



392THV-1

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de recherche scientifique

Université SAAD DAHLEB -BLIDA-

Faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme de docteur vétérinaire

Thème

**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA
LEPTOSPIROSE CHEZ LES ANIMAUX**

Réalisé par :

TERFI SARRA

KERRIOU SABRINA

Devant :

- Président : Mr. Khaled /MAB
- Examinatrice : Mme.Mekademi/ docteur vétérinaire
- Promoteur : Mr.Merdja Salah eddine/MAB

2009-2010

REMERCEMENT

Tout d'abord et avant tout je remercie « Allah » le tout puissant et le clément de nous avoir donnés assez de courage et de force pour élaborer et présenter ce modeste travail.

Remerciement et gratitude à Monsieur BERBER ALI, notre chef de département.

Sincères remerciements et gratitudes sont à notre promoteur monsieur MERDJA SALAH EDDINE, pour nous avoir soutenus, encouragé, conseiller dans le cadre de l'élaboration de notre mémoire.

Nos remerciement vont aussi au membre du jury Mr Khaled et Mme Mekademi d'accepter de juger notre memoire.

Nos pensés vont aussi au corps professoral de leur savoir qui nous ont transmis tout au long de notre cycle.

Pour toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, l'expression de notre profonde gratitude.

SABRINA + SARRA

DEDICACE

« Je tiens en premier lieu à remercier Allah le tous puissant »

Je dédie ce travail

À ma source de confiance et de force, mon très cher père.
Aucun dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

À ma très chère mère, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ce travail est le fruit de votre amour, votre confiance et vos sacrifices. Que dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie

À la mémoire de mon cher frère Ismail, ta mort bouleversa le monde entier. J'ai passé un pénible moment grâce à ton absence.
Tu es toujours présent dans mon cœur, que dieu t'accorde sa miséricorde

À ma chère sœur Rafika, son époux Aminé et leur petit ange Ismail

À ma petite sœur Mofida, ma fidèle accompagnante dans les moments les plus délicats de cette vie.

À mes chers frères Hady Mohamed et Walid, pour leur soutien moral,

Les mots ne suffisent guère pour exprimer
l'attachement et l'amour que je porte pour vous

À mon oncle Bencherki, merci de votre courage et confiance

À mon oncle Mahmoud et sa famille.

À mes tantes, mes oncles chacun son nom et toutes ses familles.

À mes grands-mères et pères

À mon cousin **Mossab**, merci de ton aide et ta gentillesse, tu es agréable

À mes chères cousines **Bakhtouta et Farah**
À ma chère **Samo**

À l'adorable amie sœur **Sabrina**, et sa famille, en témoignage de notre
amitié, nos jours, nos nuits blanches, nos aventures et tout moment qu'on
avait passé ensemble. Je t'aime ma chère

À mes âmes sœurs **Sarah et Lydia**, pour votre amour, vos conseils et
encouragements, vous êtes les meilleures.

À mes meilleures ami (es) **Imène, Abd el Malék, Ratiba, Ismail, Dounia,**
Abdou, Sofian, Fatiha et Ghania

À toutes celle et tous ceux qui ont participé de près
Ou de loin à ma formation

SARRA

DEDICACE

« Je tiens en premier lieu à remercier « Allah » le tout puissant »

Je dédie ce travail

A mes parents, tout en leur exprimant ma reconnaissance pour le soutien et les encouragements qu'ils m'ont accordé de ma scolarité jusqu'à l'université, sans mes parents je crois qu'il me serait très difficile d'y accéder à ce diplôme.

Merci pour votre soutien constant et votre patience qui m'ont permis d'arriver là.

Merci pour votre confiance sans cesse renouvelée

A mes sœurs : Nabila, Lila.

A ma petite sœur : assia ; Félicitation pour ta réussite , tu la mérites

A mon frère : Adel

A la mémoire de ma grande mère

A ma grande famille : Kerriou et Rezgui

A mes très cher (es) cousins et cousines

A mon fiancé Mounir et toute sa famille

A ma inoubliable : âme sœur et mon binôme Sarra et toute sa famille ,et surtout sa sœur Moufida : félicitation pour ta réussite .

A mes amies : Dounia, Imene, Ratiba, amina, samira, karima et Ghania

Enfin, a toutes personnes que j'ai connues pendant mon cursus universitaire et avec qui j'ai partagé d'agréables moments.

SABRINA

Résumé :

La leptospirose, maladie infectieuse atteignant l'homme et les animaux, est considérée comme la zoonose la plus répandue dans le monde, elle est responsable de graves épidémies dans plusieurs pays.

Son agent causal, est une bactérie du genre *leptospira*, de forme hélicoïdale, extrêmement mobile.

Les leptospiroses animales touchent plusieurs espèces de mammifères, et même des oiseaux, batraciens et les reptiles peuvent aussi être infectés, ils développent des formes aigue, subaiguë, suraiguë et chroniques de la maladie.

La prévention contre la leptospirose fondée sur la prophylaxie sanitaire, car les vaccins utilisés sont spécifiques du sérovar et n'offrent qu'une protection de courte durée donc elle a des effets limités pour l'homme et l'animal.

Mots clés : Leptospirose- zoonose –sérovars – *Leptospira* –épidémie.

Summary:

Leptospirosis, an infectious disease reaching humans and animals, is considered the most widespread zoonosis in the world, she is responsible for serious epidemics in several countries.

Its causative agent is a bacterium of the genus *Leptospira*, helical shape, extremely mobile. The main reservoirs are rodents and particularly rats. The clinical picture varies because of the diversity of the genus *Leptospira* and a complex epidemiology.

The animal leptospirosis involving several species of mammals and even birds, amphibians and reptiles may also be infected, they develop both acute, subacute, chronic and hyperacute disease.

Prevention against leptospirosis based on disease control, because the vaccines are serovar specific and provide only short-term protection so it has limited effects for humans and animals.

Keywords: Leptospirosis-zoonosis-serovars - *Leptospira*-epidemic.

الخلاصة

يعتبر داء اللولبية الخطيرة من أكثر الأمراض المعدية و المتنتقلة بين الإنسان و الحيوان في العديد من بلدان العالم. وكيها المسبب للمرض هو بكتيريا من جنس البريمات , حلزونية الشكل و المتنتقلة للغاية. و تختلف الصورة السريرية حسب جنس البريمات المعقدة ينتقل داء اللولبية بين العديد من الثدييات بحيث تنطوي بداخلها لتتطور إلى مراحل تظهر خلالها أعراض المرض.

لمنع انتشار مرض البريمات و الحد من أثاره للبشر و الحيوانات استند الأخصائيون إلى عملية التطعيم رغم أن هذه الأخيرة تقي من الالتهابات و توفر الحماية على المدى القصير.

كلمات البحث: داء اللولبية النحيفة - حيواني المنشأ - وباء - البريمات

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1/HISTORIQUE	2
2/CLASSIFICATION	3
3/ MORPHOLOGIE DES LEPTOSPIRES	5
3 -1/ Morphologie externe	
3-2/ Ultra structure par microscopie électronique	
3-2-1/ l'enveloppe externe	
3-2-2/Flagelles ou filaments axiaux	
3-2-3/ Le cylindre protoplasmatique	
4/METABOLISME DES LEPTOSPIRES	8
5/CULTURE DES LEPTOSPIRES.....	9
6/RESISTANCE DESLEPTOSPIRES	9
7/ MULTIPLICATION DES LEPTOSPIRES	10
8/LES SUBSTANCES ELABOREES PAR LES LEPTOSPIRES ET LEURS POUVOIRS PATHOGENES.....	10
9-1/ Lipopolysaccharide (LPS)	
9-2 / Toxines	
9-3/Hémolysines	
10/ LA PATHOGENIE	12
10-1/Phase de contamination	
10-2/Phase de dissémination	
10-3/Phase de multiplication	

11/ EPIDEMIOLOGIE.....	15
11-1 / Source et transmission des leptospires :	
11- 2/ Lieu de vie	
11-3/ Réceptivité et sensibilité des espèces :	
11-4/ Saison	
11- 5 /Contamination	
11-5-1 /Contamination directe	
11-5-2/ Contamination Indirecte	
12/SYMPTOMES ET LESIONS	21
12-1/ SYMPTOMES	21
12-1-1 /Forme suraiguë	
12-1-2/ Forme aiguë	
12-1-3/ Forme subaiguë	
12-1-4/ Infections chroniques	
12- 1-4-1/ Insuffisance rénale chronique	
12- 1-4-2/ Atteinte hépatique chronique	
12-1-4-3 / Atteinte oculaire chronique	
12-2/ LESIONS	27
12-2-1/ Lésions macroscopiques nécropsiques	
12-2-2/ Histologie	
12-2-2-1/Reins	
12-2-2-2/ Foie	
12-2-2-3 /Poumons	

13/DIAGNOSTIC	29
13-1 / Diagnostic épidémiologique et clinique	
13- 2 / Diagnostic différentiel	
13-3 / Diagnostic direct	
13-3-1/ Isolement du germe	
13-3-2 /Prélèvements	
13- 4/diagnostic indirect	
14/ECHOGRAPHIE ET RADIOGRAPHIE.....	32
14-1/Echographie	
14-2/Radiographie	
14-2-1/ Radiographie abdominale	
14-2-2/ Radiographie thoracique	
15 / TRAITEMENT	35
16/ PROPHYLAXIE.....	36
16-1/ Prophylaxie sanitaire	
16-2/ Prophylaxie médicale :(vaccination)	
CONCLUSION.....	40
BIBLIOGRAPHIE	

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Liste des sérogoupes et serovars pathogènes les plus importants.....	04
épidémiologique chez l'animal (classification sérologique)	
Tableau n° 2 : principaux réservoirs	18
Tableau n°3 : Caractéristiques cliniques essentielles de la leptospirose chez	24
l'animal	

Listes des figures

Figure n°1 : Image du <i>leptospira sp</i> (par microscope électronique)	05
Figure n°2 : Ultrastructure des leptospires pathogènes.....	08
Figure n° 3 : Etapes de l'infection par des leptospires.....	14
Figure n°4 : Etiologie de la leptospirose.....	17
Figure n°5 : Représentation schématique de la transmission des leptospires.....	20
Figure n°6 : Coupes histologiques d'organes de cobaye infecté pa <i>L. interrogans</i>	27
Figure n°7 : Evolution des possibilités diagnostiques en fonction du temps.....	32

Liste des abréviations

- **Lig** = **Leptospira Ig like**
- **Nm** = **nanomètre**
- **LPS** = **lipopolysaccharides**
- **Kb** = **kilo bases**
- **EMJH** = **milieu d'Ellinghausen et Mc Cullough modifié par Jonhson et Harris**
- **LBP** = **lipopolysaccharides binding protein**
- **IL1** = **interleukine 1**
- **TNF** = **tumor necrosis factor**
- **CIVD** = **coagulation intra vasculaire disséminée**
- **LCR** = **liquide céphalo-rachidien**
- **EDTA** = **éthylène diamine tétra acétique**
- **PCR** = **polymérase Chain reaction**
- **PFGE** = **Pulsed-field gel electrophoresis**

Introduction

La leptospirose est une zoonose à répartition mondiale, en France métropolitaine environ 300 personnes chaque année, soit une incidence annuelle de 0,4 à 0,5/100 000 habitants. A titre de comparaison, aux Etats-Unis, l'incidence est de 0,02 cas pour 100 000 habitants mais elle peut au contraire être jusqu'à 100 ou 1000 fois plus élevée dans les régions tropicales, comme les collectivités d'Outre-mer françaises ou de nombreux pays d'Amérique Latine et d'Asie du Sud-est [54] . On estime à plus de 500 000 le nombre de cas sévères de leptospirose par an dans le monde avec un taux de mortalité supérieur à 10 %. due à une bactérie gram négatif appartenant à l'ordre des Spirochètes. Sa possible transmission à l'homme et sa potentielle gravité, ainsi que le rôle épidémiologique de l'animal dans cette transmission en font une maladie importante aussi bien en médecine humaine que vétérinaire.

Dans les pays occidentaux, c'est une maladie à la fois professionnelle qui touche les éleveurs, le personnel de voirie, les vétérinaires, et une maladie de loisirs (baignade en eau douce, pêche,...), les leptospires étant très présentes dans le milieu naturel

Ce manuscrit présente une synthèse bibliographique sur la leptospirose chez les animaux.

1/HISTORIQUE :

A la fin du XIXème siècle, des descriptions font état d'entités cliniques associant ictère et insuffisance rénale aigue chez des égoutiers. [1] Quelques années plus tard, en 1886, Adolf Weil identifie pour la première fois le syndrome caractérisé par un « ictère hémorragique essentiel » [2] à l'occasion de la description de quatre cas de jaunisse hémorragique sévère [3]. Depuis bien longtemps, cependant en Chine et au Japon existait une maladie qualifiée de « fièvre d'automne » présentant des symptômes analogues à ceux de la leptospirose. [1]

En 1907, Stimson observe à l'examen anatomopathologique des bactéries hélicoïdales dans les tubules rénaux d'un malade mort de ce que l'on croyait être une fièvre jaune [4]. Ce n'est qu'en novembre 1914, une équipe scientifique dirigée par Inada et coll, firent l'isolement en culture de la première souche de leptospirose [5]

Cette équipe scientifique incrimine cette bactérie comme l'agent étiologique de la maladie décrite par Weil et reconnurent aussi le rôle du rat comme réservoir lors de la leptospirose ictéro-hémorragique. [6]

Pendant la guerre de 1914-1918, la bactérie fut transmise avec succès au cobaye en inoculant le sang ou l'urine des malades. Dans les quarante années suivantes, les chercheurs virent la description de très nombreux sérovars et la reconnaissance de multiples réservoirs [3]

C'est en 1933, les travaux de Klarenbeek mettent en évidence un premiers agent de leptospirose chez les animaux domestiques : *Leptospira interrogans sérovar canicola* chez le chien [1]

La mise en évidence de la leptospirose bovine se fera en 1937 avec la publication de NA Mikhin et SA. Azenow, elle sera suivie par la découverte des formes porcines par Klarenbeek et Gsell et équines par Lurachenko et Novicova. [7]

2/CLASSIFICATION

Leptospira sp appartient à l'ordre des *Spirochaetales*, cet ordre comprend les familles suivantes :

- *Spirochaetaceae* (*Spirochaeta*, *Critispira*, *Brachyspira*, *Borrelia*, *Treponema*)
- *Serpulinaceae* (*Serpulina pilosicoli*, *S. alvinicoli*, *S.intermedia*, *S.murdochii*)
- *Leptospiraceae* (*Leptospira*, *Leptonema*)

Avant octobre 1987, le genre *Leptospira* comprenait trois espèces : *L. interrogans* regroupant les souches pathogènes pour l'homme et l'animal , *L. biflexa* ressemblant les souches saprophytes isolée de l'eau, de la boue et parfois de l'homme, *L.parva*, espèce non pathogène . [8]

La classification sérologique ancienne distingue deux espèces : *L.interrogans* qui compte plus de 200 sérovars et *L.biflexa* qui compte 63 sérovars.

Depuis 1989, une classification génotypique introduite, définit 16 espèces différentes incluant chacune des sérogroupes saprophytes ou pathogènes. [9]

Sur le plan phénotypique ,on distingue deux principaux critères pour la classification des espèces du genre *Leptospira* ,qui sont leur température de développement et leur sensibilité à la 8-azaguanine [10] en effet, *L.interrogans* est sensible à la 8-azaguanine à la différence de *L.biflexa*, cette dernière se développe à 13°C alors que *L.interrogans* ne se développe pas à cette température [11]

Tableau n° 1 : les différentes espèces du genre *Leptospira* et leurs sérovars(Levett, 2003)

sérogroupe	sérovars
<i>L. Icterohaemorrhagiae</i>	Icterohaemorrhagiae ou 19 copenhagen
<i>L. canicola</i>	canicola
<i>L. ballum</i>	castellons
<i>L. pyrogènes</i>	pyrogènes zanont
<i>L. autumnalts</i>	autumnalts (32) autumnalts
<i>L. australis</i>	australis munchen bratislova
<i>L. pomona</i>	pomona madok
<i>L. grippotyphosa</i>	grippytyphosa
<i>L. hebdomadis</i>	hebdomadis borincana
<i>L. panama</i>	panama
<i>L. sejroe</i>	Sejroe,hardjoe,wolffi,saxkoebing

3/ MORPHOLOGIE DES LEPTOSPIRES:

3 -1/ Morphologie externe :

Leptospira sp est la plus petite des *Spirochètes*, comme l'indique leur étymologie : « lepto » signifie fin ou grêle et « spira » signifie spire [12]

Leptospira sp se présente comme des filaments hélicoïdaux allongés à diamètre inférieur à $0,22\mu\text{m}$ et longueur comprise entre 6 et $25\mu\text{m}$ avec une forme spiralés, [13] dont l'hélice est à droite présentant une vingtaine de tours extrêmement serrés.

L'ensemble peut présenter deux ou trois ondulations très lâches et deux courbures terminales donnant une forme en C, en S ou en J , une ou deux extrémités sont recourbées en crochet mais peuvent temporairement rester droites. [14]

Leptospira sp est une bactérie mobile capable d'exécuter trois types de mouvements : rotation autour de leur grand axe, flexion et translation [15]

Elle est dotée d'un endoflagelle à chaque extrémité qui se localise entre la membrane interne et la membrane peptidoglycudique du cylindre protoplasmique [16]

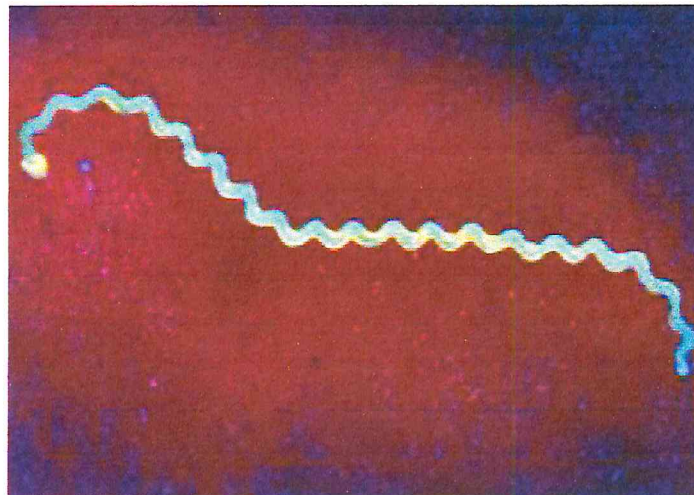


Figure n° 1: Image du *leptospira sp* (par microscope électronique)
(PEROLAT.2003)

Leptospira sp possède une enveloppe associant à la fois des caractéristiques des organismes à Gram+ et à Gram-. L'examen direct de la bactérie au microscope va nécessiter un fond noir. Leur visualisation n'est réalisable qu'après imprégnation métallique (coloration argentique), ou après épaissement artificiel par immunoperoxydase ou immunofluorescence [17]

L'utilisation de ces techniques montre les différents mouvements animés par *Leptospira sp*, on distingue des mouvements en pas de vis (mouvement de tire bouchon), des mouvements d'allongement et de raccourcissement successifs (mouvements d'accordéons) et des ondulations (mouvement de serpentins).

3-2/ Ultra structure par microscopie électronique :

L'étude des *Leptospira sp* par microscopie électronique permet d'observer en détail les composants structurels de la cellule de leptospires, sur une coupe transversal la structure des leptospires comprend un cylindre protoplasmique homogène, filament axial entouré d'une membrane, présence de blépharoplaste et présence de ponts simples [17]

3-2-1/ l'enveloppe externe :

Cette enveloppe est constituée d'une membrane formée de trois à cinq couches de lipoprotéines, de liposaccharides et de mucopeptides antigéniques.

La couche superficielle est dense aux électrons et forme ainsi une ligne sombre, plus ou moins continue l'enveloppe qui engaine totalement le cylindre protoplasmique et les flagelles est souple mais assez peu résistante, elle a une épaisseur de 11 nm [18]

La composition des liposaccharides de *Leptospira sp* est proche de celle des bactéries Gram négatif mais avec une activité endotoxique moindre.

Les protéines présentes à la surface de cette enveloppe externe ont une organisation structurale caractéristique.

L'enveloppe externe du leptospire a un rôle encore mal connu, elle est cependant indispensable car son absence entraîne la mort du germe.

3-2-2/Flagelles ou filaments axiaux :

Ils sont de nombre de deux le plus souvent, se posent à chaque extrémité par une insertion à travers la membrane interne [19]

Mais, il arrive que certains leptospires possèdent trois filaments axiaux, deux étant situés à une même extrémité et le troisième à l'autre bout. Chaque flagelle est inséré par un corps basal et entrelacé avec le cylindre protoplasmique.

Ces filaments axiaux constituent l'appareil locomoteur et confèrent aux leptospires la réalisation des mouvements très actifs de contraction et de rotation [20]

Il est intéressant de noter que, le système de mobilité des spirochètes est inhabituel car les filaments flagellaires sont internes et protégés par la membrane externe. [21]

3-2-3/ Le cylindre protoplasmique :

Enroulé en hélice, il correspond au corps cellulaire caractérisé par un cytoplasme sans mitochondries mais constitué de ribosomes. Il est entouré par une membrane peptidoglycannique, cette dernière est de structure trilamellaire avec une couche la plus externe aussi large que la couche interne. [12] L'épaisseur de cette membrane est de 7 nm [18]

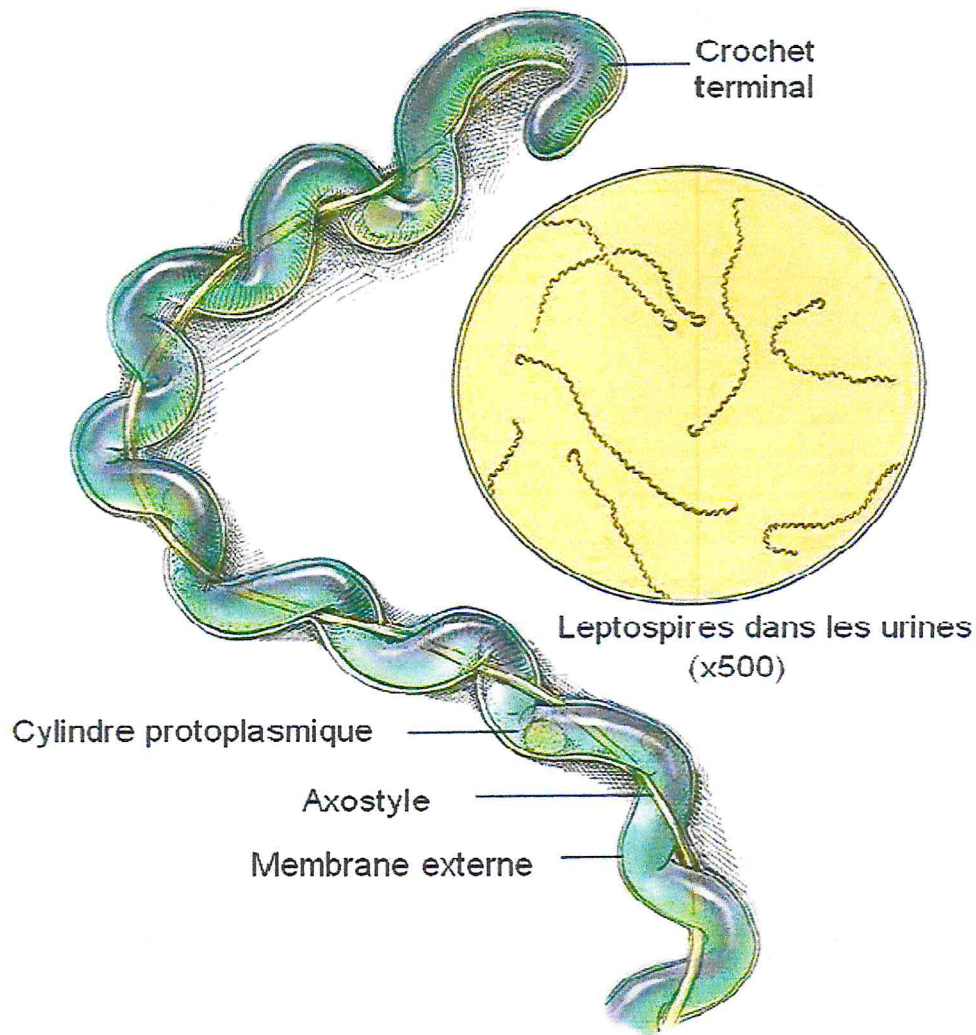


Figure n°2 : ultra structure des leptospires pathogène (HARKIN.K.R,1995)

5/METABOLISME DES LEPTOSPIRES:

Leptospira sp a des caractères métaboliques particulières. Tout d'abord sont des aérobies strictes, n'utilisant pas les glucides comme source d'énergie, seules les acides gras à longues chaînes constituent les sources majeures d'énergie et de carbone. [22]

Les besoins azotés sont couverts par l'utilisation d'ammoniac ou des sels ammoniacaux.

Ces bactéries sont aussi des auxotrophes nécessitent un apport vitaminique ainsi que des ions de fer, de calcium et de magnésium en tant que des facteurs de croissance favorisent la multiplication de ces microorganismes [10]

Sur le plan enzymatique, ces bactéries possèdent les enzymes de la chaîne respiratoire et utilisent l'oxygène moléculaire comme accepteur final d'électron, possédant une catalase positive [3]

6/CULTURE DES LEPTOSPIRES:

La culture des leptospires est difficile et longue, le temps de génération varie selon les sérovars pour les sérovars saprophytes le temps de génération est de 4 à 5 heures, et pour les sérovars pathogènes est de 8 à 12 heures. [23]

Ces microorganismes exigent la présence de certaines conditions pour pouvoir se développer :

- Un pH allant de 6,8 – 7,4
- Une protection vis-à-vis de la photopériode.
- Une température comprise entre 28°C et 30°C.
- Une source d'énergie et de carbone fournie par les acides gras à longue chaîne et source d'azote fournie par les ions d'ammonium [17]

La culture des leptospires nécessite des milieux enrichis au sérum de lapin :

- Milieu de Reiter-Ramme
- Milieu de Stuart
- Milieu de Korthof
- Milieu de Veroort

7/RESISTANCE DES LEPTOSPIRES:

La résistance de *Leptospira sp* est portée sur les facteurs de la culture, en effet, le pH optimal est de 6,8 -7,4 donc les leptospires tolèrent mieux dans les milieux alcalins qu'acides [2]

La température constitue aussi un facteur déterminant, l'exposition des *Leptospira sp* à une température de 40°C est délétère, et devient létale à 56°C. Outre la chaleur, les leptospires sont détruites par la dessiccation, le froid dont des températures proches à zéro sont néfastes et des températures de (-20°C) sont fatales aux leptospires, PH optimal [17]

Ces bactéries détruites par les antiseptiques, les acides diluée et certains antibiotiques (pénicilline, streptomycine, chloramphénicol, tétracycline) [24]

Il a été montré que les leptospires supportent plusieurs années en milieu extérieur, en zones ombragée et les sols humides en présence de pH et températures favorables [13]

8/ MULTIPLICATION DES LEPTOSPIRES :

Les *Leptospira sp* sont des bactéries aérobies requérant des conditions spéciales pour leur multiplication. La température optimale de croissance se situe vers 28-30°C. Une multiplication plus rapide peut s'effectuer lors d'incubation à 37°C pendant un à deux jours.

Les leptospires ne pouvant se répliquer à l'extérieur, la présence d'hôtes réservoirs est indispensable pour maintenir ces dernières dans l'environnement. Les hôtes d'une maladie infectieuse sont définis comme les organismes capables d'héberger l'agent pathogène. Pour les leptospires, les hôtes possibles sont l'ensemble des mammifères domestiques et la plupart des rongeurs sauvages. Les organismes infectés de façon inapparente représentent, au plan individuel, une source très importante d'agent pathogène, compte tenu de la quantité importante de l'agent infectieux dans certains tissus : ils constituent le réservoir de la maladie [25]

9/LES SUBSTANCES ELABOREES PAR LES LEPTOSPIRES ET LEURS POUVOIRS PATHOGENES:

9-1/ Lipopolysaccharide (LPS)

Les facteurs de l'effet des leptospires ne sont pas encore tous identifiés. Le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe des leptospires est un déterminant important de la virulence des bactéries. Les composants toxiques de ce LPS sont d'une part le lipide A qui est une endotoxine, mais aussi la chaîne des sous-unités O

qui freine l'attachement du complexe d'attaque membranaire du complément à la membrane externe.

Le LPS se lie à une protéine sérique « la lipopolysaccharide binding protein » soit(LBP) qui facilite la liaison au CD14. Le CD14 est un récepteur à la surface des macrophages et des monocytes. La liaison du complexe LPS-LBP sur le CD 14 déclenche la libération de cytokines et autres médiateurs pro-inflammatoires interleukine 1 (IL1), interféron, tumor necrosis factor (TNF)[26, 27,28]

Le LPS est fortement immunogène et majore l'activité des macrophages et l'immunité non spécifique. Il stimule l'adhérence neutrophilique et l'activation des plaquettes[29] L'endotoxine du LPS a également une action inhibitrice sur les pompes Na⁺-K⁺ATPases du rein [30]

9-2 / Toxines :

L'activité cytotoxique des leptospires a été décrite à la fois in vivo et in vitro. Les toxines jouent un rôle direct dans le pouvoir pathogène. Des toxines agissent sur les vaisseaux capillaires entraînant des lésions endothéliales qui ont pour conséquence un oedème tissulaire et une diathèse hémorragique et qui peuvent jouer un rôle dans l'installation d'une Coagulation Intra Vasculaire Disséminée (CIVD). Celle-ci est à l'origine d'une thrombopénie et d'hémorragies, ce qui engendre des lésions tissulaires ischémiques [28]

Les toxines produites par les leptospires à la faveur d'interactions avec l'hôte ont par ailleurs été directement associées à des hémorragies et une hémolyse dans certains cas [31]

9-3/Hémolysines :

Les hémolysines jouent un rôle dans la pathogénie de la leptospirose par leur capacité à lyser directement les érythrocytes. Deux types d'hémolysines ont été identifiés chez les leptospires pathogènes. La première est une sphingomyélinase C. La seconde, une sphingomyélinase H, crée des pores dans les membranes des cellules cibles[28,27]

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 [15] 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 représenté et notamment les monocytes [3]

10/ LA PATHOGENIE :

L'infection par *Leptospira sp* se fait en plusieurs étapes, Tout d'abord, l'infection commence par une phase de contamination au cours de laquelle les bactéries infectantes vont pénétrer dans l'organisme. Dans un second temps, les leptospires vont passer dans le compartiment vasculaire où ils vont se multiplier dans les organes cibles (Foie, reins) et entamer leur migration. [32]

10-1/Phase de contamination :

La première phase de l'infection est liée au passage transcutanée ou muqueux des leptospires ; en effet, il a été rapporté la présence d'une protéine de liaison, la fibronectine, à la surface de *L. Interrogans* virulent sérovar *Ictero-haemorrhagiae*, qui a un rôle important lors de la pénétration par l'adhésion et l'invasion de la peau ou des muqueuses [33]

Leur mobilité en tire-bouchon leur permet de se frayer un chemin à travers les tissus en s'introduisant que très peu de dégâts et pratiquement pas de lésion inflammatoires à la porte d'entrée qui n'est pas détectable cliniquement [3]elles échappent au système de défense non spécifique de l'hôte que sont les monocytes [22]

10-2/Phase de dissémination :

La phase de leptospiremie peut durer de 4 à 12 jrs et correspond à l'incubation de la maladie[32], ils vont donc rapidement se disséminer dans l'organisme vers le foie et les reins qui sont leurs tissus cibles mais aussi du fait de leur propriété d'adhérence et même de pénétration cellulaire, atteindre des espaces plus protégés, comme les méninges ou l'œil .Cette diffusion septicémique et ces localisations particulières vont expliquer une grande part des symptômes observés. [22]

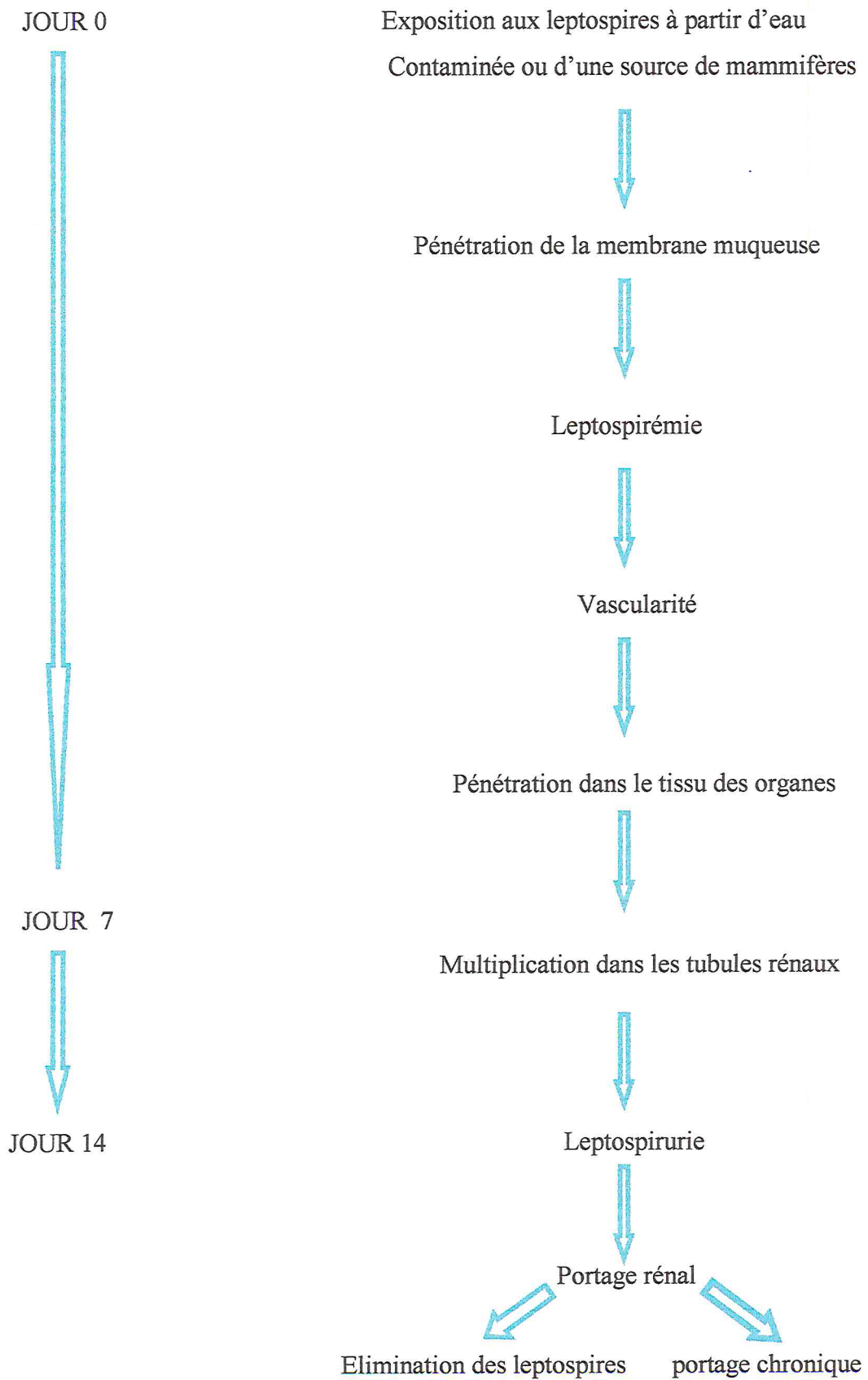
10-3/Phase de multiplication :

Leur multiplication s'effectue dans le sang et dans les organes cibles, avec un temps de génération de 8 heures environ [34]

On peut observer à l'examen histologique une prolifération des cellules de Küpffer et la présence de cellules multi nucléées, l'ensemble des lésions anatomopathologiques seraient la conséquence d'une vascularité généralisée avec comme principaux organes-cibles, le foie et le rein[3].La vascularité évoquée précédemment va entraîner un dysfonctionnement des hépatocytes se manifestant cliniquement par un ictère et des manifestations hémorragiques (défaut de synthèse des facteurs de coagulation d'origine Hépatique).

A la fin les leptospires vont persister dans le parenchyme rénal, elles s'y multiplient et sont excrétées dans les urines pendant un temps variable après la guérison clinique du sujet . [35]

Figure n° 2 : Etapes de l'infection par des leptospires (MARTIN.D)



11/ EPIDEMIOLOGIE :

11-1 / Source et transmission des leptospires :

L'infection par la leptospirose peut se faire tout d'abord entre animaux domestiques, ainsi parmi les population d'animaux domestiques infectées par la leptospirose ,on trouve des animaux malades mais surtout des animaux en incubation 4 – 14 jours, porteurs sains qui ont soit guéris cliniquement [32] excrétant des leptospires dans leur urines à partir de la deuxième semaine de l'infection, [35] soit sont porteurs chroniques sains asymptomatiques (qui ont jamais exprimés les symptômes de la maladie) pouvant être un réservoir bactérien considérable et constituer un risque infectieux. [32]

La durée de cette leptospirose est variable selon les espèces, chez les rongeurs, les porcs et le chien et peut même persister toute la vie des rongeurs sauvages [35]

Ses derniers constituent donc le réservoir essentiel de leptospires tel que : le rats (*Rattus et Movegicus*) pour *L. Ictero-haemorrhagiae*, le campagnol pour *L. Grippotyphosa*, la souris, la gerbille

Les insectes ne jouent pas de rôle dans la transmission, quoiqu'il ait put être démontré expérimentalement que les leptospires peuvent avoir une survie prolongée pendant plusieurs mois dans certains espèces de tiques [3]

11- 2/ Lieu de vie :

Les matières virulentes émises par les animaux infectés dans le milieu extérieur, vont augmenter encore leur efficacité épidémiologique en contaminant le milieu extérieur : le sol, les pâtures et surtout l'eau.

Une fois libérées dans le milieu extérieur, les leptospires ne sont pas capables de se multiplier [32]. Pour qu'un foyer de leptospirose puisse se produire, en plus d'animaux porteurs, il faut des conditions ambiantes favorables à la survie de l'agent dans l'environnement. [36]

Les leptospires ont besoins d'une forte humidité d'un milieu aqueux légèrement alcalin, le pH optimal compris entre 7,2 et 7,6 [22] en effet, un pH acide ou même

légèrement acide va entraîner la destruction des leptospires, le milieu de survie des bactéries doit être protégé de la lumière [32].

Les terrains inondés et les étendues d'eau douce naturelles ou artificielles, sont favorables à la survie des leptospires, elles peuvent survivre jusqu'à 6 mois et exigent une salinité très faible[34].

La composition du sol, ses caractéristiques biochimiques et biologiques (population microbienne) ont une influence sur la durée de survie des leptospires dans l'environnement. La température des tropiques constitue un facteur très favorisant de survie des leptospires, mais des cas de leptospirose peuvent également se produire dans des climats froids, bien que moins fréquemment. [36]

D'autres facteurs physiques sont également déterminants pour la survie des leptospires comme la température et les rayons ultra-violets. Sensibles à ces derniers, les leptospires ne supportent pas la congélation à des températures comprises entre 0 et -70°C, ce qui est un facteur limitant de l'acheminement des prélèvements bactériologiques vers le laboratoire. [22]

Elles survivent donc aisément dans les marais, vases, boues, rizières, plantations de canne à sucres irrigués, [35]rivières à faible courant, plan d'eau et dans les bâtiments ou l'eau stagne : porcheries, abattoirs, égouts, laiteries...).

11-3/ Réceptivité et sensibilité des espèces :

Espèces affectées :

Une espèce est dite réceptive, si elle permet la multiplication de l'agent pathogène : elle est donc infectée.

Une espèce est dite sensible si des individus de cette espèce (mais pas nécessairement l'ensemble des individus de l'espèce) développent des signes cliniques consécutifs à l'infection par l'agent pathogène.

Une espèce réceptive n'est donc pas nécessairement sensible, alors qu'une espèce sensible est toujours réceptive. [22]

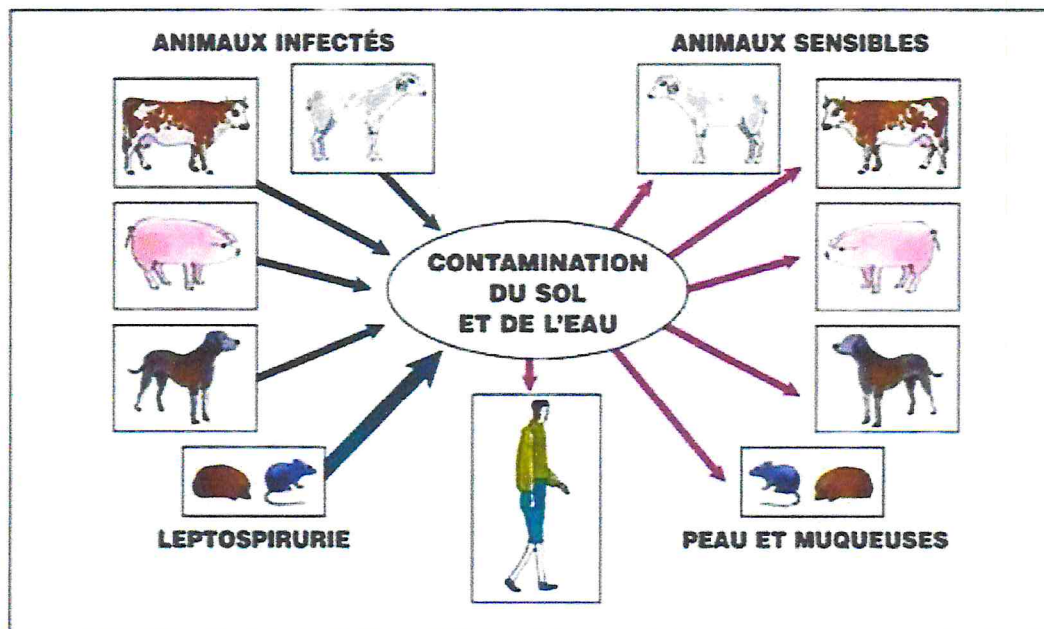


Figure n° 4: Etiologie de la leptospirose (ACHA.P.N,1989)

Espèces sensibles :

Facteurs dépendant de l'agent infectieux : l'infection par les leptospires va pouvoir présenter de nombreuses manifestations et sera fonction du pouvoir pathogène de la souche infectante. Ainsi, toutes les souches de leptospires ne possèdent pas la même virulence. Cependant, à chaque souche de leptospire correspond une dose infectieuse, à savoir la quantité minimale de leptospires nécessaires pour induire la maladie. En dessous de cette dose, il ne sera pas possible pour les leptospires infectants de déclencher la maladie. La valeur de la dose infectieuse va dépendre aussi bien de la souche infectante que de l'espèce hôte[32], des signes cliniques de leptospirose d'intensité variable sont observés chez de très nombreuses espèces animales domestiques ou sauvages : cheval, porc, ruminants, camélidés, éléphants, renards, mouffettes ou opossums, ainsi que chez les primates et l'homme[48]. la leptospirose touche principalement des populations d'animaux jeunes et de femelles, et notamment de femelles gestantes.

Cependant, des études sérologiques montrent que les traces du passage d'un épisode infectieux sont présentes dans des proportions encore plus importantes dans des populations mâles que dans des populations femelles, Le sexe est ainsi considéré comme un facteur de sensibilité plutôt que comme un facteur de réceptivité.

Espèces réceptives :

Espèces qui ne développent pas la maladie mais qui la transmettent surtout, les rongeurs, les chiroptères et les logomorphes, [37] si toutes ces espèces participent à la pression infectieuse générale, certaines cependant, ont un rôle prépondérant. C'est le cas des rongeurs sauvages, dont certaines espèces très largement répondeuses comme les rats favorisent l'entretien de certains sérogroupe. [22]

Tableau n°2 : Principaux réservoirs des Leptospires. (LE MINOR.L)

Type de leptospire	réservoir
<i>Canicola</i>	chien
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	rat
<i>Pomona</i>	Porc, bovins, Moufette, opossum
<i>Grippityphosa</i>	Raton, laveur, Moufette, opossum
<i>Hardjo</i>	bovins
<i>Bratislava</i>	porc
<i>Ballum</i>	souris

11-4/ Saison :

La forme principale d'expression de la leptospirose est enzootique. Cependant il peut arriver que la leptospirose se déclare de façon épizootique dans certains foyers [32]

L'infection leptospirosique est en fonction de la saison. Il semblerait ainsi que les valeurs de pluviométrie les plus élevées correspondent avec les pics d'infection. Cette corrélation est aussi à rattacher au type de sérovar incriminée .ce sont les souches

Gripotyphosa et *Hardjo* qui semblent prédominer en période de fin d'été ou de début d'automne essentielle dans le cas de figure du sérovar *Hardjo*. [32]

Il semblerait que ce soit les périodes comprises entre les mois d'octobre et janvier-février qui soit les plus propices à l'infection par la leptospirose

Entre le mois de juillet et novembre qui correspond à un moment difficile pour les animaux : température élevée, nourriture de qualité médiocre, animaux fatigués et donc plus sensibles au stress et aux germes microbiens .c'est pour cela que l'été et l'automne sont considérés comme des saisons de risques[38]

La leptospirose est endémique dans les régions tropicales et subtropicales et les plus forts taux d'infection correspondent aux zones les plus pluvieuses.

C'est cependant la saison des pluies qu'on enregistre le plus grand nombre de cas [36]

11- 5 /Contamination :

L'infection peut donc être contractée soit par contact direct avec l'animal excréteur, soit indirectement par contact avec le milieu lui-même contaminé par les urines des animaux ,qu'il appartiennent aux espèces sensibles ou non[22]

11-5-1 /Contamination directe :

La contamination du chien se fait, soit directement au contact de l'animal excréteur, soit indirectement à partir des matières virulentes (urine,lait,secrétions et les excréctions génitales) présentes dans l'environnement [17].

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

En phase aigüe de la maladie, le sang et sécrétion, excréctions de l'animal septicémique sont chargées de leptospires,

Cependant, les troubles rénaux accompagnés d'une alcalinisation des urines comme c'est le cas chez le chien et le porc permettent la contamination directe des animaux de même espèce ou de l'homme. Lors d'une évolution chronique ou d'un simple portage rénal. [22]

12/SYMPTOMES ET LESIONS :

12-1/ SYMPTOMES :

Les symptômes de la leptospirose sont d'une intensité différente en fonction des souches infectantes, de la sensibilité de l'espèce infectée ainsi que de la sensibilité individuelle pour espèce donnée. Il est donc nécessaire d'envisager les symptômes qu'induit l'infection par des leptospires, tant au niveau de l'individu qu'au niveau du groupe, en ce qui concerne les animaux d'élevage.

Ainsi, si l'homme, le chien, le cheval, le porc et les ruminants sont sensibles à la leptospirose, l'expression clinique aigue sera la plus fréquente chez l'homme et le chien, les formes subaiguës et chroniques dominant pour les autres espèces animales domestiques. [22]

12-1-1 /Forme suraiguë :

L'évolution peut être suraiguë et notamment chez le jeune. Cette évolution est d'autant plus foudroyante que le sujet atteint est jeune. Le symptôme prédominant est une hémoglobinurie qui précède souvent de peu la mort. On va aussi observer une diminution de l'appétit, l'apparition d'un ictère [40]

Et une diarrhée séreuse, hémorragique avec épreinte et ténesme. [41] Les formes infectantes sont dues à des souches non adaptées à l'espèce telles que les sérogroupes *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa* [42]

12-1-2/ Forme aigue :

Les formes aigue peuvent être observées chez des nombreuses espèces animales avec des incidences variables qu'il s'agisse des primates, des chevaux, bovins, porcs, éléphants, renards, moufettes ou opossums. [22]

En général, on décrit deux types de formes aiguës. La première se traduit sous la forme d'une gastro-entérite hémorragique et la deuxième sous une forme ictéro-hémorragique [43]

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

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

- Symptômes généraux

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

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

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

- Symptômes rénaux : Il y a un dysfonctionnement total des reins qui entraîne une oligurie génératrice d'urémie et de créatinémie. Les urines sont colorées et très foncées.

- Signes hémorragiques

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

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

[44]

12-1-3/ Forme subaiguë :

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

Les deux principaux organes touchés dans ces formes subaiguës observées

Chez le chien sont le rein et le foie. se développent alors des insuffisances hépatiques et rénales : [22]

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

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

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

- Hépatites leptospirosiques ; Une hépatite chronique active apparaît et va progressivement altérer la santé du chien. [45]

12-1-4/ Infections chroniques :

12- 1-4-1/ Insuffisance rénale chronique :

Lors de la progression de la maladie, et si les chiens survivent à la phase aiguë, une insuffisance rénale chronique (séquelle de la phase aiguë) peut se mettre en place.[46]

. Les symptômes présentés sont alors ceux habituellement observés lors d'insuffisance rénale chronique : anorexie, perte de poids, vomissements et polyuro-polydipsie.

12- 1-4-2/ Atteinte hépatique chronique :

Des séquelles de fibrose hépatique ou d'hépatite chronique peuvent persister chez l'animal. La fibrose hépatique extensive et l'insuffisance hépatique sont à l'origine d'anorexie chronique, de perte de poids, d'ascite ou de signes digestifs, le tableau clinique étant non spécifique et variable d'un animal à l'autre. Dans les cas les plus graves, des signes d'encéphalose hépatique peuvent apparaître (convulsions, ataxie...) [46]

12-1-4-3 / Atteinte oculaire chronique :

Des leptospires ont été mises en évidence dans les yeux d'animaux infectés pendant une durée importante. Une uvéite chronique voire une cataracte peut se développer [31]

Tableau 3 : Caractéristiques cliniques essentielles de la leptospirose chez l'animal
(ELLIS.W,1981)

Infection aigue Stade de début	Bétail (bovins)	Chevaux (équidés)	Mouton /chèvre (ovins/caprins)	Porc (suidés)	Chiens (canidés)	rongeurs
Fièvre (°C)	1 - 2,5	+	0,5 – 2	0,5-1,5	+	+
Perruquerie	+					
Asthénie		+			+	
Dépression		+	+	+	+	+
Apathie				+		+
Anorexie	+	+			+	+
Vomissements					+	
Diarrhée	+			+		
Convulsions				+	+	
Conjonctivite	+				+	+
Hémorragie	+				+	+
Anémie	+		+			+
Ictère	+	+		+	+	+
Anurie	+					
Hémoglobinurie	+	+	+			

Infection aigue Stade tardif	Bétail (bovins)	Chevaux (équidés)	Mouton /chèvre (ovins/caprins)	Porc (suidés)	Chiens (canidés)	rongeurs
Pneumonie	+					
Avortement, naissance de mort-nés	1 - 3 *	+	+	2 - 4*		
Infection chronique						
Néphrite	+		+	+	+	
Ophtalmie			+			
Encéphalite	+			+		
Taches grise blanches sur les reins (autopsie)	+			+	+	

- = nombre de semaines après le début de la maladie
- + = Symptômes généralement présent

12-2/ LESIONS :

12-2-1/ Lésions macroscopiques nécropsiques :

Des chiens inoculés avec *L. pomona* et autopsiés plus de 10 jours après l'inoculation présentaient les lésions suivantes :

- des pétéchies multifocales et des hémorragies pulmonaires ;
- des pétéchies rénales, des hémorragies sous capsulaires et parenchymateuses ainsi qu'un œdème périrénal ;
- un foie friable avec des foyers blancs multifocaux de un à deux millimètres de diamètre et des nodules hépatiques [47]

Des lésions de gastrite hémorragique étaient également rapportées [48]

12-2-2/ Histologie:

12-2-2-1/Reins :

Les études de Mastrorilli *et al.* (20 chiens dont 8 sujets à une analyse histologique), de Birnbaum *et al.* (36 chiens dont 6 biopsiés) et de Harkin et Gartrell (17 chiens dont 3 biopsies rénales) se sont intéressées aux lésions histologiques présentées par des chiens atteints de formes aiguës de leptospirose en pathologie spontanée [48, 49,50]

Une néphrite tubulo-interstitielle multifocale à coalescente avec infiltration lymphoplasmocytaire et neutrophilique était présente dans tous les cas biopsiés dans ces études, l'atteinte tubulaire variant de l'hyperplasie épithéliale à l'atélectasie. Mastrorilli *et al* rapportaient également une dégénérescence et une fibrose modérées dans 87% des cas. Enfin, des anomalies glomérulaires étaient présentes dans 87% des cas et allaient de l'hyperhémie à la nécrose [50]

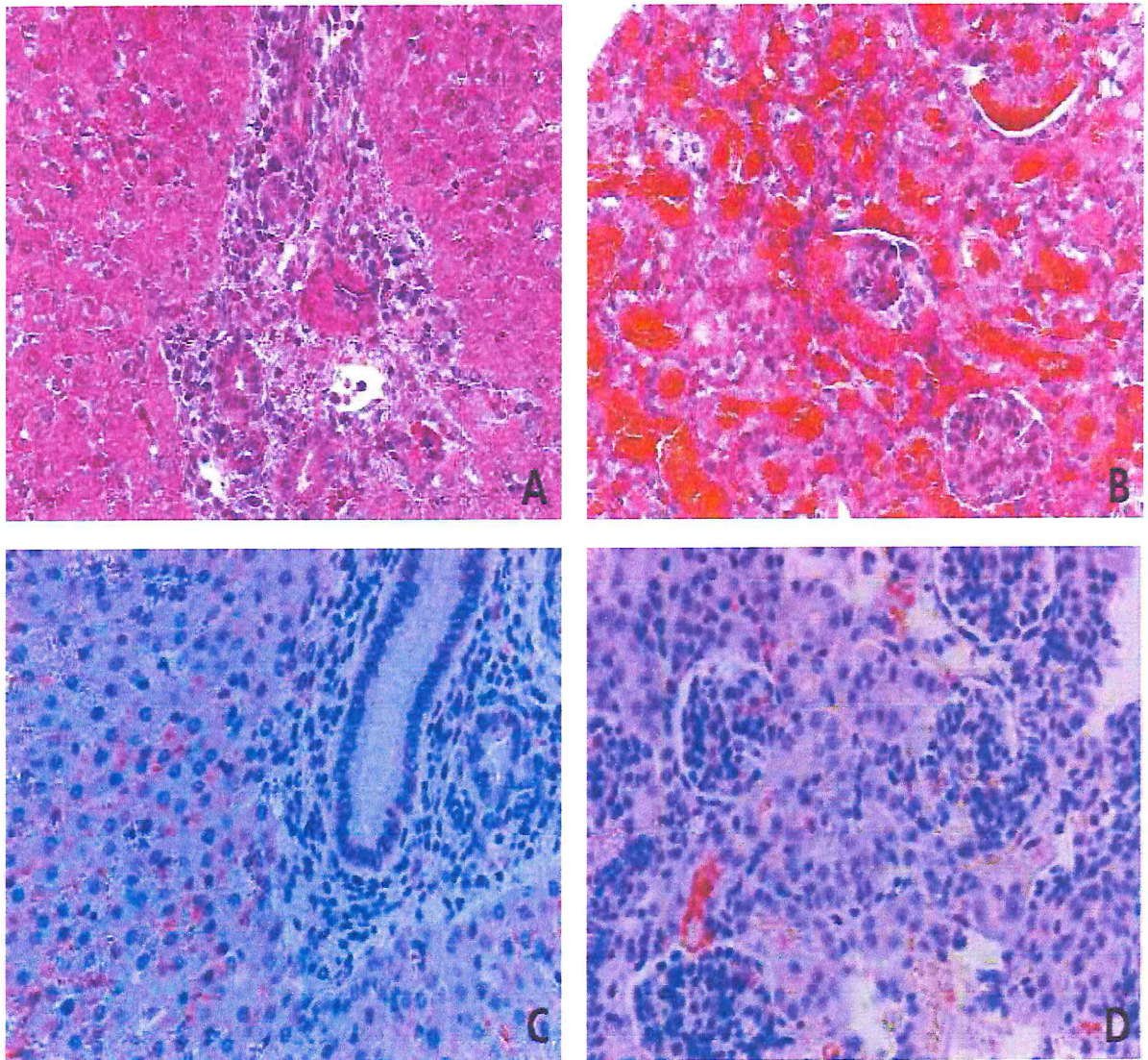


Figure n° 6 : Coupes histologiques d'organes de cobaye infecté par
L. interrogans (Hématoxyline éosine, grossissement X200)

- A- le foie (hypertrophie et inflammation)
- B- les reins présentent des hémorragies
- C- canacules biliaires (immunohistochemie avec des anticorps spécifiques)
- C- distribution diffuse des bactéries (colorés en rouge) dans les glomérules du Rein (BARABTON.G,2001)

12-2-2-2/ Foie :

Des analyses histologiques hépatiques ont été réalisées sur six chiens. Dans la moitié des cas, une congestion hépatique a été mise en évidence. Trente pour cent des cas ont présenté une infiltration neutrophilique et lymphocytaire, tandis qu'une dissociation des hépatocytes a été notée dans 17% des cas. [48]

12-2-2-3 /Poumons :

Peu d'analyses histologiques ont été réalisées sur les poumons dans les études traitant de la leptospirose canine. Dans la même étude que précédemment, une congestion alvéolaire, de l'oedème et une infiltration lymphocytaire et neutrophilique ont été révélés.[48]

Macroscopiquement, les organes atteints présentent des foyers hémorragiques. Les lésions histologiques observées touchent plusieurs organes et présentent une composante à la fois hémorragique et inflammatoire peu spécifique. Le diagnostic étiologique de la maladie ne peut alors se faire sur des critères histologiques seul

13/DIAGNOSTIC :

13-1 / Diagnostic épidémiologique et clinique :

Le diagnostic clinique est très difficile à établir en raison de la grande diversité des tableaux cliniques que possède la leptospirose. [32]en revanche, les éléments épidémiologiques sont déterminants : élevage infesté de rats, contacts avec des eaux douces abritant de nombreux rongeurs, pâtures ou pullulent les micromammifères de tous ordres. La catégorie d'animaux atteints (nouvellement introduits ou primipares) peut être un élément d'orientation diagnostique. Les antécédents vaccinaux ne doivent pas écarter l'hypothèse d'une leptospirose, puisque la préparation vaccinales actuellement disponibles ne permettent d'introduire une protection (d'ailleurs limitée) que vis-à-vis des sérogroupes consécutifs. [22]

Le recours au diagnostic expérimental est indispensable pour :

_ d'une part confirmer la suspicion de leptospirose.

_ d'autre part identifier le sérotype en cause et remonter à la source de contamination.[35]

13- 2 / Diagnostic différentiel :

Ce sont surtout les formes subaigüe et suraigüe qui posent un problème de diagnostic différentiel[35]En ce qui concerne les formes aiguës, le syndrome ictérohémorragique est caractérisé par une hépatonéphrite. Les symptômes principaux d'hépatonéphrite que sont l'ictère et l'urine foncée doivent être différenciés d'autres maladies infectieuses telles que la piroplasmose. Il faut aussi penser à une origine toxique. C'est ainsi qu'une intoxication par le cuivre peut présenter un tableau clinique similaire [35],il est toujours délicat en raison des nombreux agents responsables de troubles de la reproduction. En tout état de cause, le diagnostic doit reposer sur le diagnostic de laboratoire. [22]

13-3 / Diagnostic direct :

13-3-1/ Isolement du germe :

En absence de traitement antibiotique ,les leptospires peuvent être facilement isolés à partir du sang ou du liquide céphalorachidien pendant les 12 premiers jours de la maladie ,surtout avant le 5eme jour .A partir de la 3eme semaine ,les leptospires persistent uniquement dans l'urine et l'humeur aqueuse, l'excrétion urinaire pouvant durer un mois ,ou parfois beaucoup plus, chez l'homme .[3]

13-3-2 /Prélèvements :

L'isolement des germes par hémoculture doit être effectué sur plusieurs prélèvements de sang, car la présence des leptospires dans le sang est intermittente, les bactéries ne sont pas visibles à l'examen direct du fait de leur faible nombre,[3].Les prélèvement de sang doivent comporter au moins 1 ml de sang veineux et doivent être recueillis sur des tubes EDTA ou héparine.

Le tube citraté est à proscrire car le milieu citraté va entraîner une acidification du milieu néfaste aux leptospires [51] Les leptospires peuvent aussi être isolés du liquide céphalo-rachidien (LCR) au cours de la deuxième semaine qui va suivre l'infection. Un demi-ml de LCR est suffisant pour la mise en évidence des leptospires. Cette mise en évidence se fera directement grâce au microscope à fond noir [10]

La leptospirurie débute à partir du 10^{ème} jour d'infection et peut persister pendant plusieurs semaines à plusieurs mois avec une moyenne de vie de quatre semaines. La période optimale de prélèvements pour les urines sera aux alentours de la 3^{ème} ou de la 4^{ème} semaine d'infection [52]

Le prélèvement d'urine se fera dans les conditions d'asepsie les meilleurs possibles. En pratique, après injection de diurétique tel que le furosémide par voie intraveineuse, on procédera à une désinfection locale puis on récupérera les urines en milieu de miction [10] Il est conseillé de procéder à plusieurs prélèvements sur plusieurs jours d'affilés pour le même sujet et d'alcaliniser les prélèvements plutôt que de les recueillir dans une solution tamponnée stérile. [53]

Les urines doivent êtreensemencées dans l'heure qui suit le prélèvement. Sinon, ils doivent être conservés à +4°C et à l'obscurité pendant 2 à 3 jours. Des prélèvements peuvent aussi être effectués sur les organes internes tels que le foie, les reins, [54] leptospires sur le microscope à fond noir, il faut examiner les échantillons dans les heures qui suivent leur prélèvement. En effet, les leptospires sont vite lysées au sein des milieux biologiques.

L'observation se fait en général sur des prélèvements urinaires. Il est aussi possible d'utiliser du sang. La réalisation d'une double centrifugation sur le sang (1000g pendant 10 minutes puis 4000g pendant 20 minutes) va permettre d'éliminer les cellules dans un premier temps puis de concentrer les leptospires ensuite [51]

Les prélèvements de LCR ne contiennent pas assez de leptospires pour permettre une identification convenable par microscopie à fond noir [1]. Cependant cette méthode apparaît peu sensible. Ainsi le seuil de détection est d'au moins 10⁴ bactéries par ml de liquide de prélèvement. De plus, la spécificité de ces tests est mauvaise ; en effet, des filaments de fibrine ou des débris cellulaires peuvent être source d'erreur et entraîner l'apparition de faux positifs [52]

Une autre méthode de détection lors de l'observation au microscope de coupes tissulaires est la coloration de Levatidi qui correspond à une imprégnation métallique. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle nécessite l'utilisation de prélèvements non-autolysés. C'est ainsi que la bactérioscopie au moyen de microscope à fond noir n'a qu'une valeur d'orientation et doit être confirmée par la culture. La culture ne permet donc pas un diagnostic rapide, cependant l'obtention d'une culture est un critère de certitude. la souche peut alors être identifiée en fonction de ses caractères antigéniques ou de ses critères génétiques par AP-PCR (PCR réalisée avec diverses amorces arbitraires)ou par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) [22]

La technique de microscopie sur fond noir est déconseillée car son manque de sensibilité et de spécificité la rend peu fiable. La culture bactérienne est également déconseillée dans un but diagnostique car elle est longue et difficile à réaliser. Les techniques immunohistochimiques et d'immunofluorescence directe peuvent être intéressantes mais manquent de sensibilité et sont peu disponibles en routine. Les progrès de la biologie moléculaire présentent un intérêt évident. Le développement de la PCR permet un diagnostic précoce avec une forte sensibilité. Cette méthode est de plus en plus utilisée.

13- 4/diagnostic indirect :

La méthode de microagglutination est encore considérée par beaucoup comme méthode de référence pour le diagnostic de la leptospirose. Son interprétation demeure cependant difficile et doit tenir compte de la vaccination de l'animal et de la durée des symptômes au moment du prélèvement de sérum. Ces renseignements sont donc indispensables à préciser lors de l'envoi d'un prélèvement (sang sur tube sec) à un laboratoire. En outre, les réactions croisées rendent souvent impossible la détermination du sérotype infectant. Une cinétique sérologique est souvent nécessaire pour aboutir à un diagnostic.

La méthode ELISA permet de s'affranchir de cette cinétique car elle permet de différencier IgM et IgG dans le sérum de l'individu testé. Cependant, cette méthode est encore très peu exploitée dans le diagnostic de la leptospirose et reste peu

accessible en routine. Les progrès des méthodes directes permettent également une avancée dans les perspectives diagnostiques.

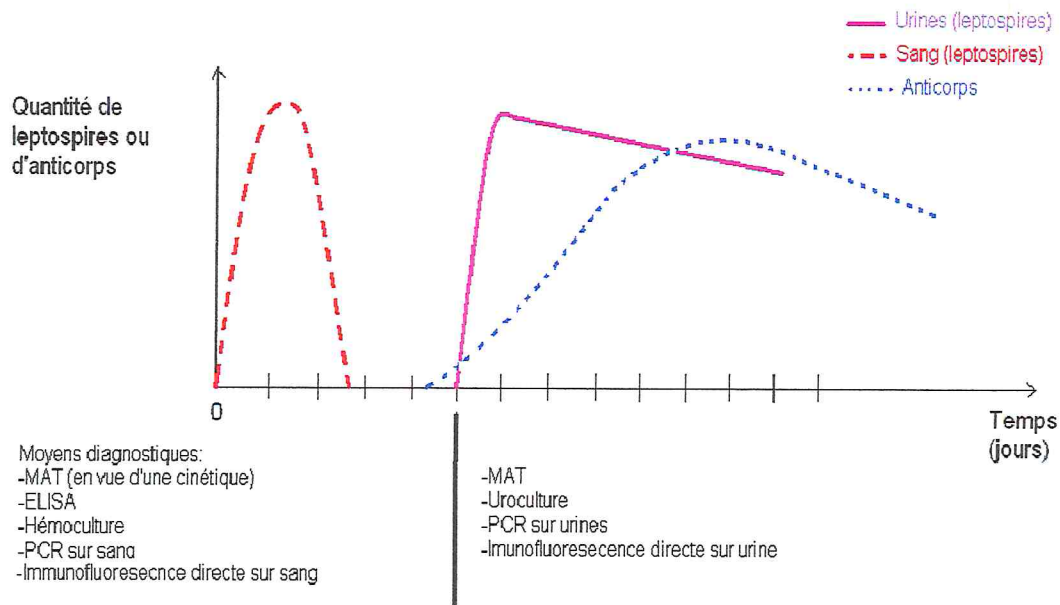


Figure n°7 : Evolution des possibilités diagnostiques en fonction du temps (t=0 infection) (BAUMANN.D,2001)

14/ECHOGRAPHIE ET RADIOGRAPHIE:

14-1/Echographie :

L'échographie est souvent réalisée lors de suspicion de leptospirose et permet parfois de conforter la suspicion clinique.

Certaines anomalies rénales rencontrées sont non spécifiques de la leptospirose. Il s'agit d'une hyperéchogénicité corticale rénale (8 à 75% des cas de la littérature), d'une néphromégalie (50 à 55% des cas), ainsi que d'une pyélectasie (13 à 45% des cas). Un épanchement péritonéal est remarqué dans 25 à 44% des cas. D'autres anomalies ont été relevées dans l'étude de Forrest *et al.* : un anneau médullaire hyperéchogène (30% des cas) et un épanchement périrénal (25% des cas) [55]

Macroscopiquement, un liséré congestif médullaire est observé et correspond à cette image échographique en anneau (zone nécrotique et hémorragique). Cette bande médullaire n'a été observée que lors de forme rénale de leptospirose [55]

. Cependant, elle n'est pas rapportée dans d'autres études et n'est pas systématiquement observée.

En ce qui concerne le foie, une congestion est notée dans 8 à 44% des cas.

14-2/Radiographie

14-2-1/ Radiographie abdominale :

L'anomalie la plus fréquemment rencontrée chez des chiens atteints de leptospirose est une néphromégalie [49]

14-2-2/ Radiographie thoracique :

En médecine humaine, les anomalies radiographiques pulmonaires des patients atteints de leptospirose sont plus fréquentes que les signes cliniques respiratoires. Ces anomalies apparaissent trois à neuf jours après le début de la maladie et se résolvent après six à dix jours de traitement

(13) Une étude a analysé les clichés thoraciques de cinq chiens atteints de leptospirose. Bien qu'un seul présente des signes modérés de dyspnée, tous avaient des anomalies radiographiques. Les lobes dorsaux présentaient des anomalies radiographiques chez tous les sujets tandis que les ventraux n'en présentaient que chez trois d'entre eux. Les lésions étaient le plus souvent des opacifications alvéolaires ou nodulaires, et moins fréquemment un épanchement pleural [56]

Harkin et Gartrell ont également observé des opacifications pulmonaires suggérant la présence d'hémorragies [49]

15 / TRAITEMENT :

Le premier traitement à instaurer est l'antibiothérapie qui doit être la plus précoce possible. L'amoxicilline est la molécule de choix pendant les 15 premiers jours, suivie de la doxycycline pendant les 15 jours suivants. Les autres traitements à mettre en place dépendent des symptômes présentés par l'animal. Dans tous les cas, une fluidothérapie doit être instaurée. Elle doit tenir compte de l'état d'hydratation de l'animal et de ses éventuelles pertes digestives et doit être adaptée à sa diurèse, d'où l'intérêt de sonder l'animal pour mettre en place un système collecteur des urines. Elle permet également de traiter les déséquilibres électrolytiques et acido-basiques engendrés par l'insuffisance rénale et les troubles gastrointestinaux, dont l'acidose métabolique et l'hyperkaliémie sont les plus fréquents.

Si l'insuffisance rénale est oligo-anurique, le rétablissement de la diurèse est primordial.

L'utilisation de diurétiques (furosémide, mannitol) et/ou de dopamine est préconisée si la fluidothérapie ne permet pas d'obtenir une diurèse correcte ($<0,27$ mL/kg/h).

En cas d'échec de ces molécules, et si l'azotémie tend à s'aggraver, le recours à une méthode de dialyse est nécessaire mais ne peut s'effectuer que dans des centres spécialisés.

Anti-acides, anti-émétiques et sucralfate permettent de traiter les troubles gastro-intestinaux.

Enfin, le support nutritionnel de l'animal doit être envisagé le plus rapidement possible

16/ PROPHYLAXIE

16-1/ Prophylaxie sanitaire :

D'une part elle consiste à limiter les baignades des chiens dans les eaux douces stagnantes et à limiter le contact avec des chiens excréteurs urinaires. Et d'autre part elle consiste à lutter contre les rongeurs sauvages. [57]

on résume les différentes méthodes de lutte possible. la lutte biologique par l'introduction des espèces exotiques, l'emploi de produits chimiques qui est à l'heure actuelle, la meilleure méthode pour action d'envergure, les piégeages mécaniques restant une excellente méthode pour la capture d'animaux vivants ou les captures

locales. Mais avant tout emploi de ces mesures chimiques, il importe de supprimer toutes sources de nourritures (fermeture hermétique des réserves d'aliments, protection des habitations, élimination des dépotoirs).

Cependant, cette lutte contre les réservoirs ne permet jamais d'éliminer totalement le risque causé par la faune sauvage. Les voies de lutte contre ces réservoirs sont de façon pratique des campagnes de dératisation ou de désinfection de l'environnement.

Il va être aussi nécessaire de gérer l'environnement, source de persistance des bactéries excrétées dans le milieu extérieur. Cette gestion va passer par la mise en place d'un écoulement efficace des eaux usées au sein des stabulations contenant des animaux infectés. [58]

Dans le cas d'élevage infecté, dans un premier temps, il va être nécessaire de mettre en place une lutte active contre les animaux porteurs pour éviter que ces animaux ne transmettent la maladie[59]

Tout d'abord, il va falloir isoler les animaux porteurs excréteurs. Il s'avère cependant que ces animaux sont pour la plupart sérologiquement muets, cet isolement va donc être difficile à réaliser en pratique. De même, les animaux sains doivent être mis à l'écart des environnements à risque et des sources d'eau. Il est nécessaire de procéder à une désinfection avec du nitrate de chaux des locaux d'élevage et de proposer un traitement médicamenteux à l'ensemble des animaux du cheptel [41]

En clinique vétérinaire, il est recommandé de :

_ Porter des gants de latex et un sarrau à manches longues lors de tout contact avec un animal potentiellement atteint de leptospirose ou l'ayant été dans les mois précédents. Les leptospires peuvent être excrétés dans l'urine pendant des mois, voire des années, suivant la disparition des signes cliniques.

-Éviter d'entrer en contact avec l'urine des animaux infectés ou suspectés de l'être, qu'ils soient malades ou en convalescence. L'installation d'un cathéter urinaire relié à un sac étanche est recommandée en clinique afin d'éviter la contamination de l'environnement.

-Si de l'urine est répandue sur le plancher, couvrir soigneusement avec des serviettes de papier et appliquer une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % de la périphérie vers le centre; laisser agir au moins 30 minutes avant de procéder au nettoyage. Faire tremper la serpillière dans un désinfectant en permanence. Porter des gants durant ces opérations.

-Respecter de bonnes mesures d'hygiène personnelle, principalement le lavage des mains après chaque manipulation et en fin de journée.

-Éviter de manger, fumer, boire ou entreposer de la nourriture dans l'animalerie.

-Changer la tenue de travail personnelle quotidiennement. [60]

-Éviter d'entrer en contact avec l'urine des animaux infectés ou suspectés de l'être, qu'ils soient malades ou en convalescence. Porter des gants et des vêtements protecteurs lors de l'administration des soins à ces animaux.

- Éviter de manger, boire ou fumer lors du soin des animaux (toiletage, entretien de la cage à la maison s'il y a lieu).

-Respecter de bonnes mesures d'hygiène personnelle, principalement le lavage des mains après chaque manipulation.

- Respecter rigoureusement le protocole de vaccination recommandé par le médecin vétérinaire.

- Contrôler la vermine et ne pas laisser les chiens s'approcher des animaux de la faune.

- Éviter de laisser les chiens boire ou marcher dans des mares d'eau auxquelles les animaux de la faune ont accès, par exemple dans les parcs publics.

-Éviter de se baigner dans des étangs pouvant être contaminés.

- Clôturer les potagers de façon à en empêcher l'accès aux animaux. [61]

16-2/ Prophylaxie médicale :(vaccination)

L'objectif primordial de toute vaccination est d'empêcher l'apparition de la maladie chez l'animal c'est donc avant tout un objectif de protection médicale de l'animal. Mais dans un deuxième temps, la majorité de population sensible à la maladie modifie les aspects épidémiologiques. [60]

Dans les zones où la pression infectieuse entraînée par les leptospires est trop forte, la prophylaxie médicale s'avère fort utile pour juguler la leptospirose.[62]

Il existe un vaccin qui protège les chiens contre les deux sérovars les plus retrouvés : *icterohemorrhagiae* et *canicola* Une infection par des leptospires ou une vaccination induit la production d'anticorps chez le chien contre différents antigènes. La vaccination contre un sérotype donne une réponse sérologique plus rapide à une souche virulente et du fait d'une immunité humorale efficace une forme moins grave de la maladie se déclare chez des chiens vaccinés. [63]

La préparation vaccinale est toujours établie selon le même modèle. Les vaccins sont obtenus à partir de souches de leptospires cultivés sur un milieu sans albumine. Ces souches sont ensuite inactivées par le phénol ou le formol. Les doses vaccinales sont ensuite adjuvées à l'aide d'hydroxyde d'aluminium. Des nouveaux vaccins sont actuellement en cours de réalisation qui utilisent des extraits cellulaires comme agents actifs[64]

La vaccination contre la leptospirose, comme pour toute autre vaccination, se fera sur des animaux en parfait état de santé et correctement déparasités.

D'autant plus que parfois, l'utilisation de vaccins vivants atténués peut provoquer un stade transitoire d'immunosuppression après immunisation [65]

Les échecs de la vaccination chez les chiens sont difficiles à expliquer. Les principales causes seraient des déficiences immunitaires liées à l'administration concomitante de médicaments, un mauvais protocole de vaccination ou une mauvaise immunité individuelle [66]

Conclusion :

La leptospirose est une affection assez fréquente mais très difficile à diagnostiquer .

L'examen clinique ne permet que rarement d'établir un diagnostic fiable.

L'amélioration du diagnostic repose éventuellement sur une utilisation plus large de la PCR qui permet une mise en évidence simple, efficace et relativement peu onéreuse.

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

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

BIBLIOGRAPHIE

1. LEVETT, P.N., Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, 14, 296-326
2. ANDRE-FONTAINE, G., Leptospirose, in Principales maladies infectieuses parasitisme du bétail, Europe et régions chaudes. Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires P.C. LEFEVRE, J. BLANCON, and R. CHERMETTE, édition Paris TEC et DOC, 2003, 993-1005
3. LE MINOR.L, VERON.M., Bactériologie médicale. 2^e édition. médecine-sciences .Flammarion .1046-1059
4. AM.STIMSON. note on organism found in yellow fever tissue. *Public health rep.*1907.22 : 541-545
5. INADA.R, IDO. Y, HOKI .R, ITO.H., Etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease « spirochaetosis icterohaemorrhagica ». *J.Exp.Med.*1916, 23 :377-402
6. IDO.Y, HOKI.R, ITO.H, WANI.H., The rat as a carrier of spirochaeta Icterohaemorrhagiae, the causative agent of Weil's disease. *J.exp.med.*1917, 26 :341-353
7. DRUGEOT.T., Diagnostic sérologique de la leptospirose bovine : étude expérimentale d'une micro agglutination simple à l'aide d'une souche vivante de *Leptospira biflexa*, thèse med.vét.ENVN, 1988, N°74, p.51
8. BARANTON.G, POSTIC.D., Méthodes de laboratoire : leptospirose borréliose de lyme.institut Pasteur, Paris 1989, BAUMANN D. and FLUCKIGER M., Radiographic findings in the thorax of dogs with leptospiral infection. *Vêt Radio Ultrasound*, 2001, 42, (4), 305-307.
9. ALIN.Berlioz-arthaud, CYRILLE. Goarant., institut de Pasteur de Nouvelle Calédonie
10. BERCHE P. Leptospires. Bactériologie médicale. 2^e éd. Flammarion Médecine et Sciences, 1989, chap. 49, 1046-1057
11. PEROLA.P, BARANTON.G., Précis de bactériologie clinique, chap. 91, édition Paris, ESKA 2000, p1533-1542

12. HOVIND-HOUGEN K. Morphologie des leptospires. *Méd. Mal. Infect.*, 1981, 11(2), 60-70.
13. FLORENCE DESACHY., Zoonoses : transmission des maladies des animaux à l'homme, 2005, p.74
14. SCHOENAERS F., KAECKENBEECK A. Leptospiroses *In: Maladies infectieuses des animaux domestiques*, tome 1, ed. Derouaux, Liège, 1971, 267-274
15. TURNER L. H., SPIROCHETES *In: S. T. COWAN, et al., Bergey's manual of determinative bacteriology*, 1974, 190-191
16. FANTAINÉ S., ADLER B., BOLIN C., PEROLAT P. *Leptospira and leptospirosis*. Melbourne, Australia : Med science. 1999.
17. ANDRE-FONTAINE, G. and J.P. GANIERE, *Encycl. Vét.: médecine générale. Leptospirose canine*. 1992: Ed. Paris: Technique, 1-7., Kolchine B., Marcel Mailloux. physiologie et métabolisme des leptospires. 1962. p 12.
18. AURAN, N.E., R.C. JOHNSON and D.M. RITZI, Isolation of the outer sheath of *Leptospira* and its immunogenic properties in hamster. *Infect. Immun.*, 1972, 5(6), 968-975
19. Martin, d, Stanley .F. The prokaryotes, proteobacteria: delta and epsilon subclasses. deeply rooting bacteria. 3rd édition/vol 7.
20. CHANG A, FAINE S. Electron-microscopic evidence for reactions of axial filaments of *Leptospira* with IgM and IgG antibodies. *Bull. W. H. O.*, 1970, 43, 571-577.
21. CHARON NW, GREENBERG EP, KOOPMAN MBH, LIMBERGER RJ. *Spirochete chemotaxis, motility, and the structure of the spirochetal periplasmic flagella*. *Rev. Microbiol.*, 1992, 143, 597-603.
22. PIERRE-CHARLES LEFEVRE, JEAN BLANCOU, RENE CHERMETTE, Principales maladie infectieuses et parasitaires du bétail, page 993_1004.
23. EZEBY J.P., Dictionnaire de bactériologie médicale, juin 1998.

24. MATHON, F., *Les avortements à leptospire chez les bovins*. Thèse Méd. Vét. ENVT, 1979, N°64, 55 p.
25. TOMA B., *et al.* Habitat et transmission des agents pathogènes In: *Epidémiologie appliquée à la lutte contre les maladies animales transmissibles majeures*.2001.
26. OTTO C. M. and ADAMS H. R., 1994, Close encounters: host cell recognition of endotoxin.In: IVECCS, San Antonio, 1996
27. LEFEBVRE R. B., Spiral-curved organisms V: *Leptospira* In: D. C. HIRSH, et al., *Veterinary microbiology*, Blackwell publishing,2004, 148-152
28. GREENE. CE. *et al.*, *Leptospirosis* In: *Infectious diseases of the dog and cat*. Third edition 402-417.
29. HARTMANN K. and GEENE C. E., ,Diseases caused by systemic bacterial infections In: S. J. ETTINGER and E. C. FELDMAN, *Textbook of veterinary internal medicine* 6th edition ,2005,p. 616-618.
30. YOUNES IBRAHIM M., BURTH P. and FARIA M. V., Inhibition of Na, K-ATPase by an endotoxin extracted from *Leptospira interrogans*: a possible mechanism for the physiopathology of leptospirosis.C. R. Acad. Csi II, 1995,318, 619-625.
31. HANSON L. E., Pathogenesis of leptospirosis In: C. J. RUSSELL, *The biology of parasitic spirochetes*, 1976, p.295-306.
32. EMMANUEL LEGRAND ; Ecole nationale vétérinaire d'ALFORT ; *Leptospirose bovine*, 2007.
33. MERIEN et AL ; Polymerase Chain réaction for détection of *Leptospira* spp in clinical samples .*J.Clin Microbiol.*30., 1992.p 2219_2224
34. PEROLAT 2003, WWW.Inv.santé.fr, cours de bactériologie médicale
35. DEBARBAT F. leptospirose à l'île de la réunion, analyse d'une enquête récente, 1982

36. PEDRO N.ACHA.etBORIS ; Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux .2eme édition, 1989, p 90-97
37. GENEVIEVE-ANDRE-FONTAINE, Ecole nationale vétérinaire de Nantes, 2005.
38. OMS, Guide pour la lutte contre la leptospirose n°67,1987.
39. GILES, N., S.C. HATHAWAY and A.E. STEVENS, Isolation of *Leptospira interrogans* serovar hardjo from. A viable premature calf. *Vet. Rec.*, 1983, 113, 174-176.
40. PEREZ BONILLA, Q., E. DORADO SANCHEZ and J. BORALLO MIRA, Une enzootie de leptospirose bovine. *Point Vêt.*, 1983, 15(71), 51-54
41. RAUTUREAU, S., *Bilan du statut sanitaire des bovins et des porcs vis à vis de la leptospirose dans l'union européenne*, Thèse Méd. Vêt. ENVN, 2003, N° 29, 75 p.
42. ELLIS, W.A., Manifestations cliniques des leptospiroses chez le bétail. *Méd. Mal. Infect.*, 1981, 11, 84-85.
43. ANDRE-FONTAINE G. Actualités sur la leptospirose canine. *Point Vêt.*, 2002, 33, 26-31 HIGGINS R. A minireview of the pathogenesis of acute leptospirosis.*Can. Vet. J.*, 1981,22, 277-278
44. HIGGINS R. (1981) A minireview of the pathogenesis of acute leptospirosis.*Can. Vet. J.*, 22, 277-278.)
45. ADAMUS C, BUGGIN-DAUBIE M, IZEMBART A, SONRIER-PIERRE, GUIGNADL, MASSON MT et al.Chronique hepatitis associated with leptospiral Infection in vaccinated beagles.*j.Comp.pathol.*1997, 117(4), 311-328
46. LANGSTON CE, HEUTER KJ. Leptospirosis a re-emerging zoonotic disease. *Vet. Clin. North Am. (Small animal practice)*, 2003, 33 (4), 791-807.

47. GREENLEE J. J., *et al.*, Experimental canine leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* serovars pomona and bratislava. *Am. J. Vet. Res.*, 2005,66, (10), 1816-1822.
48. BIRNBAUM N., *et al.*, Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: serological and clinic pathological features. *small Anim. Pract.*,1998, 39, (5), 231-236
49. HARKIN K. R. and GARTRELL C. L., (1996), Canine leptospirosis in New Jersey and Michigan: 17 cases (1990-1995). *J. Am. Anim. Hospit. Assoc.*, 32, 495-501
50. MASTRORILLI C., *et al.*, Clinicopathologic features and outcome of *Leptospira interrogans* Australis serogroup infection in dogs: a retrospective study of 20 cases (2001-2004). *J. Vet. Intern. Med.*, 2007, 21, (1), 3-10.
51. PEROLA.P, BARANTON.G., Précis de bactériologie clinique, chap. 91, édition Paris, ESKA 2000, p1533-1542
52. DIKKEN, H., *Diagnostic direct des leptospiroses humaines. Méd. Mal. Infect*, 1981,11(2), 95-99.
53. KOSOSSEY-VRAIN, C., *La leptospirose canine: revue bibliographique*, Thèse Méd.Vét. EN VA, 2004, N°135, 150p.
54. THIERMANN, A.B., Leptospirosis currents, developments and trends. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, 184, 722-725.
55. FORREST L. J., *et al.* Sonographic renal findings in 20 dogs with leptospirosis. *Vet Radio Ultrasound*, 1998,39, (4), 337-340.
56. BAUMANN D. and FLUCKIGER M., (2001), Radiographic findings in the thorax of dogs with leptospiral infection. *Vet Radiol Ultrasound*, 42, (4), 305-307
57. GITTON X, BUGGIN DAUBIE M, ANDRE F, GANIERE J-P, ANDREFONTAINE G. Recognition of *Leptospira interrogans* antigens by vaccinated or infected dogs. *Vet. Microbiol.*, 1994, 41, 87-97.

58. ANDRE-FONTAINE, G., J.P. GANIERE and A. BOUKERROU, Données actuelles sur la leptospirose des animaux d'élevage 1- étiologie, symptômes, épidémiologie. *Rev. Méd. Vét.*, 1985, 136, 627-637
59. FAINE, S., B. ADLER, C. BOLIN and P. PEROLAT, *Leptospira and leptospirosis*. 2nd éd. Melbourne: Medici, 1999.
60. ANDRE-FANTAINE 2005,html/WWW.santé.gow/fr/ ;(déc. 2009) Dr Chantal Vincent, leptospirose canine, une zoonose en emergence2000, ANDRE-FANTAINE G : canine leptospirosis –do we have a problem ? *Vet –microbial*, 2006-117,19-24
61. CHANTAL VINCENT .Leptospirose canine, une zoonose en émergence, 2000.
62. TAINTURIER, D., F. FIENI, J.F. BRUYAS and I. BATTUT, Conduite à tenir devant un avortement dans un élevage bovin. *Point vét.* 1997, 28(183), 1239-1243.
63. SONRIER C, BRANGER C, MICHEL, RUVOEN-CLOUET N, GANIERE JP, ANDRE-FONTAINE G. Evidence of cross-protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine*, 2001, 19, 86-94.
64. DESMECHT M., Durée de l'immunité conférée par le vaccin de la leptospirose canine chez le hamster. *Ann. Méd. Vét.*, 1982,126, 55-58