

LEPTOSPIROSE

DEFINITION

Les leptospires sont des bactéries appartenant à l'ordre des Spirochaetales, famille des *Leptospiraceae*, qui ne comprend que le genre *Leptospira*. Deux espèces sont classiquement reconnues selon des critères phénotypiques simples. *L. interrogans* regroupe les souches pathogènes, responsables des leptospiroses. *L. biflexa* comprend les souches saprophytes « aquicoles ». Selon des critères antigéniques fins, chaque espèce est divisée en sérovars, pouvant être associés en sérogroupes. Cette classification sérotypique est remise en cause par les études génomiques. Les leptospires sont visibles au microscope à fond noir sous forme de fins spirochètes (4 à 20 µm de long sur 0,1 µm de diamètre), à extrémités en crochet. Leur mobilité est complexe (flexion, vrille...). Ils sont aérobies stricts et sensibles à la chaleur et à la lumière. Les leptospires peuvent être cultivés *in vitro* sur milieu enrichi mais ils perdent alors rapidement leur pouvoir pathogène. Le hamster et le jeune cobaye sont sensibles à l'infection expérimentale.

BIOPATHOLOGIE

■ EPIDEMIOLOGIE

Les leptospiroses sont endémiques dans le monde entier, avec une prédominance tropicale. En France métropolitaine, le Centre National de Référence recense en moyenne 200 à 400 cas annuels, avec un pic en été et au début de l'automne. Le séro groupe *icterohaemorrhagiae* est prédominant, suivi en général par *grippotyphosa*. Dans les DOM-TOM, on dénombre entre 600 et 800 cas par an. L'incidence varie selon les années en fonction des conditions météorologiques et environnementales. Le réservoir de germes est essentiellement animal, surtout chez les rongeurs sauvages qui sont des excréteurs urinaires fréquents. Le bétail, les chevaux, les porcs peuvent être infectés, de même que le chien qui peut être porteur asymptomatique. Les leptospires se maintiennent quelques jours dans l'eau et les sols boueux ombragés à salinité faible. La contamination se fait par passage transcutané (quelquefois conjonctival) à la faveur d'une excoriation ou après ramollissement de la peau, dû à une station prolongée dans l'eau. La leptospirose est une maladie professionnelle (égoutiers, éleveurs, bouchers, mineurs, travailleurs en abattoirs, dans les rizières...). La contamination survient de plus en plus fréquemment au cours de loisirs aquatiques (pêche, baignade en eau douce).

■ CLINIQUE

La forme typique de la leptospirose est l'ictère infectieux à recrudescence fébrile (ictère à rechute de Mathieu et Weil). Après une incubation de 8 à 12 jours, un tableau infectieux intense apparaît, avec myalgies violentes, syndrome méningé franc et congestion des conjonctives. Au sixième jour se déclenche un ictère flamboyant avec hépatonéphrite aiguë. Cette phase dure 4 à 5 jours, puis les signes généraux régressent. Une rechute fébrile survient au cours de la troisième semaine, puis disparaît. La convalescence est longue, généralement sans séquelles. Cette forme typique est relativement rare. La forme méningée isolée est plus fréquente. Il existe des formes hémorragiques gravissimes, souvent mortelles. Des complications oculaires (uvéite) peuvent survenir tardivement. Des formes de type pseudogrippal ont été décrites sous des noms divers : fièvre des marais, maladie des porchers. L'infection peut être fruste ou inapparente. Le tableau suivant montre les principaux leptospires rencontrés actuellement.

Sérogroupe	Hôte préférentiel	Clinique
<i>icterohaemorrhagiae</i>	rat	Hépatonéphrite aiguë - Syndrome méningé
<i>grippotyphosa</i>	rongeurs divers	Fièvre des marais - Méningite aseptique
<i>canicola</i>	chien	Ictère - Syndrome fébrile - Méningite aseptique
<i>australis</i>	rat, rongeurs sauvages	Maladie des porchers - Syndrome fébrile - Méningite aseptique
<i>pomona</i>	souris, mulot	Fièvre des rizières

INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Diagnostic étiologique d'une hépatonéphrite ou d'un syndrome méningé en fonction des critères épidémiologiques (contact avec une eau potentiellement souillée, profession exposée).

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

Sang total prélevé sur EDTA, plasma EDTA, sérum, urines ou LCR prélevés dans les 10 premiers jours de la maladie, pour diagnostic direct par PCR.

Sérum pour la recherche des anticorps.

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions précises de prélèvement et conservation-transport.

■ QUESTIONS A POSER

Date de début et nature des signes cliniques, risques épidémiologique et professionnel.

METHODES DE DOSAGE

L'efficacité des méthodes utilisées dépend du degré d'évolution de la maladie. Pendant la première phase, les leptospires diffusent dans l'organisme par voie sanguine et le diagnostic direct est possible.

Au cours de la deuxième semaine, les germes disparaissent du sang mais peuvent être détectés dans le LCR et les urines. Passé ce délai, la recherche d'une séroconversion permet de faire le diagnostic rétrospectif.

■ DIAGNOSTIC DIRECT

■ Orientation par examen direct :

Il peut être réalisé en première intention dès le recueil du prélèvement (sang, LCR, urine) par centrifugation, pour concentrer les leptospires éventuellement présents.

L'examen au microscope à fond noir doit être réalisé sur des prélèvements très frais au sein desquels les leptospires auront conservé leur mobilité. La technique de coloration par imprégnation argentique ou surtout par l'acridine orange après fixation à l'éthanol permet d'apprécier la morphologie des bactéries. On peut également réaliser un immunomarquage (fluorescence ou peroxydase) à l'aide d'anticorps anti-leptospires. Ces techniques nécessitent un observateur entraîné. De plus, elles ne permettent pas de différencier les leptospires pathogènes des leptospires saprophytes et leur sensibilité est faible (10^4 bactéries/ml).

■ Recherche par culture :

Réservée aux laboratoires spécialisés, elle nécessite des milieux enrichis, supplémentés en sérum de lapin ou, actuellement, en tween-albumine (milieu EMJH liquide ou semi-solide). On peut rendre le milieu partiellement sélectif à l'isolement par adjonction de 5-fluoro-uracile. Avant ensemencement, il est conseillé de diluer les prélèvements au $1/10^6$ et d'alcaliniser les urines. L'incubation a lieu à 25-30 °C, à l'obscurité, avec observation microscopique régulière pendant deux mois. En cas de culture positive, l'identification de la souche repose essentiellement sur l'agglutination par des antisérums spécifiques. Les techniques d'identification génotypique sont également de plus en plus utilisées.

■ Inoculation à l'animal :

Le jeune cobaye ou mieu, le hamster, sensible à un nombre plus important de sérovars, peuvent être utilisés. Les animaux sont surveillés cliniquement. En cas de décès spontané ou après sacrifice à 21 jours, on pratique l'autopsie (en prenant les précautions requises pour éviter la contamination du manipulateur). Les leptospires peuvent être observés et cultivés à partir du foie, de la rate et des reins.

■ Détection de l'ADN des leptospires pathogènes «sensu lato» par PCR ou PCR en temps réel :

Elle permet de réaliser le diagnostic rapidement, sans les contraintes inhérentes à la culture bactérienne. La détection est possible dans le sang, le plasma ou le sérum dès le 1^{er} et jusqu'au 10^e jour après le début de la fièvre ; puis dans le LCR et l'urine, éventuellement l'humeur aqueuse, à partir de la 2^e semaine suivant le début de la fièvre.

■ DIAGNOSTIC INDIRECT

Le diagnostic des leptospiroses est encore assuré essentiellement par la sérologie. Deux prélèvements espacés de 8 à 10 jours sont nécessaires à l'établissement du diagnostic des formes aiguës.

■ Test antigène TR

Il s'agit d'une réaction de macro-agglutination sur lame utilisant un antigène thermorésistant (d'où le nom de TR) préparé à partir d'une souche de *Leptospira patoc* (non pathogène). Ce test est très simple mais sa sensibilité, médiocre et, surtout, sa mauvaise spécificité, le rendent inadapté pour un diagnostic.

■ Tests ELISA

Un test ELISA faisant appel à un antigène extrait d'une souche de *Leptospira patoc* détectant les anticorps IgG ou IgM peut être utilisé, soit en microplaque, soit sous forme de bâtonnet individuel (dot-ELISA). Ce test peut être utilisé en dépistage mais il peut être faussement négatif en cas d'infection par certains sérovars. L'utilisation d'un antigène combinant plusieurs sérovars améliore les résultats mais alourdit la mise en œuvre de la réaction.

■ Test de micro-agglutination microscopique ou MAT (agglutination-lyse de Martin et Pettit)

C'est la technique de référence. Il consiste à mettre en présence des dilutions du sérum à tester avec des cultures vivantes de leptospires. Les anticorps agglutinent les bactéries et la lecture est réalisée au microscope à fond noir. Il faut tester au moins une dizaine de souches de référence représentatives des principaux sérogroupes, ainsi qu'une souche de *Leptospira patoc* qui est agglutinable par les anticorps induits par de nombreux sérovars pathogènes. Un sérum est positif, à une dilution donnée et pour la souche testée, si au moins 50 p. cent des leptospires sont agglutinés par rapport à une souche témoin. Cette technique de réalisation difficile (il faut entretenir les souches de leptospires au laboratoire) est réservée aux laboratoires spécialisés.

■ Interprétation

La mise en évidence des leptospires pathogènes permet le diagnostic de certitude. La culture est peu utilisée en pratique, du fait des conditions opératoires requises et de la lenteur habituelle des résultats. La PCR permet d'obtenir un résultat fiable en quelques heures et tend à devenir la méthode de choix, à condition que les

prélèvements soient effectués précocement. La détection des anticorps IgM par ELISA est intéressante puisqu'ils apparaissent dès le début de la deuxième semaine. La technique possède cependant des limites : résultats faussement positifs ; manque de sensibilité lors de l'infection par certains sérovars.

La réaction de micro-agglutination (MAT) est délicate à réaliser mais c'est la technique la plus fiable. Ce test n'a de valeur diagnostique qu'à partir du 8^e jour après le début de la fièvre, délai nécessaire pour que les Ac de classe IgG et IgM dirigés contre les structures lipopolysaccharidiques de surface des leptospires soient détectables. La présence d'anticorps agglutinant plusieurs sérovars est fréquente en début de maladie et seul un sérum tardif permet de préciser le séovar en cause, d'où l'intérêt de tester un troisième sérum quelques semaines après la guérison. Le MAT peut être utilisé quelle que soit l'espèce animale, le seuil de positivité variant d'une espèce à l'autre. A la suite d'un rapport d'évaluation récent de la HAS, il pourrait être inscrit prochainement à la NABM (2011).

TRAITEMENT

■ CURATIF

La forme ictéro-hémorragique nécessite l'hospitalisation en service de réanimation en raison du risque rénal. L'antibiothérapie (pénicilline et dérivés, doxycycline) diminue le risque de complications lorsqu'elle est administrée précocement, mais ne semble pas modifier la durée de l'infection. Les formes atypiques de type grippal ne nécessitent qu'un traitement symptomatique.

■ PREVENTIF

■ Prévention individuelle

Elle repose sur l'information des personnels à risque, la lutte contre les rongeurs, l'assainissement des berges des cours d'eau, le contrôle des eaux de baignade, le nettoyage des locaux infectés et des règles générales d'hygiène, surtout dans les professions exposées à la maladie (lavage systématique des mains, port de gants, ne pas manger ou boire dans l'animalerie). La lutte contre l'infection des animaux domestiques permet également d'éviter la contamination de l'homme. La prophylaxie sanitaire est difficile compte tenu du grand nombre d'espèces animales susceptibles d'héberger des leptospires et de la survie de ces bactéries dans le milieu extérieur.

■ Prévention médicale : la vaccination

Des vaccins inactivés sont utilisés chez des sujets potentiellement très exposés. L'immunité étant spécifique de sérovars, la protection conférée dépend de la composition du vaccin. Chez l'homme, le vaccin utilisé n'est efficace que contre le seul séovar *icterohaemorrhagiae*. Généralement bien toléré, il est administré à raison de deux injections à 15 jours

d'intervalle, premier rappel à 6 mois puis tous les deux ans. On peut vérifier l'efficacité du vaccin en titrant les anticorps induits (MAT). En France, seulement 17 % des personnels à risque sont vaccinés.

Des vaccins destinés aux bovins, aux porcs et aux chiens sont disponibles dans plusieurs pays. En France, un vaccin est commercialisé pour les chiens. Il contient des souches de sérovars *icterohaemorrhagiae* et *canicola* (2 injections à 3 semaines d'intervalle suivies d'un rappel annuel ou, mieux, d'un rappel tous les 6 mois). Son efficacité est limitée, la protection ne dure que 6 à 12 mois. De plus, il n'empêche ni le portage, ni l'excrétion, si bien qu'un chien vacciné peut être à l'origine de contaminations de l'homme.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Baranton G. et Postic D., *Méthodes de laboratoire : Leptospire - Borréliose de Lyme*, Institut Pasteur, Collection « Commission des laboratoires de référence et d'expertise de l'Institut Pasteur », Paris.
- Diagnostic biologique de la leptospirose – rapport d'évaluation technologique. HAS, juin 2011.
- Société française de microbiologie, *Leptospire*, In : REMIC : Société Française de Microbiologie Ed ;2015 :523-525.