôtres (Kocabiyik et Ketin, 2004; Schoonman et Swai, 2010 ; Vongxoy et al., 2012 ; Kenar et Ozdemir, 2013 ; Negbede et al., 2013). En revanche, une différence significative a été rapportée entre l'âge et la séropositivité à *L. interrogans* serovar Hardjo dans une étude réalisée au Trinidad où les bovins ≥ 1 an sont les plus sensibles (Suepaul et al., 2011). Pour la saison, l'analyse de ce facteur fait apparaître une séroprévalence élevée en automne et hiver, bien que l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative. Si on met cela en relation avec les facteurs climatiques, il est à signaler, qu'une pluviométrie élevée, ainsi qu'une bonne humidité sont décrites comme étant optimales pour l'infection par des Leptospires (Legrand, 2007). En France, ce sont les souches Grippytyphosa et Hardjo qui semblent prédominer en période de fin d'été ou en début d'automne essentiellement (Rautureau, 2003) et d'après Legrand, les périodes comprises entre les mois d'octobre et janvier-février sont les plus propices à l'infection par *L.*

Discussion

interrogans serovar Hardjo (Legrand, 2007). Concernant l'état général de l'animal, la non association significative constatée pourrait s'expliquer par le fait que d'autres facteurs modulent l'infection des bovins par les Leptospires comme l'état immunitaire, la charge leptospirale, une infection concomitante...

La gestation est un facteur de sensibilité pour la leptospirose bovine (Legrand, 2007). Cependant, dans nos résultats, nous n'avons pas trouvé de différences significatives. Pour la parité, bien que nos résultats ont montré une prévalence de 100% pour les multipares, la différence n'a pas été significative statistiquement et cela peut être expliqué par la faible taille de notre échantillon. Pour ce qui est du facteur signes cliniques et antécédents pathologiques, nous n'avons pas trouvé aussi de différences significatives, ce qui nous a permis de conclure que quelque soit l'état général de l'animal, il est susceptible d'être infecté par *L. interrogans* serovar Hardjo. Enfin pour le paramètre « vaches ayant avorté », pas de relation significative n'a été démontrée entre les vaches ayant avorté et la séropositivité à *Leptospira interrogans* Hardjo. Ce résultat peut être interprété par le faible nombre de vaches ayant avorté participant à cette étude, mais aussi par l'existence d'autres pathogènes responsables d'avortements chez la vache tels (*Brucella abortus*, *Neospora caninum*, *Listeria monocytogènes*...).

Étude épidémiologique de type cas-témoin : Avortements et séropositivité à *L. interrogans* serovar Hardjo

Afin de vérifier si *L. interrogans* serovar Hardjo était une cause d'avortement chez la vache, nous avons réalisé une étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la séroprévalence à *L. interrogans* serovar Hardjo.

Un total de 19 fermes de la région d'Alger a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique les fermes étaient séparées en fermes témoins et en fermes cas. Les fermes cas sont celles où des épisodes d'avortements étaient survenus dans les 5 dernières années, phénomène non constaté dans les fermes témoins. Utilisant ce critère 12 fermes cas et 9 fermes témoins ont été définies. Les sérums d'un total de 205 bovins (139 dans les fermes cas et 66 dans les fermes témoins) ont été prélevés et analysés pour la détection d'anticorps spécifiques de *L. interrogans* serovar Hardjo. Une ferme était considérée comme positive si au moins un animal était séropositif.

Au niveau des fermes (n=19), on constate que l'OR était de 2,5 (0,34-18,33) mais n'était pas significativement différente de 1 (p=0,37). D'après ces résultats, on peut conclure une absence d'association entre la séropositivité à *L. interrogans* serovar Hardjo et la présence

Discussion

d'avortements, bien que le taux d'exposition dans les fermes cas (50%) était plus important que celui des fermes témoins (28%). Ceci est probablement dû au petit nombre de fermes testées. En effet, pour une prévalence de 10% et un RR de 4, on recommande d'utiliser un échantillon de 86 fermes avec une proportion cas-témoin de 1 pour 3 (Toma, 2001).

Au niveau individuel, parmi les 205 sérums analysés, 13 se sont montrés positifs en MAT soit une séroprévalence globale de 6,34%. Parmi les 13 positifs, 10 (7,2%) appartenaient à des fermes cas et 3 (4,54%) provenaient des fermes témoins. Le calcul de l'odds ratio a montré une valeur de 1,63 (0,43-6,12) avec un taux d'exposition de 7,2% pour les fermes cas et de seulement 4,54% dans les fermes témoins. Cette différence n'est pas significative ($P=0,47$). Ce qui signifie que de nouveau nous n'avons pas relevé d'association entre la séroprévalence à *L. interrogans* serovar Hardjo et les avortements des bovins dans la région d'Alger. D'autres études de la littérature indiquent aussi l'absence de relation entre *L. interrogans* serovar Hardjo et les avortements (Carter et al., 1982 ; Bartels et al., 1999 ; Davison et al., 1999 ; Guitian et al., 1999). En revanche, Sanhueza et collaborateurs (2013) ont montré un effet direct de *L. interrogans* serovar Hardjo sur les avortements confirmant des résultats antérieurs mettant en évidence une étroite relation entre les avortements et *Leptospira interrogans* serovar Hardjo (Ellis et Michna, 1977 ; Thiermann, 1982).

En Algérie, des études ont été menées afin d'établir une relation entre la séropositivité d'un autre agent abortif et les avortements. Il s'agit des travaux de Ghalmi et collaborateurs (2011) qui ont mis en évidence l'existence d'une relation étroite entre la séropositivité à *Neospora caninum* et la présence d'avortements dans des exploitations bovines en Algérie.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Conclusion et recommandations

Conclusion et recommandations :

Ce travail constituait la première étude d'envergure sur la séroprévalence vis-à-vis de *Leptospira interrogans* chez le bovin en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la Wilaya d'Alger.

L'étude de la séroprévalence chez le bovin a montré un taux global de 14,14% pour *L. interrogans* (5 serovars testés). Les serovars les plus prévalents étaient Hardjo et Pomona avec un taux de 6,34% chacun. Le serovar le moins prévalent a été Icterohaemorrhagiae avec uniquement 2 échantillons positifs (0,97%).

Notre étude a montré que le kit ELISA PrioCheck était plus sensible que le kit ELISA Bio-X et le MAT reste l'outil sérologique de référence dans le diagnostic d'une infection à *Leptospira interrogans* serovar Hardjo.

L'analyse des facteurs de risque n'a mis en évidence aucun facteur pouvant influencer la séropositivité vis-à-vis de *Leptospira interrogans* serovar Hardjo chez le bovin.

Par ailleurs, l'étude cas-témoin a montré une absence d'association entre la séropositivité à *L. interrogans* serovar Hardjo et les avortements dans les exploitations étudiées.

Au terme de ce travail, il est important de recommander des mesures préventives pour détecter des sujets positifs, réduire leur nombre, éviter la contamination des sujets sains et empêcher la contamination de personnes en contact avec les sujets malades. A cet effet, nous proposons les mesures suivantes :

- un dépistage très large doit être réalisé dans toutes les Wilayas pour évaluer la prévalence réelle de la leptospirose bovine en Algérie. L'isolement serait d'un grand intérêt pour classer et répertorier les serovars les plus fréquents en Algérie et identifier leurs caractéristiques génomiques et moléculaires ;
- établir des études plus approfondies pour déterminer la distribution de la bactérie chez toutes les espèces animales jouant le rôle de réservoirs et des enquêtes de séroprévalence doivent être entreprises pour estimer l'étendue et la distribution de l'infection et confirmer son impact sur le bétail ;
- renforcer et développer son diagnostic dans les laboratoires humains et vétérinaires, ainsi qu'à travers des projets de recherche, afin de contribuer à l'amélioration des techniques de diagnostic et la production de vaccins plus immunogènes et plus efficaces ;
- doter de moyens nécessaires de tous les acteurs qui interviennent dans la prophylaxie, en commençant par les services vétérinaires ;

Conclusion et recommandations

- lors d'échanges internationaux, un dépistage sérologique est pratiqué par deux tests de microagglutination réalisés à trois semaines d'écart avec un titre seuil de positivité supérieur à 100 ;
- il faut absolument isoler les malades (16 semaines) et procéder à l'abattage systématique de bovins infectés en l'absence d'alternatives (les animaux porteurs excréteurs) ;
- 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 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 ;
- .la décontamination du milieu extérieur. Elle comprend le nettoyage des sols souillés par les urines des rongeurs à l'aide d'un désinfectant iodé, le drainage des terrains marécageux aux abords des locaux d'élevage et la lutte contre les rongeurs sauvages ;
- le contrôle de l'infection chez les bovins. La vaccination des bovins se fait selon le protocole présenté dans la partie prophylaxie médicale de cette thèse ;
- le praticien devra penser à inclure dans son diagnostic différentiel les formes chroniques de leptospirose lors de troubles multifactoriels tels que les baisses de performances de reproduction (infertilité, avortement, naissance de fœtus mort-né...).

Cette étude limitée à la région d'Alger, se doit d'être étendue à l'avenir par d'autres travaux consacrés aux autres régions du pays afin de broser une image épidémiologique plus précise de la leptospirose bovine en Algérie et de mieux en mesurer le préjudice économique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

References bibliographiques:

- Abdollahpour G., Shafighi T., Sattari Tabrizi S.** Serodiagnosis of Leptospirosis in cattle in North of Iran, Gilan. *Int J Vet Res*, 2009, 3 (1), 7-10.
- Abgueuen P., Pichard E.** Leptospirosis. *Rev Prat.*, 2009, 20, 59 (5), 665-73.
- Adler B., De La Pena Moctezuma A.** Leptospira and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 2010, 140, (3-4), 287-296.
- Adler B., Lo M., Seemann T., Murray G.L.** Pathogenesis of leptospirosis: The influence of genomics. *Veterinary Microbiology*, 2011, volume 153, 73-81.
- Alagninouwa T., Becker C.** Animaux de rente : La leptospirose ici et ailleurs. Communication lors du symposium sur la leptospirose au Campus vétérinaire de VetAgro Sup à Marcy l'Etoile, le 5 avril 2012, 21-22.
- Allen J.D., Meney C.L., Wilks C.R.** Evaluation of hardjo-pomona vaccine to prevent leptospira in cattle exposed to a natural challenge with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Aust. Vet. J.*, 1982, 58, 93-96.
- Alonso-Andicoberry C., Garcia-Pena F.G., Pereira-Bueno J., Costas E., Ortega-Mora L.M.** Herd-level risk factors associated with leptospira spp. Seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. *Preventive veterinary medicine*, 2001, 52, 109-117.
- Alt D.P., Bolin C.** Preliminary evaluation of antimicrobial agents for treatment of *Leptospira interrogans* serovar infection in hamsters and swine. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, 57, 59-62.
- Alt D.P., Zuerner R.L., Bolin C.A.** Evaluation of antibiotics for treatment of cattle infected with *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2001, 219, (5), 636-639.
- Andre-Fontaine G.** Connaître les risques de transmission de la leptospirose à l'homme par les animaux de compagnie. *Le nouveau praticien vétérinaire, canine féline*, 2004, (18), 37-40.
- Andre-Fontaine G.** Leptospirose, in *Principales maladies infectieuses et parasitisme du bétail, Europe et régions chaudes. Maladies bactériennes, mycoses*, Lefevre P.C., Blancon J., Chermette R., Editors. 2003, édition Paris : TEC et DOC, 993-1005.
- Andre-Fontaine G.** Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2001. *ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires*, 2001, 8 p.
- Andre-Fontaine G., Ganiere J.P.** Leptospirose canine. *Encycl. Vét. Médecine Générale. ed Technique*, 1992, Paris.1-7.
- Andre-Fontaine G., Ganiere J.P., Boukerrou A.** Données actuelles sur la leptospirose des animaux d'élevage : 1- étiologie, symptômes, épidémiologie. *Rev. Méd. Vét.*, 1985a, 136, 627-637.
- Andre-Fontaine G., Ganiere J.P., Boukerrou A.** Données actuelles sur la leptospirose des animaux d'élevage: 2- lutte, diagnostic, dépistage, prophylaxie. *Rev. Méd. Vét.*, 1985b, 136, 693-700.
- Andre-Fontaine G., Ganiere J.P., Quiniou M.A.** Prévalence des anticorps antileptospirosiques chez les bovins en Loire-Atlantique: 1- Etude comparative dans des cheptels avec et sans antécédent abortif. *Rec. Méd. Vét.*, 1988a, 164, 391-395.
- Andre-Fontaine G., Ganiere J.P., Quiniou M.A.** Sérologie des leptospiroses animales: qualités analytiques comparées de la technique à lecture directe en microplaques et de la
-

Références bibliographiques

technique en plaques à lecture sur lame. *Bull. lab. Vet.*, 1988b, 29/30, 63-69.

Andre-Fontaine G., Lefur C., Bellin J., Robast C. Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2005. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2005, 11p.

Andre-Fontaine G., Lefur C., Bellin J., Rochereau S., Aviat F., Raveloarisoa S. Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2006. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2006, 11p.

Andre-Fontaine G., Ruvoen Clouet N. Rapport d'activité diagnostique leptospirose 1999. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 1999, 7p.

Andre-Fontaine G., Ruvoen Clouet N., Suard I., Fillonneau C. Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2000. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2000, 8p.

Andre-Fontaine G., Suard I., Fillonneau C., Cherruaud L. Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2002. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2002, 10p.

Andre-Fontaine G., Suard I., Lefur C. Rapport d'activité diagnostique leptospirose 2003. ENV Nantes Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires, 2003, 10p.

Atherstone Christine., Kim Picazzi., Gladys Kalemay-Zikuzoka. Seroprevalence of leptospira Hardjo in cattle and African buffalos in southwestern Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2014, 90 (2), 288-290.

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

Aviat F., Man Sotte F., Blanchard B., Mondot P., Bolut P., Andre-Fontaine G. La leptospirose, zoonose de loisir et zoonose professionnelle: rôle des rongeurs et de l'eau. *Epidemiologic et Santé Animale*, 2004, 45, 55-60.

Bahaman A.R., Ibrahim A.L., Adam H. Serological prevalence of leptospiral infection in domestic animals in West Malaysia. *Epid. Infect.*, 1987, 99, 379-392.

Baranton G., Postic D. Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. *International Journal of Infectious Diseases*, 2006, 10, 162-170.

Barnett J.K., Barnett D., Bolin C.A., Summers T.A., Wagar E.A., Cheville N.F. Expression and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infect. Immun.*, 1999, 67 (2), 853-861.

Bartels C.J.M., Wouda W., Schukken Y.H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*, 1999, 52, 247-257.

Barwick R.S., Mohammed H.O., Mc Donough P.L., White M.E. Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance, *Prev. Vet. Med.*, 1998, 36, 153-165.

Barwick R.S., Mohammed H.O., Mc Donough P.L., White M.E. Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the state of New York, *Am. J. Vet. Res.*, 1997, 58, 1097-1103.

Références bibliographiques

- Bercovich Z., Taaijke R., Bokhout B.A.** Evaluation of an ELISA for the diagnosis of experimentally induced and naturally occurring *Leptospira Hardjo* infections in cattle. *Vet. Microbiol.*, 1990, 21, 255-262.
- Berech P.** leptospires. *Bactériologie médicale*, 2eme ed., flammariion médecine sciences, 1989, chap49, 722-729.
- Berger E.** Contribution à l'étude des avortements d'origine infectieuse non brucellique chez les bovins: étude rétrospective dans les Groupements de Défense Sanitaire des Côtes d'Armor, de la Côte d'Or, de la Loire-Atlantique et de la Manche. (Thèse Méd. Vét), ENVA, 1999, N°46, 117 p.
- Bernheimer A.W., Bey R.F.** Copurification of *Leptospira interrogans* serovar pomona hemolysin and sphingomyelinase C. *Infect Immun.*, American Society for Microbiology, 1986, 54, (1), 262-264.
- Besbrosse A.M., Pronost S.** Comment diagnostiquer les uveïtes leptospirosiques chez le cheval. *le nouveau praticien veterinaire, équine*, juin/juillet/aout 2006, 17-21
- Bharti A.R., Nally J.E., Ricaldi J.N., Matthias M.A., Diaz M.M., Lovett M.A., Levett P.N., Gilman R.H., Willig M.R., Gotuzzo E., Vinetz J.M.** Peru-united states leptospirosis consortium. Leptospirosis : a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 2003, 3(12), 757-771.
- Bielanski A., Surujballi O., Golsteyn Thomas E., Tanaka E.** Sanitary status of oocytes and embryos collected from heifers experimentally exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjobovis. *Anim. Reprod. Sci.*, 1998, 54(2), 65-73.
- Bishop L., Strandberg J.d., Adams R.j., Brownstein D.g., Patterson R.** Chronic active hepatitis in dogs associated with leptospires. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, 40 (1), 839-844.
- Black P.F., Corney B.G., Smythe L.D., Dohnt M.F., Norris M.A., Symonds M.L.** Prevalence of antibodies of *Leptospira* serovars in beef cattle in central Queensland. *Aust. Vet. J.*, 2001, 79, 344-348.
- Blackmore.** The magnitude and duration of titres of leptospiral agglutinins in human sera. *N Z Med J*, 1984, 97, 83-86.
- Boïbieux A.** La leptospirose en pathologie humaine. Communication lors du symposium sur la leptospirose au Campus vétérinaire de VetAgro Sup à Marcy l'Etoile, le 5 avril 2012, 13.
- Bolin C.** Vaccination for leptospirosis: does it pay?. *Cattle Practice*, 2005, 4-5.
- Bolin C.A.** Diagnosis of leptospirosis: a re-emerging disease of companion animals. *Semin. Vet. Med. Surg.*, 1996, 11, 166-171.
- Bolin C.A., Zuerner R.L., Trueba G.** Comparison of three techniques to detect *Leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjo-bovis in bovine urine. *Am. J. Vet. Res.*, 1989, 50, 1001-1003.
- Bontemps Marion.** La leptospirose humaine en exercice vétérinaire ; point actuel du risque. (Thèse Med Vét) ENVL, 2012, 122 p.
- Bourhy P., Bremont S., Zinini F., Giry C., Picardeau M.** comparaison of real-time PCR assays for detection of pathogenic leptospira spp. In: blood and identification of variations in target sequences. *J Clin Microbiol.*, 2011, 49(6), 2154-60.
- Bourhy P., Picardeau M.** Apport du laboratoire de référence dans le diagnostic de la leptospirose, communication lors du symposium sur la leptospirose au Campus vétérinaire de
-

Références bibliographiques

VetAgro Sup à Marcy l'Etoile, le 5 avril 2012, p 37.

Brenner D.J., Kaufmann A.F., Sulzer K.R., Steigerwalt A.G., Rogers F.C., Weyant R. 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. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, 49, 839-858.

Brown K., Prescott J. Leptospirosis in family dog: a public health perspective. *CMAJ*, 2008, 178 (4), 399-401.

Brown P.D, Gravekamp C, Carrington D.G, Van De Kemp H, Hartskeerl R.A, Edwards C.N, Everard C.O.R, Terpstra W.J, Levett P.N. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis”, *J Med Microbiol.*, The Pathological Society of Great Britain and Ireland, 1995, volume 43, (2), 110-114.

Brugere-Picoux J. La leptospirose. *Bull. Group. Tech. Vet.*, 1994, (94-3-OV-158), 189-191.

Bunnell J.E., Hice C.L., Watts D.M., Montrueil V., Tesh R.B., Vinetz J.M. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am J Trop Med Hyg*, 2000, 63, 255-8.

Byrne R.J. Canine Leptospirosis and Public Health. *Public Health Reports, USA*, 1955, 70, (12), 1229-1236.

Caron V, INRS. Leptospirose et milieu professionnel. INRS, documents pour la Médecine du travail, 2009, (120), 485-489.

Carter M.E., Cordes D.O., Holland J.T.S., Lewis S.F., Lake D.E. Leptospirosis II. Investigation of clinical disease in dairy cattle in the Waikato district of New Zealand. *NZ. Vet. J.*, 1982, 30, 136–140.

Cedric Fissolo. L’uveite equine leptospirosique: réalisation d’un de la prise en charge vétérinaire. Elaboration d’une étude sur la ponction d’humeur vitrée et la comparaison des diagnostics de laboratoire. (thèse Med Vét) ENVL, 2012, 147 p.

Cerqueira G.M., Picardeau M. A century of leptospira strain typing. *Infection Genetics and Evolution*, 2009, 9, 760-768.

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

Choy H A., Kelley M.M., Chen T.L., Moller A.K., Matsunaga J., Haake D.A. Physiological osmotic induction of *Leptospira interrogans* adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. *Infect Immun*, American Society for Microbiology, 2007, 75, (5), 2441-2450.

Cinco M. Culture des leptospires. *Med. Mai. Inf*, 1981, 11(2), 57-59.

Coghlan J.D. Aspects cliniques et traitement des Leptospiroses. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 1981, 11, (2), 114-118.

Coghlan J.D., Bain A.D. Leptospirosis in Human Pregnancy followed by Death Foetus. *British Medical Journal*, 1969, (1), 228-230.

Colin M. La leptospirose du chien. *Action vet. ASV mag*, 2000, (36), 7-9.

Coyne M.J., Burr J.H.H., Yule T.D., Harding M.J., Tresnan D.B., McGavin D. Duration of immunity in dogs after vaccination or naturally acquired infection. *Vet. Rec*, 2001, 149 (17), 509-515.

Références bibliographiques

- Davison H.C., Otter A., Trees A.J.** Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int. J. Parasitol.*, 1999, 29, 1189–1194.
- Deneke Yosef., Sabarinath T., Neha Gogia., Lalsiamthara Jonathan., Viswas K.N., Chaudhur Pallab.** Evaluation of recombinant LigB antigen-based indirect ELISA and latex agglutination test for the serodiagnosis of bovine leptospirosis in India. *Molecular and Cellular Probes*, 2014, 1e 6.
- Dhaliwal G.S., Murray R.D., Dobson H., Ellis W.A.** Effect of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection on progesterone concentrations in heifers. *Vet. Rec.*, 1997, 140 (1), 19-20.
- Dhaliwal G.S., Murray R.D., Ellis W.A.** Reproductive performance of dairy herds infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo relative to the year of diagnosis. *Vet. Rec*, 1996, 138 (12), 272-276.
- Dikken H.** diagnostic direct des leptospires humaines. *Médecine maladies infectieuses*, 1981, 11 (2), 95-99.
- Djelouadji Z., Roux V., Raoult D., Kodjo A., Drancourt M.** le diagnostic moléculaire des infections leptospirosiques. Communication lors du symposium sur la leptospirose au Campus vétérinaire de VetAgro Sup à Marcy l’Etoile, le 5 avril 2012, 39.
- Drugeot T.** Diagnostic sérologique de la leptospirose bovine: étude expérimentale d'une microagglutination simple à l'aide d'une souche vivante de *Leptospira biflexa*. (Thèse Méd. Vét) ENVN, 1988, N°74, 51 p.
- Eaglesome M.D., Garcia M.M.** Disease risks to animal health from artificial insemination with bovine semen. *Rev. Sci. Tech*, 1997, 16 (1), 215-25.
- Egan J.** *Leptospira interrogans* serovar hardjo in the Republic of Ireland. In : Ellis W.A. et Little T.W.A (ed.) : Present state of leptospirosis diagnosis and control. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands, 1986, 211.
- El Jalii I.M.** Comparison between ELISA and the Microscopic Agglutination Test for the Diagnosis of Bovine Leptospirosis. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 2008, 61 (2) 73-75.
- Elder J.K., Pepper P.M., Hill M.W.M., Ward W.H.** The significance of leptospiral titers associated with bovine abortion. *Aust. Vet. J.*, 1985, 62, 258-262.
- Ellis W.A.** Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clinic North Am: food animal practice*, 1994, 10, 463-478.
- Ellis W.A.** Manifestations cliniques des leptospiroses chez le bétail. *Méd. Mal. Infect.*, 1981, 11, 84-85.
- Ellis W.A.** Leptospirosis, its control, past, present and future. *Cattle practice*, 1999, 7 (1), 53-54.
- Ellis W.A., Michna S.W.** Bovine leptospirosis: experimental infection of pregnant heifers with a strain belonging to hebdomadis serogroup. *Res. Vet. Sci.*, 1977, 22, 229–236.
- Ellis W.A., Thiermann A.B.** Isolation of leptospires from the genital tracts of Iowa cows. *Am. J. Vet. Res.*, 1986, 47, 1694-1696.
- Ellis W.E.** Leptospirosis. In: OIE, manual of standards, ed. OIE, Paris, 1992, 186-196.
- El-Sukhon S.N., Abo-Shehada M.N., Abuharfiel N., Atmeh R.F.** Prevalence of leptospiral
-

Références bibliographiques

- antibodies in cattle in Northern Jordan. *Trop. Anim. Health Prod.*, 1992, 24, 127-128.
- Espi A., Prieto J.M., Fernandez M., Alvarez M.** Serological prevalence to six leptospiral serovars in cattle in Asturias (Northern Spain). *Epid. Infect.*, 2000, 124, 599-602.
- Everard C.O., Bennett S.** Persistence of leptospiral agglutinins in Trinidadian survey subjects. *Eur J Epidemiol*, 1990, 6, 40-44.
- Ezeh A.O., Addo P.B., Adesiyun A.A., Bello C.S.S., Makinde A.A.** Serological prevalence of bovine leptospirosis in Plateau State, Nigeria. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 1989, 42, 505-508.
- Faine S., Adler B., Bolin C., Perolat P.** *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne, Australia: MediSci, 1999, 296.
- Faine S., Stallman N.D.** Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the Species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1982, 32 (4), 461-463.
- Feresu S.B.** Serological survey of leptospiral antibodies in cattle in Zimbabwe. *Trop. Anim. Health Prod.*, 1987, 19, 209-214.
- Francesca Scolamacchia., Ian G. Handel., EricM.Fe `vre., Kenton L. Morgan., Vincent N. Tanya., Barend M. de C. Bronsvoot.** Serological Patterns of Brucellosis, Leptospirosis and Q Fever in *Bos indicus* Cattle in Cameroon. *Cameroon Cattle Zoonoses*, 2010, 5 (1), e8623.
- Ghalmi F., China B., Kaidi R., Losson B.J.** *Parasitol.*, 2011, 97 (6), 1121 – 1124.
- Gaumont R.** La leptospirose chez le bétail en Europe. *Rev. sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 1983, 2 (1), 57-63.
- Giles N., Hathaway S.C., Stevens A.E.** Isolation of *Leptospira interrogans* serovar hardjo from a viable premature calf. *Vet Rec*, 1983, 113, 174-176.
- Gitton X., André-Fantaine G., Andre F., Ganiere J.P.** Immunoblotting study of the antigenic relationships among eight serogroups of leptospira. *Vet Microbiol*, 1992, 32(34), 293-303.
- Goldstein R.E.** Canine Leptospirosis. *Vet Clin Small Anim*, 2010, (40), 1091-1101.
- Greene C.E.** Leptospirosis. In: chap 35, *Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat*, ed. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, Mexico city, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, 1984, 588-592.
- Grooms D.L.** Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea and leptospirosis. *Theriogenology*, 2006, 66, 624-628.
- Grooms D.L.** Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, 2006, 66, 624-628.
- Guerra M.A.** Leptospirosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2009, 234, 472-478.
- Guerreiro H., Croda J., Flannery B., Mazel M., Matsunaga J., Reis Mg.** Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. *Infect. Immun*, 2001, 69 (8), 4958-4968.
-

Références bibliographiques

- Gutián F.J., García-Peña F.J., Oliveira J., Sanjuán M.L., Yus E.** Serological study of the frequency of leptospiral infections among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in Galicia, Spain. *Vet Microbiol.*, 2001, 80 (3), 275-84.
- Guitian J., Thurmond M.C., Hietala S.K.** Infertility and abortion among first lactation dairy cows seropositive or seronegative for *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1999, 215, 515-518.
- Haake D.A., Matsunaga J.** *Leptospira*: a spirochaete with a hybrid outer membrane. *Molecular Microbiology*, 2010, 77, 805-814.
- Haddad N., Toma B., et al.** Leptospirose. Les zoonoses infectieuses, Polycoopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Merial (Lyon), 2008, 55-59.
- Hathaway S.C., Little T.W.A., Stevens A.E.** Serological survey of leptospiral antibodies in sheep from England and Wales. *Vet. Rec.*, 1982, 110, 99-101.
- Hazart G, Hugonnard M, Kodjo A, Groud K, Goy-Thollot I.** La leptospirose canine en France: étude rétrospective de 37 cas. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, 2010, 45, (2), 59-64.
- Heath Se., Johnson R.** Leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1994, 205 (11), 1518-1523.
- Heinemann M.B., Garcia J.F., Nunes C.M., Morais Z.M., Gregori F., Cortez A.** Detection of leptospires in bovine semen by polymerase chain reaction. *Aust. Vet. J.*, 1999, 77(1), 32-34.
- Hernández-Rodríguez Patricia., César A. Díaz., Ernesto A. Dalmau., Gladys M. Quintero.** A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. *Journal of Microbiological Methods*, 2011, 84, 1-7.
- Hesterberg U.W., Bagnall R., Bosch B., Perrett K., Horner R., Gummow B.** A serological survey of leptospirosis in cattle of rural communities in the province of KwaZulu-Natal, South Africa. *J S Afr Vet Assoc.* 2009, 80, 45-9.
- Hill W.K., Weenink C.D.** Review of the incidence of antibodies to various serological groups of the species *Leptospira interrogans* in a number of farm animals in the Netherlands. *Tijdschr. Diergeneeskd.*, 1976, 101, 835-848.
- Hoke D.E., Egan S., Gullen P.A., Adler B.** LipL32 is an extracellular matrix-interacting protein of *Leptospira* spp. and *Pseudoalteromonas tunicata*. *Infect Immun*, 2008, 76(5), 2063-9.
- Houpihan P., Perolat P., Baranton G., Brouqui P.** Leptospiroses. *Encycl Med Chir (Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris). Maladies infectieuses*, 2002, 8-039-Q-10, 14 p.
- Hovind-Hougen K.** Morphologie des leptospires. *Méd. Mal. Infect.*, 1981, 11(2), 60-70.
- Hugonnard M., Francey T.** Vers un nouveau visage de la leptospirose canine, Mieux connaître et reconnaître la maladie pour mieux la traiter et la prévenir. communication lors du symposium sur la leptospirose au Campus vétérinaire de VetAgro Sup à Marcy l'Etoile, le 5 avril 2012, page 15.
- IPA.** Rapport d'activités de l'Institut Pasteur D'Algerie, 2009.
-

Références bibliographiques

- Isogai E., Isogai H., Kubota T., Fujii N., Hayashi S., Indoh T., Takagi S., Miura H., Kimura K.** Apoptosis of lymphocytes in mice administered lipopolysaccharide from *Leptospira interrogans*. *Vet. Med.*, 1998, 45, 529-537.
- Jauregui S., Roussel M., Brinchault-Rabin G., Gacouin A., Le Meur A., Arveux C., Michelet C., Tattévin P.** Clinical presentation of leptospirosis: a retrospective study of 34 patients admitted to a single institution in metropolitan France. *Clin Microbiol Infect.*, 2005, 11 (5), 391-4.
- Jerrett I.V., Mcorist S., Waddington J., Browning J.W., Malecki J.C., Mccausland I.P.** Diagnostic studies of the fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortions. *Cornell Vet.*, 1984, 74, 8-20.
- Johnson R.C.** The biology of parasitic spirochetes. Academic Press, New York, 1976, 19, 209-210.
- Kenar B., Ozdemir V.** The seroprevalence of leptospirosis in Anatolian buffaloes in Turkey. *Revue Méd. Vét.*, 2013, 164, 6, 331-335.
- Khurshaid Anwar., Naveed Khan., Muhammad Mujtaba.** Seroprevalence of leptospirosis in aborted dairy cattle in Peshawar district suburb, Khyber Pakhtunkhwa Pakistan. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 2013, 2(8), 73-78.
- Kiktenko V.S., Balashov N.G., Rodina V.N.** Leptospirosis infection through insemination of animal. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. and Immunol.*, 1976, 20.
- Kingscote B.** Leptospirosis in Sheep in Western Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 1985, 26, 164-168.
- Kocabiyik A.L., Cetin C.** Bovine leptospirosis in south Marmara region of Turkey: A serological survey. *Revue Méd. Vét.*, 2004, 155, 12, 606-608.
- Kossey-Vrain C.** La leptospirose canine: revue bibliographique (Thèse Méd. Vét). ENVA, 2004, N°135, 150p 296-326.
- Laidebeure Sylvie.** Etude du rôle de la faune sauvage exogène (rongeurs, carnivores, oiseaux) dans la transmission de la leptospirose, la pseudotuberculose et la toxoplasmose aux animaux du parc zoologique de la palmyre (Charente-Maritime). (Thèse Méd. Vét) ENVA, 2004, 103 p.
- Langston C. E., Heuter K. J.** Leptospirosis A re-emerging zoonotic disease. *Vet Clin Small Anim*, 2003, 33, 791-807.
- Legkobytt T., David D.J., Lee-Robin S.H.** Diagnostic biologique de la leptospirose – Texte court du Rapport d'évaluation technologique. HAS (Haute Autorité de Santé), Service évaluation des actes professionnels, 2011, 1-15.
- Legend E.** La leptospirose bovine. (Thèse Méd. Vét) ENVA, 2007, 103p.
- Leon L. L., Garcia R. C., Diaz C. O., Valdez R. B., Carmona C.C. A., Velazquez B. L. G.** Prevalence of Leptospirosis in Dairy Cattle from Small Rural Production Units in Toluca Valley, State of Mexico. *Animal Biodiversity and Emerging Diseases: Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2008, 1149, 292–295.
- Levett P.N.** leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, 14, 2, 296-326.
- Levett P.N.** Leptospirosis : A forgotten zoonosis. *Clinical and Applied Immunology Reviews*, 2004, 4, 435-448.
-

Références bibliographiques

- Lilenbaum W., Souza G.N.** Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Research in Veterinary Science*, 2003, 75 (3), 249-251.
- Lilenbaum W., Vargas R., Medeiros L., Cordeiro A.G., Cavalcanti A., Souza G.N., Richt Zenhain L., Vasconcellos S.A.** Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Research in Veterinary Science*, 2008, 84, 14-17.
- Lin Y.P., Mcdonough S.P., Sharma Y., Chang Y.F.** *Leptospira* immunoglobulin-like protein B (LigB) binding to the C-terminal fibrinogen a C domain inhibits fibrin clot formation, platelet adhesion and aggregation. *Mol Microbiol*, 2011, 79 (4), 1063-76.
- Lindahl Elisabeth., Sofia Boqvist., Karin Artursson., Ulf Magnusson.** A field-study on *Leptospira* seroprevalence in dairy cows in four geographical areas in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2011, 53, 53.
- Luciani O.** Réceptivité et sensibilité du chat aux leptospires. (Thèse Méd Vét) ENVN, France, 2004, 123 p.
- Luciani O.** Réceptivité et sensibilité du chat aux leptospires. (Thèse Méd Vét) Nantes, France, 2004, 123 p.
- Lupo Coralie.** Epidémiologie de la leptospirose animale aux Iles Fidji. (Thèse Méd Vét) ENVN, France, 2002, 149 p.
- Machang'u R.S., Mgone G., Mpanduji D.** Leptospirosis in animals and humans in selected areas of Tanzania. *Belg. J. Zool.*, 1997, 127, 97-104.
- MADR.** Statistique agricole, 2009
- Maria Rosa Quaresma Bomfim., Albert Ko., Matilde Cota Koury.** Evaluation of the recombinant LipL32 in enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of bovine leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 2005, 109, 89-94.
- Mariya R., Pallab Chaudhary., Kumar A.A., Thangapandian E., Amutha R., Srivastava S.K.** Evaluation of a recombinant LipL41 antigen of *Leptospira interrogans* serovar Canicola in ELISA for serodiagnosis of bovine Leptospirosis. *Comparative Immunology, Microbiology et Infectious Diseases*, 2006, 29, 269-277.
- Martins Gabriel., Bruno Penna., Walter Lilenbaum.** Differences between seroreactivity to leptospirosis in dairy and beef cattle from the same herd in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Anim Health Prod*, 2012, 44, 377-378.
- Masri S.A., Nguyen P.T., Gale S.P., Howard C.J., Jung S.C.** A polymerase chain reaction assay for the detection of *Leptospira* spp. in bovine semen. *Can J. Vet. Res.*, 1997, 61(1), 15-20.
- Mathon F.** Les avortements à leptospire chez les bovins. (Thèse Méd Vét) ENVN, 1979, N°64, 55 p.
- Merien F., Baranton G., Perolat P.** Comparaison of Polymerase Chain Reaction with Microagglutination Test and Culture for diagnosis of leptospirosis. *J. Infect. Dis.*, 1995, 172, 281-285.
- Michel V., Ruvoen-Clouet N., Menard A., Scarier C., Fillonneau C., Rakotovo F., Gan lere Jp., Andre-Fontaine G.** Role of the coypu (*Myocastor coypus*) in the epidemiology of leptospirosis in domestic animals and humans in France. *Eur J Epidemiol*, 2001, 17(2), 111-21.
- Miller D.A., Wilson M.A., Beran G.W.** Survey to estimate prevalence of *Leptospira*
-

Références bibliographiques

- interrogans infection in mature cattle in the United States. *Am. J. Vet. Res.*, 1991, 52, 1761-1765.
- Millet A.S.** La leptospirose du chien. *Pratique Médicale and Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1998, 33, 19-23.
- Murgia R., Riquelme N., Baranton G., Cinco M.** Oligonucleotides specific for pathogenic and saprophytic leptospira occurring in water. *FEMS Microbiol Let.* 1997, 148, 27-34.
- Murray R.D.** Update on leptospira infections in farm animals. *Cattle Practice*, 1999, 7 (1), 55-57.
- Nahori M.A., Fournie-Amazouz E., Que-Gewirth N.S., Balloy V., Chignard M., Raetz C.R., Saint Girons I., Werts C.** Differential TLR Recognition of Leptospiral Lipid A and Lipopolysaccharide in Murine and Human Cells. *The Journal of Immunology*, 2005, **175**, 6022 -6031.
- Naiman B.M., Alt D., Bolin C.A., Zuerner R., Baldwin C.L.** Protective Killed *Leptospira borgpetersenii* Vaccine Induces Potent Th1 Immunity Comprising Responses by CD4 and Gamma Delta T Lymphocytes. *Infect. Immun.*, 2001, 69 (12), 7550-7558.
- Nardone A., Campese C., Capek I.** Les facteurs de risques de leptospirose en France métropolitaine. Une étude cas-témoin, juillet 1999- février 2000, Institut de veille sanitaire - Département des maladies infectieuses, 2002, 1-54.
- Ngbede E. O., Raji M A., Kwanashie C. N., Okolocha E.C., Maurice N.A., Akange E.N., Odeh L. E.** Leptospirosis among zebu cattle in farms in Kaduna State, Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2012, 367-369.
- Ngbede E.O., Raji M A., Kwanashie C.N., Okolocha E.C.** Serosurvey of *Leptospira* spp serovar Hardjo in cattle from Zaria, Nigeria. *Rev. Méd. Vét.*, 2013, 164, 2, 85-89.
- Nicolescu M.** La réaction d'agglutination macroscopique: réaction de dépistage des Leptospiroses humaines. *Méd. Mal. Infect.*, 1981, 11 (2), 105-108.
- O'keefej S.** A brief review on the laboratory diagnosis of leptospirosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 2002, 50, 9-13.
- Odontsetseq N., Sakada., Kida H.** Serological evidence of the persistence of infection with leptospira interrogans serovar Hardjo in catle in Mongolia. *Microbiol immunol*, 2005, 49 (9), 865-9.
- OIE.** Leptospirose. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, Manuel Terrestre de l'OIE, 2009, volume 1, chapitre 2.1.9, 275-289.
- OMS.** Organisation mondiale de la santé, 1987.
- Osborne C.A., Low D.G., Finco D.R.** La leptospirose. *Urologie du chien et du chat*, ed. Vigot. Maladies rénales liées aux maladies polysystémiques, 1976, 28, 317-321.
- Otter A., Wilson B.W.** Bovine abortion outbreaks associated with *Neospora* and other infectious agents. *Vet. Rec.*, 1997, 141 (25), 659-660.
- Ozkanlar Y., Aktas M.S., Kaynar O., Ozkanlar. S., Celebi F.** Efficacy of blood transfusion accompanied by antibiotics and B vitamins for the treatment of naturally occurring Leptospirosis in cattle. *Revue Méd. Vét.*, 2010, 161, 7, 336-341.
- Pages J.P.** Leptospirose canine: actualités cliniques. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 2001, 36,573-579.
-

Références bibliographiques

- Palit A., Gulasekharam J.** Genus-specific leprospirial antigen and its possible use in laboratory diagnosis. *J Clin Pathol*, 1973, 26, 7-16.
- Pappas G., Papadimitriou P., Siozopoulou V., Christou L., Akritidis N.** The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *International Journal of Infectious Diseases*, 2008, 12, 351-357.
- Peiller J.L.** diagnostic sérologique des leptospiroses bovines : étude de l'antigène thermorésistant (Thèse med vét). ENVN, 1989, 38.
- Perez Bonilla Q., Dorado Sanchez E., Borrallo Mira J.** Une enzootie de leptospirose bovine. *Point Vét*, 1983, 15 (71), 51-54.
- Perolat P., Baranton G.** *Leptospira interrogans* et la leptospirose. *Bull inst Past*, 1990, 88, 315-333.
- Perolat P., Baranton G.** Leptospira. Précis de bactériologie clinique. ESKA, 2000, 91, 1533-1542.
- Perolat P., Baranton G., Postic D.** Actualité de la leptospirose en France. *Méd. Mal. Infect.*, 1981, 11, 835-839.
- Picardeau M.** La leptospirose, maladie négligée due à une bactérie atypique. Communication lors du symposium sur la leptospirose au Campus vétérinaire de VetAgro Sup à Marcy l'Etoile, le 5 avril 2012, p11.
- Picardeau M., Bulach D.M., Bouchier C., Zuerner R.L., Zidane N., Wilson P.J., Creno S., Kuczek E.S., Bommezzadri S., Davis J.C., Mcgrath A., Jonhson M.J., Boursaux-Eude C., Seeman T., Rouy Z., Coppel R.L., Rood J.I., Lajus A., Davies J.K., Medigue C., Adler B.** Genome Sequence of the Saprophyte *Leptospira biflexa* provides insights into the Evolution of *Leptospira* and the Pathogenesis of Leptospirosis. *PLoS ONE*, 2009, 3 (2), e1607, 1-9.
- Prescott J.F., Miller R.B., Nicholson V.M., Martin S.W., Lesnick T.** Seroprevalence and association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontario. *Can. Vet. J.*, 1988, 52, 210-215.
- Prescott Jf.** Treatment of leptospirosis. *Cornell. Vet.*, 1991, 81 (1), 7-12.
- Quaresma Bomfim M.R., Ko A., Koury M.C.** Evaluation of the recombinant LipL32 in enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of bovine leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 2005, 109, 89-94.
- Rautureau S.** Bilan du statut sanitaire des bovins et des porcs vis à vis de la leptospirose dans l'union européenne. (Thèse Med Vét) ENVN, 2003, N° 29, 75 p.
- Ren S.X., Fu G., Jiang X.G., Zeng R., Miao Y.G., Xu H., Zhang Y.X., Xiong H., Lu G., Lu L.F., Jiang H.Q., Jia J., Tu Y.F., Jiang J.X., Gu W.Y., Zhang Y.Q., Cai Z., Sheng H.H., Yin H.F., Zhang Y., Zhu G.F., Wan M., Huang H.L., Qian Z., Wang S.Y., Ma W., Yao Z.J., Shen Y., Qiang B.Q., Xia Q.C., Guo X.K., Danchin A., Saint Girons I., Somerville R.L., Wen Y.M., Shi M.H., Chen Z., Xu J.G., Zhao G.P.** Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing. *Nature*, 2003, 422(6934), 888-93.
- Ristow P.** la leptospirose : les défis actuels d'une ancienne maladie, *Bull. Acad. Fr.*, 2007, 160 (4), 267-278.
-

Références bibliographiques

- Ristow P., Bourhy P., Kerneis S., Schmitt C., Prevost M.C., Lilenbaumw., Picardeau M.** Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospires. *Microbiology*, 2008, 154 (5), 1309-1317.
- Robinson E.N., Sprayberry K.A.** Current therapy in equine medicine. sixth edition, saunders Elsevier, 2009, 145-147.
- Rocha T.** A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. *Rev. Sci. Tech.*, 1998, 17, 699-712.
- Ryan Eoin Gerard., Nola Leonard., Luke O'grady., Simon J More., Michael L Doherty.** Seroprevalence of *Leptospira Hardjo* in the Irish suckler cattle population. *Irish Veterinary Journal*, 2012, 65, 8.
- Sakhaee Ehsanollah., Abdollah pour Gholam Reza.** Detection of leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in north-east of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2011, 227-229.
- Sakhaee Ehsanollah., Gholamreza Abdollahpour., Mahmoud Bolourchi., Saeed Sattari Tabrizi.** Comparison between microscopic agglutination test (MAT) and enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA) for detection of leptospiral antibodies in cattle. *Comp Clin Pathol*, 2010, 19, 271–274.
- Sanhueza J.M., Heuera C., West D.** Contribution of *Leptospira*, *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus to fetal loss of beef cattle in New Zealand. *Preventive Veterinary Medicine*, 2013, 112, 90–98.
- Sankar Surya., Hiron M. Harshan., Somarajan S.R., Srivastav S.K.** Evaluation of a recombinant LigB protein of *Leptospira interrogans* serovar Canicola in an enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of bovine leptospirosis. *Research in Veterinary Science*, 2010, 88, 375–378.
- Schoenaers F., Kaeckenbeeck A.** Leptospiroses. *Maladies infectieuses des animaux*, tome 1, ed. Derouaux: Liège, 1971, 267-274.
- Schonberg A.** Tests cutanés et Leptospiroses. *Med. Mai. Inf.*, 1981, 11(2), 100-101.
- Schoonman L., Swai Emanuel Senyael.** Herd- and animal-level risk factors for bovine leptospirosis in Tanga region of Tanzania. *Trop Anim Health Prod*, 2010, 42, 1565–1572.
- Segers R.P., Van Der Drift A., De Nijs A., Corcione P., Van Der Zeijst B.A., Gaastra W.** Molecular analysis of a sphingomyelinase C gene from *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Infect Immun.*, American Society for Microbiology, 1990, 58 (7), 2177-2185.
- Segura-Correa V.M., Solis-Calderon J.J., Segura-Correa J.C.** Seroprevalence of and risk factors for leptospiral antibodies among cattle in the state of Yucatan, Mexico. *Trop. Anim.Health Prod.*, 2003, 35, 293-299.
- Segura-Correa J.C., Domínguez-Díaz D., Avalos-Ramírez R., Argaez-Sosa J.** Intraherd correlation coefficients and design effects for bovine viral diarrhoea, infectious bovine rhinotracheitis, leptospirosis and neosporosis in cow–calf system herds in North-eastern Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, 2010, 96, 272–275.
- Sertour N., Menouard M., Poveda J.D., Perra A., Baranton G., Postic D.** Cluster of leptospirosis cases among children in France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2002, 21(7), 560-2.
- Shariane M., Suepaul Christine V., Carrington Mervyn., Campbell Cristove Borde.,**
-

Références bibliographiques

- Abiodun Adewarde Adesuyum.** Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Trop anim health prod*, 2011, 43, 367-375.
- Slee K.J., Mcorist S., Skilbeck N.W.** Bovine abortion associated with *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection. *Aust. Vet. J.*, 1983, 60, 204-206.
- Sleight S.D.** The role of penicillin and streptomycin in the prevention of transmission of bovine leptospirosis by artificial insemination. *Am. J. Vet. Res.*, 1965, 26.
- Stevenson B., Choy H.A., Pinne M., Rotondi M.L., Miller M.C., Demoll E., Kraiczky P., Cooley A.E., Creamer T.P., Sue Hard M.A., Brisselte C.A., Verma A., Haake D.A.** *Leptospira interrogans* Endostalin-Like Outer Membrane Proteins Bind Host Fibronectin, Laminin and Regulators of Complement. *PLoS ONE* 2, 2007, e1, 188.
- Subathra M., Senthilkumar T.M.A., Ramadass P., Dhinakar Raj G.** Development of rapid flow-through-based dot-immunoassay for serodiagnosis of leptospirosis in dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2011, 34, 17-22.
- Suepaul S.M., Carrington C. V., Campbell M., Borde G., Adesiyun A.A.** Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Trop Anim Health Prod*, 2011, 43, 367-375.
- Suwacharoen D., chaisakdanugull Y., thanapongtharm W., Yoshida S.** Serological survey of leptospirosis in livestock in Thailand. *Epidemiol. Infect.*, 2013, 141, 2269-2277.
- Sykes Je, Hartmann K, Lunn Kf, Moore Ge, Stoddard Ra, Goldstein Re.** 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. *J Vet Intern Med.*, 2011, 25, 1-13.
- Tainturier D., Fieni F., Bruyas J.F., Battut I.** Conduite à tenir devant un avortement dans un élevage bovin. *Point vét*, 1997b, 28 (183), 1239-1243.
- Tainturier D., Fieni F., Bruyas J.F., Battut I.** Etiologie des avortements chez la vache. *Point Vét*, 1997, 28(183), 1231-1238.
- Talpada M.D., Garvey N., Sprowls R., Eugster A.K., Vinetz J.M.** Prevalence of leptospiral infection in Texas cattle: implications for transmission to humans. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2003, 3, 141-147.
- Terpstra W.J.** Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. the World Health Organisation, 2004, 1-109.
- Thiermann A.B.** Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of the hebdomadis serogroup. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, 43, 780-784.
- Thiermann A.B.** Leptospirosis currents, developments and trends. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, 184, 722-725.
- Thomas D.D., Higbie L.M.** In vitro association of leptospires with host cells. *Infect. Immun.*, 1990, 58 (3), 581-585.
- Toshihiro I., Ryo Y.** Leptospiral attachment to extracellular matrix of mouse fibroblast (L929) cells. *Vet. Microbiol.*, 1987, 15, 89-96.
- Treml F., Pikula J., Holesovska Z.** Prevalence of antibodies against leptospires in the wild boar (*Sus scrofa* L., 1758). *Vet. Med.- Czech*, 2003, 48 (3), 66-70.
- Van Eys G.J., Gravekamp C., Gerritsen M.J., Quint W., Cornelissen M.T., Schegget J.T., Terpstra W.J.** Detection of leptospires in urine by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.*, American Society for Microbiology, 1989, 27(10), 2258-2262.
-

Références bibliographiques

Vautier M. La leptospirose canine : une zoonose sous-estimée. *Action vet*, 1998, (1458), 21-26.

Vijayachari P., Sugunan A.P., Shriram A.N. Leptospirosis : an emerging global public health problem. *Journal of Biosciences*, 2008, 33 (4), 557-569.

Vincent C.T., Munger C., Sylvestre F., Levesque I.J. la leptospirose dans le cheptel québécois en 2006. Réseau d'Alerte et d'information Zoosanitaire, bulletin zoosanitaire N° 52, mai 2007.

Vongxay Khamphouth., James V. Conlan., Syseng Khounsy., Pierre Dorny., Stanley Fenwick, Andrew Thompson R.C., Stuart D., Blacksell. Seroprevalence of Major Bovine-Associated Zoonotic Infectious Diseases in the Lao People's Democratic Republic. *Vector-Borne And Zoonotic Diseases*, 2012, 12, 10.

Waitkins S.A. Leptospirosis as an occupational disease. *British Journal of Industrial Medicine*, 1986, 43, 721-725.

Wangroongsarb P., Chanket T., Gunlabun K., Long D.H., Jetanadee S., Satheanmethakul P., Thaipadungpanit J., Wuthiekanun V., Peacock S.J., Blacksell S.D., Smythe L.D., Bulach D.M., Kalambaheti T. Molecular typing of *Leptospira* spp. based on putative antigen polymerase gene (*wzy*), the benefit over 16S rRNA gene sequence. *Federation of European Microbiological Societies, FEMS Microbiol Lett*, 2007, (271), 170-179.

Wasinski., Pejsak Z. Occurrence of leptospiral infections in swine population in Poland evaluated by ELISA and microscopic agglutination test. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2010, 13, 695-699.

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

Yang C.W., Wu M.S., Pan M.J., Hsieh W.J., Vandewalle A., Huang C.C. The *Leptospira* Outer Membrane Protein LipL32 Induces Tubulointerstitial Nephritis-Mediated Gene Expression in Mouse Proximal Tubule Cells. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13, 2037-2045.

Zunino Enna M. Y., Pizarro Rolando P. Leptospirosis. *Puesta al día. Infectología al día*, 2007, 24 (3), 220-226.

REFERENCES PROVENANT DE PAGES EN LIGNE :

Anonyme (2008) (Page consultée le 14 mars 2013)

Adresse URL : <http://www.forum-algerie.com/actualite-algerienne/37749-epidemie-de-leptospirose-fait-des-ravages-3-morts-et-24-personnes-hospitalisees-setif.html>.

Anonyme (page consulté le 15 avril 2014)

Adresse URL : <http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscope>

Anonyme (page consulté le 15 avril 2014)

Adresse URL : http://www.aly-abbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre.html

Anonyme (page consulté le 15 avril 2014)

Adresse URL : <http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests/macnemar>

Anonyme (page consulté le 15 avril 2014)

Références bibliographiques

Adresse URL : <http://easycalculation.com/statistics/odds-ratio.php>

Université-De-Rennes, (Page consultée le 18 mars 2013)

Adresse URL : www.med.univ-rennes1.fr.

Euzeby J.P. Abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de l'ENVT, [Page consultée le 18 avril 2013]

Adresse URL : <http://www.bacteriologie.net/medicale/leptospira.html>

Euzeby J.P. (2009) dictionnaire de bactériologie vétérinaire, (Page consultée le 18 avril 2013).

Adresse URL : <http://www.bacterio.cict.fr/II/leptospira.html>.

Euzeby J.P. (1999) Dictionnaire de bactériologie vétérinaire (Page consultée le 23 avril 2013).

Adresse URL : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/II/leptospira.html>.

Valon F., Chaffaux S. (2009) Leptospirose et avortement chez la jument, (Page consultée le 24 août 2013)

Adresse URL : <http://www.respe.net/articlebulletin/leptospirose-et-avoriements-chez-la-iumenl>.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXES

Questionnaire épidémiologique destiné aux éleveurs bovins

(Recherche de *Leptospira interrogans serovar hardjo*)

Nom et prénom de l'éleveur :

Adresse de l'exploitation :

Commune :

Nom du vétérinaire traitant de l'exploitation :

L'exploitation a-t-elle déjà connu des problèmes d'avortement ?.....

Si oui, précisez la fréquence :

Beaucoup

Moyen

Très peu

Exploitation présente-t-elle une baisse dans les performances de reproduction (baisse de fertilité) ?

Oui

Non

Type d'exploitation :

Viandeuse

Laitière

Mixte

Allaitant

Type d'élevage :

Extensif

Semi-extensif

Intensif

Nombre d'effectif bovin :.....

Composition du cheptel

Veaux

Génisses

Vaches laitières

Taureaux

Présence d'autres espèces animales dans l'exploitation :

Oui

Non

Si oui lesquels :.....

Saison de mise en pâture

Automne

Hiver

Printemps

Été

Type d'alimentation :.....

ANNEXES

Conditions de stockage des aliments :

Les autres animaux de la ferme sont-ils en contact avec les aliments ?

Oui

Non

État des abreuvoirs :

Les autres animaux présents dans la ferme sont-ils en contact avec les abreuvoirs ?

Oui

Non

Animaux vermifugés :

Oui

Non

Animaux vaccinés :

Oui

Non

État d'hygiène général de l'exploitation

Bon

Moyen

Mauvais

Qualité de la litière :

Présence de rivière, mares, étangs, et zones marécageuses dans l'exploitation ou bien tout prêt ?

Oui

Non

Informations sur l'animal prélevé

Numéro de l'animal prélevé s'il existe :

Race :

Age :

Origine :

Gestante ?

Oui

Non

Si gestante :

Primipare

Multipare

Avortement :

A déjà avorté

Jamais avorté

Stade de gestation où a eu l'avortement :

Entre 1-3mois

Entre 3-6mois

Entre 6-9mois

ANNEXES

À l'avortement y'a eu rétention placentaire :

Oui

Non

A la mise bas :

Vêlage normal

Dystocie

Métrite

Le poids du veau à la naissance (approximativement).....

État général de l'animal :

Bon

Moyen

Mauvais

Animal vacciné ?si oui contre quelle pathologie ?.....

Animal vermifugé ?.....

Signes cliniques observés chez l'animal au moment du prélèvement :

Anémie

Ictère

Pétéchies vulvaire et/ou conjonctivales

Hémoglobinurie

Fièvre

Abattement

Baisse de la production laitière avec un lait rose (les quatre quartiers des mamelles sont atteints et deviennent flasques)

Aucun

L'animal a-t-il eu des antécédents pathologiques ?

Oui

Non

Lesquels ?.....

Tableau des resulta

		Saison de prelevement									
		lesquels									
antécédents pathologiques	non										
	oui										
signes cliniques observés chez l'animal au moment du prelevement	aucun										
	lait rose										
	abattement										
	fièvre										
	hémoglobinurie										
petéchiés vulvaires et/conjonctivales											
ictère											
anémie											
si oui	animal vermifugé										
	quelle pathologie										
animal vacciné	non										
	oui										
etat générale de l'animale	mauvais										
	moyen										
	bon										
a la naissance	la naissance										
	métrite										
	dystocie										
a la mise bas	velege normale										
	non										
à l'avortement y'a eu rétention placentaire	non										
	oui										
stade de gestation ou a eu l'avortement	entre 6-9 mois										
	entre 3-6 mois										
Avortement	entre 1-3 mois										
	jamais avorté										
	a déjà avorté										
si oui	multipare										
	primipare										
gestation	non										
	oui										
origine											
age											
race											
numero de vache											
la commune	ZERALDA										
