



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 15968

To cite this version :

Duler, Laëtitia. *Étude rétrospective des cas de leptospirose canine de l'ENVT entre 2009 et 2014*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 126 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ETUDE RÉTROSPECTIVE DES CAS DE LEPTOSPIROSE CANINE DE L'ENVT DIAGNOSTIQUÉS ENTRE 2009 ET 2014

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

DULER Laetitia

Née, le 29 mars 1991 à Paris XVème (75)

Directeur de thèse : Mme Rachel LAVOUE

JURY

PRESIDENT :
M. Pierre DELOBEL

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Rachel LAVOUE
Mme Armelle DIQUELOU

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MILON Alain**, *Microbiologie moléculaire*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL,

Chef du Service des Maladies Infectieuses et Tropicales

Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Rachel LAVOUE,

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores

Pour m'avoir proposé ce sujet qui me passionne tant, pour votre disponibilité et votre patience, vos conseils avisés et votre encadrement.

Tous mes remerciements.

A Madame le Professeur Armelle DIQUELOU

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale de Toulouse

Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores

Pour avoir accepté l'assessorat de cette thèse.

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Angeli Kodjo,

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,

Pour avoir contribué au recensement des données sérologiques de cette étude.

Sincères remerciements.

Au laboratoire SCANELIS

De Saint-Martin-du-Touch,

Pour avoir contribué au recensement des résultats par PCR,

Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	9
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	11
I. ETIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE	13
A. Historique.....	13
B. Classification.....	13
1. Classification des espèces.....	13
2. Classification sérologique.....	14
3. Classification génotypique	15
C. Biologie et morphologie.....	16
D. Epidémiologie	17
II. PATHOGENIE DE LA LEPTOSPIROSE	19
A. Conditions de l'infection.....	19
1. Facteurs dépendants du pouvoir pathogène des leptospires	19
2. Facteurs dépendants de la réceptivité et de la sensibilité de l'hôte	20
B. Etapes de l'infection.....	21
1. Phase de contamination	22
2. Phase d'invasion	22
3. Phase de colonisation.....	22
III. LA LEPTOSPIROSE CANINE	25
A. Impact de la leptospirose canine en terme de santé publique	25
B. Epidémiologie de la leptospirose canine	25
1. Race et type d'utilisation	25
2. Sexe et statut sexuel.....	26
3. Age.....	26
4. Accès à l'extérieur	26
5. Chiens de refuges.....	26
6. Localisation géographique, saison et hygrométrie	27
C. Clinique de la leptospirose canine.....	27
1. Formes cliniques.....	27
2. Lésions associées.....	31

D.	Modifications des variables de laboratoire.....	32
1.	Anomalies biochimiques	32
2.	Anomalies hématologiques et hémostatiques.....	33
3.	Anomalies des analyses urinaires	34
4.	Variables à surveiller pendant le traitement	34
E.	Images radiographiques, tomodensitométriques et échographiques	35
1.	Images radiographiques	35
2.	Images tomodensitométriques	36
3.	Images échographiques.....	37
F.	Techniques de diagnostic de la leptospirose canine.....	38
1.	Prélèvements.....	38
2.	Diagnostic direct.....	38
3.	Diagnostic indirect.....	41
4.	En pratique.....	46
G.	Traitement de la leptospirose canine.....	47
1.	Antibiothérapie	47
2.	Traitement symptomatique	48
H.	Prophylaxie sanitaire et médicale.....	50
1.	La vaccination.....	50
2.	Autres mesures prophylactiques	50

ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS DE LEPTOSPIROSE CANINE DE L'ENVT
DIAGNOSTIQUES ENTRE 2009 ET 2014..... 51

I.	OBJECTIFS	53
II.	MATERIEL ET METHODES.....	53
A.	Collecte des données	53
B.	Patients	54
1.	Critères d'inclusion.....	54
2.	Critères d'exclusion	55
C.	Variables étudiées	55
1.	Epidémiologie.....	55
2.	Commémoratifs	56
3.	Présentation clinique à l'admission	56
4.	Anomalies des examens de laboratoires.....	57

5.	Examens mettant en évidence les leptospires.....	57
6.	Examens d'imagerie	59
7.	Analyses cytologiques et histologiques.....	59
8.	Examens nécropsiques.....	59
9.	Etude statistique.....	60
III.	RESULTATS	61
A.	Examens mettant en évidence les leptospires	61
1.	Réaction de polymérase en chaîne.....	61
2.	Test d'agglutination microscopique	62
B.	Epidémiologie	64
1.	Température et hygrométrie	64
2.	Localisation autour de l'ENVV	65
C.	Commémoratifs.....	66
1.	Race	66
2.	Sexe et statut sexuel.....	67
3.	Statut vaccinal.....	67
4.	Age.....	68
D.	Présentation clinique à l'admission.....	68
1.	Apathie et déshydratation	68
2.	Température corporelle.....	69
3.	Symptômes digestifs.....	69
4.	Symptômes uro-néphrologiques	70
5.	Symptômes hémorragiques.....	70
6.	Examen cardio-respiratoire.....	70
7.	Autres.....	71
E.	Anomalies des examens de laboratoire	71
1.	Analyses sanguines.....	71
2.	Analyses d'urines	74
F.	Examens d'imagerie.....	78
1.	Echographie	78
2.	Radiographie.....	80
G.	Analyses cytologiques et histologiques.....	82
1.	Analyse cytologique	82
2.	Analyse histologique	82
H.	Examen nécropsique	83

I.	Evolution et suivi	83
J.	Résultats statistiques	85
1.	Corrélation sérovar – hypercréatinémie	85
2.	Facteurs pronostiques de mortalité	85
IV.	Discussion	87
A.	Etude d'éventuels biais et erreurs.....	87
1.	Biais de sélection	87
2.	Biais d'information et d'observation.....	88
3.	Erreurs aléatoires	89
4.	Potentiels facteurs de risque	90
B.	Epidémiologie et commémoratifs	90
C.	Modifications cliniques et analyses de laboratoire différant de la littérature	91
D.	Examens mettant en évidence les leptospires	92
E.	Pronostic.....	94
	CONCLUSION	95
	TABLE DES ILLUSTRATIONS	97
	TABLE DES ACRONYMES ET ABREVIATIONS	99
	SYMBOLES ET UNITES	101
	BIBLIOGRAPHIE	103
	ANNEXES	111

INTRODUCTION

La leptospirose est une zoonose ubiquitaire provoquée par des bactéries de l'espèce *Leptospira*. Son potentiel zoonotique, son fort taux de mortalité ainsi que le rôle épidémiologique de l'animal dans la transmission de la maladie à l'Homme en font une maladie d'intérêt tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. C'est pourquoi il a paru pertinent de réaliser une étude rétrospective des cas de leptospirose canine diagnostiqués et traités au centre hospitalier vétérinaire des animaux de compagnie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse entre 2009 et 2014. Le but de cette étude est de dresser un profil épidémioclinique des chiens susceptibles d'être atteints de leptospirose dans le bassin toulousain et de comparer ces données à la littérature, d'étudier la possible corrélation entre le sérovar infectant et la présence d'une insuffisance rénale aigüe et enfin d'identifier des marqueurs pronostiques de mortalité.

La première partie de ce manuscrit est une synthèse bibliographique des données recensées dans la littérature scientifique concernant la leptospirose canine. La deuxième partie expose la méthodologie et les résultats de l'étude rétrospective. Ces résultats sont discutés à la lumière des données bibliographiques et confrontés à ceux d'études réalisées sur le même sujet en Europe ou ailleurs.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ETIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE

A. Historique

Ce syndrome, souvent caractérisé par une hépatopathie accompagnée d'une insuffisance rénale a été rapporté pour la première fois il y a plus d'un siècle par Adolf Weil in Heidelberg (Adolf Weil in Heidelberg, n.d.). Dans la Chine antique, des présentations similaires à celles de la leptospirose ont également pu être mises en évidence après certaines récoltes de riz (J. D. Everard, n.d.). Il est probable que *Leptospira interrogans* sérovar *Icterohaemorrhagiae* ait été introduit en Europe occidentale au 18^{ème} siècle lors de l'explosion de l'import de *Rattus norvegicus* depuis l'Asie. La cause de la leptospirose a été élucidée de manière indépendante à la fois au Japon et en Allemagne en 1915 (J. D. Everard, n.d.). A l'observation microscopique, les spirochètes avaient des extrémités en crochets : elles furent nommées *Spirocheta interrogans* à cause de leur ressemblance avec un point d'interrogation. Le rôle du rat dans la transmission de la leptospirose a été identifié en 1917. La distinction entre l'infection à *L. interrogans* sérovar *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola* pris plusieurs années. L'infection des animaux de bétail a été mise en évidence quelques années plus tard (Klarenbeek A., Schüffner W. A. P. 1933).

B. Classification

1. Classification des espèces

Les leptospires appartiennent à un ordre de bactéries appelé Spirochètales, longtemps assimilé aux protozoaires. Depuis les années 1950, il est considéré comme un ordre à part entière (Bharti et al. 2003). Cet ordre comprend deux familles : les Spirochaetaceae et les Leptospiraceae. La famille des Spirochaetaceae regroupe les genres *Treponema*, *Serpulina* et *Borrelia*. Dans la famille des Leptospiraceae, on retrouve les genres *Leptonema* et *Leptospira* (figure 1).

Selon la taxinomie ancienne (avant 1989), le genre *Leptospira* se divise en trois espèces: *Leptospira interrogans* regroupant les souches pathogènes pour les animaux, *Leptospira biflexa* et *Leptospira parva* rassemblant des souches saprophytes.

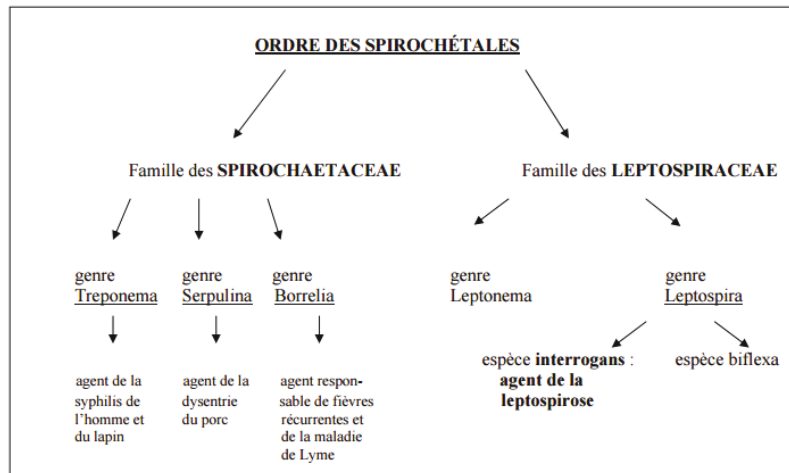


Figure 1 : Ordre des Spirochètales

Il existe plusieurs modes de classification des leptospires dont la classification sérologique et la classification génotypique. La nomenclature des leptospires est complexe. *Leptospira biflexa* et *L. interrogans* ont été différenciés par leur différence de croissance à 13°C, leur croissance en présence de 8-azaguanine et par l'incapacité de *L. biflexa* à former des cellules sphériques dans du chlorure de sodium.

2. Classification sérologique

Leptospira interrogans et *L. biflexa* ont tous deux été divisés en de nombreux sérovars définis par agglutination par absorption croisée avec un antigène homologue. Ainsi, plus de 60 sérovars de *L. biflexa* ont été recensées (Johnson R. C., Faine S. 1984). Concernant *L. interrogans*, plus de 200 sérovars ont été mis en évidence, de plus certains sérovars ont été isolés mais n'ont pas encore été validés pour être publiés en tant que tels. Les sérovars qui étaient liés d'un point de vue antigénique ont traditionnellement été regroupés en sérogroupes. C'est à cette classification en sérogroupes que correspond la classification sérologique. Ces sérogroupes n'ont pas de réalité taxinomique mais sont utiles pour comprendre l'épidémiologie de la leptospirose.

La classification sérologique est la classification utilisée dans cette étude.

3. Classification génotypique

La classification génotypique inclue des sérovars de *L. interrogans* et *L. biflexa*. L'hétérogénéité entre les leptospires a été démontrée dès 1974 (Brendle, Rogul, and Alexander 1974). La technique d'hybridation de l'ADN a permis d'établir 10 espèces génomiques de *Leptospira* (Ramadass et al. 1992). D'autres géoespèces comme *L. kirschneri*, *L. alexanderi*, ou *L. fainei*, ont été rajoutée depuis (Yasuda et al. 1987; Perolat et al. 1998; Brenner et al. 1999) (tableau 1). Ces espèces génomiques de *Leptospira* ne correspondent pas aux deux espèces précédemment établies (*L. interrogans* et *L. biflexa*) dans la classification sérologique. Dans cette classification, il peut y avoir des sérovars pathogènes ou non au sein d'une même espèce.

Espèces génomiques	Sérovars
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin</i>
<i>L. noguchii</i>	<i>Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona</i>
<i>L. santarosai</i>	<i>Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri</i>
<i>L. meyeri</i>	<i>Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica</i>
<i>L. wolbachii</i>	<i>Codice</i>
<i>L. biflexa</i> ^e	<i>Semarang, Andamana</i>
<i>L. fainei</i>	<i>Hurstbridge</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Javanica, Ballum, Hebdomadis, Sejroe, Tarassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis</i>
<i>L. kirschneri</i>	<i>Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bataviae,</i>
<i>L. weilii</i>	<i>Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Hebdomadis, Pyrogenes, Manhao, Sejroe</i>
<i>L. inadai</i>	<i>Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica</i>
<i>L. parva</i>	<i>Turneria</i>
<i>L. alexanderi</i>	<i>Manhao, Hebdomadis, Javanica, Mini</i>

Tableau 1 : Correspondance entre espèces génomiques et sérovars de *Leptospira* spp (Brenner et al. 1999; Perolat et al. 1998)

Ni le sérotype ni le sérovar ne peuvent prédire de manière fiable l'espèce de *Leptospira* (Brenner et al. 1999; Perolat et al. 1998).

Les caractéristiques utilisées autrefois pour différencier *L. interrogans* sensu lato de *L. biflexa* sensu lato ne permettent pas de différencier les espèces génomiques (Brenner et al. 1999; Yasuda et al. 1987).

Cette nouvelle classification des leptospires sur des bases génotypiques est cohérente d'un point de vue taxinomique. Néanmoins cette classification à l'échelle moléculaire est problématique en microbiologie clinique car incompatible avec le système de sérogroupes dont se servent cliniciens et épidémiologistes depuis des années. Ainsi même si des méthodes d'identification génétique par l'ADN sont développées et validées, il sera nécessaire en clinique de conserver la classification sérologique des leptospires pathogènes dans les années futures.

C. Biologie et morphologie

Les leptospires sont de petites bactéries spirochètes en spirales serrées (figure 2). Leur taille varie de $0.1 \times 6 \mu\text{m}$ à $0.1 \times 20 \mu\text{m}$ environ. Leurs extrémités sont pointues avec un petit crochet à une ou aux deux extrémités (Levett 2001). Deux filaments axiaux (les flagelles périplasmiques) sont insérés dans l'espace périplasmique. Du point de vue morphologique, il est impossible de distinguer un leptospire d'un autre. Ces derniers ont une structure en double membrane typique des spirochètes dans laquelle la membrane cytoplasmique et le peptidoglycane de la paroi sont associés de manière très étroite et sont recouverts d'une membrane externe. Les lipopolysaccharides (LPS) ont une composition similaire aux autres bactéries Gram- mais avec une activité endotoxique moindre (Werts et al. 2001).

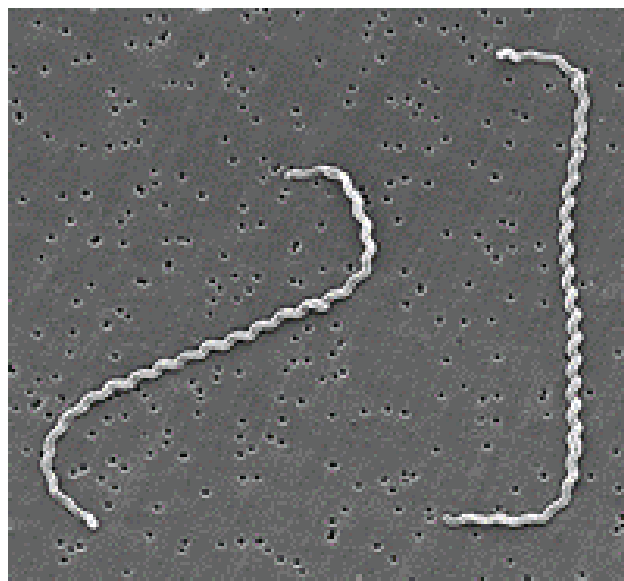


Figure 2 : Observation de leptospires au microscope à fond noir (Levett. 2001)

Les leptospires sont des bactéries aérobies obligatoires avec une température optimale de croissance comprise entre 28°C et 30°C . Elles produisent à la fois des catalases et des oxydases (Levett 2001).

D. Epidémiologie

Les leptospires peuvent survivre des mois dans des zones humides et des eaux stagnantes (Alexander et al. 1975). Les hôtes peuvent s'infecter soit par contact direct entre les muqueuses et les urines d'un animal infecté ou à la faveur d'une plaie. Ces derniers peuvent aussi s'infecter indirectement par contact avec un sol ou un point d'eau contaminé (Levett 2001). De manière plus anecdotique, certains hôtes peuvent s'infecter par ingestion de tissus contaminés voire par voie placentaire ou vénérienne (J. Sykes et al. 2011). Les hôtes non-réservoirs peuvent développer une forme aiguë et sévère de leptospirose. *A contrario*, les espèces réservoirs n'expriment que très peu de signes cliniques après infection par des espèces pathogènes de *Leptospira*. Ces réservoirs peuvent héberger des leptospires dans leurs tubules rénaux et ainsi libérer des bactéries de manière prolongée dans leurs urines. Les petits rongeurs sont considérés comme étant un réservoir majeur. Cependant il semblerait que n'importe quelle espèce de rongeurs, de marsupiaux ou de mammifères (Homme inclus) puisse se comporter comme un réservoir d'espèce pathogène de *Leptospira*. (Ganoza et al. 2010) (figure 3).

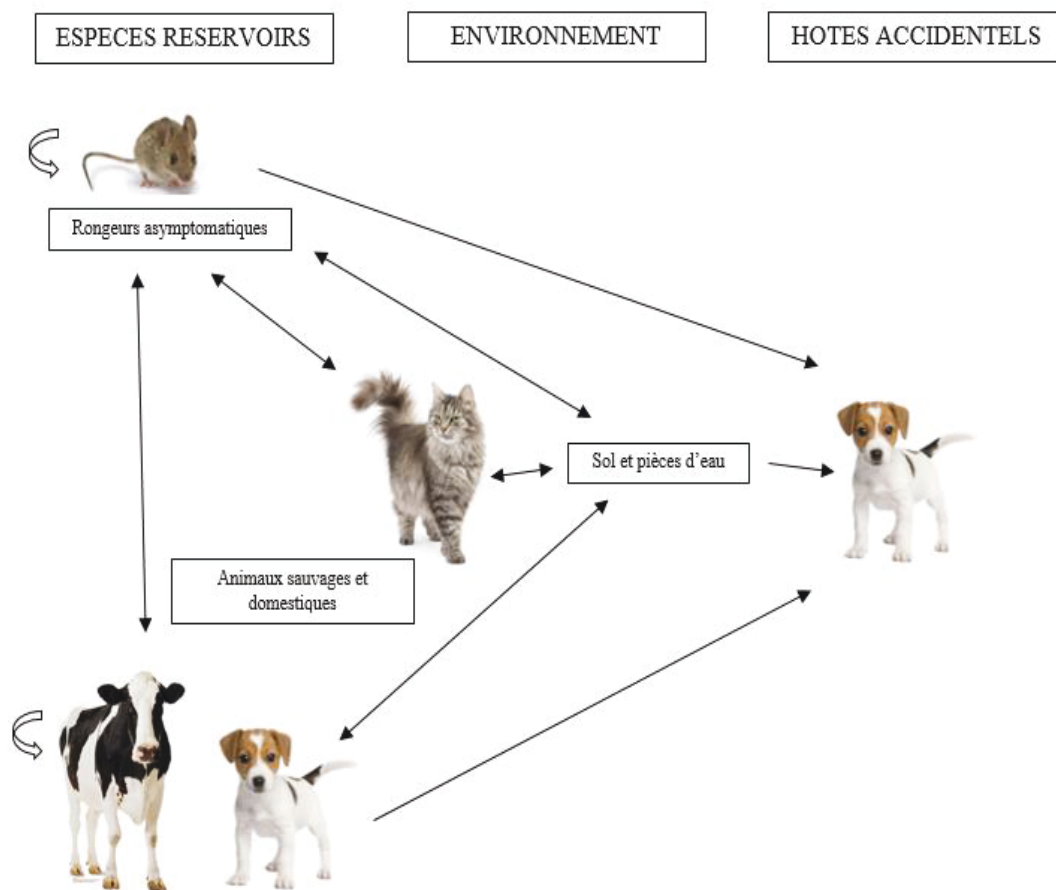


Figure 3 : Transmission de la leptospirose entre les espèces réservoirs et les hôtes accidentels (D'après Schuller et al. 2015)

II. PATHOGENIE DE LA LEPTOSPIROSE

A. Conditions de l'infection

1. Facteurs dépendants du pouvoir pathogène des leptospires

Au sein d'un même sérotype, chaque sérovar a un pouvoir pathogène qui lui est propre.

Plus la bactérie est labile et plus elle est capable de se déplacer rapidement en milieu visqueux. Cette grande motilité est en partie responsable de la pathogénicité et de l'échappement des leptospires aux défenses immunitaires de l'hôte. Les leptospires peuvent ainsi franchir les barrières muqueuses et se mouvoir dans des milieux tels que l'humeur aqueuse ou le corps vitré (C. Kososy Vrain 2006). Sur 4768 gènes identifiés, au moins 50 interviennent dans la mobilité des leptospires (Bharti et al. 2003).

La capacité d'invasion des leptospires semble aussi avoir un rôle important dans leur pathogénicité. Les leptospires pourraient se fixer à l'aide de certains types d'adhésines bactériennes (K. V. Evangelista et al. 2014) à des cadhérines endothéliales (K. Evangelista et al. 2014) et induire *in vitro* des changements dans l'expression de protéines impliquées dans l'architecture et l'adhésion des cellules hôtes. Certaines études montrent également que les peptidoglycanes des leptospires induisent une activité pro-adhésive des neutrophiles sur des cultures de cellules endothéliales (Dobrina et al. 1995). Cette activité est liée à l'expression de protéines dont la synthèse est dépendante de l'expression de molécules d'adhésion spécifiques sur la surface des cellules endothéliales. De plus, une protéine se liant à la fibronectine serait spécifiquement exprimée à la surface des souches virulentes de *L. interrogans icterohaemorrhagiae*. Cette protéine aurait un rôle important dans l'adhésion initiale des leptospires et dans leur invasion cutanée ou muqueuse (Bharti et al. 2003).

De plus, des toxines (surtout des hémolysines) et des enzymes produites par les leptospires, participeraient à leur pathogénicité (Levett 2001; Werts et al. 2001).

Il a été démontré *in vitro* que les LPS (lipopolysaccharides) peuvent induire une apoptose de certaines cellules, en particulier les lymphocytes par l'intermédiaire du facteur TNF- α (facteur alpha de nécrose tumorale) (Isogai et al. 1998).

Par ailleurs, il semblerait que la leptospirose ait aussi une composante à médiation immune. La production de complexes immuns pourrait conduire à une inflammation du système nerveux central (Tong et al. 1971). D'importantes quantités de complexes immuns circulants sont associées à des symptômes sévères. Parmi les patients qui survivent, le taux de récupération clinique est inversement proportionnel au taux de complexes immuns circulants (Galli et al. 1985).

2. Facteurs dépendants de la réceptivité et de la sensibilité de l'hôte

a) Le statut immunitaire et l'âge

De manière générale, un individu immunodéprimé sera plus sensible à une infection qu'un individu immunocompétent.

b) Le statut vaccinal

La vaccination a un impact sur l'opsonisation puis la phagocytose des souches reconnues par l'organisme qui va alors sécréter des anticorps agglutinants contre ces souches.

c) La réaction immunitaire intrinsèque à l'hôte

Il y a deux possibilités : l'individu peut éliminer les leptospires ou les leptospires peuvent persister dans certains sites comme les tubules rénaux (figure 4).

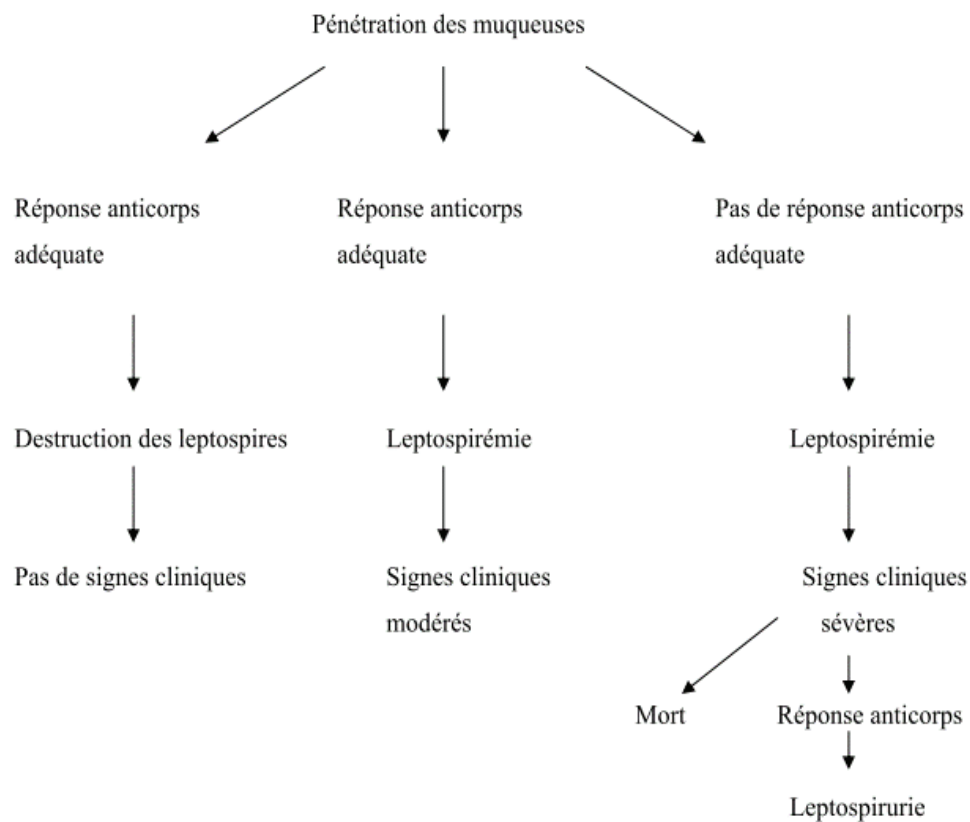


Figure 4: Exemple de variabilité de réponse immunitaire face à une contamination par des leptospires chez le chien (Millet. 1998)

B. Etapes de l'infection

Le schéma général de l'infection par les leptospires se fait en trois phases.

D'abord, une phase de contamination au cours de laquelle les germes s'introduisent dans l'organisme hôte. Puis, une phase d'invasion où les leptospires se multiplient dans le sang (bactériémie). Enfin, une phase de colonisation de différents organes, en particulier les tubules rénaux dans lesquels les leptospires vont se multiplier et être excrétés *via* les urines (figure 5).

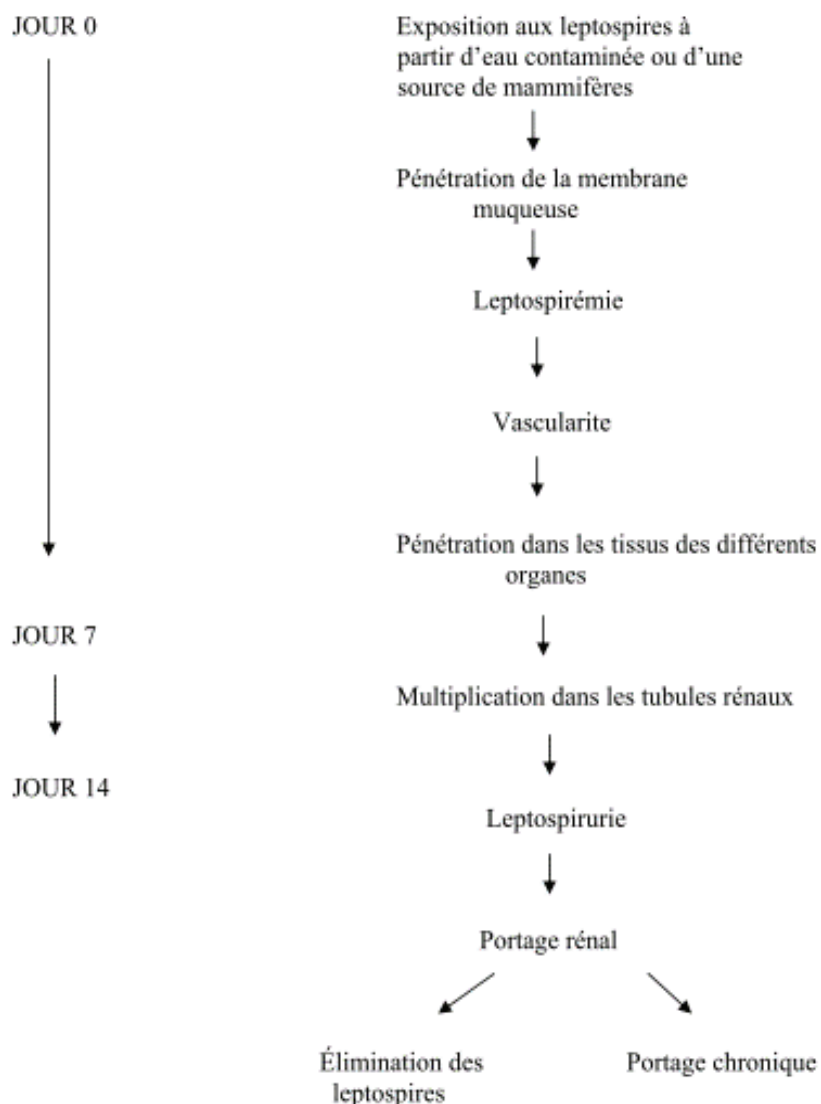


Figure 5 : Etapes de l'infection par la leptospirose (exemple du chien)

1. Phase de contamination

La contamination l'organisme hôte par les leptospires peut se faire par pénétration des muqueuses, au travers de plaies cutanées ou directement par des régions à peau fine comme les oreilles (Millet 1998). De manière plus anecdotique la contamination peut se faire par voie vénérienne ou placentaire (William A. Ellis 2015).

Après le passage de la barrière cutanée ou muqueuse, les leptospires entrent dans l'espace vasculaire qui est un milieu propice à leur multiplication.

2. Phase d'invasion

Après avoir pénétré dans l'hôte les leptospires pathogènes se propagent rapidement par voie hématogène.

Généralement la bactériémie dure 4 à 12 jours et provoque des signes cliniques plutôt frustes. Une hypertrophie de la rate et des signes généraux tels que de l'anorexie, un état léthargique ou encore de la fièvre sont fréquents. Ceci est dû aux LPS (lipopolysaccharides) particuliers qui ne confèrent qu'un faible pouvoir endotoxique aux leptospires (Werts et al. 2001). Les toxines bactériennes entraînent des lésions des parois des capillaires sanguins ce qui provoque des saignements, une hyperfibrinolyse et une thrombocytopenie pouvant aller jusqu'à une coagulation intravasculaire disséminée (Craig E. Greene et al., n.d.). La leptospirémie s'intensifie jusqu'à ce que la réponse immunitaire acquise de l'hôte prenne le dessus.

Durant cette étape les spirochètes échappent aux défenses immunitaires de l'hôte en exprimant des inhibiteurs du système du complément à leur surface et des protéases qui clivent les protéines du système du complément (Fraga et al. 2014).

La phase d'invasion est la seule phase durant laquelle une hémoculture sera positive.

Ensuite les leptospires vont diffuser dans les différents tissus cibles, notamment le foie et les reins.

3. Phase de colonisation

Généralement, les leptospires se répliquant rapidement, la colonisation des organes commence 24h à peine après le début de la bactériémie (J. Sykes et al. 2011).

La leptospirose est une maladie touchant de nombreux organes. Elle affecte en particulier les reins et le foie. Moins fréquemment, la rate, les poumons, les endothéliums, l'uvéa, la rétine, le squelette, le myocarde, les méninges, le pancréas et les organes génitaux peuvent être atteints (Millet 1998).

Les mécanismes selon lesquels les leptospires touchent un organe sont encore mal connus et semblent très variables d'un organe à l'autre. L'interaction des leptospires avec les cellules est à l'origine de coagulopathies, d'hypoxie tissulaire, d'agrégation plaquettaire avec activation du système de coagulation et de fibrinolyse.

Une réaction immunitaire faisant intervenir des IgG (immunoglobulines de type G) et des IgM (immunoglobulines de type M) se met en place face à cette infection. Ces anticorps sont détectables dans le sang après 10 jours d'infection environ. Cette réaction peut provoquer des lésions à médiation immune comme une uvéite (plus courante chez le cheval que chez le chien) ou une néphrite interstitielle. Dans certains cas, une importante élévation des IgM anti-leptospires peut même provoquer une activation excessive du complément (Hartman, van den Ingh, and Rothuizen 1986). Celle-ci a pour conséquence une réaction inflammatoire disproportionnée, une augmentation de la perméabilité vasculaire, un œdème interstitiel, voire une coagulation intravasculaire disséminée.

La localisation rénale des bactéries permet l'excrétion urinaire de leptospires. Même si le sujet semble guéri cliniquement, il peut rester porteur et excréter des leptospires pendant plusieurs mois.

III. LA LEPTOSPIROSE CANINE

A. Impact de la leptospirose canine en terme de santé publique

La leptospirose est une zoonose d'une durée d'incubation de 2 à 25 jours et qui présente des formes plus ou moins sévères. La période d'incubation correspond à la durée entre la pénétration de l'agent pathogène dans l'organisme hôte et la survenue de signes cliniques. Les manifestations les plus graves sont une insuffisance rénale, une insuffisance hépatique et le syndrome hémorragique pulmonaire lié à la leptospirose (J. E. Sykes et al. 2011). L'impact de la leptospirose chez l'Homme dépend de la localisation géographique, du climat et du seuil de pauvreté de la population concernée. Dans les pays en développement, l'Homme se contaminerait indirectement *via* des chiens errants ou des rongeurs sauvages infectés (J. E. Sykes et al. 2011). Dans les pays développés les cas humains de leptospirose sont majoritairement dus à l'exercice d'une activité nautique. Dans une étude faite en Californie, près de 10% des cas de leptospirose humaine seraient indirectement dus à des animaux de compagnie (Meites et al. 2004).

En général les animaux développant une leptospirose aigue sont des hôtes non-réservoirs et ne deviennent pas porteurs chroniques de leptospires. Ainsi la transmission bactérienne d'un hôte non-réservoir à d'autres animaux est rare. La transmission de la leptospirose directement de l'animal à l'Homme n'a pas été démontrée.

B. Epidémiologie de la leptospirose canine

Les chiens sont connus pour être des hôtes de leptospires pathogènes depuis un peu moins d'un siècle. A cette époque l'infection était principalement associée à la présence d'antigènes du sérovar *Canicola* et *Icterohaemorrhagiae*. Depuis quelques années, il a été démontré que les chiens peuvent s'infecter avec de nombreux sérovars. Les sérovars actuellement majoritaires en Europe sont *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*, *Sejroe* et *Canicola* (W. A. Ellis 2010).

1. Race et type d'utilisation

Les conclusions d'études des facteurs de risque de la leptospirose sont controversés et en constante évolution (H. s. Lee et al. 2014). Dans une étude américaine les chiens de travail ou de chasse ainsi que les chiens croisés seraient plus susceptibles d'être atteints de leptospirose (Ward, Glickman, and Guptill 2002a). Néanmoins dans d'autres publications américaines récentes, la race et le type de chien ne semblent pas être un facteur de risque (H. s. Lee et al. 2014).

2. Sexe et statut sexuel

Il semblerait que les mâles soient particulièrement touchés par la leptospirose (Ghneim et al. 2007a; Scanziani et al. 2002a; Ward, Glickman, and Guptill 2002a). Parmi eux, les mâles entiers seraient les plus à risque (Ward, Glickman, and Guptill 2002a).

3. Age

Les résultats d'études divergent concernant une éventuelle prédisposition liée à l'âge. Pour certaines études (Ward, Glickman, and Guptill 2002a) ce sont les chiens d'âge moyen (de 4 à 10 ans) qui sont le plus à risque. Dans d'autres publications, se sont surtout les animaux immunodéprimés : soit les jeunes sujets ou les individus âgés (Ghneim et al. 2007a). Le statut immunitaire naïf des animaux jeunes ou l'interruption des protocoles vaccinaux des chiens âgés pourrait également expliquer que ces classes d'âge soient particulièrement sensibles à la leptospirose.

4. Accès à l'extérieur

Le fait que l'animal réside à proximité d'une zone rurale a été démontré comme étant un facteur de risque (Ward, Guptill, and Wu 2004; Ghneim et al. 2007a). Ces résultats sont en contradiction avec ceux d'une autre étude qui a mis en évidence que les animaux les plus touchés par la leptospirose étaient ceux vivant en zone urbaine ou péri-urbaine (Adin and Cowgill 2000a).

D'autres études menées aux Etats-Unis ont démontré que les chiens vivant à proximité d'un point d'eau en extérieur, nageant ou buvant de l'eau dehors ou ayant un contact avec des animaux sauvages étaient plus atteints par la leptospirose (Ghneim et al. 2007a). En effet, si les leptospires ne se multiplient pas hors de l'hôte ils peuvent néanmoins persister pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois dans un sol imprégné par des urines contaminées (Alexander et al. 1975).

5. Chiens de refuges

Une étude italienne a montré une prévalence d'anticorps anti-*Leptospira spp.* plus importante chez les chiens vivant en chenil (Scanziani et al. 2002a). Une étude irlandaise complète ces découvertes en prouvant que les animaux en refuge présentent un portage urinaire plus important que les chiens présentés en centre de référés (Rojas et al. 2010). Ces conclusions sont probablement dues à la densité de population en chenil et aux mauvaises conditions d'hygiène facilitant la transmission directe entre les animaux.

6. Localisation géographique, saison et hygrométrie

La leptospirose est une maladie saisonnière. Les épidémies animales et humaines coïncident avec des périodes de précipitations importantes ou d'inondations (Johnson R. C., Faine S. 1984). Une étude récente étudiant la prévalence de la leptospirose dans quatre régions différentes des Etats-Unis a démontré que les formes d'apparition saisonnière dépendent de la région. Cette étude a de plus démontré qu'il existe un lien entre l'hygrométrie de la région et la prévalence de leptospirose canine (H. S. Lee, Levine, et al. 2014). De plus, la même année, Major a prouvé que le nombre de cas de leptospirose aigue était significativement lié aux températures moyennes ainsi qu'aux précipitations annuelles dans une étude regroupant 256 chiens en Suisse (Major, Schweighauser, and Francey 2014).

C. Clinique de la leptospirose canine

L'infection par la leptospirose peut conduire à un large éventail de présentations cliniques. La survenue d'une infection clinique dépend non seulement de l'âge et de la réponse immunitaire de l'hôte mais aussi de la virulence et de la quantité de leptospires inoculés (Levett 2001). D'une manière générale, tout vétérinaire doit suspecter une leptospirose en cas d'insuffisance rénale, d'insuffisance hépatique, d'uvéïte, d'hémorragie pulmonaire ou de syndrome fébrile aigu (J. Sykes et al. 2011).

1. Formes cliniques

a) Formes suraiguës

Une forme suraiguë sans symptôme caractéristique peut survenir et provoquer une mort brutale de l'animal.

b) Formes aiguës

La durée d'incubation de la leptospirose aiguë canine est d'environ 7 jours en conditions expérimentales. En réalité, *in vivo*, la durée d'incubation est très dépendante de l'immunocompétence de l'hôte et du sérovar infectant (Craig E. Greene et al., n.d.).

L'animal présente généralement une hyperthermie sévère (soit une température supérieure à 40°C) associée à une prostration, une douleur, une oligorexie, une flaccidité musculaire, une raideur et une réticence à se déplacer. Ces symptômes généraux apparaissent tôt dans le développement de la maladie (Poncelet, Fontaine, and Balligand 1991). La douleur

peut être causée par une myosite et/ou l'inflammation d'un organe (en particulier les reins et le pancréas) (Craig E. Greene et al., n.d.).

Dans une étude suisse de 2014, sur 256 chiens atteints de leptospirose aiguë, 99,7% avaient des symptômes d'atteinte rénale, 34,5% des signes hépatiques, 68,8% des signes respiratoires et 18,4% des signes de CIVD (coagulation intravasculaire disséminée). Ces signes respiratoires n'étaient pas aussi prépondérants dans une étude américaine de 2003 où seulement 3 à 23% des sujets étaient affectés (Langston and Heuter 2003a). La plupart des chiens (46,3%) avait des signes provenant de l'atteinte de deux organes, 24,5% des signes venant d'un seul organe, 23,2% de trois organes et 8,7% de quatre organes (Major, Schweighauser, and Francey 2014a).

Les signes d'atteinte hépatique peuvent varier d'une faible augmentation des paramètres hépatiques (avec ou sans hyperbilirubinémie) à une insuffisance hépatique sévère associée à des signes d'encéphalose hépatique (Craig E. Greene et al. n.d. Geisen et al. 2007).

L'atteinte rénale aiguë peut être responsable d'oligo-anurie, de pyurie-polydyspie (PuPd) et d'urines pigmentées plus ou moins associés à de l'azotémie. Ces troubles rénaux peuvent être la conséquence d'une dysfonction tubulaire ou d'une résistance acquise à l'ADH (hormone anti-diurétique) (Magaldi et al. 1992). Dans ce cas la polyurie serait la conséquence d'un diabète insipide néphrogénique. Les leptospires peuvent aussi spécifiquement causer une hypokaliémie en inhibant une pompe rénale Na/K-ATPase (Seguro, Lomar, and Rocha 1990). Une insuffisance rénale aiguë (IRA) oligo-anurique se déclare chez 30% des cas souffrant de leptospirose aiguë (Schuller et al. 2015b).

Les troubles respiratoires peuvent se manifester par des pharyngites ou des amygdalites qui provoquent de la toux voir de la dyspnée (Muller et al. 1999). Ces troubles respiratoires peuvent se compliquer en œdème pulmonaire et conduire à de l'hémoptyisie ou à une pneumonie secondaire. L'œdème pulmonaire peut aussi être provoqué par une éventuelle hypervolémie iatrogène. Il semblerait que les signes de lésions pulmonaires soient plus visibles à la radiographie que cliniquement (Baumann and Flückiger 2001; Kohn et al. 2010). C'est pourquoi il est difficile de connaître la proportion de chiens souffrant de problèmes respiratoires parmi les chiens atteints de leptospirose.

Le syndrome hémorragique pulmonaire est une manifestation sévère de la leptospirose aiguë. Ce syndrome est observé dans différentes espèces dont le chien depuis quelques années. (Major, Schweighauser, and Francey 2014a). Les mécanismes du syndrome hémorragique pulmonaire lié à la leptospirose restent mal connus. Plusieurs hypothèses sont actuellement envisagées et étudiées (Evangelista et al. 2014). En 2014, Evangelista a émis l'hypothèse que ce syndrome hémorragique pulmonaire pourrait être causé par une augmentation de la perméabilité alvéolaire résultant de l'action des leptospires sur certaines cellules endothéliales. D'autre part, les dérèglements d'échanges de fluides pourraient être dus à un co-transporteur Na/K/Cl (le NKCC1) défaillant dans les cellules épithéliales rénales et pulmonaires (Andrade et al. 2007). Certains mécanismes à médiation immune pourraient aussi intervenir dans la pathogénie du syndrome hémorragique pulmonaire. Nally a mis en évidence l'implication

d'immunoglobulines (IgG, IgM et IgA) et du système du complément *in vitro* dans ce syndrome (Nally et al. 2004). Ainsi il semblerait que la pathogénie du syndrome hémorragique pulmonaire lié à la leptospirose soit à la fois hôte-dépendant et pathogène-dépendant (Medeiros, Spichler, and Athanazio 2010).

Des troubles de l'hémostase primaire et secondaire peuvent avoir diverses conséquences. Des signes hémorragiques tels que des pétéchies, du méléna, de l'hématurie, de l'épistaxis et de l'hématémèse peuvent apparaître (Mastorilli et al. 2007; Kohn et al. 2010).

Des présentations avec signes cardiaques ont été observées chez l'Homme et le chien. En particulier, des tachyrythmies ventriculaires associées à une élévation des troponines cardiaques chez certains chiens qui mettent en évidence une souffrance myocardique (Mastorilli et al. 2007).

Sans traitement, l'animal peut mourir d'un choc cardiovasculaire et/ou d'hypothermie en moins de 24h.

c) Formes subaigües et formes chroniques

Les individus atteints de ces formes sont généralement ceux qui ont survécu à un épisode aigu de leptospirose.

Les reins développent une néphrite tubulo-interstitielle chronique pouvant entraîner un syndrome urémique. Les symptômes peuvent être frustes car le rein possède une valeur résiduelle d'environ 30%. Le premier signe est généralement une polyuro-polydyspie. Elle peut être ultérieurement accompagnée de vomissements ou de diarrhées dans des stades plus avancés (Schuller et al. 2015b).

D'après Adamus, la leptospirose est, à l'exception de l'infection par le virus CAV-1, la seule maladie infectieuse à l'origine d'une hépatite chronique. Des cas d'hépatites aiguës avec des séquelles chroniques ont été rapportés et des anticorps contre les sérovars *Grippityphosa* et *Australis* ont été mis en évidence dans le foie (Adamus et al. 1997; Bishop et al. 1979). Dans son étude, Adamus démontre que l'infection par la leptospirose conduit à une fibrose associée à une cholestase. De plus, *L. interrogans* aurait un effet cytotoxique sur l'endothélium hépatique (Adamus et al. 1997). Les dommages hépatiques peuvent être traduits cliniquement par un ictère, une hypoalbuminémie, une hyperglobulinémie et un défaut de production des facteurs vitamine K-dépendants. Il semblerait que les jeunes chiens de moins de 6 mois soient les plus susceptibles de présenter des symptômes hépatiques (Langston and Heuter 2003b).

d) Autres formes

(i) Troubles ophtalmologiques

Chez le chien, les principaux symptômes oculaires observés sont une augmentation de la production lacrymale, une chassie, une diminution des réflexes photomoteurs, une conjonctivite, une uvéite, un hyphéma, un œdème cornéen et rétinien et un décollement de la rétine (figure 6) (Dziezyc 2000; J. Sykes et al. 2011).

Certains leptospires peuvent pénétrer dans le corps vitré lors de la phase d'invasion. Les bactéries peuvent alors persister pendant plusieurs mois et conduire à une uvéite chronique. Cette uvéite chronique est due à une réaction croisée entre les anticorps anti-leptospires et les antigènes intraoculaires (Levett 2001).

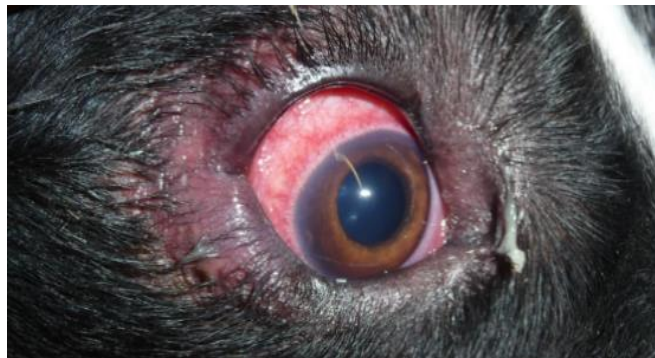


Figure 6 : Signes de blépharite, de conjonctivite et œdème cornéen périphérique de l'œil droit chez un chien atteint de leptospirose
Crédit Photographique Service Ophtalmologie ENVT

(ii) Troubles neuro-musculaires

Les leptospires peuvent passer la barrière hémato-méningée lors de la phase d'invasion. Chez l'Homme, les troubles nerveux sont dominés par des troubles du système nerveux central, en particulier des signes de méningite aseptique qui ont été décrits chez 25% des patients atteints de leptospirose (Levett 2001). Cependant aucun signe de type méningite ou méningoencéphalomyélite n'a été décrite chez le chien jusqu'à présent (J. Sykes et al. 2011).

D'autres atteintes d'origine musculaire ont été observées comme une polymyosite avec le sérovar *Australis* (Poncelet, Fontaine, and Balligand 1991).

(iii) Troubles cutanés

Un Berger Allemand atteint de leptospirose a présenté une calcinose généralisée avec des signes d'alopecie dorso-périnéale et d'atrophie folliculaire (Munday, Bergen, and Roe 2005).

(iv) Troubles de la reproduction

Seules quelques études traitent de troubles de la reproduction associés à la leptospirose. Ellis et ses collaborateurs ont mis en cause le sérovar *Bratislava* lors d'un épisode d'avortement associé à de l'infertilité (William A. Ellis 2015).

e) Corrélation entre forme clinique et sérovar

En pratique, sans confirmation bactériologique, les phénomènes hémorragiques et l'ictère seraient imputés à *L. icterohaemorrhagiae* et la néphrite aiguë à *L. canicola*. De même d'après Muller les animaux infectés par *L. pomona* ou *L. grippotyphosa* présenteraient généralement une insuffisance rénale aiguë (Muller et al. 1999). Ces associations sont cependant hâtives car, d'après Boutilier, la plupart des sérovares sont responsables de plusieurs formes cliniques avec des symptômes différents (Boutilier, Carr, and Schulman 2003). De plus, aujourd'hui la corrélation clinique-sérovar n'a pu être établie clairement en raison de la faible capacité du test d'agglutination microscopique (MAT) à prédire le sérovar infectant (Miller et al. 2011a) et le transfert latéral de facteurs de virulence entre certains leptospires (Ahmed et al. 2006). A la connaissance des auteurs, cette corrélation n'a pu être établie non plus en médecine humaine. D'autres études comprenant la présentation clinique, la souche infectante basée sur une isolation et un sérotypage seraient nécessaires afin d'établir une éventuelle corrélation entre certaines présentations cliniques et un sérovar en particulier.

2. Lésions associées

a) Lésions macroscopiques

L'examen nécropsique peut révéler un ictère plus ou moins généralisé, des signes de troubles de l'hémostase (pétéchies, ecchymoses, hémorragies) sur la peau, les muqueuses, les séreuses et les parenchymes. Les lésions les plus caractéristiques sont les lésions rénales et hépatiques.

Macroscopiquement les reins sont souvent tuméfiés, hypertrophiés et congestionnés avec une corticale d'aspect hétérogène et une capsule de Bowman amincie. L'apparence congestive est surtout observée lors d'atteinte aiguë. Le foie a un aspect hypertrophié, décoloré et friable avec une accentuation des lobules (Rissi and Brown 2014). Les poumons peuvent souffrir de lésions hémorragiques et de pétéchies (Greenlee et al. 2005). La rate est parfois hypertrophiée (Langston and Heuter 2003b).

Ces différentes anomalies ne peuvent être observées que si elles ont eu le temps de s'installer. Lors de formes suraiguës il est possible qu'aucune lésion ne soit observable à l'examen nécropsique. Au contraire lors d'infection chronique le foie et les reins peuvent perdre leur architecture. Cette perte d'architecture résulte de la fibrose en réponse à l'inflammation chronique.

b) Lésions microscopiques

Durant la phase aiguë de la maladie, les lésions rénales sont essentiellement des lésions de néphrite interstitielle aiguë et des lésions tubulaires nécrotiques et apoptotiques. Ces lésions semblent dues à l'effet traumatique des leptospires sur les tubules rénaux (De Brito et al. 2006). Cette néphrite tubulo-interstitielle peut évoluer dans certains cas vers une atrophie tubulaire puis une fibrose rénale. Cette évolution a été décrite chez des chiens affectés par le sérovar *Canicola* et des rats infectés par le sérovar *Icterohaemorrhagiae* (Schuller et al. 2015b). Moins fréquemment des lésions glomérulaires ont aussi été décrites (Mastrorilli et al. 2007). A cette étape de l'infection la fonction rénale est déjà cliniquement modifiée chez la plupart des chiens affectés (Levett 2001).

Le foie est un autre organe touché par les leptospires. Des lésions d'hépatite chronique ont été décrites dans des études de cas infectés avec les sérovars *Grippotyphosa* (Schuller et al. 2015b) et *Australis* (Adamus et al. 1997). D'un point de vue histopathologique, les principales anomalies sont une cholestase associée à une nécrose hépatocytaire, un œdème péri-portal et une infiltration inflammatoire des capillaires sinusoides (De Brito et al. 2006).

Les lésions histopathologiques de poumons présentant un syndrome d'hémorragie pulmonaire liée à la leptospirose sont identiques à toutes les espèces : il s'agit d'hémorragies intra-alvéolaires sans infiltration inflammatoire ni vasculite (Nally et al. 2004). D'autres lésions peuvent être observées moins fréquemment : de l'œdème intra-alvéolaire ou des dépôts de fibrine avec membranes hyalines (Nally et al. 2004).

D. Modifications des variables de laboratoire

1. Anomalies biochimiques

L'urémie et la créatininémie sont augmentées chez plus de 80-90% des chiens affectés par la leptospirose (J. Sykes et al. 2011). Les lésions hépatiques sont caractérisées par l'augmentation des enzymes hépatiques ALAT (alanine aminotransferase), ASAT (aspartate aminotransferase) et PAL (phosphatase alcaline). L'augmentation des PAL et de la bilirubine totale est plus courante que l'augmentation des ALAT. Lorsqu'une hyperbilirubinémie est mise en évidence, elle est presque systématiquement associée à une azotémie (Geisen et al. 2007). Chez le chien des formes ictériques et non-ictériques ont été décrites. D'après une étude de cohorte de 256 chiens atteints de leptospirose aiguë, il semblerait que la forme ictérique soit plus sévère et de progression plus rapide (Major, Schweighauser, and Francey 2014a).

Les anomalies électrolytiques comprennent des troubles de la kaliémie et de la phosphatémie, une hyponatrémie et une hypochlorémie. Ces anomalies sont dues aux dysfonctions rénales et gastro-intestinales (Schuller et al. 2015b). Cette fuite peut aussi être la conséquence d'une inhibition par des endotoxines leptospirosiques de la pompe NA/K-ATPase au sein du néphron (Andrade et al. 2007; Seguro, Lomar, and Rocha 1990).

D'autres anomalies telles qu'une augmentation de l'activité de la créatine kinase et de la troponine cardiaque I ont été rapportées dans une étude de cohorte de 159 chiens (Mastrorilli et al. 2007). De telles augmentations traduisent une souffrance myocardique et musculaire striée squelettique. Mastrorilli a aussi observé une augmentation des lipases et amylases pouvant traduire une pancréatite ou une entérite. Elles pourraient aussi être augmentées du fait de leur moindre élimination rénale (Mastrorilli et al. 2007).

2. Anomalies hématologiques et hémostatiques

La plupart des chiens atteints de leptospirose présente une leucocytose. Parfois la leucocytose peut atteindre des valeurs supérieures à $80 \times 10^9/L$ (Kohn et al. 2010). Cependant, lors de la phase d'invasion, une leucopénie peut être observée. Le comptage de la lignée blanche révèle souvent une neutrophilie avec parfois une déviation de la courbe d'Arneth à gauche, une lymphopénie et une monocytose (Schuller et al. 2015b).

Selon une étude, 58% Cinquante-huit pourcents des chiens souffrant de leptospirose présentent une thrombopénie modérée à sévère (J. Sykes et al. 2011). La thrombopénie peut être due à la consommation, l'adhésion et l'agrégation plaquettaire consécutive à la stimulation de l'endothélium vasculaire (Schuller et al. 2015b). Elle peut aussi être due à une phagocytose excessive par les cellules de Kupffer, une destruction plaquettaire à médiation immune ou une séquestration splénique (Schuller et al. 2015b).

La moitié des chiens souffrant de leptospirose est légèrement à modérément anémiée. L'anémie due à la leptospirose est multifactorielle. Elle peut être causée par des hémorragies pulmonaires ou intestinales ou bien par des mécanismes inflammatoires. Dans de rares cas, une hémolyse causée par l'effet de certaines toxines bactériennes sur les membranes érythrocytaires peut être rencontrée (S. H. Lee et al. 2000).

Diverses anomalies des paramètres de l'hémostase sont remarquées. En effet la leptospirose peut conduire soit à un état d'hypocoagulabilité soit un état d'hypercoagulabilité (Mastrorilli et al. 2007). Kohn a mis en évidence un allongement des temps de coagulation des voies extrinsèques et intrinsèques chez 14% des 70 chiens atteints de leptospirose de son étude (Kohn et al. 2010). En particulier, le temps de Quick (voie extrinsèque) peut être allongé en cas de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). La concentration de fibrinogène est augmentée chez 75 % des individus atteints de leptospirose traduisant un processus inflammatoire aigu et actif (Mastrorilli et al. 2007). La concentration en fibrinogène peut aussi diminuer en cas de CIVD. D'autres paramètres peuvent augmenter comme les D-dimères et les produits de dégradation du fibrinogène. La concentration d'antithrombine III peut éventuellement diminuer par fuite rénale dans les urines (J. Sykes et al. 2011). D'autres protéines de la phase aiguë de l'inflammation comme la protéine C réactive et l'haptoglobine ont été dosées et étaient augmentées (Mastrorilli et al. 2007).

3. Anomalies des analyses urinaires

L'analyse d'urines révèle une densité (DU) isothénurique chez la majorité des chiens souffrant de leptospirose. Une densité urinaire est dite isosthénurique lorsqu'elle est égale à la densité du plasma sanguin (DU comprise entre 1.008 et 1.012). Néanmoins certains individus peuvent avoir des urines hyposthénuriques (DU inférieure à 1.008) (Mastrorilli et al. 2007).

La glycosurie est la conséquence de lésions tubulaires. De l'hématurie, de la pyurie et une cylindrurie peuvent également être objectivées (Kohn et al. 2010; Mastrorilli et al. 2007).

Une protéinurie est remarquée chez la plupart des chiens atteints de leptospirose. Une électrophorèse des protéines urinaires révèle à la fois des protéines de bas poids et de haut poids moléculaire. Les protéines de haut poids moléculaire sont caractéristiques de lésions glomérulaires tandis que les protéines de bas poids moléculaires sont plutôt corrélées à des dommages tubulaires (Mastrorilli et al. 2007).

La taille des leptospires est inférieure à la résolution du microscope photonique utilisé en clinique de première intention c'est pourquoi les leptospires ne sont pas visibles à l'analyse du culot urinaire en routine (Schuller et al. 2015b).

4. Variables à surveiller pendant le traitement (J. Sykes et al. 2011)

Les paramètres biochimiques des chiens atteints de leptospirose aiguë devraient, dans la mesure du possible, être évalués tous les jours afin d'apprécier les fonctions rénales, hépatiques ainsi que le statut électrolytique et acido-basique de l'animal. Un hémogramme est aussi indiqué tous les deux jours en cas d'anémie ou de thrombocytopénie. L'efficacité de la fluidothérapie doit être évaluée tous les jours voire plusieurs fois par jour *via* le poids du corps et la quantité d'urines à l'aide d'un système de collection clos. Dans l'idéal la diurèse devrait être contrôlée toutes les heures. Il faut aussi surveiller l'apparition d'une éventuelle hypervolémie et évaluer la pression artérielle. Il faut contrôler l'apparition de bruits respiratoires, une augmentation de la fréquence respiratoire, une augmentation du poids voire effectuer une mesure de la pression veineuse centrale.

Le suivi est à adapter en fonction de chaque patient. Il est conseillé de surveiller les paramètres précédemment évoqués au moins une semaine après le début du traitement.

E. Images radiographiques, tomodensitométriques et échographiques

1. Images radiographiques

Les modifications observées sur des radiographies du thorax sont celles du syndrome hémorragique pulmonaire lié à la leptospirose (figure 7 et 8). D'après une étude menée sur 118 patients humains atteints de leptospirose en Thaïlande, les images radiographiques sont localisées en région caudo-dorsale du champ radiographique pulmonaire, ces signes sont diffus et bilatéraux (Tanomkiat and Poonsawat 2005). Les lésions radiographiques peuvent varier d'un léger pattern interstitiel à un pattern réticulo-nodulaire pulmonaire sévère focalement associé à un pattern alvéolaire (Baumann and Flückiger 2001). Parfois, un léger épanchement peut être constaté.

Ces anomalies ne doivent pas être confondues avec un processus néoplasique, une pneumonie, un œdème, une hémorragie due à une coagulation intravasculaire disséminée, un syndrome de détresse respiratoire aigu ou une thrombo-embolie pulmonaire. Les modifications radiographiques peuvent être présentes même en l'absence de signes cliniques respiratoires (Baumann and Flückiger 2001; Kohn et al. 2010).

D'une manière générale, la radiographie abdominale ne comporte pas d'anomalie caractéristique. Dans certains cas, une splénomégalie ou un épanchement rétro-péritonéal peut être mis en évidence.

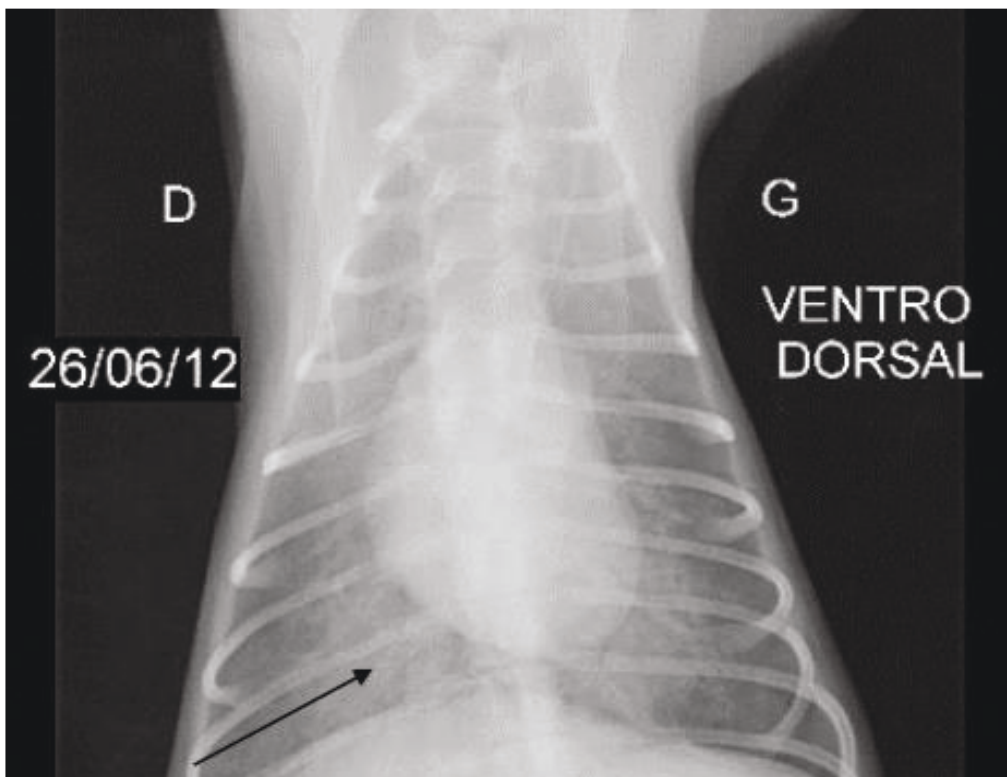


Figure 7 : Radiographie thoracique en vue ventro-dorsale d'un chien atteint de leptospirose aiguë :
Pattern broncho-interstitiel caudo-dorsal
Crédit photographique Service Imagerie ENVT

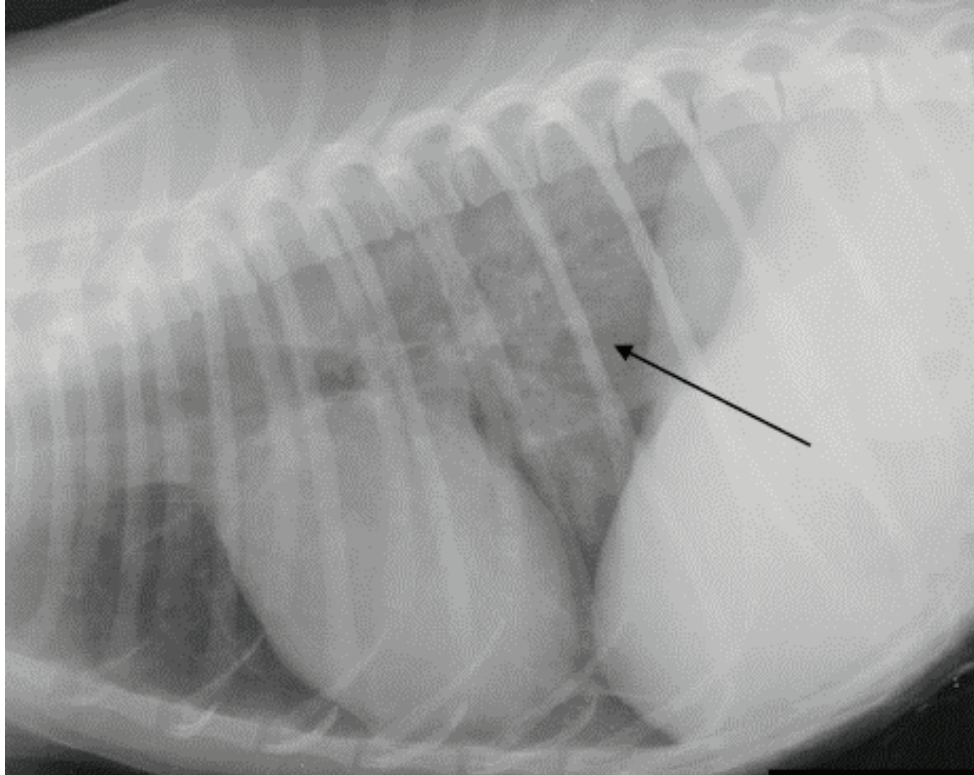


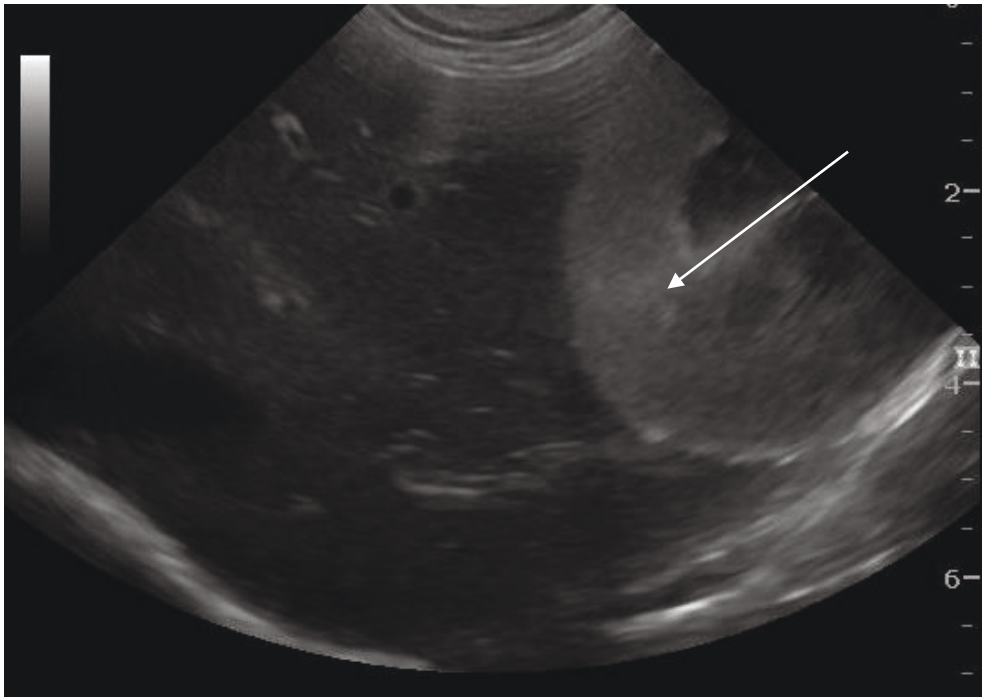
Figure 8 : Radiographie thoracique en vue de profil gauche d'un chien atteint de leptospirose aiguë :
Pattern broncho-interstitiel caudo-dorsal
Crédit photographique Service Imagerie ENVT

2. Images tomodensitométriques

D'après Gendron, l'examen tomodensitométrique est plus sensible que l'examen radiographique en regard des lésions thoraciques (Gendron et al. 2014). Son étude portant sur 10 chiens atteints de syndrome hémorragique pulmonaire lié à la leptospirose, 100% des chiens avaient des nodules pulmonaires centro-lobulaires associé à un épaississement et une dilatation bronchique, 90% présentaient une opacité plus ou moins diffuse, 80% des nodules solides et 7% une consolidation d'un lobe pulmonaire. Chez quelques chiens, un épanchement pleural (3%) ou médiastinal (2%) a été mis en évidence. Le taux de survie n'était pas lié à la sévérité des signes à l'examen tomodensitométrique (Gendron et al. 2014).

3. Images échographiques

Les modifications d'images échographiques concernent surtout les reins et le foie et reflètent la pathogénie de l'infection. Les reins peuvent présenter diverses anomalies visibles à l'échographie comme une hyperéchogénicité corticale (figure 8), une néphromégalie, une pyélectasie modérée, une ligne médullaire hyperéchogène ou un léger épanchement péri-rénal (Schuller et al. 2015b). D'autres modifications échographiques de l'abdomen ont été notées telles qu'une hépatomégalie, une splénomégalie, une adénomégalie modérée, un épanchement, une hypoéchogénicité accompagnée d'une augmentation de la taille du pancréas, un épaissement de la paroi gastrique voire un épaissement de la paroi intestinale (Mastrorilli et al. 2007; Kohn et al. 2010).



*Figure 9 : Echographie abdominale d'un chien atteint de leptospirose aiguë :
Hyperéchogénicité du cortex rénal
Crédit photographique Service Imagerie ENVT*

F. Techniques de diagnostic de la leptospirose canine

La leptospirose canine étant une zoonose, sa confirmation par des examens diagnostiques de laboratoire est primordiale en terme de santé publique.

1. Prélèvements

Les leptospires se multiplient dans le sang dès le début de la phase d'invasion. Ainsi, entre un jour et deux semaines après la pénétration des leptospires dans l'organisme, une prise de sang sur tube hépariné peut être réalisée pour objectiver une leptospirémie. Après deux semaines les bactéries se répartissent dans différents organes, en particulier dans les reins. A partir de dix jours post-infection les leptospires sont excrétés dans les urines. Cette excrétion est maximale vers la troisième ou la quatrième semaine d'infection (C. A. Bolin 1996). Les urines doivent êtreensemencées dans l'heure suivant le prélèvement ou conservées à + 4°C et à l'obscurité. Il est préférable d'effectuer plusieurs prélèvements d'urines car la leptospirurie est intermittente. De plus les urines doivent être alcalinisées pour atteindre un pH compris entre 6,6 et 8 (Thiermann 1980).

Des prélèvements nécropsiques d'organes peuvent être effectués rapidement après la mort de l'animal car l'autolyse étant précoce, elle entraîne une destruction rapide des leptospires et une contamination des prélèvements par d'autres germes (Thiermann 1980).

2. Diagnostic direct

a) Microscopie sur fond noir

Les leptospires ne sont pas observables au microscope photonique ordinaire : il faut placer les leptospires entre lame et lamelle et utiliser un microscope à fond noir au grossissement 250. Leur morphologie caractéristique et leur mobilité rotatoire permet de les reconnaître. Néanmoins les leptospires peuvent être confondus avec des filaments de fibrine ou des débris cellulaires (C. A. Bolin 1996). L'observation au microscope se fait juste après prélèvement car les leptospires sont rapidement lysés dans les milieux biologiques. Seuls les animaux présentant plus de dix milles bactéries par millilitre auront des leptospires observables au microscope (C. Kosossey Vrain 2006). Du fait de ce seuil de détection élevé, il faut utiliser des supports biologiques où la concentration en leptospires est susceptible d'être importante. C'est pourquoi l'observation se fait surtout sur prélèvements d'urines fraîches. Cette méthode est peu sensible du fait de la leptospirurie intermittente. Du sang ou des extraits de reins broyés peuvent également être utilisés pour réaliser l'observation au microscope à fond noir.

Limites

Le microscope à fond noir est un examen de faible sensibilité et de faible spécificité : il ne permet pas de faire la différence entre une souche pathogène et une souche saprophyte.

Cet examen n'est pas un examen de certitude mais permet une orientation rapide du diagnostic en amont d'autres examens.

b) Mise en culture

La mise en culture permet un diagnostic de certitude mais sa réalisation est délicate. Le développement des leptospires nécessite un milieu de culture particulier, spécifique à chaque souche.

La mise en culture est généralement faite sur des milieux semi-solides associés à des inhibiteurs pour éviter toute contamination par des germes opportunistes. Ces inhibiteurs peuvent limiter la croissance de certains leptospires c'est pourquoi deux cultures (l'une avec inhibiteur, l'autre sans) sont recommandées en pratique. Il est de plus conseillé d'ensemencer les géloses avec différentes dilutions.

Les prélèvements d'urines et de sang peuvent être utilisés pour une culture bactériologique. Les prélèvements urinaires doivent être réalisés par cystocentèse pour éviter d'éventuelles contaminations exogènes. Les urocultures donnent de moins bon résultats que les hémocultures et ne peuvent être réalisés qu'à partir de la troisième semaine post-infection (C. Kosossey Vrain 2006).

Le liquide céphalo-rachidien peut éventuellement être utilisé en vue d'une culture dès la deuxième semaine d'infection.

En général, quel que soit le prélèvement, l'incubation des bactéries se fait à 30°C, en milieu sombre et en maintenant une agitation constante des géloses car les leptospires sont des bactéries au métabolisme aérobie.

Limites

Le temps de doublement des leptospires est d'environ vingt heures ce qui implique un long temps de culture. La mise en culture nécessite au moins une dizaine de jours (le plus souvent un mois est nécessaire). De plus on ne peut conclure à une culture négative qu'au bout de deux mois (parfois jusqu'à six mois sont requis) (C. Kosossey Vrain 2006).

En conclusion, la mise en culture peut éventuellement aboutir à un diagnostic de certitude en identifiant la souche infectante. Néanmoins cet outil de diagnostic est très peu utilisé en pratique car il est tardif, non disponible en Europe et très coûteux.

c) Immunofluorescence

L'immunofluorescence est une technique sensible et rapide. De plus l'immunofluorescence peut être utilisée sur des échantillons congelés. Néanmoins son interprétation est difficile et requiert un laboratoire qualifié. De nos jours cette technique n'est utilisée que dans quelques laboratoires de recherche (C. A. Bolin 1996).

d) Colorations immuno-histochimiques

Les colorations immuno-histochimiques se font à partir de biopsies ou de prélèvements nécropsiques. Ces colorations ne mettent pas en évidence des leptospires mais l'inflammation caractéristique qui y est associée. Le principal désavantage de cet examen est sa faible sensibilité (C. A. Bolin 1996).

e) Détection de l'ADN

Deux types de tests sont actuellement disponibles : une technique permettant la détection des leptospires par des sondes qui détectent spécifiquement leur ADN et une technique d'amplification génique par réaction de polymérase en chaîne (PCR), mettant en évidence l'ADN dans les tissus ou les liquides biologiques. Ces tests peuvent être faits sur du sang, des urines ou des biopsies.

Les sondes à ADN sont uniquement utilisées chez l'Homme en phase d'invasion. En revanche, la PCR est de plus en plus utilisée en médecine vétérinaire. La PCR permet d'amplifier enzymatiquement, *in vitro*, en seulement quelques heures, un segment d'ADN en plusieurs millions d'exemplaires. Contrairement à la culture bactérienne, l'intégrité du leptospire n'a pas à être conservée. Cette technique de biologie moléculaire très sensible (tableau 2) permettrait la détection d'une dizaine de leptospires dans un échantillon. En début d'infection, de deux à dix jours post-infection, les prélèvements sur sang sont à privilégier. Après dix jours, il faudra mieux utiliser un prélèvement d'urines (Greenlee et al. 2005). Cette phase de 10 jours est arbitraire et peut varier en fonction de la réponse immunitaire intrinsèque de l'hôte et de la souche infectante. *In vivo*, la durée de l'infection est inconnue, ainsi, indépendamment de la clinique, il est recommandé de faire à la fois un test PCR et sur urines et sur sang avant antibiothérapie. Il est préférable de tester les urines et le sang séparément afin d'éviter tout phénomène de dilution qui réduirait la sensibilité du test (Schuller et al. 2015b). Les échantillons de tissus peuvent être utilisés mais donnent lieu à plus de faux négatifs que les prélèvements sur sang et urines (C. A. Bolin 1996). Plusieurs PCR sont disponibles en médecine vétérinaire pour le diagnostic de la leptospirose canine. Ces PCR ciblent le gène *lipL32/hap1* ou le 23SrDNA, qui sont spécifiques des leptospires pathogènes (Schuller et al. 2015b). Une PCR positive indique la présence d'ADN de leptospires dans l'échantillon. Une PCR positive sur sang associée à des signes cliniques est fortement évocatrice d'une infection par la leptospirose. Une PCR positive sur urines révèle un portage rénal (Rojas et al. 2010). Dans ce cas l'animal peut donc soit être infecté par la leptospirose de manière aiguë ou être un porteur chronique de leptospires (Schuller et al. 2015b).

Les performances diagnostiques de la PCR sur prélèvements d'urines sont répertoriées dans le tableau 2.

PCR	n	Se	Sp	VPP	VPN
Harkin et al. (2003)	132	100%	88,3%	33%	100%

Tableau 2 : Performances diagnostiques de la PCR vis à vis de la leptospirose

<u>Légende</u>	
Se : sensibilité	Sp : spécificité
VPP : valeur prédictive positive	VPN : valeur prédictive négative
n : le nombre de cas de l'étude considéré	

Limites

Une PCR négative ne permet en aucun cas d'infirmier une suspicion de leptospirose. En effet la leptospirémie n'est présente provisoirement qu'au début de la maladie et le portage urinaire est absent en début de l'infection puis intermittent par la suite. De plus, Fraune a démontré qu'un traitement antibiotique peut aussi rendre un prélèvement PCR négatif (Claudia Kümmerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013). La PCR est une technique complexe et sensible aux contaminations d'ADN exogène pouvant donner lieu à de faux positifs. Les résultats sont plus ou moins fiables en fonction du laboratoire. Certains laboratoires utilisent des amorces spécifiques aux sérovars « humains », ces derniers peuvent se comporter différemment vis-à-vis des sérovars « canins » (Carole A. Bolin 2003).

D'autres études seraient nécessaires afin d'évaluer la spécificité et la sensibilité ainsi que les valeurs prédictives positives et négatives des différents types de PCR chez le chien.

3. Diagnostic indirect

La sérologie permet de mettre en évidence les anticorps dirigés contre les leptospires. Ces anticorps sont détectables environ 12 jours après l'apparition des premiers symptômes. Il existe différentes techniques sérologiques telles que le test d'agglutination microscopique (MAT) et des méthodes immuno-enzymatiques comme l'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

a) Le test d'agglutination microscopique

Le test d'agglutination microscopique (MAT) est actuellement la technique de diagnostic la plus utilisée pour le diagnostic de la leptospirose aiguë (Schuller et al. 2015b). Ce test permet de déterminer le titre en anticorps dirigés contre d'éventuels leptospires. De plus, le MAT permettrait de caractériser le sérovar infectant.

Le MAT consiste à mettre le sérum du chien malade à différentes dilutions en présence d'un milieu liquide contenant des cultures vivantes de leptospires puis à évaluer le degré d'agglutination au microscope à fond noir. L'agglutination résulte de la formation d'amas macroscopiquement visibles formés de la réunion de particules support d'un antigène (le leptospire ici) sous l'action d'anticorps spécifiques (figure 10). Ainsi il n'y a agglutination que dans le cas où le sérum contient des anticorps dirigés contre les leptospires (Levett 2001).

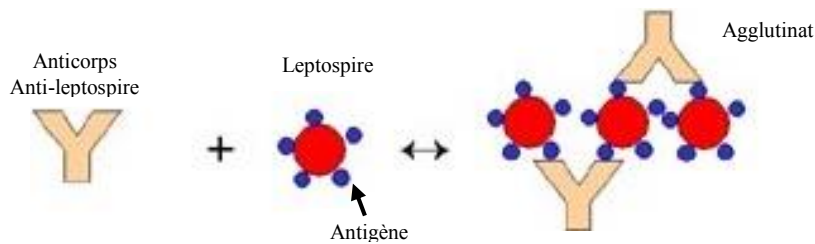


Figure 10 : Principe du test d'agglutination microscopique (MAT)

En pratique des dilutions successives sont effectuées puis l'agglutination est ensuite évaluée au microscope à fond noir. Le seuil de détection est d'environ 200 leptospires. On considère qu'un sérum est positif à une dilution donnée et pour la souche testée si au moins 50% des leptospires se sont agglutinés par rapport à un antigène témoin. Cette technique implique que le laboratoire doit être en possession de nombreuses souches et de nombreux anti-sérums représentatifs des principaux sérovars de leptospires. En Europe, afin de limiter le nombre de faux-négatifs, il est conseillé de tester au moins les sérovars *Australis*, *Automnalis*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Pyrogenes* et *Sejroe* (Scanziani et al. 2002a; Geisen et al. 2007).

Pour que le MAT soit significatif, il faut que l'animal testé soit infecté depuis plus de huit à dix jours. Les meilleurs résultats sont obtenus entre le 21^{ème} et le 28^{ème} jour post-infection. Les premiers anticorps à agglutiner sont les IgM (immunoglobuline de type M) puis les IgG (immunoglobuline de type G). La technique du MAT ne permet pas de distinguer les différents types d'immunoglobulines impliquées. De plus, au début de la maladie, il y a production dans le sérum de coagglutinines, qui peuvent fausser les résultats. Ces anticorps particuliers sont responsables de l'agglutination de plusieurs sérovars. Mais la production de coagglutinines diminue avec l'évolution de la maladie, une diminution des réactions croisées est observée avec le temps. (C. Kosossey Vrain 2006).

Un dosage isolé d'anticorps est peu sensible, peu spécifique et peu répétable (Miller et al. 2011a). Par exemple certains chiens peuvent avoir un résultat négatif lorsqu'ils sont en phase aiguë de la maladie car il existe un laps de temps avant l'apparition d'anticorps dans le sérum. En fonction du séovar, le taux d'anticorps peut diminuer en trois à six mois. Le meilleur moyen de distinguer une infection par des leptospires révolue d'une infection en cours ou d'une vaccination (figure 11) est d'évaluer la cinétique des anticorps anti-leptospires sur une à deux semaines (Miller et al. 2011a). Une multiplication par quatre du titre en anticorps en deux

semaines est fortement en faveur d'une infection aiguë par la leptospirose (J. Sykes et al. 2011). Si la quantité d'anticorps diminue doucement l'interprétation est en faveur d'une vaccination ou d'une infection chronique par des leptospires. Un dosage isolé ou une cinétique d'anticorps sont à mettre en relation avec le statut vaccinal de l'animal, une éventuelle antibiothérapie et avec l'évolution des signes cliniques dont souffre l'animal. Ainsi, Fraune observe que pour un chien dont la clinique est en faveur d'une leptospirose et vacciné contre *L. canicola* et *L. icterohaemorrhagiae*, un titre supérieur à 1/800 est fortement évocateur d'une infection aiguë par la leptospirose (Claudia Kümmerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013) (figure 12).

N° MC	Sujet	COP	19	MUN	AUS	BRAT	AKI	BIM	BAT	CAN	GRIP	VAN	PAN	MAN	PYR	SJ	HJ	SAX	WOLF
		0	0	0	0	0	0	0	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Interprétation : (en l'absence de commémoratifs, voir au dos)
Dilution seuil employée 1/40.
Profil vaccinal.

Figure 11 : Profil sérologique MAT en faveur d'une vaccination contre *L. canicola*

N° MC	Sujet	COP	19	MUN	AUS	BRAT	AKI	BIM	CAN	GRIP	VAN	PAN	MAN	POM	MOZ	PYR	SJ	HJ	SAX	WOLF
		400	800	1600	200	800	1600	3200	0	1600	3200	0	1600	400	400	0	0	0	0	0

Interprétation : (en l'absence de commémoratifs, voir au dos)
Dilution seuil employée 1/100.
Profil en faveur d'une infection leptospirosique. Attention au risque zoonotique !

Figure 12 : Profil sérologique MAT en faveur d'une infection par la leptospirose

Limites

La principale limite de la sérologie est le nombre important de réactions croisées entre les différents sérovars (Scanziani et al. 2002a). En pratique le sérovar infectant est celui pour lequel le titre en anticorps est le plus élevé. Néanmoins le sérovar associé au plus haut taux d'anticorps peut varier dans le temps. C'est pourquoi le MAT ne peut prédire de manière fiable le sérovar infectant lors de leptospirose aiguë (Miller et al. 2011a). En effet, s'il est vrai que les anticorps agglutinants sont spécifiques de certains sérovars, il existe une communauté antigénique entre certains sérovars. D'autre part, un chien vacciné avec un vaccin bivalent ou quadrivalent inactivé peut présenter des titres supérieurs à 1/640 à la fois vis-à-vis des souches vaccinales mais aussi potentiellement contre des sérovars non-vaccinaux (Barr et al. 2005a; L. e. r. Martin et al. 2014). D'après Martin, son étude de séroconversion face à un vaccin quadrivalent menée sur 32 chiens démontre que la majorité des chiens deviennent séronégatifs après 15 jours post-vaccination. Néanmoins le titre en anticorps peut persister jusqu'à 12 mois chez certains chiens (L. e. r. Martin et al. 2014). De plus d'autres études ont démontré en particulier que les titres en anticorps vis-à-vis du sérovar *Bratislava* augmentent souvent avec des titres en anticorps élevé pour les sérovars *Grippytyphosa* et *Pomona*. De même les anticorps anti-sérovar *Autumnalis* augmentent aussi avec les anticorps anti-sérovar *Grippytyphosa*, *Pomona* et *Bratislava* (J. Sykes et al. 2011; Barr et al. 2005a).

Chez certains patients, la séroconversion n'est observable qu'au bout de quatre à six semaines (Tangeman and Littman 2013). Ainsi, lors de sérologie couplée, le résultat peut être négatif car le patient a déjà subi une séroconversion ou moins probablement parce qu'il n'a pas encore séroconverti.

L'autre inconvénient est que l'interprétation du MAT est subjective et requiert une certaine expertise. Ainsi, la fiabilité de ce test est étroitement dépendante du laboratoire d'analyse (Miller et al. 2011a). Aujourd'hui s'il existe une variation importante de la qualité des laboratoires proposant le MAT c'est parce qu'il n'existe pour l'instant pas de protocole de standardisation ni de contrôle qualité (J. Sykes et al. 2011).

En résumé le MAT permet d'obtenir un profil sérologique permettant d'orienter le diagnostic en faveur d'une infection actuelle/ancienne ou de non-infection. Le résultat du MAT doit être interprété en conjonction avec le statut vaccinal et la clinique du patient.

b) Test immuno-enzymatique

De plus en plus de tests ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) au chevet de l'animal permettant de détecter les IgG (immunoglobuline de type G) et/ou les IgM (immunoglobuline de type M) sont disponibles.

Abdoel a mis en place un test permettant de détecter les IgM contre certains leptospires pathogènes (Abdoel et al. 2011). Une autre technique d'ELISA semi-quantitative permettant de détecter les IgG canines contre les sérovars *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Pomona* et *Grippotyphosa* est disponible depuis peu en Europe (Schuller et al. 2015b).

L'avantage de cette technique par rapport au MAT est lié à la détection spécifique des IgM permettant ainsi de distinguer une infection en cours d'une maladie résolue (C. A. Bolin 1996). En effet les IgM peuvent être détectées dès la première semaine post-infection, avant l'apparition des anticorps agglutinants. Les chiens atteints de leptospirose aiguë ont un titre élevé en IgM et bas en IgG. *A contrario*, les chiens ayant déjà été atteints ou vaccinés contre la leptospirose auront un titre élevé en IgG et relativement bas en IgM (figure 13).

Ainsi, la spécificité de cette technique est très élevée, supérieure à celle du MAT. Cette technique immuno-enzymatique est standardisable et plus facilement réalisable que le MAT car la préparation antigénique peut être fabriquée en grandes quantités.

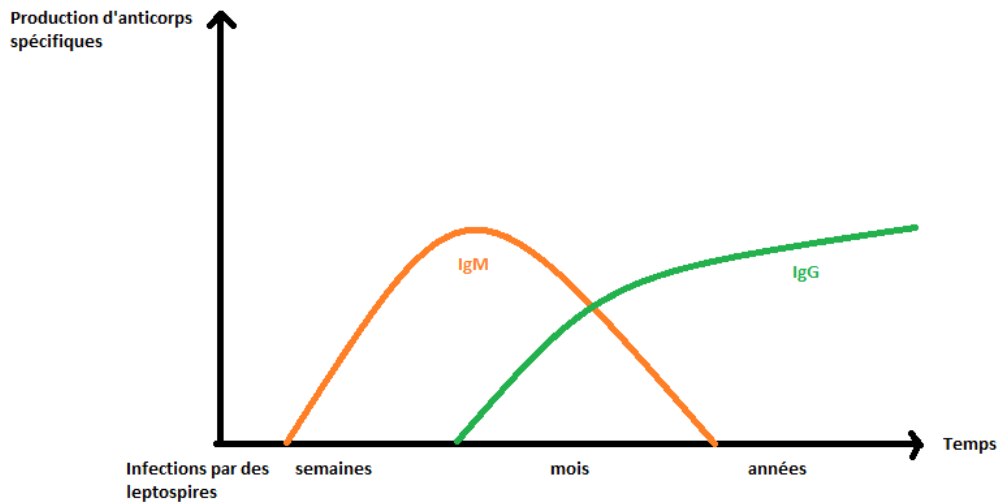


Figure 13 : Schéma comparatif simplifié de la cinétique des IgG et des IgM

Limites

Les limites sont les mêmes que pour le MAT : les anticorps peuvent être absents en début d'infection (risque de faux négatifs) et au contraire les IgM être présentes lors d'une vaccination récente (risque de faux positifs). Il est donc conseillé de réaliser un second test ELISA plusieurs jours après le premier.

D'autres études permettant de déterminer l'efficacité des techniques ELISA vis-à-vis de la leptospirose sont requises. Aujourd'hui il est conseillé d'utiliser cette méthode en association avec un MAT.

D'autres techniques peuvent être utilisées comme la technique du système du complément, l'agglutination sur latex ou micro-capsule mais ces techniques ne sont pas employées en routine en médecine vétérinaire en Europe.

4. En pratique

En résumé, il n'existe pas de gold standard en matière de détection des leptospires chez le chien. La PCR peut être utilisée conjointement avec le MAT pour les animaux avec une vaccination récente car la vaccination n'entraîne pas de PCR positive (Midence et al. 2012). Par ailleurs, étant donné la physiopathologie des leptospires, une PCR sur sang est plus sensible et plus spécifique la première semaine d'infection qu'un MAT isolé (Claudia Kümmerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013). La PCR est aussi plus sensible que le MAT pour détecter le portage chronique des leptospires dans certains tissus (Adamus et al. 1997).

Actuellement, il est recommandé d'associer une cinétique d'anticorps au MAT avec une PCR sur sang et urines (Schuller et al. 2015b). Les résultats du test de laboratoire sont à interpréter avec précaution en fonction de la cinétique des leptospires, des anticorps anti-leptospires et des signes cliniques.

L'utilisation des différentes techniques de laboratoire est résumée dans la figure 14 (Levett 2001).

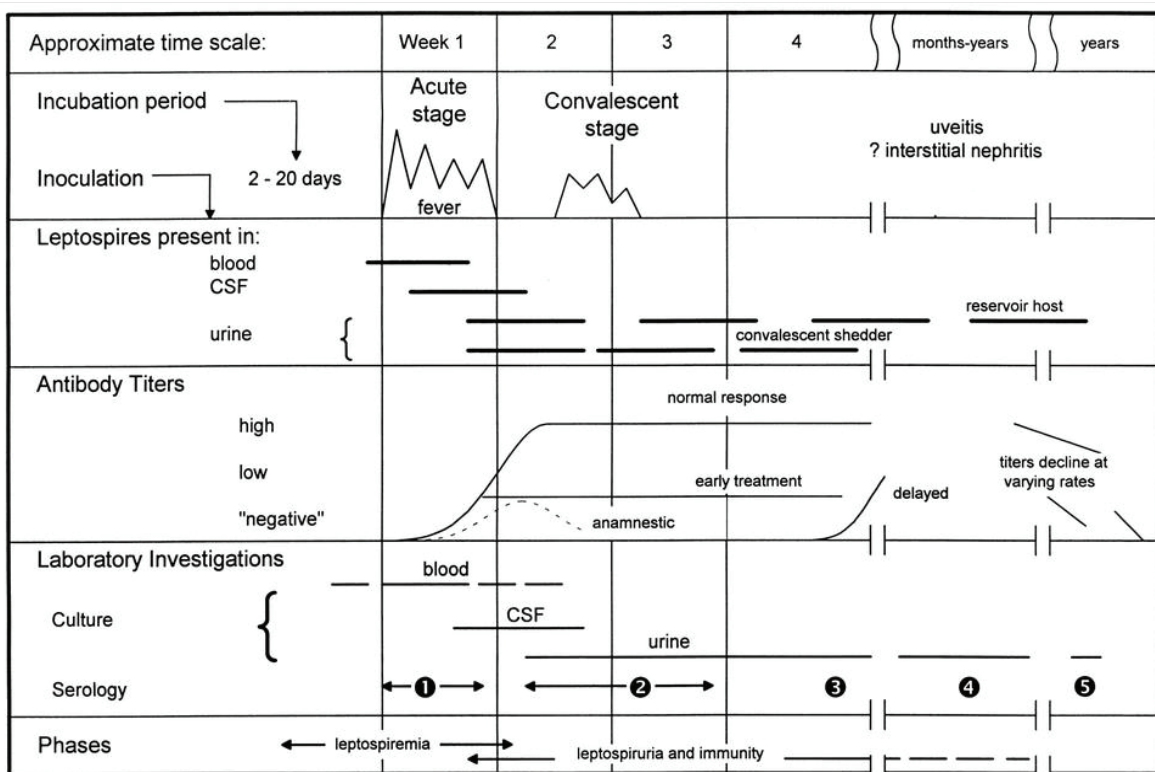


Figure 14 : Techniques de diagnostic de laboratoire de la leptospirose canine : quand les utiliser (Levett 2001)

G. Traitement de la leptospirose canine

Le traitement de la leptospirose canine consiste en une antibiothérapie associée à un traitement de soutien des différents organes touchés. Une évaluation clinique et des examens de laboratoire sont essentiels au suivi de l'animal afin d'éviter de mauvaises décisions thérapeutiques.

1. Antibiothérapie

Les études portant sur le traitement de la leptospirose canine sont peu nombreuses et il est difficile d'extrapoler les résultats d'études en médecine humaine au chien. Le dernier consensus européen sur la leptospirose canine de mars 2015 recommande fortement l'utilisation d'antibiotiques adaptés avant même le résultat du diagnostic de laboratoire (Schuller et al. 2015b). En effet, une antibiothérapie initiée après 4 à 7 jours de maladie engendre une moindre récupération clinique (J. Sykes et al. 2011). Cette recommandation est aussi justifiée par le nombre important de cas développant une forme aiguë sévère de leptospirose et le potentiel zoonotique de cette maladie.

Les leptospires sont sensibles à beaucoup d'antibiotiques. En particulier, la doxycycline PO (par voie orale) serait particulièrement intéressante car elle permettrait d'éliminer à long terme le portage rénal des animaux infectés (Watt et al. 1988). Les chiens atteints présentent souvent des symptômes gastro-intestinaux : ils peuvent éventuellement mal tolérer la doxycycline par voie orale. C'est pourquoi le traitement antibiotique initial est souvent une pénicilline en IV (par voie intra-veineuse) telle que la pénicilline G, l'ampicilline ou l'amoxicilline. Ce traitement initial permet de limiter la bactériémie jusqu'à ce qu'un relais à la doxycycline puisse être fait. Une étude menée sur l'utilisation de fluoroquinolones a montré une moindre efficacité en comparaison de la doxycycline chez le chien (Truccolo et al. 2002). Les céphalosporines de 1^{ère} génération ont été testées mais sont elles aussi moins efficaces (J. Sykes et al. 2011). Les leptospires sont par ailleurs résistants au chloramphénicol. Une autre étude a en revanche démontré l'efficacité de la streptomycine en cas d'échec du traitement à base de pénicilline-doxycycline (Juvet et al. 2011).

D'après le dernier consensus européen sur la leptospirose canine de mars 2015, l'antibiothérapie recommandée est la doxycycline (5mg/kg BID [bis in die - deux fois par jour] ou 10mg/kg SID [solo in die - une fois par jour], pendant 14 jours). Les patients présentant des troubles gastro-intestinaux peuvent d'abord être traités avec une pénicilline (par exemple : 20-30mg/kg d'amoxicilline TID [ter in die - trois fois par jour] ou QID [quater in die - quatre fois par jour]). Ces doses doivent être adaptées en fonction de l'état de la fonction rénale. Il est recommandé de doubler la dose d'antibiotique pour les chiens souffrant d'insuffisance rénale aiguë de grade 4 et ayant une valeur de créatinine supérieur à 440 μ mol/L. Il est impératif que l'animal soit traité avec de la doxycycline lors de la diminution des signes digestifs afin d'éliminer tout portage rénal (Schuller et al. 2015b). L'antibiorésistance des leptospires est rare. En cas de persistance de certains signes cliniques, il faut considérer un autre désordre sous-jacent comme une insuffisance rénale ou une infection bactérienne nosocomiale.

Par ailleurs, il est recommandé de traiter de manière prophylactique les autres chiens vivant avec le chien atteint de leptospirose. Le traitement indiqué est de la doxycycline (5mg/kg BID ou 10mg/kg SID). Il n'est pas recommandé de traiter prophylactiquement les chats (Schuller et al. 2015a).

De plus amples études seraient nécessaires afin de déterminer l'impact de différents antibiotiques sur l'élimination des leptospires du sang, des urines et d'éventuels tissus infectés.

2. Traitement symptomatique

a) Prise en charge de l'état algique

Le traitement de la douleur doit être mis en place dès les stades précoces de la maladie. En effet la douleur due aux troubles rénaux et gastro-intestinaux, à d'éventuelles arthrites ou myosites peut aggraver les signes cliniques. En pratique, le traitement de la douleur se fait à l'aide d'opioïdes.

b) Support de la fonction rénale

L'atteinte rénale due à la leptospirose est traitée de la même manière que toute autre atteinte rénale (Schuller et al. 2015). Le traitement repose sur une fluidothérapie adaptée permettant de corriger les déséquilibres ioniques, les anomalies de pH et une éventuelle hypovolémie. D'autres traitements permettant de juguler l'hypertension, les troubles gastro-intestinaux et la douleur peuvent être associés à la fluidothérapie. Les poumons, le tractus gastro-intestinal, le pancréas et le cerveau y sont particulièrement sensibles. De plus l'augmentation de la pression au sein du parenchyme rénal diminue le débit de filtration glomérulaire et la perfusion rénale (Schuller et al. 2015b). La fluidothérapie doit être évaluée avec des pesées quotidiennes de l'animal ou à l'aide d'un système clos de collection des urines. Après guérison, la fluidothérapie doit être diminuée graduellement afin de vérifier qu'il n'y pas de polyurie et que le chien boit suffisamment pour être bien hydraté (J. Sykes et al. 2011).

Pour des chiens azotémiques et ceux oliguriques (risque d'hyperkaliémie fatale), une hémodialyse est parfois nécessaire (Acierno 2011; Cowgill and Langston 1996). Cette thérapie permet une purification du sang du chien permettant d'améliorer le traitement de l'insuffisance rénale aigüe. La leptospirose canine est une des principales indications pour les thérapies de remplacement rénal. En effet le taux de récupération rénale est très élevé et la durée de l'insuffisance rénale diminuée de manière significative. Adin a mené une étude sur 36 chiens atteints de leptospirose et démontré que près de 80% d'entre eux récupéraient leur fonction rénale après une hémodialyse alors que d'autres traitements médicaux avaient échoué (Adin and Cowgill 2000a). Par ailleurs, l'hémodialyse permet non seulement une purification des fluides physiologiques, d'équilibrer les désordres électrolytiques et acido-basiques mais aussi éventuellement d'apporter un support nutritionnel. Les chiens hypercoagulables subissant une dialyse doivent bénéficier d'une héparinothérapie préalable (Schuller et al. 2015b).

c) Support de la sphère gastro-intestinale et du foie

Le traitement des troubles gastro-intestinaux est basé sur l'utilisation d'antiémétiques et de protecteurs de la muqueuse gastrique (type sucralfate). L'utilisation d'une sonde entérale ou parentérale est fortement recommandée pour les chiens anorexiques car elle permet un apport alimentaire minimal et nécessaire et présente peu de complications secondaires.

Le traitement des troubles hépatiques est surtout symptomatique. L'utilisation de cholérétiques comme l'acide ursodésoxycholique ou d'antioxydants n'a aujourd'hui toujours pas d'utilité démontrée.

d) Traitement du syndrome hémorragique pulmonaire

L'étiologie de ce syndrome étant encore incertaine, le traitement est essentiellement symptomatique (Kohn et al. 2010).

Selon la gravité de l'hémorragie pulmonaire une oxygénothérapie voire une ventilation mécanique peuvent être nécessaires. Les transfusions de plasma ou de sang total sont indiquées pour les chiens présentant des troubles de l'hémostase, ce qui n'est habituellement pas le cas avec des chiens souffrant du syndrome hémorragique pulmonaire. D'autres thérapies (desmopressine, cyclophosphamide, dexaméthasone) sont utilisées chez l'homme mais de plus amples études sont nécessaires afin de déterminer leur efficacité et leur intérêt chez le chien (Schuller et al. 2015b).

e) Support de la fonction hémostatique

Les troubles de l'hémostase sont multifactoriels. Ils peuvent résulter d'un état d'hypocoagulabilité dû à une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) ou une diminution de la synthèse de facteurs de coagulation, une thrombocytopénie ou une thrombocytopathie (Schuller et al. 2015b). Les thrombocytopénies associées à la leptospirose ne nécessitent généralement pas un traitement spécifique. La CIVD peut être adressée par transfusion sanguine. A moins que le chien soit en état d'hypercoagulabilité, l'héparinothérapie n'est pas indiquée (Schuller et al. 2015b).

f) Réponses attendues lors du traitement

Hormis les chiens souffrant d'un syndrome hémorragique pulmonaire, le pronostic des chiens atteints de leptospirose et traités de manière précoce et agressive est plutôt bon. Les chiens pouvant bénéficier en cas de nécessité d'une thérapie de remplacement rénale présentent un taux de survie de 80% (Goldstein et al. 2006a). En revanche les chiens présentant un syndrome d'hémorragie pulmonaire lié à la leptospirose ont un taux de mortalité entre 36% et 48% (Kohn et al. 2010).

Un traitement efficace est accompagné d'un retour de l'urémie et de la créatinémie dans les valeurs usuelles en 0 à 14 jours. La régénération du tissu rénal peut en revanche prendre 4 semaines après la fin du traitement. Chez les patients pris en charge tardivement, des lésions rénales peuvent persister. Généralement la bilirubinémie décroît plus lentement que les concentrations en ALAT (alanine aminotransferase) et ASAT (aspartate aminotransferase). Le comptage plaquettaire s'améliore en une semaine.

H. Prophylaxie sanitaire et médicale

1. La vaccination

Avant les années 1960, la plupart des cas de leptospirose canine semblaient être dus aux sérogroupes *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola*. C'est pourquoi initialement un vaccin bivalent contre ces deux sérogroupes a été développé. Depuis la démocratisation de tels vaccins, les formes cliniques de leptospirose peuvent être dues à d'autres sérovars comme *Grippityphosa*, *Australis* ou *Sjrooe* en Europe (W. A. Ellis 2010).

La protection des vaccins bivalents contre les sérogroupes *Canicola* et *Icterohaemorrhagiae* ont une protection croisée partielle vis-à-vis de leurs sérogroupes hétérologues (Sonrier et al. 2000a). Cela étant, de nombreux cas de leptospirose canine sont rapportés malgré une protection avec un vaccin bivalent (Kohn et al. 2010). C'est pourquoi un vaccin quadrivalent protégeant contre les sérogroupes *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Grippityphosa* et *Pomona* a été développé aux Etats-Unis en 2001. Depuis, plusieurs vaccins quadrivalents (*Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Bratislava* et *Grippityphosa*) ou trivalent (*Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* et *Grippityphosa*) sont disponibles en Europe (Klaasen et al. 2013). Cela étant, de plus amples études sont nécessaires afin de déterminer l'efficacité du vaccin trivalent ou quadrivalent contre la leptospirose canine en Europe (Schuller et al. 2015b).

Etant donné le caractère zoonotique et la présence de formes fatales de leptospirose, tous les chiens « à risque » devraient être vaccinés. Le protocole de primo-vaccination s'effectue en 2 injections à 3 ou 4 semaines d'intervalle. Les rappels peuvent être annuels ou semestriels pour les chiens particulièrement exposés à un risque de leptospirose. Il est conseillé de recommencer un protocole de primo-vaccination si le dernier rappel est espacé de plus de 18 mois du rappel antérieur. Dans les pays où l'hiver est très froid, les températures hivernales peuvent inactiver les leptospires dans l'environnement. Ainsi il est conseillé de vacciner au printemps afin que la protection soit maximale au moment des périodes favorables aux leptospires.

La durée de l'immunité après une infection naturelle est incertaine. Aujourd'hui il n'existe aucune publication rapportant une réinfection par la leptospirose après un traitement efficace. Cependant, les chiens ayant été infectés une première fois sont plus à risques car ils peuvent être une seconde fois exposés à la même source de contamination : ils devraient être protégés par un protocole de vaccination adapté. Ainsi le Consensus Européen pour la leptospirose recommande une vaccination contre la leptospirose dès que possible après la récupération clinique de l'animal (Schuller et al. 2015b).

De plus amples études sont nécessaires afin d'évaluer la durée exacte de l'immunité après une infection par des leptospires ainsi que le degré de protection-croisée vis-à-vis d'autres sérovars que celui ayant infecté l'animal.

2. Autres mesures prophylactiques

Ces mesures visent à limiter l'exposition aux facteurs de risque. Il est conseillé par exemple de limiter l'accès aux potentielles sources d'infection comme les points d'eau stagnante ou les zones marécageuses. Il est aussi indiqué de réduire les contacts avec la faune sauvage à l'aide de clôtures adaptées et de contrôler la population de rongeurs (Craig E. Greene et al., n.d.).

ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS
DE LEPTOSPIROSE CANINE DE L'ENVT
DIAGNOSTIQUES ENTRE 2009 ET 2014

I. OBJECTIFS

Cette thèse d'exercice a pour but d'effectuer une étude rétrospective des cas de leptospirose présentés à l'ENVT entre 2009 et 2014 afin de :

- Décrire le profil épidémio-clinique des chiens susceptibles d'être atteints de leptospirose dans le bassin toulousain et de comparer ces données à la littérature
- Etudier la possible corrélation entre le sérovar infectant et la présence d'une insuffisance rénale aigüe
- Identifier d'éventuels marqueurs pronostiques de mortalité

II. MATERIEL ET METHODES

A. Collecte des données

Les individus initialement sélectionnés sont des patients canins présentés au CHUVAC (Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire pour Animaux de Compagnie) de l'ENVT (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse). Une partie des sujets a été sélectionnée à l'aide du logiciel Clovis®. Clovis® est un logiciel informatique de traitement et de recensement des données inhérentes aux patients des Ecoles Nationales Vétérinaires françaises. Les compte-rendus de consultation et d'hospitalisation ainsi que les résultats d'analyse et les prescriptions médicales y sont répertoriés. Les données recensées dans Clovis sont rédigées par les étudiants vétérinaires de la 3^{ème} à la 5^{ème} année ayant participé à la prise en charge de l'animal puis sont relus par un interne ou un assistant et validés par un clinicien (enseignant chercheur ou praticien hospitalier). Chaque consultation ou résultat d'analyse peut être associé à des mots-clés. En tapant les mots-clés « leptospirose », « lepto », « IRA » ou « hépatopathie » associés aux dates qui nous intéressaient nous avons pu remonter à certains patients qui avaient fait l'objet d'une suspicion clinique de leptospirose. La majorité des données a été récoltée sur fichier informatique. Les dates de vaccinations étaient essentielles à l'inclusion de certains patients dans cette étude et n'étaient pas toujours disponibles dans Clovis®. Certaines n'ont pu être obtenues que sur dossier papier en salle des archives ou par téléphone directement auprès du propriétaire. Les informations ont ensuite été saisies dans le logiciel de traitement informatique Excel ®.

B. Patients

1. Critères d'inclusion

Toutes les consultations canines entre 2009 et 2014 pour lesquelles les mots clés cités en amont apparaissaient ont été considérées. Les sujets ont été recrutés selon au moins un des quatre critères diagnostiques suivant :

- Polymérase de réaction en chaîne positive pour *Leptospira spp* sur sang et/ou urines ou sur tissu (rein ou foie)
- Sérologie positive pour un titre de dilution supérieur ou égal à 800 associée à une présentation clinique compatible avec la leptospirose chez un sujet vacciné
- Sérologie positive pour un titre de dilution supérieur ou égal à 400 associée à une présentation clinique compatible avec la leptospirose chez un sujet non-vacciné
- Séroconversion lors de dosage cinétique sérologique à une ou deux semaines d'intervalle

L'analyse PCR met en évidence l'ADN des leptospires. C'est un examen très sensible (Se = 100%) et relativement spécifique (Se = 88,3%) (Harkin, Roshto, and Sullivan 2003).

Le choix de la valeur seuil de MAT fixée à 800 résulte d'un compromis. D'une part, d'après Fraune, la valeur prédictive positive (VPP) pour une dilution supérieure ou égale à 800 est de 100% : c'est-à-dire qu'il n'y a aucun faux positif (tableau 3). En revanche la sensibilité (Se) est relativement faible : 50% des chiens affectés peuvent être diagnostiqués à tort comme non atteint par la leptospirose (Claudia Kummerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013). De plus, d'après Martin, à 15 semaines post-vaccination, seulement 3% des chiens ont un MAT positif pour une dilution supérieure ou égale à 800. A 52 semaines post-vaccination, 16% des chiens sont séropositifs mais il semblerait qu'aucun n'ait de titre supérieur ou égal à 800 (L. E. R. Martin et al. 2014).

Pour un patient non vacciné, nous avons suivi les recommandations de Fraune d'utiliser le seuil de dilution supérieure ou égale à 400. En effet, la sensibilité diagnostique est meilleure (Se = 60%) (Claudia Kummerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013).

Dilutions du MAT	Se (en %)	Sp (en%)	VPP (en %)	VPN (en %)
> 400	60	83	90	45
> 800	50	100	100	44
> 1600	37	100	100	39

Tableau 3 : Performances diagnostiques du MAT en fonction de la dilution (Fraune et al. 2013)

D'après Miller et Fraune, les meilleures performances diagnostiques sont obtenues après étude de séroconversion à une ou deux semaines d'intervalle. Le titre en anticorps doit être multiplié par au moins quatre pour que le résultat soit compatible avec une infection par des leptospires (Miller et al. 2011b; Claudia Kummerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013).

2. Critères d'exclusion

Les patients dont le MAT était évocateur d'une leptospirose avec une dilution inférieure à 800 et dont le statut vaccinal était inconnu ont été exclus. De même les chiens dont la sérologie était en faveur de la leptospirose mais présentant une affection concomitante ont été exclus. Enfin, les cas pour lesquels un examen diagnostique était en faveur d'une infection par la leptospirose mais dont les dossiers Clovis® étaient jugés trop incomplets ont été retirés de la population d'étude.

C. Variables étudiées

Toutes les données récoltées ont été recensées dans un tableur Excel®. Chaque ligne du tableau correspond à un animal caractérisé par son numéro de dossier Clovis®, son numéro individuel dans l'étude (de 1 à X par ordre chronologique d'admission) et son nom. Chaque colonne représente une donnée d'intérêt. La présence de la variable est notée 1 et son absence 0. Certaines variables (les plages de la bandelette urinaire) ont été notées sur une échelle semi-quantitative de 0 à 4. Les données quantitatives ont été reportées à l'identique.

Lorsqu'une constante n'a pas été mesurée ou qu'un examen complémentaire n'a pas été réalisé, il a été noté « ND » pour « non déterminé ».

1. Epidémiologie

La température, l'hygrométrie et la saison lors de la présentation de l'animal à l'ENVT pour la prise en charge de sa leptospirose ont été recensées. Les mesures de précipitations et de températures ont été obtenues à l'aide du site de Météo France ("CLIMAT TOULOUSE Par Météo-France - Normales et Relevés Sur La Station de TOULOUSE"). Les moyennes des températures et des précipitations pour la région Midi-Pyrénées ont été calculées manuellement à partir des moyennes départementales et cantonales.

Les adresses des lieux de résidence de chaque patient ont été recensées dans Excel®. La localisation géographique par rapport à l'ENVT du lieu de résidence de chaque chien a été déterminée à l'aide du logiciel Google map® ("Google Maps" 2016) puis chaque localisation a été reportée manuellement sur une carte provenant d'une capture d'écran du même logiciel.

Ces localisations ont dans un second temps été comparées aux données de l'INSEE sur les bassins de vie en Midi Pyrénées en 2009.

2. Commémoratifs

Il a été mentionné pour chaque cas s'il était présenté en première ou seconde intention à l'ENVT.

Un tableau a été réalisé associant la race et le nombre de cas dans l'étude. L'ensemble des races a été divisé en trois catégories : « grande race », « petite race » et « race de taille intermédiaire ».

Concernant le sexe et le statut sexuel, les sujets ont été divisés en deux catégories : soit « mâle » soit « femelle ». Chaque catégorie a ensuite été divisée en sous-catégorie « entier » et « stérilisé ».

Le statut vaccinal a été noté. Parmi les cas vaccinés nous avons distingué les protocoles « complets », des protocoles « incomplets ou inadéquats ».

Les sujets de l'étude ont été répartis dans différentes catégories d'âge. Les « jeunes chiens » comprenaient les chiens âgés de moins de deux ans. Les chiens « d'âge moyen » avaient entre deux et neuf ans et les « chiens âgés » avaient plus de neuf ans.

3. Présentation clinique à l'admission

Tout signe général et non spécifique de type apathie et déshydratation ont été renseignés. La température a été notée en degré Celsius (°C), la fréquence cardiaque en battements par minute (« bpm ») et la fréquence respiratoire en mouvements par minute (« mpm »). La présence d'une douleur ou d'une distension de l'abdomen lors de la palpation abdominale ainsi que la présence d'un éventuel souffle cardiaque ou de bruits inspiratoires renforcés à l'auscultation cardio-pulmonaire ont été notés. L'observation d'un ictère, d'hématurie, de vomissements, de diarrhée, de signes révélateurs de troubles de l'hémostase, de souffle cardiaque, d'anomalies ophtalmologiques ou neurologiques ont été renseignés à partir des compte-rendus de l'anamnèse et de l'examen clinique initial. L'état de la diurèse était renseigné subjectivement par le propriétaire à l'admission et consignée de manière semi-quantitative par les étudiants de la 3^{ème} à la 5^{ème} année en notant dans Clovis® la fréquence et la quantité approximative d'urines émises durant l'hospitalisation du patient.

4. Anomalies des examens de laboratoires

Plusieurs analytes biochimiques ont été dosés à l'admission des patients à l'ENVT. Les valeurs recensées sont exprimées en unités internationales. Dans certains cas, lorsque le patient était présenté aux urgences, les protéines totales ont pu être estimées sur plasma au moyen d'un réfractomètre. L'automate utilisé pour les analyses biochimiques dépend du service d'admission. Le Chemistry system Vitros® 350 (Ortho-clinical Diagnostics, Issy-les-Moulineaux, France) est celui utilisé par le laboratoire central de Biologie Médicale de l'ENVT. En dehors des horaires d'ouverture du laboratoire central, lorsque les patients sont présentés aux urgences, se sont le Reflotron® plus (SCIL, Holzheim, France) et le VetTest® 8008 (Idexx, Westbrook, ME, Etats-Unis) qui ont été utilisés. Une numération de formule sanguine (NFS) a aussi pu être demandée. La formule rouge a été comptée en millions de cellules par microlitre ($10^6/\mu\text{L}$) et l'hématocrite en pourcentage (%). L'hématocrite a été mesuré manuellement après centrifugation du prélèvement sanguin. La formule blanche a été obtenue en milliers de cellules par microlitre ($10^3/\mu\text{L}$). Les temps de coagulation ont été calculés en secondes. L'automate utilisé est un SymexXT-200i® (System Corporation, Kobe, Japon).

La densité urinaire a été évaluée avec un réfractomètre optique Atago® T3 NE Clinical par les étudiants de l'ENVT. Des bandelettes urinaires (Combur® 10 cobas Roche) ont permis d'évaluer le pH urinaire et de déterminer la présence de sang, de protéines, de glucose, de bilirubine, de leucocytes et de corps cétoniques dans les urines. La précision de ce type de bandelette vis-à-vis de la valeur pH est d'environ 0.5 unité de pH. Le RPCU (rapport protéines sur créatinine urinaires) a été déterminé par le laboratoire central de l'ENVT. L'examen cytologique et bactériologique des urines a été réalisé après centrifugation et analyse au microscope photonique par les étudiants de l'ENVT puis validé par un interne, un assistant ou un enseignant chercheur. Les données telles qu'une cristallurie ou une cylindrurie ont été renseignées dans Clovis®.

La pression artérielle a été mesurée par méthode Doppler et est exprimée en millimètres de mercure (« mmHg »).

5. Examens mettant en évidence les leptospires

a) Réaction de polymérase en chaîne

Depuis 2009, l'ENVT sollicite deux laboratoires indépendants pour traiter ses analyses concernant les patients atteints de leptospirose. Les réactions de polymérase en chaîne (PCR) pour *Leptospira spp* ont été analysées par le laboratoire SCANELIS à Saint-Martin-du-Touch (31). Le laboratoire SCANELIS utilise la PCR en temps réel, par marquage d'ADN grâce à une molécule fluorescente (sonde TaqMan®). Le seuil de détection rapporté par le laboratoire est de dix leptospires par prélèvement. A la fin de l'examen PCR, l'intensité de l'émission fluorescente est proportionnelle à la quantité d'amplicons.

b) Test d'agglutination microscopique

La réalisation des tests sérologiques MAT a été confiée au LDV (Laboratoire Départemental Vétérinaire) de l'ENVL (Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon). Les sérovars testés correspondent aux sérovars les plus répandus en France actuellement. La liste des sérovars testés a été demandée par téléphone directement auprès du LDV. Cette dernière est actualisée régulièrement (tableau 4).

SEROGROUPE	SEROVAR	ABBREVIATION
AUSTRALIS	Australis	(AUS)
	Bratislava	(BRAT)
	Munchen	(MUN)
JAVANICA	Javanica	(JAV)
AUTOMNALIS	Automnalis	(AKI)
	Bim	(BIM)
BALLUM	Castellonis	(BAL)
BATAVIAE	Bataviae	(BAT)
CANICOLA	Canicola	(CAN)
GRIPPOTYPHOSA	Grippytyphosa	(GRIP)
HEBDOMADIS	Hebdomadis	(HEB)
ICTEROHAEMORRHAGIAE	Copenhageni	(COP)
	Icterohaemorrhagiae	(IH)
PANAMA	Panama	(PAN)
	Mangus	(MAN)
POMONA	Pomona	(POM)
	Mozdok	(MOZ)
PYROGENES	Pyrogenes	(PYR)
SEJROE	Sejroe	(SJ)
	Hardjo	(5HJ)
	Wolffi	(WOLF)
	Saxkoeking	(SAX)
TARASSOVI	Tarassovi	(TAR)
CYNOPTERI	Cynopteri	(CYN)

Tableau 4 : Sérogroupes et sérovars de *Leptospira* spp testés par le LDV de l'ENVL en 2016

Le titre sérologique correspond à la plus haute dilution de sérum agglutinant 50% des leptospires. Plus la quantité en anticorps dans le sérum est importante et plus le titre de dilution sera élevé. La plupart des patients présentaient un titre positif en anticorps contre plusieurs sérovars. Dans ce cas nous avons attribué la responsabilité de la leptospirose au sérovar associé au titre en anticorps le plus élevé. Dans le cas où plusieurs sérovars présentaient un titre en anticorps similaire, nous avons considéré que le sujet pouvait potentiellement être infecté par tous les sérovars en question.

6. Examens d'imagerie

A l'ENVV, les clichés radiographiques sont réalisés par les étudiants de la 3^{ème} à 5^{ème} année, encadrés par une technicienne spécialisée en imagerie médicale. Ces clichés sont ensuite interprétés par un clinicien de l'ENVV (Dr Fabrice Conchou). L'appareil de radiographie utilisé est un Compact-Vet® (Sedecal) et la développeuse numérique est de marque FUGIFILM FCR 5000R.

Les examens échographiques sont soit réalisés par un clinicien de l'ENVV (Dr Fabrice Conchou ou Dr Cathy Layssol-Lamour) soit par un interne ou un assistant encadré par un clinicien. Les compte-rendus d'imagerie sont répertoriés dans Clovis® une fois validés par un enseignant. L'échographe utilisé est un échographe Logic7® (General Electrics) à l'aide d'une sonde sectorielle de 7,5 MHz.

7. Analyses cytologiques et histologiques

Lorsque des cytoponctions à l'aiguille fine ont été réalisées lors de l'examen échographique, elles ont été étalées sur une lame compatible avec un microscope photonique. Ces étalements sont examinés par les biologistes du Laboratoire central de Biologie Médicale de l'ENVV et validés par les Drs Catherine Trumel ou Anne Geffré.

Les prélèvements d'éventuelles pièces d'exérèse ont été fixés et conservés dans du formol puis ont ensuite été envoyées au laboratoire d'anatomie pathologique de l'ENVV. Les échantillons sont analysés par les Drs Nathalie Bourges-Abella, Maxence Delverdier, Caroline Lacroux et Isabelle Raymond Letron puis les rapports sont consignés dans Clovis®.

8. Examens nécropsiques

Les examens nécropsiques, si effectués, ont été réalisés par des étudiants de 3^{ème} et 4^{ème} année sous la supervision d'un résident en anatomie pathologique. Les résultats ont été soumis et validés par un des enseignants chercheurs du service. Le compte-rendu a été réalisé par un étudiant en 3^{ème} année puis validé et mis sur Clovis® par un des résidents.

Afin d'avoir un suivi des patients de cette étude et de déterminer si certains souffraient d'éventuels troubles rénaux ou hépatiques chroniques, des nouvelles des 22 patients repartis des hôpitaux ont été prises en mars 2016. Certains patients ont été suivis ultérieurement à l'ENVV et les informations nécessaires étaient consignées dans Clovis®. La plupart des informations ont été demandées directement au téléphone ou par email auprès des propriétaires.

9. Etude statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide des logiciels EXCEL® et SYSTAT V.13® par le Dr Rachel Lavoué après concertation avec un Professeur de Mathématiques et de biostatistiques (Pr. Didier Concordet).

Les potentielles corrélations entre la créatininémie plasmatique et les sérovars les plus fréquemment impliqués dans les cas de leptospiroses diagnostiqués à l'ENVT sont estimées à l'aide du coefficient de corrélation de Spearman.

L'implication de différents facteurs de risque dans la mortalité est évaluée par régression logistique binomiale univariée. Les variables quantitatives ou qualitatives à l'admission évaluées sont les suivantes : la température corporelle, créatininémie, l'urémie, la bilirubinémie, le dosage des PAL et ALAT, la natrémie, la kaliémie, la chlorémie, la phosphatémie, l'albuminémie, la protidémie, l'hémoglobininémie, la numération plaquettaire et leucocytaire, le rapport protéines-sur-créatinine-urinaires, la densité urinaire, la présence d'une glycosurie, la présence d'une protéinurie ainsi que le type de sérovar et la dilution maximale du MAT, quand il a été réalisé, et enfin le nombre de sérovars impliqués. Ces variables ont été choisies pour leur relative fiabilité compte tenu de la nature rétrospective de cette étude. De plus, le numéro d'inclusion (chronologique) a été testé pour s'assurer de l'absence d'influence de la période de présentation à l'ENVT sur la mortalité.

En cas d'implication significative de certaines variables quantitative dans la mortalité, ces dernières sont transformées, lorsque cela est possible en variable qualitative (présence ou absence d'une variation par rapport à l'intervalle de référence de la variable considérée). Si l'implication dans la mortalité est toujours significative après cette transformation les risques relatifs (RR) et rapports de côtes ou odd-ratios (OR) sont calculés pour la variable considérée selon les formules suivantes :

$$RR = \frac{\frac{a}{n1}}{\frac{b}{n0}}$$

$$OR = \frac{p(1-q)}{q(1-p)}$$

Où :

a = nombre d'animaux décédés présentant le facteur de risque étudié

n1 = nombre total d'animaux décédés présentant le facteur de risque

b = nombre d'animaux décédés ne présentant pas le facteur de risque

n0 = nombre total d'animaux ne présentant pas le facteur de risque

p = probabilité de décéder dans le groupe présentant le facteur de risque

q = probabilité de décéder dans le groupe ne présentant pas le facteur de risque

La significativité d'un modèle est évaluée à l'aide de la p-overall. La significativité d'un résultat est exprimée à l'aide de la p-value. Dans le cas d'une régression logistique binomiale univariée, un modèle (ou un résultat) est considéré significatif pour une valeur de p-overall (ou p-value) inférieure à 0,05.

III. RESULTATS

Initialement, 37 patients ont été sélectionnés d'après leurs résultats sérologiques et PCR. Deux patients ont été exclus car leurs MAT présentaient une dilution inférieure à 800 dans un contexte où le statut vaccinal est resté inconnu. Un animal a été exclu car atteint d'une affection concomitante pouvant influencer les résultats de cette étude. Enfin, cinq chiens supplémentaires ont été exclus pour cause de données insuffisantes dans les dossiers Clovis® et papier. Au total, 8 patients ont été exclus.

A. Examens mettant en évidence les leptospires

La réaction de polymérase en chaîne (PCR) a été utilisée sur dix-sept patients, elle a permis l'identification de treize patients atteints de leptospirose à elle seule. Le test d'agglutination microscopique (MAT) a été utilisé sur dix-neuf patients et permis l'identification à lui seul de quinze patients. Sept patients ont bénéficié à la fois d'un MAT et d'une PCR. Parmi eux, quatre individus avaient des résultats concordants et trois présentaient un MAT positif selon les critères d'inclusion de l'étude associé à une PCR négative.

1. Réaction de polymérase en chaîne

Dix-sept analyses PCR ont été demandées : quatorze (soit 82%) sont revenues positives. Deux analyses (soit 12% des PCR) ont été faites sur support urinaire : toutes ont révélé la présence de leptospires. Quatorze PCR (82%) ont été faites sur sang et urines : 78% étaient positives. Une seule PCR (6%) a été demandée sur prélèvement de tissus hépatique et rénal et s'est avérée positive (figure 15). Tous les patients dont l'analyse PCR s'est avérée négative (cas n°17, 19 et 23) étaient des patients présentés en seconde intention à l'ENVV.

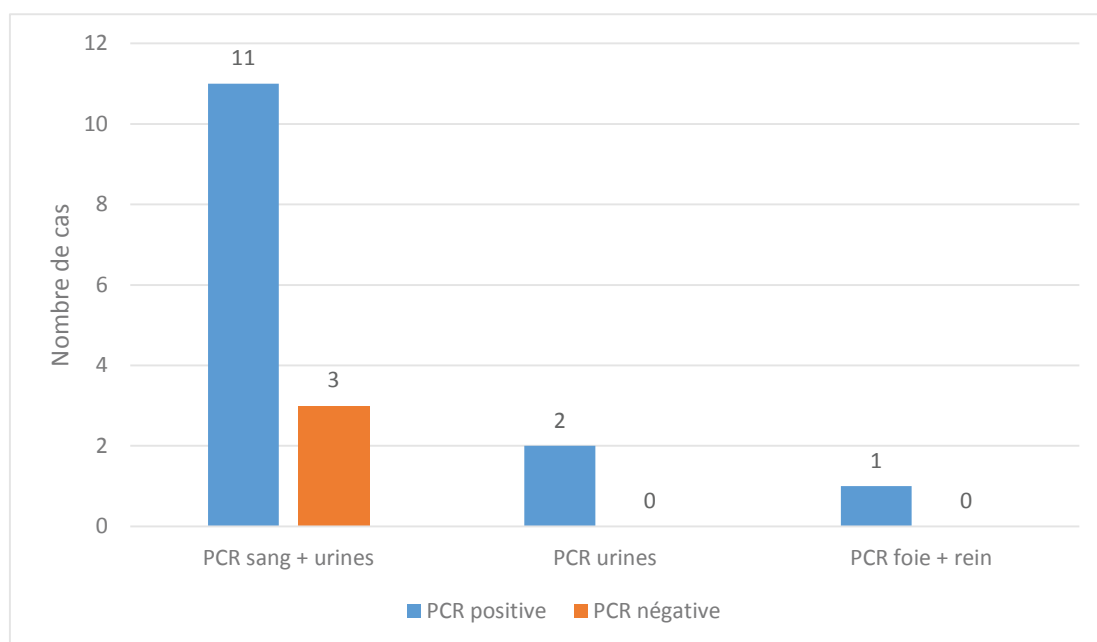


Figure 15 : Analyse des résultats PCR des chiens inclus

2. Test d'agglutination microscopique

Les patients répondant aux critères du MAT ont été regroupés dans le tableau 5. La dilution du MAT, le sérovar ainsi que les patients ayant bénéficié d'une étude de séroconversion ont été précisés.

N° du cas	Dilution	Sérovars mis en évidence	Sérologie couplée
1	1/1600	aki	
3	1/2560	mun, brat, bim, grip, van	X
4	1/2560	aus, mun, brat	
5	1/2560	mun, aus, brat, pan	
6	1/2560	can	X
9	1/1280	bim	X
12	1/2560	pyr	
13	1/3200	brat	
15	1/3200	brat	
16	1/6400	cop, 19, mun, aus, brat, man	
17	1/6400	mun, brat	
19	1/3200	brat	
22	1/800	mun	
23	1/1600	cop, 19, mun, aus, man	
24	1/6400	cop, 19, mun, aus, brat	
25	1/1600	cop, pyr	X
26	1/800	mun	
27	1/3200	bim, van	
29	1/1280	19	X

Tableau 5 : Patients inclus d'après les résultats du MAT

Les tests d'agglutination microscopique (MAT) ont été considérés positifs pour une dilution supérieure à 400 pour un sujet non-vacciné ou supérieure à 800 le cas échéant. En pratique, dans cette étude, tous les patients identifiés par MAT présentaient un titre en anticorps pour une dilution supérieure ou égale à 800.

Parmi les 19 sérologies positives selon les critères d'inclusion, cinq sujets (26%) ont aussi subi une cinétique d'anticorps : aucune n'a révélé de séroconversion. C'est à dire que la quantité d'anticorps entre la première et la seconde sérologie n'était pas multipliée par quatre. Parmi ces cinq patients, les titres en anticorps avaient diminué pour le patient n°6 (figure 16). Trois chiens (n°3, n°25 et n°29) avaient des résultats identiques entre le premier MAT et le second (figure 17). Les résultats étaient complètement différents pour le dernier patient (n°9) : les titres en anticorps avaient diminué ou augmenté selon le sérovar et le nombre de sérovars mis en évidence avait doublé par rapport au premier MAT.

N° MC	Sujet	COP	19	MUN	AUS	BRAT	AKI	BIM	CAN	GRIP	VAN	PAN	MAN	POM	MOZ	PYR	SJ	HJ	SAX	WOLF
22609	[REDACTED]	1280	320	0	0	0	0	0	2560	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22610	[REDACTED]	320	160	0	0	0	0	0	1280	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Figure 16 : Etude de séroconversion du patient n°6

Sujet	COP	19	MUN	AUS	BRAT	AKI	BIM	BAT	CAN	GRIP	VAN	PAN	MAN	PYR	SJ	HJ	SAX	WOLF
Sunshine	1280	1280	2560	2560	2560	2560	2560	0	1280	2560	2560	0	0	0	0	0	0	0
[REDACTED]	640	640	2560	2560	2560	2560	2560	0	1280	2560	2560	0	0	0	0	0	0	0

Figure 17 : Etude de séroconversion du patient n°3

Au total, treize sérovirs ont été mis en évidence et sont régroupés dans le graphique suivant (figure 18). Les deux sérovirs prédominants sont *Munche*n (« mun ») et *Bratislava* (« brat ») qui ont été détectés chez neuf patients. Le sérovir vaccinal *Canicola* (« can ») a été mis en évidence chez un individu.

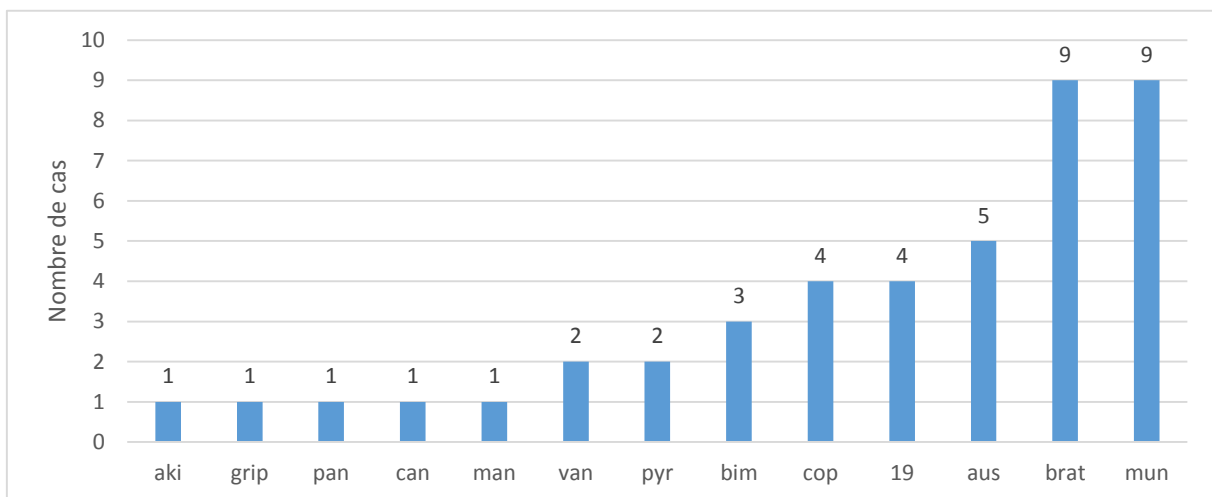


Figure 18: Sérovirs objectivés par le MAT (Test d'agglutination microscopique)

Une majorité de patients (53%) avait un titre en anticorps dirigé contre un seul sérovir. D'autres (47% des sujets) présentaient un titre positif contre plusieurs sérovirs (tableau 6).

Nombre de sérovirs identifiés	1 sérovir	2 sérovirs	3 sérovirs	4 sérovirs	5 sérovirs	6 sérovirs
(Nombre de cas atteints)	(n = 10)	(n = 3)	(n = 1)	(n = 1)	(n = 3)	(n = 1)
Pourcentage	53%	16%	5%	5%	16%	5%

Tableau 6 : Nombre de sérovirs identifiés parmi les patients ayant bénéficié d'un MAT

B. Epidémiologie

1. Température et hygrométrie

Des cas de leptospirose ont été recensés pour des précipitations mensuelles comprises entre 10mm (février 2012) et 120mm (avril 2009). Les températures s'échelonnent de 5°C (janvier 2011) à 21°C (septembre 2011, juin 2012 et juin 2014).

Les mois d'avril, juin et octobre sont les plus représentés avec respectivement 6, 5 et 6 cas chacun. Dans la figure 19, les cas ont été regroupés par mois. La moyenne mensuelle des températures est exprimée en degrés Celsius (courbe grise) et les précipitations en millimètre d'eau (courbe orange). L'ordonnée à gauche représente le nombre de cas et celle de droite est utilisée pour l'échelle de température et des précipitations. L'abscisse représente les mois de l'année.

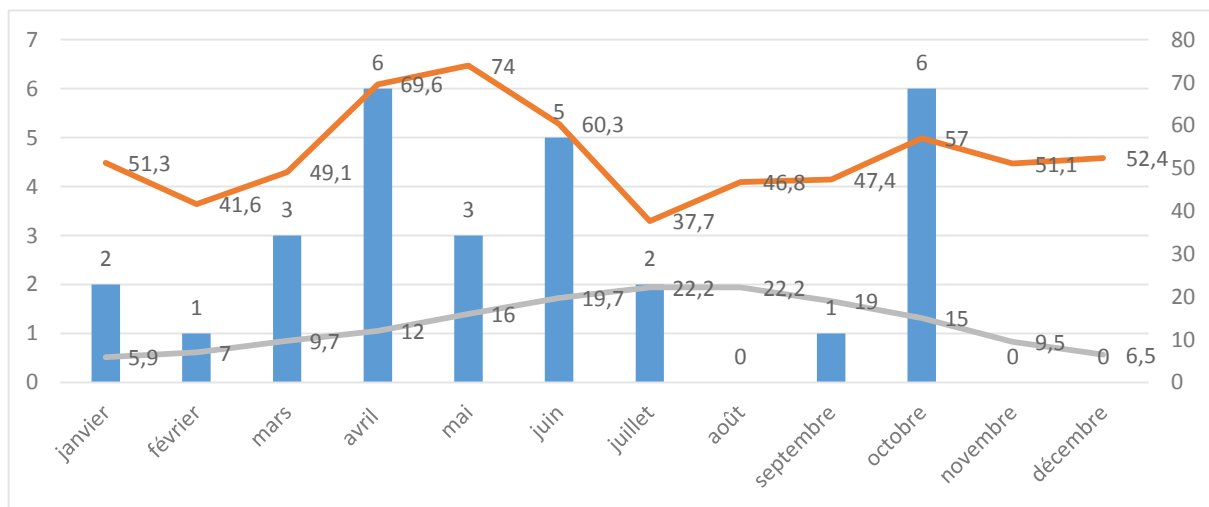


Figure 19 : Nombre de cas en fonction du mois de l'année

En terme de saison, la majorité des cas (48%) a été présentée au printemps (figure 20). Néanmoins, il faut prendre en considération que le centre hospitalier universitaire de l'ENVT est fermé de fin juillet à fin août et deux semaines au moment des congés de Noël.

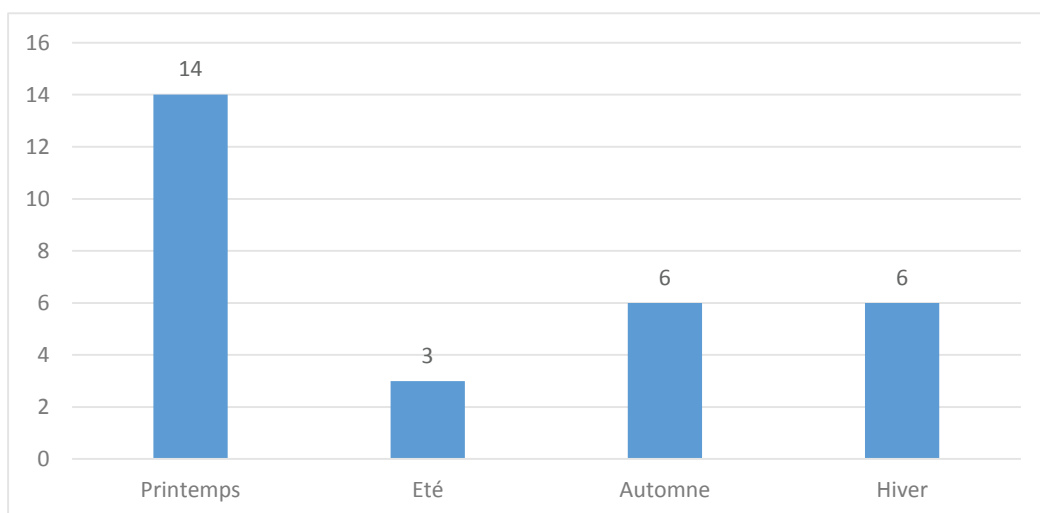


Figure 20 : Nombre de cas en fonction de la saison

2. Localisation autour de l'ENVT

La majorité des cas provient du bassin toulousain, à proximité de l'ENVT, au Sud-Ouest de Toulouse (figure 21). Ces résultats sont à analyser à l'aide de la carte des bassins de vie réalisée par l'INSEE en 2009 (figure 22).



Figure 21: Répartition des cas autour de Toulouse

D'après la figure 22, la quasi-totalité des sujets vient de zones non rurales périurbaines ou d'une unité urbaine de plus de 5000 emplois.

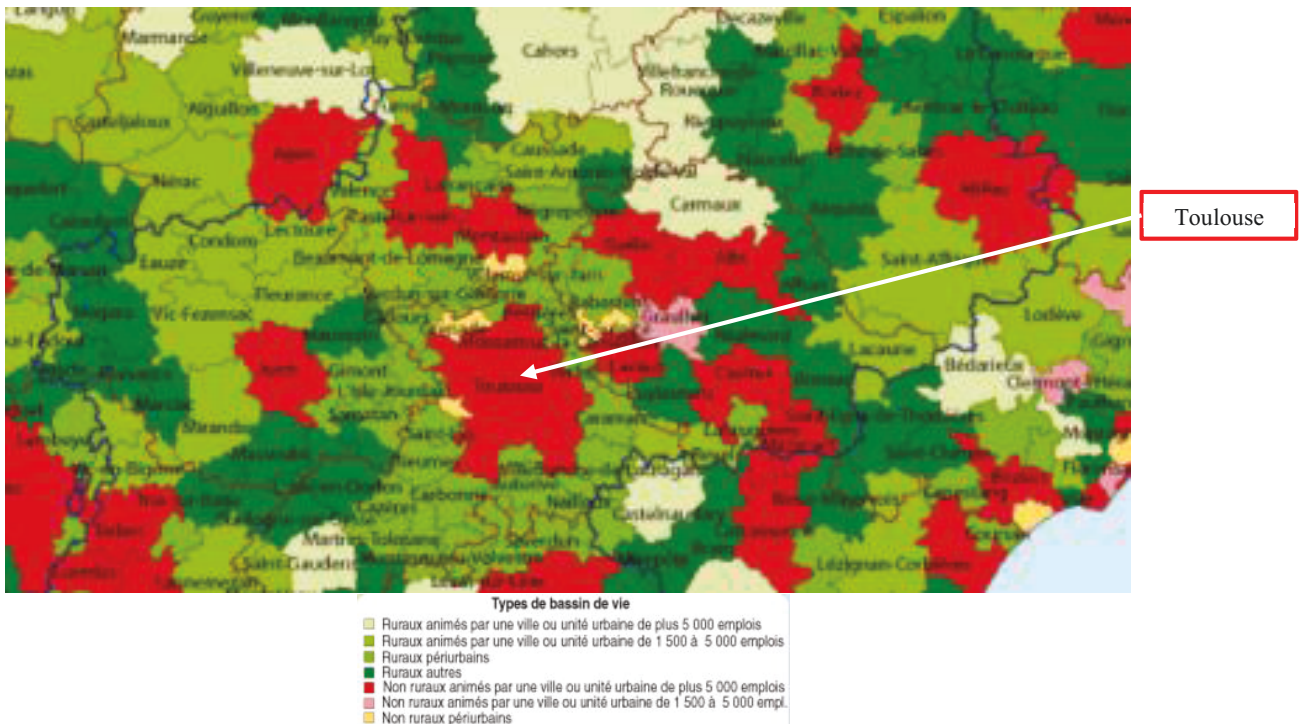


Figure 22 : Typologie des bassins de vie en Midi-Pyrénées - INSEE Recensement de la population 2009

C. Commémoratifs

Parmi les 29 cas inclus, quatorze chiens (48%) étaient présentés pour un second avis et quinze chiens (52%) ont été présentés en première intention à l'ENVT *via* le service des Urgences et Soins Intensifs, le Service de Médecine Générale ou le Service de Médecine Interne.

1. Race

Race	Nombre de cas
Labrador	4
Yorkshire Terrier	3
Epagneul Breton	2
Cairn Terrier	2
Border Collie	2
Bouvier Bernois	2
Bulldog Anglais	2
Labrit	1
Shi thzu	1
Welsh Terrier	1
Whippet	1
Cavalier King Charles Spagniel	1
Dogue Argentin	1
Bouledogue Français	1
Terre-Neuve	1
Beauceron	1
Montagne des Pyrénées	1
Rottweiler	1
Pointer	1

Tableau 7 : Races des chiens atteints de leptospirose et présentés à l'ENVT

D'après le tableau 7, les deux races les plus fréquemment touchées sont le Yorkshire Terrier et le Labrador. Près d'un chien sur deux (quatorze individus soit 48%) appartient à une grande race. Les races considérées comme « grandes » au sein de la population d'étude sont le Terre-Neuve, le Montagne des Pyrénées, le Rottweiler, le Dogue Argentin, le Berger de Beauce, le Border Collie, le Bouvier Bernois, le Pointer et le Labrador. Trente-et-un pourcents des individus (soit neuf chiens) sont de « petite » taille soit de race Cavalier King Charles Spagniel, Yorkshire Terrier, Cairn Terrier, Welsh Terrier, Shi thzu ou Bouledogue Français. Six chiens (21%) ont été considérés de catégorie intermédiaire (races Labrit, Bouledogue anglais, Whippet et Epagneul Breton).

2. Sexe et statut sexuel

Parmi les 29 cas considérés pour cette étude, 62% étaient des mâles et 38% étaient des femelles. Dans le lot des mâles, 55% étaient entiers et 45% étaient castrés. Soixante-treize pourcents des femelles étaient stérilisées et 27% étaient entières (figure 23).

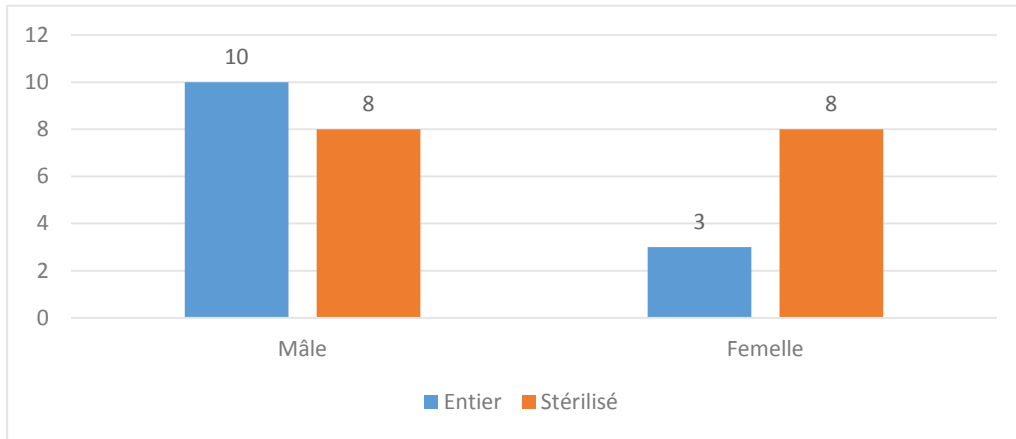


Figure 23 : Sexe et statut sexuel

3. Statut vaccinal

Sur l'ensemble des chiens présentés, 69% étaient correctement vaccinés contre la leptospirose et 17% n'avaient jamais été vaccinés. Un chien possédait un statut vaccinal inconnu du propriétaire (figure 24).

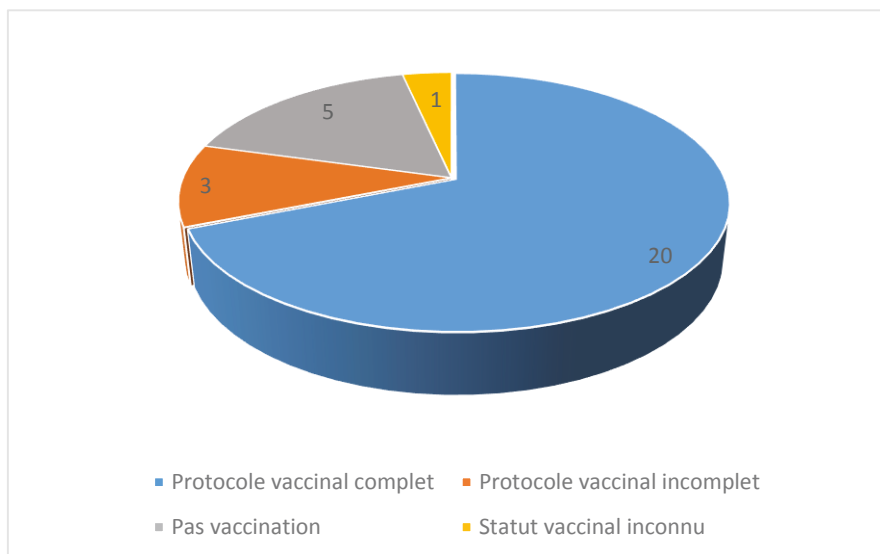


Figure 24 : Statut vaccinal vis-à-vis de la leptospirose

4. Age

Le graphique suivant (figure 25) représente le nombre de cas (en ordonnée) par classe d'âge (en abscisse). Il semblerait que les individus atteints de leptospirose soient jeunes ou d'âge moyen. En effet 21% des chiens ont moins de deux ans et 69% ont entre deux et neuf ans. En particulier, plus de la moitié de l'échantillon (seize cas soit 55%) avait entre cinq et neuf ans. Seulement 10% des patients sont âgés de plus de neuf ans.

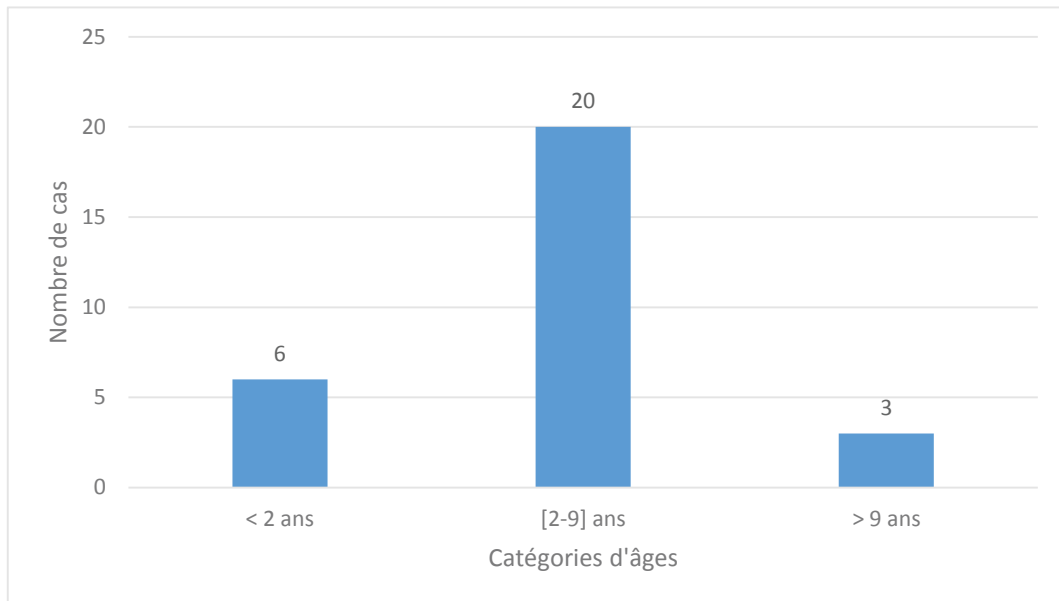


Figure 25 : Age (en années) et nombre de cas de leptospirose canine

D. Présentation clinique à l'admission

1. Apathie et déshydratation

La leptospirose est caractérisée par une multiplicité de présentations cliniques. Dans cette étude rétrospective la quasi-totalité des patients (28/29 soit 98%) était apathique à l'admission à l'ENVV. Onze patients (38%) étaient déshydratés, dont quatre (36%) étaient sévèrement déshydratés (déshydratation supérieure à 10%) selon les dossiers des animaux.

2. Température corporelle

Vingt-cinq mesures de température corporelle ont été reportées dans Clovis® (figure 26). La température corporelle est à interpréter en fonction de l'état clinique du patient. Chaque patient a été numéroté de 1 à 29. Chaque point représente une variable associée à un patient. Un point bleu représente une variable pour laquelle une donnée est disponible. Un point orange en « 0 » sur l'axe des ordonnées caractérise une donnée non déterminée. Par exemple, ici la valeur de température rectale n'est pas disponible pour les patients n°6, n°18 et 19, n°24 et n°28.

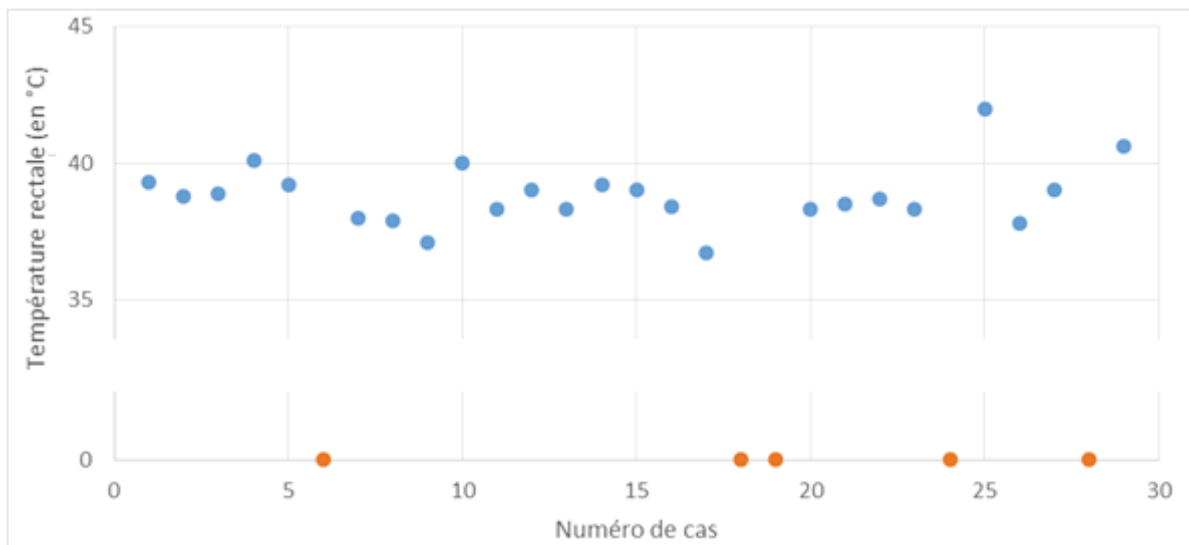


Figure 26 : Analyse des résultats de température rectale (en °C)

3. Symptômes digestifs

Parmi les patients pris en charge, plus de la moitié (21/29 soit 72%) souffraient de symptômes digestifs de type diarrhée ou vomissement. Douze chiens vomissaient et présentaient à la fois des épisodes de vomissement et de diarrhée. Un seul patient présentait des signes de constipation. Douze cas (41%) étaient douloureux lors de la palpation abdominale. Près de 100% (28 cas) étaient oligorexiques.

4. Symptômes uro-néphrologiques

Près de la moitié des chiens (13/29 soit 45%) avait des symptômes urinaires de type oligurie ou PuPd (polyurie-polydipsie). Dix-sept pourcents des patients étaient oliguriques dont un chien anurique et 28% étaient en PuPd (figure 27). Parmi les cinq patients oliguriques, trois (60%) présentaient une hyperkaliémie concomitante (cas n°2, n°8 et n°17).

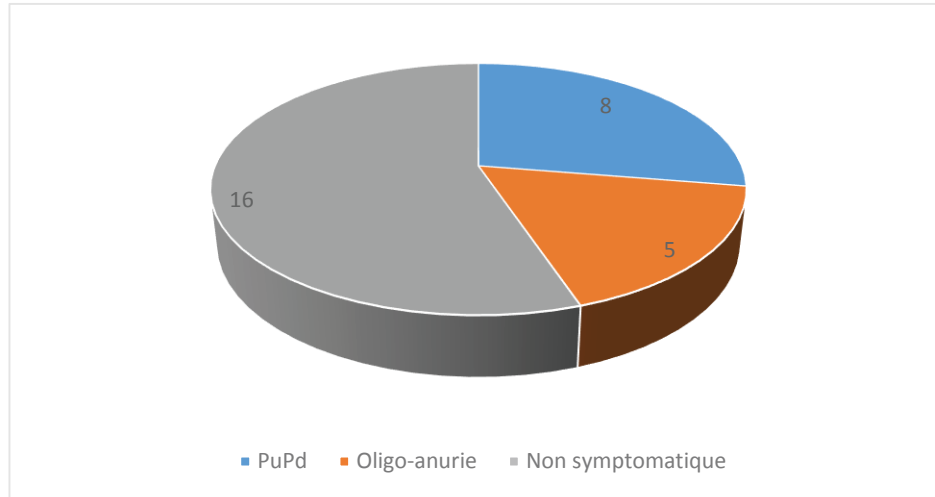


Figure 27 : Symptômes uro-néphrologiques

5. Symptômes hémorragiques

Dix-sept pourcents (5/29) des patients atteints de leptospirose présentaient des signes en faveur d'une perturbation de la coagulation. Parmi ces patients, un souffrait d'hématémèse, deux d'hématurie, un d'hémoptyisie et un d'hématochézie. Deux patients (7%) sont morts des conséquences supposées d'hémorragie pulmonaire. Un seul patient manifestant des troubles hémorragiques a bénéficié d'une mesure des temps de coagulation (cas n°8) : ces derniers se sont avérés dans l'intervalle de référence de l'espèce canine. Quatre patients ont bénéficié d'un comptage plaquettaire : trois chiens présentaient un comptage dans l'intervalle de référence (cas n°2, 8 et 24) et un chien présentait une thrombocytopénie marquée (cas°10).

6. Examen cardio-respiratoire

L'intervalle physiologique de fréquence cardiaque pour le chien (70 à 120 battements par minute) est celui établi dans le Merck Manual ("Hematologic Reference Ranges: Reference Guides: Merck Veterinary Manual" 2016). Cet intervalle est à interpréter en fonction de la race et de l'état clinique de chaque patient. Quatorze patients (48%) avaient une fréquence cardiaque supérieure à 120 bpm et sept patients (24%) avaient une fréquence cardiaque inférieure à 70bpm. Deux patients (7%) présentaient un temps de remplissage capillaire augmenté de plus de trois secondes. Par ailleurs, huit patients (28%) étaient en polypnée au moment de l'examen clinique. Cinq patients (17%) présentaient un souffle systolique apexien et un patient avait un bruit de galop. Deux chiens (7%) présentaient des signes de toux : l'un présentait une toux productive et l'autre une toux faible et sèche. Sept cas (24%) présentaient des bruits inspiratoires augmentés à l'auscultation du champ pulmonaire.

7. Autres

a) Symptômes ophtalmologiques

Huit chiens (28%) présentaient des signes ophtalmologiques. En particulier, deux chiens (7%) présentaient des signes compatibles avec une uvéite, deux (7%) une hyperhémie conjonctivale et sept (24%) d'autres signes oculaires tels qu'un œdème de la cornée, une blépharite, des ulcères et une chassie.

b) Symptômes neurologiques

Cinq chiens (17%) présentaient des signes neurologiques. Trois cas (10%) présentaient une démarche ataxique avec déficits proprioceptifs. Un chien tournait en rond et un convulsait. Par ailleurs, deux patients (7%) présentaient des tremblements au moment de la consultation. Les tremblements n'ont pas été considérés en tant que symptôme neurologique car ils peuvent être constatés entre autres lors d'apathie, d'hyperthermie, de désordres électrolytiques et de faiblesse musculaire.

c) Autres

Quatre cas (14%) présentaient une lymphadénopathie. Cinq patients (17%) présentaient un ictère. Six patients (21%) souffraient de distension abdominale. Parmi ces patients ictériques et présentant un abdomen distendu, deux patients (18%) présentaient à la fois une distension abdominale et un ictère.

E. Anomalies des examens de laboratoire

1. Analyses sanguines

a) Analyse biochimique

Tous les résultats des analyses biochimiques ont été consignés dans le tableau 8.

Sept patients ont bénéficié d'un test SNAP® cPL (lipase spécifique pancréatique canine). Ce test correspond à un test immuno-enzymatique de type ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) pouvant être fait au chevet du patient sans passer par un laboratoire. La valeur seuil du SNAP® cPL est de 200µg/L (Haworth et al. 2014). Six tests (86%) étaient négatifs et un seul (14%) était positif (patient n°23).

Analyte [IR]	n	Médiane [min-max]	ni < IR (en %)	nj > IR (en %)
Créatinémie [44 – 133] (en µmol/L)	29	319 [57 – 1381]	0	21 (72%)
Urémie [1,6 – 10,9] (en mmol/L)	10	17,6 [2,4 – 62]	0	6 (60%)
ALAT [3 – 50] (en UI/L)	24	84 [28 – 1585]	0	5 (21%)
PAL [20 – 155] (en UI/L)	24	335 [57 – 3648]	0	17 (71%)
Bilirubinémie [1,7 – 12] (en µmol/L)	16	9,5 [1,7 – 235,1]	0	7 (44%)
Glycémie [3,7 – 8,2] (en mmol/L)	16	5,46 [1,5 – 10]	1 (6%)	2 (12%)
Albuminémie [23 – 39] (en g/L)	25	33 [17,6 – 40,6]	3 (12%)	1 (4%)
Protéines totales [48 -66] (en g/L)	27	71 [41 – 96,4]	3 (11%)	18 (67%)
Sodium [138 – 148] (en mmol/L)	24	147 [137 - 159]	1 (4%)	9 (38%)
Kaliémie [3,2 – 5] (en mmol/L)	27	4,2 [1,8 – 7,2]	2 (7%)	6 (22%)
Chlorémie [110 – 118] (en mmol/L)	22	109,5 [96 – 128]	11 (50%)	2 (10%)
Phosphatémie [0,7 – 2,6] (en mmol/L)	13	3,82 [1,22 – 9,1]	0	3 (23%)

Tableau 8 : Résultats des analyses biochimiques des patients de l'étude

<u>Légende</u>
IR : intervalle de référence
n = nombre de patients pour lesquels l'analyte a été dosé
[min-max] : valeurs minimale et maximale de l'analyte dosé au sein de l'échantillon
ni : nombre de patients dont la valeur de l'analyte est inférieure à la limite basse de l'intervalle de référence
nj : nombre de patients dont la valeur de l'analyte est supérieure à la limite haute de l'intervalle de référence

La répartition des valeurs biochimiques au sein de la population d'étude ont été mise en évidence sur des représentations graphiques (Cf. Annexe 1).

b) Analyse hématologique

Les résultats de la numération de formule sanguine ont été renseignés dans le tableau

9. Les graphiques correspondants sont en Annexe 2.

Variable [IR]	n	Médiane [min-max]	ni < IR (%)	nj > IR (%)
GR [5,1 – 7,6] (en nombre GR*10 ⁶ /μL)	19	6,02 [3,70 – 9,09]	3 (16%)	1 (5%)
Hématocrite [35 – 50] (en %)	27	38 [25 – 61]	7 (26%)	1 (4%)
Hémoglobine [12,4 – 19,2] (en g/L)	25	13,6 [8,3 – 24,2]	6 (44%)	1 (4%)
GB [5,6 – 20,4] (en nombre GB*10 ³ /μL)	25	16,5 [5,8 – 32,7]	0	6 (24%)
Lymphocytes [1,1 – 5,3] (en nombre cellules*10 ³ /μL)	19	1,57 [0,46 – 3,28]	5 (26%)	0
GNN [2,9 – 13,6] (en nombre GNN*10 ³ /μL)	22	14,58 [3,84 – 27]	0	13 (59%)
GNE [0,1 – 3,1] (en nombre GNE*10 ³ /μL)	19	0,09 [0 – 1,83]	6 (32%)	0
GNB [0 – 0.14] (en nombre GNB*10 ³ /μL)	17	0 [0 – 0,1]	0	0
Monocytes [0,4 – 1,6] (en nombre cellules*10 ³ /μL)	18	1,41 [0,29 – 2,62]	2 (11%)	9 (50%)
PLQ [108 – 562] (en nombre PLQ*10 ³ /μL)	23	234 [10 – 532]	3 (13%)	0

Tableau 9 : Résultats de l'analyse hématologique des patients de l'étude

<u>Légende</u>	
GR : globule rouge	GNE : granulocyte éosinophile
GB : globule blanc	GNB : granulocyte basophile
GNN : granulocyte neutrophile	PLQ : plaquette

c) Temps de coagulation

Les mesures des temps de Quick (TQ) et de céphaline activée (TCA) ont été renseignées dans le tableau 10.

Temps de coagulation	n	Médiane [min-max]	ni < IR (%)	nj > IR (%)
TCA [12,8 – 17,3] (en s)	14	18,5 [13,5 – 91]	0	10 (71%)
TQ [7,1 – 9] (en s)	13	9,45 [7,5 – 13]	0	7 (54%)

Tableau 10 : Mesures des temps de coagulation

2. Analyses d'urines

a) Bandelette urinaire

(i) Hématurie

L'échelle utilisée sur la bandelette urinaire s'étend de « 0 » à « 4+ ». L'ensemble de la population d'étude (29 cas) a bénéficié d'un examen urinaire par bandelette. Sur les 29, 65% des cas souffraient d'hématurie. Dans le diagramme suivant (figure 28), les différentes catégories présentes sur la bandelette urinaire sont en abscisse et le nombre de patients en ordonnée.

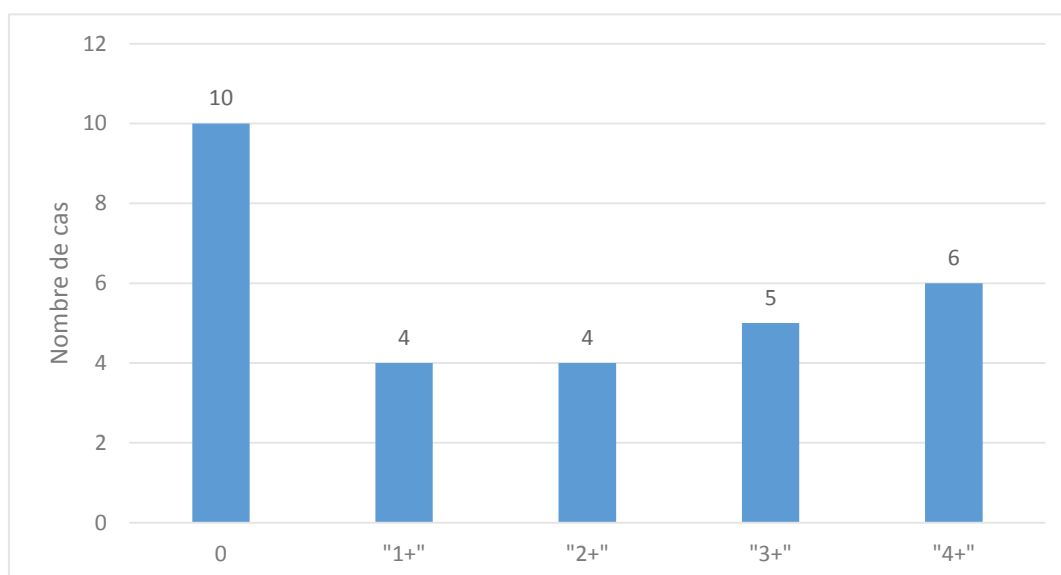


Figure 28: Analyse de la plage "hématies" de la bandelette urinaire

(ii) Protéinurie

Parmi les sujets de l'étude, 25 chiens (76%) souffraient de protéinurie (figure 29).

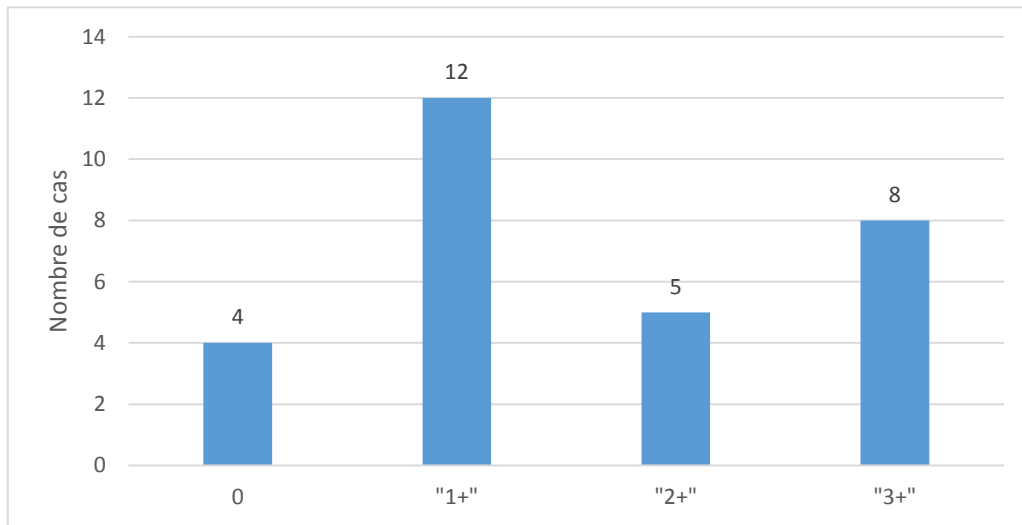


Figure 29 : Analyse de la plage "protéines" de la bandelette urinaire

Le seuil de détection de la bandelette urinaire est de 5 à 20mg/dL de protéines. Une protéinurie sévère (plages « 2+ » et « 3+ » de la bandelette urinaire) est supérieure ou égale à 100mg/dL. La bandelette urinaire mesure la protéinurie de manière semi-quantitative. Sa sensibilité vis-à-vis de la protéinurie est de 70 à 95% et sa spécificité varie de 50 à 98% (Zatelli et al. 2010).

(iii) Glycosurie

Au total, 14 patients soit 46% de la population d'étude étaient glycosuriques (figure 30).

La glycosurie est à interpréter en fonction de la glycémie du patient car une glycémie supérieure à 1,8g/dL chez le chien provoque une glycosurie par saturation des co-transporteurs sodium/glucose et des perméases du glucose. Au sein de notre population d'étude, parmi les quatorze sujets présentant une glycosurie, huit chiens (57%) étaient euglycémiques et deux chiens (14%) étaient hyperglycémiques. La glycémie n'avait pas été demandée pour quatre patients (29%). Ainsi, pour au moins huit chiens (plus de la moitié des patients glycosuriques), la glycosurie n'avait pas l'hyperglycémie pour origine.

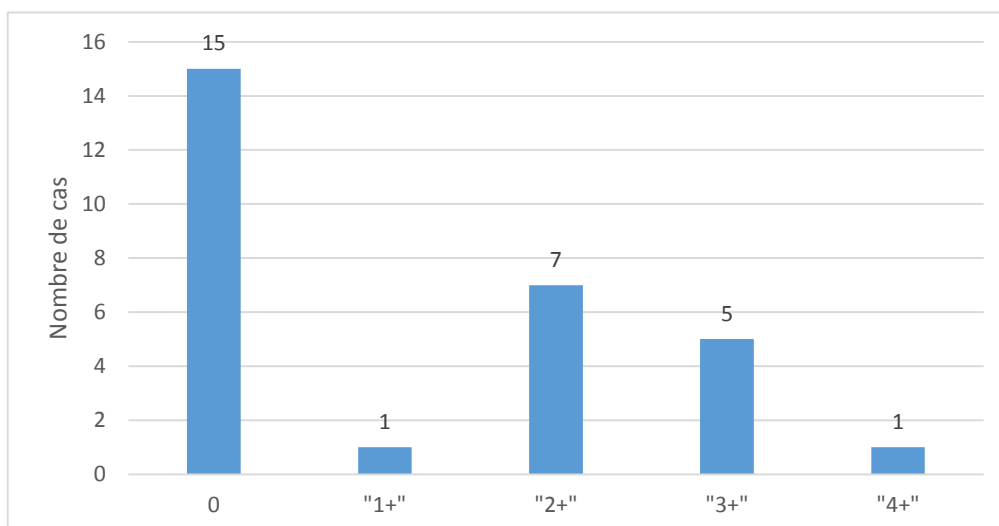


Figure 30 : Analyse de la plage "glucose" de la bandelette urinaire

(iv) Bilirubinurie

Deux chiens (7%) avaient « 1+ » de bilirubine, trois chiens (10%) avaient « 2+ » de bilirubine et trois chiens (10%) avaient « 3+ » de bilirubinurie. Vingt-et-un patients (73%) présentaient une plage « bilirubine » normale.

(v) Leucocyturie

Un chien avait « 1+ » de leucocytes et quatre (14%) avaient « 2+ » de leucocyturie. Quatre-vingt-quatre cas (84%) ne présentaient pas de leucocytes dans les urines.

(vi) Corps cétoniques

Un seul patient a eu une bandelette urinaire avec « + » de corps cétoniques.

(vii) PH

Vingt-six mesures de pH ont été prises (figure 31 et tableau 11). Trente-et-un pourcents des individus avaient des urines considérées comme « acides » ($\text{pH} < 5,5$) et 19% avaient des urines dites « basiques » ($\text{pH} > 7$). Cinquante pourcents des patients avaient un pH urinaire situé compris entre 5,5 et 7.

Paramètre	Médiane	Valeur minimale	Valeur maximale
pH (en unité pH)	6	4	8

Tableau 11 : Valeurs de pH urinaire

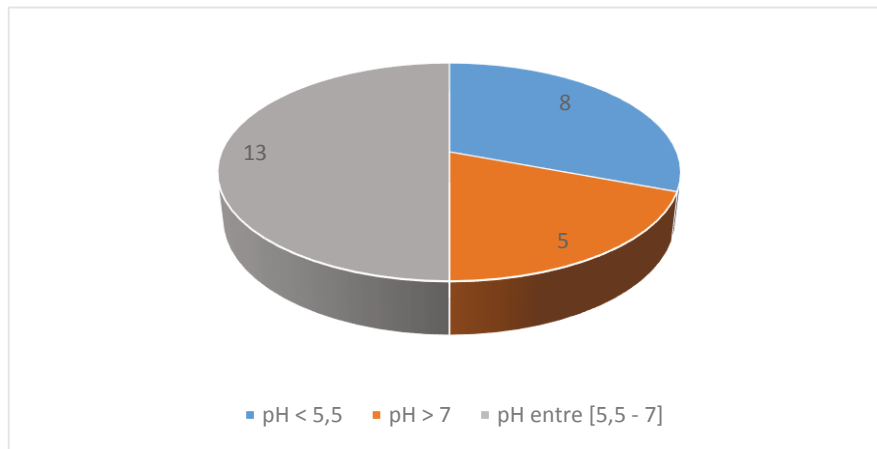


Figure 31 : Analyse de la plage pH de la bandelette urinaire

b) Densité urinaire

Quatre-vingt-treize pourcents des sujets avaient une DU inférieure à 1,030 et 7% étaient hypersthénuriques (DU > 1,030). Parmi les cas présentant une DU inférieure à 1,030, 33% étaient isosthénuriques avec une DU égale à la densité du plasma (comprise en 1,008 et 1,012) et 11% étaient hyposthénuriques (DU < 1,008) (figure 32 et tableau 12).

Paramètre	Médiane	Valeur minimale	Valeur maximale
Densité urinaire	1,014	1,006	1,050

Tableau 12: Valeurs de densité urinaire

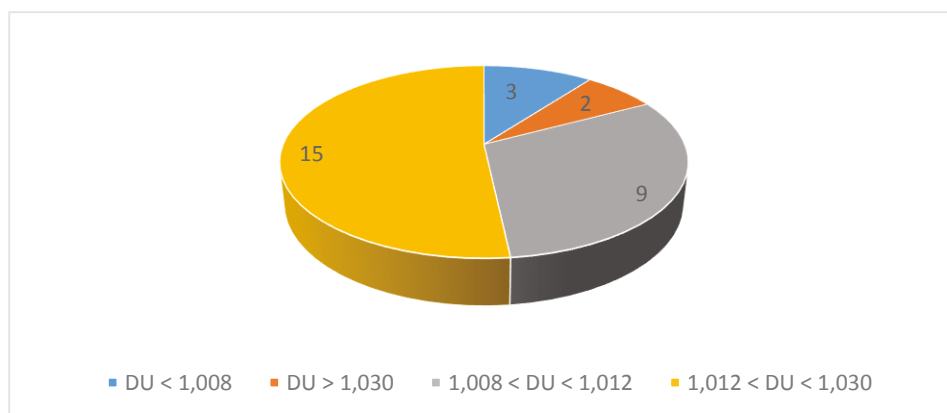


Figure 32 : Résultats analyse densité urinaire au réfractomètre

c) Rapport protéines-sur-créatinine urinaires

Le RPCU est la seule méthode quantitative de la protéinurie chez le chien. Six RPCU ont été déterminés dans cette étude. Un seul résultat était considéré comme physiologique (RPCU < 0,2). Quatre mesures étaient anormales, c'est-à-dire supérieures à 0,5. Trois mesures étaient supérieures à 2 (en faveur de lésions glomérulaires). Une mesure était comprise entre 0,5 et 2 et caractérisait des lésions tubulaires et/ou glomérulaires. Une mesure était douteuse car comprise entre 0,2 et 0,5.

d) Examen cyto-bactériologique des urines

Vingt-quatre analyses de culot urinaire ont été faites et recensées dans Clovis®. Parmi ces 24 analyses, 18 (75%) étaient anormales. Six patients (33%) présentaient des érythrocytes, quatre (22%) des leucocytes (surtout des granulocytes neutrophiles), huit (44%) des cylindres et sept (39%) des débris de cellules épithéliales dans leurs urines.

F. Examens d'imagerie

1. Echographie

Vingt-six patients ont bénéficié d'un examen échographique par un clinicien de l'ENVT. Vingt-quatre échographies (92%) étaient anormales. Huit cas (31%) avaient des modifications rénales à l'échographie. Trois sujets (37%) présentaient bilatéralement des corticales rénales hyperéchogènes (figure 33). Trois patients (37%) présentaient une néphromégalie. Un patient présentait une perte de délimitation cortico-médullaire avec amincissement médullaire, un chien présentait un épanchement péri-rénal (figure 34) et un autre une diminution de contraste rénal.

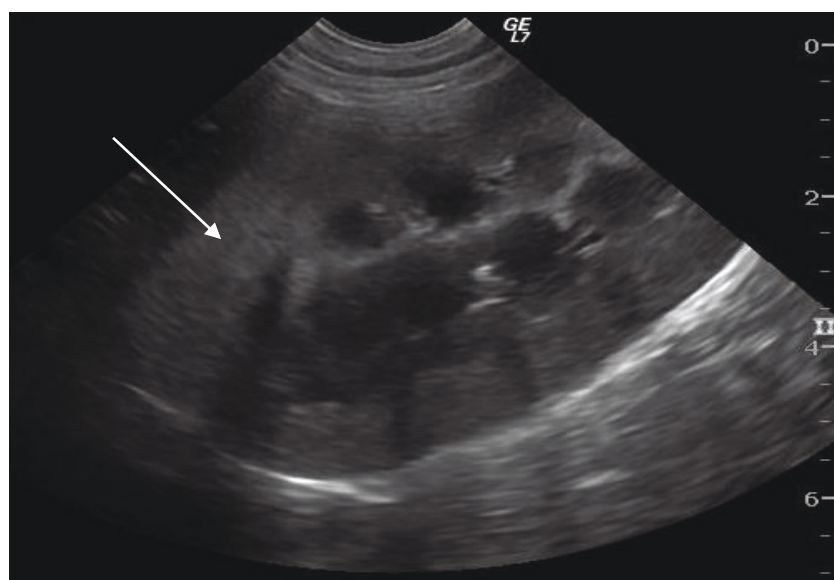


Figure 33 : Echographie abdominale : Cortex rénal hyperéchogène
Crédit photographique Service Imagerie ENVT

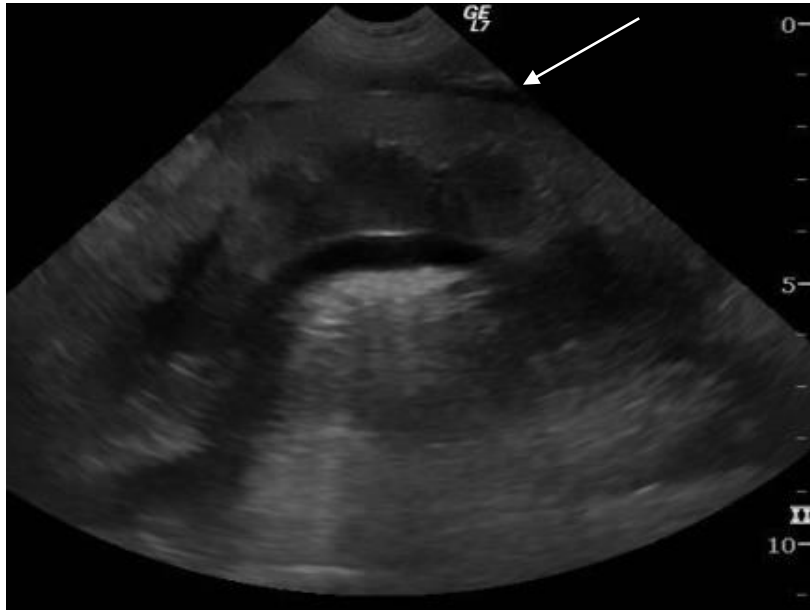


Figure 34 : Echographie abdominale : Léger épanchement péri-rénal
Crédit photographique Service Imagerie ENVT

Des changements hépatiques et/ou biliaires ont pu être observés chez douze patients (soit 46% des chiens). Cinq patients (42%) présentaient un arrondissement des contours hépatiques et neuf (75%) un changement d'aspect du parenchyme hépatique (figures 35 et 36). Un seul patient souffrait à la fois de changements rénaux et hépatique.

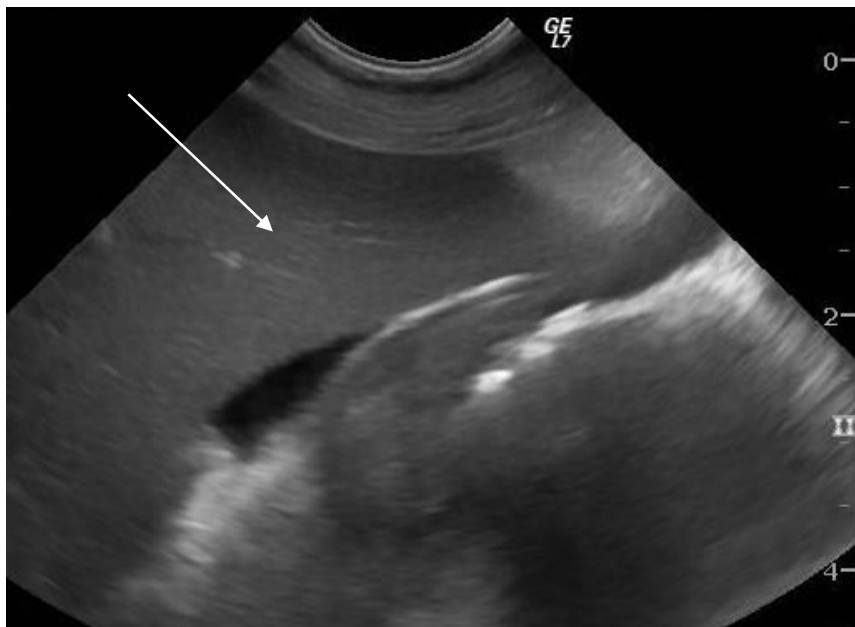


Figure 35 : Echographie abdominale : Parenchyme hépatique hyperéchogène
Crédit photographique Service Imagerie ENVT

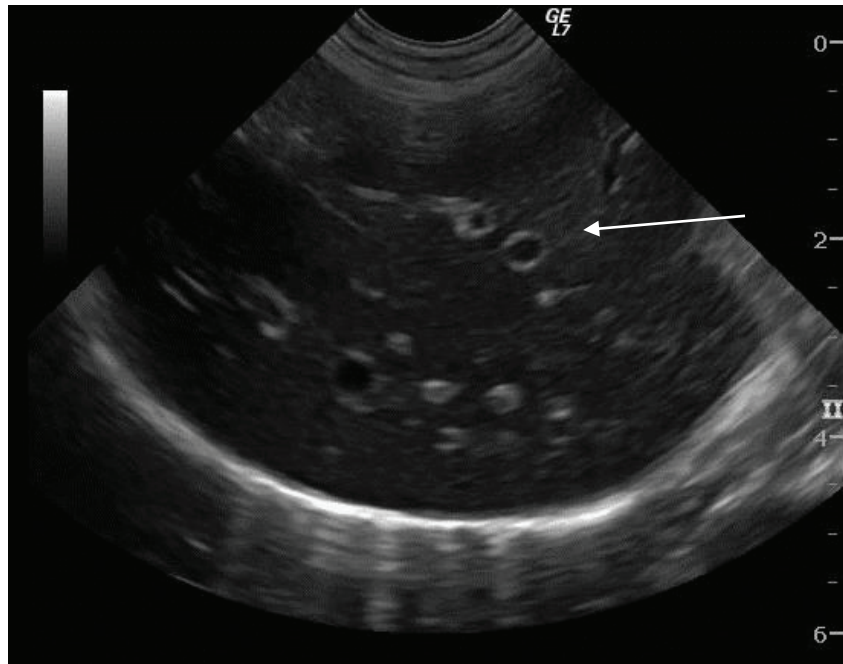


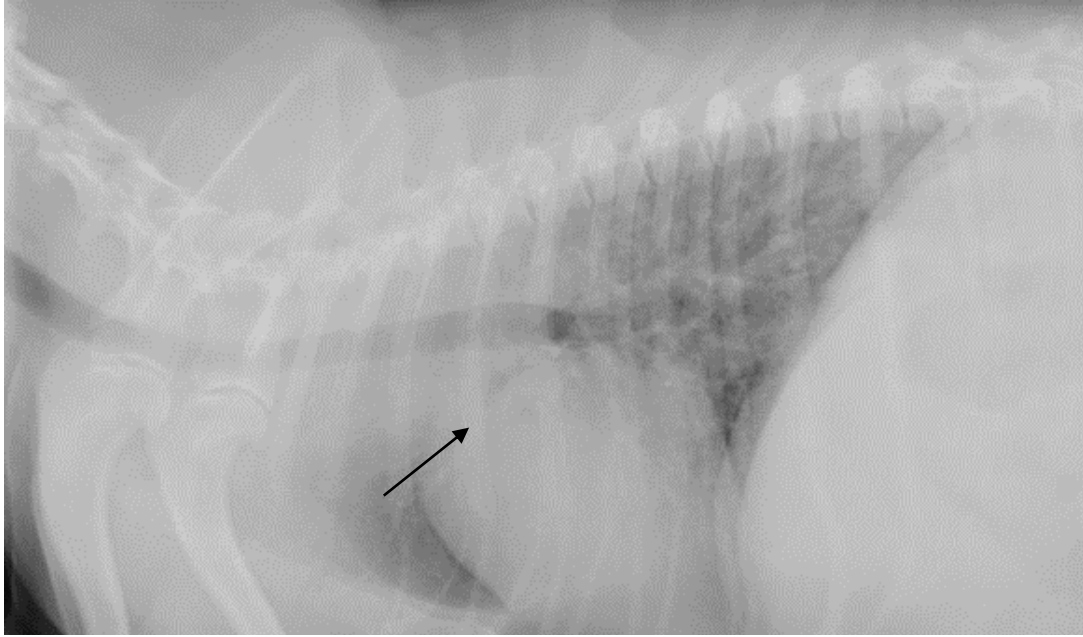
Figure 36 : Echographie abdominale : Parenchyme hépatique hypoéchogène
Crédit photographique Service Imagerie ENVT

Sept patients présentaient des signes d'épanchement abdominal.

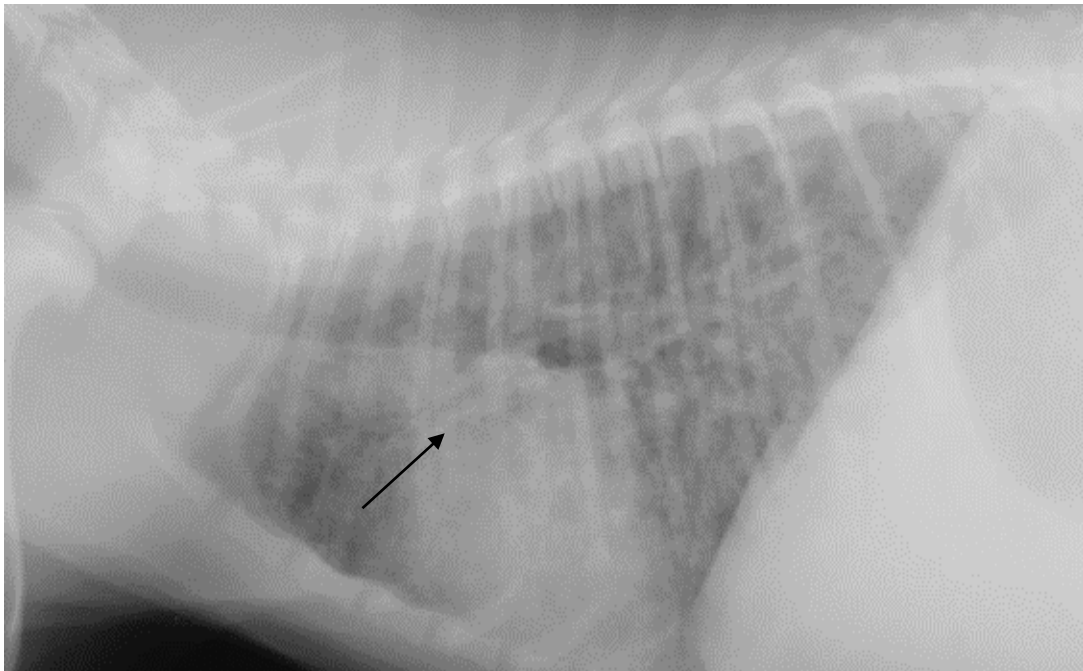
D'autres anomalies ont pu être observées à l'échographie telle qu'une splénomégalie (cas n°20), une hypertrophie prostatique (cas n°22) et une rate d'échogénicité hétérogène (cas n°28).

2. Radiographie

Onze chiens ont subi des radiographies thoraciques. Parmi ces cas, neuf (82%) présentaient des anomalies. Trois patients présentaient des images alvéolaires (figure 37), cinq patients avaient un pattern-broncho-interstitiel (figure 38) et un seul patient avait une adénomégalie trachéo-bronchique



*Figure 37 : Radiographie thoracique :
Pattern alvéolaire
Crédit photographique Service Imagerie ENVT*



*Figure 38 : Radiographie thoracique :
Pattern interstitiel
Crédit photographique Service Imagerie ENVT*

G. Analyses cytologiques et histologiques

Douze analyses cytologiques et/ou histologiques ont été effectuées.

1. Analyse cytologique

Six épanchements abdominaux ont été analysés : tous étaient cohérents avec un transsudat (pur ou modifié). Cinq cytoponctions à l'aiguille fine (CPAF) de foie ont été effectuées. Parmi les foies prélevés, un était cholestatique, quatre étaient infiltrés par des cellules inflammatoires (neutrophiliques, éosinophiliques ou granulomateuses), deux étaient surchargés en pigments et un en glycogène.

2. Analyse histologique

Une analyse histologique a été faite à partir d'une pièce d'exérèse chirurgicale de foie du patient n°6 (figure 38) et l'autre un prélèvement nécropsique de rein du patient n°10. L'examen post-mortem a révélé une néphrite tubulo-interstitielle aigüe à subaigüe bilatérale diffuse marquée associée à des lésions dégénératives. Des infarcti rénaux aigus à subaigus et une thrombose fibrineuse multi-organique ont été objectivés et seraient compatibles avec une coagulation intravasculaire disséminée terminale. Enfin des lésions congestivo-hémorragiques, pulmonaires et hépatiques, aigües marquées étaient également présentes. La pièce d'exérèse chirurgicale était compatible avec une hépatite nécrosante subaigüe diffuse marquée avec une cholestase macrophagique hépatocytaire marquée.

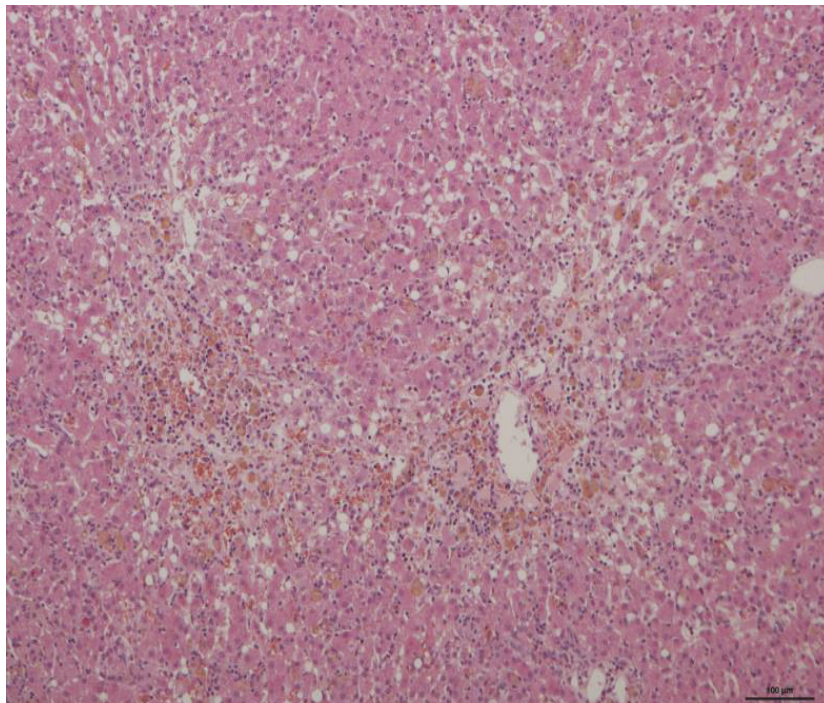


Figure 38 : Lame histologique de foie : hépatite nécrosante diffuse marquée
Crédit photographique Service d'Anatomie Pathologique ENVT

H. Examen nécropsique

Au total, sept patients sont décédés durant leur prise en charge à l'ENVT. Un seul examen nécropsique a été effectué (patient n°10). L'autopsie rapportait une congestion passive généralisée et un œdème pulmonaire compatible avec une urémie aigüe.

I. Evolution et suivi

a) Evolution à court terme

Parmi les 29 patients présentés à l'ENVT, 22 (76%) sont repartis à la maison après leur sortie des hôpitaux de médecine. Sept chiens (24%) sont décédés à l'ENVT : deux (7%) ont été euthanasiés et cinq (17%) sont morts des conséquences supposées d'hémorragie pulmonaire ou d'insuffisance rénale aigüe.

b) Evolution à moyen et/ou long terme

Sur les 22 patients encore en vie à leur sortie des hôpitaux de l'ENVT, 18 (82%) ont bénéficié d'examens sanguins une semaine après leur sortie. Parmi ces patients analysés (figure 39), deux individus (11%) avaient des valeurs qui étaient revenues dans les intervalles de référence des analytes dosés. Seize sujets (89%) présentaient des analytes augmentés encore une semaine après leur sortie.

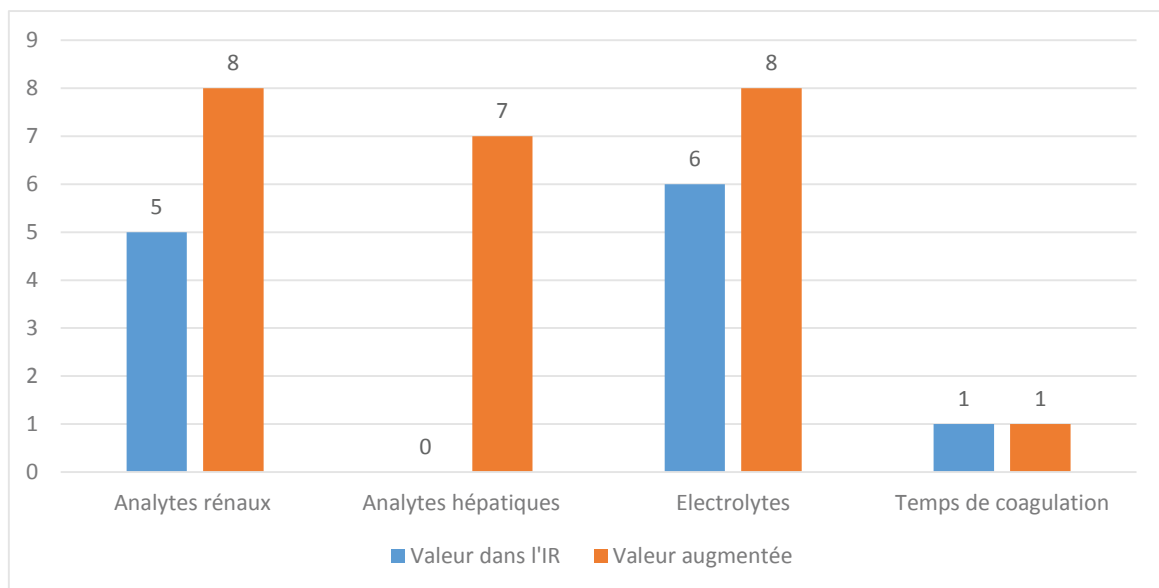


Figure 39 : Modifications des analyses sanguines une semaine après sortie du CHUVAC de l'ENVT

Pour chaque analyte ou temps de coagulation considéré, le nombre de patients dans l'intervalle de référence (en bleu) ou en-dehors de cet intervalle (en orange) a été renseigné.

Ainsi 38% des analytes rénaux (urée et/ou créatinine) étaient revenus dans l'intervalle de référence contre 62% qui étaient toujours augmentés une semaine après la fin de l'hospitalisation. Tous les analytes hépatiques considérés (PAL, ALAT et/ou bilirubine totale) conservaient une valeur augmentée. Les trois quart des ions dosés (sodium et potassium) étaient revenus dans l'intervalle de référence. Ces valeurs augmentées peuvent résulter de la dégénérescence et fibrose rénale et hépatique suite à leur épisode aigu de leptospirose. Concernant les temps de coagulation (TQ, TCA), seulement deux dosages ont été effectués. L'un était dans l'intervalle de référence et l'autre présentait toujours des temps allongés.

Un mois après la sortie des hôpitaux, neuf patients ont bénéficié d'analyses de sang. Les analytes hépatiques ont été évalués chez trois patients (cas n°1, n°6 et n°25) : tous présentaient des valeurs augmentées. Cinq sujets ont bénéficié d'une analyse des paramètres rénaux (cas n° 13, n°15, n°20, n°24) : un dosage était dans l'intervalle de référence et quatre patients présentaient des valeurs augmentées. Un patient (n°14) a bénéficié à la fois de dosages d'analytes hépatiques et rénaux : toutes les valeurs restaient augmentées.

Afin d'avoir un suivi des patients de cette étude et de déterminer si certains souffraient d'éventuels troubles rénaux ou hépatiques chroniques, des nouvelles des 22 patients repartis des hôpitaux ont été prises en mars 2016. Parmi les 18 patients dont nous avons eu des nouvelles, 44% sont actuellement en bonne santé. Un patient a été euthanasié (cas n°5) pour une raison non liée à sa leptospirose (arthrose sévère). Cinquante-cinq pourcents des sujets (soit 12 cas) ont présenté des séquelles de leur épisode de leptospirose. Quatre-vingt pourcents des individus avec séquelles chroniques présentaient des troubles rénaux. Cinq patients ont présenté une maladie rénale chronique (cas n° 3, n°13, n°15, n°19 et n°24). Trois patients (cas n°12, n°22 et n°29) ont présenté un épisode aigu ultérieurement (respectivement 15 jours, un mois et 4 ans après leur sortie des hôpitaux). La moitié des sujets avec des séquelles rénales sont décédés de ces supposées conséquences rénales de leur épisode aigu de leptospirose. Vingt pourcents des sujets avec des conséquences chroniques présentaient des séquelles à la fois hépatiques et rénales, aucun n'est mort des supposées conséquences d'hépatite chronique.

J. Résultats statistiques

1. Corrélation sérovar – hypercréatinémie

Seuls les sérovars infectant au moins cinq patients (soit *Australis*, *Bratislava* et *Munche*n) ont été testés. Les résultats des coefficients de corrélation de Spearman sont renseignés dans le tableau 13.

Sérovar	Coefficient de corrélation de Spearman
Aus	-0,0391
Brat	0,2875
Mun	0,2875

Tableau 13 : Corrélation entre sérovar et IRA

Selon la table de corrélation entre le coefficient de corrélation de Spearman et la significativité (p-value), aucun coefficient ne fournit une p-value inférieure à 0,05. Ainsi, aucune corrélation significative entre un sérovar et l'hypercréatinémie n'a pu être mise en évidence.

2. Facteurs pronostiques de mortalité

a) Etude de la significativité

Parmi les facteurs pronostiques testés, cinq étaient associés à la mortalité :

- Quatre facteurs quantitatifs : la kaliémie, l'albuminémie, la protidémie et le comptage plaquettaire
- Un facteur qualitatif : la présence d'une glycosurie

Les p-values des facteurs pronostiques corrélés à la mortalité sont consignées dans le tableau 14. Nous avons considéré la corrélation significative pour une p-value inférieure à 0,05 (variables univariées).

Variable testée	P-value
Kaliémie	0,019
Albuminémie	0,041
Protidémie	0,019
Comptage plaquettaire	0,047
Présence de glycosurie	0,047

Tableau 14: Facteurs corrélés à la mortalité

La kaliémie, l'albuminémie, la protidémie et le comptage plaquettaire ont été transformés en variables qualitatives afin d'évaluer l'effet de l'hyperkaliémie, de l'hypoalbuminémie, de l'hyperprotidémie et de la thrombocytopenie sur la mortalité.

Un effet significatif persiste pour l'hyperkaliémie (p-value = 0,024) et l'hypoalbuminémie (p-value = 0,05). La thrombocytopenie (p-value = 0,07) ne présentait pas de corrélation significative (p-value > 0,05). Concernant l'hyperprotidémie, le logiciel n'a pas été capable de calculer la p-value (p-overall = 0,06).

b) Odds ratios et risques relatifs

Les odds ratios (OR) et risques relatifs (RR) de décéder ont été calculés pour l'hyperkaliémie, l'hypoalbuminémie et la glycosurie. Les résultats sont renseignés dans le tableau 15.

Variable testée	OR	IC95% [OR]	RR	P-value
Hyperkaliémie	95	[5 – 1800]	17	0,0024
Hypoalbuminémie	8,5	[0,97 – 74,4]	4,75	0,05
Glycosurie	10,5	[1,06 – 103,5]	6,43	0,044

Tableau 15 : Résultats des calculs d'odds ratios et risques relatifs

IV. Discussion

A. Etude d'éventuels biais et erreurs

1. Biais de sélection

Un biais de sélection se produit lors de l'inclusion d'un individu dans une étude. Une étude rétrospective telle que celle-ci est particulièrement exposée à ce type de biais.

a) Biais d'échantillonnage

Il est possible de passer à côté de cas non référés à l'ENVV.

Les clients se présentant directement en CHUV peuvent être plus motivés financièrement que les clients se présentant en clinique ou cabinet vétérinaire ou pourraient consulter un vétérinaire plus tôt dans le développement de la maladie de leur animal sans attendre que les signes cliniques soient alarmants. De plus, la grande majorité des sujets de cette étude vivent en ville ou en banlieue toulousaine. Ainsi il est possible que ce type de clients remarque, avec des chiens vivant partiellement ou totalement à l'intérieur, plus rapidement lorsque leur animal est malade et que la prise en charge des patients directement présentés à l'ENVV soit plus précoce que dans une clinique ou un cabinet vétérinaire. Au contraire, près de la moitié des patients étant référés par un vétérinaire généraliste, il est possible que les patients présentés à l'ENVV soient plus gravement atteints.

Les cas inclus sont aussi ceux dont les propriétaires ont voulu que leur animal soit pris en charge. Dans certains cas où la forme clinique est particulièrement sévère ou que la prise en charge est tardive les propriétaires ont pu décider d'euthanasier leur chien sans qu'un examen diagnostique n'ait été demandé. Si un patient est décédé précocement des suites de sa leptospirose avant diagnostic il s'agit alors d'un biais par survie sélective. Le biais par survie sélective pourrait expliquer pourquoi nous n'avons aucune forme suraiguë parmi nos patients d'étude.

Enfin la taille de notre échantillon (29 cas) pourrait éventuellement constituer un biais. Notre échantillon n'est potentiellement pas assez large pour être représentatif de la population canine atteinte de leptospirose dans le bassin toulousain.

b) Biais de recrutement

Un biais de recrutement pourrait être présent. La sélection des sujets de l'étude a peut-être été effectuée de manière trop ou pas assez agressive. Dans notre étude, les patients sélectionnés sur base sérologique étaient vaccinés depuis plus de trois mois et/ou avaient un titre en anticorps supérieur ou égal à 1/800 conformément à la littérature (Claudia Kummerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013). Peut-être que certains de nos patients vaccinés plus de trois mois avant la présentation avaient des titres en anticorps supérieurs ou égal à 1/800 dus à leur vaccination et non à la leptospirose malgré les données publiées. En effet, dans l'étude de Martin, à quinze semaines post-vaccination, 3% des 32 chiens de sa population d'étude

avaient des titres supérieurs à 1/800 (L. E. R. Martin et al. 2014). D'autre part, à titre d'exemple, le patient n°6 a été inclus dans l'étude car il présentait un titre en anticorps de 1/2560 pour le sérovar *Canicola* et une présentation clinique avec des signes généraux peu spécifiques compatibles avec la leptospirose. Ce chien a été vacciné contre la leptospirose un mois et demi avant sa présentation à l'ENVT. Une étude de séroconversion a été réalisée trois semaines après son premier MAT. Il s'est avéré que le titre en anticorps avait diminué de moitié. Or d'après Martin et ses collaborateurs, le sérovar *Canicola* est capable d'engendrer des titres en anticorps jusqu'à 1/6400 quelques semaines après vaccination (L. E. R. Martin et al. 2014). Ainsi, une diminution aussi importante du titre en anticorps pourrait être révélatrice d'une réaction vaccinale. Cette hypothèse est renforcée par le fait que le sérovar mis en évidence est un sérovar vaccinal.

Au contraire nous pourrions avoir sélectionné des cas de manière trop agressive. Par exemple, les patients vaccinés ou de statut vaccinal inconnu devaient présenter un MAT positif pour une dilution supérieure ou égale à 800. Or pour cette dilution, la sensibilité diagnostique du MAT est de 50%. C'est-à-dire que 50% des chiens ne sont pas diagnostiqués comme étant atteints de leptospirose alors qu'ils le sont. Si nous avions pris un seuil de 400 au lieu de 800, la sensibilité aurait été meilleure (Se = 60% à 1/400) (Claudia Kummerle Fraune, Schweighauser, and Francey 2013).

2. Biais d'information et d'observation

Il s'agit d'erreurs systématiques dans la collecte des informations.

a) Biais de rappel

Le biais de rappel se produit dans des études rétrospectives comme celle-ci lorsque le propriétaire a des souvenirs modifiés secondaires à ses connaissances ou à ce qu'un premier vétérinaire a pu lui dire. En effet, parmi les 29 cas inclus, la moitié était présentée pour un second avis. Dans le cas présent, par exemple, lors d'une présentation fortement évocatrice de la leptospirose avec hyperthermie et oligurie chez un chien non vacciné, il est possible que les propriétaires se rappellent mieux des signes urinaires car beaucoup de questions autour de ces signes leurs ont été posées lors de la prise d'anamnèse (par un étudiant puis un interne puis un chargé de consultation ou un résident voire par un clinicien). Ainsi l'association « oligurie - leptospirose » pourrait présenter un odd ratio augmenté. Par ailleurs en présence d'une clinique évocatrice d'une leptospirose il est possible que l'étudiant, l'interne et le chargé de consultation aient minimisé les questions portant sur d'autres signes moins courants dans l'anamnèse (comme une augmentation de la fréquence respiratoire au repos à la maison par exemple). Ce type d'erreur est particulièrement présent au service des Urgences et Soins Intensifs où le nombre de patients pris en charge et la gravité de certains cas peut contraindre les étudiants à effectuer un questionnaire d'anamnèse orienté et non exhaustif.

b) Biais d'évaluation ou biais par suspicion diagnostique

La connaissance préalable de la leptospirose pourrait avoir entraîné une surinterprétation des résultats de la part des auteurs. Afin de minimiser ce biais il aurait fallu que l'évaluateur rédige la partie bibliographique après avoir réalisé le recueil et l'analyse des données.

c) Analyse du biais d'information ou d'observation

Ce biais a été limité par le superviseur de l'étude qui n'a pas initialement dévoilé les objectifs de l'étude à l'évaluateur. De plus, l'auteur a évalué les différents sujets de manière standardisée.

3. Erreurs aléatoires

Les erreurs aléatoires ont une distribution exclusivement attribuable au hasard. Les résultats sont alors moins précis et biaisés vers l'hypothèse nulle.

Ces erreurs peuvent être dues à un instrument défectueux comme les thermomètres, la machine Doppler® pour la mesure de pression artérielle et les stéthoscopes utilisés par les étudiants et le personnel hospitalier. Il se peut aussi que les propriétaires ne répondent pas correctement aux questions portant sur l'anamnèse. Les étudiants peuvent avoir recensé des données erronées dans Clovis® et l'évaluateur a pu retranscrire des données comportant des erreurs dans le fichier Excel® regroupant toutes les données relatives à l'étude. Enfin, les chiens constituant la population d'étude ne représentent pas tous les cas de leptospirose canine pris en charge à l'ENVT car tous les cas de leptospirose ne sont pas recensés sur Clovis®. Si un patient n'est pas identifié par des mots clefs tels que « leptospirose » il ne sera pas enregistré ni rattaché au moteur de recherche du logiciel.

Afin de limiter ce type d'erreur, il aurait fallu qu'un seul type de chaque instrument soit utilisé et que les instruments soient vérifiés régulièrement sur des animaux sains. Il aurait aussi fallu que le travail de recensement des données ait été vérifié par une tierce personne étrangère à l'étude.

4. Potentiels facteurs de risque

Certaines variables telles que la kaliémie (en particulier l'hyperkaliémie), la glycosurie et l'albuminémie (en particulier l'hypoalbuminémie) ont une influence sur la mortalité. D'autres variables comme l'urémie (p-value = 0,16) et la natrémie (p-value = 0,15) présentaient une p-value relativement proche de la valeur seuil de 0,05. Il est possible que ces dernières aient eu une influence si elles avaient été testées sur une population d'étude plus importante. D'autre part, aucun sérovar ne semble influencer le pronostic ni prédisposer à une insuffisance rénale aiguë. Etant donné le faible nombre de cas infectés par chaque sérovar (maximum neuf patients infectés par un même sérovar), il serait pertinent de réaliser d'autres études de corrélation sérovar-présentation clinique avec une population d'étude plus importante.

B. Epidémiologie et commémoratifs

Les résultats concernant les précipitations, la surreprésentation des mois d'avril, juin et octobre sont en accord avec les études de Lee et Major (H. S. Lee, Guptill, et al. 2014; Major, Schweighauser, and Francey 2014b). Néanmoins le CHUVAC de l'ENVT étant fermé de fin juillet à fin août et deux semaines au moment des congés de Noël, il est possible que la fréquence estivale et hivernale soit sous-estimée.

Le fait que la quasi-totalité des sujets semble issue de zones périurbaines ou urbaines est aussi cohérent avec la littérature (Adin and Cowgill 2000b). Les zones d'urbanisation récente seraient particulièrement représentées du fait du contact entre la faune sauvage initialement résidente et la population canine nouvellement installée.

D'après les résultats, les races Yorkshire Terrier et Labrador semblent surreprésentées. Parmi les chiens présentés à l'ENVT dans les services de Médecine Interne, de Médecine Générale et aux Urgences, les Labradors étaient les plus nombreux : soit 6,8% de la population totale prise en charge dans ces services. Les Yorkshire terriers étaient les plus représentés après les Labradors : 4,6% de la population totale. Ainsi, il est difficile d'affirmer une quelconque prédisposition raciale vis-à-vis de la leptospirose.

Les résultats relatifs à l'âge, au sexe et au statut sexuel sont concordants avec ceux de la littérature (Ward, Glickman, and Guptill 2002b).

L'importante proportion de chien atteints vaccinés peut s'expliquer par une protection hétérologue incomplète entre les différents sérogroupes de leptospires (Sonrier et al. 2000b). De plus il semblerait que certains sérovares (*Canicola* et *Icterohaemorrhagiae*) puissent adapter leurs propriétés antigéniques et échapper au système immunitaire malgré la vaccination (André-Fontaine 2010). Dans cette étude, seul un chien (cas n°6) a eu une sérologie positive pour un séro groupe vaccinal.

C. Modifications cliniques et analyses de laboratoire différant de la littérature

Près des trois quart des sujets de l'étude souffraient de symptômes digestifs. Les trois quart des chiens avec des troubles digestifs vomissaient et un tiers avait de la diarrhée ou des selles de consistance ramollie. Hormis dans l'étude de Hazart dont 81% des sujets vomissaient et 30% présentaient de la diarrhée, une telle proportion de chiens présentant des troubles digestifs n'a pas été rapportée, à la connaissance des auteurs, dans la littérature (Hazart 2008).

Environ la moitié de la population d'étude avait des symptômes urinaires de type oligurie ou PuPd (polyuro-polydypsie). Près d'un chien sur cinq était oligurique dont un anurique et un chien sur quatre était en PuPd. Ces résultats ne coïncident pas avec ceux de Major et de ses collaborateurs. Parmi sa population d'étude, 99,7% des chiens présentaient des signes d'atteinte rénale (Major, Schweighauser, and Francey 2014b). Il convient d'interroger de manière précise les propriétaires concernant d'éventuels troubles dyspiques ou urinaires car ces signes peuvent être discrets ou minimisés par les propriétaires si d'autres troubles plus « impressionnants » pour eux sont présents (par exemple un ictère ou des troubles hémorragiques).

Les symptômes peu spécifiques et la multiplicité des présentations cliniques rendent le diagnostic clinique de la leptospirose difficile. Néanmoins la leptospirose doit faire partie du diagnostic différentiel des hypothèses diagnostiques en présence d'oligurie ou d'ictère.

Parmi les analyses biochimiques, deux patients étaient hyperglycémiques (cas n°16 et n°19). A la connaissance des auteurs, l'hyperglycémie est peu répandue chez les patients canins atteints de leptospirose. En revanche des cas humains d'hyperglycémie associée à la leptospirose ont été publiés récemment au Brésil et en Bulgarie. Dans ces deux études l'hyperglycémie résultait d'une pancréatite aiguë (Spichler et al. 2007; Atanasova 2015). Parmi les sujets hyperglycémiques, le cas n°19 a bénéficié d'un SNAP® cPL qui s'est avéré négatif. L'unique patient présentant un SNAP® cPL positif (cas n°23) ne présentait quant à lui pas d'hyperglycémie associée. L'hyperglycémie pourrait aussi résulter du stress organique et de la réponse inflammatoire en réponse à au phénomène de sepsis provoqué par les leptospires.

D'après les résultats d'analyses hématologiques, un cas sur six était thrombocytopénique contrairement au consensus américain où 58% des cas présentaient une thrombopénie modérée à sévère. La thrombopénie associée à la leptospirose peut être due à des lésions endothéliales, à des hémorragies ou lors de CIVD. Par ailleurs, le laboratoire de Biologie Médicale de l'ENVT utilise un intervalle de référence dont la limite inférieure ($108 \times 10^3 \text{ PLQ}/\mu\text{L}$) est plus basse que la limite communément utilisée ($211 \times 10^3 \text{ PLQ}/\mu\text{L}$) et rapportée dans la littérature ("Hematologic Reference Ranges: Reference Guides: Merck Veterinary Manual" 2016).

Les analyses d'urines étaient, quant à elles, conformes aux données bibliographiques.

D. Examens mettant en évidence les leptospires

Au total, treize sérovars ont été mis en évidence par MAT. Les deux sérovars prépondérants sont *Munchen* et *Bratislava*, détectés chez respectivement un tiers des patients. Les sérovars vaccinaux (*Canicola* et *Icterohaemorrhagiae*) n'ont été détectés que chez un seul patient (cas n°6, sérovar *Canicola*). Ces observations sont en désaccord avec les données décrites sur le territoire français (André-Fontaine 2006) mais concordent avec certaines données étrangères récentes où des sérovars non-vaccinaux étaient prédominants (Adin and Cowgill 2000b; Ghneim et al. 2007b; Scanziani et al. 2002b). Cependant, le MAT étant peu fiable concernant la prédiction du sérovar et étant donné le faible nombre de cas infectés par un sérovar dominant (9 patients respectivement), ces résultats sont à interpréter avec précaution (Miller et al. 2011b; Barr et al. 2005b; L. E. R. Martin et al. 2014).

L'interprétation des résultats des examens de laboratoire doit se faire en parallèle de l'interprétation clinique. Tout traitement fait par un éventuel vétérinaire référant ou les propriétaires doit être rapporté. Par exemple, une PCR pourra être faussement négative si une antibiothérapie a été initiée. Savoir quand les symptômes ont débuté peut orienter le praticien dans le choix de sa méthode de diagnostic. De plus, connaître la date exacte du dernier rappel vaccinal contre la leptospirose est nécessaire afin d'interpréter les titres sérologiques du MAT.

Parmi les sept chiens ayant bénéficié d'une analyse PCR et sérologique, quatre avaient des résultats concordants. Les trois autres avaient une PCR négative et une sérologie positive. Les résultats peuvent être discordants pour plusieurs raisons. Un des patients non concordants avait été traité avec de la céfalexine par son vétérinaire traitant. Les deux autres patients ayant aussi été présentés à l'ENVT en seconde intention, il est possible que ces derniers aient aussi bénéficié d'un traitement antibiotique par un autre vétérinaire mais que le propriétaire l'ait ignoré ou ait oublié de le mentionner lors de sa présentation à l'ENVT. D'autre part la réalisation d'une PCR sur urines seules lors de la première semaine d'infection peut être négative car la colonisation rénale est encore incomplète. La leptospirurie étant intermittente, la PCR peut aussi être négative si les bactéries n'étaient pas excrétées (ou en quantité insuffisante) au moment du prélèvement d'urines.

La difficulté première dans le cadre du diagnostic de la leptospirose est de déterminer le stade de l'infection afin de pouvoir choisir quelle technique de laboratoire utiliser. Ceci est, en pratique, difficilement possible. Aucun MAT couplé n'a montré de séroconversion : la moitié des cas de l'étude étant référés, il est possible que les sérologies couplées aient été réalisées après que la séroconversion ait eu lieu. Pour le patient n°6, il est possible que l'étude de séroconversion soit révélatrice d'une réaction vaccinale. La moitié des résultats PCR et MAT seulement étant concordants, il est fortement recommandé d'avoir recours à ces deux techniques de laboratoire dans le diagnostic de la leptospirose canine afin de limiter les faux négatifs. Par ailleurs la mise en évidence de leptospires et/ou d'anticorps doit être interprétée conjointement avec la clinique du patient. En effet un sujet infecté par des leptospires ne sera pas qualifié d'atteint par la leptospirose s'il ne présente pas de signes cliniques.

Aucun des patients de cette étude n'a bénéficié d'un test ELISA (méthode immuno-enzymatique). L'avantage de cette technique est qu'elle permet éventuellement de différencier les chiens infectés de manière aiguë des porteurs chroniques ou des chiens vaccinés. Un

SNAP® test (le SNAP® Lepto test de IDEXX) a été élaboré et permet, de plus, d’être réalisé au chevet du patient (Winzelberb 2015). Ce test met en évidence les anticorps dirigés contre une protéine de la membrane externe des leptospires (la protéine LipL32). D’après une étude récente, Curtis et ses collaborateurs ont mis en évidence que la sensibilité de ce SNAP® ELISA serait de 83% et la spécificité de 82% vis-à-vis du diagnostic de la leptospirose (Curtis 2014). Néanmoins, d’autres études seraient nécessaires afin d’évaluer les performances diagnostiques de ce type de SNAP® ELISA en s’intéressant à la présentation clinique des patients évalués.

Ainsi, pour les patients présentés à l’ENVVT dans le cadre d’une suspicion clinique de leptospirose, nous recommandons une PCR sur sang et urines (non mélangés pour limiter les phénomènes de dilution) associée à un MAT simple. L’étude de séroconversion s’est avérée négative pour tous les patients pour laquelle elle a été demandée. Néanmoins, pour le patient n°6, le MAT couplé a permis de mettre en évidence une éventuelle réaction vaccinale. Concernant l’interprétation sérologique, à l’avenir nous considérerons comme atteint de leptospirose, les patients dont la présentation clinique est compatible avec la leptospirose et dont le titre en anticorps est supérieur à 1/3200 quelque soit leur statut vaccinal, les individus présentant un titre entre 1/3200 et 1/800 ayant été vaccinés depuis plus de trois mois ou non vaccinés et les individus présentant une séroconversion. Lors de la prise en charge d’un patient suspect de leptospirose, la démarche sérologique diagnostique conseillée est renseignée dans l’organigramme suivant (figure 40).

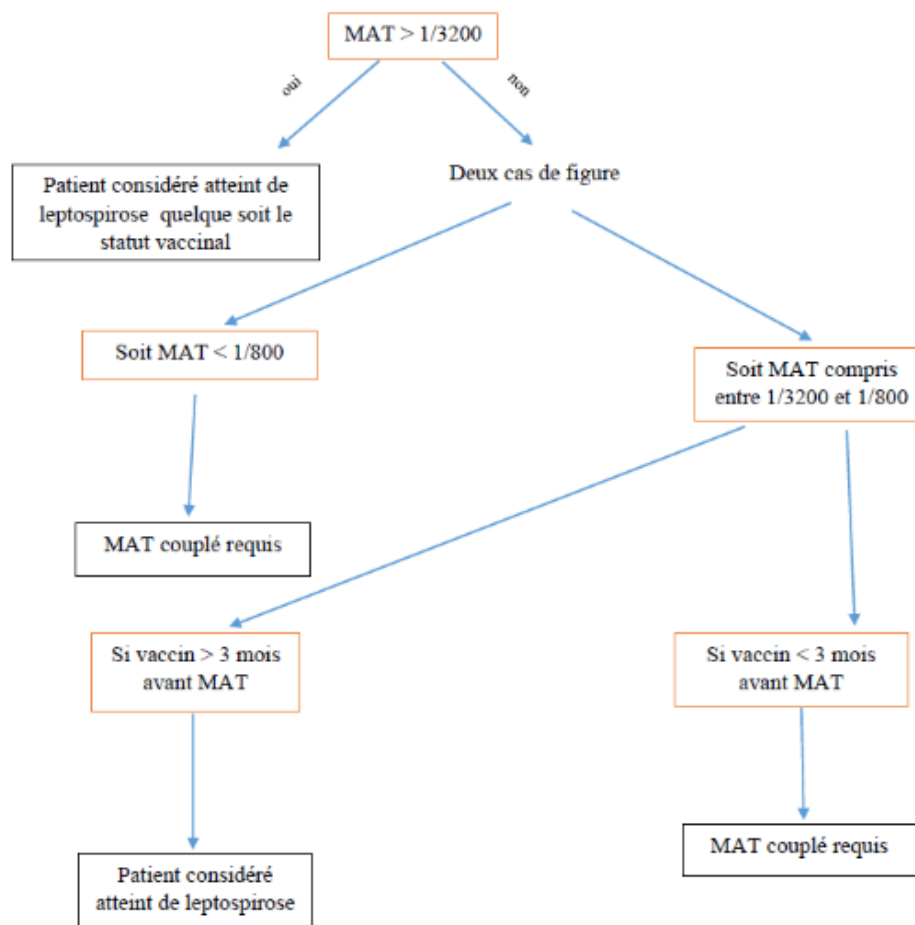


Figure 40 : Schéma d’interprétation du MAT et marche à suivre en fonction du résultat

Les résultats d'examens d'imagerie ainsi que les résultats d'analyses cytologiques et histologiques étaient conformes à la littérature.

E. Pronostic

Les trois quarts des patients de cette étude rétrospective ont survécu à leur épisode de leptospirose. Aucun patient n'a bénéficié d'une thérapie de remplacement rénal. Ce taux est similaire à celui rapporté d'autres études dont les patients avaient, eux, accès à l'hémodialyse (Adin and Cowgill 2000b; Goldstein et al. 2006b).

En mars 2016, le nombre de patients de l'étude décédés des suites de leur leptospirose s'élève à dix soit 34% de la population d'étude. Soixante-quinze pourcents des individus ont survécu à leur épisode aigu de leptospirose mais plus de la moitié d'entre eux présentent des séquelles (surtout rénales). Etant donné la forte proportion de chiens présentant des séquelles, il est possible que le nombre cas décédés à cause de la leptospirose soit en réalité plus élevé.

L'étude statistique démontre que l'hyperkaliémie, l'hypoalbuminémie et la glycosurie sont des facteurs pronostiques négatifs de mortalité au sein de la population d'étude.

Le rapport de côtes de l'hyperkaliémie (OR = 95) est très supérieur à 1 : l'hyperkaliémie est fortement associée à la mortalité. Le risque relatif (RR) de mourir en étant hyperkaliémique par rapport au risque de décéder en ne l'étant pas est de 17. C'est-à-dire, dans cette étude, qu'un patient hyperkaliémique a dix-sept fois plus de chances de décéder des conséquences de sa leptospirose. De même le rapport des côtes de l'hypoalbuminémie est supérieur à 1 (OR= 8,5) et le risque relatif de 4,75. Ainsi l'hypoalbuminémie est fortement associée à la mortalité. Ce résultat est à nuancer car l'intervalle de confiance (IC) de l'OR de l'albumine est compris entre 0,97 et 74,4. Or un OR proche de 1 signifie que le fait de mourir est indépendant du fait d'être hypoalbuminémique. L'OR de la glycosurie est de 10,5 (IC95% [1,06 – 103,5]). Comme pour l'albuminémie, l'OR de la glycosurie est à nuancer car la valeur de la limite inférieure de l'intervalle de confiance est proche de 1. Le RR de la glycosurie est de 6,43. Ce qui signifie qu'un patient glycosurique de l'étude a six fois plus de chances de décéder de la leptospirose qu'un patient non glycosurique.

L'hyperkaliémie a été démontré par Segev comme étant aussi un facteur pronostique négatif lors d'insuffisance rénale aiguë (IRA) (Segev et al. 2008). Contrairement aux résultats statistiques, l'azotémie a été démontrée comme étant un facteur pronostique négatif chez certains patients atteints d'IRA et n'ayant pas accès à l'hémodialyse (Harison et al. 2012). En revanche l'azotémie ne semble pas avoir d'impact sur le pronostic lorsque le patient a accès à l'hémodialyse (Segev et al. 2008). Inversement aux résultats de notre étude, il semblerait que certains sérovars aient un impact sur la mortalité. En effet, Goldstein a démontré que les chiens de son étude affectés par le sérovar *Pomona* présentaient une forme rénale plus sévère et avaient moins de chances de survivre (Goldstein et al. 2006b).

CONCLUSION

Malgré le fait que la leptospirose soit une maladie ubiquitaire ancienne et bien connue, il persiste des zones d'ombre quant à la compréhension de son épidémiologie et de sa pathogénie. Les résultats de cette étude rétrospective analysés à la lumière des données bibliographiques nous ont permis de dégager un profil épidémioclinique des patients atteints de leptospirose dans le bassin toulousain : il s'agit de chiens mâles, vaccinés, d'âge moyen et vivant en zone sub-urbaine. La présentation clinique associe souvent des signes non spécifiques à des signes digestifs, urinaires, ophtalmologiques ou respiratoires. Chez une proportion non négligeable de patients, une lymphadénopathie ainsi que des signes hémorragiques ou neurologiques ont été objectivés.

D'autre part, étant donné qu'une prise en charge précoce augmente les chances de survie et que la leptospirose est une zoonose grave, la détection des chiens atteints de leptospirose est primordiale. Actuellement les outils de laboratoire utilisés dans le diagnostic de la leptospirose (PCR et MAT) présentent certaines limites : il est donc possible que cette maladie soit sous-diagnostiquée chez le chien. L'interprétation du MAT est subjective, les titres en anticorps varient au cours du temps et le sérovar infectant est peu prédictible. Sans sérologie couplée il est difficile de différencier une infection en cours d'une infection révolue ou d'une vaccination récente. Les études de séroconversions n'ont en revanche, pas donné de résultats concluants dans notre étude. Ceci est probablement dû au fait que la moitié des patients sont référés à l'ENVV par leur vétérinaire. Il se pourrait que la prise en charge des patients soit plus tardive et que les demandes de sérologies couplées soient effectuées alors que la séroconversion a déjà eu lieu. La PCR permet de détecter les leptospires et n'interfère pas avec la vaccination mais présente une spécificité non optimale, en particulier si le patient a reçu une antibiothérapie. Ainsi, nos recommandations diagnostiques lorsqu'un patient de l'ENVV est suspect de leptospirose serait d'effectuer un MAT simple associé à une PCR sur sang et urines. Ces deux techniques sont complémentaires, leur utilisation conjointe permet d'augmenter considérablement leurs capacités diagnostiques.

D'après les résultats de cette étude et les données récentes de la littérature, il semblerait que de nouveaux sérovares émergent sur les continents européen et américain. En effet, dans cette étude, les sérovares non vaccinaux *Bratislava* et *Munchen* étaient majoritaires.

D'après les résultats statistiques, il semblerait que la présence d'hyperkaliémie, d'hypoalbuminémie et de glycosurie soient des marqueurs pronostiques négatifs en terme de survie.

Du point de vue de la recherche vétérinaire, il serait pertinent de tenter de déterminer le rôle des animaux de compagnie dans la transmission de *Leptospira spp.* à l'Homme et d'essayer de comprendre certains mécanismes physiopathologiques jusqu'à présent méconnus (tel que le syndrome hémorragique pulmonaire). Étant donné l'émergence de nouveaux sérovares, l'enjeu aujourd'hui serait de continuellement adapter les vaccins à ces sérovares afin de limiter les infections cliniques mais aussi le portage chronique des animaux de compagnie.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Ordre des Spirochètales	14
Figure 2 : Observation de leptospires au microscope à fond noir	16
Figure 3 : Transmission de la leptospirose entre espèces réservoirs et hôtes accidentels.....	17
Figure 4: Exemple de variabilité de réponse immunitaire	20
Figure 5 : Etapes de l'infection par la leptospirose (exemple du chien)	21
Figure 6 : Signes de blépharite, de conjonctivite et œdème cornéen périphérique	30
Figure 7 : Radiographie thoracique en vue ventro-dorsale d'un chien atteint de leptospirose aigüe : Pattern broncho-interstitiel caudo-dorsal.....	35
Figure 8 : Radiographie thoracique en vue de profil gauche d'un chien atteint de leptospirose aigüe : Pattern broncho-interstitiel caudo-dorsal.....	36
Figure 9 : Echographie abdominale d'un chien atteint de leptospirose aigüe	37
Figure 10 : Principe du test d'agglutination microscopique (MAT)	42
Figure 11 : Profil sérologique MAT en faveur d'une vaccination contre <i>L. canicola</i>	43
Figure 12 : Profil sérologique MAT en faveur d'une infection par la leptospirose.....	43
Figure 13 : Schéma comparatif simplifié de la cinétique des IgG et des IgM	45
Figure 14 : Techniques de diagnostic de laboratoire de la leptospirose canine	46
Figure 15 : Analyse des résultats PCR des chiens inclus	61
Figure 16 : Etude de séroconversion du patient n°6.....	63
Figure 17 : Etude de séroconversion du patient n°3.....	63
Figure 18: Sérovars objectivés par le MAT (Test d'agglutination microscopique).....	63
Figure 19 : Nombre de cas en fonction du mois de l'année.....	64
Figure 20 : Nombre de cas en fonction de la saison.....	64
Figure 21 : Répartition des cas autour de Toulouse	65
Figure 22 : Typologie des bassins de vie en Midi-Pyrénées	65
Figure 23 : Sexe et statut sexuel.....	67
Figure 24 : Statut vaccinal vis-à-vis de la leptospirose	67
Figure 25 : Age (en années) et nombre de cas de leptospirose canine.....	68
Figure 26 : Analyse des résultats de température rectale (en °C)	69
Figure 27 : Symptômes uro-néphrologiques	70
Figure 28: Analyse de la plage "hématies" de la bandelette urinaire	74
Figure 29 : Analyse de la plage "protéines" de la bandelette urinaire	75
Figure 30 : Analyse de la plage "glucose" de la bandelette urinaire	76
Figure 31 : Analyse de la plage pH de la bandelette urinaire.....	77
Figure 32 : Résultats analyse densité urinaire au réfractomètre.....	77
Figure 33 : Echographie abdominale : Cortex rénal hyperéchogène	78
Figure 34 : Echographie abdominale : Léger épanchement péri-rénal	79
Figure 35 : Echographie abdominale : Parenchyme hépatique hyperéchogène.....	79
Figure 36 : Echographie abdominale : Parenchyme hépatique hypoéchogène	80
Figure 37 : Radiographie thoracique : Pattern alvéolaire.....	81
Figure 38 : Lame histologique de foie : hépatite nécrosante diffuse marquée.....	82
Figure 39 : Modifications des analyses sanguines une semaine après sortie du CHUVAC	83
Figure 40 : Schéma d'interprétation du MAT et marche à suivre en fonction du résultat.....	93

TABLEAUX

Tableau 1 : Correspondance entre espèces génomiques et sérovars de <i>Leptospira</i> spp.....	15
Tableau 2 : Performances diagnostiques de la PCR vis à vis de la leptospirose.....	41
Tableau 3 : Performances diagnostiques du MAT en fonction de la dilution.....	54
Tableau 4 : Sérogroupes et sérovars de <i>Leptospira</i> spp testés par le LDV de l'ENVL.....	58
Tableau 5 : Patients inclus d'après les résultats du MAT.....	62
Tableau 6 : Nombre de sérovars identifiés parmi les patients ayant bénéficié d'un MAT.....	63
Tableau 7 : Races des chiens atteints de leptospirose et présentés à l'ENVL.....	66
Tableau 8 : Résultats des analyses biochimiques des patients de l'étude.....	72
Tableau 9 : Résultats de l'analyse hématologique des patients de l'étude.....	73
Tableau 10 : Mesures des temps de coagulation.....	74
Tableau 11 : Valeurs de pH urinaire.....	77
Tableau 12: Valeurs de densité urinaire.....	77
Tableau 13 : Corrélation entre sérovar et IRA.....	85
Tableau 14: Facteurs corrélés à la mortalité.....	86
Tableau 15 : Résultats des calculs d'odds ratios et risques relatifs.....	86

TABLE DES ACRONYMES ET ABREVIATIONS

AAC : Amoxicilline-Acide Clavulanique

ADH : Anti-Diuretic Hormone (hormone anti-diurétique)

ALAT : Alanine Aminotransferase

ASAT : Aspartate aminotransferase

BID : Bis In Die (deux fois par jour)

CHUVAC : Centre Hospitalier Universitaire des Animaux de Compagnie

CIVD : Coagulation Intravasculaire Disséminée

Cl : Chlorure

CPAF : Cytoponction A Aiguille Fine

cPL : Canine Pancreas-specific Lipase (lipase canine spécifique)

CTZ : Chemoreceptor Trigger Zone

Du : Densité Urinaire

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (méthode immuno-enzymatique)

ENVL : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

GB : Globule Blanc

GNN : Granulocyte Neutrophile

GNE : Granulocyte Eosinophile

GNB : Granulocyte Basophile

GR : Globule Rouge

Ht : Hématocrite

IC : Intervalle de Confiance

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M

INSEE : Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques

IR : Intervalle de Référence

IRA : Insuffisance Rénale Aigue

IRIS : International Renal Interest Society

IV : Intraveineux

K : Potassium
LDV : Laboratoire Départemental Vétérinaire
LPS : Lipopolysaccharide
MAT : Microscopique Agglutination Test (test d'agglutination microscopique)
Na : Sodium
NFS : Numération de Formule Sanguine
NH₃ : Ammoniac
NH₄⁺ : Ammonium
NK1 : Neurokinine 1
OR : Odd Ratio
P : Phosphate
PAL : Phosphatase Alcaline
PCR : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérase en chaîne)
PLQ : Plaquette
PO : Per os (par voie orale)
PT : Protéines totales
PuPd : Polyuro-Polydypsie
QID : Quater In Dier (quatre fois par jour)
RPCU : Rapport Protéines-Créatinine Urinaire
RR : Risque Relatif
SAM : S-Adénosyl Méthionine
Se : Sensibilité
Sp : Spécificité
TRC : Temps de Remplissage Capillaire
TID : Ter In Die (trois fois par jour)
TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha (facteur alpha de nécrose tumorale)
TCA : Temps de Céphaline Activée
TQ : Temps de Quick
TRR : Thérapie de Remplacement Rénal
VPP : Valeur prédictive positive
VPN : Valeur prédictive négative

SYMBOLES ET UNITES

bpm : battement par minute

° C : degré Celsius

g/L : gramme par litre

L : litre

μL : microlitre

μmol/L : micromole par litre

mmol/L : millimole par litre

min : minute

mpm : mouvement par minute

% : pourcent

s : seconde

UI/L : unité internationale par litre

BIBLIOGRAPHIE

- Abdoel, Theresia H., Dirk J. Houwers, Astrid M. van Dongen, Abiodun A. Adesiyun, Matilde Jiménez-Coelloe, Luis Cardoso, Sharianne M. Suepaul, A. Ortega-Pacheco, and Henk L. Smits. 2011. "Rapid Test for the Serodiagnosis of Acute Canine Leptospirosis." *Veterinary Microbiology* 150 (1-2): 211–13. doi:10.1016/j.vetmic.2011.01.015.
- Acierno, Mark J. 2011. "Continuous Renal Replacement Therapy in Dogs and Cats." *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 41 (1): 135–46. doi:10.1016/j.cvsm.2010.09.001.
- Adamus, C., M. Buggin-Daubié, A. Izembart, C. Sonrier-Pierre, L. Guigand, M. T. Masson, G. André-Fontaine, and M. Wyers. 1997. "Chronic Hepatitis Associated with Leptospiral Infection in Vaccinated Beagles." *Journal of Comparative Pathology* 117 (4): 311–28.
- Adin, C. A., and L. D. Cowgill. 2000a. "Treatment and Outcome of Dogs with Leptospirosis: 36 Cases (1990-1998)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 216 (3): 371–75.
- Adolf Weil in Heidelberg. n.d. "Ueber Eine Eigentümliche, Mit Milztumor, Icterus Und Nephritis Einhergehende Akute Infektionskrankheit," *Dtsche. Arch. Klin. Med.*, , no. 39: 209–32.
- Ahmed, Niyaz, S Manjulata Devi, M de los Á Valverde, P Vijayachari, Robert S Machang'u, William A Ellis, and Rudy A Hartskeerl. 2006. "Multilocus Sequence Typing Method for Identification and Genotypic Classification of Pathogenic Leptospira Species." *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 5 (November): 28. doi:10.1186/1476-0711-5-28.
- Alexander, A. D., L. B. Evans, M. F. Baker, H. J. Baker, D. Ellison, and M. Marriapan. 1975. "Pathogenic Leptospiras Isolated from Malaysian Surface Waters." *Applied Microbiology* 29 (1): 30–33.
- Andrade, Lúcia, Adílson C. Rodrigues, Talita R. C. Sanches, Rodrigo B. Souza, and Antonio Carlos Seguro. 2007. "Leptospirosis Leads to Dysregulation of Sodium Transporters in the Kidney and Lung." *American Journal of Physiology. Renal Physiology* 292 (2): F586–92. doi:10.1152/ajprenal.00102.2006.
- André-Fontaine, Geneviève. 2006. "Canine Leptospirosis--Do We Have a Problem?" *Veterinary Microbiology* 117 (1): 19–24. doi:10.1016/j.vetmic.2006.04.005.
- Atanasova, Maria. 2015. "Pancreatic Involvement in Leptospirosis," *Journal of IMAB*, 11 (1): 13–14.
- Barr, Stephen C., Patrick L. McDonough, Roberta L. Scipioni-Ball, and Jennifer K. Starr. 2005a. "Serologic Responses of Dogs given a Commercial Vaccine against Leptospira Interrogans Serovar Pomona and Leptospira Kirschneri Serovar Grippotyphosa." *American Journal of Veterinary Research* 66 (10): 1780–84.
- Baumann, D., and M. Flückiger. 2001. "Radiographic Findings in the Thorax of Dogs with Leptospiral Infection." *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association* 42 (4): 305–7.
- Bharti, Ajay R., Jarlath E. Nally, Jessica N. Ricaldi, Michael A. Matthias, Monica M. Diaz, Michael A. Lovett, Paul N. Levett, et al. 2003. "Leptospirosis: A Zoonotic Disease of Global Importance." *The Lancet. Infectious Diseases* 3 (12): 757–71.

- Bishop, L., J. D. Strandberg, R. J. Adams, D. G. Brownstein, and R. Patterson. 1979. "Chronic Active Hepatitis in Dogs Associated with Leptospire." *American Journal of Veterinary Research* 40 (6): 839–44.
- Bolin, C. A. 1996. "Diagnosis of Leptospirosis: A Reemerging Disease of Companion Animals." *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (small Animal)* 11 (3): 166–71.
- Bolin, Carole A. 2003. "Finds Fault with Implications of PCR Assay Conclusions." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223 (2): 178; author reply 178–79.
- Boutilier, Pam, Anthony Carr, and Rhonda L. Schulman. 2003. "Leptospirosis in Dogs: A Serologic Survey and Case Series 1996 to 2001." *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine* 4 (4): 387–96.
- Brendle, J. J., M. Rogul, and A. D. Alexander. 1974. "Deoxyribonucleic Acid Hybridization Among Selected Leptospiral Serotypes." *International Journal of Systematic Bacteriology* 24 (2): 205–14. doi:10.1099/00207713-24-2-205.
- Brenner, D. J., A. F. Kaufmann, K. R. Sulzer, A. G. Steigerwalt, F. C. Rogers, and R. S. Weyant. 1999. "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* Genomespecies." *International Journal of Systematic Bacteriology* 49 Pt 2 (April): 839–58.
- C. Kosossey Vrain. 2006. "Leptospirose Canine : Revue Bibliographique." Thèse d'exercice vétérinaire - ENVA.
- "CLIMAT TOULOUSE Par Météo-France - Normales et Relevés Sur La Station de TOULOUSE." 2016. Accessed February 13. <http://www.meteofrance.com/climat/france/toulouse/31069001/normales>.
- Cowgill, L. D., and C. E. Langston. 1996. "Role of Hemodialysis in the Management of Dogs and Cats with Renal Failure." *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 26 (6): 1347–78.
- Craig E. Greene, Jane E Sykes, Cathy A. Brown, and Kathryn Hartmann. n.d. "Leptospirosis." In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, Third, 402–17. Saunders Elsevier.
- Curtis, K. 2014. "Performance of a Recombinant LipL32 Based Rapid In-Clinic ELISA (SNAP Lepto) for the Detection of Antibodies Against *Leptospira* in Dogs." *Intern J Appl Res Vet Med* 13 (3): 182-189.
- De Brito, T., L. F. Menezes, Dirce M. C. Lima, Silvia Lourenço, Ana Maria G. Silva, and V. a. F. Alves. 2006. "Immunohistochemical and in Situ Hybridization Studies of the Liver and Kidney in Human Leptospirosis." *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 448 (5): 576–83. doi:10.1007/s00428-006-0163-z.
- Dobrina, A., E. Nardon, E. Vecile, M. Cinco, and P. Patriarca. 1995. "Leptospira Icterohemorrhagiae and Leptospire Peptidoglycans Induce Endothelial Cell Adhesiveness for Polymorphonuclear Leukocytes." *Infection and Immunity* 63 (8): 2995–99.
- Dziejyc, J. 2000. "Canine Systemic Bacterial Infections." *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 30 (5): 1103–17.
- Ellis, W. A. 2010. "Control of Canine Leptospirosis in Europe: Time for a Change?" *The Veterinary Record* 167 (16): 602–5. doi:10.1136/vr.c4965.
- Ellis, William A. 2015. "Animal Leptospirosis." *Current Topics in Microbiology and Immunology* 387: 99–137. doi:10.1007/978-3-662-45059-8_6.

- Evangelista, Karen, Ricardo Franco, Andrew Schwab, and Jenifer Coburn. 2014. "Leptospira Interrogans Binds to Cadherins." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (1). doi:10.1371/journal.pntd.0002672.
- Evangelista, Karen V., Beth Hahn, Elsie A. Wunder, Albert I. Ko, David A. Haake, and Jenifer Coburn. 2014. "Identification of Cell-Binding Adhesins of Leptospira Interrogans." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (10). doi:10.1371/journal.pntd.0003215.
- Fraga, Tatiana Rodrigues, Daniella Dos Santos Courrol, Mónica Marcela Castiblanco-Valencia, Izaura Yoshico Hirata, Sílvio Arruda Vasconcellos, Luiz Juliano, Angela Silva Barbosa, and Lourdes Isaac. 2014. "Immune Evasion by Pathogenic Leptospira Strains: The Secretion of Proteases That Directly Cleave Complement Proteins." *The Journal of Infectious Diseases* 209 (6): 876–86. doi:10.1093/infdis/jit569.
- Fraune, Claudia Kümmerle, Ariane Schweighauser, and Thierry Francey. 2013. "Evaluation of the Diagnostic Value of Serologic Microagglutination Testing and a Polymerase Chain Reaction Assay for Diagnosis of Acute Leptospirosis in Dogs in a Referral Center." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 242 (10): 1373–80. doi:10.2460/javma.242.10.1373.
- Fraune, Claudia Kummerle, Ariane Schweighauser, and Thierry Francey. 2013. "Evaluation of the Diagnostic Value of Serologic Microagglutination Testing and a Polymerase Chain Reaction Assay for Diagnosis of Acute Leptospirosis in Dogs in a Referral Center." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 242 (10): 1373–80. doi:10.2460/javma.242.10.1373.
- Galli, M., R. Esposito, P. Crocchiolo, M. Chemotti, M. Gasparro, and P. P. Dall'Aglio. 1985. "Immune Complexes in Leptospirosis." *Infection* 13 (3): 156.
- Ganoza, Christian A., Michael A. Matthias, Mayuko Saito, Manuel Cespedes, Eduardo Gotuzzo, and Joseph M. Vinetz. 2010. "Asymptomatic Renal Colonization of Humans in the Peruvian Amazon by Leptospira." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4 (2). doi:10.1371/journal.pntd.0000612.
- Geisen, V., C. Stengel, S. Brem, W. Müller, C. Greene, and K. Hartmann. 2007. "Canine Leptospirosis Infections - Clinical Signs and Outcome with Different Suspected Leptospira Serogroups (42 Cases)." *The Journal of Small Animal Practice* 48 (6): 324–28. doi:10.1111/j.1748-5827.2007.00324.x.
- Gendron, K., A. Christe, S. Walter, A. Schweighauser, T. Francey, M. G. Doherr, and J. Lang. 2014. "Serial CT Features of Pulmonary Leptospirosis in 10 Dogs." *The Veterinary Record* 174 (7): 169. doi:10.1136/vr.102046.
- Ghneim, George S., Joshua H. Viers, Bruno B. Chomel, Philip H. Kass, Daphne A. Descollonges, and Michael L. Johnson. 2007a. "Use of a Case-Control Study and Geographic Information Systems to Determine Environmental and Demographic Risk Factors for Canine Leptospirosis." *Veterinary Research* 38 (1): 37–50. doi:10.1051/vetres:2006043.
- Goldstein, Richard E., Rebecca C. Lin, Catherine E. Langston, Peter V. Scrivani, Hollis N. Erb, and Stephen C. Barr. 2006a. "Influence of Infecting Serogroup on Clinical Features of Leptospirosis in Dogs." *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 20 (3): 489–94.
- "Google Maps." 2016. *Google Maps*. Accessed March 10. <https://www.google.fr/maps/@43.6330266,1.4424095,14z>.
- Greenlee, Justin J., David P. Alt, Carole A. Bolin, Richard L. Zuerner, and Claire B. Andreasen. 2005. "Experimental Canine Leptospirosis Caused by Leptospira

- Interrogans Serovars Pomona and Bratislava.” *American Journal of Veterinary Research* 66 (10): 1816–22.
- Harison, E., C. Langston, D. Palma, and K. Lamb. 2012. “Acute Azotemia as a Predictor of Mortality in Dogs and Cats.” *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26 (5): 1093–98. doi:10.1111/j.1939-1676.2012.00985.x.
- Harkin, Kenneth R., Yvette M. Roshto, and Jennifer T. Sullivan. 2003. “Clinical Application of a Polymerase Chain Reaction Assay for Diagnosis of Leptospirosis in Dogs.” *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222 (9): 1224–29.
- Hartman, E. G., T. S. van den Ingh, and J. Rothuizen. 1986. “Clinical, Pathological and Serological Features of Spontaneous Canine Leptospirosis. An Evaluation of the IgM- and IgG-Specific ELISA.” *Veterinary Immunology and Immunopathology* 13 (3): 261–71.
- Haworth, Mark D., Giselle Hosgood, Katrin L. Swindells, and Caroline S. Mansfield. 2014. “Diagnostic Accuracy of the SNAP and Spec Canine Pancreatic Lipase Tests for Pancreatitis in Dogs Presenting with Clinical Signs of Acute Abdominal Disease.” *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio, Tex.: 2001)* 24 (2): 135–43. doi:10.1111/vec.12158.
- Hazart, Géraldine. 2008. “La Leptospirose : étude Bibliographique et étude Rétrospective de 37 Cas de Leptospirose Canine.” ENVL.
- “Hematologic Reference Ranges: Reference Guides: Merck Veterinary Manual.” 2016. Accessed February 13. http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference_guides/hematologic_reference_ranges.html.
- Isogai, E., H. Isogai, T. Kubota, N. Fujii, S. Hayashi, T. Indoh, S. Takagi, H. Miura, and K. Kimura. 1998. “Apoptosis of Lymphocytes in Mice Administered Lipopolysaccharide from *Leptospira Interrogans*.” *Zentralblatt Für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B* 45 (9): 529–37.
- J. D. Everard. n.d. “Leptospirosis.” In *The Wellcome Trust Illustrated History of Tropical Diseases*, 416–18. The Wellcome Trust.
- Johnson R. C., Faine S. 1984. “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology.” In , eds Krieg N. R., Holt J. G., 1:62–67. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Juvet, F., S. Schuller, E. J. O’Neill, P. A. O’Neill, and J. E. Nally. 2011. “Urinary Shedding of Spirochaetes in a Dog with Acute Leptospirosis despite Treatment.” *The Veterinary Record* 168 (21): 564. doi:10.1136/vr.d740.
- Klaasen, H. L. B. M., M. van der Veen, M. J. C. H. Molkenboer, and D. Sutton. 2013. “A Novel Tetravalent *Leptospira* Bacterin Protects against Infection and Shedding Following Challenge in Dogs.” *The Veterinary Record* 172 (7): 181. doi:10.1136/vr.101100.
- Klarenbeek A., Schüffner W. A. P. 1933. “Het Voorkomen van Een Afwijkend *Leptospira*-Ras in Nederland.” *Ned. Tijdschr*, 77: 4271–76.
- Kohn, B., K. Steinicke, G. Arndt, A. D. Gruber, B. Guerra, A. Jansen, B. Kaser-Hotz, et al. 2010. “Pulmonary Abnormalities in Dogs with Leptospirosis.” *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 24 (6): 1277–82. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0585.x.
- Langston, Cathy E., and Kerry J. Heuter. 2003a. “Leptospirosis. A Re-Emerging Zoonotic Disease.” *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 33 (4): 791–807.
- Lee, H. S., L. Guptill, A. J. Johnson, and G. E. Moore. 2014. “Signalment Changes in Canine Leptospirosis between 1970 and 2009.” *Journal of Veterinary Internal Medicine /*

- American College of Veterinary Internal Medicine* 28 (2): 294–99.
doi:10.1111/jvim.12273.
- Lee, H. S., M. Levine, C. Guptill-Yoran, A. J. Johnson, P. von Kamecke, and G. E. Moore. 2014. “Regional and Temporal Variations of Leptospira Seropositivity in Dogs in the United States, 2000–2010.” *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 28 (3): 779–88. doi:10.1111/jvim.12335.
- Lee, S. H., K. A. Kim, Y. G. Park, I. W. Seong, M. J. Kim, and Y. J. Lee. 2000. “Identification and Partial Characterization of a Novel Hemolysin from *Leptospira interrogans* Serovar Lai.” *Gene* 254 (1-2): 19–28.
- Levett, Paul N. 2001. “Leptospirosis.” *Clinical Microbiology Reviews* 14 (2): 296–326. doi:10.1128/CMR.14.2.296-326.2001.
- Major, Andrea, Ariane Schweighauser, and Thierry Francey. 2014a. “Increasing Incidence of Canine Leptospirosis in Switzerland.” *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11 (7): 7242–60. doi:10.3390/ijerph110707242.
- Martin, L. E. R., K. T. Wiggins, S. A. Wennogle, K. Curtis, R. Chandrashekar, and M. R. Lappin. 2014. “Vaccine-Associated *Leptospira* Antibodies in Client-Owned Dogs.” *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 28 (3): 789–92. doi:10.1111/jvim.12337.
- Mastrorilli, Cinzia, Francesco Dondi, Chiara Agnoli, Maria Elena Turba, Enrico Vezzali, and Fabio Gentilini. 2007. “Clinicopathologic Features and Outcome Predictors of *Leptospira interrogans* Australis Serogroup Infection in Dogs: A Retrospective Study of 20 Cases (2001–2004).” *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 21 (1): 3–10.
- Meites, Elissa, Michele T. Jay, Stanley Deresinski, Wun-Ju Shieh, Sherif R. Zaki, Lucy Tompkins, and D. Scott Smith. 2004. “Reemerging Leptospirosis, California.” *Emerging Infectious Diseases* 10 (3): 406–12. doi:10.3201/eid1003.030431.
- Midence, J. N., C. M. Leutenegger, A. M. Chandler, and R. E. Goldstein. 2012. “Effects of Recent *Leptospira* Vaccination on Whole Blood Real-Time PCR Testing in Healthy Client-Owned Dogs.” *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 26 (1): 149–52. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.00852.x.
- Miller, M. D., K. M. Annis, M. R. Lappin, and K. F. Lunn. 2011a. “Variability in Results of the Microscopic Agglutination Test in Dogs with Clinical Leptospirosis and Dogs Vaccinated against Leptospirosis.” *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 25 (3): 426–32. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0704.x.
- Millet, A.-S. 1998. “LA LEPTOSPIROSE DU CHIEN.” *Pratique médicale & chirurgicale de l’animal de compagnie. Personnel soignant*, no. 1: 19–23.
- Muller, A., C. Gau, V. Chetboul, and G. Andre-Fontaine. 1999. “UN CAS DE CHOLANGIO-HEPATITE ASSOCIEE A UNE LEPTOSPIROSE CHEZ UN CHIEN.” *Recueil de médecine vétérinaire* 175 (1-2): 63–68.
- Munday, John S., David J. Bergen, and Wendi D. Roe. 2005. “Generalized Calcinosis Cutis Associated with Probable Leptospirosis in a Dog.” *Veterinary Dermatology* 16 (6): 401–6. doi:10.1111/j.1365-3164.2005.00476.x.
- Nally, Jarlath E., Chavit Chantranuwat, Xiao-Yang Wu, Michael C. Fishbein, Martha M. Pereira, João José Pereira da Silva, David R. Blanco, and Michael A. Lovett. 2004. “Alveolar Septal Deposition of Immunoglobulin and Complement Parallels Pulmonary Hemorrhage in a Guinea Pig Model of Severe Pulmonary Leptospirosis.” *The American Journal of Pathology* 164 (3): 1115–27.

- Perolat, P., R. J. Chappel, B. Adler, G. Baranton, D. M. Bulach, M. L. Billingham, M. Letocart, F. Merien, and M. S. Serrano. 1998. "Leptospira Fainei Sp. Nov., Isolated from Pigs in Australia." *International Journal of Systematic Bacteriology* 48 (3): 851–58. doi:10.1099/00207713-48-3-851.
- Poncelet, L., M. Fontaine, and M. Balligand. 1991. "Polymyositis Associated with Leptospira Australis Infection in a Dog." *The Veterinary Record* 129 (2): 40.
- Ramadass, P., B. D. W. Jarvis, R. J. Corner, D. Penny, and R. B. Marshall. 1992. "Genetic Characterization of Pathogenic Leptospira Species by DNA Hybridization." *International Journal of Systematic Bacteriology* 42 (2): 215–19. doi:10.1099/00207713-42-2-215.
- Rissi, Daniel R., and Cathy A. Brown. 2014. "Diagnostic Features in 10 Naturally Occurring Cases of Acute Fatal Canine Leptospirosis." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 26 (6): 799–804. doi:10.1177/1040638714553293.
- Rojas, P., A. M. Monahan, S. Schuller, I. S. Miller, B. K. Markey, and J. E. Nally. 2010. "Detection and Quantification of Leptospire in Urine of Dogs: A Maintenance Host for the Zoonotic Disease Leptospirosis." *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 29 (10): 1305–9. doi:10.1007/s10096-010-0991-2.
- Scanziani, E., F. Origgi, A. M. Giusti, G. Iacchia, A. Vasino, G. Pirovano, P. Scarpa, and S. Tagliabue. 2002a. "Serological Survey of Leptospiral Infection in Kennelled Dogs in Italy." *The Journal of Small Animal Practice* 43 (4): 154–57.
- Schuller, S., T. Francey, K. Hartmann, M. Hugonnard, B. Kohn, J. E. Nally, and J. Sykes. 2015a. "European Consensus Statement on Leptospirosis in Dogs and Cats." *The Journal of Small Animal Practice* 56 (3): 159–79. doi:10.1111/jsap.12328.
- Segev, G., P. H. Kass, T. Francey, and L. D. Cowgill. 2008. "A Novel Clinical Scoring System for Outcome Prediction in Dogs with Acute Kidney Injury Managed by Hemodialysis." *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 22 (2): 301–8. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0063.x.
- Seguro, A. C., A. V. Lomar, and A. S. Rocha. 1990. "Acute Renal Failure of Leptospirosis: Nonoliguric and Hypokalemic Forms." *Nephron* 55 (2): 146–51.
- Sonrier, C., C. Branger, V. Michel, N. Ruvoën-Clouet, J. P. Ganière, and G. André-Fontaine. 2000b. "Evidence of Cross-Protection within Leptospira Interrogans in an Experimental Model." *Vaccine* 19 (1): 86–94.
- Spichler, Anne, Ethel Spichler, Marcelo Moock, Joseph M. Vinetz, and John a. D. Leake. 2007. "Acute Pancreatitis in Fatal Anicteric Leptospirosis." *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76 (5): 886–87.
- Sykes, J. E., K. Hartmann, K. F. Lunn, G. E. Moore, R. A. Stoddard, and R. E. Goldstein. 2011. "2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention." *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 25 (1): 1–13. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0654.x.
- Tangeman, Lindsay E., and Meryl P. Littman. 2013. "Clinicopathologic and Atypical Features of Naturally Occurring Leptospirosis in Dogs: 51 Cases (2000-2010)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 243 (9): 1316–22. doi:10.2460/javma.243.9.1316.
- Tanomkiat, Wiwatana, and Pongpan Poonsawat. 2005. "Pulmonary Radiographic Findings in 118 Leptospirosis Patients." *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 36 (5): 1247–51.

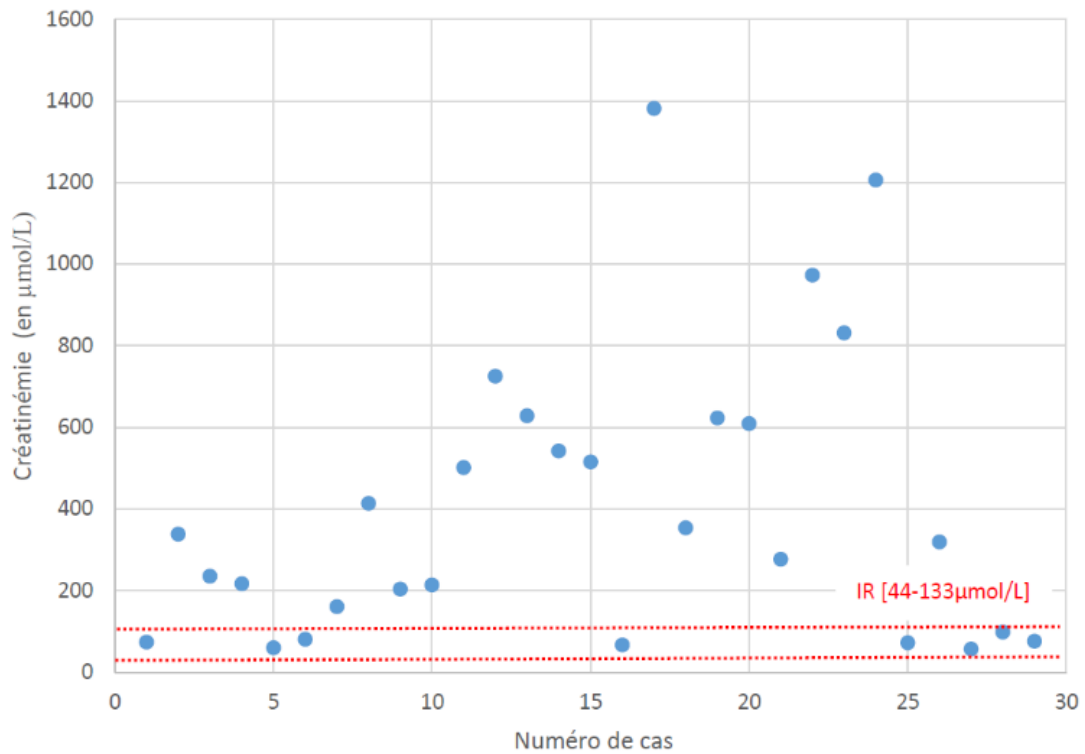
- Thiermann, A. B. 1980. "Canine Leptospirosis in Detroit." *American Journal of Veterinary Research* 41 (10): 1659–61.
- Tong, M. J., E. B. Rosenberg, B. A. Votteri, and C. C. Tsai. 1971. "Immunological Response in Leptospirosis. Report of Three Cases." *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 20 (4): 625–30.
- Truccolo, Johann, Françoise Charavay, Fabrice Merien, and Philippe Perolat. 2002. "Quantitative PCR Assay To Evaluate Ampicillin, Ofloxacin, and Doxycycline for Treatment of Experimental Leptospirosis." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (3): 848–53. doi:10.1128/AAC.46.3.848-853.2002.
- Ward, Michael P., Lawrence T. Glickman, and Lynn E. Guptill. 2002a. "Prevalence of and Risk Factors for Leptospirosis among Dogs in the United States and Canada: 677 Cases (1970-1998)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220 (1): 53–58.
- Ward, Michael P., Lynn F. Guptill, and Ching Ching Wu. 2004. "Evaluation of Environmental Risk Factors for Leptospirosis in Dogs: 36 Cases (1997-2002)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225 (1): 72–77.
- Watt, G., L. P. Padre, M. L. Tuazon, C. Calubaquib, E. Santiago, C. P. Ranoa, and L. W. Laughlin. 1988. "Placebo-Controlled Trial of Intravenous Penicillin for Severe and Late Leptospirosis." *Lancet* 1 (8583): 433–35.
- Werts, C., R. I. Tapping, J. C. Mathison, T. H. Chuang, V. Kravchenko, I. Saint Girons, D. A. Haake, et al. 2001. "Leptospiral Lipopolysaccharide Activates Cells through a TLR2-Dependent Mechanism." *Nature Immunology* 2 (4): 346–52. doi:10.1038/86354.
- Winzelberb, S. 2015. "Evaluation of SNAP Lepto in He Diagnosis of Leptospirosis Infections in Dogs: Twenty Two Clinical Cases" 13 (3): 193–99.
- Yasuda, Paulo H., Arnold G. Steigerwalt, Katherine R. Sulzer, Arnold F. Kaufmann, Faye Rogers, and Don J. Brenner. 1987. "Deoxyribonucleic Acid Relatedness between Serogroups and Serovars in the Family Leptospiraceae with Proposals for Seven New Leptospira Species." *International Journal of Systematic Bacteriology* 37 (4): 407–15. doi:10.1099/00207713-37-4-407.
- Zatelli, Andrea, Saverio Paltrinieri, Francesca Nizi, Xavier Roura, and Eric Zini. 2010. "Evaluation of a Urine Dipstick Test for Confirmation or Exclusion of Proteinuria in Dogs." *American Journal of Veterinary Research* 71 (2): 235–40. doi:10.2460/ajvr.71.2.235.

ANNEXES

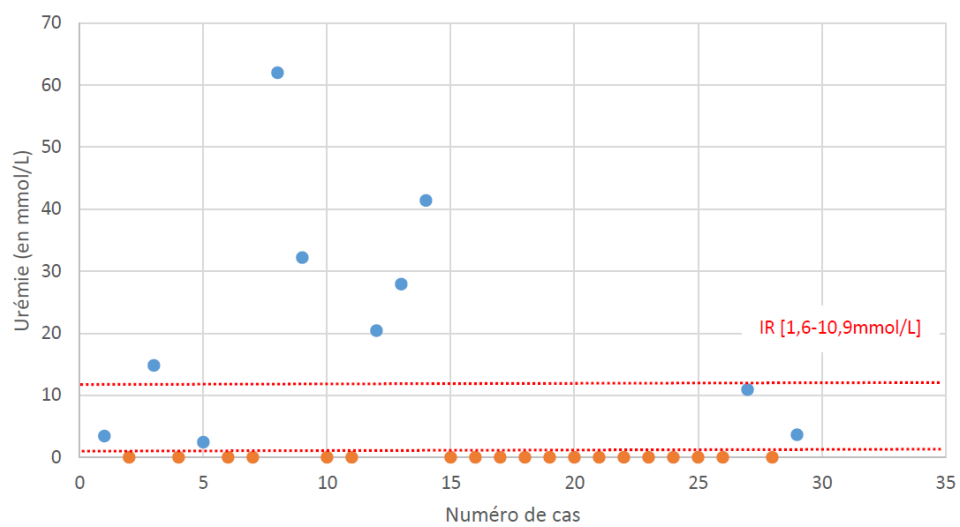
Annexe 1 : Représentations graphiques des résultats d'analyses biochimiques

Dans les graphiques suivants, les patients ont été numérotés de 1 à 29. Chaque point représente la valeur d'un analyte ou d'une variable (en ordonnée) pour un patient donné (numéro du cas en abscisse). Les limites de l'intervalle de référence sont représentées par les lignes rouges en pointillé. Les patients pour lesquels un dosage n'a pas été effectué est représenté par un point orange en ordonnée « 0 ». Tous les graphiques de l'annexe 1 et de l'annexe 2 ont la même présentation.

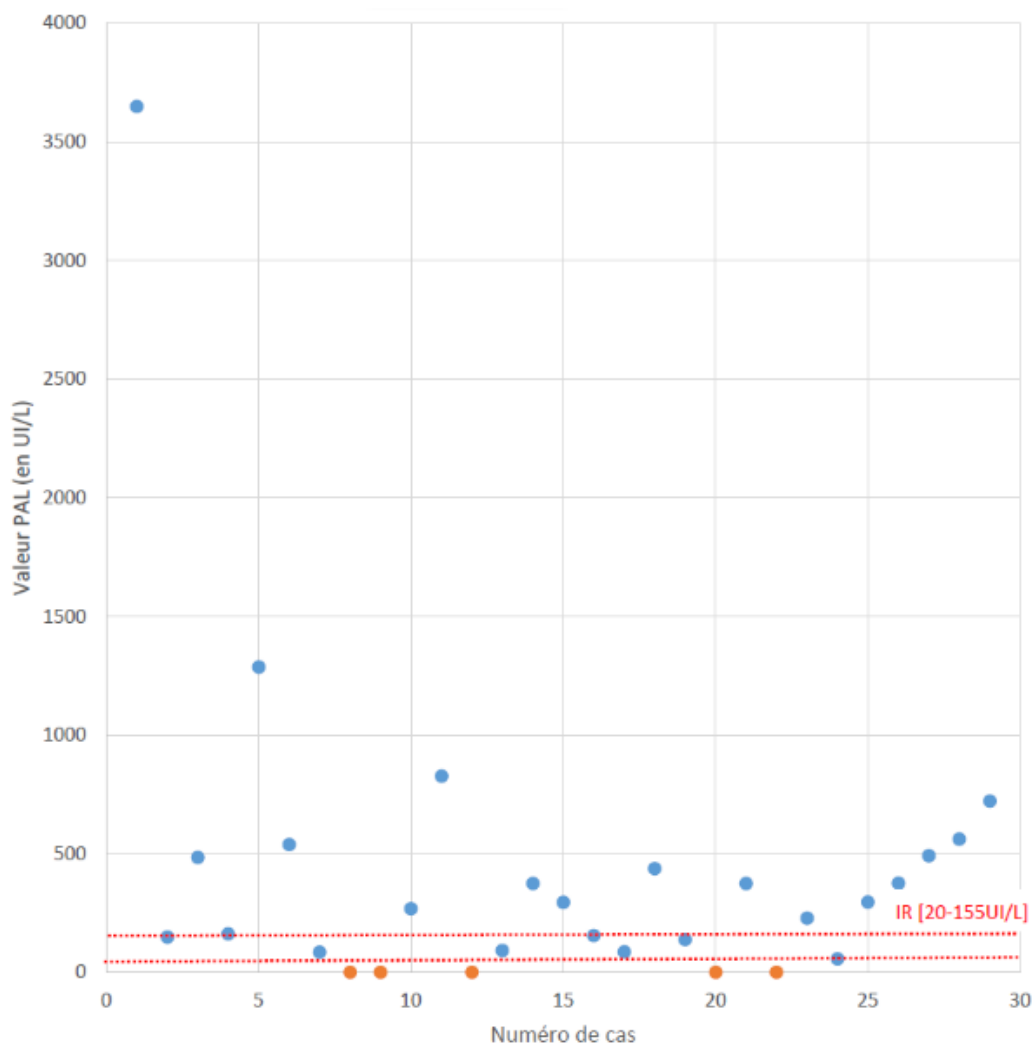
Annexe 1a : Dosage de la créatinémie (en $\mu\text{mol/L}$)



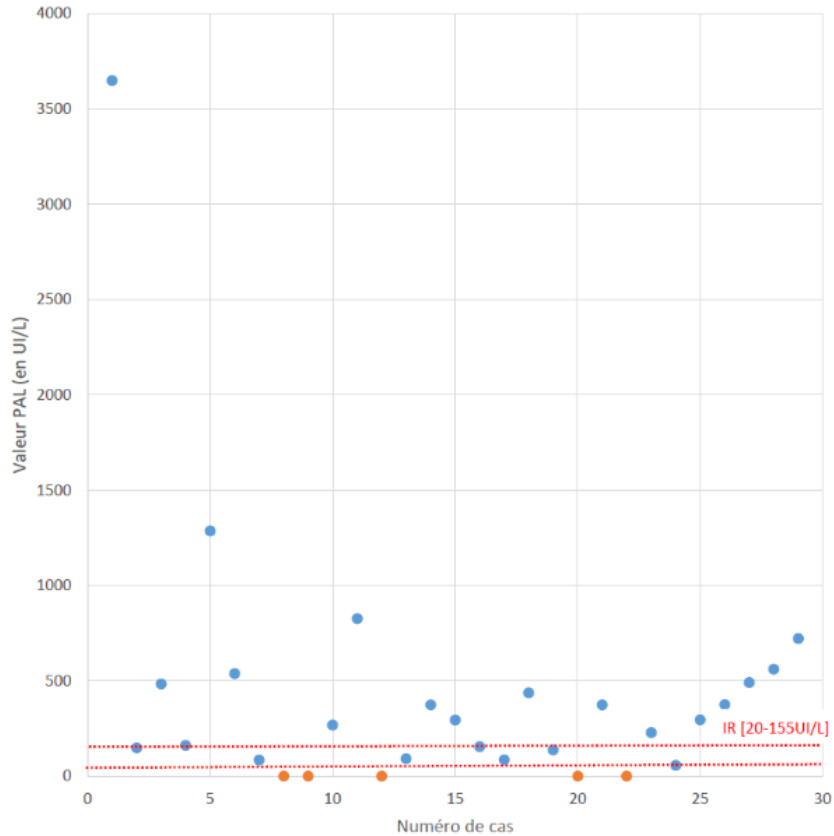
Annexe 1b : Dosage de l'urémie (en mmol/L)



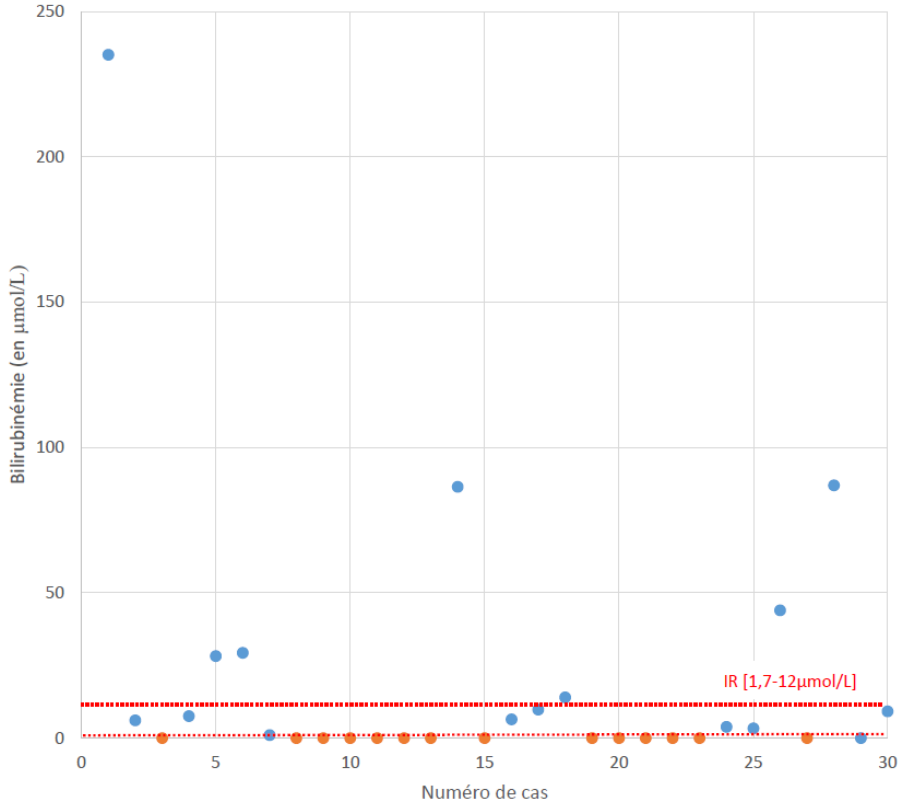
Annexe 1c : Dosage de l'ALAT (en UI/L)



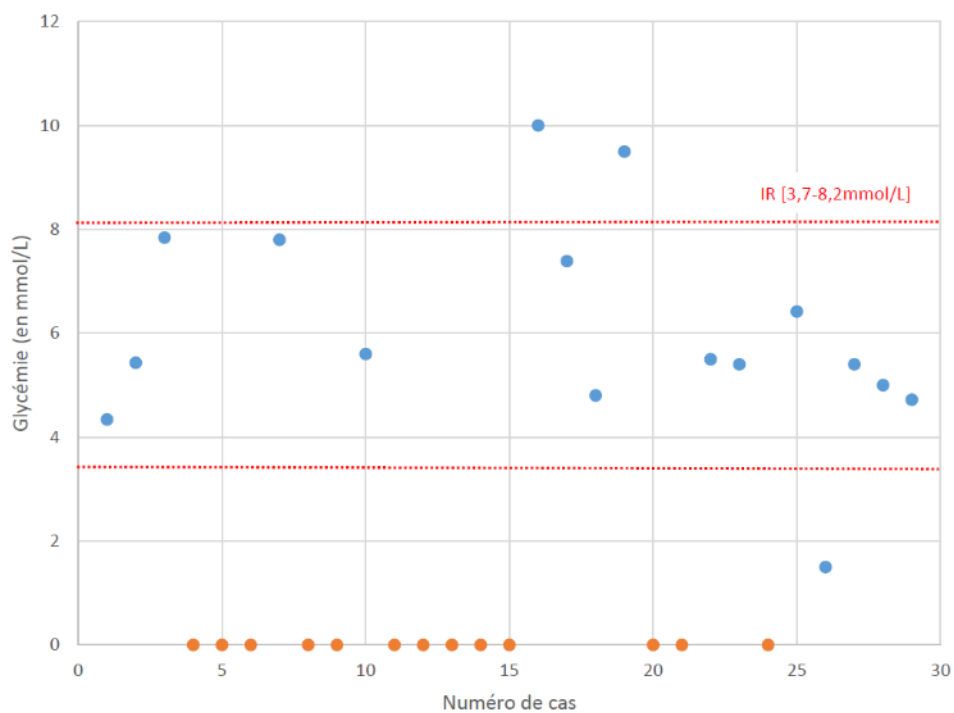
Annexe 1d : Dosage de la PAL (en UI/L)



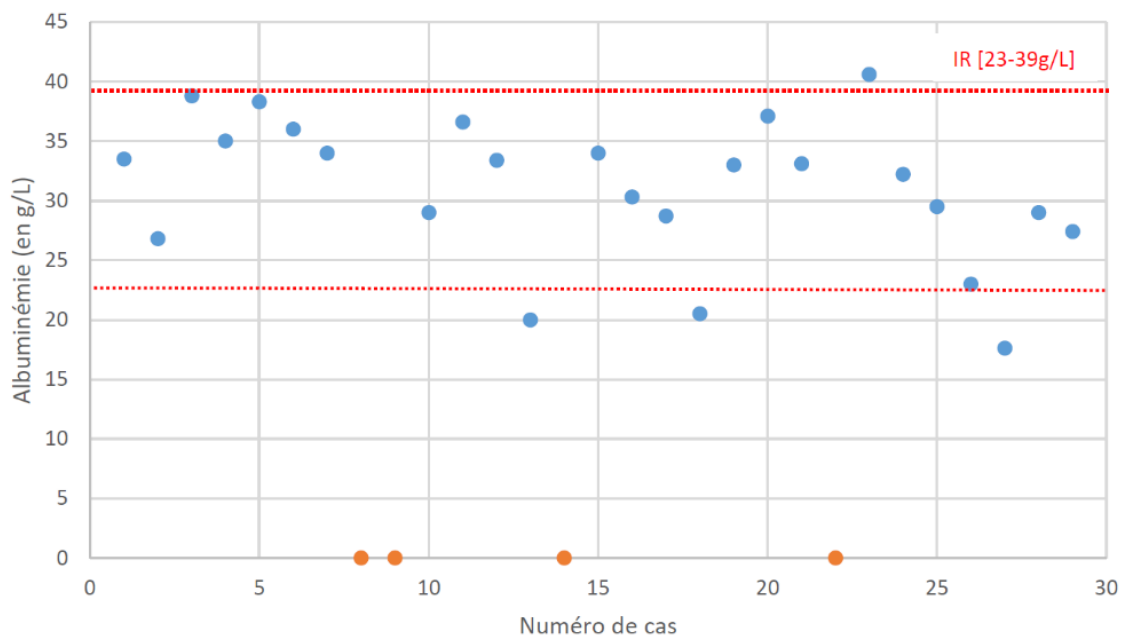
Annexe 1e : Dosage de la bilirubinémie (en $\mu\text{mol/L}$)



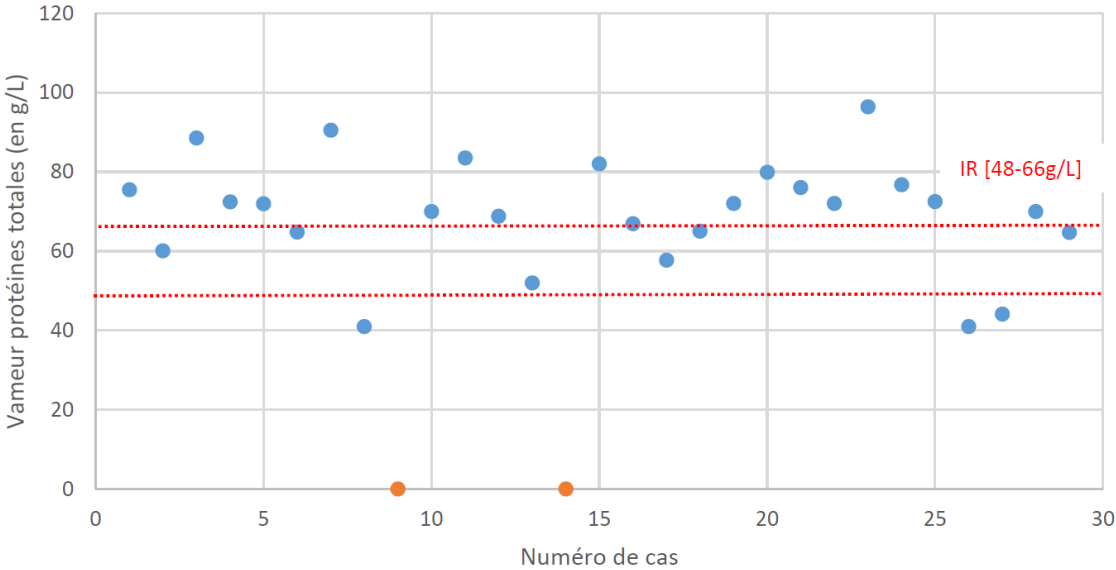
Annexe 1f : Dosage de la glycémie (en mmol/L)



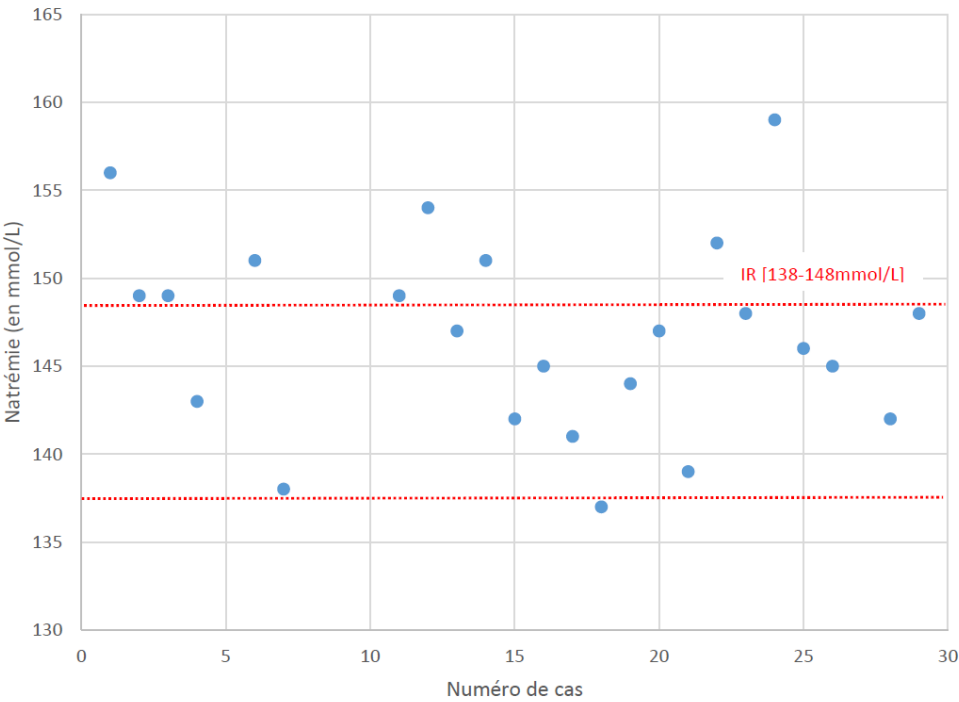
Annexe 1g : Dosage de l'albuminémie (en g/L)



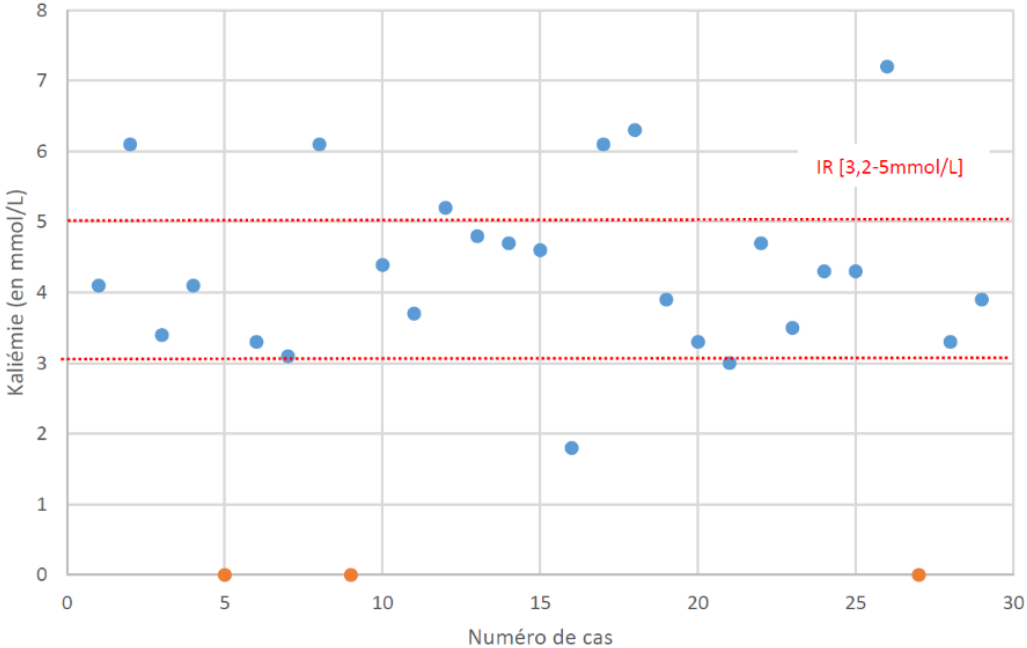
Annexe 1h : Dosage de la protidémie (en g/L)



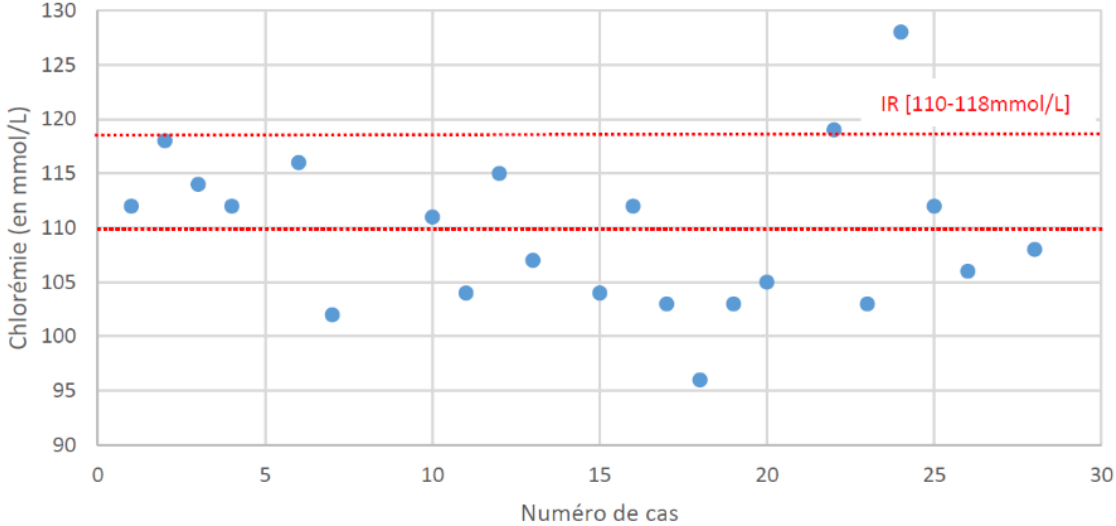
Annexe 1i : Dosage de la natrémie (en mmol/L)



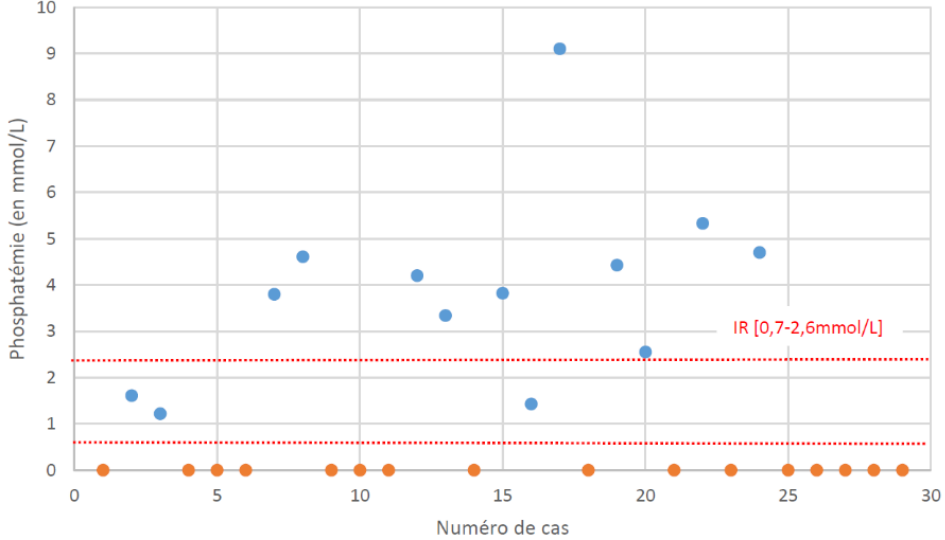
Annexe 1j : Dosage de la kaliémie (en mmol/L)



Annexe 1k : Dosage de la chlorémie (en mmol/L)

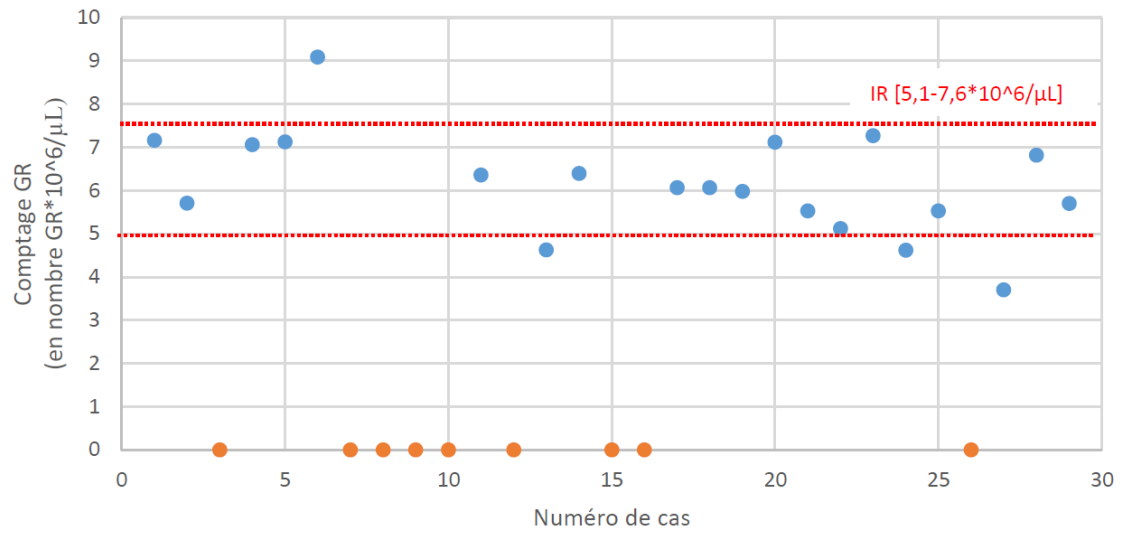


Annexe 11 : Dosage de la phosphatémie (en mmol/L)

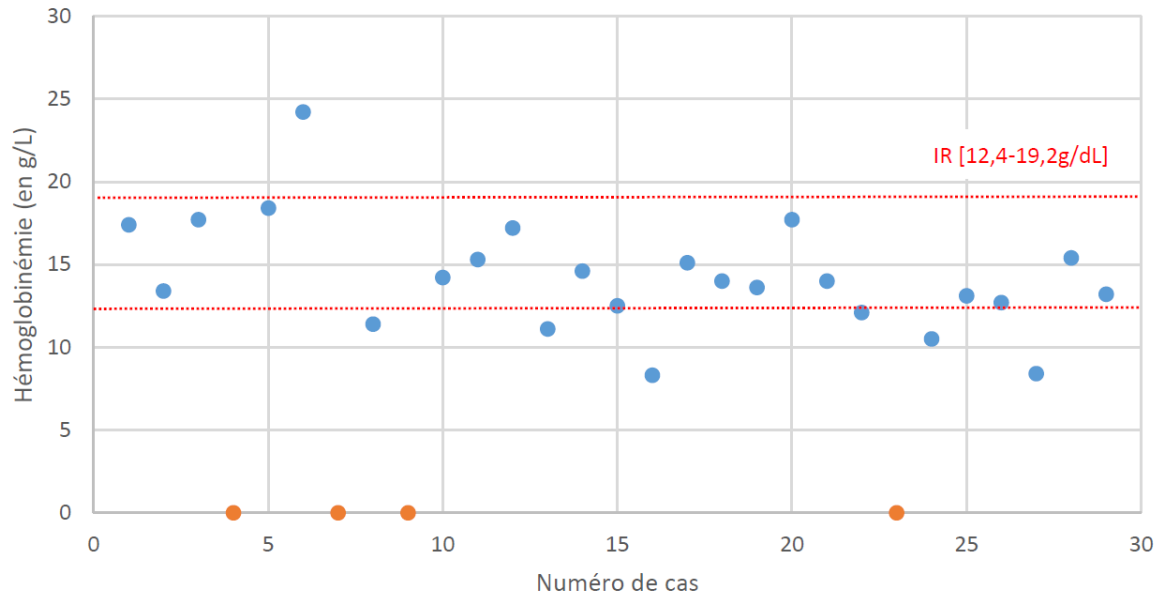


Annexe 2 : Représentations graphiques des résultats d'analyses hématologiques

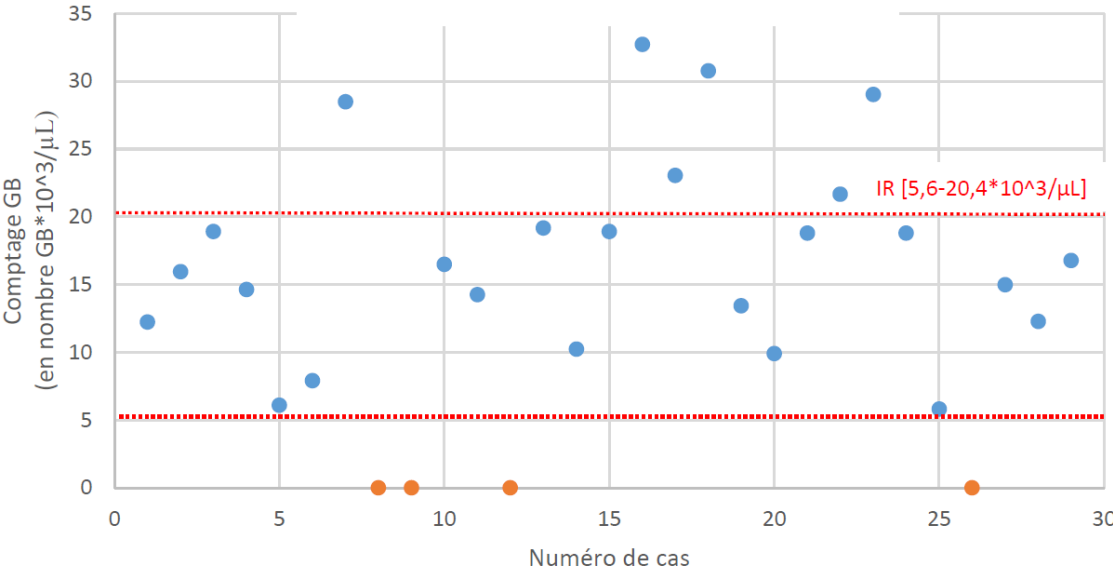
Annexe 2a : Comptage érythrocytaire (en nombre GR*10⁶/μL)



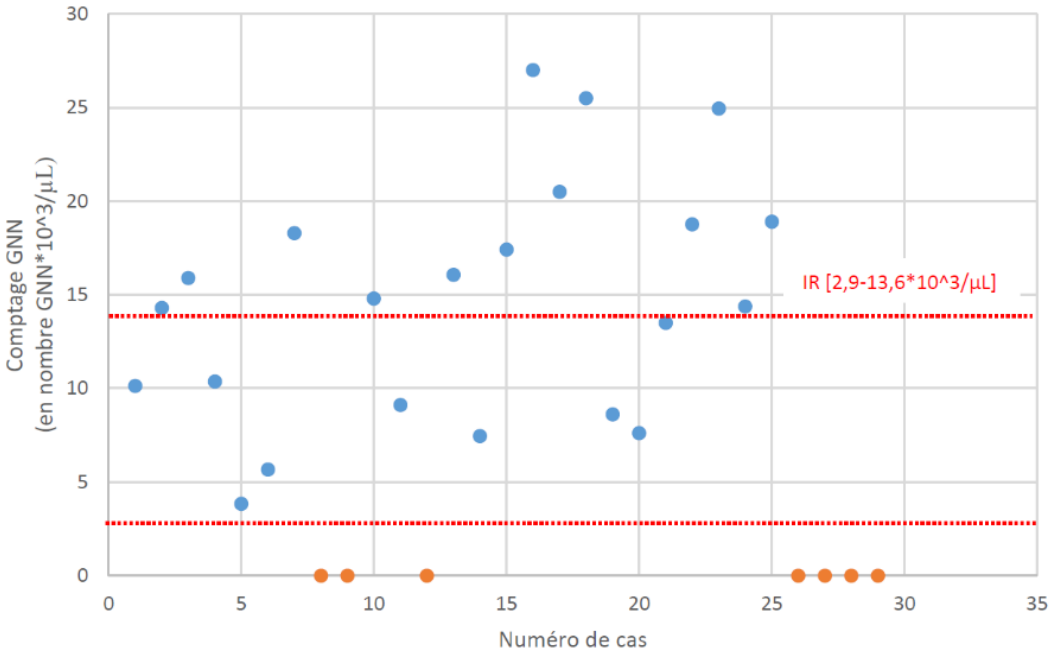
Annexe 2b : Dosage de l'hémoglobininémie (en g/L)



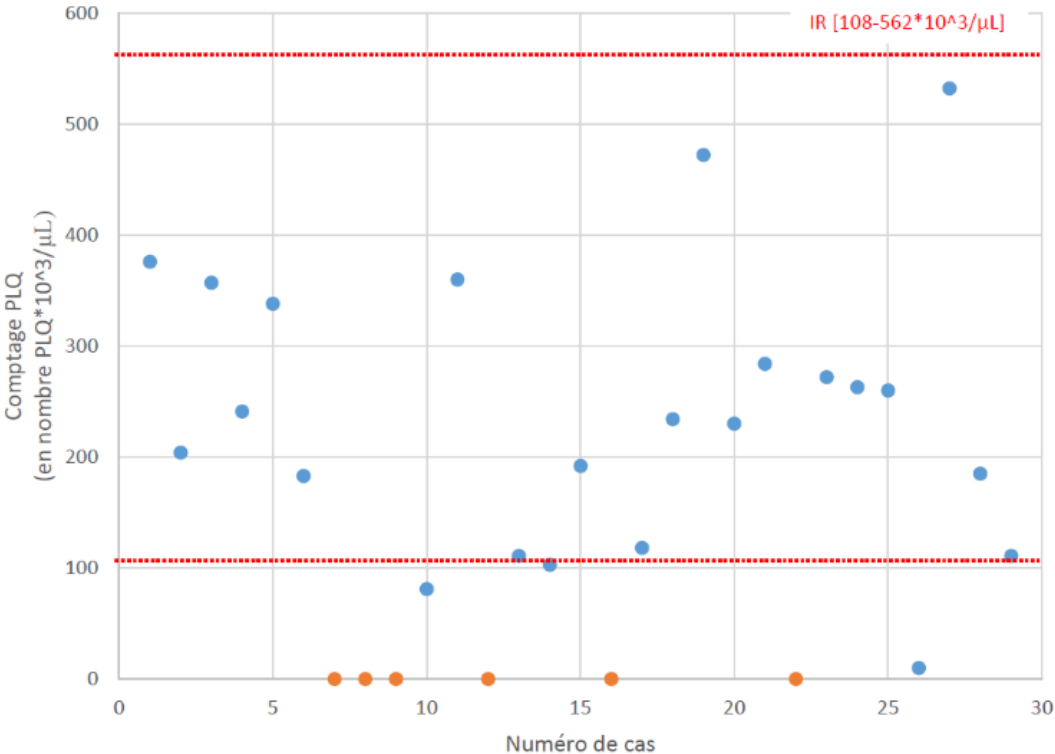
Annexe 2c : Comptage leucocytaire (en nombre de GB*10³/μL)



Annexe 2d : Comptage des granulocytes neutrophiles (en nombre de GNN*10³/μL)



Annexe 2e : Comptage plaquettaire (en nombre de PLQ*10³/μL)



Annexe 3 : Copies d'écran d'extraits du fichier Excel® regroupant les données relatives à la population d'étude entre 2009 et 2014

Annexe 3a : Copie d'écran d'un extrait du fichier Excel® regroupant les données relatives à l'anamnèse des sujets de l'étude

E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
Provenance2	Race	Vaccination	Vaccination2	Vaccination3	Age	Saison	année	Sexe	Sexe2	Sexe3	Sexe4	Sexe5
2nd avis	Nom race	Protoc. adéquat	Protoc. Incomp	Pas vaccination	chiffre exact	Mois		M. entier	M. castré	F. entière vide	F. entière gravide	F. stérilisée
	Labrie	oui			13	avril	2012					oui
	Shi Tzu	oui			8	juin	2012		oui			
oui	Welsh Terrier	oui			8	avril	2009					oui
	Bouvier Bernois	oui			2	avril	2011		oui			
	Bulldog anglais	oui			9,5	janvier	2011			oui		
	Whippet	oui			5	avril	2011					oui
	Bouledogue anglais			oui	3	mai	2014		oui			
oui	CKC	oui			0,3	juillet	2011		oui			
oui	Yorkshire terrier	oui			9	septembre	2011	oui				
	Lab*Malinois			oui	0,75	janvier	2012					oui
oui	* Labrador	oui			5	février	2012					oui
	Epagneul Breton		oui		12	mars	2012		oui			
oui	Labrador	oui			5	avril	2012		oui			
	Bouvier Bernois	oui			0,7	mai	2012		oui			
	Dogue artentín		oui		9	juin	2012	oui				
	Yorkshire terrier	oui			2	juin	2012			oui		
oui	bouledogue français		oui		6	octobre	2012	oui				
	Cairn Terrier	oui			7	juin	2013					oui
oui	Terre-neuve	oui			5	octobre	2013	oui				
oui	Berger de Beauce	oui			6	octobre	2013		oui			
	Labrador			oui	5	octobre	2013	oui				
	Border Collie			oui	12	octobre	2013	oui				
oui	ratier			oui	8	avril	2014					oui
oui	Montagne des Pyrénées	oui			2,5	mars	2014	oui				
oui	Rottweiler	oui			5	mai	2014	oui				
oui	Yorkshire terrier	oui			6	juin	2014	oui				
oui	Pointer	inconnu	inconnu	inconnu	1,5	juin	2014			oui		
oui	Border Collie	oui			1	octobre	2014	oui				

Annexe 3b : Copie d'écran d'un extrait du fichier Excel® regroupant les données relatives à la présentation clinique des sujets de l'étude

Nom	Sympt. Généraux	Sympt. Généraux4	Sympt. Généraux2	Sympt. Généraux3	Sympt. Hépatiques	Sympt. Digestifs	Sympt. Digestifs4	Sympt. Digestifs2
	Prostration/Apathie	Déshydratation	Hyperthermie	Hypothermie	Ictère-ascite	Vomissements	Diarrhée	Douleur abdo
POUPY	oui	oui		39,3 non	oui	oui	oui	oui
COUKI	légère	oui		38,8 non	non	oui	non	inconfort
SUNSHINE	oui	non		38,9 non	non	non	non	non
EINSTEIN	oui	non		40,1 non	non	non	non	non
VIHAN	non	non		39,2 non	non	oui	non	non
BIANCA	oui		5% ND	non	non	non	non	oui
GANGSTER	oui		10%	38 non	non	oui	oui	non
GUIZMO	oui	non		37,9	37,9 oui + épanch abdo	oui	non	oui
TANGO	oui	non		37,1	37,1 non	oui	non	oui
SAXO	oui	non		40 non	épanch abdo	oui	non	oui
PEPITE	oui	non		38,3 non	oui	oui	oui	non
BLACKY	oui	non		39 non	non	oui	non	non
CESAR	oui	non		38,3 non	non-épanch abdo	oui	non	non
GUS	oui	oui		39,2 non	ictère conjoint-épancl	oui + bile	non	non
ULKY	oui		7%	39 non	non	non	non	non
EKIRA	oui	non		38,4 non	non	oui	non constipation	oui
BARTH	oui	non		36,7	36,7 épanch abdo	oui	non	oui
BLOOSY	oui	non	ND	ND	non	oui + bile + glaires	non	oui
IAGO	oui		10% ND	ND	non	oui	oui	non
MATT	oui		7%	38,3 non	non	oui	oui	non
YAKA	oui		10%	38,5 non	oui	oui	oui	non
BOUGY	oui	non		38,7 non	non	oui	oui	non
GASPAR	oui		10%	38,3 non	oui	oui	oui	oui
BONNIE	oui	non	ND		non	oui	oui	oui
EVEN	oui	non		42 non	non	non	non	non
DUCKY	oui		7%	37,8	37,8 oui	non	non	non
IZZIE	non	non		39 non	dist abdo	non	non	non
YIALGO	oui	non	ND		oui	oui	non	non

Annexe 3c : Copie d'écran d'un extrait du fichier Excel® regroupant les données relatives aux analyses de sang des sujets de l'étude

Nom	Paramètres rénaux créatinémie µmol/L	Paramètres rénaux2 Urémie mmol/L	Paramètres hépatiques ALAT U/L	Paramètres hépatiques2 albuminémie g/L	Paramètre CPL	Paramètre Bilirubine	Paramètre PAL U/L	Glycémie mmol/L	Iono Na mmol/L
POUPY	74		3,4	1585	33,5 VU	235,1	3648	4,34	156
COUKI	338 ND			64	26,8 VU	6,1	148	5,43	149
SUNSHINE	235,5	14,8		45	38,8 ND	ND	484	7,84	149
EINSTEIN	217 ND			28	35 ND	7,6	162 ND		143
VIHAN	59,7	2,4		850	38,3 ND	28,2	1286 ND		ND
BIANCA	80,4 ND			950	36 ND	29,3	538 ND		151
GANGSTER	161 ND			228	34 ND	1	84	7,8	138
GUIZMO	414	62 VU			ND	VU	VU	VU	VU
TANGO	204	32,2 ND		ND	ND	ND	ND	ND	ND
SAXO	214 ND			51	29 ND	ND	268	5,6 ND	
PEPITE	501 ND			61	36,6 ND	ND	827 ND		149
BLAKY	725,3	20,4 ND			33,4 ND	ND	ND	ND	154
CESAR	628	27,9		91	20 ND	ND	92 ND		147
GUS	542	41,4		527 ND		86,5	374 ND		151
ULKY	515 ND			41	34 ND	ND	294 ND		142
EKIRA	67,2 ND			30	30,3 VU	6,5	155	10	145
BARTH	1380,9 ND			97	28,7 ND	9,8	86	7,39	141
BLOOSY	354 ND			77	20,5 VU	14	437	4,8	137
IAGO	622,8 ND			29	33 ND	ND	137	9,5	144
MATT	609 ND		ND		37,1 ND	ND	ND	ND	147
YAKA	277,1 ND			94	33,1 ND	ND	374 ND		139
BOUGY	973 ND		ND	ND	ND	ND	ND	5,5	152
BONNIE	831 ND			112	40,6 anorm	ND	228	5,4	148
GASPAR	1206 ND			76	32,2 ND	3,9	57 ND		159
EVEN	72,4 ND			61	29,5 VU	3,4	296	6,42	146
DUCKY	319 ND			74	23 ND	44	375	1,5	145
IZZIE	57	10,9		308	17,6 VU	0	491	5,4 ND	
YIALGO	98,7 ND			667	29 ND	87	561	5	142

Annexe 3d : Copie d'écran d'un extrait du fichier Excel® regroupant les données relatives aux analyses d'urines des sujets de l'étude

ANALYSES URINAIRES	Nom	Hématurie	Protéinurie	Glycosurie	Bilirubinurie	Leucocyturie	Corps cétoniques	Densité	RPCU	créat U	pH
T01-2641	POUPY	ras	(++)	ras	(++)	(+)	ras	1,019 ND	ND	ND	8
T04-059	COUKI	(+++)	(+)	(++)	ras	ras	ras	1,011 ND	ND	ND	7
T09-2084	SUNSHINE	(++)	(+)	(++)	ras	ras	ras	1,014 ND	ND	ND	6
T10-1377	EINSTEIN	(+)	(++)	ras	ras	(++)	ras	1,027 ND	ND	ND	7,5
T10-4267	VIHAN	ras	ras	ras	ras	ras	ras	1,026 ND	ND	ND	7
T11-2239	BIANCA	(+++)	(+)	ras	(+)	ras	ras	1,02 ND	ND	ND	7
T11-5613	GANGSTER	ras	259,4 (+)	(++)	ras	ras	ras	1,015	0,82	317,5	6
T11-3881	GUIZMO	(+++)	(+++)	(++)	ras	(++)	ras	1,012 ND	ND	ND	8
T11-4647	TANGO	(+++)	(+++)	ras	ras	ras	ras	1,02 ND	ND	ND	7,7
T12-1751	SAXO	(++)	(+++)	(+++)	ras	ras	ras	1,013 ND	ND	ND	7
T12-205	PEPITE	ras	(++)	ras	(+++)	ras	ras	1,02 ND	ND	ND	5
T12-961	BLAKY	(+)	(+++)	ras	ras	ras	ras	1,014	3,69	722,6	4
T12-2284	CESAR	(+)	(++)	ras	ras	ras	ras	1,012	5,14 ND	ND	5
T12-3134	GUS	ras	(+++)	(+++)	ras	ras	ras	1,025 ND	ND	ND	
T12-3665	ULKY	(+++)	(+)	(+++)	ras	ras	ras	1,012	2,18 ND	ND	7
T12-3830	EKIRA	ras	(+)	(++)	ras	ras	(+)	1,02 ND	ND	ND	5
T12-5686	BARTH	(+++)	(+++)	(+++)	ras	ras	ras	1,015 ND	ND	ND	5,5
T13-3358	BLOOSY	(+++)	(+)	(+++)	ras	ras	ras	1,01 ND	ND	ND	7
T13-5099	IAGO	ras	(+)	(++)	ras	ras	ras	1,012 ND	ND	ND	
T13-5229	MATT	ras	(+)	(+)	ras	ras	ras	1,006	0,45	835	7
T13-5244	YAKA	ras	(++)	ras	(+++)	ras	ras	1,016 ND	ND	ND	5
T13-5363	BOUGY	(+++)	(+++)	ras	ras	(++)	ras	1,014 ND	ND	ND	6
T14-1973	BONNIE	(+++)	ras	ras	ras	ras	ras	1,012 ND	ND	ND	5
T14-1620	GASPAR	(+++)	(+)	(++)	ras	ras	ras	1,008 ND	ND	ND	5
T14-2822	EVEN	(+)	(+)	ras	(+)	ras	ras	>1,05	ND	ND	8
T14-3163	DUCKY	(+++)	(+++)	(+++)	ras	(++)	ras	1,01 ND	ND	ND	
T14-3488	IZZIE	ras	ras	ras	(+)	ras	ras	1,05	0,15	3931	5
T14-4692	YIALGO	(+)	ras	ras	(+++)	ras	ras	1,007 ND	ND	ND	6
T14-4883	VICKIE	(+)	(++)	ras	(+)	ras	ras	1,01 ND	ND	ND	6

Annexe 3e : Copie d'écran d'un extrait du fichier Excel® regroupant les données relatives aux examens diagnostiques des sujets de l'étude

N° Dossier ENVT			titre + élevé	sérovar associé	vaccin	Séroconversion	Positive
T01-2641	POUPY	oui	1600	aki	> 3 mois	ND	oui(S+U)
T04-059	COUKI	ND	0		0	0 ND	oui (S+U)
T09-2084	SUNSHINE	oui	2560	mun, brat, bim, grip, van	ND	non, 2560 persist	ND (marbo)
T10-1377	EINSTEIN	oui	2560	aus, munchen, brat	ND	ND	oui (S+ U)
T10-4267	VIHAN	oui	2560	mun, aus, brat, pan	> 3 mois	ND	ND
T11-2239	BIANCA	oui	2560	can	< 3 mois	non dim 1280	ND
T11-5613	GANGSTER	ND	0		0 ND	ND	oui (S+ U)
T11-3881	GUIZMO	ND	0		0 ND	ND	oui (foie + rein)
T11-4647	TANGO	oui	1280	bim	ND	non	oui (urine)
T12-961	BLACKY	oui	2560	pyr	ND	ND	ND
T12-1751	SAXO	ND	0		0 ND	ND	oui (S + U)
T12-205	PEPITE	ND	0		0 ND	ND	oui (S + U)
T12-3134	GUS	ND	0		0 ND	ND	oui (S + U)
T12-2284	CESAR	oui	3200	brat	ND	ND	ND
T12-3665	ULKY	oui	3200	brat	ND	ND	ND
T12-3830	EKIRA	oui	6400	cop, 19, mun, aus, brat, man	ND	ND	ND
T12-5686	BARTH	oui	6400	mun,brat	ND	ND	non (S+U) (rilexine)
T13-3158	BLOOSY	ND	0		0 ND	ND	oui (U)
T13-5099	IAGO	oui	3200	brat	ND	ND	non (S+U)
T13-5229	MATT	ND	0		0 ND	ND	oui (S+U)
T13-5244	YAKA	ND	0		0 ND	ND	oui (S+U)
T13-5363	BOUGY	oui	800	mun		0 ND	ND
T14-1620	GASPAR	oui	6400	cop, 19, mun, aus, brat	ND	ND	oui (S + U)
T14-1973	BONNIE	oui	1600	cop, 19, mun, aus,man			non (S+U)
T14-2822	EVEN	oui	1600	cop, pyr	> 3mois	non id cop dim 800 pyr	ND
T14-3163	DUCKY	oui	800	mun	>3mois	ND	ND
T14-3488	IZZIE	oui	3200	bim, van	inconnu	ND	ND
T14-4692	IYALGO	non	0		0 ND		0 oui (S+U)

Annexe 4 : Nombre de cas de leptospirose canine présentés par an à l'ENVT entre 2009 et 2014

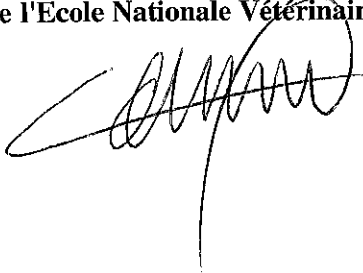
Mois	Année (nombre de cas par an)	Nombre cas
avril	2009 (1)	1
janvier	2011 (6)	1
mars		1
avril		2
juillet		1
septembre		1
janvier		2012 (10)
février	1	
mars	1	
avril	2	
Mai	1	
Juin	3	
octobre	1	
Juin	2013 (5)	
octobre		4
mars	2014 (7)	1
avril		1
Mai		2
Juin		2
Octobre		1

AGREMENT SCIENTIFIQUE

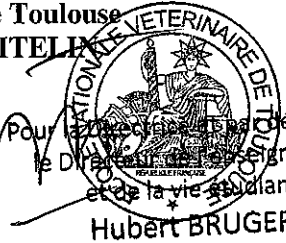
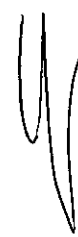
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, Rachel LAVOUE, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **DULER Laëtitia** intitulée « **Etude rétrospective des cas de leptospirose canine de l'ENVT diagnostiqués de 2009 à 2014.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 12 mai 2015
Docteur Rachel LAVOUE
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

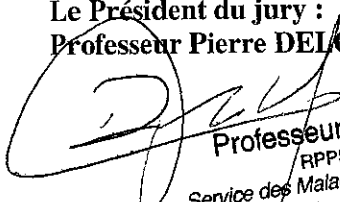


Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITEL



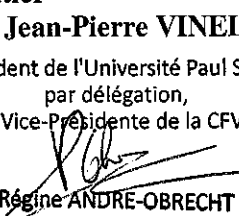
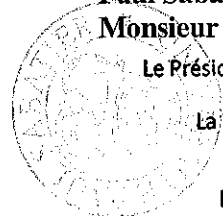
Pour la Délégation de l'Enseignement
et de la vie étudiante
Hubert BRUGERE

Vu :
Le Président du jury :
Professeur Pierre DELOBEL



Professeur Pierre DELOBEL
RPPS : 10004386842
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales
CHU de Toulouse - Hôpital Purpan
Place Baylac - TSA 40031
31059 TOULOUSE Cedex 9
Tél. 05 61 77 75 08 - Fax 05 61 77 21 38

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL



Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU
Régine ANDRE-OBRECHT

Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

Toulouse, 2016

NOM: DULER

PRENOM: Laetitia

**TITRE: ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS DE LEPTOSPIROSE CANINE DE
L'ENVT ENTRE 2009 ET 2014**

La leptospirose est une maladie ubiquitaire, son potentiel zoonotique et son fort taux de mortalité en font une maladie d'intérêt en médecine humaine et vétérinaire. Ainsi, une étude rétrospective des 29 cas de leptospirose canine présentés à l'ENVT entre 2009 et 2014 paraît pertinente.

Cette étude permet de définir un profil des patients atteints dans le bassin toulousain : il s'agit généralement de chiens mâles, vaccinés, d'âge moyen et vivant en zone sub-urbaine. La présentation clinique associe souvent des signes non spécifiques à des signes digestifs, urinaires ou respiratoires. L'analyse statistique montre une corrélation positive entre l'hyperkaliémie, l'hypoalbuminémie, la glycosurie et la mortalité.

Il est possible que la leptospirose canine soit sous-diagnostiquée. L'utilisation conjointe du MAT et de la PCR augmente considérablement leur capacité diagnostique. Les sérovars non vaccinaux *Bratislava* et *Munchen* sont majoritaires dans cette étude, ce qui confirme l'apparition de nouveaux sérovars, et souligne l'importance de faire évoluer les vaccins.

MOTS-CLES : leptospirose, MAT, PCR, IRA, chien, étude rétrospective, facteurs pronostiques de mortalité, profil épidémio-clinique

**TITLE: RETROSPECTIVE STUDY ON DOGS AFFECTED BY LEPTOSPIROSIS
AND PRESENTED AT THE TOULOUSE SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
BETWEEN 2009 AND 2014**

Leptospirosis is a zoonotic disease with a worldwide distribution: controlling it is important from a veterinarian and a public health perspective. Thus, a retrospective survey on the 29 cases that were presented at the Toulouse School of Veterinary Medicine between 2009 and 2014 seemed relevant.

The results from this study allowed us to define a profile of dogs affected by leptospirosis around Toulouse: they are mainly medium-aged vaccinated males that are living in sub-urban areas. Upon presentation, the patients exhibit non-specific signs with digestive, urinary or respiratory signs. The statistic survey showed a positive correlation between hyperkalemia, hypoalbuminemia, glycosuria and the mortality rate.

Leptospirosis may be under-diagnosed. Combined MAT and PCR increases significantly their sensitivity. Serovars *Munchen* and *Bratislava* that are not found in the bivalent vaccines are the most represented one in the survey. This confirm the increasing incidence of new serovars and stresses out how important it is to adapt the vaccines to these new serovars.

KEY-WORDS : leptospirosis, MAT, PCR, dog, retrospective study, pronostic factors of mortality, epidemiologic and clinical profile