

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1

Institut des Sciences Vétérinaires

THESE DOCTORAT

Spécialité : Sciences vétérinaires

Option : Épidémiologie animale

**LA LEPTOSPIROSE DANS LA REGION DE BLIDA : ETUDE
COMPAREE DU ROLE DE QUELQUES ESPECES ANIMALES
DOMESTIQUES ET SAUVAGES**

Par

Lila LEKHAL

Devant le jury composé de :

A. YAHIMI	Maitre de conférences (A), ISV. U. Blida 1	Président
I. LAFRI	Professeur, ISV. U. Blida 1	Examineur
A. HANI	Maitre de conférences (A), ENSV. Alger	Examinatrice
N. MIMOUNE	Maitre de conférences (A), ENSV. Alger	Examinatrice
D. KHELEF	Professeur, ENSV. Alger	Promoteur
R. KAIDI	Professeur, ISV. U. Blida 1	Co-promoteur

Blida, 13 Mai 2023

RESUME

La leptospirose est une anthroponose à distribution mondiale causée par des spirochètes mobiles du genre *Leptospira*. Les rongeurs, en particulier les rats, sont considérés comme la plus importante source de contamination humaine et animale. En Algérie, peu de données sont disponibles sur la circulation de *Leptospira spp* chez l'homme et chez l'animal, cependant, manque de données concernant le portage de *Leptospira* chez les rongeurs. Outre la leptospirose, les rongeurs sont connus d'être des hôtes réservoirs d'au moins 80 maladies zoonotiques et jouent un rôle de premier plan dans leur transmission et leur propagation de différentes manières. Le développement et la mise en œuvre de stratégies de prévention et de contrôle des maladies imposent en outre une compréhension méticuleuse des attitudes et des pratiques des communautés. Les objectifs de notre étude étaient de mettre en évidence l'importance des rongeurs comme réservoir des leptospires pathogènes dans la région de Blida ; Algérie, et d'identifier les espèces de *Leptospira* circulant au sein de leur population. L'étude visait aussi la vérification du niveau de connaissance de la population générale de la région de Blida concernant les maladies transmises par les rongeurs en particulier la leptospirose ainsi que leurs facteurs de risque, pour le développement des programmes de prévention efficaces.

Pour ce faire, 101 rongeurs ont été capturés dans différents habitats entre le 11 novembre 2018 et le 9 juin 2020, dont 95 *Rattus Norvegicus*, 5 *Rattus Rattus* et 1 *Mus Musculus*. Les leptospires pathogènes ont été détectés par PCR en temps réel ciblant le gène 16S rRNA (rrs) de *Leptospira*. Les 16S rRNA positifs ont été identifiés par des tests PCR spécifiques à l'espèce ciblant *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii* et *L. kirschneri*. Pour certains échantillons positifs qui n'ont pas pu être typés par la PCR spécifiques à l'espèce, une PCR conventionnelle ciblant le gène partiel de l'ARNr 16S (rrs) a été réalisée, avec séquençage des positifs. La prévalence était donc de 40,6%, 36 rongeurs avaient un portage rénal, 13 une excrétion urinaire et 3 un portage pulmonaire, correspondant à 40 *Rattus Norvegicus* et 1 *Rattus Rattus*. *L. interrogans* a été

identifié chez 39 rongeurs et *L. borpetersenii* chez un seul rongeur, cependant, un rongeur avec portage rénal n'a pas pu être typé par manque de qualité de l'ADN.

Une étude transversale a été menée aussi dans la même zone d'étude (Blida) au moyen d'un questionnaire appliqué à un échantillon de 252 personnes dont l'objectif était d'évaluer les connaissances de la population générale sur les zoonoses liées aux rongeurs, en particulier la leptospirose. Le résultat montrait que la majorité des répondants (91,3%) confirmaient la transmission des maladies des rongeurs à l'homme, par contre leurs connaissances sur les principaux facteurs de risque de transmission n'étaient pas suffisantes ; 38,5% d'entre eux citaient les morsures des rongeurs comme mode de contamination, 6,35% indiquaient la contamination via les aliments contaminés et 0,4 % citaient les eaux usées. La peste était la plus mentionnée (23,01%) parmi les zoonoses liées aux rongeurs, par ailleurs, certains répondants citaient le paludisme (0,4%), et le choléra (1,98%); quoique, ces maladies ne sont pas associées aux rongeurs. Concernant la prophylaxie ; 32,9% des répondants attestaient que le nettoyage et l'hygiène sont nécessaires pour éviter la contamination. Concernant la leptospirose, seulement 14,7% des répondants attestaient avoir entendu parler ou connaissaient la maladie. L'urine, la plus importante source de contamination n'a été citée que par 4,37%, et l'ictère comme symptôme n'a été mentionné que par 2% des répondants.

A notre connaissance, notre étude a permis de mettre en évidence pour la première fois l'importance des rongeurs comme réservoir potentiel des leptospires pathogènes dans la région de Blida, elle a permis aussi l'évaluation du niveau de connaissance de la population générale sur l'importance des rongeurs comme réservoir zoonotique dans la même région d'étude, qui est jugé insuffisant. Nos résultats indiquent qu'il est primordial d'accroître les connaissances de la population sur l'importance des rongeurs comme réservoir zoonotique, en particulier la leptospirose, et implique la prise des mesures de prophylaxie efficaces.

Mots-clés : Zoonose, Leptospirose, Algérie, Blida, Rongeurs, *Leptospira Interrogans*, *L. borpetersenii*. Connaissance, questionnaire.

ABSTRACT

Leptospirosis is an anthroponosis disease with a worldwide distribution caused by mobile spirochetes of the genus *Leptospira*. Rodents, in particular, rats are considered as the most important source for human and animal contamination. In Algeria, only few data are available on the circulation of *Leptospira spp* in human and in animal, however, lack of data regarding *Leptospira* carriage in rodents. Besides leptospirosis, rodents are known to be reservoir hosts for at least 80 zoonotic diseases and are recognized to play a prominent role in their transmission and spread in different ways. The development and implementation of appropriate disease prevention and control strategies impose a meticulous understanding of communities' attitudes and practices regarding rodent-borne zoonotic. The aims of our study were to highlight the importance of rodents as reservoir of *Leptospira* pathogen bacterium in Blida; Algeria and to detect the circulating species of *Leptospira* within the population of rodents. It aimed also to verify the level of knowledge of the population and the risk factors of rodent-borne diseases in particularly leptospirosis in Blida, to develop an effective prevention programs.

A total of 101 rodents were captured in different habitats between 11th November 2018 and 9th June 2020, including 95 *Rattus Norvegicus*, 5 *Rattus Rattus*, and 1 *Mus Musculus*. Pathogenic leptospires were detected by real-time PCR targeting the *Leptospira* 16S rRNA (*rrs*) gene. Positives samples were identified by species-specific assays targeting *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii* and *L. kirschneri* species. For some positives samples that couldn't be typed, a conventional PCR targeting the partial 16S rRNA (*rrs*) gene was performed, with sequencing positive samples. The prevalence was thus 40.6%, 36 rodents had renal carriage, 13 urinary shedding and 3 had pulmonary carriage, corresponding to 40 *Rattus Norvegicus* and 1 *Rattus Rattus*. *L. interrogans* was identified in 39 rodents and *L. borgpetersenii* in one rodent, however, one rodent with renal carriage couldn't be typed because of lack of DNA quality.

A cross-sectional study was conducted in the city of Blida. Data were collected through printed questionnaire applied to a sample of 252 interviewees. The result

showed that 91.3% of the respondents confirmed the transmission of the diseases from rodents to humans, however the knowledge about main risk factors of transmission were not sufficient; 38.5% of them stated that contamination occurs through rodent's bite, 6.35% of the respondents cited contaminated food and 0.4% cited sewage water. Plague was the most mentioned (23.01%), some of the respondents (0.4%, 1.98%) respectively, cited Malaria and Cholera; however, these diseases are not associated to rodents. Regarding prophylaxis; 32.9% of the respondents declared that cleaning and hygiene are necessary to avoid contamination. Concerning leptospirosis, only 14.7% heard or knew about the disease, urine the principal risk factor of transmission was cited by just 4.37% and jaundice as symptom by only 2%.

To our knowledge, pathogenic *Leptospira spp.* carriage has been recorded for the first time in rodents in Algeria with genomic species identification. The study highlights for the first time also the level of knowledge of the general public about rodent's zoonosis in Blida, Algeria. Our results indicate that it is primordial to increase people's knowledge about rodent-borne zoonosis, particularly, leptospirosis and especially knowledge about indirect transmission routes and prophylaxis methods.

Key words: Zoonosis, Leptospirosis, Algeria, Blida, Knowledge, questionnaire, Rodents, *Leptospira Interrogans*, *L. borpetersenii*.

ملخص

داء اللولبيات النحيفة هو مرض جرثومي حيواني المنشأ منتشر في جميع أنحاء العالم، تعتبر القوارض أهم مصدر لمرض الإنسان والحيوان. في الجزائر يوجد نقص في البيانات المتعلقة بهذا المرض عند الإنسان و الحيوان خاصة عند القوارض. الهدف الرئيسي من هذا العمل هو معرفة شدة انتشار هذا المرض عند الجرذان في مدينة البليدة. الى جانب داء اللولبيات النحيفة ، من المعروف أن القوارض مضيضة لما لا يقل عن 80 مرضًا حيوانيًا ومن المعروف أنها تلعب دورًا بارزًا في انتقالها وانتشارها بطرق مختلفة. إن تطوير وتنفيذ استراتيجيات مناسبة للوقاية من الأمراض ومكافحتها يفرض فهمًا دقيقًا لموقف المجتمعات وممارساتها فيما يتعلق بالأمراض الحيوانية المنشأ التي تنقلها القوارض. هدفت الدراسة الحالية ايضا إلى التحقق من مستوى معرفة السكان وعوامل الخطر للأمراض التي تنقلها القوارض وخاصة داء اللولبيات النحيفة في البليدة لتطوير برامج وقائية فعالة.

بين 11 نوفمبر 2018 إلى 9 جوان 2020 تم مسك 101 جرد بما فيهم 95 *Rattus Norvegicus* و 5 *Rattus Rattus* و *Musculus Mus1*. تم الكشف عن اللولبيات النحيفة عن طريق *real-time PCR* مستهدفين الجين *Leptospira 16S rRNA (rrs)* تم تحديد العينات الإيجابية من خلال استهداف فحوصات خاصة بالأنواع *L. interrogans, L. noguchii, L. borgpetersenii* and *L. kirschneri* بالنسبة إلى بعض العينات الإيجابية التي لم يتم تحديدها، فإنه تمت معالجتها عن طريق *PCR* التقليدي مستهدفين الجزء الجيني *16S rRNA (rrs)* مع تحديد السلالة الجينية. كان معدل الانتشار 40.6%. 36. من القوارض كان لها حمل كلوي، و 13 بولي و 3 رئوي، الموافق 40 *Rattus Norvegicus* و واحد *Rattus Rattus*. *L. interrogans* وجدت في 39 من القوارض و *L. borgpetersenii* في جرد واحد ، لم نتمكن من تحديد أحد القوارض ذات الحمل الكلوي بسبب نقص نوعية الحمض النووي. أجريت دراسة مقطعية في مدينة البليدة بالجزائر حيث تم جمع البيانات من خلال الاستبيانات المطبوعة المطبقة على عينة من 252 من المستجوبين. أظهرت النتائج أن 91.3% من المستجيبين أكدوا انتقال الأمراض من القوارض إلى الإنسان، لكن المعرفة حول عوامل الخطر الرئيسية لانتقال الأمراض الحيوانية المنشأ لم تكن كافية. أفاد 38.5% منهم أن الانتقال يحدث من خلال عضه القوارض. 6.35% فقط من المستجيبين ذكروا الأغذية الملوثة و 0.4% ذكروا مياه الصرف الصحي. كان الطاعون الأكثر ذكرًا 23.01%. ذكر بعض المستجيبين (0.4% ، 1.98%) على التوالي الملاريا والكوليرامع العلم ، لا ترتبط هذه الأمراض بالقوارض. فيما يتعلق بالوقاية؛ صرح 32.9% بأن التنظيف والنظافة ضروريان لتجنب الأمراض المتنقلة عبر الجرذان. فيما يتعلق بداء اللولبية النحيفة، 14.7% فقط سمعوا أو عرفوا المرض ، تم ذكر البول بنسبة 4.37% فقط كعامل خطر رئيسي للانتقال و 2% ذكروا اصفرار البشرة كأعراض. هذه الدراسة تعتبر الاولى في الجزائر التي اوجدت اللولبيات النحيفة بالطريقة الجينية عند الجرذان . سلطت الدراسة الضوء ايضا لأول مرة على مستوى معرفة عامة الناس بأمراض المتنقلة الى الانسان عن طريق القوارض في البليدة، الجزائر. تشير النتائج التي توصلنا إليها إلى أنه من الأساسي زيادة معرفة الناس بالأمراض الحيوانية المنشأ التي تنقلها القوارض، لا سيما داء اللولبيات النحيفة لتطوير برامج وقائية فعالة.

الكلمات المفتاحية : الأمراض الحيوانية المنشأ ، داء اللولبيات النحيفة ، الجزائر ، البلدية ، المعرفة ، القوارض ،
Leptospira Interrogans، *L. borpetersenii* , الاستبيانات

REMERCIEMENTS

À Messieurs, KHELEF Djamel, KAIDI Rachid
qui m'ont encadrée et guidée lors de la réalisation de ce travail, pour leurs
recommandations et leurs précisions.

À Madame DJELOUADJI Zouheira,
Pour son assistance, son aide, son soutien moral et physique, sa compréhension
et son extrême gentillesse.

À Monsieur YAHIMI ABDELKRIM,
qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury. Hommages
respectueux.

À Monsieur, LAFRI ISMAIL,
qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail.

À Madame HANI AMIRA, et Madame MIMOUNE NORA qui ont accepté
d'examiner ce travail et faire partie de mon jury. Remerciements chaleureux.

À Madame KARINE GROUD, ANAÏS ARAGON, MARINE LE GUYADER, et
ELENA HARRAN, pour leurs contributions à ce travail.

Dédicaces

Je m'incline devant Dieu Tout- Puissant qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé à la franchir.

Avant tout, je dédie ce travail à mes parents, à mes frères, à mes sœurs, et à toute ma famille.

Je dédie également ce travail à mon mari docteur OUCHFOUN Ahmed, pour son soutien.

À tou(te)s mes ami(e)s

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et à toute personne qui aura le plaisir de consulter cette thèse.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENT	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	17
1. BACTERIOLOGIE DES LEPTOSPIRES	21
1.1. Historique	21
1.2. Classification	22
1.3. Génome des leptospires	28
1.4. Biologie de leptospires	28
2. POUVOIR PATHOGENE DES LEPTOSPIRES	33
2.1. Pathogénie et lésions	33
2.2. Facteurs de pathogénicité	34
3. DIAGNOSTIC	39
3.1. Les tests directes	39
3.1.1. Examen au microscope	39
3.1.2. Mise en culture	40
3.1.3. Amplification génétique	40
3.2. Les méthodes indirectes	42
3.2.1. La sérologie	42
3.2.1.1. La sérologie par la méthode de microagglutination (MAT)	42
3.3.1.2. La sérologie par la méthode ELISA	43
3.3.1.3. Autres méthodes sérologiques	44
4. MANIFESTATION CLINIQUE DE LA LEPTOSPIROSE ET ROLE DES RONGEURS	45
4.1. La leptospirose humaine	45
4.2. La leptospirose animale	46
4.2.1. Chez le chien	46
4.2.2. Chez les animaux de production	47
4.2.3. Chez les rongeurs	47

4.2.3.1. <i>Rattus norvegicus</i>	48
4.2.3.2 <i>Rattus rattus</i>	50
4.2.3.3. <i>Mus musculus</i>	52
4.2.3.4. Les rongeurs importants réservoirs zoonotique	54
particulièrement la leptospirose	
5. EPIDEMIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE	56
5.1. Epidémiologie descriptive	56
5.1.1. Répartition mondiale	56
5.1.2. La leptospirose humaine en Algérie	57
5.2. Épidémiologie analytique	58
5.2.1. Notion d'hôte réservoir et d'hôte sensible	58
5.2.2. Réservoirs	59
5.2.3. Hôtes sensibles	59
5.2.4. Mode de contamination	60
5.2.5. Matières virulentes	61
6. MATERIELS ET METHODES	63
6.1. Problématique et objectifs	63
6.2. Localisation géographique de la zone d'étude	64
6.3. Etude sur les rongeurs	65
6.3.1. Population de rongeurs étudiée	65
6.3.2. Définition du cas	65
6.3. 3. Echantillonnage	65
6.3.4. Protocole de piégeage	65
6.3.5. Prélèvements et conservation	67
6.3.6. Protocole de laboratoire	69
6.3.6.1. Extraction d'ADN	69
6. 3.6.2. Détection et identification de Leptospires par qPCR	70
6.3.6.3. Détection des leptospires par PCR conventionnelle et séquençage	71
6.3.7. Analyses statistiques	72
6.3.8. Aspects Réglementaires et Éthiques	72
6.4. Etude par questionnaire	73
6.4.1. Zone et période d'étude	73

6.4.2. Population cible	73
6.4.3. Modalités d'inclusion	73
6.4.4. Calcul de la taille de l'échantillon	73
6.4.5. Préparation et validation du questionnaire	74
6.4.6. Définition du cas	74
6.4.7. Distribution du questionnaire et Recueil données	75
6.4.8. Analyses statistiques	75
7. RESULTATS ET DISCUSSION	76
7.1.1. Etude sur les rongeurs	76
7.1.1.1. Bilan de capture	76
7.1.1.2. Structure de la population de rat	76
7.1.1.3. Etude de la prévalence	78
7.1.1.4. Résultats du typage et séquençage	82
7.1.2. Etude par questionnaire	83
7.1.2.1. Résultats des caractéristiques sociodémographiques	83
7.1.2.2. Résultats des réponses générales sur les rongeurs	86
7.1.2.3. Résultats des réponses sur la leptospirose	92
7.1.2.4. Résultats de la régression logistique	99
7.2. Discussion	99
CONCLUSION	109
RECOMMANDATIONS & PERSPECTIVES	110
APPENDICE	
A. LES ETAPES DE MENSURATION	111
B. LES ETAPES DU PRELEVEMENT	113
C. LES ETAPES D'IDENTIFICATION DES RONGEURS	116
D. RECAPE DES POSITIFS DE LA PCR, TYPAGE, ET SEQUENCAGE	117
E. FLOW DIAGRAM RESUMANT TOUTES LES PCRs	119
F. AUTORISATION SERVICE D'HYGIENE BLIDA	120
G. AUTORISATION LBRA	121
H. LISTE DES ABREVIATIONS	122
I. QUESTIONNAIRE EN LANGUE ARABE	124
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	127

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Aperçu simplifié de la systématique des leptospires	23
Figure 1.2	Sérogroupe et sérovars pathogènes les plus importants	25
Figure 1.3	Vue latérale représentation schématique de la structure de <i>Leptospira</i>	29
Figure 1.4	Schéma d'un leptospire à partir d'une observation dans des urines	30
Figure 1.5	Modèle architectural des membranes des leptospires	31
Figure 1.6	Mouvement des leptospires (A) et microscopie électronique de <i>Leptospira biflexa</i> (B)	31
Figure 2.1	Schéma pathogénique général de la leptospirose	38
Figure 4.1	Noms usuels : Français : Surmulot - Anglais : Norway Rat - Arabe : Jerd el matha'ib	49
Figure 4.2	Noms usuels : Français : Rat noir - Anglais : Black Rat - Arabe : Jerdoub- Berbere : Agherdha	51
Figure 4.3	Noms usuels : Français : Souris grise - Anglais : House Mouse - Arabe : Far- Berbere : Agherdha	53
Figure 5.1	Estimation de la morbidité annuelle de la leptospirose dans le monde	56
Figure 5.2	Nombre de cas de leptospirose humaine par année	57
Figure 5.3	Nombre de cas de leptospirose humaine par wilaya (entre 2004 et 2019)	58
Figure 5.4	Mode de contamination de la leptospirose	61
Figure 6.1	Zone d'étude	64
Figure 6.2	Cages pièges à ressort	66
Figure 6.3	Piege sur site	67
Figure 6.4	Rats capturés	67
Figure 6.5	Différence morphologique des trois rongeurs	68
Figure 7.1	Répartition des deux sexes dans la population	76
Figure 7.2	Répartition des trois espèces de rongeurs dans la population	77

Figure 7.3	Répartition des classes d'âge dans la population des rats	77
Figure 7.4	Répartition des classes de rongeurs en fonction du type d'habitat	78
Figure 7.5	Résultats en fonction du sexe.	79
Figure 7.6	Résultats en fonction de l'âge	79
Figure 7.7	Résultats en fonction du type d'habitat	80
Figure 7.8	Résultats en fonction de l'espèce de rongeur identifiée	81
Figure 7.9	Résultats des réactions positives en fonction du type de prélèvement	81
Figure 7.10	Résultats du typage et séquençage	82
Figure 7.11	Répartition des répondants en fonction des communes	83
Figure 7.12	Répartition des répondants en fonction du sexe	84
Figure 7.13	Répartition des répondants en fonction de l'âge	84
Figure 7.14	Répartition des répondants en fonction de leur niveau scolaire	85
Figure 7.15	Répartition des répondants en fonction de leur profession	85
Figure 7.16	Pourcentages des réponses en fonction du mode de transmission.	88
Figure 7.17	Pourcentages des réponses en fonction des zoonoses citées.	89
Figure 7.18	Répartition des pourcentages des réponses en fonction de prophylaxie.	92
Figure 7.19	Pourcentages des réponses concernant les symptômes.	94
Figure 7.20	Pourcentages des réponses selon le mode de transmission.	95
Figure 7.21	Pourcentage des animaux qui transmettent les zoonoses des rongeurs à l'homme.	97
Figure 7.22	Pourcentages des réponses selon la connaissance de la prophylaxie.	98

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Présentation des 22 espèces génomiques de leptospires décrites en fonction de leur pouvoir pathogène.	26
Tableau 1.2	Correspondance entre les principales espèces génomiques, les principaux sérogroupes et les principaux sérovars.	27
Tableau 3.1	tests disponibles pour le diagnostic de la leptospirose et leur but	39
Tableau 5.1	Hôtes réservoirs typiques des sérovars communs de <i>Leptospira</i>	59
Tableau 5.2	Durée de survie des leptospires dans différents milieux de l'environnement	62
Tableau 6.1	Amorces et sondes utilisés pour PCR en temps réel.	71
Tableau 7.1	Prévalence globale.	78
Tableau 7.2	Répartition des proportions des séropositifs en fonction du sexe.	79
Tableau 7.3	Proportions des positifs en fonction de l'âge.	80
Tableau 7.4	Proportions des positifs en fonction du lieu de capture.	80
Tableau 7.5	Proportions des positifs en fonction de l'espèce de rongeur capturé.	81
Tableau 7.6	Distribution des positifs en fonction de la méthode d'identification des leptospires.	82
Tableau 7.7	Réponses en fonction du danger des rongeurs.	86
Tableau 7.8	Réponses en fonction de la transmission des zoonoses des rongeurs.	86
Tableau 7.9	Réponses en fonction de la connaissance du mode de transmission des zoonoses des rongeurs.	87
Tableau 7.10	Répartition des modes de transmission des zoonoses des rongeurs.	87
Tableau 7.11	Réponses en fonction de la connaissance des zoonoses des rongeurs.	88
Tableau 7.12	Répartition en fonction des zoonoses des rongeurs.	89
Tableau 7.13	Réponses en fonction de la connaissance de la	90

	transmission à d'autres animaux.	
Tableau 7.14	Réponses en fonction de la connaissance de la transmission des zoonoses des rongeurs à l'homme par d'autres animaux.	90
Tableau 7.15	Réponses en fonction de l'existence des rongeurs dans l'entourage.	90
Tableau 7.16	Réponses en fonction du contrôle de la population des rongeurs.	91
Tableau 7.17	Réponses en fonction du moyen de contrôle de la population des rongeurs.	91
Tableau 7.18	Réponses en fonction de la connaissance de la prophylaxie.	91
Tableau 7.19	Pourcentage en fonction de la prophylaxie.	92
Tableau 7.20	Réponses en fonction de la connaissance de la leptospirose.	93
Tableau 7.21	Réponses en fonction d'avoir la leptospirose.	93
Tableau 7.22	Réponses en fonction de connaissance des cas de leptospirose.	93
Tableau 7.23	Réponses en fonction de la connaissance des symptômes.	93
Tableau 7.24	Pourcentage des symptômes de la leptospirose.	94
Tableau 7.25	Réponses en fonction de la connaissance du mode de transmission de la leptospirose.	95
Tableau 7.26	Pourcentages des réponses selon le mode de transmission.	95
Tableau 7.27	Réponses sur la transmission de la leptospirose à l'homme par d'autres animaux.	96
Tableau 7.28	Pourcentage des animaux qui transmettent les zoonoses des rongeurs à l'homme.	96
Tableau 7.29	Réponses en fonction de la connaissance de la prophylaxie de la leptospirose.	97
Tableau 7.30	Répartition en fonction de la connaissance de la prophylaxie.	98
Tableau 7.31	Résultats de la régression logistique.	99

INTRODUCTION

La leptospirose est une maladie réémergente [1], et est considérée comme l'une des maladies infectieuses les plus répandues dans le monde [2]. Elle touche plus d'un million de personnes dans le monde avec 60 000 de décès par an [3]. L'infection est causée par *Leptospira spp.* spirochètes, infectant à la fois l'homme et l'animal [4].

Les leptospires sont divisés en plus de 300 serovars regroupés dans 25 serogroupes [5], et en 69 espèces génomiques [6], y compris quatre nouvelles espèces isolées récemment à partir de l'eau fraîche en Algérie [7]. La bactérie est maintenue chez de nombreux hôtes d'animaux sauvages et domestiques [8]. Les rongeurs, les bovins et les chiens sont considérés comme la principale source d'infection humaine [2], mais les rats sont reconnus comme étant les principales sources de la plupart des cas de leptospiroses humaines [9], et sont considérés comme des hôtes asymptomatiques chroniques de *Leptospira spp.* [10] excréant la bactérie un mois après leur infection initiale avec une concentration élevée de 10^7 leptospires/ml [11] et réservoirs de *L. interrogans* en particulier [12]. Les leptospires infectent et persistent de manière chronique dans les reins des hôtes réservoirs, et sont ensuite excrétés dans l'urine [13]. Ils peuvent alors survivre des jours à des mois dans l'environnement [14]. L'homme est généralement contaminé soit par contact avec des animaux porteurs ou soit par contact avec des sols, des eaux usées ou de l'eau contaminés [8].

L'expression clinique de la leptospirose est extrêmement variable. Chez l'homme, une forme bénigne est retrouvée dans 80% des cas [15], avec rémission spontanée, l'infection peut en revanche entraîner des complications sévères telles que l'insuffisance rénale, l'hémorragie pulmonaire et la complication cardiaque [2], avec des taux de mortalité élevés (74%) pour le syndrome hémorragique pulmonaire [4]. La mise en place d'un programme de vaccination implique l'identification des souches de leptospires impliquées dans l'infection vue que la protection vaccinale étant spécifique à un séro groupe donné [16]. Les données actuellement disponibles sont extrêmement variables dans les différentes régions

du monde. Dans les pays développés, les leptospires sont généralement suffisamment étudiés pour adapter la vaccination. Par ailleurs, certaines régions tropicales particulièrement touchées par la leptospirose, comme l'Amérique latine, l'Asie du Sud et la région de Madagascar ont fait l'objet de diverses études. Cependant, un manque de données persiste en Asie du Nord et dans le reste de l'Afrique [10].

En Algérie, peu de données sur les souches circulantes de *Leptospira* sont disponibles. Deux études sur la leptospirose humaine ont été publiées. La première a identifié 48 cas de leptospirose apparus entre 2006 et 2007 dans la région de Tizi-Ouzou. Le séro groupe icterohémorragiea a été identifié dans 60% des cas. Les autres sérogroupe identifiés sont panama, sejoë, weekis, bataviae, tarassovi, pomona, et canicola [17]. La seconde étude rassemble 173 patients diagnostiqués entre 2005 et 2008. Les sérogroupe icterohemorrhagiae et grippotyphosa sont majoritaires parmi ceux identifiés [18].

Par ailleurs, concernant les animaux domestiques, une étude récente sur le portage urinaire de leptospires chez les chiens et chats errants a été réalisée par PCR en 2017 à Alger [19]. Cette enquête a démontré la présence de *Leptospira interrogans* dans l'urine de 5 chiens sur 107 inclus dans l'étude, une autre étude sur les causes de l'avortement chez les vaches laitières réalisée en 2017 dans la région d'Alger par sérologie a identifié le sérovar hardjo (Serogroup sejoë) chez 14 vaches [20]. Enfin une étude très récente réalisée sur le bétail, entre 2015 et 2019, dans l'Etat de Sétif ; au nord-est de l'Algérie sur 48 troupeaux et 406 bovins, avec le test d'immuno-absorption indirect enzymatique (ELISA) ciblant *Leptospira Interrogans* sérovar Hardjo, a donné une prévalence de 31,25% pour le troupeau et de 5,42% pour le bétail [21].

À notre connaissance, aucune étude décrivant le portage de *Leptospira spp.* chez les rongeurs n'a été réalisée en Algérie, sauf, une étude menée dans certaines fermes d'Alger où vingt *Rattus Norvegicus* ont été piégés et dépistés par sérologie (Microscopic Agglutination Test), et par culture bactérienne sur des prélèvements de rein et d'urine, le résultat montrait que sur les 20 rats testés, 2 ont donné une réaction sérologique positive de 1:40 et 1: 160 pour le sérovars Grippytyphosa, et Australis, respectivement, mais sans preuve de la présence de la

bactérie par culture [22]. Cependant, une meilleure connaissance de la circulation des souches de leptospires dans ces réservoirs serait importante pour la mise en œuvre d'une prophylaxie appropriée chez les espèces animales sensibles et les humains.

Outre la leptospirose, Les rongeurs sont reconnus comme l'un des plus importants réservoirs de maladies zoonotiques, et sont liées à plus de 80 zoonoses [23]. Les principales maladies sont ; le syndrome pulmonaire à hantavirus, la fièvre hémorragique avec syndrome rénal, et la peste [24]. Une compréhension approfondie des attitudes et des pratiques communautaires à l'égard des zoonoses est en conséquence nécessaire pour le développement et la mise en œuvre de mesures efficaces de prévention et de contrôle [25].

Les objectifs de notre étude étaient :

- De mettre en évidence l'importance des rongeurs comme réservoir zoonotique de *Leptospira* dans une région centre de l'Algérie (Blida), et de détecter les espèces de *Leptospira* circulant au sein de la population de rongeurs par les techniques moléculaires, pour une meilleure connaissance du risque de transmission, et pour améliorer pour mieux les mesures de contrôle et de prophylaxie.
- D'évaluer les connaissances de la population générale sur les zoonoses liées aux rongeurs, en particulier la leptospirose dans la zone d'étude par questionnaire pour le développement et l'implémentation d'un programme de prophylaxie effectif.

Dans une première partie bibliographique, nous rappellerons d'abord les caractéristiques générales des leptospires (classification, et biologies). Leur pouvoir pathogène. Nous nous intéresserons ensuite à la complexité de son diagnostic en détaillant en particulier la technique moléculaire (PCR). L'importance des rongeurs comme réservoir des leptospires. Enfin, nous finirons par un chapitre sur l'épidémiologie de la leptospirose toute en développant les données épidémiologiques disponibles de cette infection dans le monde, et en Algérie.

Dans une deuxième partie, nous développerons notre étude expérimentale en présentant tout d'abord les protocoles employés, puis en développant nos

résultats et enfin en les discutant à la lumière des autres études déjà menées sur les mêmes sujets.

CHAPITRE 1

BACTERIOLOGIE DES LEPTOSPIRES

1.1. Historique

On prête à Larrey la première description correcte de la "fièvre jaune" en 1812, parmi les troupes napoléoniennes à Héliopolis lors du siège du Caire en 1800 [26]. La maladie décrite par Larrey était semblable à celle déjà connue sous le nom de "typhus icterodes" par les nosologistes français et anglais, ou sous le nom de "vomito prieto" par les espagnols, et décrite comme "fièvre jaune" par Humboldt au Mexique en 1811 [26].

En 1886 à Heidelberg, Adolf Weil décrit pour la première fois un ensemble de signes et symptômes, aujourd'hui éponymiques du syndrome de Weil, forme clinique la plus connue de la leptospirose (son premier patient souffrait de saignement nasal "nasenbluten" au second jour de la maladie) [27]. Néanmoins, il semble qu'un syndrome identique ait été décrit chez un égoutier plusieurs années auparavant [28]. Inada et Ido identifièrent l'agent causal 30 ans plus tard [29].

Cependant, depuis bien longtemps en Chine et au Japon, existait une maladie qualifiée de « fièvre d'automne » présentant des symptômes analogues à ceux de la leptospirose [2].

L'agent étiologique de la leptospirose a donc été découvert "officiellement" en 1915 par deux équipes indépendantes au Japon et en Allemagne. Au Japon, Inada et Ido [30], et en Allemagne, deux équipes de médecins allemands, Uhlenhuth et Fromme, et Hubener et Reiter [26].

Peu après la découverte de l'agent de la leptospirose comme cause de la maladie de Weil au Japon, la même équipe a décrit le rôle du rat comme porteur de la bactérie [31]. Cette observation importante a permis la compréhension des principes épidémiologiques de transmission de la bactérie par un animal porteur et a ouvert la porte à la possibilité de mettre en place des mesures de contrôle de la maladie ainsi qu'à l'expérimentation sur les réservoirs animaux potentiels [26].

1.2. Classification

1.2.1. Classification historique

Les leptospires appartiennent 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 [8]. Cet ordre de bactéries est divisé en deux familles : les *Spirochaetaceae* et les *Leptospiraceae* :

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

Dans la famille des *Leptospiraceae*, on trouve les genres *Leptonema* et *Leptospira* [32].

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

- *Leptospira biflexa* sensu lato, regroupant des souches saprophytes, non pathogènes.
- *Leptospira interrogans* sensu lato, regroupant les souches pathogènes pour l'Homme et/ou l'animal, et donc responsables de la leptospirose [33].

Les souches pathogènes ont un temps de génération d'environ vingt heures, tandis que les souches saprophytes ont une croissance plus rapide avec un temps de génération d'environ cinq heures [26]. Ces deux groupes ont aussi des besoins nutritionnels différents et se distinguent sur d'autres caractères phénotypiques. Par exemple, la croissance des souches pathogènes est inhibée par la 8-azaguanine (un analogue de la purine) alors que les souches saprophytes croissent normalement en présence de ce composé [34].

On différencie l'espèce *Leptospira biflexa* de *Leptospira interrogans* également par sa capacité à croître à 13°C, sa résistance dans les milieux contenant de la 8-azaguanine à une concentration de 225 µg/ml et son incapacité à prendre une forme sphérique dans les milieux à 1 mol/l de Na Cl [2].

1.2.2. Classification sérologique

Il s'agit de la classification la plus ancienne, datant des années 1980, mais toujours la plus utilisée actuellement. Elle correspond à la notion de sérovars et de sérogroupe. [35].

Cette classification a été établie avant 1989, elle est basée sur la réponse humorale induite chez un individu infecté. Cette réponse est la conséquence de la reconnaissance d'épitopes conformationnels, spécifiques de sérovars, exposés en surface de la bactérie dans une mosaïque d'antigènes lipopolysaccharidiques (LPS) [36] [9].

Dans cette classification, le genre *Leptospira* est divisé en deux espèces :

- *Leptospira biflexa* (saprophyte)
- *Leptospira interrogans* (pathogène)

Les espèces sont divisées en sérovars, eux-mêmes regroupés en sérogroupe, en fonction de leur proximité antigénique (figure 1.1).

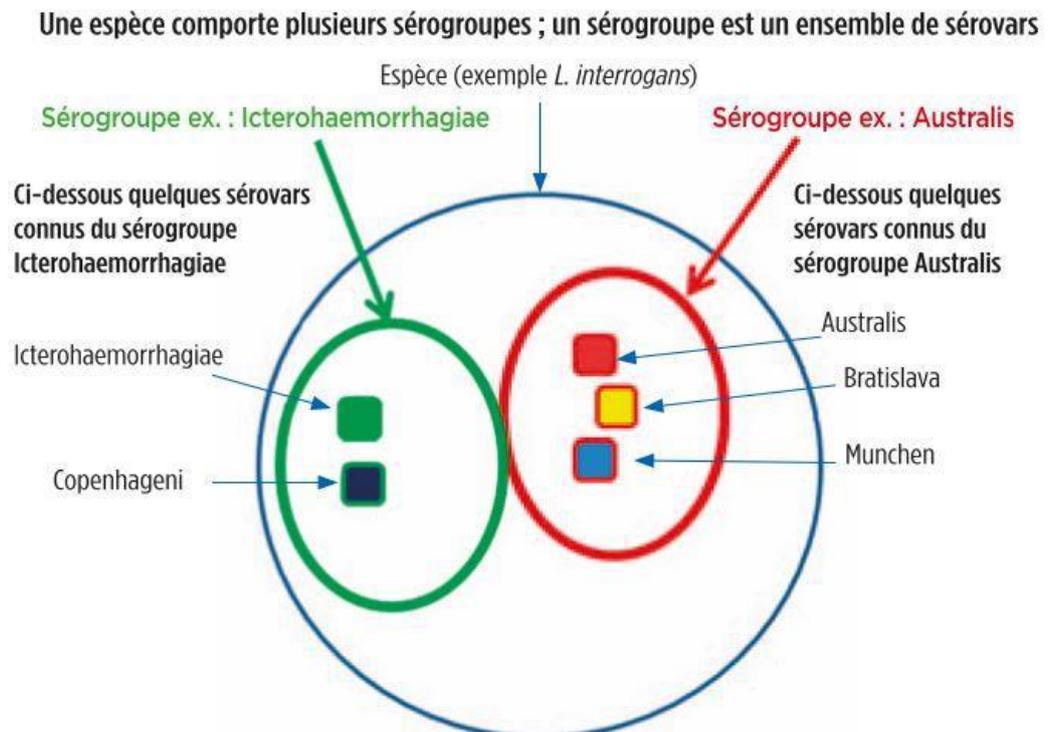


Figure 1.1 : Aperçu simplifié de la systématique des leptospires [37]

Les sérogroupes sont définis par la nature des LPS de surfaces, exprimée sur leur membrane externe, induisant la production d'anticorps agglutinants sérogroupes spécifiques. Il existe à l'heure actuelle plus de 25 sérogroupes différents au sein de l'espèce *Leptospira interrogans*. Un sérovar se définit comme une souche ou un ensemble de souche caractérisé par un ou plusieurs antigène(s) qui lui est (sont) propre(s) porté(s) sur le LPS. On dénombre plus de 250 sérovans pathogènes [36].

Cette classification sérologique reste cependant très utilisée car elle est étroitement liée à la méthode de référence pour le diagnostic sérologique de leptospirose (test de microagglutination ou MAT) [38].

De plus il existe une certaine corrélation entre :

- Sérovans et formes cliniques : le sérovar *grippotyphosa* est souvent associé à un syndrome grippal.
- Sérovans et caractéristiques épidémiologiques : *Canicola*/chien, *Icterohaemorrhagiae*/ rat, *Ballum*/souris, etc.

Cette classification a donc un rôle majeur dans la compréhension de l'efficacité des vaccins et l'interprétation des résultats des tests diagnostiques [36].

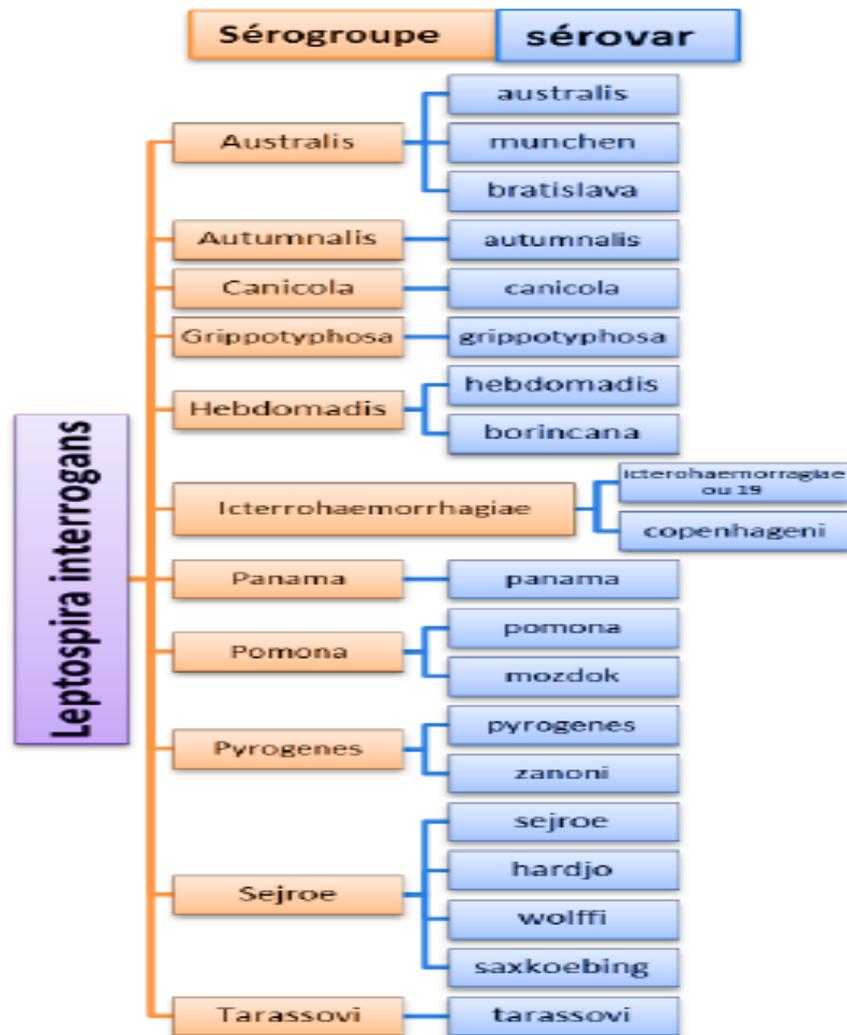


Figure 1.2 : Sérogroupes et sérovares pathogènes les plus importants. [39]

1.2.3. Classification génomique

Depuis 1987, des études d'hybridation ADN - ADN ont modifié radicalement la taxonomie des leptospires, les classant cette fois en génomospecies selon des critères génétiques. Les génomospecies ou espèces génomiques sont des espèces déterminées par des méthodes génétiques [40] [41].

La classification génotypique des leptospires a remplacé la classification sérologique phénotypique [2] [42]. Les espèces de *Leptospira* sont classées sur la base des analyses phylogénétiques des données de séquence d'ADN. Les espèces de *Leptospira* se regroupent en trois groupes, comprenant des agents pathogènes, des saprophytes et un groupe intermédiaire [43] (Tableau 1.1).

De nouvelles espèces génomiques sont régulièrement découvertes [44] [45].

Tableau 1.1 : Présentation des 22 espèces génomiques de leptospires décrites en fonction de leur pouvoir pathogène. [46]

Pathogènes	<i>L. interrogans</i> , <i>L. kirschneri</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. alexanderi</i> , <i>L. kmetyi</i> , <i>L. alstonii</i> , <i>L. mayottensis</i>
Intermédiaires	<i>L. inadai</i> , <i>L. broomii</i> , <i>L. fainei</i> , <i>L. wolffii</i> , <i>L. licerasiae</i>
Saprophytes	<i>L. biflexa</i> , <i>L. wolbachii</i> , <i>L. meyeri</i> , <i>L. vanthielii</i> , <i>L. terpstrae</i> , <i>L. idonii</i> , <i>L. yanagawae</i>

La correspondance entre les principaux sérogroupes rencontrés et leur espèce génomique est donnée dans le tableau suivant. [2] [47].

Tableau 1.2 : Correspondance entre les principales espèces génomiques, les principaux sérogroupes et les principaux sérovars.

Classe génomique	Pathogènes	Espèce génomique	Principaux sérogroupes	Principaux sérovars
		<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Lousiana, Mini, Sarmin	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Australis, Hardjo Autumnalis, Pomona, Bataviae, Pyrogenes, Bulgarica, Copenhageni,
		<i>L.noguchii</i>	Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Lousiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona	Panama
		<i>L.weillii</i>	Celledoni, Icterohaemoragiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi	Celledoni
		<i>L.santarosai</i>	Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri	Shermani, Georgia
		<i>L.borgpetersenii</i>	Javanica, Ballum, Hebdomadis, Sejroe, tarassovi, mini, celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis	Ballum, Javanica, Sejroe, tarassovi
		<i>L.alexanderi</i>	Manhao, Hebdomadis, Javanica, Mini	Manhao 3, Manzhuang, Nanding
		<i>L.kirschneri</i>	Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bataviae	Cynopteri, Bim, Grippotyphosa
		<i>Leptospira genomospecies 1</i>		Sichuan
	Intermédiaires	<i>L.fainei</i>	Hurstbridge	Hurstbridge
		<i>L.inadai</i>	Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica	Lyme, Aguaruna, Kaup
		<i>L.broomii</i>		Non identifié
	Non pathogènes	<i>L.meyeri</i>	Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica	Semarang, Hardjo, Ranarum
		<i>L.wolbachii</i>	Codice	Codice, Gent
		<i>L.biflexa</i>	Semarang, Andamana	Patoc, Andamana
		<i>Leptospira genomospecies 3</i>		Holland
<i>Leptospira genomospecies 4</i>			Hualin	
		<i>Leptospira genomospecies 5</i>		Saopaulo

Dans cette nouvelle classification, les sérovars tant pathogènes que non pathogènes peuvent appartenir à la même espèce génomique. De plus des sérovars appartenant au même séro groupe peuvent appartenir à différentes espèces génomiques. Par exemple les sérovars du séro groupe Grippotyphosa peuvent être trouvés dans les espèces génomiques *L. interrogans* et *L. kirschneri* [44].

1.3. Génome des leptospires

Le génome de *Leptospira spp.* est relativement important (> 3,9 Mo) par rapport à d'autres spirochètes, comme *Treponema pallidum* (1,1 Mo) et *Borrelia burgdorferi* (1,5 Mo). Les leptospires contiennent des gènes ARNr 16S et 23S ainsi qu'un seul gène ARNr 5S qui est réparti sur le grand chromosome [2] [48].

Deux réplicons circulaires sont présents dans plusieurs *Leptospira spp.* où le plus grand chromosome circulaire (cl, > 3,6 Mb) code pour des fonctions ménagères largement essentielles tandis que le second réplicon plus petit (cII, 278-350 kb) porte des gènes essentiels tels que metF (codant pour la méthylène tétrahydrofolate réductase) et asd (codant pour l'aspartate semialdéhyde déshydrogénase) [48].

Le séquençage du génome entier a identifié des réplicons circulaires supplémentaires (p74, 74 kb) chez *L. biflexa* et *L. mayottensis* [48] [49].

1.4. Biologie des leptospires

1.4.1. Caractéristiques morphologiques et structurales

Le mot leptospire vient du grec « *leptos* » qui veut dire fin, grêle, et « *spira* » signifie spire, tour. Les leptospires sont en effet des bactéries spiralées, hélicoïdales, extrêmement fines et flexibles [50].

Ce sont les plus petits spirochètes connus. Leurs extrémités sont pointues, et une ou les deux, sont repliées en forme de crochets distinctifs. Leur taille varie selon les souches entre 6 et 20 µm de long, parfois plus, pour environ 0.1 µm de diamètre [2] [51] (Figure 1.3).

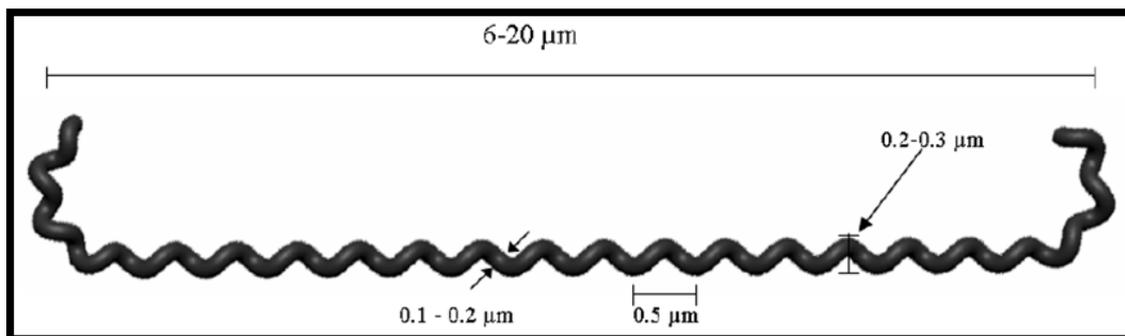


Figure 1.3 : Vue latérale représentation schématique de la structure de *Leptospira*.
[52]

La bactérie prend ainsi la forme d'une spirale, dextre avec une trentaine de spires régulières et très serrées malgré quelques zones plus lâches. La morphologie des leptospires dépend du sérovars, par exemple, Icterohaemorrhagiae est plus grand qu'Harjo. Elle dépend également de l'âge de la culture ; Les spires bien resserrées au début, se relâchent ensuite à quelques endroit avant de donner des formes allongées, sphérulées ou amassées les unes aux autres [2] [9].

Enfin les leptospires sont indistinguables entre elles du point de vue morphologique [51].

La bactérie comprend différentes structures, un cylindre protoplasmique, une enveloppe externe et un organe locomoteur sous forme de deux flagelles internes (aussi nommées filaments axiaux). Dans l'espace périplasmique, entre la membrane peptidoglycique du cylindre protoplasmique et l'enveloppe externe, sont insérés les deux flagelles à chacune des extrémités sub-terminales du cylindre. Flagelles et cylindre sont entrelacés sur environ un tiers de la longueur de la bactérie, sans chevauchement central [53].

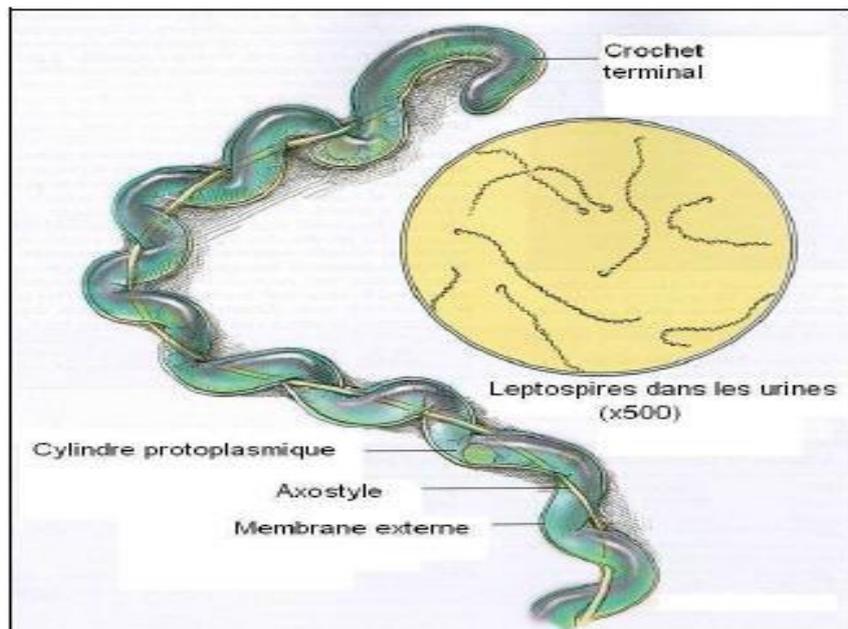


Figure 1.4 : Schéma d'un leptospire à partir d'une observation dans des urines [44].

Au microscope électronique, chaque bactérie se compose d'une enveloppe externe trilamellaire, souple, élastique et peu résistante, constituée de lipopeptides, de lipopolysaccharides (LPS) et de mucopeptides antigéniques. Celle-ci engaine totalement le cylindre protoplasmique et les flagelles. L'enveloppe externe possède une grande quantité de lipoprotéines comme LipL32, LipL36, LipL41 et LipL48 fixées par l'extrémité N-terminal de leurs acides gras [54]. LipL32 aussi appelé Hap1 ou Lip32 est la lipoprotéine majeure de l'enveloppe externe [55].

Cette enveloppe recouvre une couche plus rigide de peptidoglycane elle-même accolée par sa face interne à la membrane cytoplasmique. Bien que sa composition soit proche de celle des bactéries Gram -, le peptidoglycane des leptospires gêne à la fixation de la coloration utilisée classiquement chez les bactéries. Ainsi, l'observation classique des leptospires se fait au microscope optique à fond noir. Le peptidoglycane interviendrait dans la stimulation de la phagocytose et la production de cytokines par les monocytes [56].

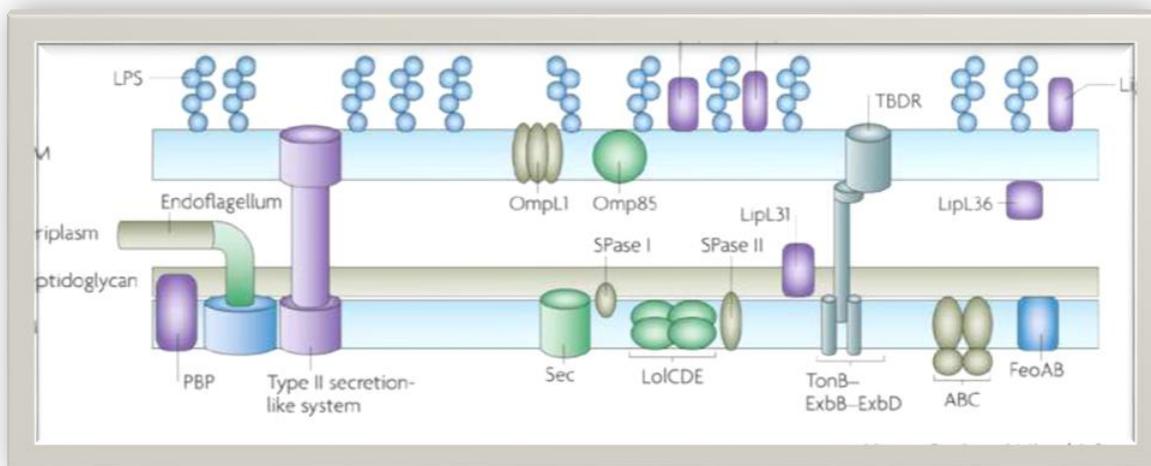


Figure 1.5 : Modèle architectural des membranes des leptospires [11].

Les leptospires possèdent deux flagelles internes situés sous l'enveloppe externe ce qui leur confère une grande mobilité [57]. Les leptospires peuvent réaliser trois types de mouvements : une rotation autour de leur axe central, une progression linéaire, des mouvements circulaires [8] (Figure 1.6).

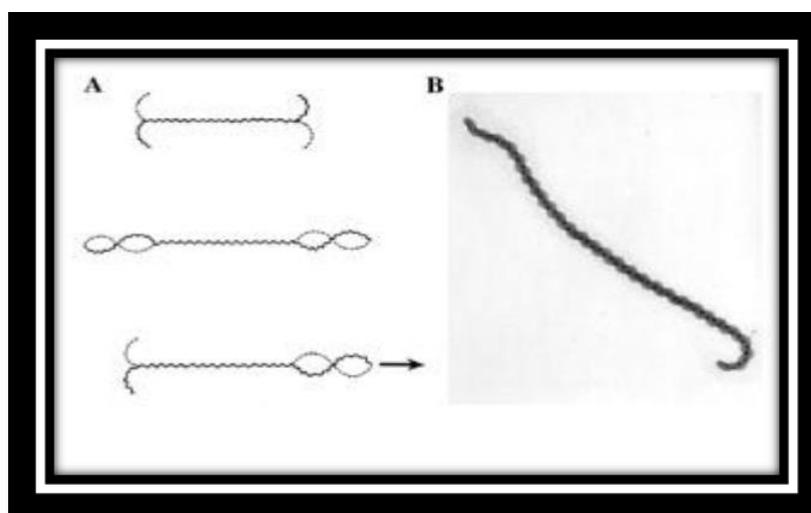


Figure 1.6 : Mouvement des leptospires (A) [58] et microscopie électronique de *Leptospira biflexa* (B) [59].

1.4.2. Caractéristiques bactériologiques : métabolisme et culture

1.4.2.1. Métabolisme des leptospires

Les leptospires sont des bactéries aérobies strictes, avec une température optimale de croissance de 28 à 30°C. Ils produisent catalase et oxydase, et se

développent dans des milieux enrichis avec des vitamines (les vitamines B2 et B12 sont des facteurs de croissance), des acides gras à longue chaîne, et des sels d'ammonium. Les acides gras à longue chaîne (et non les glucides) sont utilisés comme source unique de carbone et sont métabolisés par β oxydation [2].

Le métabolisme original des leptospires oblige le bactériologiste à utiliser des milieux de culture complexes comme le milieu EMJH (Ellinghausen- McCullough modifié par Johnson et Harris) qui est le plus utilisé pour l'isolement (incubation à 30°C) et l'entretien des souches de leptospires [60].

1.4.2.2. Conditions de survie et de culture

Les leptospires sont très fragiles *in vitro* et sont également sensibles dans les milieux biologiques [32].

Les leptospires sont détruites par la chaleur, la dessiccation, le froid (légal à -20°C). Elles sont également sensibles à un pH acide. Ainsi leur survie ne peut s'établir qu'à un pH neutre voire alcalin (de 6.8 à 7.4). De plus les leptospires sont très sensibles aux ultraviolets. Dans des circonstances particulières, telles qu'un milieu aqueux légèrement alcalin, il est possible d'observer de fortes résistances des leptospires pendant plusieurs mois voire plusieurs années [53].

Des conditions doivent être rassemblées pour permettre la croissance des leptospires : un pH compris entre 6,8 et 7,4 ; une protection vis-à-vis de la lumière; une source d'azote fournie par l'ion ammonium et une source d'énergie et de carbone fournie par des acides gras à longue chaîne ; une température comprise entre 28 et 30°C. [26]. La présence d'hôtes réservoirs est indispensable à la réplication de la bactérie en milieu naturel [2].

CHAPITRE 2

POUVOIR PATHOGENE DES LEPTOSPIRES

2.1. Pathogénie et lésions

La contamination s'effectue à l'issue du passage de leptospires vivants à travers des muqueuses saines (oculaires, oro-pharyngées, nasales, génitales), mais aussi de la peau, à la faveur de micro lésions (excoriation, ou peau macérée dans l'eau) [9].

Une fois dans l'organisme, les leptospires vont migrer vers le compartiment sanguin avant d'entrer dans la phase de multiplication [53]

Après la phase de leptospiremie, les bactéries vont ensuite migrer vers les organes cibles et notamment dans les organes du système réticulo-endothélial [32].

La réplication initiale tissulaire concerne cependant essentiellement les reins et le foie. En outre, l'extension et la gravité des symptômes dépendent de la virulence de la souche et de la sensibilité de l'hôte [61]. En effet, un hôte possédant un taux d'anticorps modéré ou élevé présentera une phase de leptospirémie plus courte accompagnée d'une clinique modérée à absente [62].

Cela engendra l'apparition d'une néphrite interstitielle [63] accompagnée d'une intense infiltration cellulaire (polynucléaire) et d'une nécrose des tubes rénaux, ainsi qu'une hépatite. Les parois des tubes rénaux sont épaisses, les cellules de la bordure en brosse des tubes sont absentes ou réduites et les glomérules sont atteints, ce qui expliquerait la protéinurie observée cliniquement en cas de leptospirose [2]. Mais les porteurs chroniques n'ont généralement pas de pathologie rénale [8].

Les reins et le foie peuvent être ictériques par défaut d'élimination de la bilirubine (cholestase) et ou hémorragiques (action des hémolysines des leptospires).

Au niveau cardiaque, une myocardite interstitielle s'installe, avec infiltration lymphocytaire, inflammation des coronaires et effusions dans le péricarde [2].

Les muscles squelettiques sont également atteints d'une myosite, en particulier ceux des membres postérieurs, avec infiltrat cellulaire et parfois nécrose [2]. Enfin le cerveau peut être atteint d'un infiltrat inflammatoire périvasculaire.

Les cas d'uvéites récurrentes, fréquemment observés chez le cheval et chez certaines personnes, seraient dus à une réaction auto-immune permettant la persistance des leptospires dans l'humeur aqueuse [8].

Par la suite, la mise en place de la réponse immunitaire de l'hôte lors de l'apparition des anticorps protecteurs s'accompagne d'une disparition des leptospires dans la plupart des organes excepté les reins dans lesquels l'agent infectieux peut persister des semaines voire des mois [64]. La leptospirémie est de ce fait de courte durée, contrairement à la leptospirurie qui peut, elle, persister pendant une longue période. Cette leptospirurie peut même exister chez des animaux n'ayant présenté aucun signe clinique [65].

2.2. Facteurs de pathogénicité

La virulence d'une bactérie est sa capacité à persister dans un organisme hôte et à contourner les systèmes de défense immunitaires pour ne pas être éliminée [66]. L'extrême mobilité des leptospires est un des éléments de leur pouvoir pathogène. Cette mobilité, qui correspond à la capacité à se développer dans des milieux de densité élevée, est aussi caractérisée par la possibilité de traverser les membranes biologiques. C'est ainsi que les leptospires sont doués de propriétés invasives. Cette mobilité est dite « en tire-bouchon » : elle leur permet de se mouvoir au niveau du point d'entrée sans créer de dégâts et de réaction inflammatoire. Leur détection à l'entrée est donc très difficile. Elle leur permet d'échapper au système immunitaire non spécifique de l'hôte notamment les monocytes [53].

Les leptospires ne sont pas des bactéries intracellulaires mais elles ont la capacité d'entrer dans les cellules hôtes [67] puis d'en ressortir sans altérer la membrane cellulaire [68] [69]. Ce sont donc des « résidentes transitoires » des cellules hôtes, pouvant échapper à la réponse immunitaire. Plusieurs études menées sur des cellules hépatiques ou rénales d'animaux infectés se sont attachées à rechercher des facteurs d'adhésion des leptospires à la matrice extracellulaire [70].

Beaucoup étudiés mais peu connus, les facteurs de virulence des leptospires résident essentiellement dans les protéines de membranes externe (OMPs) et dans le lipopolysaccharide (LPS), bien qu'il soit moins toxique que celui des autres bactéries Gram négatif [66].

En cas d'infection par des bactéries gram négatif, le LPS de leur paroi est reconnu par le récepteur TLR4 (toll-like receptor) des cellules immunitaires humaines. Mais dans le cas de *leptospira interrogans*, le LPS échappe à ce système de reconnaissance habituel et emprunte plutôt la voie du TLR2. Cela serait dû à la particularité du lipide A qui le compose et qui est certes reconnu par les cellules de l'immunité innée des espèces de rongeurs réservoirs de leptospires, mais pas par l'homme [71]. Les rongeurs, contrairement à l'homme, ne développent donc aucune forme clinique de leptospirose grâce à leurs récepteurs TLR2 et TLR4 qui permettent de neutraliser les bactéries pénétrant dans l'organisme. Des mutants pour ces deux récepteurs développent inmanquablement une leptospirose aigüe à *L. interrogans* avec atteinte hépatique et rénale sévère et inflammatoire pulmonaire, comme ce qui est observé chez l'homme [72]. Ainsi, c'est davantage par la réaction immunitaire incomplète qu'il induit chez l'hôte que par son rôle dans l'invasion et la dissémination de l'organisme que le LPS peut être considéré comme un facteur de virulence des leptospires. Cependant sa mutation expérimentale entraîne une perte de virulence et empêcherait les leptospires de survivre plusieurs semaines dans l'environnement [73].

En revanche, les adhésines, qui font partie des OMPs, ont un rôle important dans les premières phases d'invasion de l'organisme. Un certain type d'adhésine, les endostatines, ont été étudiées pour leurs interactions avec la fibronectine et la laminine de la matrice extracellulaire d'une part, et pour leur liaison avec le facteur H du complément d'autre part, car c'est un des mécanismes de virulence des souches pathogènes [74]. La capacité des adhésines à se lier au facteur H permet d'endiguer la voie alternative d'activation du complément et protège donc les leptospires de l'opsonisation par le complément. Ces protéines endostatine-like diffèrent selon le sérovar impliqué et présentent un mimétisme structural avec les endostatines de mammifères facilitant l'invasion de l'hôte par les bactéries. Le fait qu'elles soient

absentes du génome des souches saprophytes de leptospires confirme l'hypothèse d'un avantage sélectif à posséder de telles protéines [66].

D'autres protéines parmi les OMPs permettent l'adhésion des leptospires aux parois des endothéliums et des cellules de l'hôte : les protéines de surface immunoglobuline-like (IigA, IigB, IigC), qui se lient aux composants de la matrice extracellulaire, principalement la fibronectine, la laminine, le collagène et l'élastine. La protéine IigB en particulier a la capacité de se lier au fibrinogène et de réguler la thrombose et la fibrinolyse, ce qui pourrait expliquer les symptômes observés en cas de leptospirose aigüe (hémoptysie, thrombocytopénie) [75]. Cependant ces protéines immunoglobuline-like, pourtant présentes uniquement chez les espèces pathogènes, ne sont pas indispensables à la virulence [76].

Parallèlement, la lipoprotéine de surface Loa22 (la seconde lipoprotéine la plus abondante après LipL32) a fait l'objet d'étude par mutation du gène codant chez *Leptospira interrogans* qui ont montré qu'en son absence la virulence était atténuée : absence de signes cliniques et survie de tous les cochons d'Inde testés [77]. Il s'agit d'une protéine ayant un domaine C-terminal de type OmpA, une protéine de surface d'*Escherichia coli* retrouvées chez de nombreuses bactéries Gram négatif. Agissant comme une adhésine, elle facilite les premières phases de pénétration dans l'organisme, notamment dans les vaisseaux sanguins. L'expression induite de Loa22 chez les mutants loa22 a montré des lésions nécrotiques rénales, hépatiques, pulmonaires, accompagnées de splénomégalie. Cela reproduit donc les lésions observables en cas d'infection par des souches « sauvages » de *L.interrogans* et confirme le rôle majeur de Loa22, protéine très conservée au sein des leptospires, dans la virulence des souches pathogènes ; à ce jour c'est la seule protéine réellement identifiée comme facteur de virulence chez les espèces pathogènes de leptospires. Cependant il n'a pas été démontré qu'en son absence les leptospires n'étaient pas capables d'infecter l'hôte et de pénétrer dans les tissus cibles. La protéine Loa22 étant conservée chez *L.biflexa*, il semblerait que de nombreux mécanismes de résistance (dans l'environnement ou chez l'hôte) soient communs aux espèces saprophytes et aux espèces pathogènes de leptospires [73]. La lipoprotéine LipL 32, est quant à elle la protéine majeure de membrane externe. Elle représente 75% du complexe protéiques des OMPs. C'est la plus abondante des

protéines exposées en surface [73]. La lipoprotéine LipL32 est exprimée durant l'infection des mammifères hôtes [78], en phase aiguë comme en phase chronique [79] et possède un pouvoir hautement antigénique puisque 95% des personnes atteintes de leptospirose produisent des anticorps anti-LipL32 [80], d'où son utilité dans le diagnostic par test ELISA [67]. Elle ne semble pas constituer un facteur de virulence majeur [79].

Enfin outre les OMPs et le LPS, les seules toxines répertoriées chez les leptospires sont des hémolysines, notamment des sphingomyélinases, une collagénase et des protéases. Une dernière catégorie d'hémolysines, des protéines homologues à des protéines animales jouant un rôle clé 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'hémoptysie observés lors d'infection par *L. interrogans* [81].

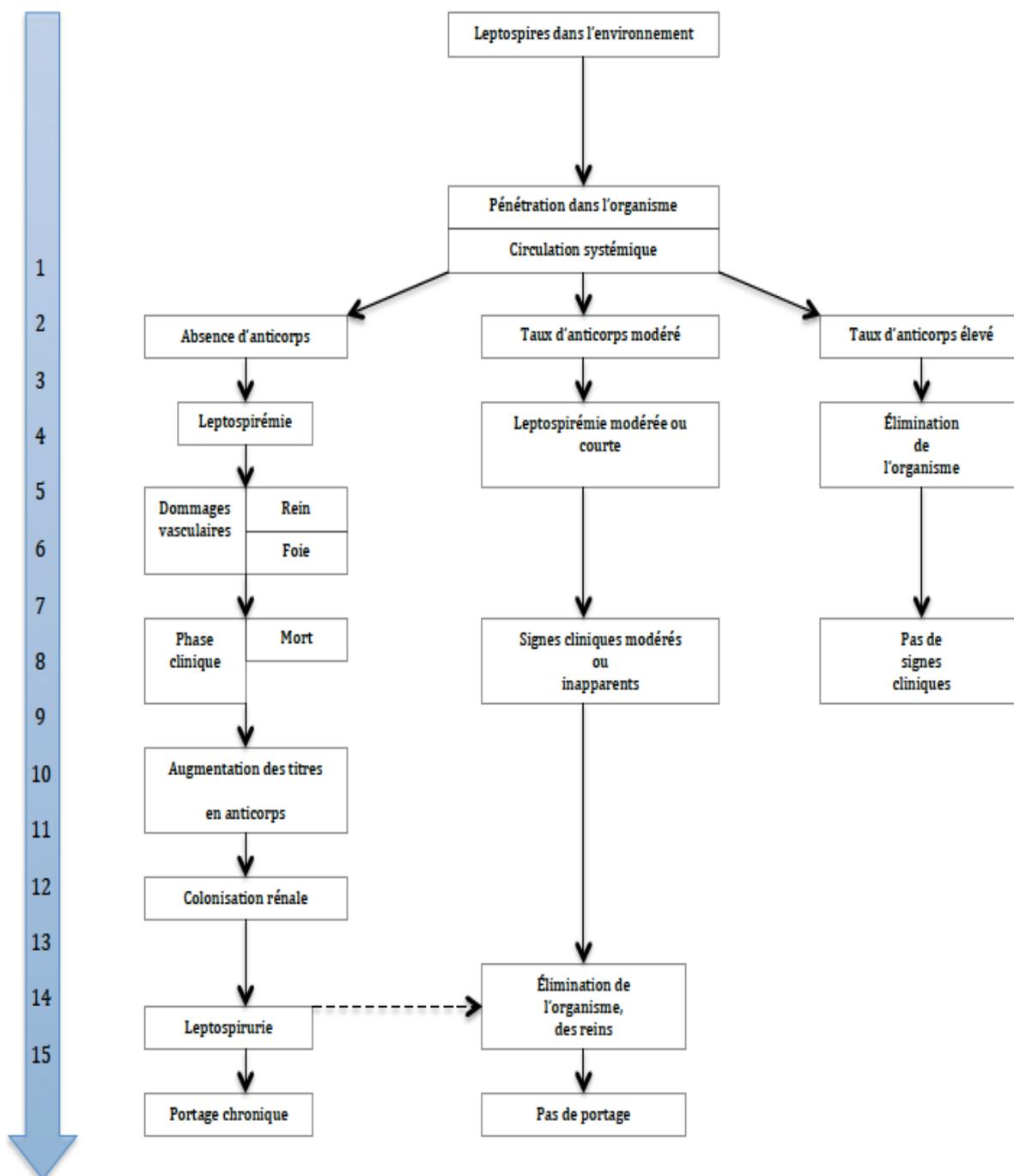


Figure 2.1 : Schéma pathogénique général de la leptospirose d'après [82].

CHAPITRE 3

DIAGNOSTIC

Les analyses de diagnostic se classent en deux groupes : les tests directs visant la mise en évidence de l'ADN de leptospires, les PCR ou des bactéries elles-mêmes, la culture microbiologique, et les tests indirects où l'on détecte des anticorps dirigés contre les bactéries, la sérologie incluant l'ELISA et le MAT. Un résumé des tests couramment utilisés ainsi que leur but est disponible dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : tests disponibles pour le diagnostic de la leptospirose et leur but. [83]

Méthode	But					
	Détection d'une population saine	Détecter un individu sain avant importations ou exportations	Contribution aux politiques d'éradication	Confirmation de cas cliniques	Prévalence – surveillance	Statut immunitaire d'un individu ou d'une population après vaccination
Identification de la bactérie						
Culture et identification	-	+++	-	+++	-	-
PCR	-	++	-	++	-	-
Détection de la réponse immunitaire						
MAT	-	+++	-	++	+++	-
ELISA	+++	-	+++	+++	++	+++

Légende :

- +++ Méthode recommandée
- ++ Méthode convenant pour cette indication
- Non approprié pour cet objectif

3.1. Les tests directs

3.1.1. Examen au microscope

Plusieurs techniques de microscopie sont utilisées pour la détection des leptospires en laboratoire. Il s'agit notamment de l'observation directe par microscopie à fond noir et par coloration vue par microscopie optique ou par immunofluorescence [2] [84]. Les leptospires sont observés au microscope à fond noir au grossissement 250 entre lame et lamelle [32]. Leur morphologie

caractéristique en filament incurvé et leur mobilité par rotation, flexion et translation les rendent reconnaissables par des yeux expérimentés [32]. Cette technique a une sensibilité et une spécificité faibles [2]. Environ 10^4 leptospires/ml est le seuil de détection [85]. Le risque de faux positifs dus à une mauvaise interprétation de fibrine ou de fils de protéines, débris cellulaires et autres objets peut être élevé, même pour les experts [26] [86]. La technique souffre d'autres inconvénients, tels que des difficultés techniques avec l'obtention de spécimens appropriés (spécimens devraient être pris de manière aseptique et envoyés à un laboratoire sans retard), l'exigence d'un niveau élevé de compétence de l'opérateur, cette méthode ne fournit aucune information sur le sérovar infectant [26] [8].

Finalement, cet examen direct des leptospires n'est pas un examen de certitude car peu spécifique et peu sensible, mais un examen d'orientation rapide préalable à d'autres examens [32].

3.1.2. Mise en culture

Bien que la culture bactérienne de leptospires à partir du sang, de l'urine, du liquide céphalo-rachidien, du liquide de dialysat (hémodialyse) et du tissu (post mortem) soit confirmatoire, la procédure est très laborieuse et prend du temps. La croissance de *Leptospira* est incitée en entreprenant des dilutions en série pour diluer les inhibiteurs de croissance. Les tubes contenant le milieu de culture EMJH sont inoculés et incubés à 28°- 30°C, et vérifiés (par microscopie à fond noir) chaque semaine pour la croissance pendant une durée de six mois [84] [87].

L'identification par isolement des leptospires à l'aide de techniques de culture a déjà été décrite comme l'une des méthodes de diagnostic de référence [84], [42]. Une méta-analyse de quatre études distinctes en Thaïlande a évalué la sensibilité de la culture seule à 10,5% [88].

3.1.3. Amplification génétique

Ces dernières années, la réaction en chaîne par polymérase est devenue de plus en plus utile pour le diagnostic de la leptospirose et tend à remplacer les techniques sérologiques [89]. La PCR peut être "conventionnelle", c'est-à-dire suivie d'une migration sur gel d'agarose, ou en temps réel. Ces méthodes ciblent et amplifient d'ADN de *leptospira* dans les échantillons afin de confirmer la présence de

la bactérie [90]. Les tests PCR en temps réel utilisant la technologie Taqman ou SYBR se sont avérés plus rapides et plus spécifiques que la PCR classique et sont donc plus largement utilisés [89]. La PCR permet de mettre en évidence l'ADN de leptospires dans le tissu analysé, à savoir le sang (première semaine de symptômes) ou les urines (au cours de la 2^{ème} ou de la 3^{ème} semaine de la maladie) [91].

Les tests de PCR développés peuvent être subdivisés en deux grandes catégories, ciblant soit des gènes universellement présents dans les bactéries tels que *rrs* (gène ARNr 16S), *gyrB* ou *secY*, ou la détection de gènes restreints au *Leptospira* pathogène, par exemple, *lipL21*, *lipL32*, *lipL41*, *ligA* et *ligB* [92].

La PCR développée par Merien *et al.* (1992) utilisant le gène ARNr 16S de *L. interrogans (rrs)* [93]. Cette technique a prétendu détecter jusqu'à 10 leptospires/ml dans l'urine, le LCR et le sang lorsqu'il était combiné avec la technique d'hybridation d'ADN. Bien que ce test a une sensibilité et une rapidité supérieures à celles d'autres méthodes telles que la culture, il n'a pas été en mesure de faire la distinction entre les espèces pathogènes et non pathogènes de *Leptospira* [93], d'autres études depuis ont également mis en évidence cette lacune avec des résultats de PCR positifs rapportés pour des souches non pathogènes de *Leptospira* lors du ciblage de ce gène [92] [94].

Une deuxième PCR utilisant un ensemble d'amorces mixtes G1/G2 et B64-I/ B64-II sont utilisés dans l'approche décrite par Gravekamp *et al.* (1993) [95] pour détecter les sept espèces pathogènes et les différencier des espèces non pathogènes « Le gène *gyrB* correspond à la sous unité de l'ADN gyrase et est ciblé par le test PCR utilisant le gène *gyrB* de *Leptospira* [96]. Le gène *secY* est un gène domestique [97], et a été classiquement ciblé dans des tests PCR *Leptospira* utilisant les amorces G1/G2 [95] [98].

Outre ces deux PCR largement utilisées, des essais avec des amorces ciblées sur d'autres gènes ont également été développés, y compris *flaB* [99], *ompL1* [100], *LipL32* [4], 23s rDNA [65], et *lig* gènes [101].

Finalement, la caractéristique de la PCR est sa capacité de produire littéralement des millions de copies d'un segment d'ADN particulier avec une grande fidélité dans les 3 à 4 heures [102] La technique de PCR est basée sur des cycles

répétés de température élevée pour la dénaturation de l'ADN, l'hybridation d'oligonucléotide (amorce) et une étape d'extension, qui est médiée par une polymérase stable à la chaleur. Dans chaque cycle de la PCR, le nombre de copies de la séquence choisie est doublé de sorte que la quantité de l'ADN cible augmente de façon exponentielle. Ensuite, l'ADN cible est séparé sur gel d'agarose électrophorèse. La PCR a été utilisée pour la détection de *Leptospira* dans différents spécimens depuis les années 1990 [93] [95]. Récemment, des PCR en temps réel (qPCR) ont été introduites pour diagnostiquer la leptospirose. Cela a encore amélioré les PCR conventionnels avec sa rapidité et sa sensibilité en prenant moins de temps et en réduisant les faux positifs causés par les contaminations de transfert [103] [104].

3.2. Les tests indirectes

3.2.1. La sérologie

La sérologie est la méthode de diagnostic le plus fréquemment utilisé pour la leptospirose [105]. Les tests sérologiques disponibles sont basés principalement sur la détection de l'immunoglobuline IgM et les anticorps de classe IgG. Les modèles de réponses d'IgM et les anticorps de classe IgG trouvés dans les cas humains et des animaux sont similaires [106].

Les anticorps IgM apparaissent en premier (dès la deuxième journée de l'apparition des symptômes) au cours de l'infection, suivie par des anticorps de classe IgG [107] [108] [109]. Les deux anticorps IgM et IgG persistent généralement après l'infection, mais la persistance des anticorps IgM est généralement plus courte que les anticorps IgG [110] [111] [112] [113].

3.2.1.1. La sérologie par la méthode de microagglutination (MAT)

Le MAT reste la méthode de référence pour le diagnostic sérologique de la leptospirose pour les humains et les animaux [114] [89]. Au cours de cette procédure, les sérums sont titrés avec des suspensions d'antigènes vivants de sérotypes de leptospires et inspectés pour la recherche d'agglutination avec la microscopie à fond noir [115]. Une réaction sera considérée comme positive si, à une dilution donnée et pour l'antigène testé, au moins 50% des leptospires sont agglutinés (la lecture est assurée par comparaison avec un antigène témoin qui fixe

le seuil de positivité [53]. La détermination optimale du cut-off pour ce diagnostic présomptif dépend de la prévalence de la maladie dans la population d'intérêt [2]. La technique peut donner une impression générale des sérogroupes/sérotypes circulant au sein d'une population, et considéré comme le test le plus approprié d'utiliser dans des enquêtes séro-épidémiologiques [2]. Et comme elle détecte à la fois les IgM et les IgG, les anticorps peuvent être détectés pendant une période prolongée après la récupération [116].

Bien que le MAT soit couramment utilisé pour le diagnostic de la leptospirose chez les animaux, ce test détecte les anticorps dans le sérum, plutôt que la présence de leptospires directement dans l'urine et les reins, et donc ne reflète pas le statut de porteur de l'hôte [117] [118]. Cette méthode est aussi limitée en raison de l'absence de valeurs seuils normalisées entre les différents laboratoires et ceux qui utilisent des valeurs inférieures peuvent permettre un sur-diagnostic de la maladie [84]. En plus, et en raison de l'effet subjectif de variation d'observateur, les résultats du MAT sont couramment variés entre les laboratoires [2] [119]. Si le MAT peut fournir un guide précis du séro groupe/sérotypes infectant de *Leptospira*, il dépend aussi de la couverture adéquate des sérotypes circulant localement dans la batterie d'antigènes [120]. La performance du MAT nécessite aussi le maintien d'une collection de souches vivantes [121]. La subculture répétée d'un grand nombre de souches présente des risques pour le personnel de laboratoire [84].

3.2.1.2. La sérologie par la méthode ELISA

L'enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) est souvent utilisé comme une alternative pour le dépistage de la leptospirose chez l'homme comme chez les animaux [122] [123]. En plus d'être facile à réaliser, l'ELISA est peu coûteux, sûr (car il utilise l'antigène tué et donc réduit le risque d'infection pour le personnel de laboratoire), et donne un résultat moins subjectif que le MAT [124] [125].

Un autre avantage de l'ELISA sur le MAT est que la réponse sérologique des IgM et IgG peut être détectée séparément [121]. Mais par ailleurs il ne donne aucune indication d'infection du sérovar [89].

La plupart des tests ELISA utilisent des lysats de cellules entières, habituellement la souche saprophyte *L.biflexa* sérovar Patoc comme antigène, qui partage plusieurs antigènes de surface avec les souches pathogènes [89].

Récemment, une méthode d'analyse à flux latéral détectant les anticorps IgM est devenue disponible en Europe et des études ont montré qu'elle pourrait devenir une méthode efficace pour diagnostiquer rapidement la leptospirose aiguë, avec peu d'effet sur le résultat de la vaccination récente [126] [127].

3.2.1.3. Autres méthodes sérologiques

Plusieurs autres tests sérologiques ont été utilisés comme tests de dépistage pour les anticorps, y compris macro-agglutination [128], la réaction de fixation du complément [129], l'immunofluorescence indirecte [130], l'hémagglutination indirecte [131], et l'agglutination au latex [132]. Néanmoins, ces tests sont rarement utilisés en raison de leur manque de sensibilité ou de la spécificité [89]. Un test lepto de bandelette a été aussi développé comme un test rapide sur le terrain de la leptospirose qui ne nécessite pas d'équipement de laboratoire spécial et de personnel qualifié [133]. La présence d'anticorps IgM spécifique de *Leptospira* dans le sérum est testée par la lecture de la coloration sur bandelette à antigène, par comparaison à une bandelette de référence marquée de 0 à 4 [134].

CHAPITRE 4

MANIFESTATION CLINIQUE DE LA LEPTOSPIROSE ET ROLE DES RONGEURS

La leptospirose est une maladie pour laquelle les manifestations cliniques sont protéiformes et semblables à ce qui peut être observé pour beaucoup d'autres maladies infectieuses [2]. La durée d'incubation est en moyenne d'une à deux semaines (entre deux jours et trois semaines pour les extrêmes) [135]. Il existe des formes subcliniques sans qu'aucun symptôme ne soit rapporté. Les formes cliniques habituellement décrites sont une forme ictérique possiblement, une forme anictérique et une forme chronique [66].

4.1. La leptospirose humaine

La leptospirose humaine peut présenter des manifestations cliniques variables qui peuvent aller de la maladie subclinique à la jaunisse, à l'insuffisance rénale et à une atteinte pulmonaire potentiellement mortelle [8]. La leptospirose est généralement une maladie biphasique. La phase initiale aiguë ou septicémique est caractérisée par une bactériémie qui dure habituellement environ une semaine. La plupart des cas présentent une maladie fébrile d'apparition soudaine. La fièvre, les frissons, les maux de tête, les myalgies sévères, la suffusion conjonctivale, l'anorexie, la nausée, le vomissement et la prostration caractérisent généralement la leptospirose aiguë [136]. Une importante proportion de personnes infectées par *Leptospira* peut avoir une maladie subclinique ou des symptômes très légers et ne consulter pas le médecin [2]. Dans la phase de leptospirémie (phase aiguë), les leptospires peuvent être trouvés dans le sang et le liquide céphalo-rachidien [137]. La résolution des symptômes peut coïncider avec la deuxième phase ou la phase immunitaire, lorsque des anticorps anti-immunoglobuline M (IgM) commencent à être produits, accompagnés d'une excrétion de spirochètes dans l'urine [136]. Cependant, la fièvre peut se reproduire après une rémission de 3 à 4 jours, produisant ainsi une maladie biphasique [136]. Le syndrome de Weil peut se développer après la phase

aiguë comme deuxième phase d'une maladie biphasique, ou peut simplement se présenter comme une maladie simple et progressive. Il se caractérise par une forte fièvre, une jaunisse intense, un saignement, une dysfonction rénale et pulmonaire, des altérations neurologiques et un effondrement cardiovasculaire avec un parcours clinique variable [2], [138], [139].

4.2. La leptospirose animale

Les manifestations cliniques de la leptospirose chez les animaux peuvent varier en fonction du statut immunitaire de l'animal et de la virulence des sérovars infectant. Habituellement, les signes cliniques varient de léger à grave en fonction de l'âge de l'hôte. Normalement, les cas sévères sont fréquents chez les jeunes animaux [26].

4.2.1. Chez le chien

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 [53]. Cependant, en milieu urbain, les chiens sont les principaux réservoirs impliqués dans la leptospirose chez l'homme et d'autres chiens [140] [141]. Le risque d'infection humaine est associé à la présence de chiens infectés par les leptospires à l'intérieur du foyer ou à proximité [26]. Les chiens sont sensibles à tous les sérovars de *leptospira* ; cependant, lorsqu'ils sont infectés par *Leptospira Interrogans* sérovar Canicola, ils peuvent agir comme des porteurs asymptomatiques, éliminant les bactéries dans l'urine sans aucun signe clinique suggestif de la leptospirose [142]. Cependant, d'autres serovars comme Australis, Pyrogenes, Autumnalis, Pomona, Bratislava and Grippotyphosa ont été aussi isolés chez le chien dans différents pays [143] [144] [145]. Le génotypage des leptospires a permis aussi d'identifier *Leptospira interrogans*, *Leptospira kirschneri*, et *Leptospira borgpetersenii* chez le chien [146].

La population de chiens errants souffre plus de cette zoonose que les chiens de compagnie en raison de leur mode de vie, et aussi en raison de l'absence de d'immunoprophylaxie. Les chiens errants peuvent être infectés par contact direct ou indirect avec d'autres mammifères réservoirs à la suite de fouillages dans les ordures ou de chasse lors de la recherche de nourriture, par l'ingestion aussi d'eau

provenant des flaques, en reniflant l'urine d'autres animaux, ou encore en léchant les voies génitales des femelles et lors de l'accouplement [147]. En général, la leptospirose chez le chien peut prendre des formes inaparentes dans la majorité des cas. Une forme aiguë avec mort de l'animal, et une forme chronique avec atteinte hépatique, et ictère, sont aussi observées dans certains cas [142].

4.2.2. Chez les animaux de production

Chez les bovins, la cause la plus fréquente de l'infection est *L. borgpetersenii* serovar Hardjo [148], avec deux souches fréquemment rencontrées : *L. borgpetersenii* Hardjobovis et *L. interrogans* Hardjoprajitno [87]. L'infection chez le bétail peut entraîner des pertes économiques importantes liées à l'avortement, à la mort de l'embryon, à la mort des veaux pendant les premiers jours de la vie, et à l'agalactie [149]. *Leptospira spp* serovar Harjo pose également une potentielle menace zoonotique pour les humains exposés à des bovins infectés [150].

Chez les moutons et les chèvres, la leptospirose se manifeste sous la forme de deux syndromes cliniques distincts: une maladie systémique aiguë et souvent mortelle et des problèmes de reproduction tels que l'infertilité, l'avortement et la mortinatalité [151] [152].

Chez les chevaux, les manifestations cliniques de la leptospirose sont principalement associées à l'avortement, à la mortinaissance et à l'uvéite équine récidivante [153], Les sérovares les plus infectants chez le cheval sont Bratislava, Pomona et Icterohaemorrhagiae [153] [154].

4.2.3. Chez les rongeurs

Les rongeurs (*Rodentia*) forment un ordre de mammifères caractérisé par une dentition particulière constituée d'une paire d'incisives à croissance continue sur chacune de leurs mâchoires, qui leur permet de ronger leur nourriture, de creuser des galeries ou de se défendre [155], Sur plus de 1700 espèces de rongeurs disséminées dans le monde, près de 125 sont classées comme ravageurs et 3 d'entre eux sont très importants, à savoir *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, et *Rattus rattus* [156].

Le terme « rat » qualifie les rongeurs du genre *Rattus*, appartenant à la sous-famille des Murinae, auquel appartiennent également les souris (*Mus*). Les trois espèces de *Rattus* les plus répandues à travers le monde sont : le rat brun ou surmulot (*Rattus norvegicus*), le rat noir (*Rattus rattus*) et le rat polynésien (*Rattus exulans*). Ce dernier n'est présent que dans les régions d'Asie du sud-est [157].

4.2.3.1. *Rattus norvegicus*

4.2.3.1.1. Description et caractères généraux

Appelé aussi surmulot est une espèce de grande taille, au corps massif, sa tête est trapue, sa queue épaisse et écailleuse est plus courte que le corps. La couleur du pelage est plus uniforme, gris-brun sur le dos, blanchâtre sur le ventre, le crâne d'aspect anguleux chez les adultes, possède des crêtes temporales plus au moins parallèles. C'est une espèce cosmopolite, habite le bord des mers, des berges, les cours d'eau et les canaux d'irrigation dans lesquels il creuse un terrier. Il fréquente aussi les parties basses des habitations, les dépôts d'ordures, son régime alimentaire est très diversifié. [158] [159].

4.2.3.1.2. Mensurations corporelles

T+C = 24-27 ; Q = 20,5-21 ; P = 4-4,3 ; OR = 2-2,3 [158] [159].

4.2.3.1.3. Formule dentaire

1I + 0C + 0PM + 3M/1I + 0C+ 0PM + 3M [158] [159].

4.2.3.1.4 Nourriture

Omnivore : végétaux (feuilles, graines) avec une part notable de nourriture carnée (oiseaux, petits rongeurs, insectes). [159].

4.2.3.1.5. Comportement social

Le Surmulot est une espèce sociale où la famille se transforme en groupe social hiérarchisé. Il a un besoin d'humidité beaucoup plus développé que *R.rattus* et ne peut, en particulier, se passer de boire (même de l'eau salée) ; ceci réduit son aire d'expansion aux habitats humains dans les zones arides. Il fréquente les caves, égouts, les rives des canaux, les ports. Il nage bien sous l'eau. C'est un commensal

étroit de l'homme. Il creuse des terriers à plusieurs entrées, constitués de galeries avec des réserves et des nids sphériques. Il est actif au crépuscule et à l'aube. [159].

4.2.3.1.6. Reproduction

La gestation dure 22 jours. Il y a en moyenne 8 jeunes par portée (5 à 20) qui restent aveugles 14 à 17 jours. [159].

4.2.3.1.7. Répartition historique

Historiquement, le surmulot a été signalé à : En 1858, par LOCHE à Alger, et en 1867 à Mostaganem. En 1885, par LATASTE à EL-Arbâa (Blida). En 1888, par JENTINK à Skikda. En 1932, par WITAS à Constantine. En 1979, KOWALSKI le signala aux Iles Habibas (Oran), Messerghine, Oran, Ain Temouchent, Es-Sennia, Koléa et GAISLER le signala à Sétif, le matériel biologique concernant cette espèce a été retrouvé dans les pelotes de régurgitation à Es-Sennia. Squelette trouvé à Mascara et tué sur la route à Mascara, Sidi Bel-Abbès et Tlemcen. Espèce cosmopolite, habitant la zone côtière jusqu'à l'atlas tellien, avec des pénétrations au nord du Sahara dans les agglomérations et des puits d'eau [158] [159].

4.2.3.1.8. Répartition et démographie actuelles

Beba et Baziz (2010) capturèrent 2 individus dans la vallée Oued Righ près de Tougourt. En 2012, El-Aoufi et al. capturèrent quelques individus dans les régions de Beni-Abbès et Abadla (Bechar) pour une étude physiologique. [159].



Figure 4.1 : Noms usuels : Français : Surmulot - Anglais : Norway Rat - Arabe : Jerd el matha'ib [159]

4.2.3.2 *Rattus rattus*

4.2.3.2 .1. Description et caractères généraux

Appelé aussi rat noir, un rongeur de forte taille qui possède une tête fine et allongée, des oreilles bien développés et une queue écailleuse, dépourvue de poils, dont la longueur dépasse celle du corps. Son pelage peu épais est de couleur variable, généralement gris ardoise dans la région dorsale parfois mêlé de roux ou à reflets argentés, il est gris plus au moins foncé sur le ventre, voire jaunâtre ou blanc. Le crâne d'aspect globuleux présente des crêtes temporales incurvées. C'est un animal principalement nocturne [158] [159].

4.2.3.2.2. Mensurations corporelles

T+C = 12-20 ; Q =15-23 ; P = 2,9-4,2 ; OR = 1,7-2,5 [158] [159].

4.2.3.2.3. Formule dentaire

1I + 0C + 0PM + 3M/1I + 0C + 0PM + 3M [158] [159].

4.2.3.2.4. Nourriture

C'est une espèce plutôt végétarienne (frugivore, granivore) [159].

4.2.3.2.5. Comportement social

Le rat noir est un animal social : les groupes sont fortement hiérarchisés et souvent issus d'une même famille. Un domaine collectif est défendu et les déplacements des membres du groupe se font par des cheminements traditionnels, plus souvent sur des supports (troncs, branches, poutres) que sur le sol. Ce rat fréquente des lieux chauds et relativement secs. C'est un commensal de l'homme, mais on le trouve aussi dans la nature. Il ne creuse pas de terrier mais se construit un nid volumineux, dans une cavité naturelle, ou dans un arbre. Il est fréquemment arboricole, pouvant sauter d'arbre en arbre [159].

4.2.3.2.6. Reproduction

La reproduction a lieu surtout de février à octobre. Il y a 2 à 5 portées par an. La gestation dure 20 à 24 jours. Un à vingt jeunes (moyenne 6), nus et aveugles (14 à 18 jours), sont mis au monde [159].

4.2.3.2.7. Répartition historique

Historiquement, en 1858-1867, LOCHE le signala à Bougara (Larbâa), Guellabou (Larbâa), Larbâa (Blida). En 1869, TACZANOWASKI à Guelma. En 1912, JORDAN et ROTCHILD à Alger. En 1937, LAURENT à Ain Defla, Arrib près de Ain Defla, Beni Ounif, Boumedfâa. En 1962, MAILLOUX l'étudia à Alger. En 1979, KOWALSKI le signala dans différents endroits : Djelfa, Honaine, Messerghine, Tafraoui et dans des pelotes de rapaces à Aokas, Es-Sennia, Honaine, Seb dou, Saida, Souk El-Bakar, El- Bakar, Tafraoui, Tighenif (Mascara). Il habite les agglomérations du Nord du pays jusqu'à l'Atlas tellien, il a été signalé même du côté de Beni Ounif jusqu'à la frontière marocaine [158] [159].

4.2.3.2.8. Répartition et démographie actuelles

Hadjoudj et al. Signalèrent un individu à Bahia dans la région de Touggourt, un individu à Sidi mahdi et un autre à Touggourt ville durant la période s'étalant du 21 Juillet 2007 au 30 Avril 2008. Beba et Baziz (2010) capturèrent 11 individus dans la vallée de l'Oued Righ près de Touggourt. Trouvé par Alia et al. en 2012 dans la région du Souf à Hassi Khelifa et Ourmes. Chenchouni (2012) signala sa présence entre Octobre 2009 et Juin 2010 en étudiant la faune du lac Ayata du complexe de zones humides d'Oued Righ. [159].



Figure 4.2 : Noms usuels : Français : Rat noir - Anglais : Black Rat - Arabe : Jerdoub- Berbere : Agherdha [159]

4.2.3.3. *Mus musculus*

4.2.3.3.1. Description et caractères généraux

La souris grise est un rongeur de petite taille au museau pointu dont la queue, plus longue que le corps, est épaisse à la base et pourvue de poils fin et rares. Le pelage est de coloration variable, grise sur le dos, la face ventrale apparaissant plus claire. Elle habite essentiellement dans les bâtiments ou dans leurs voisinages immédiats et dévore tout ce qu'elle trouve. La souris grise habite à proximité des habitations dans les agglomérations et dans les Oasis au sahara [158].

4.2.3.3.2. Mensurations corporelles

T+C = 7-10 ; Q = 7,5-10 ; P = 1,5-2 ; OR = 1,2-1,4 [158], [159].

4.2.3.3.3. Formule dentaire

1I + 0C + 0PM + 3M/1I + 0C + 0PM + 3M [158], [159].

4.2.3.3.4. Nourriture

Les souris prélèvent une part importante de leur alimentation dans les cultures, greniers, silos, dépotoirs [159].

4.2.3.3.5. Comportement social

Petit rongeur, surtout nocturne, commensal de l'homme qui, dans le désert, a beaucoup contribué à sa dispersion. On le trouve donc dans les habitations et leur voisinage, dans les jardins et cultures. Il s'abrite durant le jour dans des cavités naturelles aménagées ou, lorsque le sol s'y prête, creuse un terrier peu profond entre les racines de buissons. Le nid est garni de fourrage et débris divers. Les souris vivent en groupes sociaux plus ou moins nombreux qui exploitent un territoire duquel sont rejetés les intrus [159].

4.2.3.3.6. Reproduction

La reproduction a lieu toute l'année avec un ralentissement en hiver. La gestation dure 18 à 21 jours. Les portées sont de 3 à 8 jeunes (6 en moyenne) qui restent aveugles 12 à 14 jours et sont sevrés au 18e jour. [159].

4.2.3.3.7. Répartition historique

Elle été signalée en 1883, par LATASTE à Alger, El- Arbâa, Ouargla, Touggourte. En 1913, par THOMAS à Ain Sefra. En 1928, par FOLLEY à Beni Ounif. En 1963, par NIETHAMMER à El Goléa. En 1965, par SAINT GIRONS et PETTER à Bechar, Beni Abbas, Beni Ounif, Oran. En 1979, par KOWALSKI à Ain Temouchent, Ghardaia, Beni Abbès, El- Edrissia, Oran, Sidi Bel Abbès, Targa (Sidi Bel- Abbès). En 1985, par VESMANIS à Blidet Ammour, EL-Goléa et dans des pelotes de régurgitation aux Babors par ATMANI (1983) et LEBECHE (1983), et par KOWALSKI à Abadla, Ain Sefra, Beni Abbès, Igli et Laghouat. 1999 à Gouraya (Ahmim), et 2000, 2003 à Béjaia et Akfadou. [158], [159].

4.2.3.3.8. Répartition et démographie actuelles

Hadjoudj et al. durant la période s'étalant du 21 Juillet 2007 au 30 Avril 2008, ont capturé 1 *Mus musculus* à Sidi Mahdi dans la région de Touggourt et 14 à Touggourt ville. Beba et Baziz (2010) capturèrent 14 individus dans la vallée de l'Oued Righ près de Touggourt. Sekour et al. (2011) signalèrent la présence de cette espèce dans les pelotes de réjection de la chouette chevêche dans la région de Tajawa et Tikaden (Djanet). Trouvée par Alia et al. en 2012 dans la région du Souf à Hassi Khelifa et Ourmes. Chenchouni (2012) signala sa présence en étudiant la faune du lac Ayata du complexe de zones humides de Oued Righ entre Octobre 2009 et Juin 2010. Capture d'un individu dans la grotte aux chauves souris d'Aokas à Bejaia en 2016 et observation de plusieurs individus à Alger, Tizi ousou, Bouira. [159].



Figure 4.3 : Noms usuels : Français : Souris grise - Anglais : House Mouse - Arabe : Far- Berbere : Agherdha [159]

4.2.3.4. Les rongeurs importants réservoirs zoonotique particulièrement pour la leptospirose

L'impressionnante fécondité des rongeurs peut être observée dans le calcul qu'un couple, dans une période d'un an, donnant naissance à quatre générations, totalisant environ 63000 descendants [156]. Dans certaines grandes villes, notamment en Asie, on évalue la population à 10 rats par habitants. Celle-ci a été réduite à 1 rat pour 400 habitants à Budapest après 10 ans de dératisation. En France métropolitaine, la moyenne est de 1 rat par habitant, voire 5 rats par habitant à la Réunion [160]. Ces animaux sont directement en concurrence avec les humains pour se nourrir car ils attaquent les cultures et les produits stockés. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 20% de la nourriture produite dans le monde est détruite par les souris/rats. Ils peuvent être considérés comme des ennemis publics numéro 1 pour la santé car ils sont responsables de la transmission de plus de 40 types de différentes maladies [156]. Les maladies qui peuvent être transmises par le rat sont, entre autres, la bilharziose, le typhus murin, la salmonellose, la leptospirose, la trichinellose, la fièvre par morsure du rat et la peste bubonique. La mortalité associée à la transmission des maladies par le rat est importante. On estime qu'au cours des 10 derniers siècles, ces maladies ont causé plus de morts que l'ensemble des guerres qui ont eu lieu sur la planète. Plus récemment, jusqu'à 10 millions de décès qui ont été attribuables au rat, et ce seulement au cours du dernier siècle [161].

Les rats ont été longtemps rapportés comme réservoir de leptospires pathogènes, isolés pour la première fois à partir de rats sauvages par Noguchi (1917) causant la mort après inoculation à un cobaye. Depuis la première isolation, de nombreuses études ont été menées pour investiguer le rôle des rats dans la leptospirose humaine [162] [138].

Les modalités de transmission des leptospires de rat à rat sont encore inconnues au sein des colonies naturelles [163]. En revanche l'urine a été la première voie d'excrétion identifiée des leptospires chez le rat, découverte au début du XXe siècle [31]. Elle permet une transmission des leptospires directement par contact avec une peau abrasée ou une muqueuse, ou par contamination de

l'environnement, par exemple, dans le cas des litières des rats domestiques [164] ou dans une ville où la cohabitation Homme rat est proche [163].

Les leptospires pénètrent dans l'organisme d'un rat, restent un temps variable dans son système sanguin, puis gagnent le rein qui est l'organe cible [32], cliniquement le rat ne présente aucun symptôme alors que les bactéries sont régulièrement éliminées et disséminées dans les urines [32], donc un rat peut rester infecté de longs mois voire toute sa vie. Il constitue ainsi un très bon réservoir [32], excréant des concentrations élevées de leptospires (10^7 organismes par ml) [11], et abritant en particulier *L. interrogans* [12]. Le sérotype *Icterohaemorrhagiae* est le plus fréquemment incriminé dans les cas de leptospiroses humaines, surtout dans les cas les plus sévères [89]. Et puisqu'il existe une forte association hôte-sérovar liant l'espèce *Rattus* et les sérovars *Icterohaemorrhagiae* et *Copenhageni* [8] la présence de ces sérovars chez des patients humains indique la forte probabilité que le rat soit la source principale de ces bactéries [163].

Généralement *Interrogans* est l'espèce génomique la plus décrite chez le rat sauvage (*Rattus spp.*) dans le monde (sérovar *Icterohaemorrhagiae*) et en particulier sur le continent africain (sérovar *Canicola*) [10], d'autres espèces de *Leptospira* ont aussi été identifiées chez *Rattus spp* à savoir, *L. borgpetersenii* [165], *L. borgpetersenii*, et *L. kirschneri* [166] [167].

CHAPITRE 5

EPIDEMIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE

5.1. Épidémiologie descriptive

5.1.1. Répartition mondiale

La leptospirose est une maladie à répartition mondiale, et est présente de manière endémique dans des régions ayant un climat tropical, favorable à la survie des leptospires dans l'environnement et à leur transmission à l'Homme [8]. L'incidence de l'infection humaine est donc plus grande dans les régions tropicales que dans les régions tempérées, mais elle est souvent sous-estimée par un manque de connaissance de la maladie par le personnel de santé ou bien par un manque de disponibilité des tests diagnostiques [8].

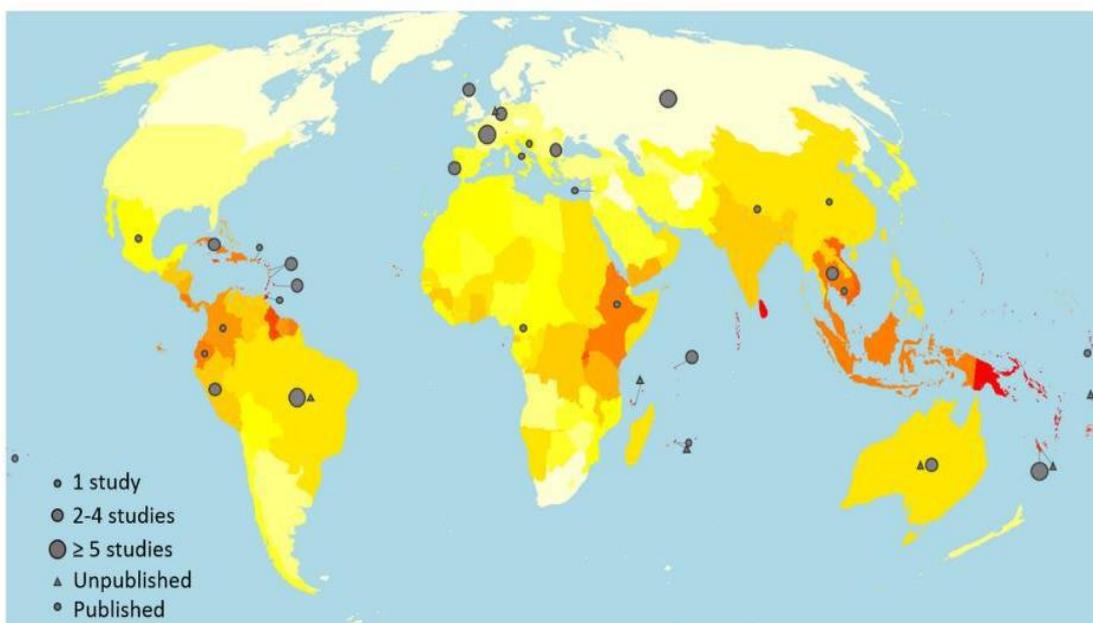


Figure 5.1 : Estimation de la morbidité annuelle de la leptospirose dans le monde, carte publiée en 2015 - l'incidence annuelle de la maladie est représentée par un gradient de couleur exponentiel allant du blanc (0-3), jaune (7-10), orange (20-25) à rouge (plus de 100), en cas pour 100 000 habitants. Les cercles et les triangles indiquent le pays d'origine de l'étude publiée. [3]

Cette infection est à l'origine de plus d'un million de cas par an dans le monde, avec un taux de mortalité pouvant varier de 5 à 20%. A l'échelle mondiale, on dénombre chaque année plus de 60 000 décès. La majorité des cas de morbidité et de mortalité estimée se produisent dans des régions agricoles où la maladie est un

problème de santé vétérinaire. L'insalubrité, les déficiences d'infrastructure sanitaires, etc. sont autant d'éléments qui font de la leptospirose une maladie qui se déclare souvent dans un contexte de pauvreté et d'inégalité socio-économique. Dans l'ensemble, on notera une sous-estimation du nombre de cas, largement dépendante du système de surveillance mis en place et de la sensibilisation des médecins locaux à la maladie [168] [169] [170].

5.1.2. La leptospirose humaine en Algérie

En Algérie, peu de travaux sont publiés concernant la leptospirose humaine ; une étude a identifié 48 cas de leptospirose apparus entre 2006 et 2007 dans la région de Tizi-Ouzou. Le sérotype icterohémorragiae a été identifié dans 60% des cas [17]. La seconde étude rassemble 175 patients diagnostiqués entre 2005 et 2008. Les sérotypes icterohémorragiae et grippotyphosa sont majoritaires parmi ceux identifiés [18].

En revanche, selon les statistiques du ministère de la santé, le nombre de cas de leptospirose humaine enregistré entre 2004, et 2019 est compris entre 34 cas par année enregistré en 2015, et 2017, et 101 cas en 2006 (Figure 5.2).

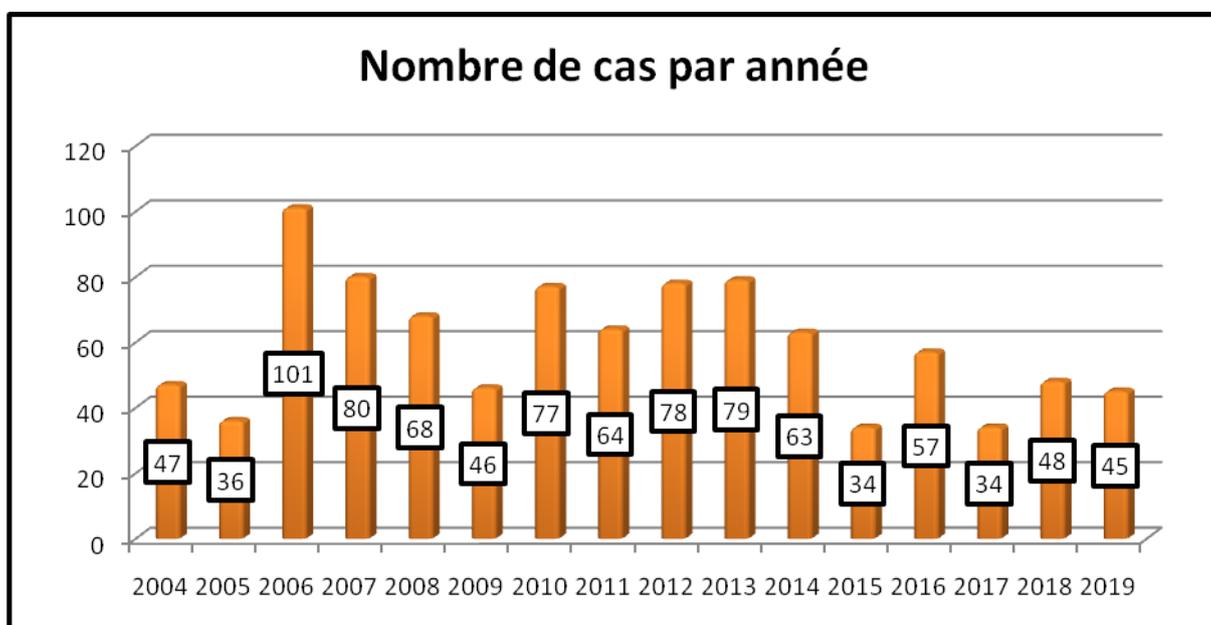


Figure 5.2 : Nombre de cas de leptospirose humaine en Algérie par année [171].

La répartition des cas enregistré entre 2004, et 2019 par wilaya mentre que la wilaya de Blida est la plus touchée par la leptospirose (278 cas), suivie par la wilaya de Tizi-Ouzou (126 cas), (Figure 5.3).

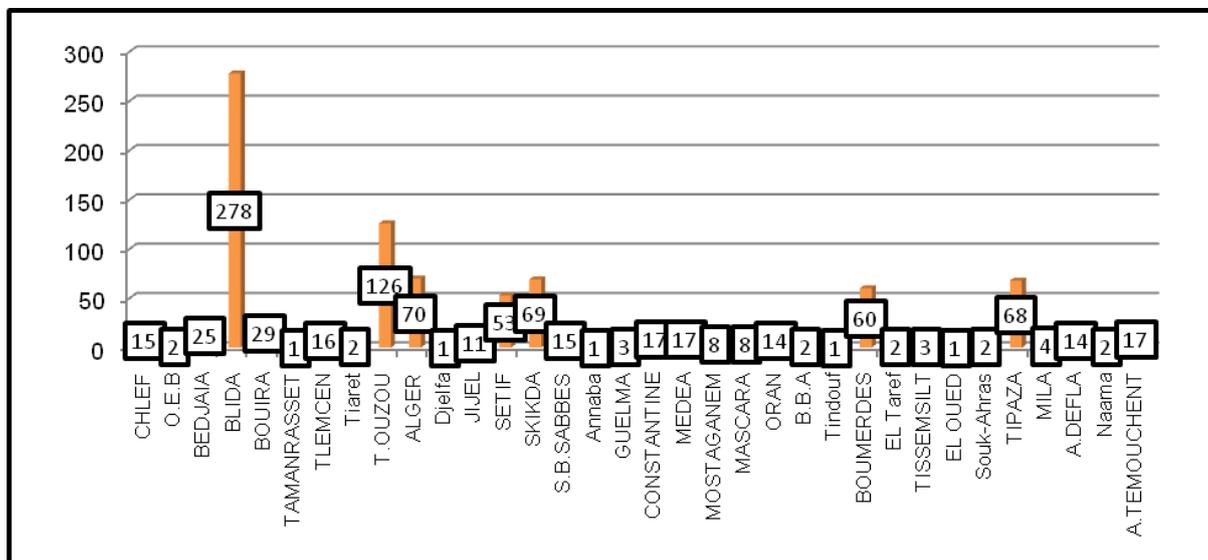


Figure 5.3 :Nombre de cas de leptospirose humaine par wilaya (entre 2004 et 2019) [171].

5.2. Épidémiologie analytique

5.2.1. Notion d'hôte réservoir et hôte sensible

On distingue généralement deux catégories d'hôtes animaux (Homme y compris) dans l'épidémiologie de la leptospirose :

- Les hôtes accidentels, sensibles, avec des signes cliniques allant de bénins à mortels.
- Les hôtes réservoirs, que l'on peut qualifier de "tolérants" car la bactérie a un impact mineur sur eux. Chez ces hôtes asymptomatiques, il s'établit un "équilibre" biologique avec *Leptospira* [172].

La plupart des mammifères peuvent être infectés par des leptospires pathogènes [173]. Différents sérovars de *Leptospira* sont "associés" à un ou plusieurs "hôtes de maintien", dont les populations servent de réservoirs sur le long terme [8] (Tableau 5.1).

Tableau 5.1 : Hôtes réservoirs typiques des sérovars communs de *Leptospira* [8][174].

Hôte réservoir	Sérovar(s)
Porc	Pomona, Tarassovi
Bovin	Hardjo, Pomona
Cheval	Bratislava
Chien	Canicola
Mouton	Hardjo
Cerfs	Hardjo
Raton laveur	Grippotyphosa
Rat	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
Souris	Ballum, Arborea, Bim
Marsupial	Grippotyphosa
Chauve-souris	Cynopteri, Wolffi

La relation entre un hôte de maintien et le sérovar est caractérisée par une transmission efficace, une forte séroprévalence (supérieure à 50%), et un portage rénal asymptomatique et chronique [174].

5.2.2. Réservoirs

Le réservoir des leptospires pathogènes est essentiellement animal, mais se prolonge dans l'environnement. Il peut s'agir d'animaux infectés, malades ou non (porteurs chroniques), ou de leurs cadavres ou dépouilles (survie cependant limitée dans le temps). Les animaux infectés excrètent par leurs urines de grandes quantités de leptospires pendant de longues durées (années), contaminant ainsi l'environnement [2].

Il s'agit principalement des rongeurs (rats, souris, campagnols, ragondins...), insectivores (hérissons, musaraignes), les renards, chiens, chauves-souris, cerfs, lièvres, le bétail tel que les chevaux, bovins, porcs, chèvres, mais aussi les grenouilles et poissons [175] [176]. Le contact avec ces animaux est connu comme facteur de risque [176].

5.2.3. Hôtes sensibles

Les hôtes sensibles à la leptospirose sont les mammifères, dont l'homme, le chien, les bovins, le cheval, le porc ; cette sensibilité est dépendante du sérovar en question [2] [177].

5.2.4. Mode de contamination

Les animaux et l'homme sont infectés par contact direct avec des animaux, des tissus d'animaux, les fluides corporels (notamment d'urine), ou par contact indirect avec l'environnement contaminé (par exemple, du sol ou de l'eau contaminée par l'urine d'animaux porteurs) [8] [178].

Les leptospires pénètrent dans l'organisme humain par les muqueuses intactes telles la conjonctive, la muqueuse nasopharyngée, ou les poumons, en cas d'inhalation d'eau, et à la faveur de plaies ou d'excoriations de la peau parfois minimes [179] (peau saine macérée, ou ramollie par l'eau) [180].

Chez les animaux, les mêmes voies de contaminations sont fonctionnelles mais peut s'y ajouter, chez le bétail et notamment les porcs, une transmission vénérienne ou congénitale. La transmission interhumaine est exceptionnelle, que ce soit par voie urinaire, sexuelle, d'allaitement ou transplacentaire [181].

L'Homme se contamine le plus souvent par exposition à un environnement contaminé, lors d'activités nautiques et de baignade en eau douce. Les vétérinaires, éleveurs, inspecteurs d'abattoirs, et d'autres professions qui nécessitent le contact avec les animaux, et au cours des quelles la contamination se fait principalement de manière directe [2] (Figure 5.4).

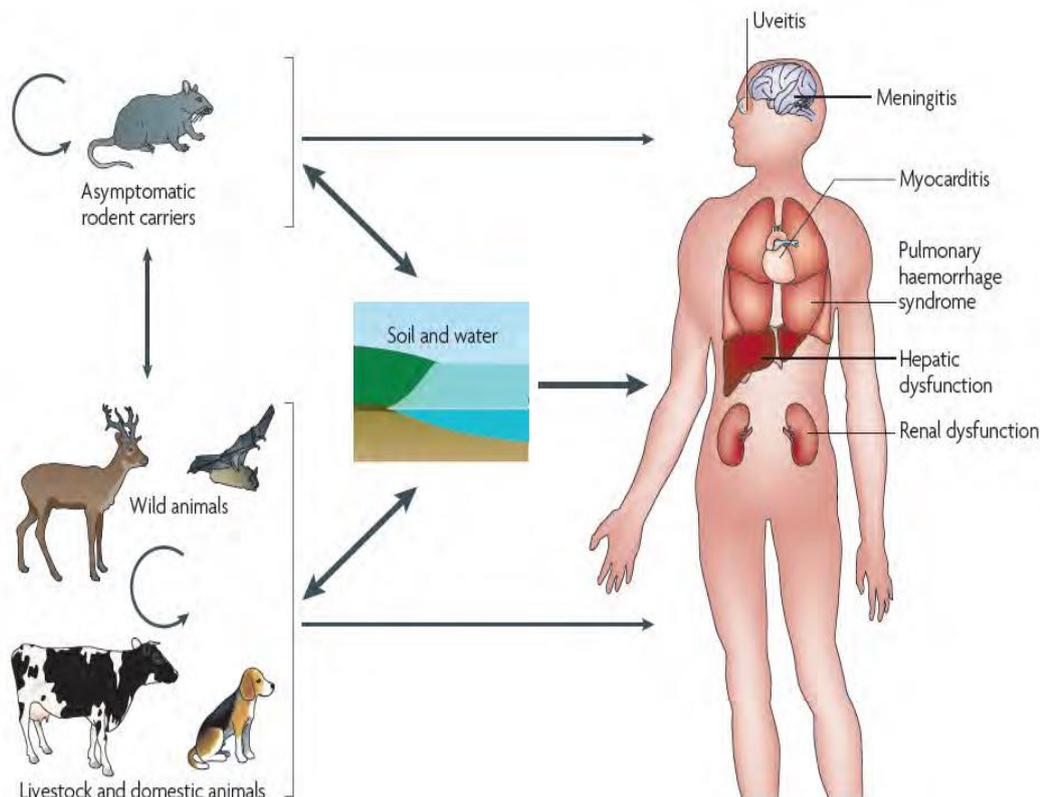


Figure 5.4 : Mode de contamination de la leptospirose [11].

5.2.5. Matières virulentes

De nombreuses espèces de mammifères sont des réservoirs naturels (hôtes de maintenance) de leptospires pathogènes, y compris les animaux sauvages, de ferme et de compagnie [26] [2]. Les animaux infectés peuvent avoir des leptospires colonisant de façon persistante les tubules rénaux proximaux et excrètent l'organisme par intermittence pendant des mois, des années, ou même à vie [26]. Les humains sont des hôtes accidentels pour *Leptospira spp* [11]. Même si l'excrétion des leptospires dans l'urine humaine pendant des semaines, ou rarement, des mois a été rapportée, les humains ne sont pas considérés comme une source de transmission [8].

La survie des leptospires dépend du pH, de la température, de la présence éventuelle de composés inhibiteurs et de rayonnements ultra-violet (lumière solaire directe). Ainsi ces bactéries peuvent survivre jusqu'à trois semaines dans un sol détrempé après une saison des pluies. Sur un sol contaminé par de l'urine de rat infecté, elles peuvent survivre jusqu'à deux semaines [2] (Tableau 5.2).

Tableau 5.2 : Durée de survie des leptospires dans différents milieux de l'environnement [180]

Eau de robinet, PH 5	2 jours
Eau de robinet, pH 7	28 jours
Eau de mer	18-24h
Ordures	10 jours
Sol mouille	35 jours
Sol sature d'urines	6 mois

Les rats sont des réservoirs naturels de leptospires et sont considérés comme l'une des sources la plus importante de leptospirose puisqu'ils sont présents en abondance dans plusieurs environnements [182]. En parallèle, l'incidence de la leptospirose humaine est sous-estimée par raison de l'extrême variabilité de l'expression clinique qui peut aller d'une simple forme bénigne avec rémission spontanée dans 80% des cas [15] à une forme sévère [2]. Elle est aussi souvent sous-estimée par un manque de connaissance de la maladie par le personnel de la santé ou bien par un manque de disponibilité des tests diagnostiques [8]. D'autre part, la compréhension approfondie des attitudes et des pratiques communautaires à l'égard des zoonoses semble nécessaire pour le développement et la mise en œuvre de mesures efficaces de prévention et de contrôle [25].

Par conséquent, la connaissance de l'importance des rats comme réservoirs zoonotique de leptospires, et la mise en évidence des souches de *Leptospira* circulant au sein de la population de ce rongeur nous semblait intéressant, en même temps, il nous a semblé aussi important de connaître le degré de connaissance de la population générale sur l'importance des rats comme réservoirs de zoonoses, en particulier la leptospirose, pour l'implémentation d'un programme de prophylaxie efficace.

CHAPITRE 6

MATERIELS ET METHODES

6.1. Problématique et Objectifs

En Algérie, peu de données sur les souches circulantes de *Leptospira* sont disponibles ; deux études sur la leptospirose humaine ont été publiées, et quelques études concernant les animaux domestiques ont été menées par sérologie.

Les rongeurs longtemps considérés dans la littérature comme les principaux réservoirs des leptospires, ont été les animaux sélectionnés pour faire l'objet de notre recherche.

A notre connaissance, avant cette étude, rien n'est connu sur la situation de la leptospirose chez les rongeurs en Algérie. Ce travail avait donc pour objectif principal d'étudier le degré d'importance des rongeurs comme réservoir potentiel zoonotique de leptospires dans la région de Blida (zone de notre étude).

En outre, il serait intéressant d'apporter une contribution originale à la connaissance de souches circulantes de *Leptospira spp* chez les rongeurs dans la région ainsi que les facteurs de risque de transmission et d'infection chez ces animaux.

Pour cela, une enquête transversale descriptive sur la leptospirose chez les rongeurs a été réalisée sur terrain dans la région de Blida, dont les objectifs étaient :

- Estimer la prévalence à *Leptospira* chez les rongeurs.
- Déterminer les indicateurs ou facteurs de risque susceptibles à favoriser la transmission de cette infection chez les rongeurs.
- Identifier par typage les souches des leptospires.

En plus de la leptospirose, les rongeurs sont liés à plus de 80 zoonoses, l'évaluation des connaissances de la population générale permet en revanche le développement et l'implémentation d'un programme de prophylaxie effectif, pour ce faire une

enquête par questionnaire visant la population générale a été menée dans la même zone d'étude (Blida) dont les objectifs étaient ;

- l'objectif principal : faire une évaluation des connaissances de la population d'étude sur l'importance des rongeurs comme réservoirs de maladies zoonotiques en particulier la leptospirose ainsi que les facteurs de risque qui favorisent la transmission de cette zoonose, et les modalités de protection et prophylaxie,
- l'objectif secondaire : faire une sensibilisation auprès de la population d'étude sur l'importance des rongeurs comme un important réservoir des zoonoses en particulier la leptospirose, ainsi que sur les mesures de protection et de prévention contre cette pathologie.

6.2. Description de la zone d'étude

La wilaya de Blida est située au nord-centre de l'Algérie. C'est à 260 mètres d'altitude. Blida est limitée au sud par la montagne Chrea, qui protège la région des vents secs du sud du Sahara. Cette protection permet à la province de bénéficier d'un climat méditerranéen caractérisé par des étés chauds et ensoleillés et des hivers doux. La température moyenne est de 4°C en janvier et de 33°C en août, avec des précipitations allant de 600 à 1200 mm et une humidité relative de 59 à 70% [183] (Figure 6.1).

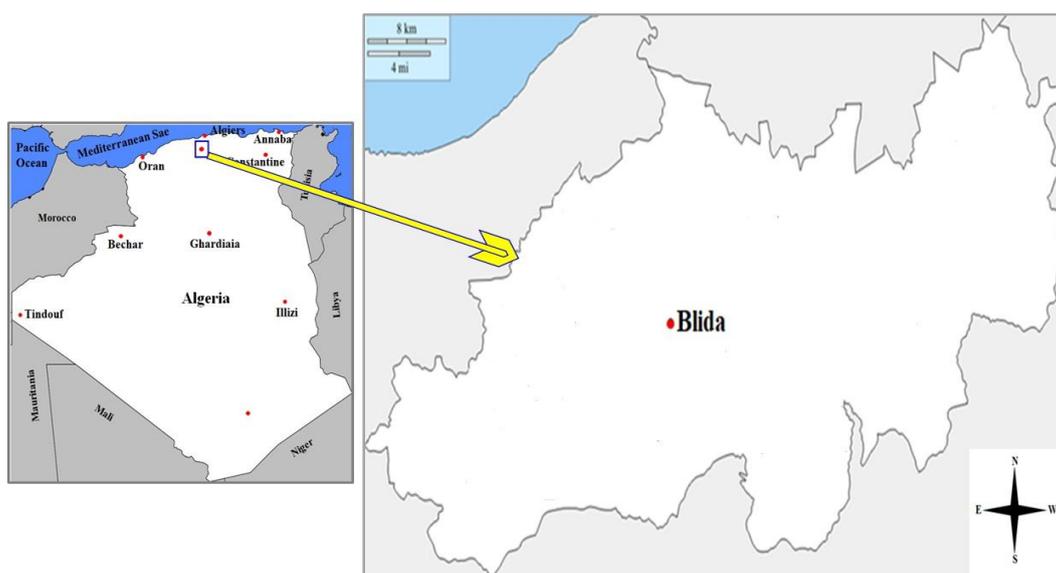


Figure 6.1 : Zone d'étude.

6.3. Etude sur les rongeurs

6.3.1. Population de rongeurs étudiée

Population de rongeurs des deux sexes et de tout âge existante dans la région de Blida pendant la période d'étude.

6.3.2. Définition du cas

Tout rongeur capturé présentant une qPCR positive pour au moins un prélèvement (rein, poumon, ou urine).

6.3.3. Echantillonnage

Echantillonnage aléatoire simple :

$$n = 3.84 \cdot q/p \cdot Pr^2 \text{ [184].}$$

z_{α} est le quantile de la loi normale centrée réduite correspondant à la probabilité $1-\alpha$. Le risque α correspond à la probabilité que la fréquence réelle de la population ne se trouve pas dans l'intervalle de confiance.

$$\alpha = 0.05, z_{\alpha} = 1.96$$

$$3.84 = z_{\alpha}^2, q = 1-p, p = \text{prévalence attendue}, Pr = \text{précision relative}$$

Si nous prenons comme $p = 24$, une prévalence trouvée par PCR en Egypte dans une étude publiée en 2015 [185], $q = 76$ $Pr = 35$, donc $n = 99$.

6.3.4. Protocole de piégeage

6.3.4.1. Le choix des sites d'étude

Le choix des sites était guidé par les critères d'appréciations suivants :

- Accessibilité facile, et sécurité.
- Recevabilité des personnes et aide.
- Présence confirmée de rongeurs.

Au total, 9 sites distincts ont été ciblés, dont 6 sites urbains ($36^{\circ} 27'45''N 2^{\circ}50'15''E$, $36^{\circ}29'57''N 2^{\circ}50'43''E$, $36^{\circ}29'12''N 2^{\circ}48'21''E$, $36^{\circ}28'52.8''N 2^{\circ}51'04.5''E$, $36^{\circ}31'39.4''N 2^{\circ}53'26.4''E$, $36^{\circ}28'02.6''N 2^{\circ}49'16.3''E$), 2 ruraux ($36^{\circ}30'28''N 2^{\circ}53'48''E$, $36^{\circ}29'51''N 2^{\circ}45'29''E$), et 1 périurbain ($36^{\circ}27'24''N 2^{\circ}48'47''E$).

6.3.4.2. Matériels de piégeage

Le choix s'est porté sur l'utilisation de cages piège à ressort, permettant une capture des animaux vivants, elles sont peu traumatisantes pour les animaux et ne présentent aucun danger lors de manipulation. Ces cages sont métalliques, leurs dimensions (environ 30*15*15 cm) (Figure 6.2), et sont adaptées aux rongeurs. Pendant la période de piégeage, 60 cages piège ont été utilisées.

L'inconvénient de ce type de pièges est qu'ils peuvent capturer d'autres petits animaux. Ils sont très sensibles et se ferment sous l'effet du vent. Ils coûtent cher, et ils risquent d'être dérobés lorsqu'ils sont placés dans des régions isolées.

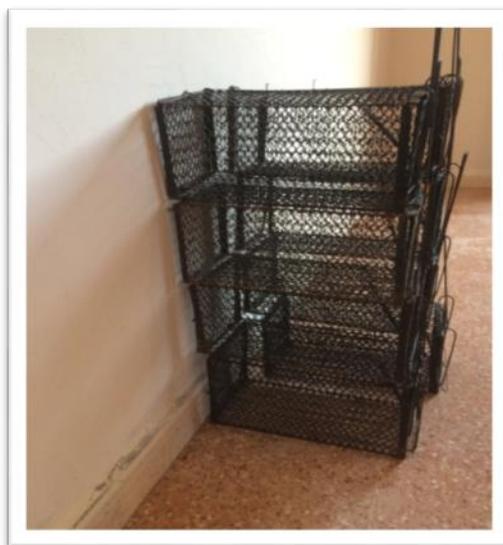


Figure 6.2 : Cages pièges à ressort (photo. Personnelle).

6.3.4.3. Principes de piégeage et pose de pièges

- Les pièges ont été posés à la fréquence de 3 à 5 par maison ou par site.
- Les pièges ont été installés à angle droit par rapport au mur, en veillant à ce que l'extrémité portant l'appât soit la plus rapprochée du mur.
- Les pièges ont été déposés à la fréquence d'un piège par deux mètres le long des murs.
- Les pièges ont été laissés sur site pendant 3 ou 4 jours pour laisser le temps aux rongeurs de s'habituer.
- Nous avons utilisé comme appât : le pain, le fromage, et le cachir.
- Les pièges ont été nettoyés après chaque capture avant d'être réutilisés.



Figure 6.3 : Piège sur site
(photo. Personnelle).



Figure 6.4 : Rats capturés
(photo. Personnelle).

6.3.4.4. Période de piégeage

La campagne de capture des rongeurs a eu lieu dans la région de Blida, en Algérie, entre le 11/11/2018 et le 09/06/2020.

6.3.5. Prélèvements et conservation

Les pièges ont été contrôlés chaque matin, et les rongeurs capturés ont été transportés jusqu'au lieu d'examen avec un maximum de protection.

6. 3.5.1. Anesthésie

Les rongeurs ont été anesthésiés et sacrifiés par inhalation d'éther diéthylique : la cage contenant le rongeur a été mise dans un sachet avec un morceau du coton imbibé dans l'éther et bien fermé. Après la mort de l'animal, et à la sortie de la cage, il a été tout d'abord pesé à l'aide d'une balance électronique en grammes, puis déposé face dorsale sur une planche à dissection, les membres étendus et épinglés.

6. 3.5.2. Identification du sexe et estimation de l'âge

Le sexe a été déterminé par examen externe de l'animal, et l'estimation de l'âge était basée sur la croissance de la troisième molaire, et la perforation ou non de l'entrée vaginale chez la femelle, et l'état de croissance de la vésicule séminale chez le mâle [186].

6. 3.5. 3. Identification de l'espèce de rongeurs

L'espèce des rongeurs a été déterminée par comparaison de leurs mensurations [158] (Figure 6.5).

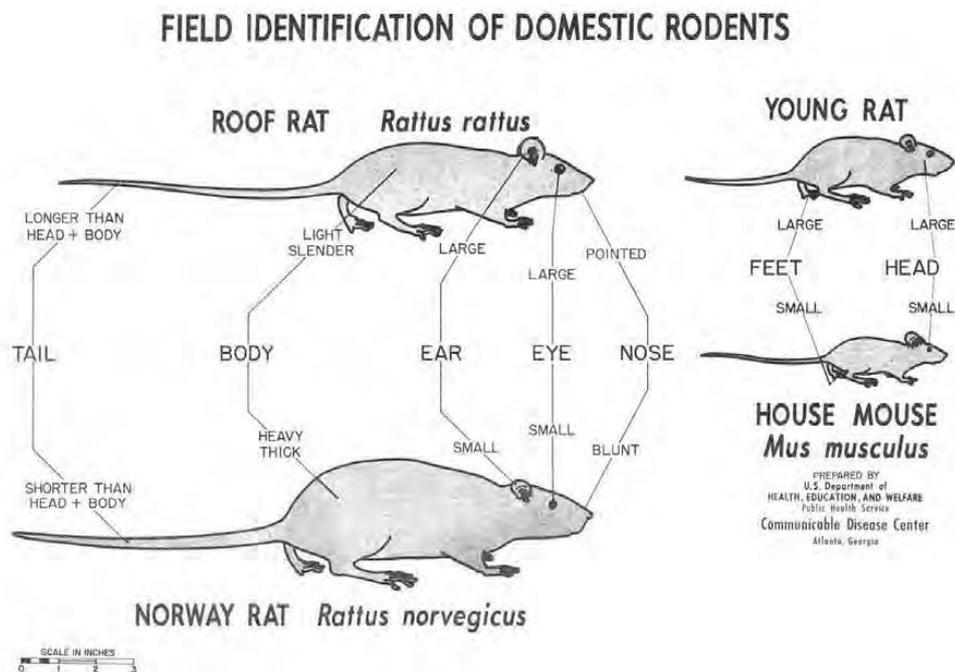


Figure 6.5 : Différence morphologique des trois rongeurs [187]

6. 3.5. 4. Prélèvements et conservation

Après avoir désinfecté la région ventrale par l'alcool, la peau a été soulevée au-dessus de l'orifice urinaire et incisée avec des ciseaux, le poumon et les reins étaient récupérés dans des boîtes stériles, et conservés à -20°C . Chez certains individus, des prélèvements d'urines étaient également effectués. Les prélèvements ont été envoyés au laboratoire des Leptospires de Vetagrosup, en France, sous couvert de froid avec une durée de livraison ne dépassant pas 24h.

6.3.6. Protocole de laboratoire

6.3.6.1. Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN a été réalisée avec le kit QIAamp DNA Mini Kit de QIAGEN en suivant les recommandations du fabricant ;

Dans un premier temps, un prétraitement des prélèvements a été réalisé. Pour les reins et les poumons, après un rinçage au PBS stériles, une portion de 20 à 25

mg de tissus a été prélevée sur chaque organe. Pour les reins, le prélèvement a été réalisé au niveau de la zone cortico-médulaire. La portion du tissu a été broyée à l'aide d'une seringue de 5mL et ajoutée à un tube Eppendorph contenant 180 µL de tampon de lyse T1 et 20 µL de Protéinase K. Après avoir été vortexé vigoureusement, le prélèvement était incubé 1 à 3 heures, à 56°C, dans un bain sec, jusqu'à la dissolution complète et homogène des tissus. Le prélèvement était vortexé de nouveau puis 200µL de tampon de lyse B3 ont été ajoutés. Le témoin négatif, ou NCS (Negative Control Sample), a été préparé dans un tube Eppendorf contenant tous les réactifs sans le prélèvement. Pour l'urine, un prélèvement d'1mL a été centrifugé 10 minutes à 4000rpm dans un tube Eppendorph stérile. Le surnageant a été jeté puis le culot a été lavé avec 1mL de PBS. Après une seconde centrifugation de 10 minutes à 4000rpm, le culot a été récupéré avec 200µL de tampon de lyse B3 et ajouté à un tube Eppendorf contenant 25µL de protéinase K. Le NCS a été préparé dans un tube Eppendorf contenant tous les réactifs et 200µL de PBS.

Après avoir réalisé le prétraitement adapté, le prélèvement a été vortexé et incubé pendant 10 à 15 minutes à 70°C dans un bain sec. Puis, 200 µL d'éthanol à 100% ont été ajoutés avant de vortexer à nouveau. Le prélèvement a été transféré dans une colonne d'extraction sur membrane de silice et centrifugé 1 minute à 11000rpm. La colonne a ensuite été lavée 2 fois en centrifugeant 1 minute à 11000rpm, dans un premier temps avec 500µL de tampon BW puis avec 600µL de tampon B5. Le tube collecteur a été changé à chaque lavage pour éviter les contaminations. La colonne a été séchée en centrifugeant à vide une nouvelle fois 1 minute à 11000rpm puis un tube Eppendorf stérile a été ajouté sous la colonne. Pour finir, 50µL de tampon BE préchauffé à 70°C ont été ajoutés à la colonne pour permettre l'élution de l'ADN. Après 1 minute d'imprégnation à température ambiante, la colonne a été centrifugée une dernière fois 1 minute à 11000rpm et l'ADN élué a été récupéré.

6.3.6.2. Détection et identification de Leptospires par PCR en temps réel

La détection des leptospires pathogènes a été réalisée par PCR en temps réel à l'aide d'amorces et d'une sonde qui cible une région du gène de l'ARNr (*rrs*) de *Leptospira* 16S selon Waggoner et al [188].

Les 16S-positif ont été ensuite testés avec des tests PCR individuels spécifiques aux espèces (pour un total de quatre ensembles de sondes/amorces) ciblant respectivement *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii* et *L.kirschneri* [189]. Les réactions d'amplification ont été optimisées individuellement pour toutes les sondes et amorces associées à l'aide des réactifs AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagents (Life technologies, Courtaboeuf- Les Ulis, France), selon les instructions du fabricant. Le système de détection « The Mx3000P® real-time PCR detection system (Agilent Technology, Courtaboeuf- Les Ulis, France) » a été utilisé pour tous les tests. Chaque réaction a été conduite dans un volume total de 25 µl consistant en 2X tampon RT-PCR, 300 nM de chaque amorce, 400 nM de sonde TaqMan® et 4 µl de solution de matrice d'ADN. Les conditions d'amplification étaient : 95°C pendant 10 min, suivis de 40 cycles de 15 s à 95°C et 1mn à la température de recuit optimisée pour chaque sonde. Des contrôles positifs (avec *Leptospira* ADN : *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae 19 ENVN, *L. noguchii* Panama panama, *L. borgpetersenii* Sejroe Sejroe M84, et *L. kirschneri* Grippytyphosa GrippytyphosaMoskva-V, pour *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii*, et *L. kirschneri* respectivement), et des contrôles négatifs ont été inclus dans chaque cycle de PCR. Les analyses des données ont été effectuées par le système de détection de la PCR en temps réel, selon les instructions du fabricant.

Tableau 6.1 : Amorces et sondes utilisés pour PCR en temps réel.

Prime/probe	sequence	Targrted gene
Forward Reverse Pathogen probe	CGGGAGGCAGCAGTTAAGAA CGTATGGTGCAAGCGTTGTT GCAATGTGATGATGGTACCTGCC	<i>Leptospira</i> 16S rRNA (rrs) gene [188]
PFLint2 PRLint2 TaqLint2	CTT GAG CCT GCG CGT TAY C CCG ATA ATT CCA GCG AAG ATC TET-CTC ATT TGG TTA GGA GAA CAG ATC A-BHQ1	secY gene of <i>L. interrogans</i> [189]
F_bpn R_bpn1 TqM_bpn	GAT TCG GGT TAC AAT TAG ACC TTG ATC TAA CCG GAC CAT AGT Cy5.5 (Quasar 705) -TAC TAA GGA TGG TTT GGA CGC TGC-BHQ2	ompL1 gene of <i>L. borgpetersenii</i> [189]
F_nery R_nery TqM_nery	CTG GCT TAA TCA ATG CTT CTG CTC TTT CGG TGA TCT GTT CC Texas Red-CAG TTC CAG TTG TAA TAG ATA AGA TTC-BHQ2	secY gene of <i>L. kirschneri</i> [189]
FLnog2 RLnog2 TaqLnog	TCA GGG TGT AAG AAA GGT TC CAA AAT TAA AGA AGA AGC AAA GAT FAM-CGA TTG GCT TTT TGC TTG AAC CATC-BHQ1	secY gene of <i>L. noguchii</i> [189]

6.3.6. 3. Détection des leptospires par PCR conventionnelle et séquençage

Les positifs de la qPCR qui n'ont pas pu être typés, ont été tout d'abord confirmés par PCR conventionnelle puis séquencés.

Les échantillons positifs de la qPCR ont été confirmés par PCR conventionnelle ciblant le gène 16S codant pour la sous-unité de l'ARN ribosomique 16S à partir de la séquence des 330 premières paires de bases. L'amplification et le séquençage de cette région partielle permettent la détection et l'identification des espèces génomiques de leptospires pathogènes [190]. Les PCRs ont été réalisées en utilisant HotStarTaq DNA Polymerase de Qiagen (Qiagen Courtaboeuf- Les Ulis ville, France). Chaque réaction a été réalisée dans un volume total de 25 µl composé de H₂O, 10x PCR Buffer, MgCl₂, dNTP mix, Primer F à 10 µM (séquence 5'-3' : GGCGGCGCGTCTTAAACATG), Primer R à 10 µM (séquence 5'-3' : TTCCCCCATTGAGCAAGATT), GoTaq G2 Hot Start Polymerase et 5 µl de solution de matrice d'ADN. Un contrôle négatif a été préparé en ajoutant 5 µl d'eau stérile dans un puits contenant le même mélange. Le programme PCR consistait en

une dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes, suivie de 40 cycles comprenant chacun une dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, une hybridation à 57°C pendant 30 secondes et une élongation à 72°C pendant 1 minute, puis terminée par une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes.

Les PCRs ont été révélées par électrophorèse sur gel d'agarose 1,5%, préparé à partir de tampon TAE 50X. La lecture a été réalisée grâce à un lecteur UV après 20 minutes de migration à 135 Volts.

Les amplifiats des échantillons positifs au gène 16S de la PCR conventionnelle ont été envoyés à la plateforme de séquençage ADN (Genoscreen, Lille, France). Les séquences obtenues ont été corrigées à l'aide du logiciel ChromasPro software. Enfin, pour permettre l'identification de l'espèce, les séquences ont été comparées à la base de données GenBank sur le site internet du NCBI (National Center for Biotechnology Information) à l'aide du BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [191] ainsi qu'à une banque de donnée interne et l'espèce génomique a été identifiée par homologie.

6.3.7. Analyses statistiques

Différents facteurs de risque ont été testés en fonction des résultats obtenus.

- Sexe,
- Catégorie d'âge,
- Lieu de capture,
- Espèce de rongeur,

Le calcul de l'intervalle de confiance : $IC = P \pm Z_{\alpha} \sqrt{PQ/N}$ [184].

Avec P est la fréquence observée, Q = 1-P, N est l'effectif de l'échantillon, le risque α est fixé à 5%, $Z_{\alpha} = 1.96$

- Le risque α est fixé à 5% lors du calcul de l'intervalle de confiance.
- L'ensemble des données a été traité sous Excel® 2010.

6.3.8. Aspects Réglementaires et Éthiques

Les rongeurs ont été capturés en collaboration avec les services d'hygiène de Blida et les propriétaires des lieux sous une autorisation de capture obtenue du Service d'Hygiène de Blida numéro (BHC/340/2018) « Appendice F ». Les rongeurs ont été anesthésiés et sacrifiés selon le standard éthique du Laboratoire des

Biotechnologies liés à la Reproduction Animale sous une autorisation de recherche numéro (98/LBRA/Univ Blida/20) « Appendice G ». Les espèces incluses dans cette étude (*Rattus Norvegicus*, *Rattus rattus* et *Mus musculus*) sont classées comme espèces de préoccupation mineure sur la liste IUCN [192] [193] [194] Il s'agit du plus bas niveau de protection de cette classification.

6.4. Etude par questionnaire

Il s'agissait d'une enquête épidémiologique descriptive prospective transversale quantitative.

6.4.1. Zone et période d'étude

La zone d'étude était la même région où les rongeurs ont été capturés (Wilaya de Blida), l'enquête s'est déroulée entre Juin à Septembre 2021.

6.4.2. Population cible

Toute personne habitant dans le territoire de la wilaya de Blida pendant la période d'étude, des deux sexes, et dont l'âge est supérieur ou égal à 15 ans.

6.4.3. Modalités d'inclusion

6.4.3.1. Critères d'inclusion

Toute personne appartenant à la population cible, vivant dans la wilaya de Blida âgée de 15 ans ou plus, et ayant accepté de participer à l'étude.

6.4.3.2. Critères d'exclusion

Toute personne vivant hors wilaya de Blida pendant la période de l'étude, ou âgée de moins de 15 ans, ou ceux ayant refusé de participer à l'étude.

6.4.4. Calcul de la taille de l'échantillon

À notre connaissance, en Algérie, aucune étude n'a été réalisée ciblant l'évaluation des connaissances des populations sur les zoonoses liées aux rongeurs, en particulier la leptospirose. Nous avons choisi une prévalence attendue de réponse positives à la question « est ce que vous avez déjà entendu parler ou vous connaissez la leptospirose » de 10%, et une de précision relative de 35%, le nombre de personnes nécessaire pour l'étude était donc 282 personnes [184].

6.4.5. Préparation et validation du questionnaire

Après préparation, le questionnaire a été tout d'abord testé pendant trois jours sur vingt personnes dont le but était d'évaluer la compréhension, l'acceptabilité et la durée de l'interrogatoire.

En général, le questionnaire a été jugé comme court, les questions étaient bien orientées et bien comprises par les personnes interrogées. La leptospirose est désignée dans le questionnaire comme « fièvre jaune liée aux rongeurs, ou maladie causée par l'urine des rongeurs ».

Le questionnaire a été validé et distribué en langue locale (arabe).

Chaque questionnaire était composé de vingt-neuf questions permettant d'évaluer les connaissances des répondants,

Il comportait :

- Des questions fermées de type (oui, non), ou cocher la ou les bonnes réponses, une proposition « ne sait pas » a été ajoutée pour certaines questions.
- Des questions ouvertes, où le participant répondait en fonction de ses connaissances.

Les questions étaient réparties en trois thèmes principaux (appendice I):

- Des questions socio-démographiques : l'âge, le sexe, le niveau éducatif, et la profession.
- Des questions générales sur les rongeurs : connaissance sur les zoonoses des rongeurs, mode de transmission, et prophylaxie, etc.
- Des questions spécifiques sur la leptospirose : connaissance de la leptospirose, mode de transmission, symptômes, et prophylaxie, etc.

6.4.6. Définition du cas

Toute personne de la population-cible, ayant répondu par oui à la question « est ce que vous avez déjà entendu parler ou vous connaissez la leptospirose ».

6.4.7. Distribution du questionnaire et Recueil données

Le questionnaire a été distribué pendant la période de juin à septembre 2021 au hasard au niveau du centre-ville de la commune de Blida (capitale de la wilaya) (36028'12.0" N2049'43.4" E), où la population de la wilaya venait des quatre coins pour faire des courses.

6.4.8. Analyses statistiques

Les données ont été saisies, codées, et traitées sous Excel® 2013 (Microsoft corps, Redmond, Wa), avec une saisie manuelle des données, puis importées dans le programme R pour une analyse plus approfondie. Des statistiques descriptives comprenant des moyennes et des fréquences ont été calculées. Les paramètres socio-démographiques et les scores de connaissances ont fait l'objet de multiples analyses de régression logistique. Toutes les valeurs P ont été considérées comme statistiquement significatives à $P < 0,05$.

CHAPITRE 7

RESULTATS ET DISCUSSION

7.1. Résultats

7.1.1. Etude sur les rongeurs

7.1.1.1. Bilan de capture

Cent-un (101) rongeurs ont été capturés au cours de la période de piégeage, ces animaux ont été pesés, sexés et prélevés.

7.1.1.2. Structure de la population des rongeurs

7.1.1.2.1. Etude du sexe-ratio

Sur les 101 rongeurs sexés de l'échantillon, 52 étaient des mâles et 49 étaient des femelles, donnant un sexe-ratio de 1.06 mâle/femelle (Figure 7.1).

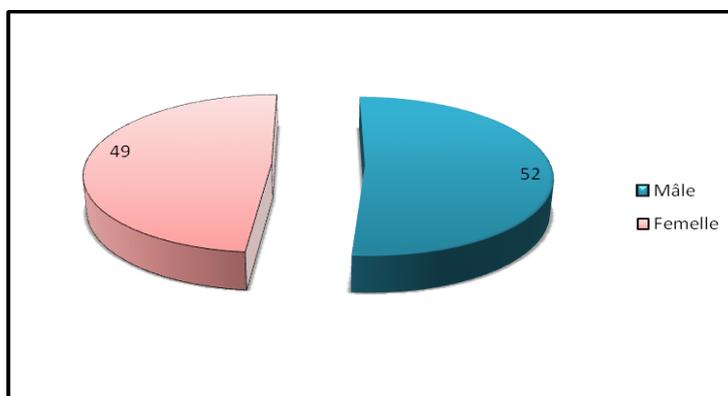


Figure 7.1 : Répartition des deux sexes dans la population.

7.1.1.2.2. Distribution de la population en fonction de l'espèce de rongeurs

L'identification par mensuration a permis de mettre en évidence trois espèces de rongeurs ; 95 *Rattus Norvegicus*, 5 *Rattus Rattus*, et 1 *Mus Musculus* (Figure 7.2).

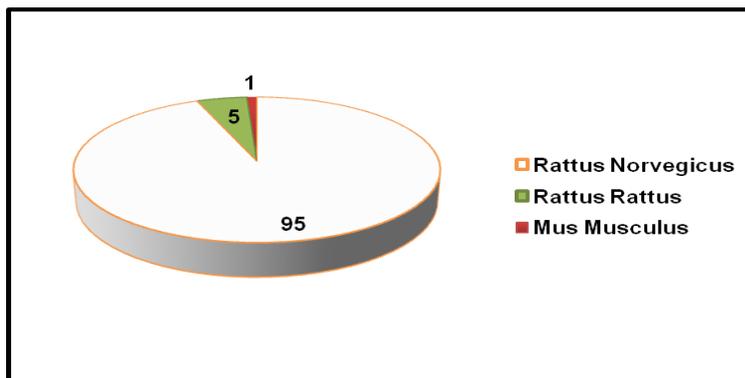


Figure 7.2 : Répartition des trois espèces de rongeurs dans la population.

7.1.1.2.3. Distribution de la population en fonction de l'âge

Parmi les 101 rats capturés, 89 étaient des adultes, 4 des subadultes, et 8 étaient des jeunes (Figure 7.3).

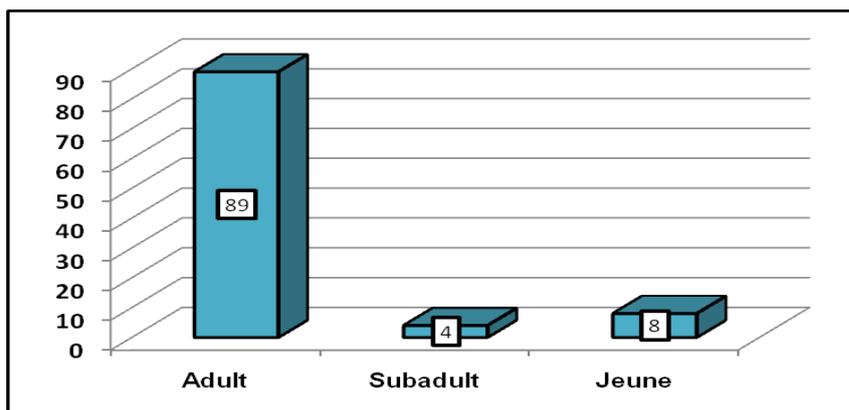


Figure 7.3 : Répartition des classes d'âge dans la population des rongeurs.

7.1.1.2.4. Distribution de la population en fonction du lieu de capture

Parmi les 101 rongeurs capturés, 62 ont été capturés dans une zone urbaine, 27 dans une zone périurbaine, et finalement 12 dans un milieu à caractère rural (Figure 7.4).

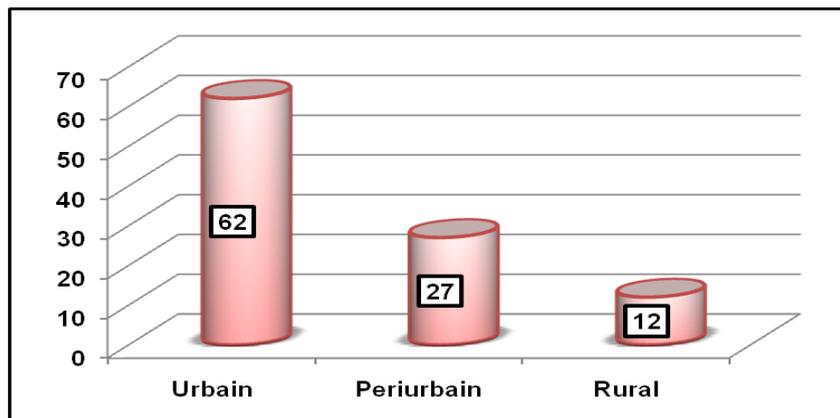


Figure 7.4 : Répartition des classes de rongeurs en fonction du type d'habitat.

7.1.1.3. Etude de la prévalence

7.1.1.3.1. Prévalence globale

Les analyses réalisées par qPCR ont montré que 41 des animaux capturés étaient positifs pour au moins un organe (rein, poumon, ou urine), donnant une prévalence globale à *Leptospira* de 40.6% (tableau 7.1).

Tableau 7.1 : Prévalence globale.

N	N positifs	prévalence (%)	IC95% de la prévalence
101	41	40.6%	30.9–50.8%

N : effectif de l'échantillon. IC : Intervalle de Confiance

7.1.1.3.2. Résultats en fonction du sexe

Sur les 41 rats positifs, 17 rats étaient des femelles, et 24 étaient des mâles, les mâles semblaient donc être plus touchés que les femelles (Figure 7.5).

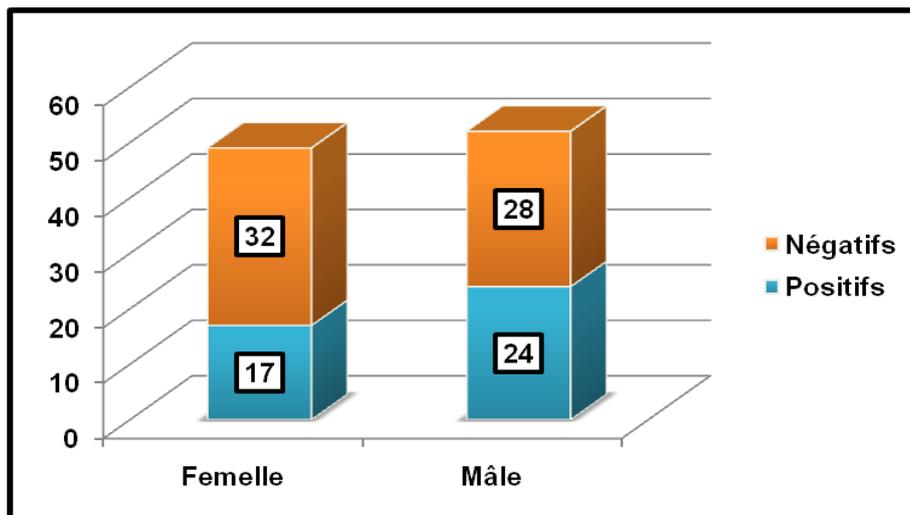


Figure 7.5 : Résultats en fonction du sexe.

La proportion dans le lot des femelles était de 34.7% (17/49) contre 46.2% (24/52) pour le lot des mâles (Tableau 7.2).

Tableau 7.2 : Répartition des proportions des positifs en fonction du sexe.

	N	Positifs	Négatifs	Proportions (%)
Femelle	49	17	32	34.7%
Mâle	52	24	28	46.2%

7.1.1.3.3. Résultats en fonction de l'âge

L'infection en fonction de l'âge était étudiée en calculant la proportion parmi les trois classes d'âge identifiée, elle était de 44.1% (39/89) pour la classe des adultes, de 25% (1/4) pour la classe des subadultes, et de 12.5% (1/8) pour la classe des jeunes rongeurs (Figure 7.6, et Tableau 7.3).

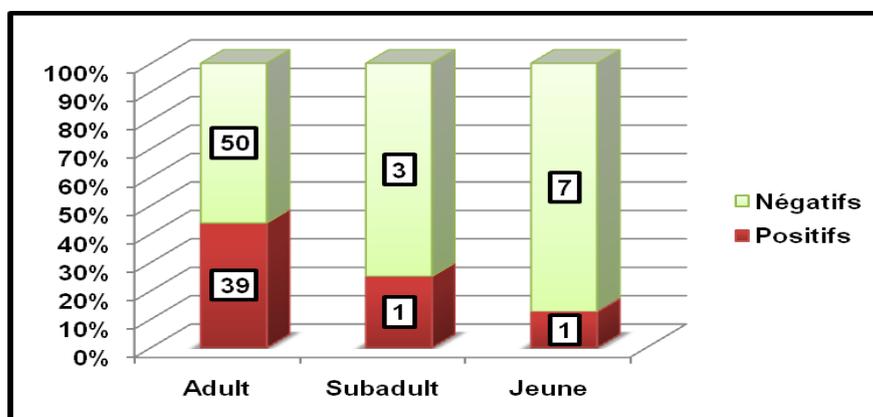


Figure 7.6 : Résultats en fonction de l'âge.

Tableau 7.3 : Proportions des positifs en fonction de l'âge.

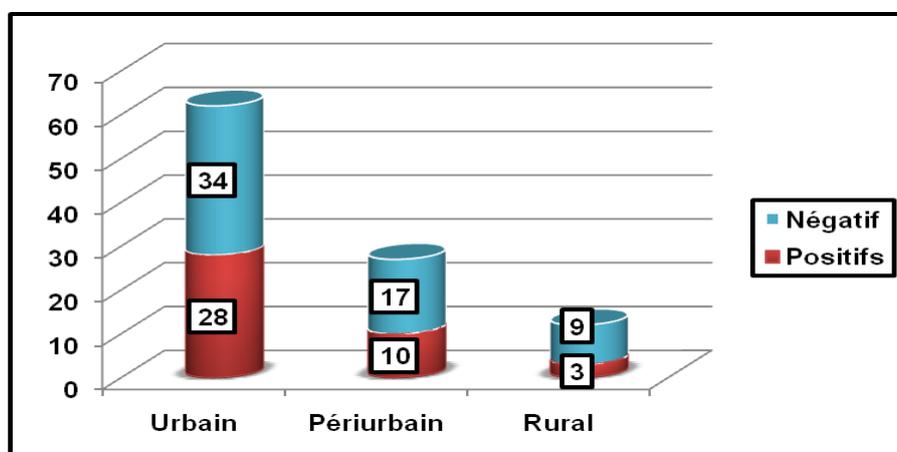
	N	Positif	Négatif	Proportion
Adulte	89	39	50	44.1%
Subadulte	4	1	3	25%
Jeune	8	1	7	12.5%

7.1.1.3.4. Résultats en fonction du lieu de capture

Sur les 41 rats positifs, 28 provenaient d'une région urbaine, 10 d'une région périurbaine, et 3 capturés dans une région à caractère rural (Figure 7.7, et Tableau 7.4).

Tableau 7.4 : Proportions des positifs en fonction du lieu de capture.

	N	Positif	Négatif	Proportion
Urbain	62	28	34	45.2%
Périurbain	27	10	17	37%
Rural	12	3	9	25%

**Figure 7.7** : Résultats en fonction du type d'habitat.

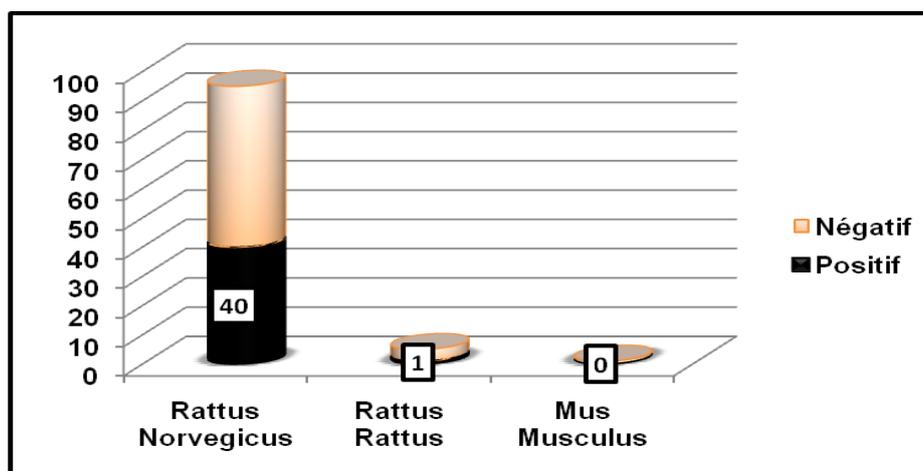
7.1.1.3.5. Résultats en fonction de l'espèce de rongeur

Parmi les 95 *Rattus Norvegicus*, et les 5 *Rattus Rattus* capturés, 40 (40/95), et un (1/5), étaient positifs respectivement à la qPCR pour au moins un organe, alors que, le seul *Mus Musculus* capturé était négatif. Les proportions des positifs parmi les rongeurs capturés étaient donc 42.1%, 20%, et 0%, pour *Rattus Norvegicus*, *Rattus Rattus*, et *Mus Musculus* respectivement (tableau 7.5).

Tableau 7.5 : Proportions des positifs en fonction de l'espèce de rongeur capturé.

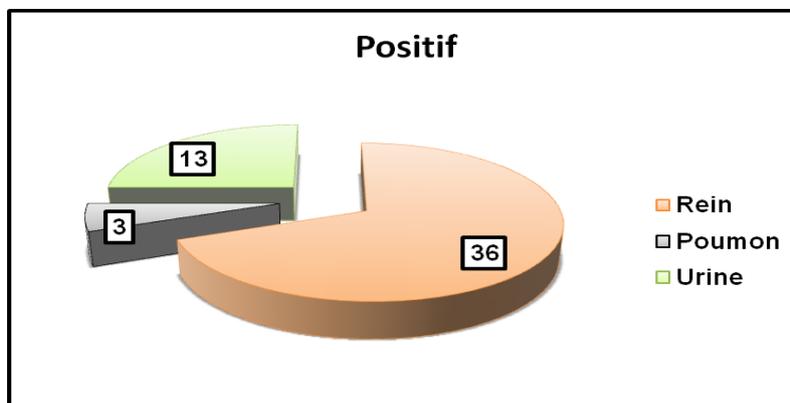
	N	Positif	Négatif	Proportion	IC95% de la prévalence
<i>Rattus Norvegicus</i>	95	40	55	42.1%	32–52.7%
<i>Rattus Rattus</i>	5	1	4	20%	0.5–71.6%
<i>Mus Musculus</i>	1	0	1	0%	0–97.5%

La proportion la plus élevée était enregistrée parmi la population des *Rattus Norvegicus* (42.1%).

**Figure 7.8** : Résultats en fonction de l'espèce de rongeur identifiée.

7.1.1.3.6. Nombre de réactions positives en fonction du type de prélèvement

La détection de *Leptospira spp* par qPCR a permis de mettre en évidence 52 réactions positives, dont 36/101 (35.64%) sur des prélèvements de reins, 3/101 (3%) des poumons, et 13/24 (54.2%) des urines (Figure 7.9).

**Figure 7.9** : Résultats des réactions positives en fonction du type de prélèvement.

7.1.1.4. Résultats du typage par qPCR et séquençage

L'identification des espèces de *Leptospira* a été réalisée sur les cinquante-deux (52) échantillons positifs à la PCR en temps réel avec les tests qPCR individuels spécifiques à l'espèce ciblant respectivement *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii* et *L. kirschneri*.

Sur les 52 échantillons positifs, 42 ont pu être identifiés comme *L. interrogans*, tandis que 8/52 échantillons n'ont pas pu être typés par qPCR spécifique à l'espèce, y compris l'urine n° 29, les poumons n° 75 et n° 77 et les reins n° 1, 10, 46, 48 et n° 52. Finalement, deux échantillons n'ont pas pu être typés en raison d'un manque de qualité de l'ADN, à savoir l'urine n° 7 et le rein n° 62 (appendice D ; appendice E).

Les huit échantillons positifs qui n'ont pas pu être typés par PCR en temps réel spécifique à l'espèce ont tout d'abord été confirmés par PCR conventionnelle ciblant la sous-unité de l'ARN ribosomal 16S à partir de la séquence des 330 paires de bases, puis ont été séquencés. De ces 8 échantillons, sept (7) ont été identifiés comme *L. interrogans* et un (1) comme *L. borgpetersenii* (Tableau 7.6, et Figure 7.10).

Tableau 7.6 : Distribution des positifs en fonction de la méthode d'identification des leptospires.

Type de prélèvement (n)	Total Positifs	Species-Specific PCR Identification	Séquencage*	Inconnu
Kidney (101)	36	30	5	1
Lung (101)	3	1	2	0
Urine (24)	13	11	1	1
Total(226)	52	42	8	2

(*)Séquencage après confirmation par PCR conventionnelle.

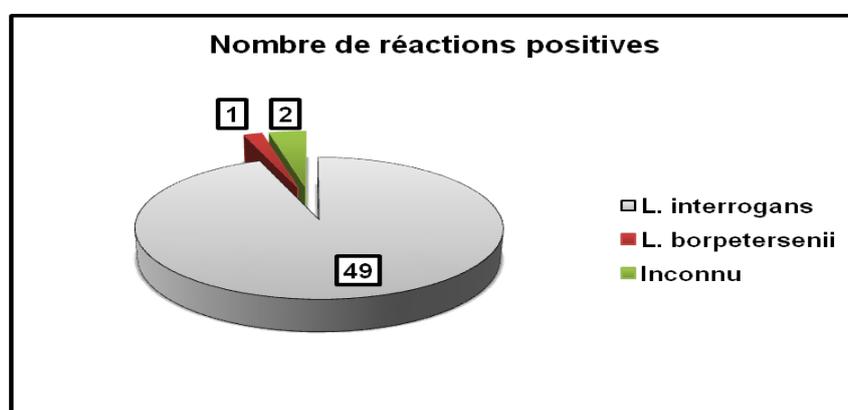


Figure 7.10 : Résultats du typage et séquençage.

7.1.2. Etude par questionnaire

Au total 252 questionnaires ont été distribués, et inclus dans l'étude.

7.1.2.1. Résultats des caractéristiques sociodémographiques

7.1.2.1.1. Répartition des répondants en fonction de la commune d'habitat

Sur les deux cent cinquante-deux répondants, cent trente répondants habitaient au niveau de la commune de Blida, trente-trois au niveau de la commune de Ouled yaich, et un au niveau de la commune de Boufarik (Figure 7.11).

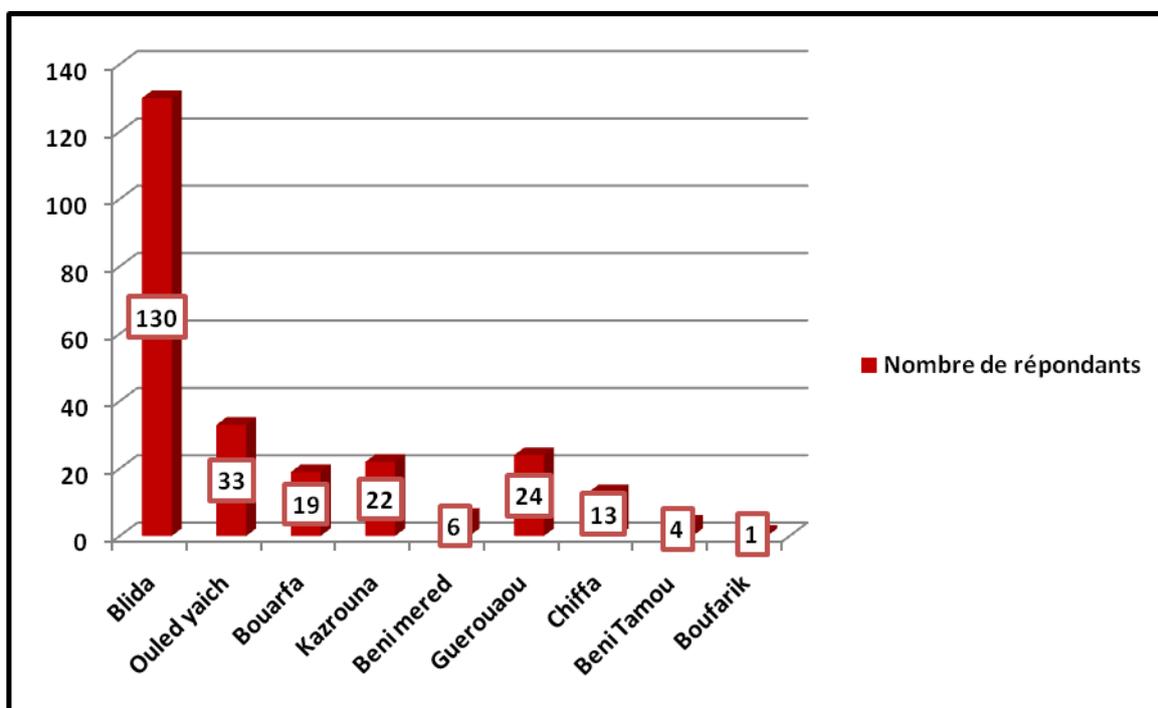


Figure 7.11 : Répartition des répondants en fonction des communes.

7.1.2.1.2. Répartition des répondants en fonction du sexe

Sur les 252 répondants, 144 étaient du sexe féminin, et 108 du sexe masculin, donnant un sexe ration de 0,75 homme/femme (Figure 7.12).

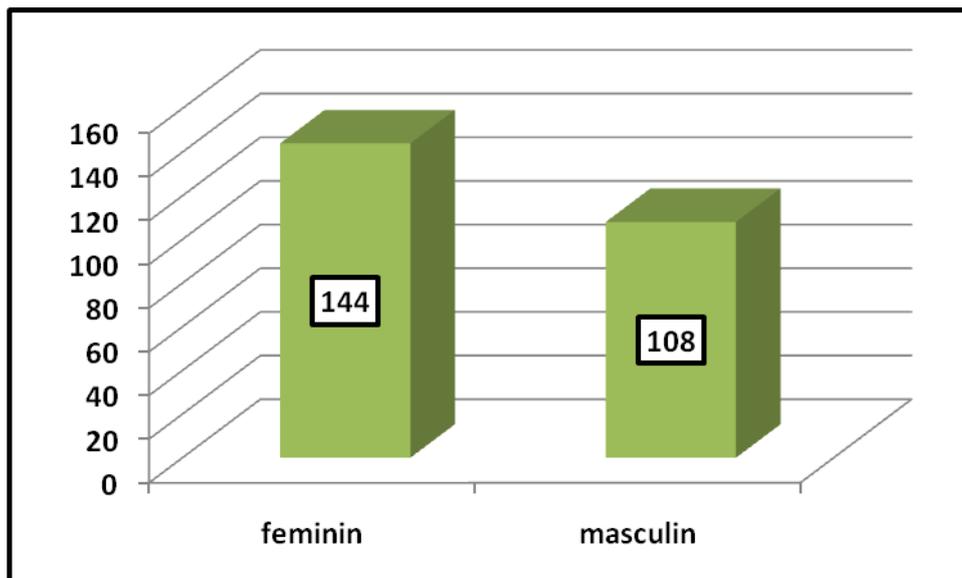


Figure 7.12 : Répartition des répondants en fonction du sexe.

7.1.2.1.2. Répartition des répondants en fonction de l'âge

Les répondants ont été répartis en fonction de leurs âges sur quatre classes. Trente-huit (N=38) des répondants avaient un âge inférieur à 20 ans, 41 répondants avaient un âge supérieur à 50 ans, et la majorité des répondants (N=123) appartenait à la classe d'âge de [30, 50 ans] (Figure 7.13).

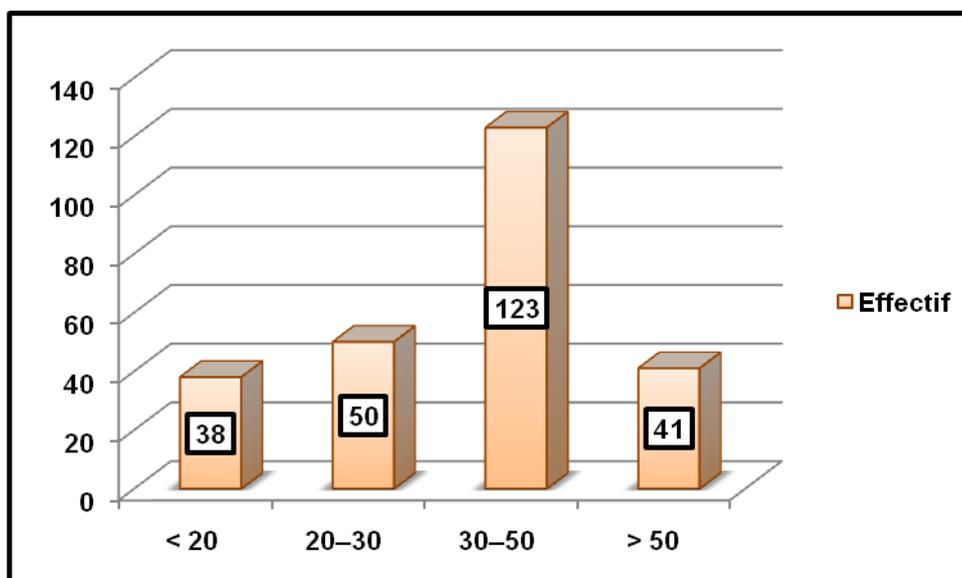


Figure 7.13 : Répartition des répondants en fonction de l'âge.

7.1.2.1.2. Répartition des répondants en fonction de leur niveau scolaire

Parmi les 252 répondants, 95 avaient un niveau universitaire, et 11 répondants étaient sans aucun niveau (Figure 7.14).

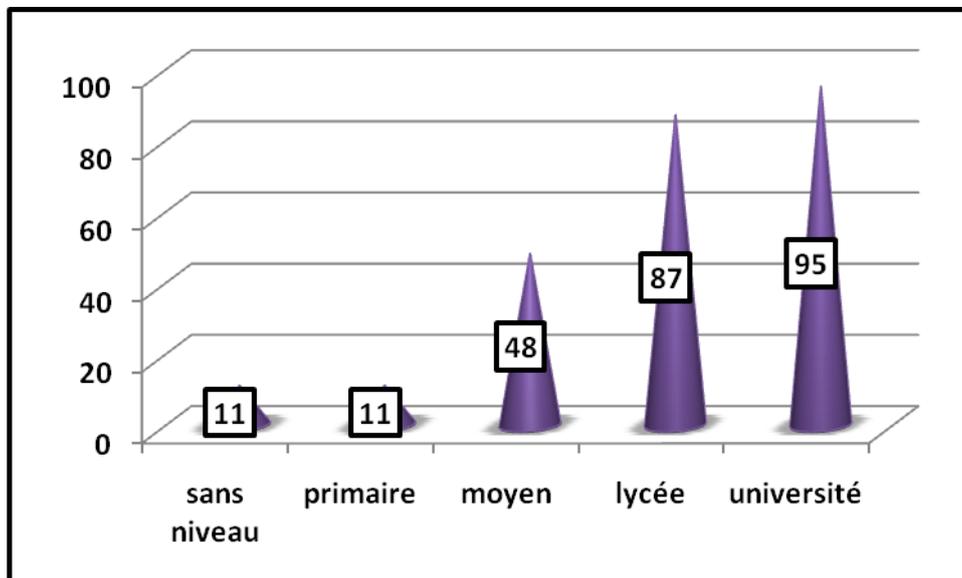


Figure 7.14 : Répartition des répondants en fonction de leur niveau scolaire.

7.1.2.1.2. Répartition des répondants en fonction de leur profession

23,4% des répondants (N=59) étaient des étudiants, 20,2% des femmes au foyer (N=51), 4,36 (N=11) des chômeurs, et 4,36% (N=11) étaient des retraités (Figure 7.15).

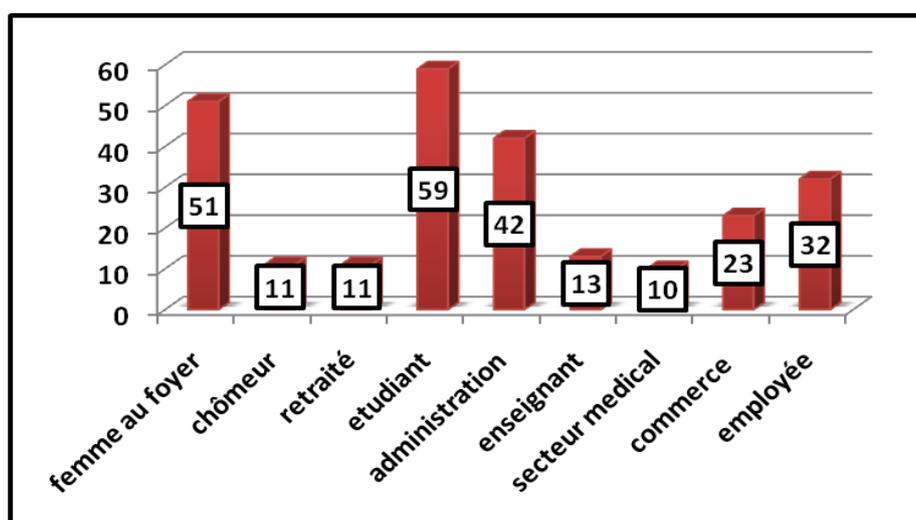


Figure 7.15 : Répartition des répondants en fonction de leur profession.

7.1.2.2. Résultats des réponses aux questions générales sur les rongeurs

- Est-ce que vous considérez les rongeurs comme des animaux nuisibles ou dangereux ?

Sur les 252 répondants, 13,5% (N=34) considéraient les rongeurs comme des animaux nuisibles, alors que 74,2% (N=187) les considéraient comme des animaux dangereux (Tableau 7.7).

Tableau 7.7 : Réponses en fonction du danger des rongeurs.

	Nuisibles	Nuisibles et dangereux	Dangereux	Total
Nombres de réponses	34	31	187	252
Pourcentage	13,5%	12,3%	74,2%	100%

- Est-ce que vous pensez que les rongeurs transmettent des maladies à l'homme?

Concernant cette question ; 91,3%des répondants (N=230), pensaient que les rongeurs peuvent transmettre des maladies à l'homme, alors que 0,4% des répondants (N=1) ne pensaient pas que les rongeurs transmettent des maladies à l'homme (Tableau 7.8).

Tableau 7.8 : Réponses en fonction de la transmission des zoonoses des rongeurs.

	Oui	Non	Ne sais pas	Total
Nombre de réponses	230	1	21	252
Pourcentage	91,3%	0,4%	8,3%	100%

- Est-ce que vous savez comment se transmettent les maladies des rongeurs à l'homme ?

Cinquante-six pour cent (N=141) des répondants ont répondu par '**OUI**' à cette question, alors que quarante-quatre pour cent (N=111) ont répondu par '**NON**' (Tableau 7.9).

Tableau 7.9 : Réponses en fonction de la connaissance du mode de transmission des zoonoses des rongeurs.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	141	111	252
Pourcentage	56%	44%	100%

- Est-ce que vous pouvez citer selon vos connaissances les modalités de transmission des maladies des rongeurs à l'homme ?

Tableau 7.10 : Répartition des modes de transmission des zoonoses des rongeurs.

Mode de transmission	Nombre de réponses	Pourcentage N= 252
Morsures	97	38,5
Excréments	34	13,5
Urine	33	13,1
Aliment contaminé par les excréments des rongeurs	16	6,35
Contact direct avec les rongeurs	14	5,6
Griffures	13	5,16
Poils	10	3,97
Salive	6	2,38
Ectoparasites	2	0,8
Respiration	1	0,4
Par d'autres animaux	1	0,4
L'eau des égouts	1	0,4

Parmi les deux cent cinquante deux (N=252) participants, (97/252) ont cité les morsures comme mode de transmission des maladies des rongeurs à l'homme, alors que (33/252) ont cité les urines, et (1/252) ont cité la voie respiratoire (Tableau 7.10).

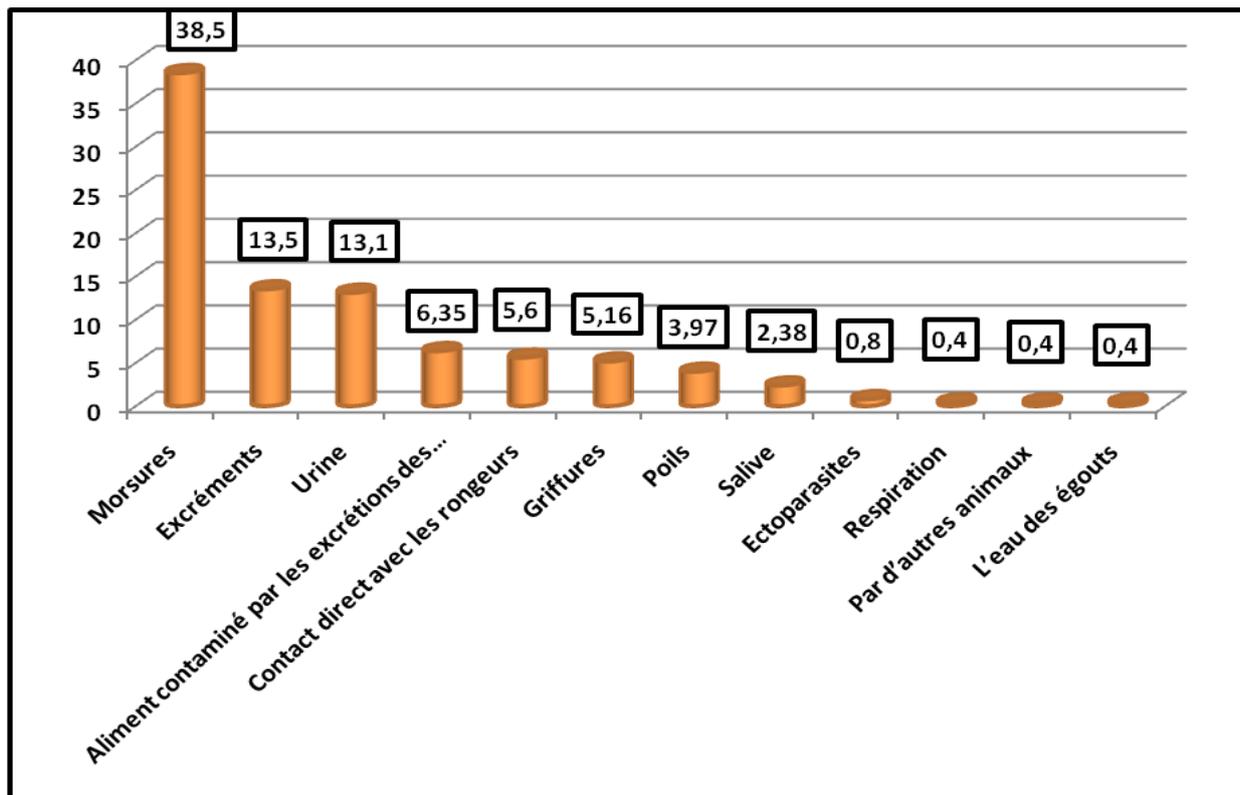


Figure 7.16 : Pourcentages des réponses en fonction du mode de transmission.

- Est-ce que vous connaissez les maladies que les rongeurs peuvent transmettre à l'homme ?

Plus que la moitié des répondants (137/252) ont répondu par '**NON**' à cette question (Tableau 7.11).

Tableau 7.11 : Réponses en fonction de la connaissance des zoonoses des rongeurs.

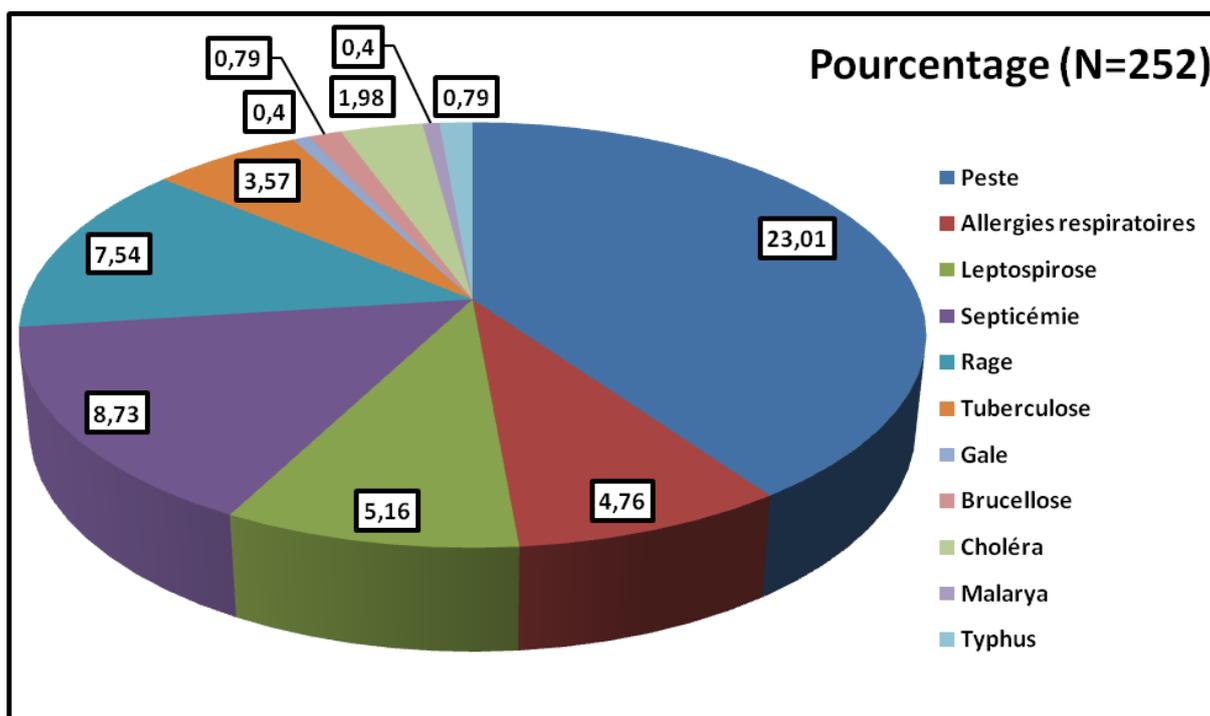
	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	115	137	252
Pourcentage	45,6%	54,4%	100%

- Est-ce que vous pouvez citer les maladies que vous connaissez qui se transmettent des rongeurs à l'homme ?

Tableau 7.12 : Répartition en fonction des zoonoses des rongeurs.

Les maladies	Nombre de réponses	Pourcentage (N=252)
Peste	58	23,01
Allergies respiratoires	12	4,76
Leptospirose	13	5,16
Septicémie	22	8,73
Rage	19	7,54
Tuberculose	9	3,57
Gale	1	0,4
Brucellose	2	0,79
Choléra	5	1,98
Malarya	1	0,4
Typhus	2	0,79

Parmi les répondants, 23,01% (58/252) ont cité la peste, 7,54% (19/252) ont cité la rage, 5,16% (13/252) ont cité la leptospirose, et 0,4% (1/252) ont cité la gale (Tableau 7.12, et Figure 7.17).

**Figure 7.17** : Pourcentages des réponses en fonction des zoonoses citées.

- Est-ce que vous pensez que les rongeurs peuvent transmettre des maladies à d'autres animaux ?

La majorité des répondants (N=159, 63,1%) pensaient que les rongeurs transmettent des maladies à d'autres animaux, alors que 31,7% (N=80) ne savaient pas si les rongeurs transmettent ou non des maladies à d'autres animaux (Tableau 7.13).

Tableau 7.13 : Réponses en fonction de la connaissance de la transmission à d'autres animaux.

	OUI	NON	NE SAIS PAS	Total
Nombre de réponses	159	13	80	252
Pourcentage	63,1%	5,2%	31,7%	100%

- Est-ce que vous pensez que ces animaux peuvent transmettre ces maladies à l'homme ?

Pareille pour cette question ; la majorité des répondants (N=168) croyaient que ces animaux transmettent à leur tour ces maladies à l'homme (Tableau 7.14).

Tableau 7.14 : Réponses en fonction de la connaissance de la transmission des zoonoses des rongeurs à l'homme par d'autres animaux.

	OUI	NON	NE SAIS PAS	Total
Nombre de réponses	168	11	73	252
Pourcentage	66,7%	4,3%	29%	100%

- Est-ce qu'il existe des rongeurs dans votre entourage ?

Deux cent vingt-huit (N=228, 90,5%) répondants déclaraient avoir des rongeurs dans leur entourage (Tableau 7.15).

Tableau 7.15 : Réponses en fonction de l'existence des rongeurs dans l'entourage.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	228	24	252
Pourcentage	90,5%	9,5%	100%

- Est-ce que vous contrôlez la population des rongeurs?

À cette question deux cents vingt-deux (N=222) ont répondu par 'oui' (Tableau 7.16).

Tableau 7.16 : Réponses en fonction du contrôle de la population des rongeurs.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	222	30	252
Pourcentage	88,1%	11,9%	100%

- Avec la ou lesquelles parmi ces méthodes vous contrôlez la population des rongeurs?

Trois propositions ont été citées pour cette question, 142 répondants ont choisi d'éliminer les rongeurs de leur entourage par l'utilisation des raticides (Tableau 7.17).

Tableau 7.17 : Réponses en fonction du moyen de contrôle de la population des rongeurs.

	Pièges	Raticides	Piège et raticides	Autre méthodes	Non	Total
Nombre de réponses	25	142	38	17	30	252
Pourcentage	9,9%	56,35%	15,1%	6,75%	11,9	100%

Pour les autres méthodes utilisées pour contrôle de la population des rongeurs, cinq (N=5) répondants signalaient qu'ils élevaient des chats à la maison, alors que douze (N=12), ont préféré de les tuer avec un moyen mécanique.

- Est-ce que vous connaissez les moyens de lutte pour éviter de contracter les maladies qui se transmettent à l'homme par les rongeurs?

La moitié des répondants déclaraient qu'ils connaissaient les moyens de lutte pour ne pas contracter les maladies transmises par les rongeurs (Tableau 7.18).

Tableau 7.18 : Réponses en fonction de la connaissance de la prophylaxie.

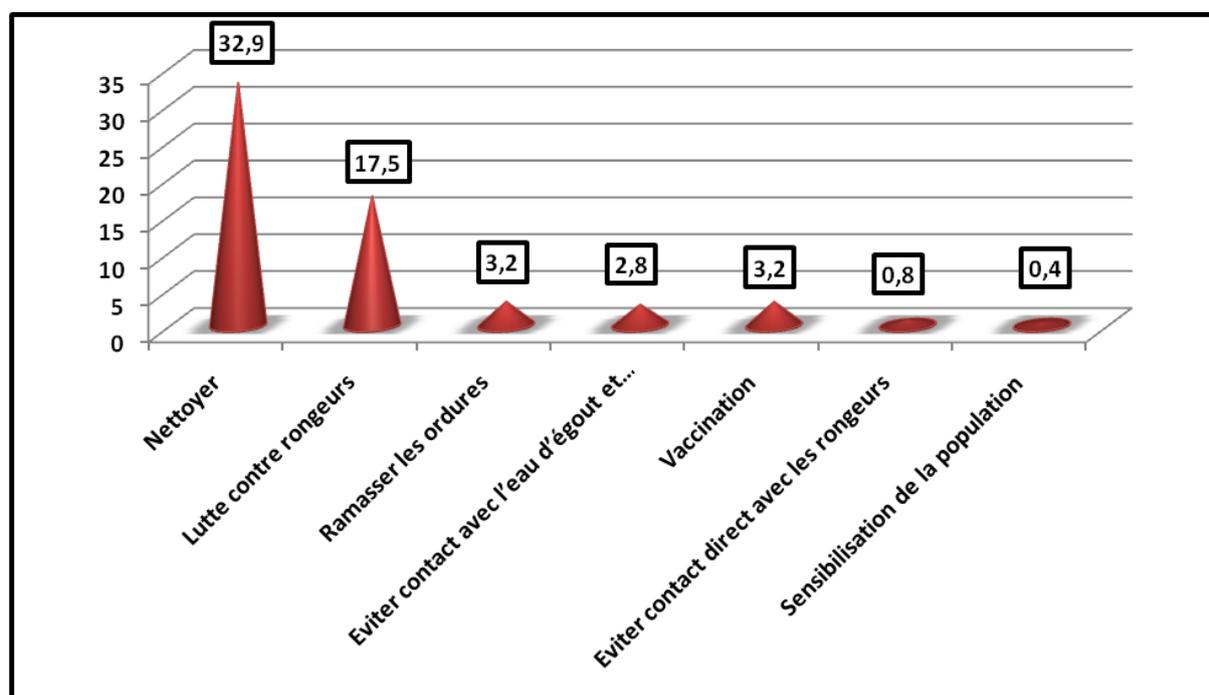
	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	121	131	252
Pourcentage	48%	52%	100%

- Est-ce que vous pouvez citer ces moyens de lutte?

Tableau 7.19 : Pourcentage en fonction de la prophylaxie.

Le moyen de prophylaxie	Nombre de réponses	Pourcentage N=252
Nettoyer	83	32,9%
Lutte contre rongeurs	44	17,5%
Ramasser les ordures	8	3,2%
Eviter contact avec l'eau d'égout et l'eau stagnante	7	2,8%
Vaccination	8	3,2%
Eviter contact direct avec les rongeurs	2	0,8%
Sensibilisation de la population	1	0,4%

Sur les 121 réponses positives concernant la connaissance des moyens de lutte, 83 répondants croyaient que nettoyer les surfaces et l'entourage permet d'éviter de contracter des maladies transmises par les rongeurs, alors que 8 de ces répondants pensaient que la vaccination peut protéger contre ces maladies (Tableau 7.19, et Figure 7.18).

**Figure 7.18** : Répartition des pourcentages des réponses en fonction de prophylaxie.

7.1.2.3. Résultats des réponses sur la leptospirose

- Est-ce que vous connaissez ou déjà entendu parler de la leptospirose?

Sur les 252 personnes inclus dans notre étude seulement 37 ont répondu par 'OUI' à cette question, donnant un pourcentage de 14,7% (Tableau 7.20).

Tableau 7.20 : Réponses en fonction de la connaissance de la leptospirose.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	37	215	252
Pourcentage	14,7%	85,3%	100%

- Est-ce que vous avez attrapé cette maladie pendant votre vie?

Une seule personne parmi les deux cent cinquante-deux participants (1/252) a déclarée avoir attrapé cette maladie au cours de sa vie (Tableau 7.21).

Tableau 7.21 : Réponses en fonction d'avoir la leptospirose.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	1	251	252
Pourcentage	0,4%	99,6%	100%

- Est-ce que vous connaissez quelqu'un qui a eu cette maladie?

Parmi les personnes qui ont participé à notre enquête, seulement 13 qui ont répondu par 'OUI' à cette question donnant ainsi une fréquence de 5,2% (Tableau 7.22).

Tableau 7.22 : Réponses en fonction de connaissance des cas de leptospirose.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	13	239	252
Pourcentage	5,2%	94,8%	100%

- Est-ce que vous connaissez les symptômes de la leptospirose?

Seulement vingt des trente-sept (20/37) répondants ont déclaré qu'ils connaissaient les symptômes de la leptospirose donnant ainsi une fréquence de (54,05%,20/37), et une fréquence globale de (7,9%, 20/252) (Tableau 7.23).

Tableau 7.23 : Réponses en fonction de la connaissance des symptômes.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	20	232	252
Pourcentage	7,9%	92,1%	100%

➤ Est-ce que vous pouvez citer les symptômes de la leptospirose?

➤ **Tableau 7.24** : Pourcentage des symptômes de la leptospirose.

Symptômes	Nombre de réponses	Pourcentage (N=252)
Fièvre	17	6,75
Fatigue	2	0,8
Perte de l'appétit	2	0,8
Douleur musculaire	5	2
Ictère	5	2
Anémie	1	0,4
Vomissement	2	0,8
Hépatite	1	0,4
Dyspnée	1	0,4
Toux	1	0,4
Atteinte rénale	1	0,4
Maux de tête	1	0,4
Mort	1	0,4

Parmi les vingt répondants, la fièvre a été citée par dix-sept personnes (17/252), alors que l'ictère a été cité par cinq répondants (5/252), et l'atteinte rénale par une personne (1/252) (Tableau 7.24, Figure 7.19).

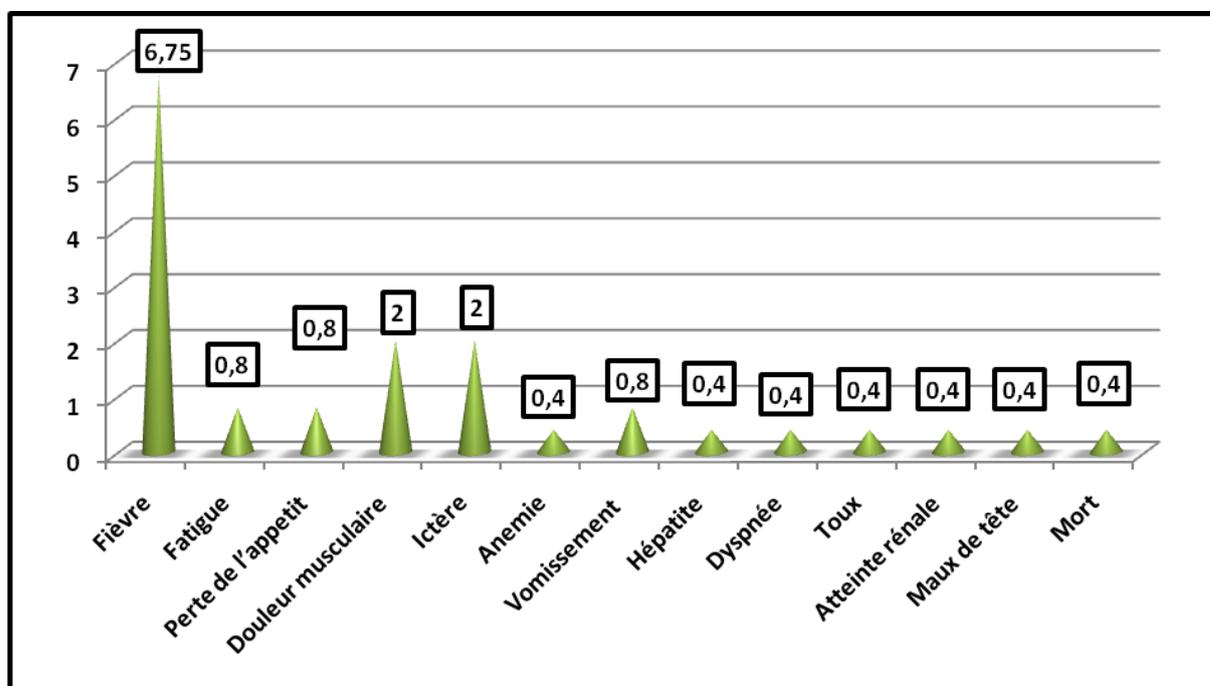


Figure 7.19 : Pourcentages des réponses concernant les symptômes.

➤ Est-ce que vous connaissez comment se transmet la leptospirose des rongeurs à l'homme ?

Sur les trente-sept répondants qui connaissent la leptospirose, vingt-six (26/37) ont répondu par 'OUI' à cette question, donnant une fréquence de 70,3% (26/37), et une fréquence globale de 10,3% (26/252) (Tableau 7.25).

Tableau 7.25 : Réponses en fonction de la connaissance du mode de transmission de la leptospirose.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	26	226	252
Pourcentage	10,3%	89,7%	100%

- Si vous connaissez les modes de transmission de la leptospirose, est ce que vous pouvez les citer ?

Tableau 7.26 : Pourcentages des réponses selon le mode de transmission.

Mode de transmission	Nombre de réponses	Pourcentage (N=252)
Morsures	21	8,3%
Urines	11	4,37%
Excrément	10	3,97%
Air (respiration)	1	0,4%
Griffures	2	0,8%

Vingt-six répondants ont affirmé qu'ils connaissaient les modes de transmission de la leptospirose, parmi ces derniers, vingt et un (21/252) pensaient que cette maladie se transmet des rongeurs à l'homme par les morsures, alors que onze (11/252) ont cité l'urine (Tableau 7.26).

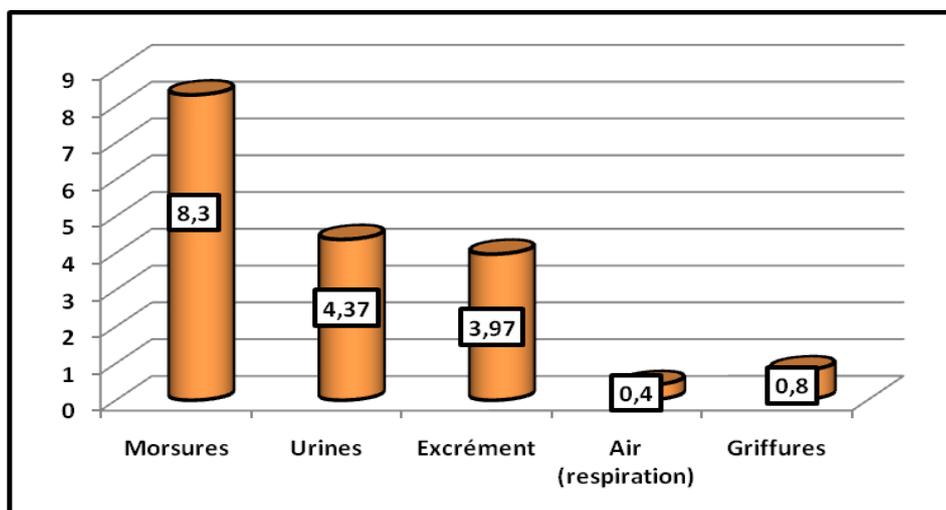


Figure 7.20 : Pourcentages des réponses selon le mode de transmission.

- Est-ce que vous pensez que cette maladie peut se transmettre à l'homme par d'autres animaux?

En réponse à cette question, huit des trente-sept (8/37) répondants déclarant avoir connaître la leptospirose, pensaient que la leptospirose peut aussi se transmettre à l'homme par d'autres animaux, donnant une fréquence de 21,6%, et une fréquence globale de 3,17% (8/252) (Tableau 7.27).

Tableau 7.27 : Réponses sur la transmission de la leptospirose à l'homme par d'autres animaux.

	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	8	244	252
Pourcentage	3,17%	96,83%	100%

- Si vous pensez que cette maladie peut se transmettre à l'homme par d'autres animaux, est ce que vous pouvez citer ces animaux?

Tableau 7.28 : Pourcentage des animaux qui transmettent la leptospirose des rongeurs à l'homme.

Les animaux cités	Nombre de réponses	Pourcentage (N=252)
Chien	5	1,98%
Chat	4	1,59%
Animaux de bétail	3	1,2%
Sanglier	1	0,4%
Chauve souris	1	0,4%
Poule	1	0,4%

Parmi les animaux cités, les chats ont été cités par quatre répondants (4/252), les chiens par cinq (5/252), et la chauve-souris par un répondant (1/252) (Tableau 7.28).

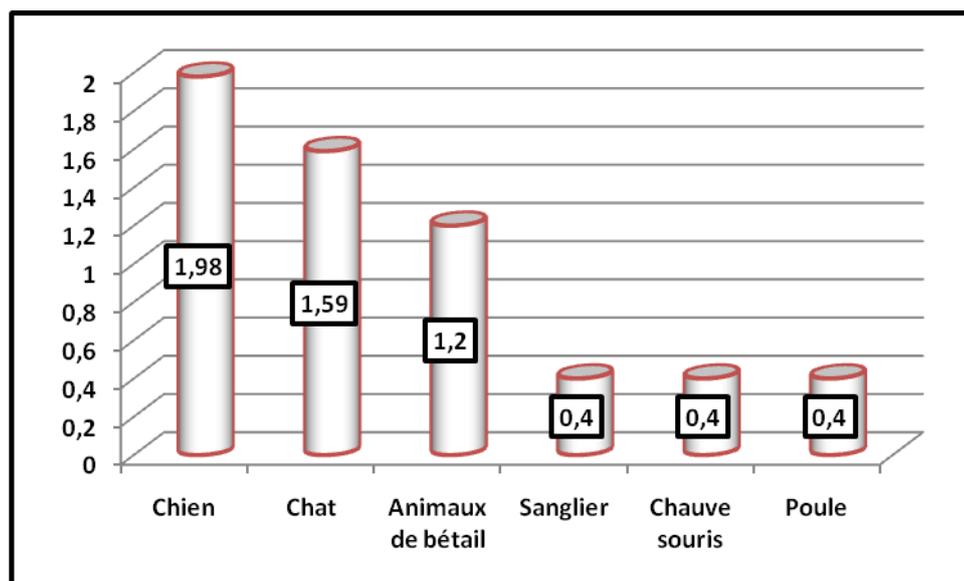


Figure 7.21 : Pourcentage des animaux qui transmettent les zoonoses des rongeurs à l'homme.

- Est-ce que vous connaissez les moyens de lutte pour éviter de contracter la leptospirose ?

À cette question, trente-cinq des trente-sept répondants qui ont déclaré connaître la leptospirose (35/37), ont répondu par '**OUI**', donc la fréquence était de 94,6%, et la fréquence globale de 13,9% (Tableau 7.29).

Tableau 7.29 : Réponses en fonction de la connaissance de la prophylaxie de la leptospirose.

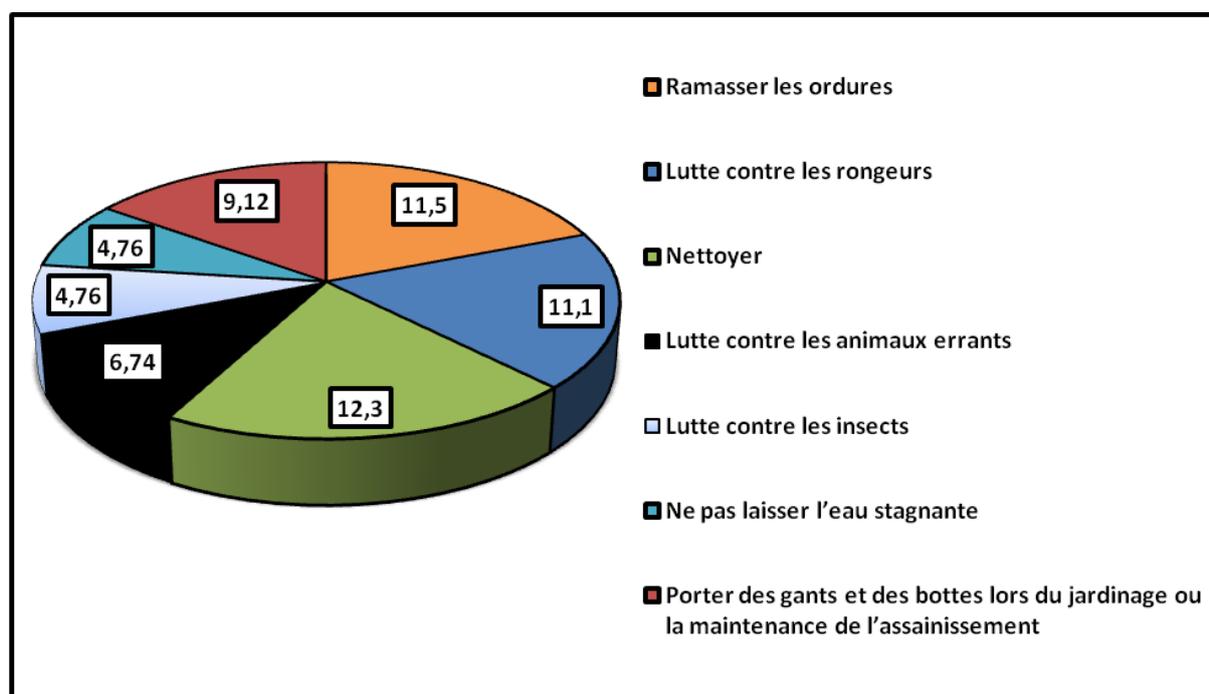
	OUI	NON	Total
Nombre de réponses	35	217	252
Pourcentage	13,9%	86,1%	100%

- Si vous pensez connaître la prophylaxie de la leptospirose, le ou lesquelles parmi les moyens suivants permettent d'éviter de contracter la leptospirose ?

Tableau 7.30 : Répartition en fonction de la connaissance de la prophylaxie.

La prophylaxie	Nombre de réponses	Pourcentage
Ramasser les ordures	29	11,5%
Lutte contre les rongeurs	28	11,1%
Nettoyer	31	12,3%
Lutte contre les animaux errants	17	6,74%
Lutte contre les insectes	12	4,76%
Ne pas laisser l'eau stagnante	12	4,76%
Porter des gants et des bottes lors du jardinage ou la maintenance de l'assainissement	23	9,12%

Vingt-huit répondants (28/252), et (29/252) pensaient respectivement que la lutte contre les rongeurs, et le ramassage des ordures peuvent aider pour éviter d'attraper la leptospirose, alors que dix-sept (17/252) pensaient qu'il faut lutter aussi contre les animaux errants (Tableau 7.30).

**Figure 7.22** : Pourcentages des réponses selon la connaissance de la prophylaxie.

7.1.2.4. Résultats de la régression logistique

Les résultats de la régression montrent une liaison positive entre la connaissance de la leptospirose et l'âge, et la connaissance de la leptospirose et le niveau éducatif (Tableau 7.31).

Tableau 7.31 : Résultats de la régression logistique.

Catégorie	Variable	OR	P-value
Age	<20 ans	1.03	0.01227 *
	20-30 ans		
	30-50 ans		
	>50 ans		
Sexe	Femme	1.35	0.40857
	Homme		
Niveau éducatif	Sans niveau éducatif	1.70	0.00862 **
	Primaire		
	Secondaire		
	Lycée		
Profession	Universitaire		
	Sans emploi	1.37	0.52129
	Employé		

7.10. Discussion

7.10.1. Etude sur les rongeurs

7.10.1.1. Qualité de l'échantillon

Les calculs basés sur l'échantillonnage aléatoire supposent la possibilité de tirer des individus au hasard dans la population. Dans le cas de la faune sauvage, les individus ne peuvent pas être réellement choisis au hasard : d'une part, la population n'est généralement pas assez accessible pour constituer une liste d'individus dans laquelle on pourrait effectuer un tirage, et d'autre part, quelle que soit la méthode de récolte employée, il existe des biais de sélection, c'est-à-dire que les techniques d'échantillonnage sélectionnent certains individus plutôt que d'autres [195]. L'échantillon doit inclure suffisamment d'individus provenant des strates les plus difficiles à échantillonner, or, au prix du même effort, on peut obtenir beaucoup d'individus « tout venant » ou peu d'individus plus difficiles à obtenir [196]. En effet, nous avons rencontré plusieurs difficultés sur le terrain qui ont affecté la représentativité de notre échantillon : l'insécurité dans certains sites (vole ou

destruction des pièges), le refus d'aide de certaines personnes, le coût des pièges élevé, l'absence de véhicule. Ajouter à tout ça, la difficulté de piéger les rongeurs connus par leur grande prudence. Tous ces facteurs nous ont obligés à travailler là où il y a plus de sécurité et de l'aide, et n'ont pas permis donc la couverture de toute la région, ces facteurs ont aussi influencé sur la fréquence de capture « il y a des sites où nous avons pu attraper plus de rats que d'autres ».

7.10.1.2. Population animale étudiée

Notre travail avait pour but :

- D'estimer la prévalence de *Leptospira* pathogène chez les rongeurs dans la région de Blida.
- De déterminer les indicateurs ou facteurs de risque susceptibles à favoriser la transmission de cette infection chez les rongeurs.
- Et finalement d'identifier par typage ou séquençage les espèces des leptospires.

Notre étude incluait 101 rongeurs. À ce jour, cette étude reste la première en Algérie.

7.10.1.3. Prévalence vis-à-vis *Leptospira spp* par utilisation du PCR

À notre connaissance, jusqu'à aujourd'hui, le portage des leptospires n'avait jamais été étudié chez les rongeurs sauvages en Algérie. L'étude des souches de *Leptospira* circulant chez les réservoirs est cependant nécessaire pour la mise au point d'une prophylaxie efficace contre la leptospirose humaine et animale. Notre étude décrit pour la première fois, le portage de leptospires chez les rongeurs dans la région de Blida en Algérie.

Parmi les 101 rongeurs capturés, 41 rongeurs étaient porteurs de leptospires pathogènes pour au moins un organe, la prévalence était ainsi de 40,6% (IC95%=[30,9% ; 50,8%]).

En comparant notre résultat à ceux trouvés dans certaines études menées dans certains pays africains, et méditerranéens,

Notre prévalence est relativement élevée comparée à une étude réalisée au Niger en 2015 qui montrait une prévalence de 1,3% de leptospires chez 578

rongeurs sauvages [197], elle est également supérieure à celles retrouvées dans deux études réalisées en Egypte chez les rongeurs, la première menée entre 2006 et 2007, et la seconde publiée en 2015, avec une prévalence de 19 % (19/100 rongeurs) [198], et 24 % (65/270) [185] respectivement, Elle est toujours supérieure à celle trouvée au Kenya [199], 18,3% (41/224) en 2008, en Espagne [167] 10,52% (2/19) au printemps et à l'automne 2011-2012, et en France [200] en 2016, 10,43 % (12/115).

Néanmoins, notre prévalence est légèrement supérieure à celle trouvée chez les rongeurs en Italie [201], 35,2% (81/230) entre 2008 et 2009.

Cependant, les prévalences doivent être comparées avec retenue ; le protocole de laboratoire admis dans chaque étude, les organes ciblés, la composition et la taille de la population des rongeurs capturés différaient d'une étude à l'autre.

7.10.1.4. Résultat en fonction du type de prélèvement

Leptospira spp. a été recherchée par PCR en temps réel sur des échantillons de rein et de poumon, pour quelques individus, des échantillons d'urine pourraient également être prélevés et analysés. La grande majorité des individus positifs (40/41) présentaient un portage rénal et/ou urinaire, dont 39 *R. Norvegicus* et un *R. Rattus*, tandis que 3/41 appartenaient à *Rattus Norvegicus* présentaient un portage pulmonaire, dont deux associés à un portage rénal. La localisation pulmonaire de *Leptospira spp.* chez les rongeurs sauvages sains n'a été décrite, qu'une seule fois, lors de la découverte du sérovar *Icterohaemorrhagiae* sur l'épithélium cilié des bronches de 3 *Rattus Norvegicus* capturés dans la région lyonnaise, en France [202]. De plus, lors d'une infection expérimentale de *R. Norvegicus* par *L. interrogans*, il a été démontré que les leptospires persistent plusieurs mois dans les reins, alors qu'ils sont rapidement éliminés des autres tissus en 9 jours [203].

De plus, parmi les individus dont les urines ont été recueillies, 4 rats ont présenté un seul portage urinaire, non associé à un portage rénal. Cela peut paraître surprenant sachant que l'excrétion urinaire est la conséquence du portage rénal. Cependant, il faut tenir compte du fait que l'extraction d'ADN d'organes est réalisée à partir d'une portion de 20 à 25 mg de tissu ; la PCR peut donc être négative en cas de portage localisé uniquement sur certaines portions de l'organe, et depuis quand

les leptospires colonisent un nombre défini de niches dans les reins, proportionnel à la dose infectieuse [204]. La prévalence réelle des individus porteurs de leptospires pourrait donc être sous-estimée dans cette étude.

7.10.1.5. Résultat en fonction de l'espèce de rongeur capturée

Selon l'espèce de rongeur, quarante des quatre-vingt-quinze (40/95) *Rattus Norvegicus* capturés et un des cinq (1/5) *Rattus Rattus* capturés étaient porteurs de *Leptospira* pathogène, soit un taux de 42,1 % et 20 % respectivement. Une étude menée au Bénin [166] a montré par PCR que *Rattus Norvegicus* était également plus contaminé par *Leptospira* 27,3%, que *Rattus Rattus* (13,3%). Au Singapour; *R. norvegicus* (46,8%) et *R. rattus* (10,4%) [205] et à Mahé, Seychelles *R. norvegicus* (54,0%) et *R. rattus* (4,4%) [206]. Par contre, une étude réalisée en Sardaigne [207], a montré que *R. Rattus*, étaient légèrement plus contaminés par *Leptospira* (20,7 %) que *R. Norvegicus* (16 %). Notre résultat semble logique; en effet *R. rattus* préfère les habitats plus secs tandis que *R. norvegicus* est reconnu comme préférant les habitats humides [208], avec les dépotoirs et les égouts étant connus pour être des habitats privilégiés pour ce rongeur, expliquant ainsi la forte association entre *R. norvegicus* et la prévalence accrue de *Leptospira spp.* [205]. Cependant, la taille réduite de l'échantillon de *R. Rattus* capturé dans notre étude n'a pas permis de déterminer le taux réel d'infection à *Leptospira* chez ce petit mammifère. Les souris *Mus Musculus* sont reconnues pour être porteuses du sérotype Ballum [8], [2]. Dans notre étude, une seule souris a été piégée, et a malheureusement donné un résultat négatif par PCR, pour les reins et pour les poumons. Une étude plus poussée devrait être menée dans la même zone ciblant les souris.

7.10.1.6. Résultat en fonction du sexe

Parmi les 101 individus inclus dans l'étude, les mâles étaient plus exposés à *Leptospira* (46,2%) que les femelles (34,7%), notre résultat est en accord avec l'étude menée sur les rongeurs au Kenya [199], où la proportion de mâles positifs était (17,9%) contre (13,9%) chez les femmes. Au Salvador, 97 % des rats mâles capturés étaient positifs [209]. Au contraire, l'étude menée au Singapour [205], les femelles étaient plus susceptibles d'être infectées. A l'Autriche [210] les rats femelles étaient également plus exposés 37,5% (15/46) que les mâles 18% (9/50).

7.10.1.7. Résultat en fonction de l'âge

De plus, la proportion d'individus positifs augmentait avec l'âge des rongeurs (44,1 % des adultes, 25 % des subadultes et 12,5 % des jeunes), notre résultat est compatible avec ceux trouvés à Vancouver et Salvador [211] une étude menée au Brésil a montré que la prévalence des leptospires chez *R. Norvegicus* augmentait aussi avec l'âge [212], au Salvador, Bahia [209] tous les adultes étaient infectés.

La physiologie, l'immunologie et les caractéristiques comportementales associées à l'âge joueraient un rôle important dans la transmission des infections [213], effectivement ; les mâles et les adultes de *R. norvegicus* ont un comportement social consistant à se blottir et à se battre, lors de la recherche active de la nourriture [214]. Le comportement agressif des rats adultes tels que les combats et les morsures est connu pour faciliter la transmission de l'infection à *Leptospira* [215].

7.10.1.8. Résultat en fonction du type d'habitat

La proportion d'individus positifs augmentait également avec le degré d'urbanisation (45,2 % en milieu urbain, 37 % en milieu périurbain et 25 % en milieu rural). Cela semble cohérent étant donné que le portage rénal de *Leptospira interrogans* persiste pendant plusieurs mois [203]. De plus, la forte densité de rats et d'eau stagnante s'accumulant dans les zones urbaines pourrait favoriser la propagation des leptospires chez les rongeurs [10].

De plus, les rats vivant dans un habitat rural grandissent généralement à un rythme inférieur à ceux vivant dans un habitat urbain. Cela a été présumé être dû à l'abondance de sources de nourritures avec moins de concurrence pour elle dans les zones urbaines par rapport aux zones rurales, ainsi qu'à l'abondance d'abris possibles offerts par les milieux urbains [216] [217].

7.10.1.9. Résultat du typage et séquençage

L'espèce génomique de leptospires a été investiguée par des tests de PCR en temps réel spécifiques à l'espèce ciblant respectivement *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. borgpetersenii* et *L. kirschneri* et pour certains en séquençant les amplifications du gène 16S.

Au total, *L. interrogans* a pu être identifié dans 49 des 52 échantillons positifs correspondant à 39 individus, tandis que *L. borgpetersenii* a été identifié dans un échantillon (portage rénal), correspondant à un individu.

En effet, *L. interrogans* est l'espèce génomique la plus décrite chez le rat sauvage (*Rattus spp.*) dans le monde (sérovary Icterohaemorrhagiae) et en particulier sur le continent africain [10], et a été impliquée en Algérie, dans de nombreux cas de leptospirose humaine entre 2005 et 2008 [17] [18] et a également été identifiée chez 5 chiens en 2017 [19]. Cependant, *L. borgpetersenii* est connu pour être maintenue par les souris (sérovary Ballum) [218] et par les bovins (sérovary Hardjo souche Hardjobovis) [219]. Dans notre enquête, *L. borgpetersenii* a été trouvé chez un seul individu dans une zone périurbaine, la présence de bovins a été observée à cet endroit, cette espèce a également été identifiée parmi les espèces de *Rattus* ; *Rattus Norvegicus* en Afrique du Sud [220] et à Madagascar [221], et *Rattus Rattus* en Sardaigne [207] et au Japon [222].

Le faible taux de portage de *L. borgpetersenii* chez les rongeurs observé dans la présente étude peut également s'expliquer par le fait que *L. borgpetersenii* colonise moins les reins du rat [223] comparé à *L. interrogans* connu de persister plusieurs mois dans les reins [203]. Aussi, la transmission de *L. interrogans* se produit généralement via des eaux de surface contaminées, alors que les données épidémiologiques soutiennent un cycle de transmission d'hôte à hôte pour *L. borgpetersenii* [224].

7.10.2. Etude par questionnaire

7.10.2.1. Composition sociodémographique

L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer les connaissances du grand public sur les zoonoses des rongeurs en particulier la leptospirose. Pour cela, une étude transversale a été menée dans la ville de Blida, une région centre-nord de l'Algérie à l'aide d'un questionnaire imprimé. La plupart des répondants étaient des femmes (57,14%), des adultes (48,80%), des étudiants (23,41%), et ayant un niveau universitaire (37,7%).

7.10.2.2. Connaissances générales sur les rongeurs

La majorité des répondants considéraient les rongeurs comme des animaux dangereux (86,5%), et peuvent transmettre des maladies à l'homme (91,3%), effectivement ; l'Organisation mondiale de la santé reconnaît que les rats présentent un risque important pour la santé humaine, en particulier pour les jeunes enfants et les personnes âgées [161]. Cependant, lorsque la question était posée sur les principaux facteurs de risque de transmission des zoonoses des rongeurs, seuls environ la moitié (56%) des répondants déclarait connaître ces facteurs et les morsures comme facteur de transmission étaient les plus citées (97/252 ; 38,5%), alors que la transmission par inhalation, par les eaux usées, et par d'autres animaux n'ont été citées que par seulement (1/252 ; 0,4 %) pour chacun.

Généralement, selon Meerburg et al [24], les zoonoses des rongeurs sont transmises à l'homme directement ou indirectement soit par morsure, inhalation, ou par les aliments ou l'eau contaminés par des excréments ou par de l'urine de rongeurs [24]. Environ la moitié (54,4%) des participants n'avaient aucune connaissance des zoonoses. Entre autres, la peste était la plus citée (23,01%), la rage (7,54%) et la leptospirose (5,16%) étaient également citées. Certains des répondants citaient, le choléra (1,98%), et le paludisme (0,4%), cependant, le choléra et le paludisme sont considérées respectivement comme des maladies à transmission hydrique [225] et vectorielle [226].

La connaissance de la peste en tant que zoonose des rongeurs est probablement associée à l'historique de cette maladie en Algérie ; les archives rapportent des épidémies de peste au XIV^e siècle, affectant essentiellement les ports, notamment le port d'Oran en 1556 et 1678 (3 000 morts), et le port de Philippeville (aujourd'hui Skikda), en 1899. Plus tard, trois grandes épidémies ont été signalées par la suite ; en 1921 (185 cas), en 1931 (76 cas), et en 1944 (95 cas) ainsi que 158 cas sporadiques [227] [228]. Cependant, concernant la rage, les chiens sont la principale source de décès dus à la rage, contribuant jusqu'à 99 % de toute la transmission de la rage à l'homme [229].

Presque tous les répondants (90,5%) avaient des rongeurs autour ou à l'intérieur de leurs maisons, et (88,1%) contrôlaient la population de rongeurs, en utilisant des raticides (56,35%). Les raticides sont un moyen approprié, économique

et efficace de contrôle des infestations modérées à sévères de rats [230]. Cependant, un antidote doit être disponible pour inverser les effets d'une éventuelle ingestion du raticide par des espèces non ciblées [231] et ne peuvent réduire les populations de rats que pendant une courte période [161]. De plus, une extermination incomplète d'une population de rats peut même entraîner une augmentation temporaire de la taille de la colonie en raison d'une reproduction compensatoire massive [232]. Un contrôle efficace des rongeurs est cependant composé de cinq étapes : inspection, identification, mesures correctives et préventives, dératisation, et enfin évaluation et surveillance [233]. Pour quelques personnes, le choix était d'élever des prédateurs comme des chats, en effet, l'utilisation d'animaux prédateurs est un contrôle biologique des rongeurs, mais il a ses limites ; Mason et Littin (2003) [234] admettent que l'utilisation de prédateurs ne peut pas détruire une population de rats déjà établie, mais que sa croissance peut être limitée par leur présence.

Constamment, environ la moitié des répondants (48%) connaissait le mode de prévention et de prophylaxie, avec le nettoyage et l'hygiène comme principaux moyens pour éviter la transmission, les plus cités (32,9%), tandis que, seulement 3,2% des répondants pensaient que le ramassage des ordures et la vaccination sont des mesures préventives. L'application de mesures d'hygiène telles que l'élimination appropriée des ordures peut aider au contrôle de la population de rongeurs urbains [230] [235] et ainsi réduire les réservoirs de maladies zoonotiques.

7.10.2.3. Connaissance de la leptospirose

Concernant la leptospirose, seuls (14,7% ; 37/252) des répondants avaient entendu parler ou connaissaient la leptospirose, notre résultat est largement inférieur aux résultats enregistrés dans deux études menées au Brésil ; (90,3%) [236], (93,33%) [237] et à l'étude menée en Malaisie [238] ; où tous les répondants avaient entendu parler de la leptospirose ; le fardeau de la leptospirose est largement centré dans les régions tropicales et subtropicales telles que l'Asie du Sud-est et également dans les régions d'Amérique centrale et du Sud [239], ce fait peut expliquer la grande connaissance de la population sur la leptospirose dans ces régions. Cependant, au Nigeria, 95,8% des travailleurs des abattoirs avaient un faible niveau de connaissances sur la leptospirose [240].

Parmi les répondants, un seul (1/252 ; 0,4%) a eu la leptospirose une fois dans sa vie, et (5,2% ; 13/252) connaissait des personnes qui étaient atteintes par cette zoonose, dans l'étude menée au Brésil [237] 1,11% des personnes interrogées ont eu la leptospirose dans leur vie et 18,89% connaissaient quelqu'un qui avait la leptospirose. Interrogés sur les symptômes de la leptospirose (7,9% ; 20/252) ont déclaré avoir connaître les symptômes, et la fièvre a été citée par 17 répondants (6,75%), tandis que la jaunisse n'a été citée que par cinq répondants (2%). Notre résultat est conforme à l'étude menée au Sri Lanka [241] où la fièvre était le symptôme le plus cité 86,0% tandis que la jaunisse était le moins cité 14,6%. En général, tous les symptômes cités peuvent être liés à la leptospirose. Le faible niveau de connaissance de la leptospirose ainsi que ses symptômes peuvent s'expliquer par le fait que la leptospirose a été signalée comme étant une maladie tueuse silencieuse car la personne infectée sera asymptomatique ou éprouve des symptômes bénins qui peuvent être interprétés à tort comme une maladie pseudo-grippale typique jusqu'à ce qu'ils deviennent mortels [242].

De plus, les connaissances sur les modalités de transmission de la leptospirose étaient en général très faibles (26/252 ; 10,3%). La connaissance de la transmission par contact avec l'urine des rongeurs était aussi faible (11/252 ; 4,37%), comparé aux études menées au Brésil [236] et en Malaisie [238] où (56,4% et 73,7%) des répondants ont respectivement déclaré que l'homme contracte la maladie par contact avec l'urine de rats. Dans notre étude, aucune des contaminations indirectes n'a été citée. En même temps, une grande partie des répondants avaient une faible connaissance sur la transmission de la maladie à l'homme par le biais d'autres animaux, et les chiens et les chats n'étaient mentionnés que par respectivement 1,59% et 1,98% des répondants. Dans l'étude menée au Brésil [237], seuls (0,37%) des répondants pensaient que le chat est un animal transmetteur de la leptospirose. Cependant, l'infection humaine à *Leptospira* peut également résulté d'une exposition à l'urine infectée de non-rongeurs, notamment les chauves-souris, les ruminants, les carnivores, les primates, les sangliers, les cerfs et les chiens [243].

Malheureusement, concernant la prévention de la leptospirose, le niveau de connaissance est jugé comme faible (35/252 ; 13,9%), les répondants citaient le

ramassage des ordures (11,5%), le nettoyage et l'hygiène (12,3%), et le contrôle de la population de rongeurs (11,1%), effectivement, la leptospirose peut être prévenue en évitant tout contact direct ou indirect avec des animaux infectés, avec l'eau et les sols éventuellement contaminés, en portant des vêtements et des chaussures de protection, en maintenant une hygiène personnelle, et en protégeant toute plaie ou cicatrice avec un pansement médical et en buvant de l'eau propre [244].

Selon l'analyse de la régression, l'âge a été identifié comme un prédicteur significatif influençant les connaissances des répondants sur la leptospirose, une étude menée dans une communauté urbaine en Malaisie [245] a également montré que les répondants de moins de 32 ans étaient trois fois plus susceptibles d'avoir de bonnes connaissances sur la leptospirose. Cependant, une étude menée en Thaïlande sur la communauté rurale [246] a montré qu'il n'y avait pas de corrélation significative entre l'âge et le niveau de connaissance. Le niveau d'éducation s'est avéré être également associé aux connaissances sur la leptospirose, notre résultat est en accord avec l'étude menée en Thaïlande [246] et en contraste avec l'étude menée en Malaisie [245].

Dans notre enquête, la classe d'âge entre (20-30) ans, et les personnes avec un niveau universitaire semblaient avoir plus de connaissances sur la leptospirose ; nos résultats semblent logiques ; la classe d'âge entre (20-30) ans correspond à la classe des jeunes adultes qui sont généralement encore étudiants à l'université ou qui ont à peine terminé leurs études, cette catégorie de personnes a souvent la curiosité de savoir et est plus susceptible d'être attirée par les médias ; internet, radio, télévision et autres sources d'information sur les sujets cruciaux, dont les maladies.

Finalement, cette étude comportait plusieurs limites qu'il convient de souligner. Les résultats de notre étude ne peuvent pas être largement généralisés à l'ensemble de la population générale. De plus, les questions utilisées avaient pour la plupart un format ouvert exposant les participants à oublier de mentionner toutes les réponses possibles. Les répondants ont été choisis en fonction de leur acceptation de participer à l'étude exposant l'étude à un biais de sélection. De plus, plus de questions devraient être posées, par exemple si les répondants prenaient des mesures préventives pour éviter de contracter des zoonoses liées aux rongeurs. Néanmoins, nos résultats peuvent fournir une première information sur le niveau de

connaissance de la population générale sur les zoonoses liées aux rongeurs, en particulier la leptospirose dans la ville de Blida. Cependant, des études plus approfondies devraient être menées dans la zone étudiée et dans d'autres régions pour évaluer les connaissances, les attitudes et les pratiques des populations vis-à-vis les zoonoses des rongeurs afin de mettre en œuvre des stratégies meilleures et efficaces de prophylaxie.

Conclusion

En conclusion, selon nos connaissances, l'étude menée sur les rongeurs a montré pour la première fois la présence de *Leptospira* pathogènes chez les rongeurs sauvages en Algérie, avec une identification fine de l'espèce génomique. Au total, 40,6% des rongeurs capturés étaient porteurs. Les leptospires pathogènes ont été identifiés au niveau des reins, et des poumons, et au niveau des urines aussi. Le portage pulmonaire de *Leptospira* chez les rongeurs est décrit pour la première fois en Algérie. Les espèces *L. interrogans* et *L. borgpetersenii* ont été identifiées parmi les échantillons positifs. L'étude a permis de mettre en évidence donc, l'importance des rongeurs comme réservoir potentiel de leptospires à Blida, constituant ainsi un risque élevé de transmission à l'homme et à d'autres animaux. De plus, et pour avoir une idée générale des souches circulant en Algérie, ces résultats devraient être complétés par d'autres études réalisées dans le reste du pays.

L'étude menée par questionnaire dans la même région (Blida) a montré que la plupart des répondants considéraient les rongeurs comme des animaux dangereux et responsables de la transmission de maladies à l'homme. Cependant, les connaissances sur les formes de transmission, les zoonoses et la prévention étaient insuffisantes. Malheureusement, les répondants avaient une faible connaissance de la leptospirose, de sa transmission, des hôtes, et de sa prévention. Les résultats de cette étude suggèrent que la connaissance de la population générale sur le risque de transmission des zoonoses liées aux rongeurs, en particulier la leptospirose, doit être améliorée par la mise en place de programmes éducatifs appropriés ciblant des populations particulièrement à risque. Les médias peuvent en revanche être un moyen rapide et efficace pour sensibiliser le public.

RECOMMANDATIONS & PERSPECTIVES

La lutte contre les rongeurs semble être la solution de choix pour lutter contre la leptospirose. Néanmoins, la grande adaptabilité de ces espèces à différents environnements ainsi que la grande capacité de reproduction rend la lutte en milieu riche en ressources alimentaires, très difficile.

Toutefois, quelques actes peuvent être envisagés.

Une sensibilisation au pré des responsables de la santé dans la région doit être entreprise, afin de bien mettre sous lumière l'importance du rat comme réservoir de leptospires dans la région, et pour procéder à un bon programme de lutte contre ce rongeur.

Standardisation d'un questionnaire adéquat au pré de la santé publique, pour une bonne connaissance des facteurs de risques de la leptospirose humaine.

Une sensibilisation au pré des médecins privés et étatiques de la région de Blida, sur l'importance de la leptospirose afin de la prendre en considération lors du diagnostic puisque cette maladie peut prendre plusieurs formes cliniques.

Une sensibilisation des citoyens, dans le but de réduire les niches écologiques des rats (ramasser les ordures et éliminer les sources d'alimentation des rats).

Un bon contrôle de la population des animaux errants est recommandé, en particulier les chiens.

Impliquer un nombre plus important de rats, et réaliser une étude prolongée sur plusieurs années couvrant les quatre-saisons pour mieux expliquer la différence entre les sites, et les saisons.

Des recherches doivent être menées sur la leptospirose, visant éventuellement d'autres animaux, afin de mieux comprendre l'épidémiologie de cette infection dans la région. Les résultats de notre étude peuvent constituer ainsi une plateforme pour ces recherches.

APPENDICE A

LES ETAPES DE MENSURATION



Mesure de la tête avec pis à coulisse



Mesure de l'oreille



Mensuration pied



Mensuration tête et corps



Mensuration queue



Rattus norvegicus



Rattus rattus

APPENDICE B

LES ETAPES DU PRELEVEMENT



L'animal dans sa cage dans un sachet



Ajout d'un coton imbibé de l'ither diethylique



Sachet Bien fermé



Pesée en gramme



Animal fixé sur le dos



Incision de la peau



Prélevement des urines



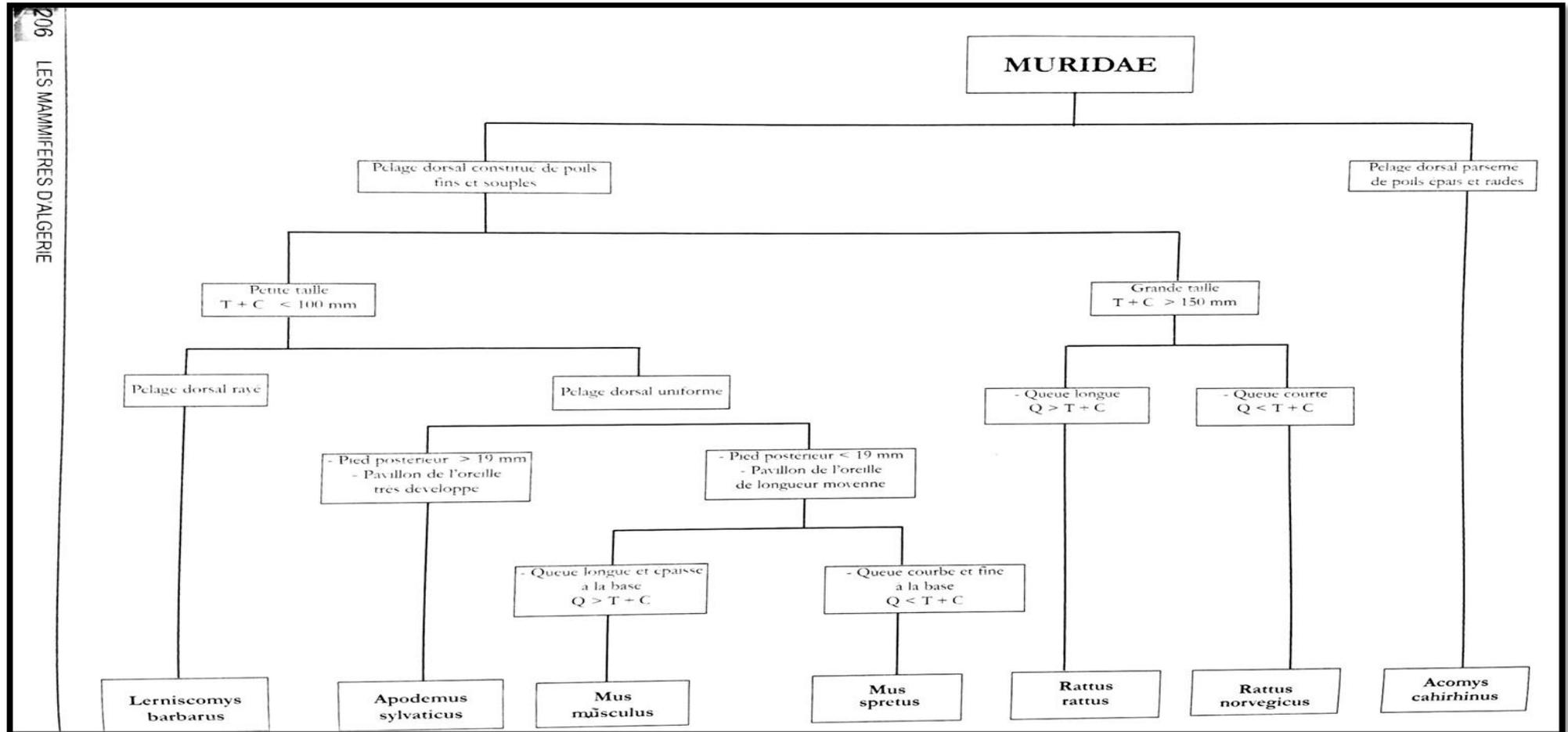
Prélevement des poumons



Prélevement d'un rein.

APPENDICE C

L'IDENTIFICATION DES RONGEURS [158]



APPENDICE D

RECAPE DES POSITIFS DE LA qPCR, TYPAGE, ET SEQUENCAGE

	Rodent's species ^a	Sexe	Age	Site ^b	Kidney		Lung		Urine	
					PCR/ rtPCR	Sequencing/ Typing	PCR/ rtPCR	Sequencing/ Typing	PCR/ rtPCR	Sequencing/ Typing
Rat 1	RN	Male	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-			
Rat 7	RN	Male	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	+	<i>L. interrogans</i>	+	unknown
Rat 8	RN	Female	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 9	RN	Male	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 10	RN	Male	Young	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 14	RN	Female	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat16	RN	Female	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 19	RN	Female	Adult	2 periurban	-		-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 20	RN	Male	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 25	RN	Female	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat26	RN	Male	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat29	RN	Male	Adult	1 urban	-		-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 30	RN	Female	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 34	RN	Female	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 41	RN	Female	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 46	RR	Male	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 48	RN	Male	Adult	2 periurban	+	<i>L.borgpetersenii</i>	-		-	
Rat 51	RN	Female	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 52	RN	Male	Adult	2 periurban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 55	RN	Male	Adult	5 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 57	RN	Female	Adult	3 rural	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 58	RN	Male	Adult	3 rural	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 59	RN	Male	Adult	3 rural	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 62	RN	Male	Adult	5 urban	+	unknown	-		-	
Rat 66	RN	Female	Adult	6 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 70	RN	Female	Adult	5 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 73	RN	Male	Adult	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 74	RN	Female	Adult	6 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 75	RN	Male	Adult	6 urban	+	<i>L. interrogans</i>	+	<i>L. interrogans</i>	-	
Rat 76	RN	Male	Adult	5 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 77	RN	Male	Adult	5 urban	-		+	<i>L. interrogans</i>	-	
Rat 80	RN	Female	Sub-	1 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	

			adult							
Rat 81	<i>RN</i>	Male	Adult	7 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 84	<i>RN</i>	Male	Adult	7 urban	-		-		+	<i>L. interrogans</i>
RAT 85	<i>RN</i>	Male	Adult	7 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 91	<i>RN</i>	Male	Adult	7 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 92	<i>RN</i>	Femelle	Adult	7 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		+	<i>L. interrogans</i>
Rat 93	<i>RN</i>	Male	Adult	9 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 95	<i>RN</i>	Femelle	Adult	9 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 96	<i>RN</i>	Femelle	Adult	9 urban	+	<i>L. interrogans</i>	-		-	
Rat 97	<i>RN</i>	Male	Adult	9 urban	-		-		+	<i>L. interrogans</i>

RN : *Rattus Norvegicus*

RR : *Rattus Rattus*

Site 1 36°27'45"N 2°50'15"E

Site 2 36°27'24"N 2°48'47"E

Site 3 36°30'28"N 2°53'48"E

Site 4 36°29'51"N 2°45'29"E

Site 5 36°29'57"N 2°50'43"E

Site 6 36°29'12"N 2°48'21"E

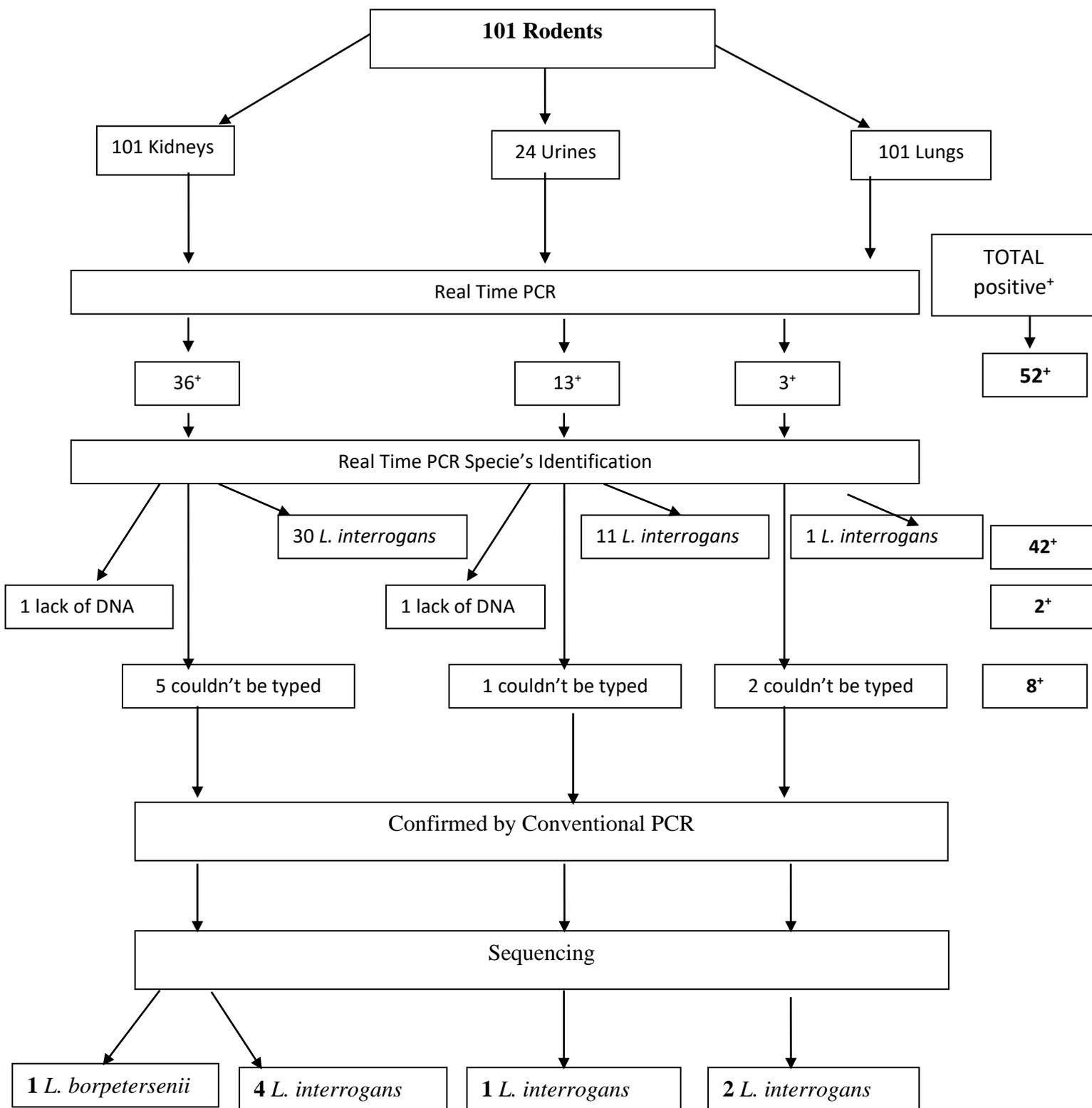
Site 7 36°28'52.8"N 2°51'04.5"E

Site 8 36°31'39.4"N 2°53'26.4"E

Site 9 36°28'02.6"N 2°49'16.3"E

APPENDICE E

Flow diagram résumant toutes les réactions PCR



APPENDICE F

AUTORISATION SERVICE D'HYGIENE BLIDA

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
WILAYA DE BLIDA
DAIRA DE BLIDA
COMMUNE DE BLIDA
BUREAU D'HYGIENE
BHC/...340.../2018

AUTORISATION

Suite à la demande du Dr LEKHAL LILA en date du 08 septembre 2018 concernant l'autorisation de dépôt de cage pour captage des rongeurs et prélèvements au niveau de la région de Blida, nous bureau d'hygiène et santé publique vous donne l'autorisation de procéder à votre travail pour la préparation du thèse du Doctorat .

Blida le 10 septembre 2018

Mr le chef de service du bureau d'hygiène



عن رئيس المجلس الشعبي البلدي
 وبتوافق من رئيس مصلحة الصحة العمومية
 إهداء: أحمد وششون

APPENDICE G

AUTORISATION LBRA

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITÉ DE BLIDA 1



**LABORATOIRE DE RECHERCHE
EN BIOTECHNOLOGIE LIÉE À LA REPRODUCTION**

Ref : 98/LBRA/Univ Blida/20



Blida le 18 Mai 2020

AUTORISATION POUR TRAVAUX DE RECHERCHE

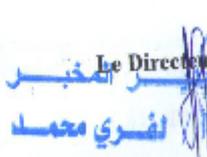
"Nous, Laboratoire de recherche en biotechnologies liées à la reproduction animale avons donné accord à Mme Lila LEKHAL, doctorante affiliée au niveau de notre laboratoire pour réaliser des travaux rentrant dans le cadre de préparation d'une thèse de doctorat.

A cet effet, les travaux sont entrepris sous la responsabilité des Professeurs Khelef Djamel et Kaidi Rachid, respectivement directeurs et co-directeurs de thèse de Mme Lekhal Lila.

Les animaux en question sont capturés dans des cages non traumatisantes, anesthésiés et sacrifiés selon le principe de l'éthique animale « ethical statment » que notre laboratoire adhère, pour l'encadrement de thèses. "

Le Directeur du laboratoire

Pr M LAFRI


Le Directeur
لفري محمد



APPENDICE H

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARN	: Acide ribonucléique
ARNr	: Acide ribonucléique ribosomal
C	: Corps
C	: Canine
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMJH	: Ellinghausen- McCullough modifié par Johnson et Harris
EPT	: Eau physiologique teponnée
I	: Insicive
IgG	: Immunoglobulines G
IgM	: Immunoglobulines M
IC	: Intervalle de Confiance
l	: litre
kb	: Kilobases
<i>L.biflexa</i>	: <i>Liptospira biflexa</i>
LCR	: Liquide Céphalo-Rachidien
<i>L. interrogans</i>	: <i>Liptospira interrogans</i>
Lip	: lipoprotéine
LPS	: lipopolysaccharide
M	: Molaire
MAT	: Macroscopique Agglutination Test
Mb	: Mégabase
ml	: millilitre
mm	: millimètre
mn	: Minute
nM	: Nanomètre
Na Cl	: Chlorure de Sodium
OMPs	: Outer Membran Protein

OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
OR	: Odds Ratio
OR	: Oreille
P	: Patte postérieure
P	: Pré molaire
PCR	: polymerase chain reaction
pH	: Potentiel hydrogène
PM	: Prémolaire
PSB	:Phosphate Buffered Saline
Q	: queue
ph. Perso	: Photo personnelle
rpm	: revolutions per Minute
S	: second
s.l.	: sensu lato
s.s.	: sensu stricto
T	: Tête
TLR	: Tol like receptor
μL	: microlitre
μm	: micromètre
μg	: microgramme

APPENDICE I

استبيان للسكان

- هذا الاستبيان موجه للأشخاص فوق السن خمسة عشر (15) - ضع اشارة امام الجواب الصحيح

الاسئلة الاجتماعية الديموغرافية

العنوان (اذكر فقط الحي و البلدية).....

العمر.....

الجنس.....

المستوى الدراسي

دون مستوى.....

الابتدائي.....

المتوسط.....

الثانوي.....

الجامعي.....

المهنة

المرأة الماكثة في البيت...

بدون عمل.....

متقاعد.....

طالب / تلميذ.....

المهنة الممارسة.....

الاسئلة عامة بخصوص الجرذان

هل تعتبر الجرذان حيوانات؟..... مزعجة او خطيرة

هل تعتقد أن الجرذان تنقل الأمراض إلى الإنسان؟..... نعم لا لا ادري

هل تعرف طريقة انتقال الامراض من الجرذان إلى الإنسان؟..... نعم لا

اذا نعم اذكر طريقة انتقال الامراض

هل تعرف الأمراض التي تنقلها الجرذان إلى الإنسان؟ نعم لا

هل يمكن ان تذكر الامراض التي تعرفها التي تنتقل من الجرذان إلى الإنسان؟

هل تعتقد أن الجرذان يمكن أن تنقل الأمراض إلى الحيوانات الأخرى؟

نعم لا لا ادري

هل تعتقد أن هذه الحيوانات يمكن بدورها أن تنقل هذه الأمراض إلى الإنسان؟

نعم لا لا ادري

هل يوجد جرذان في محيطك؟

نعم لا

هل تقوم بالقضاء على هذه الجرذان؟

نعم لا

هل تقوم بالقضاء عليهم عن طريق؟

الافخاخ السم طرق اخرى

اذا كانت الاجابة طرق اخرى فما هي هذه الطرق؟.....

هل تعرف طرق الوقاية من انتقال الامراض من الجرذان إلى الإنسان؟

نعم لا

اذا كان الجواب نعم اذكر طريقة الوقاية حسب رأيك

الاسئلة بخصوص مرض الصفراء (ليبتوسبيروز) الذي ينتقل عن طريق الجرذان

هل تعرف مرض الصفراء الذي ينتقل عبر الجرذان؟

نعم لا

هل مرضت من قبل بهذا المرض؟

نعم لا

هل تعرف احدا مرض به؟

نعم لا

هل تعرف اعراض هذا المرض؟

نعم لا

اذا كان الجواب نعم اذكر هذه الاعراض

هل تعرف طريقة انتقال هذا المرض من الجرذان الى الانسان؟

نعم لا

اذا كان الجواب نعم اذكر كيفية الانتقال

هل تعتقد ان هذا المرض يمكن ان ينتقل الى الانسان عن طريق حيوانات اخرى؟

نعم لا

اذا كان الجواب نعم اذكر بعض هذه الحيوانات

هل تعرف طريقة الوقاية من انتقال هذا المرض الى الانسان؟

نعم لا

في اعتقادك من بين الطرق التالية ما هي التي تحمي من انتقال هذا المرض إلى الإنسان؟

جمع القمامة مكافحة الجرذان عدم ترك تراكم المياه الراكدة

التنظيف مكافحة الحشرات مكافحة الحيوانات الضالة

ارتداء القفازات والأحذية عند البستنة أو أعمال الصرف الصحي

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Hartskeerl, R. A., Collares-Pereira, M., & Ellis, W. A., "Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world", *Clinical Microbiology and Infection*, V.17 n°4, (2011), 494–501.
2. Levett, P.N., "Leptospirosis", *Clinical Microbiology Reviews*, V. 14, n°2, (Avril 2001), 296-326.
3. Costa, F., Hagan, J.E., Calcagno, J., Kane, M., Torgerson, P., Martinez-Silveira, M.S., et al. "Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review", *PLoS Negl Trop Dis* V. 9, (2015), e0003898.
4. Bomfim, M.R.Q., Barbosa-Stancioli, E.F., Koury. M.C., "Detection of pathogenic leptospire in urine from naturally infected cattle by nested PCR", *Vet J*, V. 178 (2007), 251–6.
5. Levett PN. *Leptospira* and Leptospirosis. Systematics of Leptospiraceae. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015. V 387:11–20. Available from: <http://www.springer.com/us/book/9783662450581>.
6. NCBI National Center for Biotechnology Information database: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome> [accessed on 25 December 2021].
7. Amara Korba A, Lounici H, Kainiu M, Vincent AT, Mariet JF, Veyrier FJ, et al. *Leptospira ainlahdjerensis* sp. nov., *Leptospira ainazelensis* sp. nov., *Leptospira abararensis* sp. nov. and *Leptospira chreensis* sp. nov., four new species isolated from water sources in Algeria. *Int J Syst Evo Microbiol* 2021 Dec; 71(12). doi: 10.1099/ijsem.0.005148.
8. 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. and Vinetz, J.M. on behalf of the Peru–United States Leptospirosis Consortium., "Leptospirosis: a zoonotic disease of

global importance”, the Lancet infectious disease, V. 3, n° 12, (December 2003), 757-771.

9. Adler, B. and de la Peña Moctezuma, A., "Leptospira and leptospirosis", Veterinary Microbiology, V. 140, n° 3-4, (Janvier 2010), 287-296.

10. Boey, K., Shiokawa, K., Rajeev, S., "*Leptospira* infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution, PLoS Negl Trop Dis, V. 13, (2019), e0007499.

11. Ko, A.I., Goarant, C., Picardeau, M., "*Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen", Nat Rev Microbiol, V. 7, n°10, (2009), 736-47.

12. Ayral, F., Artois, J., Zilber, A.L., Widen, F., Pounder, K.C., Aubert, D., and Atrois, M., "The relationship between socioeconomic indices and potentially zoonotic pathogens carried by wild Norway rats: A survey in Rhône, France (2010-2012)", Epidemiology and Infection, V. 143 n°3, (2015), 586-599.

13. Trueba, G., Zapata, S., Madrid, K., Cullen, p., Haake, D., "Cell aggregation a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water", Inte Microbiol, V. 7, (2004), 35-40.

14. Chang, S.L., Buckingham, M., Taylor, M.P., "Studies on *Leptospira icterohaemorrhagiae*; survival in water and sewage; destruction in water by halogen compounds, synthetic detergents, and heat", J Infect Dis, V. 82 n°3, (Mai-juin 1948), 256-66.

15. Perolat, P., *LEPTOSPIRA* - Cours de Bactériologie Médicale. 2003. Université Médicale Virtuelle Francophone (UMVF) - Université Paris Descartes (12/02/2020). <http://www.microbes-edu.org/etudiant/Leptospira>.

16. Leptospirose, "informations et traitements", Institut Pasteur France, (2018).

17. Afiri, M., Toudeft, F., Ait Kaid, D., "Leptospirosis epidemic: 48 cases", Med Sante Trop, V. 23, (2013), 234.

18. Afiri, M., Amara Khorba, A., Ait Kaid, D., “Manifestations rénales de la leptospirose : 88 cas”, *Médecine et maladies infectieuses*, V. 43 (2013), 34.
19. Zaidi, S., Bouam, A., Bessas, A., Hezil, D., Ghaoui, H., Ait-Oudhia, K., Drancourt, M., Bitam, I., “Urinary shedding of pathogenic *Leptospira* in stray dogs and cats, Algiers: A prospective study”, *PLoS ONE*, V. 13, (2018), e0197068.
20. Derdour, S.Y., Hafsi, F., Azzag, N., Tennah, S., Laamari, A., China, B., Ghalmi, F., 2017. “Prevalence of The Main Infectious Causes of Abortion in Dairy Cattle in Algeria”, *J Vet Res*, V. 61, (2017), 337–343.
21. Benseghir, H., Amara-Korba, A., Azzag, N., Hezil, D., Ghalmi, F., “Seroprevalence of and associated risk factors for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo infection of cattle in Setif, Algeria”, *Afr. J. Clin. Exper. Microbiol*, V. 21 n°3, (2020), 185-191.
22. Yahiaoui, W.I., Amara-Korba, A., Aggad, H., Khelef, D., 2018. “Seroprevalence of leptospirosis in some farms of Algiers (Algeria)”, *Medicina Veterinara*, V. 51 n°3, (2018), 111-118.
23. Han BA, Kramer AM, Drake JM. Global patterns of zoonotic disease in mammals. *Trends Parasitol*. 2016; 32:565–577. [https://doi.org/ 10.1016/j.pt.2016.04.007](https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.007)
24. Meerburg BG, Singleton GR, Kijlstra A. Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Crit Rev Microbiol*. 2009; 35:221–270. <https://doi.org/10.1080/10408410902989837>
25. Walsh F. Human-animal bonds I: the relational significance of companion animals. *Fam Process*. 2009; 48(4):462–480. doi:10.1111/j.1545-5300.2009.01296.x
26. Faine, S., Adler B., Bolin, C. and Pérolat, P., “*Leptospira* and leptospirosis”, Melbourne, Australia: MediSci, (1999), 272 p.
27. Weil, A., “Ueber eine eigenthümliche, mit Milztumor, Icterus and Nephritis einhergehende, acute Infectionskrankheit”, *Deutsches Archiv für klinische Medizin*, V. 39, (1886), 209-232.

28. Landouzy, L.T.J., "Typhus hépatique", *Gazette des hôpitaux civils et militaires*, V. 56, (1883), 913-914.
29. Kobayashi, Y., "Discovery of the causative organism of Weil's disease: historical view", *Journal of Infection and Chemotherapy*, V. 7, n°1, (Mars 2001), 10-15.
30. Inada, R., Ido, Y., Hoki, R., Kaneko, R. and Ito, H., "The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica)", V. 23, n°3, (Mars 1916), 377-402.
31. Ido, Y., Hoki, R., Ito, H. and Wani H., "The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of Weil's disease (*Spirochaetosis icterohaemorrhagica*)", *J Exp Med*, V 26, n° 3, (Septembre 1917), 341-353.
32. KOSOSSEY-VRAIN, C., "La leptospirose canine: revue bibliographique ", *Med. Vét. ENVA*, N°135, (2004), 150p.
33. INSTITUT PASTEUR, Site de l'Institut Pasteur, introduction, visité 10/02/2014, <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/LepF.html>.
34. Johnson, R.C. and Rogers, P., "Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospire with 8-azaguanine", *J Bacteriol*, V 88, n° 6, (December 1964), 1618-1623.
35. Bontemps, M., "La leptospirose humaine en exercice vétérinaire ; point actuel du risque", Thèse Med. Pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I, n°063, (2012), 123p.
36. Boullier, S., S.Bertagnoli., "Point sur la vaccination contre la leptospirose canine en France," *La dépêche vétérinaire*, vol. 163, (2018) p. 12,13,14,15.
37. Kodjo., A., "Prérequis pour le diagnostic biologique de la leptospirose canine," *PratiqueVet*, vol. 52, (2017), pp. 146–149.
38. Desvars, A., "Epidémiologie d'une zoonose, la Leptospirose, dans deux îles de l'Océan Indien, la Réunion et Mayotte : étude comparée du rôle de différentes espèces sauvages et domestiques", Thèse de doctorat : Sciences technologies santé. Epidémiologie, Université de la Réunion, (2012), 340p.

39. Nennig, M., Profil sérologique et recherche de leptospires pathogènes par méthode PCR sur sang et urine de chiens apparemment sains : étude prospective sur 30 cas. Visité le 01/01/2017, (2012), <http://portaildoc-veto.vetagro-sup.fr/?q=node/122>.
40. Brenner, D.J., Kaufmann, A.F., Sulzer, K.R., Steigerwalt, A.G., Rogers, F.C. and 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*, V. 49, n° Pt 2, (April 1999), 839-858.
41. Wangroongsarb, P., Chanket, T., Gunlabun, K., Long, D.H., Satheanmethakul, P., Jetanadee, S., Thaipadungpanit, J., Wutheikanun, V., Peacock, S.J., Blacksell, S. D., Smythe, L.D., Bulach, D. M. and Kalambaheti, T., "Molecular typing of *Leptospira* spp. based on putative O-antigen polymerase gene (*wzy*), the benefit over 16S rRNA gene sequence", *Federation of European Microbiological Societies, FEMS Microbiol Lett*, V. 217 n° 2, (Jun 2007), 170-179.
42. Musso, D., La Scola, B., "Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge", *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, V. 46 n° 4, (2013), 245–252.
43. Xu, Y., Zhu, Y., Wang, Y., Chang, Y.F., Zhang, Y., Jiang, X., Wang, J., (2016). "Whole genome sequencing revealed host adaptation-focused genomic plasticity of pathogenic *Leptospira*", *Scientific Reports*, 6. (2016).
44. Greene, C.E., "Infectious Diseases of the Dog and Cat", Elsevier Health Sciences, 4th ed, (2013), 431-446.
45. Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J.E. and Sykes, J., "European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats", *The Journal of Small Animal Practice*, V. 56, (2015b), 159–179.
46. Marquez, A., Djelouadji, Z., Lattard, V., and A. Kodjo, A., "Overview of laboratory methods to diagnose Leptospirosis and to identify and to type leptospires", *Int. Microbiol.*, vol. 20, n°. 4, (2017), pp. 184–193.

47. Morey, R.E., Galloay, R.L., Bragg, S.L., Steigerwalt, A.G., Mayer, L.W., Levett, P.N., "Species-specific identification of Leptospiraceae by 16S rRNA gene sequencing", *Journal of Clinical Microbiology*, V. **44**, (2006), 3510–3516.
48. Picardeau, M., (2015). "Genomics, Proteomics, and Genetics of *Leptospira*. In B. Adler (Ed.), *Leptospira and Leptospirosis*", (2015), pp. 43–63.
49. Cordonin, C., Turpin, M., Bascands, J.-L., Dellagi, K., Mavingui, P., Tortosa, P., Roche, M., (2019). "Three *Leptospira* Strains From Western Indian Ocean Wildlife Show Highly Distinct Virulence Phenotypes Through Hamster Experimental Infection", *Frontiers in Microbiology*, V. 10, (2019).
50. Goldstein, R.E., "Canine Leptospirosis", *Vet Clin Small Anim Pract*, V. 40, n° 6, (November 2010), 1091-1101.
51. Faine, S. and 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*, V. 32, n° 4, (October 1982), 461-463.
52. Jirasak Wong-ekkabut, Sudarat Chadsuthi, Wannapong Triampo, Galayanee Dounghawee, Darapond Triampo and Chartchai Krittanai., "Leptospirosis research: Response of pathogenic spirochete to ultraviolet-A irradiation", *African Journal of Biotechnology*, V. 8, n° 14, (20 Juillet, 2009), 3341-3352.
53. Legrand, E., "La leptospirose bovine", Thèse d'exercice vétérinaire, Doctorat Vétérinaire Faculté De Médecine De Creteil, Alfort, (2007).
54. Cullen, P.A., Cordwell, S.J., Bulach, D.M., Haake, D.A. and Adler, B., "Global analysis of outer membrane proteins from *Leptospira interrogans* serovar Lai", *Infect. Immun*, V. 70, n° 5, (May 2002), 2311-2318.
55. Branger, C., Blanchard, B., Fillonneau, C., Suard, I., Aviat, F., Chevallier, B. and Andre-Fontaine, G., "Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene hap1 encoding the hemolysis-associated protein-1", *FEMS Microbiology Letters*, V. 243, n° 2, (February 2005), 437-445.

56. Cinco, M., Vecile, E., Murqia, R., Dobrina, P. and Dobrina, A., "Leptospira interrogans and Leptospira peptidoglycans induce the release of tumor necrosis factor alpha from human monocytes", FEMS Microbiol. Lett, V. 38, n° (2-3), (May 1996), 211-214.
57. Hovind-Hougen, K., "Morphologie des leptospires", Médecine et Maladies Infectieuses, V. 11, n° 2, (February 1981), 60-70.
58. Charon, N.W. and Goldstein S.F., "Genetics of motility and chemotaxis of a fascinating group of bacteria: The Spirochetes", Annu Rev Genet, V. 36, (Jun 2002), 47-73.
59. INSTITUT PASTEUR : (page consultée le 11/02/2018).
<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Leptospira.html>.
60. Merien, F. et Berlioz-Arthaud, A., "La leptospirose: une zoonose sous surveillance en nouvelle-caledonie et dans le pacifique", Revue Francophone des Laboratoires, V. 2005, n° 374, (June-July 2005), 45-50.
61. Hartmann, K. and Greene, C.E., "Diseases caused by systemic bacterial", In: Textbook of Veterinary Medicine, (6^{ème} édition), Ettinger, S.J. and Feldman, E.C, Elsevier Saunders, (2005), 616-630.
62. Green, C.E., Sykes, J.E., Brown, C.A. and Hartmann, K., "Infectious diseases of the dog and cat", Green CE editor, Philadelphia, USA: Saunders, (2006), 402-417.
63. Yang, C.M., Wu, M.S., Pan, M.J., Hsieh, W.J., Vandewalle, A. and Huang, C.C., "The Leptospira outer membrane protein LipL32 induces tubulointerstitial nephritis-mediated gene expression in mouse proximal tubule cells", J Am Soc Nephrol, V. 13, n° 8, (August 2002), 2037-2045.
64. Hanson, L.E., "Pathogenesis of leptospirosis". In: Russell, C. J., The biology of parasitic spirochetes, Academic Press, (1976), 295-306.
65. Harkin, K.R., Roshto, Y.M., Sullivan, J.T., Purvis, T.J. and Chengappa, M.M., "Comparison of polymerase chain reaction assay, bacteriologic culture, and serologic

testing in assessment of prevalence of urinary shedding of leptospire in dogs”, J. Am. Vet. Med. Assoc, V. 222, n° 9, (May 2003), 1230-1233.

66. Mielcark, M., “Diversité des Rongeurs et des Leptospiroses en Asie du Sud-Est”, Editions Universitaires Européennes, Allemagne, (Mars 2012), 156 p.

67. Merien, F., Baranton, G., Perolat, P., “Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence”, Infect. Immun, V. 65, n° 2, (February 1997), 729-738.

68. Barocchi, M.A., Ko, A.I., Reis, M.G., McDonald, K.L., Riley, L.W., “Rapid translocation of polarized MD-CK cells monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but non intracellulaire pathogen”, Infect Immun, V. 70, n° 12, (December 2002), 6926-6932.

69. Thomas, D.D. and Higbie, L.M, “In vitro association of *Leptospire* with host cells”, Infect Immun, V. 58, n° 3, (Mars 1990), 581-585.

70. Merien, F., Truccolo, J., Raugier, Y., Baranton, G. and Perolat, P., “ In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae*”, FEMS Microbiol Lett, V. 169, n° 1, (December 1998), 95-102.

71. Nahori, M.A., Fournié-Amazouz, E., Que-Gewirth, N.S., Balloy, V., Chignard, M., Raetz, C.R., Saint Girons, I. and Werts, C., “Differential TLR recognition of leptospiral lipid A and lipopolysaccharide in murine and human cells”, The journal of Immunology, V. 175, n° 9, (November 2005), 6022-6031.

72. Chassin, C., Picardeau, M., Goujon, J.M., Bourhy, P., Quellard, N., Darche, S., Badell, E., D’andon, M.F., Winter, N., Lacroix-Lamandé, S., Buzoni-Gatel, D., Vandewalle, A. and werts, C., “TLR4- and TLR2-mediated B cell responses control the clearance of the bacterial pathogen, *Leptospira interrogans*”, The journal of Immunology, V. 183, n° 4, (August 2009), 2669-2677.

73. Haake, D.A. and Matsnaga, J., “*Leptospira*: a spirochaete with a hybrid outer membrane”, Molecular Microbiology, V. 77, n° 4, (Jun 2010), 805-814.

74. Stevenson, B., Choy, H.A., Pinne, M., Rotondja, M.L., Miller, M.C., Demoll, E., Kraiczy, P., Cooley, A.E., Creamer, T.P., Suchard, M.A., Brissette, C.A., Verma, A. and Haake, D.A., "*Leptospira interrogans* endostatin-like outer membrane proteins bind host fibronectin, laminin and regulators of complement", *PloS One*, V. 2, n° 11, (November 2007), e1188.
75. Lin, Y.P., McDonough, S.P., Sharma, Y. and Chang, Y.F., "Leptospira immunoglobulin-like protein B (LigB) binding to the C-terminal fibrinogen α C domain inhibits fibrin clot formation, platelet adhesion and aggregation", *Mol Microbiol*, V. 79, n° 4, (February 2011), 1063-1076.
76. Adler, B., Lo, M., Seemann, T. and Murray, G.L., "Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics", *Vet Microbiol*, V. 153, n° 1-2, (November 2011), 73-81.
77. Ristow, P., Bourhy, P., Da Cruz McBride, F.W., Figueira, C.P., Huerre, M., Ave, P., Girons, I.S., Ko, A.I. and Picardeau, M., "The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence", *Plos Pathog*, V. 3, n° 7, (July 2007b), e97.
78. Haake, D.A., Chao, G., Zuerner, R.L., Barnett, J.K., Barnett, D., Mazel, M., Matsunaga, J., Levett, P.N. and Bolin, C.A., "The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection", *Infect Immun*, V. 68, n° 4, (April 2000), 2276-2285.
79. Murray, G.L., Srikram, A., Hoke, D.E., Wunder, E.A jr., Henry, R., Lo, M., Zhang, K., Sermswan, R.W, Ko, A.I. and Adler, B., "Major surface protein LipL32 is not required for either acute or chronic infection with *Leptospira interrogans*", *Infect Immun*, V. 77, n° 3, (Mars 2009), 952-958.
80. Guerreiro, H., Croda, J., Flannery, B., Mazel, M., Matsunaga, J., Galvão, Reis, M., Levett, P.N., Ko, A.I. and Haake, D.A., "Leptospiral proteins recognized during the humoral immune response to leptospirosis in humans", *Infect Immun*, V. 69, n° 8, (August 2001), 4958-68.
81. 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. and Zhao, G.P., "Unique physiological and pathogenic features of *Leptospira interrogans* revealed by whole-genome sequencing", *Nature*, V. 422, n° 6934, (April 2003), 888-893.

82. Greene, C.E., Miller MA, Brown, C.A., "Leptospirosis, in Green CE [ed]: Infectious Diseases of the Dog and Cat", Philadelphia, WB Saunders, 1998, p 275 (1990), p 500.

83. OIE, "Chapitre 3.1.12 Leptospirose (Version adoptée en 2014), In manuel des tests de diagnostic et vaccis pour les animaux terrestres, (2018), P 509.

84. Ahmad, S.N., Shah, S., Ahmad, F.M., Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*, V. 51 n° 3, (2005), 195–200.

85. Turner, L.H., "Leptospirosis III. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire", *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, V. 64, n° 4, (1970), 623-646.

86. Vijayachari, P., Sugunan, A.P., Umapathi, T. and Sehgal, S.C., "Evaluation of darkground microscopy as a rapid diagnostic procedure in leptospirosis", *The Indian Journal of Medical Research*, V. 114, (August 2001), 54-58.

87. Ellis, W. A. (2015). Animal Leptospirosis. In B. Adler (Ed.), *Leptospira and Leptospirosis*, (2015), pp. 99–137.

88. Limmathurotsakul, D., E. L. Turner, V. Wuthiekanun, J. Thaipadungpanit, Y. Suputtamongkol, W. Chierakul, L. D. Smythe, N. P. J. Day, B. Cooper & S. J. Peacock (2012) Fool's Gold: Why Imperfect Reference Tests Are Undermining the Evaluation of Novel Diagnostics: A Reevaluation of 5 Diagnostic Tests for Leptospirosis. *Clinical Infectious Diseases*, 55, 322-331.

89. Picardeau, M., "Diagnosis and epidemiology of leptospirosis", *Medecine Et Maladies Infectieuses*, V. 43, (2013), P 1-9.

90. Harkin, K.R., Roshto, Y.M., Sullivan J. T., “Clinical application of a polymerase chain reaction assay for diagnosis of leptospirosis in dogs”, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, V. 222, (2003), 1224-1229.
91. Smythe, L. D., Smith, I. L., Smith, G. A., Dohnt, M. F., Symonds, M. L., Barnett, L. J., McKay, D. B., “A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp”, *BMC Infectious Diseases*, V. 2, (2002), 13.
92. Thaipadungpanit, J., Chierakul, W., Wuthiekanun, V., Limmathurotsakul, D., Amornchai, P., Boonlip, S., Smythe, L.D., Limpai boon, R., Hoffmaster, A.R., Day, N.P.J., Peacock, S.J., “Diagnostic accuracy of real-time PCR assays targeting 16S Rrna and lipL 32 genes for human leptospirosis in Thailand: a case-control study”, *PLoS ONE*, V. 6, (2011),16236.
93. Mérien, F., Amouriaux, P., Pérolat, P., Baranton, G. and Saint-Girons, I., “Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical sample”, *J Clin Microbiol*, V. 30, n° 9, (September 1992), 2219-2224.
94. Tansuphasiri, U., Chanthadee, R., Phulsuksombati, D., Sangjun, N., “Development of a duplex-polymerase chain reaction for rapid detection of pathogenic *Leptospira*”, *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*, V. 37, (2006), 297-308.
95. Gravekamp, C., Van de Kemp, H., Franzen, M., Carrington, D., Schoone, G. J., Van Eys, G. J. J. M., Everard, C. O. R., Hartskeerl, R. A., Terpstra, W. J., Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. *Microbiology*, V. 139, (1993), 1691–1700.
96. Slack, A. T., Symonds, M. L., Dohnt, M. F., Smythe, L. D., “Identification of pathogenic *Leptospira* species by conventional or real-time PCR and sequencing of the DNA gyrase subunit B encoding gene”, *BMC Microbiology*, V. 6, (2006), P 95.
97. Bourhy, P., Bremont, S., Zinini, F., Giry, C., Picardeau, M., “Comparison of Real-Time PCR Assays for Detection of Pathogenic *Leptospira* spp. in Blood and Identification of Variations in Target Sequences”, *Journal of Clinical Microbiology*, V. 49, (2011), 2154-2160.

98. Cheema, P. S., Srivastava, S. K., Amutha, R., Singh, S., Singh, H., Sandey, M., "Detection of pathogenic leptospire in animals by PCR based on lipL21 and lipL32 genes", *Indian Journal of Experimental Biology*, V. 45, (2007) 568-573.
99. Kawabata, H., Dancel, L. A., Villanueva, S. Y., Yanagihara, Y., Koizumi, N., Watanabe, H., "flaB-polymerase chain reaction (flaB-PCR) and its restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis are an efficient tool for detection and identification of *Leptospira* spp.", *Microbiology and Immunology*, V. 45, (2001), 491–496.
100. Reitstetter, R. E., "Development of species-specific PCR primer sets for the detection of *Leptospira*", *FEMS Microbiology Letters*, V. 264, (2006), 31-39.
101. Palaniappan, R. U., Chang, Y. F., Chang, C. F., Pan, M. J., Yang, C. W., Harpending, P., McDonough, S. P., Dubovi, E., Divers, T. & other authors. "Evaluation of *lig*-based conventional and real time PCR for the detection of pathogenic leptospire", *Molecular and Cellular Probes*, V. 19, (2005), 111–117.
102. Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V., "How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America", *Infection Control and Hospital Epidemiology*, V. 18, (1997), 426-439.
103. Ahmed, A., Engelberts, M. F., Boer, K. R., Ahmed, N., & Hartskeerl, R. A., "Development and Validation of a Real-Time PCR for Detection of Pathogenic *Leptospira* Species in Clinical Materials", *PLoS One*, V. 4,(2009), e7093.
104. Bedir, O., Kilic, A., Atabek, E., Kuskucu, A.M., Turhan, V., & Basustaoglu, A.C., "Simultaneous detection and differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Leptospira* spp. by multiplex real-time PCR (TaqMan) assay", *Polish Journal of Microbiology*, V. 59, (2010), 167–173.
105. Toyokawa, T., Ohnishi, M. and Koizumi, N., "Diagnosis of acute leptospirosis", *Expert Review of Anti-infective Therapy*, V. 9, n° 1, (January 2011), 111-1210.

106. Adler, B., Murphy, A.M., Locarnini, S.A. and Faine, S., "Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 11, n° 5, (May 1980), 452-457.
107. Chernukha, Y.G., Shishkina, Z.S., Baryshev, P.M. and Kokovin, I.L., "The dynamics of IgM-and IgG-antibodies in leptospiral infection in man", *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe A: Medizinische Mikrobiologie und Parasitologie*, V. 236, n° 2-3, (November 1976), 336-343.
108. Adler, B., Cousins, D.V., Faine, S. and Robertson, G.M., "Bovine IgM and IgG response to *Leptospira interrogans* serovar hardjo as measured by enzyme immunoassay", *Veterinary Microbiology*, V. 7, n° 6, (December 1982), 577-585.
109. Silva, M.V., Camargo, E.D., Batista, L., Vaz, A.J., Brandão, A.P., Nakamura, P.M. and Negrão, J.M., "Behaviour of specific IgM, IgG and IgA class antibodies in human leptospirosis during the acute phase of the disease and during convalescence", *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, V. 98, n° 4, (August 1995), 268-272.
110. Cousins, D.V., Robertson, G.M. and Hustas, L., "The use of the enzyme-linked immunosorbent-assay (ELISA) to detect the IgM and IgG antibody-response to *Leptospira interrogans* serovars *Hardjo*, *Pomona* and *Tarassovi* in cattle", *Veterinary Microbiology*, V. 10, n° 5, (August 1985), 439-450.
111. Terpstra, W.J., Ligthart, G.S. and Schoone, G.J., "ELISA for the detection of specific IgM and IgG in human leptospirosis", *Journal of General Microbiology*, V. 131, n° 2, (February 1985), 377-385.
112. da Silva, M.V., Nakamura, P.M., Camargo, E.D., Batista, L., Vaz, A.J., Romero, E.C. and Brandao, A.P., "Immunodiagnosis of human leptospirosis by dot-ELISA for the detection of IgM, IgG, and IgA antibodies", *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, V. 56, n° 6, (Jun 1997), , 650-655.

113. Cumberland, P., Everard, C.O., Wheeler, J.G. and Levett, P.N., "Persistence of anti-leptospiral IgM, IgG and agglutinating antibodies in patients presenting with acute febrile illness in Barbados 1979–1989", *European Journal of Epidemiology*, V. 17, n°7, (2001), 601-608.
114. Subharat, S., Wilson, P.R., Heuer, C. and Collins-Emerson, J.M., "Evaluation of a SYTO9 real-time polymerase chain reaction assay to detect and identify pathogenic *Leptospira* species in kidney tissue and urine of New Zealand farmed deer", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, V. 23, n°4, (July 2011), 743-752.
115. Faine, S., "Guidelines for leptospirosis control", World Health Organization, Geneva, (1982). 171p.
116. Cumberland, P., Everard, C.O. and Levett, P.N., "Assessment of the efficacy of an IgM-ELISA and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis", *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, V. 61, n° 5, (November 1999), 731-734.
117. Cole, J.R. Jr., Sulzer, C.R. and Pursell, A.R., "Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test", *Applied Microbiology*, V. 25, n° 6, (Jun 1973), 976-80.
118. Thiermann, A.B., "Isolation of leptospirae in diagnosis of leptospirosis", *Modern Veterinary Practice*, V. 65, n° 10, (October 1984), 758-759.
119. Chappel, R.J., Goris, M., Palmer, M.F. and Hartskeerl, R.A., "Impact of proficiency testing on results of the microscopic agglutination test for diagnosis of leptospirosis", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 42, n° 12, (December 2004), 5484-5488.
120. Katz, A.R., Effler, P.V. and Ansdell, V.E., "Comparison of serology and isolates for the identification of infecting leptospiral serogroups in Hawaii", 1979-1998. *Tropical Medicine & International Health*, V. 8, n° 7, (July 2003), 639-642.
121. O'Keefe, J.S., "A brief review on the laboratory diagnosis of leptospirosis", *New Zealand Veterinary Journal*, V. 50, n°1, (February 2002), 9-13.

122. Winslow, W.E., Merry, D.J., Pirc, M.L. and Devine, P.L., "Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 35, n° 8, (August 1997), 1938-1942.
123. Aslantaş, Ö., "Determination of the Seroprevalence of Leptospirosis in Cattle by MAT and ELISA in Hatay, Turkey", *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, V. 29, n° 4, (July 2005), 1019-1024.
124. Brandão, A.P., Camargo, E.D., da Silva, E.D., Silva, M.V. and Abrão, R.V., "Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 36, n° 11, (November 1998), 3138-3142.
125. Sakhaee, E., Abdollahpour, Gh.R., Bolourchi, M., Hasani Tabatabayi, A.M. and Sattari Tabrizi, S., "Serologic and bacteriologic diagnosis of bovine leptospirosis in Tehran suburb dairy farms", *Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz*, V 8, n° 4, (November 2007), 325-332.
126. Lizer, J., Grahlmann, M., Hapke, H., Velineni, S., Lin, D., Kohn, B., "Evaluation of a rapid IgM detection test for diagnosis of acute leptospirosis in dogs", *Veterinary Record*, V. 180, (2017), P 517.
127. Lizer, J., Velineni, S., Weber, A., Krecic, M., Meeus, P., "Evaluation of 3 Serological Tests for Early Detection Of Leptospira-specific Antibodies in Experimentally Infected Dogs", *Journal of Veterinary Internal Medicine*, V. 32, (2018), 201-207.
128. Arimitsu, Y., Kmety, E., Ananyina, Y.V., Baranton, G., Ferguson, I.R., Smythe, L. and Terpstra, W.J., "Evaluation of the one-point microcapsule agglutination test for diagnosis of leptospirosis", *Bulletin of the World Health Organization* 72, n° 3, (1994), 395-399.
129. Terzin, A.L., "Leptospiral Antigens for Use in Complement Fixation Boiling of the Cultures and Acetone Treatment", *The Journal of Immunology*, V. 76, (May 1956), 366-372.

130. Appassakij, H., Silpapojakul, K., Wansit, R. and Woodtayakorn, J., "Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis", *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, V. 52, n° 4, (April 1995), 340-343.
131. Sulzer, C.R., Glosser, J.W., Rogers, F., Jones, W.L. and Frix, M., "Evaluation of an indirect hemagglutination test for the diagnosis of human leptospirosis", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 2, n° 3, (September 1975), 218-221.
132. Ramadass, P., Samuel, B. and Nachimuthu, K., "A rapid latex agglutination test for detection of leptospiral antibodies", *Veterinary Microbiology*, V. 70, n° (1-2), (October 1999), 137-140.
133. Smits, H.L., Ananyina, Y.V., Cheresky, A., Dancel, L., Lai-A-Fat, R.F., Chee, H.D., Levett, P.N., Masuzawa, T., Yanagihara, Y., Muthusethupathi, M.A., Sanders, E.J., Sasaki, D.M., Domen, H., Yersin, C., Aye, T., Bragg, S.L., Gussenhoven, G.C., Goris, M.G., Terpstra, W.J. and Hartskeerl, R.A., "International Multicenter Evaluation of the Clinical Utility of a Dipstick Assay for Detection of *Leptospira*-Specific Immunoglobulin M Antibodies in Human Serum Specimens", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 37, n° 9, (September 1999), 2904-2909.
134. Plank, R. and Dean, D., "Overview of the epidemiology, microbiology and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans", *Microbes and Infection*, V. 2, n° 10, (August 2000), 1265-1276.
135. Guerra, M.A., "Leptospirosis", *Journal of American Veterinary Medical Association*, V. 234, n° 4, (February 2009), 472-478.
136. Dolhnikoff, M., Mauad, T., Bethlem, E. P., Carvalho, C. R., "Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis", *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, V. 11, (2007), 142-148.
137. Martinez Garcia, M. A., de Diego Damia, A., Menendez Villanueva, R., Lopez Hontagas, J. L., "Pulmonary involvement in leptospirosis", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, V. 19, (2000), 471-474.

138. Vinetz, J. M., Glass, G. E., Flexner, C. E., Mueller, P., Kaslow, D. C., "Sporadic urban leptospirosis", *Annals of internal medicine*, V. 125, (1996), 794-798.
139. Carvalho, C.R.R., & Bethlem, E.P., "Pulmonary complications of leptospirosis", *Clinics in Chest Medicine*, V. 23, (2002), 469-478.
140. Brod, C. S., Aleixo, J.A.G., Jouglard, S. D. D., Fernandes, C. P. H., Teixeira, J. L. R., Dellagostin, O. A., "Evidence of dog as a reservoir for human leptospirosis: a serovar isolation, molecular characterization and its use in a serological survey", *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba*, v. 38, n. 4, (2005), p. 294-300.
141. Jansen, A., Schoneberg, I., Frank, C., Alpers, K., Schneider, T., Klaus, S., "Leptospirosis in Germany, 1962-2003", *Emerging Infectious Disease*, Atlanta, Georgia, v. 11, n. 7, (2005), p. 1048-54.
142. Prescott, J. F., "Canine leptospirosis in Canada: a veterinarian's perspective", *Canadian Medical Association*, Canadá, v. 178, n. 4, (2008), p. 397-398.
143. Sonrier, C., Branger, C., Michel, V., Ruvoen-Clouet, N., Ganiere, J. P., Andre-Fontaine, G., "Evidence of cross-protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model". *Vaccine*, V. 19, (2000), 86–94.
144. Greenlee, J. J., Alt, D. P., Bolin, C. A., Zuerner, R. L., Andreasen, C.B., "Experimental canine leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* serovars Pomona and Bratislava". *American Journal of Veterinary Research*, V. 66, (2005), 1816–1822.
145. Sykes, J. E., Hartmann, K., Lunn, K. F., Moore, G. E., Stoddard, R. A., Goldstein, R. E., "2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention". *Journal of Veterinary Internal Medicine*, V. 25, (2011), 1–13.
146. Bertasio, C., Beatrice Boniotti, M., Lucchese L., Ceglie, L., Bellinati, L., Mazzucato, M., Furlanello, T., D'Incau, M., Natale, A., "Detection of New *Leptospira* Genotypes Infecting Symptomatic Dogs: Is a New Vaccine Formulation Needed?", *Pathogens*, V9, (2020), 484.

147. De paula Dreer, M.K., Gonçalves, D.D., da Silva Caetano, I.C., Gerônimo, E., Menegas, P.H., Bergo, D., Ruiz Lopes-Mori, F.M., Benitez, A., de Freitas, J.C., Evers, F0, et al, "Toxoplasmosis, leptospirosis and brucellosis in stray dogs housed at the shelter in Umuarama municipality, Panama, Brazil", *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, V. 19, (2013), 23-30.
148. Chideroli, R. T., Pereira, U. P., Gonçalves, D. D., Nakamura, A. Y., Alfieri, A. A., Alfieri, A. F., Freitas, J. C., "Isolation and molecular characterization of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo strain Hardjobovis in the urine of naturally infected cattle in Brazil", *Genetics and molecular research: GMR*, (2016), 15(1).
149. Lucchese, L., Benkirane, A., Hakimi, I., Idrissi, A. E., Natale, A. "Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco", *Veterinaria Italiana*, V. 52, (2015), 13–19.
150. Samina, .I, Brenner, J., Moalem, U., Berenstein, M., Cohen, A., Peleq, B.A., "Enhanced antibody response in cattle against *L. Hardjo*. by intradermal vaccination" *Vaccine*, V. 5 (12,13), (1997), 1434-1436.
151. Sharma, S., Vijayachari, P., Sugunan, A. P., Roy, S., Natarajaseenivasan, K., "Seroprevalence and Carrier Status for Leptospirosis in Cattle and Goats in Andaman Island, India". *Journal of Veterinary Science & Technology*, V. 5, (2014), 205.
152. Martins, G., Lilenbaum, W., "Leptospirosis in sheep and goats under tropical conditions". *Tropical animal health and production*, V. 46, (2014), 11–17.
153. Turk, N., Milas, Z., Habuš, J., Majetić, Z. Š., Perko, V. M., Barbić, L., Stevanović, V., Perharić, M., Starešina, V., "Equine leptospirosis in Croatia-occurrence of subclinical infections and abortions". *Veterinarski arhiv*, V. 83, (2013), 253–262.
154. Finger, M. A., Barros Filho, I. R. D., Leutenegger, C., Estrada, M., Ullmann, L. S., Langoni, H., Kikuti, M., Dornbush, P.T., Biondo, A. W., "Serological and molecular survey of *Leptospira* spp. Among cart horses from an endemic area of human leptospirosis in Curitiba, Southern Brazil". *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, V. 56, (2014), 473–476.

155. Louarn, H. L., Quéré J.P., “*Les rongeurs de France: faunistique et biologie*”. Editions Quae. (2003).
156. Ribeiro do Valle Teixeira, I., Gris, C. F., “Genetic diversity of grains, storage pests and their effects on the worldwide bean supply”, Nova Science Publishers, In book: Beans: Nutrition, Consumption and Health. 2011 - 353 p.
157. Thomson, V., Aplin, K. P., Cooper, A., Hisheh, S., Suzuki, H., Maryanto, I., et al. 2014. “Molecular Genetic Evidence for the Place of Origin of the Pacific Rat, *Rattus exulans*”. *PLoS ONE*, V. 9 (3), (2014), e91356.
158. Ahmim, M., “Les mammifères d’Algérie des origines à nos jours”, (2004), pages 199, 200, 203 et 206.
159. Ahmim, M., “Les mammifères sauvages d’Algérie Répartition et Biologie de la Conservation”. Les Editions du Net, (2019), 978-2312068961. hal-02375326, 289P.
160. Bridier, E., Aure, F., Mottier, F., Nivet, A., Lai-Man, G. and Boyer, N., “Les rongeurs à la Réunion, sources de nombreux fléaux”, *Phytoma Déf. Vég*, V. 595, (July 2006), 9-12.
161. Battersby, S., Hirschhorn, B.R., Amman, R.B., “Commensal rodents”. In Bonnefoy, X., Kampen, H., Sweeney, K., “Public health significance of urban pests”, Copenhagen, World Health Organization. (2008), 387-419.
162. Mathias, M.A., Ricaldi, M., Cespedes, M., Diaz., M.M., Galloway, R.L., Saito.M., Steigerwalt, A.G., Patra, K.P., Ore, C.V., Gotuzzo, E., Gilman, R.H., Levett, P.N. Vinetz, J.M., “Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique *Leptospira* associated with *Rattus* species reservoir in the Peruvian Amazon”, *PLoS.Dis*, V. 2, n° 4, (Apr 2008), 1-12.
163. Villanueva, S. Y. A. M., M. Saito, R. A. Baterna, C. A. M. Estrada, A. K. B. Rivera, M.C. Dato et al. “Leptospira-Rat-Human Relationship in Luzon, Philippines”. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, V. 16, n° 11, (2014), 902-10.
164. Gaudie, C. M., Featherstone, C. A., Phillips, W. S., McNaught ,R., Rhodes, P. M., Errington, J., et al. “Human *Leptospira Interrogans* Serogroup

Icterohaemorrhagiae Infection (Weil's Disease) Acquired from Pet Rats". *The Veterinary Record*, V. 163, n° 20, (2008), 599-601.

165. Inge, M. Krijger, Ahmed A. A. Ahmed, Marga G. A. Goris, Peter W. G. Groot Koerkamp, and Bastiaan G. Meerburg "Prevalence of *Leptospira* Infection in Rodents from Bangladesh" *nt. J. Environ. Res. Public Health*. 2019, 16-2113.

166. Houemenou, G., Ahmed, A., Libois, R., Hartskeerl, R. A., "Leptospira spp. Prevalence in Small Mammal Populations in Cotonou, Benin". Hindawi Publishing Corporation *ISRN Epidemiology*, V. 2013, (2013), Article ID 502638, 8 pages.

167. Millán, J., Cevidanes, A., Chirife, A.D., Candela, M.G., León-Vizcaino, L., 2018. "Risk factors of *Leptospira* infection in Mediterranean periurban micromammals". *Zoonoses Public Health* 65(1):e79-e85.

168. P. Le Turnier, P., Epelboin, L., "Mise au point sur la leptospirose". *Revue de Medecine Interne*, (2018), pp. 1–7.

169. Bertherat, E., "La leptospirose: une maladie émergente ou un problème émergent?" *Bull. épidémiologique Hebd.* 8-9, (2017), p. 130.

170. Durski, K. N., Jancloes, M., Chowdhary, T., Bertherat, E., "A Global, Multi-Disciplinary, Multi-Sectorial Initiative to Combat Leptospirosis: Global Leptospirosis Environmental Action Network (GLEAN)", *Int. J. Environ. Res. Public Heal.*, V. 11, (2014), 6000–6008.

171. Données du ministère de la santé.

172. Monahan, A.M., Callanan, J.J. and Nally, J.E., Review paper: "Host-pathogen interactions in the kidney during chronic leptospirosis", *Vet Pathol* V. 46, n° 5, (September 2009), 792-799.

173. Baranton, G., Old, I.G., "The Spirochaetes: a different way of life", *Bull Inst Pasteur*, V. 93, n°2, (1995) 63-95.

174. Vinetz, J.M., Wilcock, B.A., Aguirre, A., Gollin, L.X., Katz, A.R., Fujioka RS., Maly, K., Horwitz, P. and Chang, H., "Beyond disciplinary boundaries: leptospirosis

as a model of incorporating transdisciplinary approaches to understand infectious disease emergence”, *EcoHealth*, V. 2, (November 2005), 291-306.

175. Levillain, A., “La leptospirose aux Antilles”, *Mémoire de l’Ecole Nationale de la Sante Publique, France*, (2001), 49p.

176. Nardone, A., Campese, C., Capek, I., “Les facteurs de risques de leptospirose en France métropolitaine Une étude cas-témoin”, *Rapport de l’institut national de médecine agricole et l’institut de veille sanitaire français*, (2000), 54p.

177. Ristow, P., “La leptospirose: les défis actuels d’une ancienne maladie”, *Bull. Acad. Vét. France*, V. 160, n° 4, (2007a).

178. Sharma, M. and Yadav, A., “Leptospirosis: Epidemiology, Diagnosis, and Control”, *Journal of Infectious Diseases and Antimicrobial Agents*, V. 25, (May-August 2008), 93-103.

179. Palaniappan, R., Ramanujam, S., Chang, Y., “Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis”, *Curr Opin Infect Dis*, V. 20 n°3, (2007), 284–292.

180. Catalina, P., “Leptospirose et entreprises. Conduite à tenir” (2004), 5p.

181. Houpikian, P., Perolat, P., Baranton, G. and Brouqui, P., “Leptospiroses”, *Encycl Med Chir (Editions Scientifiques et Medicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses*, 8-039-Q-10, (2002), 14 p.

182. Mohamed-Hassan, S.N., Bahaman, A.R. Mutalib and Khairani-Bejo, S., “Prevalence of Pathogenic Leptospire in Rats from Selected Locations in Peninsular Malaysia”, *Research Journal of Animal Sciences*, V. 6, n°1, (2012), 12-25.

183. Agence Nationale d’Intermédiation et de Régulation Foncière/Monographie de la wilaya de BLIDA, Ministère de l’Industrie <https://www.aniref.dz/DocumentsPDF/monographies/MONOGRAPHIE%20WILAYA%20BLIDA.pdf>

184. Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Benet, J.J., Shaw, A., Mouton, F. and Louza, A., "Epidemiologie Appliquée à la lutte contre les maladies animales transmissibles majeures", deuxième édition, France, (2001), p 693.

185. Samir A, Soliman R, El-Hariri M, Abdel-Moein K, Hatem ME. Leptospirosis in animals and human contacts in Egypt: broad range surveillance, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Jun 2015 ; 48(3):272-277.

186. Herbreteau V, Jittapalapong S, Rerkamnuaychoke W, Yannick Chaval Y, Cosson JF, et al. Protocols for field and laboratory rodent studies, Bangkok: Kasetsart University Press; 2011. p 22, 23.

187. Public Health Pesticide Applicator Training Manual index, <http://entomology.ifas.ufl.edu/fasulo/vector/>, site visité le 06/06/2022.

188. Waggoner JJ, Balassiano I, Abeynayake J, Sahoo MK, Mohamed-Hadley A, Liu Y, et al. Sensitive Real-Time PCR Detection of Pathogenic *Leptospira spp.* and a Comparison of Nucleic Acid Amplification Methods for the Diagnosis of Leptospirosis. PLoS ONE. 2014; 9(11): e112356.

189. Ferreira AS, Costa P, Rocha T, Amaro A, Vieira ML, Ahmed A, et al. Direct Detection and Differentiation of Pathogenic *Leptospira* Species Using a Multi-Gene Targeted Real Time PCR Approach. PLoS ONE. 14 novembre 2014; 9(11): e112312.

190. Postic D, Riquelme-Sertour N, Merien F, Perolat P, Baranton G. 2000. Interest of partial 16S rDNA gene sequences to resolve heterogeneities between *Leptospira* collections: application to *L. meyeri*. *Research in Microbiology*. 2000; 151:333–341.

191. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

192. Ruedas LA. 2016. *Rattus norvegicus* (errata version published in 2020). IUCN Red List of Threatened Species. <https://www.iucnredlist.org>.

193. Krystufek B, Palomo L, Hutterer R, Mitsain G, Yigit N. *Rattus rattus* (errata version published in 2017). IUCN Red List of Threatened Species <https://www.iucnredlist.org>.

194. Musser G, Hutterer R, Krystufek B, Yigit N, Mitsain G. *Mus musculus* (errata version published in 2017). IUCN Red List of Threatened Species <https://www.iucnredlist.org>.
195. Wobeser, G., "Investigation and management of disease in wild animals", Ed. Plenum Press, New York, (1994), 265p.
196. Fromont, E. et Sophie Rossi, S., "Echantillonnage en faune sauvage : Quelques questions sur la taille d'échantillon", *Epidémiol. et santé anim*, V. 37, (2000), 11-19.
197. Dobigny G, Garba M, Tatar C, Loiseau A, Galan M, Kadaouré I, et al. Urban Market Gardening and Rodent-Borne Pathogenic *Leptospira* in Arid Zones: A Case Study in Niamey, Niger. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(10): e0004097.
198. Felt SA, Wasfy MO, El-Tras WF, Samir A, Rahaman AB, Boshra M, et al. Cross-species surveillance of *Leptospira* in domestic and peri-domestic animals in Mahalla City, Gharbeya Governorate, Egypt. *Am J Trop Med Hyg*. 2011; 84(3):420-425.
199. Halliday JoEB, Knobel DL, Allan KJ, Bronsvort BMC, Handel I, Agwanda B, et al. Urban Leptospirosis in Africa: A Cross-Sectional Survey of *Leptospira* Infection in Rodents in the Kibera Urban Settlement, Nairobi, Kenya. *Am J Trop Med Hyg*. 2013; 89(6): 1095–1102.
200. Izquierdo-Rodriguez E, Fernández-Álvarez A, Martín Carrillo N, Marchand B, Feliu C, Miquel J, et al. Pathogenic *Leptospira* species in rodents from Corsica (France). *PLoS ONE*. 2020; 15(6): e0233776.
201. Vitale M, Agnello S, Chetta M, Amato B, Vitale G, Bella CD, et al. Human leptospirosis cases in Palermo Italy. The role of rodents and climate. *Journal of Infection and Public Health*. 2018; 11(2): 209-214.
202. Zilber AL, Belli P, Artois M, Kodjo A, Djelouadji Z. First Observation of *Leptospira interrogans* in the Lungs of *Rattus norvegicus*. *BioMed Research International*. 2016; 2016: e9656274.

203. Athanazio DA, Silva EF, Santos CS, Rocha GM, Vannier-Santos MA, McBride AJA, et al. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Tropica*. 2008; 105(2):176–180.
204. Ratet G, Veyrier FJ, d'Andon MF, Kammerscheit X, Nicola MA, Picardeau M, et al. Live Imaging of Bioluminescent *Leptospira interrogans* in Mice Reveals Renal Colonization as a Stealth Escape from the Blood Defenses and Antibiotics. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8(12): e3359.
205. Griffiths J, Yeo HL, Yap G, Mailepessov D, Johansson P, Low HT, et al. Survey of rodent-borne pathogens in Singapore reveals the circulation of *Leptospira* spp., Seoul hantavirus, and *Rickettsia typhi*. *Scientific Reports*. 2022 ; 12:2692.
206. Biscornet L, Révillion C, Jégo S, Lagadec E, Gomard Y, Gildas Le Minter, et al. Predicting the Presence of Leptospire in Rodents from Environmental Indicators Opens Up Opportunities for Environmental Monitoring of Human Leptospirosis. *Remote Sens*. 2021 ; 13, 325.
207. Piredda I, Ponti MN, Palmas B, Noworol M, Pedditzi A, Rebechesu L, et al. Molecular Typing of Pathogenic *Leptospira* Species Isolated from Wild Mammal Reservoirs in Sardinia. *Animals*. 2021; 11(4): 1109.
208. Krojgaard, L. H. *et al.* High prevalence of *Leptospira* spp. in sewer rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiol. Infect.* 2009; 137, 1586–1592.
209. Santos AAN, Ribeiro PS, da Franca GV, Souza FN, Ramos EAG, Figueira CP et al. *Leptospira interrogans* biofilm formation in *Rattus norvegicus* (Norway rats) natural reservoirs. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021; 15(9): e0009736.
210. Desvars-Larrive A, Smith S, Munimanda G, Bourhy P, Waigner T, Odom M, et al. Prevalence and risk factors of *Leptospira* infection in urban brown rats (*Rattus norvegicus*), Vienna, Austria. *Urban Ecosystems*. 2020; 23(12):775–784.
211. Minter A, Himsforth CG, Byers KA, Childs JE, Ko AI, Costa F. Tails of Two Cities: Age and Wounding Are Associated With Carriage of *Leptospira interrogans* by Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in Ecologically Distinct Urban Environments. *Front. Ecol. Evol*. 2019; 7:14.

212. Minter, P J Diggle PJ, Costa F, Childs J, Ko AI, M Begon M. Evidence of multiple intraspecific transmission routes for *Leptospira* acquisition in Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiol Infect.* 2017; 145:3438–3448.
213. Theuerkauf J, Perez J, Taugamo A, Niutoua I, Labrousse D, Bogdanowicz W, et al. Leptospirosis risk increases with changes in species composition of rat populations. *Naturwissenschaften.* 2013; 100:385–8.
214. Schweinfurth MK. The social life of norway rats (*Rattus norvegicus*). *Elife.* 2020; 9:1–26.
215. Mohamed-Hassan SN, Bahaman AR, Mutalib AR, Khairani-Bejo S. Serological prevalence of leptospiral infection in wild rats at the National Service Training Centres in Kelantan and Terengganu. *Trop Biomed.* 2010; 27:30–2.
216. Guiry E.; Buckley, M. Urban rats have less variable, higher protein diets. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 2018; 285, 20181441.
217. Desvars-Larrive A, Baldi M, Walter T, Zink R, Walzer C. Brown rats (*Rattus norvegicus*) in urban ecosystems: Are the constraints related to fieldwork a limit to their study? *Urban Ecosyst.* 2018; 21, 951–964.
218. Perez J, Brescia F, Becam J, Carine Mauron C, Cyrille Goarant C. Rodent Abundance Dynamics and Leptospirosis Carriage in an Area of Hyper-Endemicity in New Caledonia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5 (10): e1361.
219. Salgado M, Otto B, Sandoval E, Reinhardt G, Boqvist S. A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira* spp. serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile. *BMC Veterinary Research* 2014; 10: 126.
220. Moseley MH, Naidoo K, Bastos A, Retief L, Freaan J, Telfer S, et al. Multi-locus sequence analyses reveal a clonal *L. borgpetersenii* genotype in a heterogeneous invasive *Rattus spp.* community across the City of Johannesburg, South Africa. *Research Square. Parasites & Vectors.* 2020; 13: 570-9.

221. Rahelinirina S, Bourhy P, Andriamiaramanana F, Garin B, Rajerison M. High Prevalence of *Leptospira spp.* in Rodents in an Urban Setting in Madagascar. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2019; 100(5): 1079–1081.
222. Shinya S, Muraoka Y, Negishi D, Koizumi N. Molecular epidemiology of *Leptospira spp.* among wild mammals and a dog in Amami Oshima Island, Japan. *PLoS ONE.* 2021; 16(4): e0249987.
223. Cordonin C, Turpin M, Bringart M, Bascands JL, Flores O, Dellagi K, et al. Pathogenic *Leptospira* and their animal reservoirs: testing host specificity through experimental infection. *Scientific Reports.* 2020; 10(1):7239.
224. Bulach DM, Zuerner RL, Wilson P, Seemann T, McGrath A, Cullen PA, et al. Genome reduction in *Leptospira borgpetersenii* reflects limited transmission potential. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 2006; 103(39): 14560 –14565.
225. Cholera Cheesbrough M. District laboratory practice in tropical countries part 2. Cambridge University Press, New York; 2006. ISBN-13 978-0-511-34842-6.
226. World Health Organization Regional Office for South-East Asia. Anopheline Species Complexes in South and South-East; World Health Organization Regional Office for South East Asia: New Delhi, India, 2007; pp. 102.
227. Bulletin sanitaire. Gouvernorat General de l'Algérie. 1909–1941. p. 94–524.
228. Mafart B, Brisou P, Bertherat E. Epidémiologie et prise en charge des épidémies de peste en Méditerranée au cours de la Seconde Guerre Mondiale. *Bull Soc Pathol Exot.* 2004;97:306–10.
229. WHO. Rabies. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies>. Accessed 12 Mars 2022.
230. Corrigan, M.R. *Rodent control: A practical guide for pest management professionals*. Moreland, D. édition, Cleveland, GIE Media, 2001; 355 p. (Collection Pest control technology).

231. Centers for disease control and prevention. *Integrated pest management: conducting urban rodent surveys*. Atlanta, U.S. Department of Health and Human Services, 2011; 19 p.
232. Greaves, J.H., Hammond, L.E. and Bathard, A.H., "The control of re-invasion by rats of part of a sewer network", *The Annals of Applied Biology*, V. 62, n°2, October 1968; 341–351.
233. Karla Patrícia Brito de Araújo Vieira (2012) Restructuring shares of rodent control actions in the city of Jabotão Guararapes/PE.
234. Mason, G. and Littin, E.K. The humanness of rodent pest control. *Animal Welfare*, 2003; vol. 12, p. 1-37.
235. Sarisky, P.J., Hirschhorn, B.R. and Baumann, J.G. (2008). Integrated pest management. In Bonnefoy, X., Kampen, H. et Sweeney, K., *Public health significance of urban pests* (p. 543- 562). Copenhagen, World Health Organization. ISBN # 978-92-890-7188-8.
236. Wildo Navegantes de Araujo, Brooke Finkmoore, Guilherme S. Ribeiro, Renato B. Reis, Ridalva D. M. Felzemburgh, José E. Hagan, Mitermayer G. Reis, Albert I. Ko, and Federico Costa. Knowledge, Attitudes, and Practices Related to Leptospirosis among Urban Slum Residents in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 88(2), pp. 359–363 doi:10.4269/ajtmh.2012.12-0245.
237. Bruna Helena, Carlos Efrain Stein, Thaís Helena Szabo Castro, Bruna Carvalho da Silva, Catiane Baumgärtel, Kaiane Pereira, Milena Capo dos Santos and Marina Cardoso Fernandes "Evaluation of the Level of Knowledge of the Population and Risk Factors Related to Leptospirosis in an Endemic City" *Int Arch Public Health Community Med* 2020, 4:034 Volume 4 | Issue 1.
238. Nur Juliani Shafie, Najma Syahmin Abdul Halim, Mohamed Nor Zalipah, Nur Amalin Zahirah Mohd Amin, Sharifah Masit'ah Syed Esa, Shukor Md-Nor, Arnau Casanovas Massana, Albert I. Ko, Fabiana Palma, Fabio Neves Souza, and Federico Costa "Knowledge, Attitude, and Practices regarding Leptospirosis among Visitors to

a Recreational Forest in Malaysia” *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2021; 104(4), pp. 1290–1296 doi:10.4269/ajtmh.20-0306.

239. Amilasan, A.S.; Ujiie, M.; Suzuki, M.; Salva, E.; Belo, M.C.; Koizumi, N.; Yoshimatsu, K.; Schmidt, W.P.; Marte, S.; Dimaano, E.M.; et al. Outbreak of leptospirosis after flood: The Philippines 2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2012, 18, 91–94.

240. Abiayi, E.A.; Inabo, H.I.; Jatau, E.D.; Makinde, A.A.; Sar, T.T.; Ugbe, D.A.; Kumbish, P.R.; Okewole, P.A. Knowledge, attitudes, risk factors and practices (KARP) that favor leptospiral infection among abattoir workers in North Central Nigeria. *Asian J. Epidemiol.* **2015**, 8, 104–113.

241. Suneth B Agampodi, Thilini C Agampodi, Eranga Thalagala, Sahan Perera, Shashika Chandraratne, Shantushya Fernando « Do People Know Adequately about Leptospirosis? A Knowledge Assessment Survey in Post-outbreak Situation in Sri Lanka” *International Journal of Preventive Medicine*, Vol 1, No 3, Summer 2010.

242. Haake DA, Levett PN. Leptospirosis in humans. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2015; 387: 65–97.

243. Andersen-Ranberg EU, Phipper C, Jensen PM. Global patterns of *Leptospira* prevalence in vertebrate reservoir hosts. *J Wildl Dis.* 2016; 52: 468–477.

244. WHO, 2011. Leptospirosis. Geneva: an emerging public health problem. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/241706> Accessed Mars 29, 2022.

245. Abdullah NM, Mohammad WMZW, Shafei MN, Sukeri S, Idris Z, Arifin WN, Nozmi N, Saudi SNS, Samsudin S, Zainudin AW, Hamat RA, Ibrahim R, Masri SN, Saliluddin SM, Daud A, Osman M, Jamaluddin TZMT. “Leptospirosis and its prevention: knowledge, attitude and practice of urban community in Selangor, Malaysia”. *BMC Public Health*, 22 May 2019, 19(1):628.

246. Wiwanitkit V, “A note from a survey of some knowledge aspects of leptospirosis among a sample of rural villagers in the highly endemic area, Thailand” *Rural and Remote Health*. Mars 2006; 6(1):526.