

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	3
PREMIERE PARTIE : LES FIDJI : PRESENTATION DU MILIEU ET PROBLEMATIQUE	5
I. PRESENTATION DU MILIEU PHYSIQUE.....	6
II. ELEMENTS SUR LA SOCIETE FIDJIENNE.....	13
III. ELEVAGE.....	17
IV. CONTEXTE DE L'ACCUEIL.....	26
DEUXIEME PARTIE : LA LEPTOSPIROSE HUMAINE ET ANIMALE	31
I. DEFINITION.....	32
II. ETIOLOGIE.....	33
III. SYMPTOMATOLOGIE.....	43
IV. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE	47
V. DIAGNOSTIC.....	51
VI. MOYENS DE LUTTE.....	61
VII. REVUE DE LA LEPTOSPIROSE DANS LE PACIFIQUE SUD, A FIDJI NOTAMMENT.....	62
TROISIEME PARTIE : LE PROJET LEPTOSPIROSE A FIDJI	69
I. L'EVOLUTION DES OBJECTIFS DU PROJET	70
II. PROTOCOLE.....	71
III. RESULTATS ET DISCUSSION	78
QUATRIEME PARTIE : L'EVALUATION D'UNE METHODE DE DEPISTAGE DE LA LEPTOSPIROSE CANINE.....	115
I. OBJECTIFS.....	116
II. PLAN D'ECHANTILLONNAGE.....	117
III. DEFINITION DU CAS ET CONSTITUTION DES GROUPES	118
IV. LE TEST LEPTOSPIRA DIP-S-TICKS.....	118
V. PRINCIPE DE L'EVALUATION STATISTIQUE.....	119
VI. RESULTATS ET DISCUSSION	120
CONCLUSION.....	127
BIBLIOGRAPHIE	129
ANNEXES	137
Annexe 1: Calendrier du projet leptospirose.....	138
Annexe 2: Questionnaire de l'enquête	140
Annexe 3: Protocole du test dipstick commercialisé	143
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	147
LISTE DES ABREVIATIONS	149

INTRODUCTION

La leptospirose est une zoonose extrêmement répandue dans les régions tropicales. Dans le Pacifique Sud, cette maladie occasionne plus de 5 000 infections humaines chaque année. Selon l'Institut Pasteur de Nouméa, 10% des infections seraient fatales.

En l'an 2000, aux Iles Fidji, une épidémie a engendré 48 décès de leptospirose avérée, ainsi que de nombreuses hospitalisations. Cette année, à la fin de la saison des pluies, de nouveaux cas humains ont été diagnostiqués dans l'archipel.

La leptospirose étant endémique dans la plupart des îles du Pacifique Sud, il arrive que des voyageurs contractent la maladie (ANONYME, 2001; VAN CREVEL *et al.*, 1994), ce qui peut représenter un frein à l'essor touristique de la région.

Bien que des études effectuées sur les populations humaines et animales aient apporté des éléments de base pour la compréhension de l'épidémiologie, le puzzle de la leptospirose dans les îles du Pacifique Sud est encore loin d'être achevé.

Dans ces îles au climat souvent humide, les pratiques agricoles telles que les bananeraies ou encore l'accumulation des déchets ménagers, favorisent la pullulation des rongeurs, réservoirs de leptospires reconnus. Le schéma liant l'infection leptospirosique animale au problème de santé publique n'est pas clairement établi dans cette région du monde. Une fois le cycle épidémiologique élucidé, des mesures de contrôle efficaces pourraient être mises en place.

Après avoir déterminé le contexte de l'élevage, des partenaires et des enjeux dans une première partie, cette étude rappelle les principales caractéristiques de la leptospirose, notamment à Fidji. Elle expose ensuite la première enquête sérologique s'inscrivant au sein d'un vaste programme sur les zoonoses dans le Pacifique, conduit par un organisme international, le Secrétariat général de la Communauté du Pacifique, dont le Service Régional de la Santé Animale est établi à Fidji, théâtre de cette première étude. Les contraintes rencontrées au cours de la mise en place d'un projet d'une telle envergure, et les moyens disponibles pour les contourner dans un pays en voie de développement sont aussi abordés dans cette troisième partie. Les résultats y sont présentés et discutés, particulièrement les principales espèces animales sources d'infection potentielles et les principaux sérovars rencontrés. Une dernière partie est consacrée à l'évaluation d'une méthode de dépistage de la leptospirose canine en conditions matérielles de terrain minimales, avant son utilisation à l'échelle régionale.

**PREMIERE PARTIE : LES FIDJI : PRESENTATION DU
MILIEU ET PROBLEMATIQUE**

I. Présentation du milieu physique

(d'après JONES et PINEIRO, 2000)

1. Localisation

L'archipel des Fidji se situe dans le sud-ouest de l'océan Pacifique, au sud de l'équateur et au nord du tropique du Capricorne. Distantes de 3 160 km de l'Australie au sud-ouest et de 2 120 km de la Nouvelle-Zélande vers le sud, les Iles Fidji souffrent d'un certain isolement géographique.

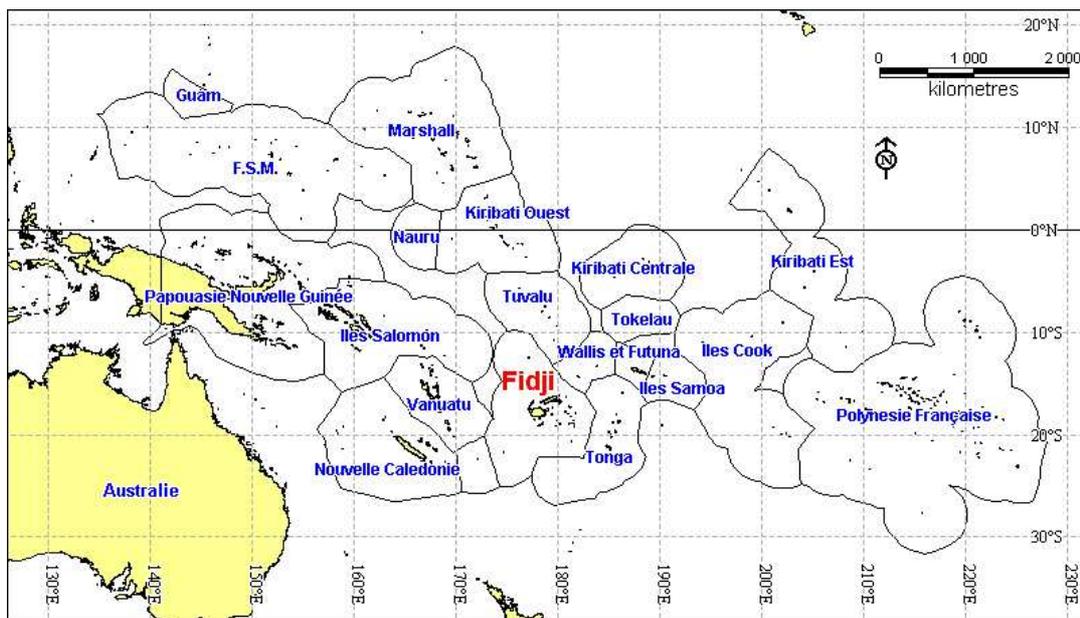


Fig. 1: Situation des Iles Fidji dans la région du Pacifique Sud.

Les limites territoriales des Iles Fidji couvrent plus de 1.3 million de kilomètres carrés, mais moins de 1.5% sont émergés. Les îles couvrent une surface d'environ 18 300 kilomètres carrés, et se dispersent entre le 12^{ème} et le 22^{ème} degré de latitude au sud de l'équateur, et entre la longitude 177 ouest et la longitude 175 est. Le 180^{ème} méridien de Greenwich coupe l'archipel au niveau de Taveuni, mais le fuseau horaire a été déplacé vers l'est des îles pour éviter un décalage horaire au sein du pays.

L'archipel se compose d'environ 300 îles. Leur taille varie, depuis des îlots coralliens de quelques mètres de diamètre jusqu'à l'île principale de Viti Levu qui s'étend sur 10 390 km².

Vanua Levu est la seconde plus grande île de l'archipel, avec une surface de 5 538 km². Seulement un tiers des îles est habité, du fait de l'éloignement ou du manque d'eau douce.

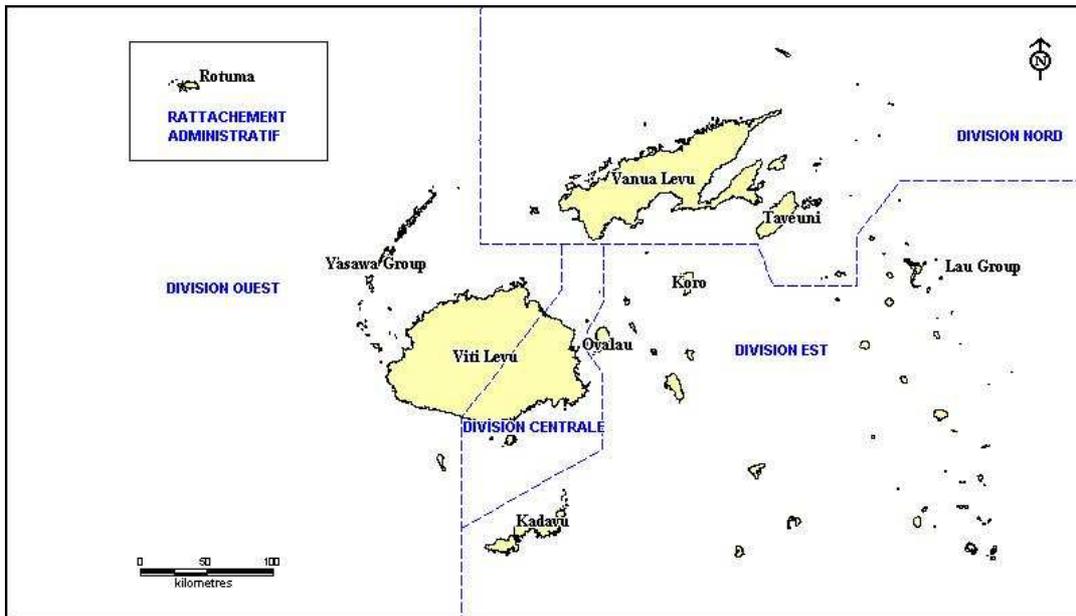


Fig. 2: Les Iles Fidji.

L'éparpillement des terres conduit à un isolement de chaque île et complique l'administration, la communication, le transport, les échanges économiques, l'accès à l'éducation et aux soins médicaux de base.

L'insularité permet une évolution autonome et indépendante de chaque île, et aboutit à une hétérogénéité physique, climatique mais aussi culturelle. Pour simplifier, on regroupe dans un même ensemble les terres hautes, comme Viti Levu, Vanua Levu, Taveuni et Kadavu, que l'on oppose aux îles plus petites souvent rassemblées en groupes, comme les Yasawa ou les Lau.

2. Relief

Mise à part Kadavu et les îles de la mer de Koro, l'ensemble des îles Fidji appartient à une même plate-forme sous-marine en forme de fer à cheval, directement sous l'influence de la zone d'activité volcanique de subduction de la plaque océanique Pacifique. Les éruptions volcaniques, soulèvements, affaissements et les différents processus d'érosion, ont construit et

façonné l'archipel à partir de roche volcanique et de sédiments déposés sur l'ancienne plateforme, et contribué à donner à Fidji une formation géologique assez complexe.

On distingue trois types de formation à Fidji: corallienne, calcaire et, le plus fréquemment, volcanique.

Les îles coralliennes se situent souvent dans des endroits protégés par les barrières de corail. Elles sont formées par l'accumulation de sable et de fragments de coraux, déposés par les vagues et les vents. Ces îles accueillent une végétation simple mais luxuriante, essentiellement composée de palmiers, d'arbustes, de lianes et d'herbes, qui s'agence souvent en mangroves, protectrices des plages de sable blanc. Sur ces îles, le principal facteur limitant est l'approvisionnement en eau douce, entièrement dépendant d'un système de puits. De plus, le sol n'étant pas fertile, seuls des établissements touristiques s'établissent sur de telles îles, dans le groupe des Yasawas notamment.

Les îles calcaires ont l'aspect caractéristique d'amas de rochers émergés de l'océan. Une dépression centrale forme généralement un bassin, entouré de collines fertiles. Le groupe des Lau compte quelques îles de ce type.

Les îles volcaniques ont généralement un relief montagneux, avec des séries de collines de forme conique, d'où leur dénomination d'îles « hautes ». Les pics montagneux sont les vestiges d'anciens volcans, et des coulées de lave cristallisée rejoignent les côtes en formant des crêtes. Entre ces arêtes, s'étalent de vertes vallées, alors que des plages et des mangroves se partagent le littoral. On trouve des plaines au creux des vallées seulement, le long des rivières de la plus grande île. La côte au vent connaît des précipitations importantes et présente un vaste couvert forestier. La côte sous le vent abrite des prairies avec quelques bosquets épars.

Le cadre de cette étude se limite à l'île de Viti Levu, qui semble être la formation la plus ancienne de l'archipel. Elle possède le plus haut pic des Fidji, le mont Victoria, culminant à 1323 m, et situé au nord-est de la chaîne montagneuse divisant l'île. L'érosion y a creusé des vallées, au fond desquelles quatre rivières s'étalent, se terminant par de larges deltas. Les alluvions déposées permettent une production agricole localisée dans les vallées et sur les plaines côtières de Viti Levu et de Vanua Levu, qui présente le même profil géographique.

3. Climat

Le climat des Iles Fidji est de type tropical humide, assez stable tout au long de l'année. La principale raison de cette homogénéité est l'immense étendue de l'océan entourant les îles. A l'inverse des masses terrestres importantes qui peuvent changer de température en quelques heures seulement, et causant des perturbations atmosphériques locales, la surface de l'océan régule lentement l'atmosphère, en douceur.

Il y a cependant des variations locales. Les chaînes montagneuses des îles hautes comme Viti Levu et Vanua Levu interdisent le passage des vents dominants d'est et de sud-est. Ceci se traduit par des nuages fréquents et des précipitations importantes sur la côte orientale des îles. Les flancs nord-ouest de Viti Levu, Vanua Levu et de Taveuni, à l'abri des vents, reçoivent de faibles précipitations, et sont plus ensoleillés que les pentes exposées.

Sur les autres îles, plus petites et de faible altitude, les différences sont moins marquées, voire inexistantes. Ces îles offrent souvent un microclimat sec et ensoleillé.

Malgré la distinction entre une saison sèche, de mai à octobre, et une saison des pluies, de novembre à avril, des précipitations surviennent tout au long de l'année. La capitale Suva, typiquement située dans la zone humide à l'est de Viti Levu, reçoit en moyenne 3 100 mm d'eau par an. En comparaison, la moyenne des précipitations de Nadi, établie dans la zone sèche, sur la côte sous le vent de Viti Levu, est de 2 000 mm. Les précipitations les plus importantes tombent de décembre à mi-avril, et pendant cette période, les différences climatiques au sein de chaque île s'atténuent fortement, voire s'inversent. Il peut advenir de violents orages tout au long de l'année, mais le mois de mars est le plus orageux. Bien que située dans la zone cyclonique, Fidji est rarement frappée par les tornades et n'en éprouve qu'une dizaine par décennie, d'importance mineure.

Par ailleurs, la température moyenne annuelle de Fidji oscille autour de 25°C, mais elle peut atteindre 30°C en été et durant les mois d'hiver (juillet et août), le thermomètre peut afficher 18°C. Les écarts de température annuels et journaliers, assez faibles dans l'ensemble, sont plus importants dans les régions sèches que dans les régions humides.

Le taux d'humidité est élevé, avec des moyennes annuelles de 60 à 80% à Suva, et 60 à 70% dans la zone sèche. Pendant les journées chaudes d'été, il peut atteindre 90%.

Les conditions climatiques de Fidji autorisent donc une production agricole continue, et des pâturages suffisants pour permettre un élevage extensif tout au long de l'année. Du fait de l'abondance des précipitations, très peu de systèmes d'irrigation sont construits et l'eau de pluie constitue l'unique source d'abreuvement de la majorité des élevages.

4. Hydrographie

Le régime hydraulique des grandes îles dépend d'une part des rivières, des torrents et des cascades, ainsi que des mangroves près des côtes.

En amont, le débit des cours d'eau est entièrement conditionné par les pluies et des crues peuvent survenir surtout en saison des pluies. En aval, les marées importantes peuvent générer l'inondation des vallées et une montée du niveau de l'eau dans les mangroves, modifiant sa salinité. Lorsque les eaux se retirent des zones côtières, de grandes mares d'eau saumâtre persistent dans les vallées. En bouleversant les paramètres physico-chimiques de ces milieux, ce genre d'événement pourrait avoir un impact potentiel sur le cycle épidémiologique de la leptospirose.

5. Flore et faune

- *Flore*

Parmi les 3000 espèces végétales recensées, un tiers est endémique à Fidji. La flore indigène est exploitée principalement pour l'alimentation, ses propriétés médicinales, l'artisanat, ainsi que pour la construction des habitations.

La végétation des régions plus humides diffère considérablement de celle des régions sèches de l'intérieur des terres et est elle-même très diversifiée. De façon générale les régions humides se caractérisent par une forêt vierge abondante et luxuriante. Ce couvert forestier primaire occupe encore 40% du territoire fidjien, auquel s'ajoutent des zones reboisées pour l'exploitation commerciale (25%).

Les zones sèches occidentales étaient autrefois très certainement recouvertes de forêts, mais, les feux pour dégager des parcelles cultivables et l'érosion naturelle ont laissé la place aux prairies et aux broussailles. Ces sols se répartissent maintenant en terres arables (10%), prairies permanentes (10%) et cultures tout au long de l'année (4%).

Malgré l'abondance de la végétation, sa valeur nutritive est limitée. Pour pallier ces carences, les élevages commerciaux importent des aliments complets. Les petits élevages compensent cette faible valeur alimentaire par une conduite d'élevage extensive dans de vastes prairies en friche.

Fidji possède une vaste zone de mangrove, végétation caractéristique des littoraux soumis aux marées, distribuée en zones irrégulières, essentiellement dans les estuaires des principales rivières et le long de leurs deltas.



Fig. 3: Mangrove.

Cet écosystème protège les côtes des vagues, et forme une zone tampon entre l'eau douce des rivières et l'eau salée de l'océan, d'où découlent des conditions de pH et de salinité particulières. Ses eaux saumâtres abritent une faune abondante (crevettes et stades juvéniles de poissons) et représentent une source de nourriture pour la vie aquatique (LAL et FORTUNE, 2000).

- *Faune terrestre*

Du fait de l'éloignement de l'archipel des autres terres, la faune indigène de Fidji n'est pas très diversifiée.

Six espèces de chauves-souris représentent les seuls mammifères terrestres indigènes. La plus célèbre, du genre *Pteropus* et connue sous le nom fidjien de *beka*, est frugivore et arboricole. On trouve aussi deux espèces insectivores dans les grottes.

Tous les autres mammifères terrestres ont été introduits. La petite mangouste indienne (*Herpestes javanicus auropuncatus*), animal sauvage le plus courant sur Viti Levu et Vanua Levu, a été importée pour contrôler les populations de serpents dans les plantations de cannes à sucre. Face au manque de compétition intraspécifique et grâce à son fort potentiel adaptatif, la mangouste s'est bien implantée aux Fidji.

Trois espèces de rat ont également été introduites. Au XIX^{ème} siècle, les Européens apportèrent sur les bateaux le rat (*Rattus rattus*) ainsi que la souris des maisons *Mus musculus*. Le rat du Pacifique (*Rattus exulans*) fut emmené à Fidji bien plus tôt, certainement pour la consommation humaine.

Il y a 3500 ans, les premiers colonisateurs en provenance du Sud-Est Asiatique introduisirent des volailles ainsi que probablement des chiens et des porcs. Ce sont les seuls animaux domestiques pré-Européens. Certaines espèces domestiques, comme les cochons importés de Polynésie ou les chèvres des missionnaires catholiques, sont depuis retournées à l'état semi-sauvage.

Selon LAL et FORTUNE (2000), les Iles Fidji recensent vingt espèces de reptiles terrestres : lézards, serpents et tortues.

L'iguane à crête (*Brachylophus vitiensis*), tardivement identifié en 1979, est présent sur certaines îles des Yasawas. Le Sud Asiatique ne comprenant aucune espèce d'iguane à crête, on pense que les ancêtres de celui-ci auraient flotté jusqu'à Fidji, sur des branches de végétation, depuis l'Amérique du Sud. Une deuxième espèce d'iguane, l'iguane marin (*Brachylophus fasciatus*) se rencontre à Fidji et dans d'autres îles du Pacifique Sud.

Sept espèces de lézards de la famille des Gekkonidae, communément appelés « geckos », vivent sur Fidji.

L'archipel dénombre deux espèces de serpents terrestres : le boa du Pacifique (*Engyurus bibronii*) et le serpent *bolo loa*, unique et dangereux représentant de la famille des cobras à

Fidji (*Ogmodon vitianus*). Quatre serpents aquatiques appartenant à la famille des Hydrophiidae, cohabitent avec quatre espèces de tortues dans les eaux fidjiennes.

Les amphibiens sont représentés par le crapaud des cannes à sucre (*Bufo marinus*), importé des îles Hawaii en 1936 pour contrôler les populations d'insectes dans les plantations. Dans sa position de nuisible, il entre maintenant en compétition avec les grenouilles indigènes dans les régions côtières et de faible altitude.

Parmi la centaine d'espèces d'oiseaux présentes à Fidji, seules 23 sont endémiques.

Les Iles Fidji sont un paradis pour toutes sortes d'insectes, dont certaines espèces n'ont même pas encore été répertoriées.

II. Eléments sur la société fidjienne

(d'après JONES et PINEIRO, 2000)

1. Les autorités fidjiennes

Les Iles Fidji ont obtenu leur indépendance le 10 octobre 1970, après 96 années d'administration britannique.

La République des Iles Fidji est sous l'autorité d'un régime parlementaire, inspiré du schéma britannique. Le président de la République est élu pour 5 ans parmi le Conseil des chefs et doit être obligatoirement un Fidjien de souche. Actuellement, le chef de l'Etat en place est *Ratu Josefa Iloilovatu Uluivuda*. Son Premier ministre, *Laisenia Qarase*, est à la tête de 16 ministères, dont notamment le Ministère de l'Agriculture (Ministry of Agriculture, Sugar and Land Resettlement ou MASLR), et le Ministère de la Santé.

Le pays se partage en quatre régions administratives et politiques ou divisions : Ouest, Nord, Sud et Centre. Rotuma est administrativement rattachée à la division Centre.

Parallèlement à l'administration gouvernementale, existe un système de chefferie traditionnelle : le Grand conseil des chefs (*Bose Levu Vakaturaga*). Le Grand conseil des chefs réunit aussi bien des membres du gouvernement administratif que des chefs de province désignés. Il tient un rôle de conseil auprès du Président de la République et administre les questions relatives à la propriété de la terre et au droit commun.

Fidji est divisée en 14 provinces (*yasana*) qui délimitent des clans familiaux. Chaque province est représentée par un grand chef, et se divise en sous-provinces (*tikina*), regroupant chacune plusieurs villages (*koro*). Le village est l'unité administrative fidjienne de base. Dans chaque village, un chef (*turaga-ni-koro*), désigné par les anciens parmi une lignée de chefs, gère les affaires courantes.

2. La dualité de la population fidjienne

(chiffres d'après Fiji Islands Bureau of Statistics, 2002)

La population totale des îles Fidji est estimée lors du dernier recensement de la population (1996) à 775 077 personnes, dont 75% vivent sur l'île principale.

Sur Viti Levu, la population se concentre majoritairement autour des pôles urbains de Suva, Nadi et Lautoka, ainsi que dans les zones de plantation de canne à sucre de Rewa et de Ba.

La population des îles Fidji, la plus cosmopolite du Pacifique Sud, se répartit essentiellement entre deux ethnies : les Fidjiens indigènes et les Indo-Fidjiens.

3. Le système de hiérarchie traditionnelle

Bien que Fidji ait été sous gérance britannique, les Fidjiens indigènes ont su conserver des bases culturelles traditionnelles.

La société fidjienne actuelle reste centrée sur les *mataqali*, familles au sens élargi du terme. Un chef de village (*turaga-ni-koro*) est à la tête de chacune. Ce statut se transmet de façon héréditaire mais complexe au sein des lignées de chefferie, et le titre employé est *Ratu* pour un homme, *Adi* pour une femme.

Le *mataqali* représente également l'unité foncière, qui a permis le découpage des terres lors de l'occupation britannique. La propriété foncière est collective mais le chef gère la répartition des terres, et alloue à chaque famille des champs pour le labour. Un système de rotation des travailleurs sur les terres distribue le travail équitablement tout au long de l'année.

4. L'affirmation de l'identité culturelle de la communauté indienne

Les Indo-Fidjiens représentent 48% de la population totale (Ministry of Agriculture, Fisheries, Forests, 1999). Ils descendent, pour la plupart, d'ouvriers agricoles émigrés à Fidji vers la fin du 19^{ème} siècle pour échapper au système traditionnel des castes en Inde.

Chaque famille indo-fidjienne vit dans un hameau, et les hameaux n'ont pas de lien spécifique entre eux. Il n'existe pas de vie communautaire à proprement parler : les valeurs familiales sont plutôt individualistes.

5. Ressources et activités économiques

(d'après LAL et FORTUNE, 2000, et chiffres PANDA 2002, avec l'aimable autorisation de l'Ambassade de France)

L'archipel des Fidji oriente son économie vers les échanges depuis de nombreuses décennies, et ses partenaires privilégiés sont l'Australie, les Etats Unis d'Amérique, le Royaume Uni ainsi que les autres îles du Pacifique, la Nouvelle-Zélande et le Japon dans une moindre mesure.

Les principaux postes du commerce extérieur sont : le sucre, le tourisme, le bois, la pêche, l'or et le textile.

L'agriculture est le secteur d'activité économique dominant. Il compte pour un sixième dans le Produit Intérieur Brut et emploie près de 70% de la population active. Pour des raisons historiques et constitutionnelles, ce secteur est compartimenté en fonction des ethnies qui se partagent le territoire fidjien.

L'agriculture est tournée vers une économie de marché. En effet, Fidji est membre de l'Organisation Mondiale du Commerce ainsi que du groupe de Cairns qui promeut la monoculture. Néanmoins, elle inclut un secteur substantiel de semi-subsistance dominé par les Fidjiens indigènes ; Fidji appartient effectivement au groupe des Amis de la Polyvalence. Le secteur agricole commercial, essentiellement basé sur le sucre, est surtout contrôlé par les Indo-Fidjiens.

Ces derniers cultivent la canne à sucre sur des terres louées par les Fidjiens autochtones. Les Fidjiens indigènes possèdent en effet 83% des terres et, selon certaines règles de propriété coloniales toujours en vigueur, les Indo-Fidjiens ne peuvent théoriquement pas en être propriétaires.

La production sucrière, pilier essentiel d'une économie florissante pendant la plus grande partie du 20^{ème} siècle, emploie actuellement presque un tiers de la population.

La prospérité de ce secteur est vitale pour l'économie du pays. Outre le fait que l'industrie du sucre pourvoit des taxes pour le gouvernement et des rentes pour les propriétaires des plantations, elle représente également un tiers des exportations du pays.

Le tourisme, établi sur la promotion de la culture fidjienne et de son hospitalité légendaire, ainsi que des traditions du Pacifique Sud et surtout des plages mythiques de cocotiers, attire chaque saison un nombre grandissant de visiteurs.

La plantation intensive de forêts de pins, de santal et d'acajou à grande échelle initiée par les colons anglais, a permis le développement d'une industrie du bois tournée vers l'exportation après les années 1960 (à hauteur de 5.4% du total des marchandises exportées).

Les Iles Fidji disposent de ressources poissonnières considérables. Les produits de la pêche participent à 5.4% des exportations du pays, notamment le thon, l'espadon, la bêche-de-mer, les ailerons de requins et les coquillages du genre *Trochus*.

Le sous-sol recèle des minerais qui sont exportés, comme l'or et le cuivre (7.8% des exportations).

L'industrie de la confection s'est rapidement développée grâce à l'instauration en 1987 de zones détaxées, uniques dans les îles du Pacifique. Elle contribue à 33.4% des exportations du pays.

III. Elevage

Sur les bases de l'enquête agricole menée en 1999 par le MASLR, les effectifs de l'élevage à Fidji sont estimés ci-dessous, suivis des chiffres présentés par l'Animal Health Yearbook de 1995 :

Tabl. 1: Effectifs de l'élevage à Fidji.

Espèce	Bovins	Caprins	Ovins	Porcins	Equins	Volailles
Effectif 1999	285 000	250 000	-	92 000	-	764 000
Effectif 1995	393 000	211 000	7 000	121 000	43 000	3 000

220 apiculteurs possèdent 4 500 ruches regroupées sur Viti Levu, Vanua Levu et Ovalau. Les Iles Fidji produisent 120 tonnes de miel par an.

On constate que l'élevage fidjien est diversifié et s'organise sur plusieurs niveaux. En l'absence de donnée bibliographique disponible, cette classification s'appuie sur nos observations.

1. Les fermes commerciales

Actuellement, le secteur commercial de l'élevage est en pleine évolution. Les grandes fermes englobent les plus petites et prennent le contrôle des marchés. Cette branche de l'agriculture fidjienne se transforme en « agribusiness ».

Cette restructuration a commencé avec l'industrie des volailles. En une vingtaine d'années, les producteurs de poulets de chair ont laissé la place à une entreprise leader qui approvisionne la totalité du marché local et assure aux Iles Fidji une autosuffisance.

Le secteur des poules pondeuses connaît actuellement la même évolution.

L'élevage des porcs totalise 1 700 truies reproductrices issues de croisements entre les races Land race, Large White et Vietnamiennne, réparties principalement en 3 grandes fermes privées et une entreprise gouvernementale. Elles comptent entre 250 et 350 truies reproductrices qui ont une productivité de 7 à 8 porcelets par truie et par an, la moyenne nationale se situant autour de 4 porcelets par truie et par an. Les petits producteurs, disposant

de troupeaux de 20 à 70 animaux, sont progressivement écartés du marché : le secteur porcin est aussi en pleine transformation.

L'industrie porcine est intégrée verticalement : les grandes exploitations possèdent autour de 450 porcs à l'engrais, nés dans la ferme, et leurs abattoirs ont un débit de 65 porcs par semaine. 25% des carcasses sont vendues directement à l'occasion de cérémonies religieuses ou traditionnelles. Le reste de la production est transformé à l'abattoir et approvisionne essentiellement les supermarchés. 5% des produits transformés fournissent l'hôtellerie touristique. 15 à 20% des produits porcins sont cependant importés, du fait de la diminution des taxes après le coup d'état du 19 mai 2000.

Les logements des porcs sont modernes : les bâtiments sont en béton, le plus souvent avec une allée centrale et des stalles de part et d'autre. Les différents ateliers sont regroupés dans un même bâtiment et aucun système de clôture du périmètre n'est envisagé afin de prévenir les contacts avec la faune sauvage.

Les élevages hors-sol, volaille et porcs, importent leurs aliments et ont une intégration verticale, ce qui réduit les risques de contaminations croisées.

Les exploitations laitières sont concentrées dans la Division Centrale et 40% des fermes rassemblent 70% des animaux issus de croisements multiples entre les races Prim'Holstein, Jersey, Santa Gertrudis et Hereford. Le gouvernement fidjien est très impliqué dans l'industrie laitière. Quelques grosses exploitations ont des troupeaux de 150 à 200 vaches laitières et produisent 80% de la production laitière, à raison de 10 litres de lait produits par vache et par jour. Les 20% de la production restants sont fournis par 150 petites fermes, avec une moyenne de 6.5 litres par vache et par jour. La Rewa Cooperative Dairy Corporation se partage la collecte du lait avec un autre réseau de laiteries appelé Milk Town Supplier. Cependant, 90% des produits laitiers sont importés car la production nationale est insuffisante.

De façon générale, les bovins pâturent dans des prairies permanentes fermées. La qualité des pâtures, malgré les programmes d'amélioration menés par le gouvernement ou la Rewa Dairy, reste très médiocre en raison des nombreux adventices. La supplémentation des vaches en lactation est souvent insuffisante car mal équilibrée. Les problèmes de gestion zootechnique contribuent à limiter fortement la réussite de ce secteur de l'élevage à Fidji.

Les pâtures peuvent être clôturées ou délimitées par un cours d'eau, que les bovins traversent bi-quotidiennement à l'heure de la traite, quand les éleveurs les rassemblent à cheval et à l'aide de chiens. Le reste du temps, les chevaux sont intégrés au troupeau.



Fig. 4: Exploitation laitière à l'heure de la traite. (crédit : gwen)

Les exploitations sont concentrées dans la division Centrale où le climat est particulièrement humide et les prés régulièrement détrempés. L'absence de système de drainage favorise les collections d'eau saumâtre qui représentent alors un milieu favorable à la survie des leptospires.

De plus, les animaux disposent rarement d'abreuvoirs et doivent le plus souvent s'abreuver dans les petits cours d'eau qui traversent les pâtures.



Fig. 5: Traversée de la rivière au moment de la traite.

Les exploitations de bovins de races bouchères se concentrent dans la division Ouest et comptent en moyenne 54 animaux par ferme. Les plus importantes de ces fermes abattent 6 animaux par semaine.

La conduite d'élevage dominante est pratiquée en pâturages extensifs conduisant à une exposition aux facteurs de risque similaire à celle des bovins laitiers.

Sur Taveuni et Savusavu, quelques rares ranches fonctionnent en pâturages sous cocoteraies. Néanmoins le marché de la viande de qualité est extrêmement réduit à Fidji et représente à peine 10% du marché de la viande bovine. La majorité des animaux vendus en boucherie sont des animaux de réforme provenant d'exploitations laitières.

Un projet d'amélioration de la race bovine (croisements de Limousine et de Santa Gertrudis) a été mis en place au ranch de Yaqara (au nord de Viti Levu), en collaboration avec la France, mais souffre régulièrement de sécheresse.

Les fermes commerciales de chèvres se rassemblent dans les Divisions Ouest et Nord et surtout sur l'île de Kadavu. La viande de chèvre n'occupe que 1% du marché, l'élevage commercial est donc restreint. Les pratiques religieuses indo-fidjiennes utilisent ces animaux pour le sacrifice et un important marché d'animaux sur pieds est constitué de manière informelle.

Les exploitations commerciales ovines ne sont pas nombreuses : les pratiques culinaires fidjiennes et indo-fidjiennes utilisent seulement les bas morceaux, importés à moindre prix de Nouvelle-Zélande. Les fermes de moutons à Fidji produisent de la viande de qualité, dont le marché une fois encore est très limité.

Un projet d'amélioration génétique a conduit à l'établissement d'une race de moutons fidjiens (P. Manuelli).

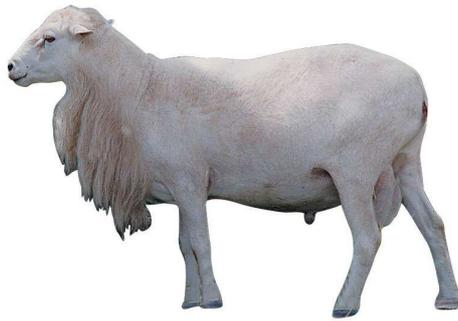


Fig. 6: La race ovine fidjienne.

2. L'approvisionnement des marchés par les villages

Dans certains villages, un élevage semi-commercial alimente les marchés locaux en produits d'origine animale mais surtout en animaux sur pied (poules, bovins et porcins).

Ces villages possèdent donc de façon plus ou moins communautaire des troupeaux où tous les animaux sont conduits selon le même mode. Les éleveurs s'occupent cependant individuellement de leurs animaux.

Les troupeaux de bovins de races bouchères peuvent compter jusqu'à une centaine de têtes par village. Les animaux pâturent dans les champs en friche et sur le bord des routes pendant la journée. Ils s'abreuvent dans les flaques d'eau stagnante, ré-alimentées par les précipitations fréquentes.

Il existe parfois des corrals communs où les animaux sont parqués la nuit.



Fig. 7: Parc communal.

Le sol de ces enclos est boueux, du fait du piétinement des animaux associé aux conditions climatiques humides. Les bovins présentent le même risque de contamination et de dissémination leptospirosique.

Les troupeaux de chèvres dépassent rarement une quarantaine d'animaux. La conduite d'élevage et par conséquent les risques de contamination et de transmission de la leptospirose, sont comparables à celle des bovins.

3. L'élevage de subsistance

Ce mode d'élevage est le plus répandu à l'échelle familiale. Une famille fidjienne possède souvent un nombre réduit d'animaux, qui sont engraisés pour être abattus à l'occasion de cérémonies traditionnelles (*magiti*) comme les mariages, les deuils ou les naissances auquel s'ajoute une paire de bœufs de trait quand il s'agit d'agriculteurs.

Dans les plantations de canne à sucre tout comme dans les villages, les bœufs de labour (souvent de race *Bos indicus*) sont élevés et travaillent par paires. Quand ils ne sont pas au labour, ils pâturent dans les champs en friche ou sur le bord des routes, attachés avec une corde par les cornes ou au travers de la cloison nasale.



Fig. 8: Bœuf de labour.

Les **bovins** de race bouchère et les chevaux connaissent un mode d'élevage similaire. Les ruminants et les équins ont donc une conduite d'élevage rudimentaire très proche de la divagation, ce entraîne une dissémination incontrôlable des agents pathogènes dans le milieu. Les animaux peuvent se contaminer dans les champs marécageux, aux abords des points d'eau naturels, dans les enclos ou sur le bord des routes.



Fig. 9: Point d'eau naturel utilisé par les animaux. (crédit : gwen)

Les chevaux sont utilisés aussi bien pour le trait que comme moyen de transport. Ils sont donc amenés à fréquenter des zones plus étendues que les bovins. La dissémination des agents pathogènes s'accomplit donc dans différents milieux. De même la contamination des équins peut avoir lieu lors des traversées des étendues d'eau stagnantes, fréquentes à Fidji.



Fig. 10: Le cheval est un moyen de transport.

Il existe deux grands types de modes d'élevage familial des porcs dans les îles Fidji: divagation ou parcage dans des parcs en terre, des cases en bois ou sur dalles de béton.

En bord de mer les cochons divagent le plus souvent, ce qui a l'avantage de compenser certaines carences de l'alimentation, notamment en trouvant un complément protéique dans les coquillages. La même observation est faite pour les porcelets dans les villages, souvent laissés en liberté. La divagation des porcs s'accompagne des mêmes considérations de contamination et de dissémination que précédemment. De plus, les porcs vagabondent dans le village où il n'y a pas de maîtrise de l'endroit pollué, notamment les terrains de jeux ou de baignade des enfants. Ceci amplifie les possibilités de dissémination de la leptospirose et pose véritablement un problème de santé publique.

Lorsqu'une route passe à proximité du village, les porcs sont parqués des enclos de types variés.

Les parcs en terre sont les plus fréquents, la clôture peut être faite de grillage ajouré, de fil de fer barbelé, de plaques de tôle ou de planches de bois.



Fig. 11: Parc à cochons en terre.

Les cages en bois sont en général de petite taille et sur pilotis : fabriquées à partir de palettes, ce sont des structures économiques.



Fig. 12: Cage en bois.

L'usage des dalles en béton est généralement réservé au chef du village ou aux plus grands effectifs d'animaux. Ce sont, le plus souvent, des parcs collectifs subdivisés en stalles. Les systèmes d'évacuation ou de récupération des effluents sont rares.

Les porcs sont généralement parqués en périphérie du village mais sans considération sur le risque de pollution, ce qui amène parfois à installer les enclos au-dessus du village. Le lessivage des sols amène alors directement l'urine au centre du village, donc au niveau des

terrains de jeux des enfants. La concentration des animaux conduit naturellement à une concentration des urines et les charges de leptospires infectantes sont rapidement atteintes.

La faune sauvage, notamment les rats et les mangoustes, entre en contact direct ou indirect, avec toutes les espèces animales dans tous les types de logement présentés ci-dessus. La lutte contre les rongeurs est souvent disparate et ne concerne que quelques villages particulièrement informés. La faune sauvage représente donc une source de dissémination et un moyen de contamination efficace des animaux domestiques et de leur environnement.

La population canine connaît une explosion démographique à Fidji et les chiens envahissent autant les zones rurales que les agglomérations urbaines. Une tentative de régulation de la population canine est réalisée par la Society for the Prevention of Cruelty to Animals (SPCA). Elle effectue des campagnes de piégeages des chiens errants, suivis de leur stérilisation. Parmi les nuisances perpétrées, la transmission potentielle de maladies zoonotiques telles que la leptospirose tient une place préoccupante.

IV. Contexte de l'accueil

1. Le Secrétariat général de la Communauté du Pacifique

(information réunie à partir du site Internet du Secrétariat général de la Communauté du Pacifique)

Fondée en 1947 en Australie avec la signature des Accords de Canberra entre l'Australie, la France, les Pays-Bas, la Nouvelle Zélande, le Royaume-Uni et les Etats-Unis d'Amérique, la Commission du Pacifique Sud compte actuellement 22 membres parmi les pays et territoires du Pacifique. Depuis 1998, l'organisation est rebaptisée Secrétariat général de la Communauté du Pacifique.

La CPS est une organisation non gouvernementale internationale de consultants, qui fournit une assistance technique scientifique et de recherche dans des domaines variés. Elle représente la première organisation régionale technique de développement économique et social dans le Pacifique.

Les quartiers généraux de la CPS sont établis à Nouméa, en Nouvelle Calédonie, et une antenne comprenant l'ensemble des services de l'Agriculture, dont le Service Régional de la Santé Animale (SRSA), est basée à Suva, Fidji.



Fig. 13: Les quartiers de la CPS à Suva.

Ce service fournit assistance et conseil aux membres de la CPS sur toutes les questions se rapportant à la santé animale et à la mise en quarantaine.

Il met sur pied des enquêtes de santé animale pour les maladies ayant un impact économique ou soulevant un problème de santé publique. Ces informations sont alors prises en compte pour l'élaboration de programmes de lutte. Son réseau de relations facilite les accès à des laboratoires équipés pour les analyses et les diagnostics nécessaires.

Dans le domaine de la santé publique, le SRSA s'intéresse particulièrement aux maladies transmises par les rongeurs. En effet, les pratiques agricoles dans ces îles au climat tropical humide ou encore l'absence de traitement des déchets favorisent la pullulation de ces vecteurs. Un vaste programme, entièrement consacré aux zoonoses telles que la leptospirose, la trichinellose et l'angiostrongylose, est initié cette année.

Le SRSA dispose d'un mandat régional pour assister les programmes de promotion du bien-être animal et de contrôle de la population de chiens errants.

Le SRSA conduit une campagne d'éducation des populations ciblant le traitement des déchets ménagers.

Le SRSA se compose de trois vétérinaires d'horizons différents et aux compétences complémentaires.

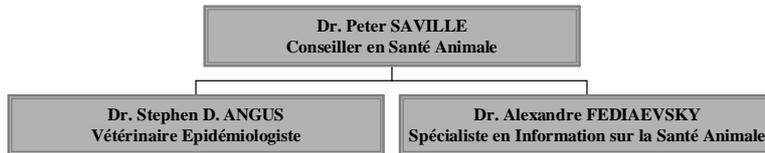


Fig. 14: Organigramme du Service Régional de Santé Animale.



Fig. 15: De gauche à droite, Peter Saville, Steve Angus et Alexandre Fediaevsky.

2. Ministère de l'Agriculture : Ministry of Agriculture, Sugar and Land Resettlement (MASLR)

(information réunie d'après AHP, 2001)

Le MASLR est actuellement en pleine restructuration. Jusqu'à présent, les services de Santé Animale et de Productions Animales étaient sous la tutelle d'un même directeur de division Animal Health and Production (AHP). La majorité des stations de la division AHP du MASLR sont centralisées à Suva et quelques-unes sont dispersées sur Viti Levu (Sigatoka, Lautoka et Nadi principalement).

La division AHP formule des politiques de développement de l'élevage spécifiques à chaque secteur ainsi que des programmes de promotion des fermes industrielles tournées vers l'exportation.

Elle fournit des programmes de formation des éleveurs aux bonnes pratiques d'élevage. Des campagnes de vulgarisation visent également à minimiser les pratiques illégales d'abattage

des animaux, de vente, de transformation et de transport des produits animaux ou d'origine animale.

La division AHP propose un accès facilité aux moyens de recherche améliorant la qualité des productions industrielles. Elle a un rôle de consultant et fournit une assistance technique pour améliorer la sécurité alimentaire des produits d'origine animale.

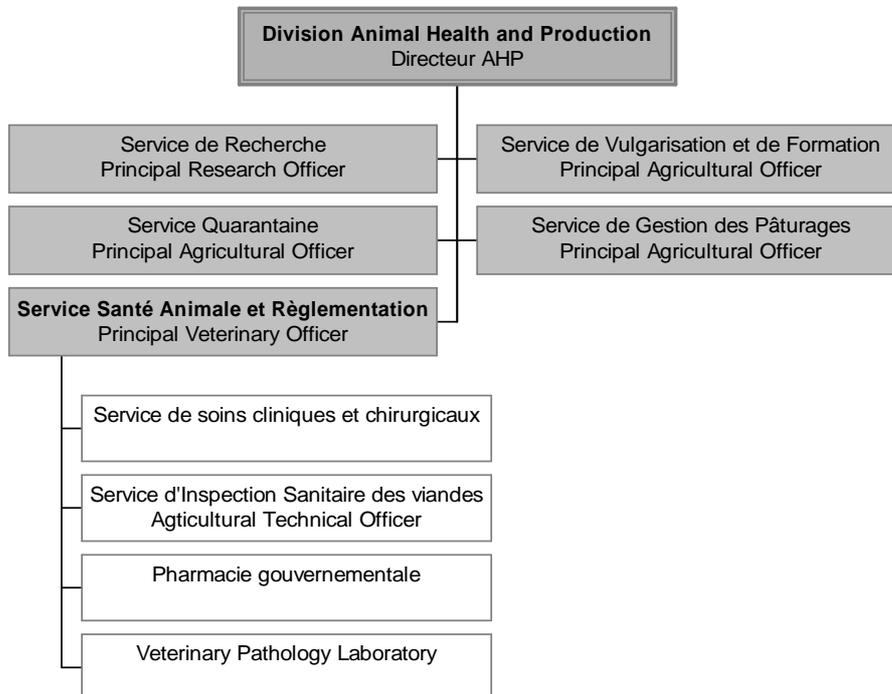


Fig. 16: Organigramme de la division Animal Health and Production du MASLR.

La division AHP dispose d'un service de Santé Animale et de Règlementation.

Les services vétérinaires fournissent une assistance technique de diagnostic et de soins cliniques et chirurgicaux pour réduire l'impact des pathologies sur la santé animale et sur la productivité. Ceci inclut également la fourniture de médicaments par la pharmacie gouvernementale et l'accès au laboratoire d'anatomopathologie (Veterinary Pathology Laboratory).

Le service de Quarantaine propose des mesures de maintien et d'amélioration du statut sanitaire du pays et prévient l'introduction de maladies exotiques sur le territoire.

Un projet de décentralisation est en train de se concrétiser, remettant en cause l'organisation générale de la division AHP en individualisant les services de Santé Animale de ceux de

Productions Animales. Cependant, seul le service de Productions Animales est décentralisé au niveau de chaque division avec un directeur à la tête de chacune. Le service de Santé Animale ne compte pas suffisamment de vétérinaires pour subir la même transformation, Fidji ne compte en effet qu'une petite dizaine de docteurs vétérinaires qui sont formés en Australie ou en Nouvelle-Zélande.

Les services vétérinaires se retrouvent donc isolés et presque encore plus centralisés qu'avant, leurs relations avec les techniciens de terrain des Productions Animales ayant disparu.

Effectivement, aucun des vétérinaires travaillant pour le MASLR n'est véritablement associé à une pratique clinique et les relations avec les réalités de l'élevage risquent de s'affaiblir considérablement.

Un seul vétérinaire, détaché par le Ministère auprès de la SPCA, exerce une activité clinique pour les animaux de compagnie.

3. Le Ministère de la Santé

L'organisation du Ministère de la Santé n'a pas pu être établie avec précision.

Par exemple, l'enquête de séro-prévalence de la leptospirose humaine dans les villages ayant déclaré des cas cliniques en avril 2002 a été menée par le National Center for Scientific Services for Virology and Vector Borne Diseases. Mais les liens hiérarchiques reliant ce service, les quartiers généraux du Ministère et les infrastructures de terrains (dispensaires et hôpitaux) n'ont pas pu être établis. Ceci est en relation avec les défauts de collaboration du Ministère de la Santé évoqués ultérieurement.

**DEUXIEME PARTIE : LA LEPTOSPIROSE HUMAINE ET
ANIMALE**

I. Définition

La leptospirose est classée parmi les maladies de la liste B de l'Office International des Epizooties : « Maladies transmissibles qui sont considérées comme importantes du point de vue socio-économique et/ou sanitaire au niveau national et dont les effets sur le commerce international des animaux et des produits d'origine animale ne sont pas négligeables.

Ces maladies font également l'objet d'un rapport annuel, mais dans certains cas, selon la périodicité prévue par les dispositions des articles 1.1.3.2 et 1.1.3.3 du *Code zoosanitaire international*, elles peuvent faire l'objet de rapports plus fréquents. »

La leptospirose est reconnue en tant qu'entité pathologique depuis bien longtemps. Elle est nommée différemment selon les régions : maladie du porcher, fièvre des rizières, maladie du coupeur de canne, fièvre de vase, fièvre des marais...

Il y a seulement 116 ans, Weil donnait son nom à cette maladie humaine, responsable de splénomégalie, d'ictère et de pathologies rénales. Vingt ans plus tard, le micro-organisme en cause était isolé. Peu de temps après la mise en évidence du pathogène au Japon, le rôle de porteur était attribué au rat. Cette observation importante a ouvert la porte à la compréhension des principes épidémiologiques de la transmission de la leptospirose, et a permis l'élaboration de mesures sanitaires de contrôle.

Au cours de la période de 1920 à 1960, les animaux, domestiques et sauvages, ont été reconnus comme source d'infection. Rapidement, l'étendue de l'implication de la leptospirose dans les infections zoonotiques a été appréciée. Une association entre la maladie et l'environnement a été pressentie un peu plus tard sans être réellement clarifiée. (FAINE *et al.*, 1999).

Depuis, plusieurs leptospires ont été identifiées comme à l'origine de syndromes divers et variés, autant chez l'homme que chez les animaux.

II. Etiologie

1. Bactériologie

(d'après FAINE *et al.*, 1999)

- *Taxonomie*

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

Le genre *Leptospira* est un des genres de la famille des *Leptospiraceae* placée dans à l'ordre des Spirochaetales.

O'KEEFE (2002) rappelle que jusqu'en 1979, le genre *Leptospira* se scinde en deux espèces ou complexes : *L. interrogans* regroupent 23 sérogroupes de leptospires pathogènes et *L. biflexa* comprennent les isolats environnementaux, saprophytes. Cette classification repose sur des caractéristiques antigéniques et permet de distinguer plus de 250 sérovars au sein des sérogroupes qui sont associés à des espèces hôtes spécifiques.

Le sérovar représente le taxon de base, admis par la communauté scientifique, et se subdivise en souches. En revanche, le séro groupe n'a aucun statut taxonomique reconnu, mais il reste habituellement utilisé dans certains domaines comme le diagnostic et l'épidémiologie (FAINE *et al.*, 1999).

A partir de 1981, des techniques moléculaires mettent en évidence une hétérogénéité au sein des isolats du genre *Leptospira*.

En 1987, YASUDA *et al.* étudient le génome et décrivent 7 espèces : *L. borpetersenii*, *L. inadai*, *L. meyeri*, *L. nogochii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, et *L. wolbachii*. En 1992, RAMADASS *et al.* proposent l'espèce *L. kirschneri*. En 1998, PEROLAT *et al.* décrivent l'espèce *L. fainei*. BRENNER *et al.* valident la nomenclature de *L. alexandri* en 1999. Ces découvertes suggèrent une réorganisation de la classification du genre basée sur des caractères génétiques plutôt que sur des critères antigéniques. Pour éviter les confusions, les termes *L. interrogans, sensus stricto* ou *L. biflexa sensus stricto* et *L. interrogans, sensus lato* ou *L. biflexa, sensus lato*, se réfèrent respectivement à l'espèce génomique et au complexe sérologique (FAINE *et al.*, 1999).

Le genre *Leptospira* regroupe donc actuellement 12 espèces.

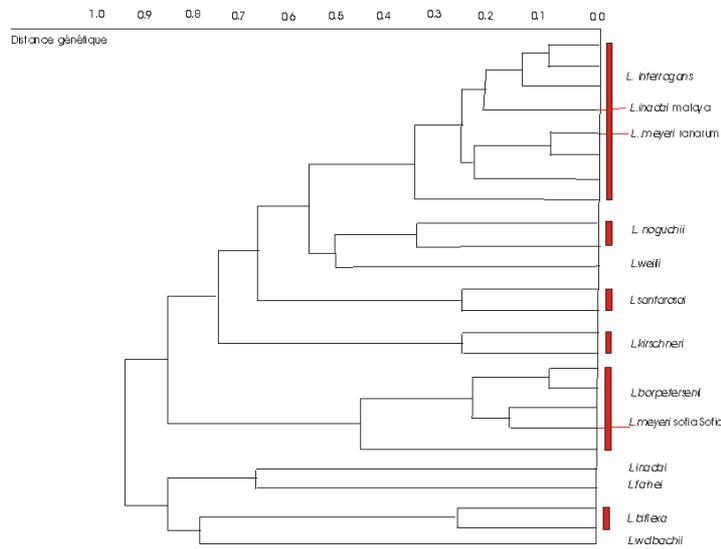


Fig. 17: Dendrogramme représentant les relations génétiques au sein de genre *Leptospira*. (d'après LETOCART *et al.*, 1999)

Cependant, les deux classifications, l'une sérologique et l'autre génomique, ne concordent pas. Toutes les souches d'un même séro groupe n'appartiennent pas à la même espèce ou génotype, chaque espèce est constituée de souches appartenant à plusieurs sérogroupes et les souches d'un même sérovar peuvent être réparties entre différentes espèces.

Pratiquement, l'identification du sérovar d'un isolat ne fournit pas d'information valable sur son espèce, et vice versa.

- *Morphologie*

Un microscope à fond noir ou à contraste de phase est indispensable pour observer les *Leptospira* : c'est un spirochète finement spiralé, dont les dimensions avoisinent 6-20 µm de long et 0.1 µm de diamètre. Une extrémité, parfois les deux, se recourbe en forme de crochet caractéristique.



Fig. 18: Leptospires observées au MEB.
(site Infectious Diseases Weekly Report-Japan)

Théoriquement, il est donc possible de visualiser les leptospires en phase de septicémie dans un frottis sanguin. Nous verrons par la suite pourquoi cette technique n'est pas utilisée.

La microscopie électronique révèle les composants structuraux essentiels. L'enveloppe externe s'agence en hélice et protège une membrane cellulaire de peptidoglycanes. Entre ces deux couches, le périplasme contient une paire de flagelles, insérés à chaque extrémité de la bactérie, lui permet d'onduler pour se mouvoir.

- *Génome*

Le génome des leptospires se constitue de deux chromosomes circulaires, l'un de 4750 kb et l'autre de 350 kb environ.

Par comparaison avec une bactérie telle que *Escherichia coli*, les gènes codant pour les ARN ribosomiaux sont originaux par leur nombre et par leur organisation. En effet, ils sont peu nombreux : 2 copies du gène *rrs*, codant pour l'ARN de la sous-unité ribosomiale 16S, 2 copies du gène *rrl*, codant pour l'ARN 23S, et une seule copie du gène *rrf*, codant pour l'ARN 5S. Ils sont répartis sur le chromosome sans chevauchement.

Le gène *rrf* est hautement conservé parmi les leptospires pathogènes.

- *Caractères métaboliques et culturaux*

Avec un tel mode de déplacement, les leptospires sont bien adaptées à la vie en milieu liquide.

Elles sont aérobies ou micro-aérophiles. Les acides gras insaturés à longue chaîne sont la principale source de carbone et d'énergie de ces micro-organismes, incapables de métaboliser les glucides. Paradoxalement, les acides gras essentiels requis pour la nutrition et le métabolisme énergétique sont également toxiques. Lors de leur culture, l'addition d'un détoxifiant qui les adsorbe, comme l'albumine sérique, permet un relargage à la demande.

Pour couvrir leurs besoins azotés, les leptospires utilisent l'ammonium. En culture, cet élément est apporté sous forme de sels d'ammonium, d'acides aminés qui subiront une désamination, comme l'asparagine notamment. En effet, les leptospires n'absorbent pas les bases pyrimidiques et l'adjonction de 5-fluoro-uracile est mise à profit pour rendre les milieux de culture particulièrement sélectifs (EUZEBY, 1999). L'urée peut également être utilisée comme source d'azote, ce qui pourrait expliquer le tropisme des leptospires pour les tubules rénaux.

Parmi les autres facteurs de croissance, signalons le phosphate, le calcium, le magnésium et surtout le fer qui sont indispensables. Certaines leptospires sont halophiles et nécessitent un apport en sodium.

Ainsi, à partir de ces éléments, Ellinghausen et McCullough créent en 1965 un milieu de culture contenant des acides gras à longue chaîne et de l'albumine sérique. Ce milieu a ensuite été modifié par Johnson et Harris et est maintenant largement connu sous le nom de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris ou milieu EMJH. Ceci est fondamental, car il permet la croissance des bactéries sans sérum entier d'animal, usuellement du lapin, ce qui est moins fastidieux.

Les conditions de croissance optimales comprennent un pH de 7.2-7.6 et une température de 28-30°C, autorisant des extrêmes de 13°C et de 37°C.

Les leptospires ont un temps de doublement lent, de quelques heures. Par conséquent, leur culture est lente, leur incubation dure couramment 3 à 4 semaines. Les colonies se développent sous la surface du milieu.

Sous réserve d'un milieu de culture adéquat et du respect des conditions de croissance optimales, la croissance peut avoir lieu malgré une faible quantité micro-organismes. Aucun effet de la taille de l'inoculum ne paraît intervenir en circonstances de routine au laboratoire.

Toutes ces observations ont été faites en conditions de laboratoire. Aucune étude n'a permis d'obtenir des informations intéressantes *in vivo*, comme les tubules rénaux ou la chambre antérieure de l'œil, qui sont des milieux considérés comme les lieux de séquestration, de survie et également de prolifération pour la localisation rénale.

De même, la croissance des pathogènes dans les sols, à la surface de l'eau ou dans des environnements similaires reste inconnue, du fait de la difficulté à reproduire ces conditions réelles en laboratoire.

- *Sensibilité aux agents physico-chimiques*

Les leptospires survivent de longues périodes dans l'eau et les milieux de culture adéquats, mais la dessiccation est systématiquement fatale.

La plupart des métaux lourds sont létaux, à l'exception du fer ferreux qui est un facteur de croissance essentiel.

Des températures très basses sont tolérées sous réserve d'un environnement protéique, comme dans le cas de la cryoconservation (environ -70°C) des cultures de leptospires dans l'azote liquide, qui conserve leur pathogénicité et leur antigénicité, des biopsies congelées (environ -20°C), ou encore des reins dans les étals des boucheries.

A l'autre extrême, la température de survie maximale est de $41-42^{\circ}\text{C}$ en conditions de laboratoire. Par extrapolation, la phase fébrile chez les animaux, atteignant parfois de telles températures, est supposée détruire les leptospires.

Les leptospires sont sensibles à l'acidité d'un pH inférieur à 6.8 mais survivent dans conditions alcalines au-dessus d'un pH de 7.8-7.9.

Tous les agents détruisant l'enveloppe externe, comme les détergents et les savons, sont par conséquent létaux. La désinfection classique du milieu et du matériel et l'usage d'antiseptiques sont donc des moyens de prévention efficace de la leptospirose.

Mis à part le chloramphénicol, les leptospires sont sensibles à la plupart des antibiotiques.

- *Conséquences sur la résistance dans le milieu extérieur*

Il n'existe aucune forme de résistance chez les leptospires.

Néanmoins, en milieu naturel, des combinaisons variées entre les facteurs précédemment cités existent. Le taux d'humidité et l'acidité notamment sont essentiels à la survie. Les leptospires survivent effectivement dans des sols légèrement alcalins et d'une salinité très faible comme la boue, les marais et marécages, les étendues d'eau stagnantes et saumâtres, les ruisseaux et rivières, les organes et tissus d'animaux vivants ou morts, et dans le lait dilué (FAINE *et al.*, 1999).

Cependant, cette survie est de l'ordre de quelques semaines dans une eau douce à pH neutre, à l'abri des rayons ultra-violet, et de 48 heures dans les tissus d'un hôte mort. Cette résistance limitée dans le milieu extérieur n'autorise aucune multiplication. Afin d'assurer la pérennité du genre, un hôte réservoir capable de réinfester périodiquement le milieu extérieur, est alors indispensable.

- *Structure antigénique et pouvoir immunogène*

Le lipopolysaccharide (LPS), enchâssé dans l'enveloppe externe, est l'antigène essentiel détecté chez le genre *Leptospira*. Selon les souches de leptospires, les composants partiellement identifiés du LPS s'agencent en combinaisons variant par leur nature et leurs proportions.

Seuls certains épitopes du LPS sont immunogènes et induisent une réaction d'agglutination. Cette réaction est capitale dans l'étude de la leptospirose car son mécanisme intervient à plusieurs étapes : spécificité des réactions sérologiques, classification et taxonomie, sensibilité et spécificité des tests de diagnostics, caractéristiques épidémiologiques.

Les variations du LPS lui confèrent un rôle dans la séro-spécificité, qui s'envisage à plusieurs niveaux.

D'autres antigènes structuraux, comme certaines protéines flagellaires de surface et des protéines « heat-shock », sont largement conservés dans le genre bactérien et génèrent des réactions croisées avec d'autres bactéries.

Les antigènes spécifiques du genre *Leptospira* présentent quelques réactions croisées avec d'autres spirochètes comme les tréponèmes.

La spécificité sérologique ne correspond pas à la définition d'espèce et ne peut pas être utilisée pour la classification.

Au contraire, la classification en sérovar selon la séro-spécificité permet l'interprétation diagnostique, épidémiologique et l'évaluation des programmes de lutte. Elle est fondée sur l'hypothèse qu'un ou plusieurs antigènes spécifiques caractérisent un sérovar donné de façon unique.

La classification sérologique définit les sérovats comme des combinaisons d'épitopes du LPS, de sorte à minimiser les réactions croisées. La spécificité d'un sérovar dépend principalement de l'espèce animale et de la classe d'immunoglobulines mise en jeu par le système immunitaire.

Souvent plusieurs sérovats coexistent dans une localité, chacun produisant une infection distincte. Leur identification est fondamentale, que ce soit en terme de diagnostic, de surveillance épidémiologique et de lutte, en effet pour avoir un impact sur l'incidence de la leptospirose, un vaccin doit contenir les antigènes spécifiques des sérovats présents dans cette région.

Les antigènes non-agglutinants réagissent en Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) aussi bien avec tous les membres du genre *Leptospira* qu'avec les épitopes caractéristiques d'un seul sérovar.

2. Pathogénie et pathogénicité de l'infection

(d'après FAINE *et al.*, 1999)

- *Pathogénie*

Le même mécanisme est observé chez toutes les espèces animales et pour tous les sérovats, seules la sensibilité et la réceptivité des animaux varient (détaillées dans le chapitre 2.4.2.).

Les leptospires pénètrent dans l'organisme par voie transcutanée (abrasions, coupures, peau saine dont la perméabilité est augmentée par un séjour prolongé dans l'eau) ou muqueuse (conjonctivale, nasale, pharyngée, digestive, génitale).

Une fois introduites dans l'organisme, les leptospires échappent aux macrophages grâce à leur grande mobilité. L'inoculation ne provoque donc pas de réaction inflammatoire et elle est par

conséquent apyrogène. Par la suite, les bactéries se multiplient dans le sang, avec un temps de doublement de l'ordre de huit heures, puis gagnent la rate, le foie, le cerveau. Cette phase de bactériémie dure de 1 à 7 jours.

Quand le nombre de leptospires dans le sang et les tissus atteint un niveau critique, les lésions dues aux toxines apparaissent, ainsi que les symptômes associés.

Les lésions les plus précoces concernent des endothéliums vasculaires conduisant à des ischémies responsables de nécrose des tubules rénaux, de lésions d'hépatite, de méningite, de myosite, de placentite.

Des hémorragies, de l'ictère et une thrombopénie peuvent apparaître dans les cas sévères.

Les dégâts tissulaires, même sévères, peuvent être totalement réversibles.

Le développement d'une réponse immunitaire générant des anticorps agglutinants, peut entraîner l'élimination des leptospires et la guérison, mais le germe peut également persister dans des sites privilégiés comme les tubes rénaux proximaux, le cerveau, la chambre antérieure de l'œil ou le tractus génital.

Les leptospires non pathogènes ou avirulentes sont opsonisées par n'importe quel type d'anticorps, alors que les leptospires virulentes requièrent l'intervention d'anticorps spécifiques, réagissant avec certains épitopes du LPS.

- *Facteurs de pathogénicité*

(D'après EUZEBY, 1999)

La virulence des leptospires se perd rapidement *in vitro* si bien que le passage sur animal sensible est nécessaire à la conservation du pouvoir pathogène. Ceci se traduit par des contraintes de laboratoire très lourdes et coûteuses en terme d'équipement, d'entretien et de conservation des souches utilisées pour le diagnostic. Les facteurs de virulence des leptospires sont encore très mal connus. HAAKE *et al.* ont montré en 1998 une association entre une lipoprotéine de l'enveloppe externe, LipL36, et la virulence, mais qui ne s'exprime apparemment pas *in vivo*.

La mobilité particulière des leptospires leur confère la capacité de se mouvoir en environnement aqueux, ce qui les autorise à franchir les barrières cutanéomuqueuses ou d'envahir des milieux denses comme l'humeur aqueuse ou l'humeur vitrée chez l'homme et le cheval.

Les toxines des leptospires se résument à des hémolysines : des phospholipases ainsi que des sphingomyélinases présentes dans la majorité des sérovars pathogènes. Cependant leur signification en termes de pathogénicité ou d'immunité restent vague.

L'activité endotoxinique du LPS est controversée. Il a un rôle encore hypothétique de stimulation de la phagocytose et production de cytokine TNF alpha par les monocytes humains.

L'observation d'une adhésion plaquettaire, inhibée de façon significative en présence d'anticorps spécifiques, ne concerne que les sérovars pathogènes.

Les leptospires trouveraient dans l'urée une source d'azote importante, ce qui expliquerait leur affinité pour les tubules rénaux. Les sérovars pathogènes possèdent une activité uréasique leur permettant de maintenir un pH alcalin favorable à leur croissance.

La possibilité d'une pénétration intracellulaire est controversée. *In vivo*, par microscopie électronique, on peut observer des leptospires à l'intérieur de cellules rénales et hépatiques, mais on ne sait pas si les leptospires envahissent les cellules intactes ou celles qui ont été endommagées par leurs toxines (ELLIS, 1998).

Des phénomènes auto-immuns sont rapportés chez le chien, occasionnant des lésions rénales d'après VAN DEN INGH et HARTMAN (1986).

Chez le cheval, l'uvéite récidivante ou « fluxion périodique » est un syndrome de réaction auto-immune bien documenté. Les leptospires (sérovars pomona, tarassovi, icterohaemorrhagiae, wolffi et hardjo) ont une communauté antigénique avec certaines protéines de tissus oculaires. Cette auto-immunité ne peut bien évidemment pas intervenir lors d'une primo-infection.

- *Immunité mise en jeu*

Bien que l'immunité contre *Leptospira* soit étudiée depuis longtemps, on commence à peine à identifier les mécanismes et les antigènes protecteurs.

Pour la majorité des associations hôtes-sérovars, l'immunité mise en place est de type humoral et se transmet passivement via le placenta, le colostrum ou le sérum.

Lors de la primo-infection, la réaction immunitaire est seulement à médiation humorale. Elle est spécifique et met en jeu des anticorps agglutinants, 2 à 10 jours après l'infection. D'après JOST *et al.* (1989), un faible taux d'anticorps est protecteur. Dans ces réactions d'agglutination, le LPS est l'antigène protecteur prédominant.

On a établi des différences notables entre les types de protection conférés par une infection naturelle d'une part, et la vaccination d'autre part. Ainsi, dans le cas du sérovar hardjo, la vaccination peut induire une bonne réponse immunitaire à médiation cellulaire, ainsi qu'une réponse immunitaire à médiation humorale. L'association des deux types de défense de l'organisme lui confère une protection solide. En revanche, une infection naturelle n'a pas ou peu tendance à produire une réponse cellulaire, et il semble que les animaux ayant guéri d'une infection naturelle puissent être infectés et malades de nouveau. La séquestration intracellulaire des leptospires et l'immunité cellulaire n'interviennent pas dans la résistance à une réinfection.

BOLIN *et al.* (1991 et 1989) ont démontré que des bovins et des porcins, vaccinés avec le LPS des sérovaires dont ils sont réservoirs, n'étaient pas protégés de l'infection et de la maladie. De plus, certains animaux infectés résistent à une réinfection sans que la quantité d'anticorps anti-LPS produite soit détectable. Ces résultats indiquent qu'il doit exister d'autres mécanismes protecteurs plus importants.

L'immunité conférée par un sérovar donné lui est spécifique dans une certaine mesure. Il existe des réactions croisées en relation avec la spécificité du LPS vue précédemment (chapitre 2.2.1.7.). Cependant, il n'y a pas de protection croisée entre leptospires appartenant à des sérogroupes différents. Chaque infection par un nouveau séro groupe de leptospire est considérée comme une primo-infection par l'organisme.

Cette considération présente un intérêt capital pour le développement de vaccins : la vaccination doit être prise en compte le profil épidémiologique de chaque région.

III. Symptomatologie

Ce chapitre est une synthèse d'après FAINE *et al.* (1999) et ACHA et SZYFRES (1989).

1. La leptospirose chez l'homme

L'homme est sensible à tous les sérovars de *Leptospira interrogans sensus lato* et la gravité de la maladie dépend plus de l'inoculum, de la virulence de la souche et de la sensibilité individuelle que du séovar.

Aucun symptôme n'est pathognomonique de tel ou tel séovar, bien que certains aient tendance à être associés avec une certaine gravité de la maladie. C'est une maladie typiquement biphasique. Dans une première phase, qualifiée de leptospirémique, les symptômes apparaissent brutalement : céphalée, myalgie, fièvre, suffusion conjonctivale, éruptions cutanées et photophobie. Après une amélioration de l'état général, la seconde phase ou phase immune, coïncide avec l'apparition des anticorps et elle donne lieu à des signes cliniques variés.

L'incubation varie habituellement de 5 à 14 jours, mais il arrive qu'elle atteigne des extrêmes de 2 à 30 jours.

La forme ictérique sévère ou maladie de Weil est relativement rare. Elle débute par un tableau septicémique puis la deuxième phase se caractérise par une insuffisance rénale, des hémorragies diffuses, une atteinte hépatique se traduisant parfois par un ictère flamboyant, des signes méningés et myocardiques. Le taux de mortalité varie de 15 à 40%, selon les moyens de réanimation disponibles (ELLIS, 1998).

Les formes non ictériques sont très diverses : syndrome grippal avec des atteintes multiviscérales, syndrome hémorragique, méningite, insuffisances rénales, atteintes respiratoires, simple malaise général avec de la fièvre et des myalgies. L'évolution peut être bénigne ou fatale. Des complications oculaires peuvent provoquer une cécité.

Le manque de spécificité de ces symptômes peut conduire à une sous-estimation des diagnostics.

2. La leptospirose chez les bovins

La majorité des infections leptospirosiques sont subcliniques chez les animaux. On distingue deux populations : les jeunes et les animaux sexuellement matures, en lactation ou en gestation.

Chez les bovins, la maladie peut être aiguë ou subaiguë ou encore demeurer cliniquement inapparente.

Dans certains cas, chez les veaux notamment, l'infection est aiguë et se manifeste par un syndrome fébrile, de l'anorexie, une anémie hémolytique, une hémoglobinurie, de l'ictère, une congestion pulmonaire et parfois une méningite et de la mortalité.

Les animaux convalescents présentent cependant des retards de croissance manifestes et des lésions rénales suffisantes pour induire des saisies à l'abattage.

Chez les vaches laitières, on observe une chute soudaine et importante de la production laitière pendant 2 à 10 jours et souvent une mammite atypique, avec des mamelles flasques et un lait grumeleux, jaunâtre, parfois teinté de sang. Cette forme clinique est appelée le « milk-drop syndrome ». Après traitement, la production laitière ne retrouve que rarement son niveau pré-infection en 10 à 14 jours, et le tarissement peut être plus précoce (ELLIS, 1998).

L'infection chronique, le plus souvent due aux sérovars hardjo et pomona (FAINE *et al.*, 1999), se traduit généralement par des avortements au cours du dernier trimestre de gestation, de la mortinatalité et ou des nouveau-nés faibles et infectés. BOLIN *et al.* rapportent que des veaux infectés mais apparemment sains peuvent naître. Les veaux nouveau-nés infectés de façon congénitale sont souvent faibles et présentent une dégénérescence du foie ou des reins. Les survivants deviennent fréquemment des porteurs chroniques (GILES, HATHAWAY et STEVENS, 1983).

Les avortements se produisent généralement entre une et six semaines après l'infection dans le cas du sérovar pomona, et entre 4 à 12 semaines pour le sérovar hardjo (ELLIS, 1998).

Une rétention placentaire est observée chez au moins 20% des vaches qui avortent.

3. La leptospirose chez les petits ruminants

Chez le mouton, les formes frustes voire asymptomatiques sont les plus fréquentes. Lors de rares formes aiguës de leptospirose, les mêmes symptômes que chez les veaux sont observés chez les agneaux.

Les signes les plus fréquents sont des troubles de la reproduction dans les deux dernières semaines de la gestation, analogues à ceux décrits chez les bovins.

Une agalactie similaire à celle des bovins est observée chez les ovins infectés par le sérovar hardjo, entraînant de la mortalité chez agneaux. Sans traitement, les brebis reprennent leur lactation en 3 à 4 jours.

Chez la chèvre, l'infection se traduit par un ictère, une hémoglobinurie, une infécondité, des avortements et des taux de mortalité importants chez les jeunes.

4. La leptospirose chez les porcins

Chez les porcins, la leptospirose s'exprime sous des formes très diverses : formes inapparentes, subcliniques (néphrites interstitielles chroniques), modérées (fièvre et retards de croissance), sévères (le plus souvent chez les porcelets avec fièvre, ictère, hémorragie, mortalité). Dans les formes subcliniques, les porcs sont généralement des porteurs asymptomatiques.

Mais les troubles de la reproduction sont les plus fréquents et se manifestent alors par de l'infertilité, des avortements de 2 à 4 semaines avant le terme de la gestation et des porcelets malingres à la naissance.

5. La leptospirose chez les équins

La leptospirose des chevaux est souvent asymptomatique. Lorsqu'elle s'exprime cliniquement, elle se traduit par des avortements, des atteintes hépatiques et rénales, ou par des atteintes générales chez les poulains. Habituellement, on décrit la leptospirose équine par une fièvre modérée et de l'anorexie. Dans les formes plus sévères, une suffusion conjonctivale, des pétéchies sur les muqueuses, de l'hémoglobinurie sont décrites. De

l'anémie, de l'ictère, un abattement de l'animal et de la faiblesse peuvent apparaître, à des degrés variables pendant une période de 5 à 18 jours.

Toutefois, la forme clinique prédominante est une uvéite. La durée de latence entre la phase aiguë et les séquelles ophtalmiques peut se prolonger pendant plusieurs mois. Cette uvéite ne présente pas de caractère particulier, mais si elle récidive ou si elle persiste, elle est à l'origine de troubles de la vision et de lésions du globe oculaire, allant jusqu'à la cécité. Elle prend alors le nom usuel de « fluxion périodique ».

Ces séquelles découlent d'une réaction auto-immune. En effet, certains sérovars de leptospire partagent des épitopes communs avec des molécules présentes dans les tissus oculaires des équins (cornée et cristallin notamment).

6. La leptospirose chez les chiens

La leptospirose canine a largement été décrite. L'infection peut être asymptomatique.

La forme clinique hémorragique due au séovar icterohaemorrhagiae, est aiguë ou subaiguë. Elle est associée également à des atteintes hépatiques sévères et à un syndrome urémique. Les chiens sont abattus, et présentent une raideur, une myalgie des membres postérieurs et des hémorragies dans la cavité buccale, avec une tendance à la nécrose et à la pharyngite. Ultérieurement, on peut observer une gastro-entérite hémorragique et une néphrite aiguë. Un ictère peut apparaître et représente un signe de gravité. L'issue de la maladie est souvent fatale, en 36 heures à 4 jours après le début des symptômes.

Les individus survivants gardent des séquelles d'insuffisance rénale chronique.

Le séovar bratislava peut être responsable d'infertilité et d'avortements.

7. La leptospirose chez les chats

Chez les félins, la leptospirose est beaucoup moins fréquente ou non diagnostiquée. Les signes cliniques sont comparables à ceux observés chez les chiens.

8. La leptospirose chez la faune sauvage

La leptospirose est décrite chez de très nombreuses espèces animales sauvages à sang-chaud : rongeurs, ragondins, mangoustes, rhinocéros, lions de mer...

Cependant, les études se basent sur l'observation d'animaux en captivité. Les études expérimentales posent parfois des problèmes éthiques selon les espèces, si bien que peu d'informations ont pu être réunies sur la symptomatologie de la leptospirose chez la faune sauvage. De plus, mis à part pour les zoos, l'intérêt d'une étude clinique est limité par rapport à celle de l'impact épidémiologique des porteurs de leptospires.

De telles études affirment néanmoins qu'en général, les infections sont essentiellement asymptomatiques.

Chez les oiseaux, aucune infection leptospirosique naturelle n'est rapportée jusqu'à présent et, expérimentalement il est impossible d'infecter des oiseaux adultes.

Chez les vertébrés poïkilothermes, peu d'études ont été faites malgré l'invariable association entre un habitat humide et la survie ou la transmission des leptospires.

Dès 1966, DIESCH et al. ont isolé des leptospires dans des reins de grenouilles, sans preuve d'affection clinique ou lésionnelle cependant.

IV. Epidémiologie analytique

1. Sources de leptospires

Le pivot de l'épidémiologie de la leptospirose est la notion de portage rénal. L'animal porteur, malade ou non, dont les tubules rénaux sont colonisés par les leptospires adhérentes, excrète les bactéries dans ses urines.

Le réservoir animal est, pour la pérennité des leptospires, d'autant plus efficace que la leptospiurie est durable. Celle-ci varie de quelques semaines à des années, parfois toute la vie de l'animal selon l'association hôte-séovar concernée, et peut être intermittente ou continue.

Alors que les leptospires ne survivent pas en milieu acide, elles restent viables dans les urines alcalines. Par conséquent, les herbivores et les animaux dont le régime alimentaire alcalinise

les urines représentent une source d'excrétion plus importante que les animaux ayant des urines acides, comme les carnivores.

Les leptospires sont aussi hébergées par le tractus génital des animaux infectés, malades ou non.

Les hommes et les animaux s'infectent au contact d'animaux infectés ou au moins de leurs urines ou indirectement par l'eau ou le sol souillés par de l'urine.

2. Facteurs de réceptivité et de sensibilité

(d'après FAINE *et al.*, 1999)

Presque tous les mammifères et les marsupiaux sont sensibles à l'infection leptospirosique, avant ou après la naissance, sous réserve qu'ils n'aient plus de protection passive maternelle, transmise par le colostrum ou via le placenta.

Il n'y a pas de réelle spécificité sérovar-hôte. On peut noter cependant qu'une certaine adaptation existe parfois, pour un sérovar donné.

Pour une zone géographique particulière, chaque sérovar est associé fréquemment à une ou plusieurs espèces animales qui sont des hôtes de prédilection et des réservoirs d'infection. La transmission de l'infection entre hôtes réservoirs est efficace et son incidence est élevée. Des contacts avec un hôte réservoir ou des zones contaminées par ses urines peuvent provoquer une infection chez d'autres espèces animales. Les hôtes accidentels ne sont pas des réservoirs d'infection et l'incidence de la transmission est faible. De même, la transmission entre hôtes accidentels est rare.

En fait, on admet que tous les mammifères sont réceptifs à l'infection leptospirosique, et que leur statut d'hôte réservoir ou d'hôte accidentel dépend de leur sensibilité, respectivement faible ou élevée. Mais l'homme est toujours un hôte accidentel.

**Tabl. 2: Classement des espèces hôtes en fonction des sérovars les plus fréquents.
(d'après FAINE *et al.*, 1999)**

Sérovar	Hôte réservoir	Hôte accidentel
hardjo	bovins	ovins, chiens
pomona	porcs	bovins, chiens, caprins, chevaux, chats
grippotyphosa		bovins, petits ruminants, porcs, chiens, chevaux, chats
bratislava	porcs, chevaux	bovins, chiens
tarassovi	porcs	bovins, ovins
canicola	chiens	bovins, caprins, chevaux, chats
icterohaemorrhagiae	rats	bovins, petits ruminants, chevaux, chiens, chats

Comme l'indique le tableau 2, de nombreuses espèces animales peuvent être des hôtes pour de nombreux sérovars. De plus, ces observations varient selon les auteurs.

Cependant, on ne sait pas si ces associations reposent sur des facteurs biologiques et immunologiques, sur des relations écologiques ou encore sur un mélange des deux.

On ne connaît quasiment rien sur l'apparente résistance de quelques espèces animales à certains sérovars, ni sur l'augmentation de la résistance des animaux avec l'âge, hormis le rôle du taux d'anticorps spécifiques circulant.

Néanmoins, lorsque cette association est connue, elle peut apporter une preuve épidémiologique de la source d'infection endémique ou épidémique.

La sensibilité des animaux varie également avec l'âge : les jeunes sont très sensibles à l'infection et présentent souvent des formes cliniques sévères.

Les veaux nés de mères infectées sont protégés par les anticorps colostraux pendant les 6 premiers mois de vie et ne sont donc pas réceptifs à l'infection, sous réserve que le sérovar infectant soit constant.

3. Modes de transmission

- *Transmission directe*

La transmission directe intervient quand le sang ou un autre fluide corporel contenant des leptospires, passe directement d'un animal infecté ou porteur à un autre animal sensible.

De tels contacts directs entre animaux incluent le passage transplacentaire ou la contamination congénitale, la voie vénérienne, et l'allaitement.

Le portage au niveau du tractus génital semble intervenir dans la transmission vénérienne.

Ce sont les voies usuelles de transmission entre hôtes réservoirs.

L'infection peut également être transmise lors d'insémination artificielle et de transplantation embryonnaire.

Les animaux porteurs peuvent contaminer l'homme par contact direct (passage trans-cutané ou muqueux) le plus souvent dans le cadre d'activités en relation avec la manipulation d'animaux ou de leurs produits (travailleurs dans les abattoirs, vétérinaires, garde-forestiers, éleveurs, égoutiers).

- *Transmission indirecte*

La transmission indirecte intervient lorsqu'un individu s'infecte à partir de son environnement, souillé par l'urine d'un autre individu excréteur.

Particulièrement, les eaux peu profondes aux abords des lacs, étangs, rivières et ruisseaux, les effluents d'abattoir, eaux de drainage et de vidange, flaques de boue abritent les micro-organismes.

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

Les hommes se contaminent indirectement en marchant pieds nus là où les animaux ont uriné. Les coupeurs de cannes à sucre sont exposés à l'eau souillée par l'urine de rats et de mangoustes.

- *Voies de pénétration*

Les leptospires pénètrent dans l'organisme par voie transcutanée : abrasions, coupures, peau saine dont la perméabilité est augmentée par un séjour prolongé dans l'eau. La voie muqueuse est également empruntée : conjonctivale, nasale, pharyngée, digestive, génitale.

V. Diagnostic

1. Diagnostic clinique et nécropsique

- *Diagnostic clinique*

Mis à part la symptomatologie hémorragique canine qui peut être évocatrice, les symptômes de la leptospirose ne sont absolument pas pathognomoniques. Ce manque de spécificité clinique aboutit fréquemment à une sous-estimation des diagnostics de leptospirose.

Le diagnostic clinique est donc insuffisant.

- *Diagnostic nécropsique*

A l'autopsie, on observe fréquemment des hémorragies cutanées, conjonctivales ou muqueuses. Le conjonctif sous-cutané, le péritoine, les plèvres, le péricarde et les méninges peuvent être ictériques, avec des pétéchies ou des suffusions.

Les nœuds lymphatiques sont hypertrophiés et parfois hémorragiques.

Le foie est de taille normale ou hypertrophié, de couleur pâle ou jaune et présente des suffusions superficielles.

Au microscope, on observe une désorganisation des lobules hépatiques, accompagnée parfois d'une nécrose centrolobulaire.

Les lésions les plus significatives se situent au niveau rénal, quels que soient l'espèce et le sérovar en cause. Les reins sont hypertrophiés et de couleur jaune-vert quand l'animal est ictérique, avec des hémorragies sous-capsulaires.

Habituellement, l'histologie montre une néphrite interstitielle progressant en nécrose tubulaire dans les cas sévères. Le cortex présente souvent des cicatrices ischémiques et les hémorragies sont plutôt médullaires. Les glomérules ne sont généralement pas modifiés.

L'ensemble de ces éléments est typique d'une néphrose postérieure à un épisode ischémique ou néphrotoxique.

Dans certains cas, on observe une myocardite causée par les toxines leptospirosiques qui est en fait responsable de la mort de l'individu.

La dégénérescence des muscles striés est caractéristique de la leptospirose : le muscle gastrocnémien notamment perd sa striation à l'observation microscopique, et les cellules sont vacuolées.

Aucun aspect lésionnel n'est donc pathognomonique de la leptospirose. Quand l'association des lésions devient évocatrice, les dégâts tissulaires sont déjà importants. Un diagnostic plus précoce et plus sensible requiert des analyses de laboratoire.

2. Diagnostic de laboratoire

Tout un panel de méthodes a été développé au fil des ans pour tenter d'améliorer le diagnostic de la leptospirose. Le choix des tests de diagnostic repose sur la nature des prélèvements disponibles et sur l'objectif de l'investigation (diagnostic ou dépistage, certificats d'importation ou d'exportation). (O'KEEFE, 2002)

Classiquement, on distingue les méthodes de détection de la bactérie, de ses antigènes ou de son matériel génétique, de celles de révélation des anticorps.

- *Prélèvements*

Lors d'infections aiguës, la recherche des leptospires peut s'effectuer dans le sang, le liquide céphalo-rachidien, l'urine, le liquide pleural, les avortons ou encore d'autres tissus. Les chances d'isoler les micro-organismes sont d'autant plus grandes que le prélèvement est précoce.

Après quelques jours d'évolution, l'urine et des biopsies de rein, encéphale, avortons ou autres sont des échantillons convenables.

Les prélèvements doivent être effectués avant toute antibiothérapie et ne doivent pas être congelés.

- *Mise en évidence de l'agent pathogène : diagnostic bactériologique*

L'examen direct d'urine ou de sang **au microscope à fond noir** détecte rapidement la présence des leptospires. Il se réalise sur des prélèvements très frais, pour conserver la mobilité caractéristique des leptospires par rotation, flexion et translation.

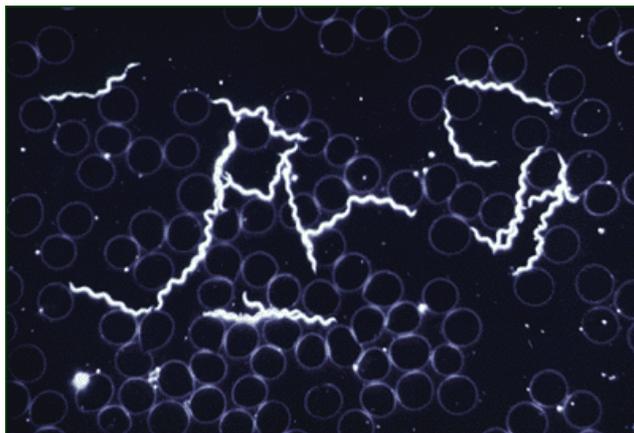


Fig. 19: Observation des spirochètes au microscope à fond noir.
(crédit : Dr SONGER)

L'avantage de cette technique est son utilisation en conditions d'équipement matériel restreintes. Cependant, cette technique souffre d'une faible sensibilité (seuil de détection estimé à 10^4 bactéries par mL par FAINE *et al.*, 1999), et requiert un opérateur expérimenté. En outre, cet examen ne fournit aucune information sur l'identité du sérovar infectant (FAINE *et al.*, 1999).

L'excrétion des leptospires étant intermittente, l'examen au microscope à fond noir doit être renouvelé.

Pour toutes ces raisons, cette technique doit être considérée comme un test d'orientation et doit être confirmée par une mise en culture.

La mise en **culture** est réservée à des laboratoires spécialisés. Elle est généralement réalisée sur le milieu EMJH liquide ou semi-solide (1% d'agar). Les cultures sont incubées à 28-30°C et examinées sur un fond noir aux jours 1, 3 et 5 puis chaque semaine pendant 5 semaines.

L'identification du genre *Leptospira* repose sur ses caractères morphologiques et sur son aptitude à pousser dans le milieu EMJH, en effet, à l'exception de *Leptonema illini* et de *Turneria parva*, les autres spirochètes ne poussent pas sur ce milieu. L'identification de l'espèce à partir des caractères phénotypiques ne présente que peu d'intérêt.

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

L'isolement bactériologique, chronophage, ne peut donc pas constituer une méthode de diagnostic. Cependant, la culture permet la confirmation de la présence de sérovars inhabituels ou exotiques suspectée à la suite de résultats sérologiques. Le principal problème en médecine vétérinaire réside dans les conditions de prélèvements en milieu extérieur, qui se traduisent très fréquemment par des contaminations.

Les techniques de coloration par imprégnation argentiques sont d'un intérêt limité. On leur préfère une coloration par l'acridine orange ou des « colorations » à la peroxydase. Cette technique, également appelée **immunofluorescence**, met en jeu des réactions immunologiques révélées par des réactifs colorés. Elles nécessitent l'utilisation d'antisérums spécifiques et qui sont généralement réservés à des laboratoires spécialisés. L'observation de la morphologie des leptospires s'effectue au microscope à fluorescence.

BOLIN *et al.* (1989a) rapportent que malgré sa facilité d'utilisation, la sensibilité de l'immunofluorescence pour la détection du sérovar hardjo dans l'urine de bovin est inférieure à la sensibilité des méthodes moléculaires, mais comparable, voire supérieure à celle de la culture.

Cependant, ce test ne donne aucune indication quant à l'identité du sérovar infectant. On l'utilise plutôt pour déterminer la présence du genre *Leptospira*. L'identification du sérovar est effectuée par la suite à l'aide de méthodes sérologiques.

En raison des difficultés du diagnostic bactériologique classique, des techniques d'amplification génique par **Polymerase Chain Reaction** (PCR) ont été proposées.

La différence entre ces techniques réside dans le choix des amorces utilisées. Par exemple, MERIEN *et al.* (1992) amplifient une séquence du gène ribosomal *rrs* (ARN 16S) et utilise un jeu d'amorces spécifique du genre *Leptospira*. Cette technique ne permet pas de différencier les souches pathogènes des souches saprophytes dans des prélèvements cliniques.

D'autres techniques ont été proposées, notamment une technique amplifiant une séquence du gène *rrs* mais utilisant deux jeux d'amorces différents : un jeu spécifique des souches

pathogènes et un jeu spécifique des souches saprophytes (MURGIA *et al.*, 1997). Cette technique permet une détection des souches pathogènes dans le milieu extérieur, et devrait permettre la détection d'une souche pathogène dans un prélèvement.

Les techniques PCR sont bien évidemment plus sensibles que la culture ou l'examen au microscope à fond noir (BROWN *et al.*, 1995) : leur seuil de détection est de moins de 10 bactéries dans un prélèvement.

Ces méthodes peuvent être particulièrement utiles quand la réponse immunitaire de l'hôte est faible, comme dans le cas des bovins avec le sérovar hardjo (ELLIS *et al.*, 1986), ou quand le prélèvement est de mauvaise qualité, et que les leptospires ne sont plus viables pour une mise en culture.

Cependant, la séro-spécificité de la PCR est limitée. Les auteurs définissent en général les groupes génotypiques de sérovars au lieu des groupes séro-spécifiques. Il n'y a souvent pas de moyen de contrôler si ces techniques détectent tous les sérovars présents dans le prélèvement testé, sans jamais produire de faux positif (bactéries de contamination) (O'KEEFE, 2002). Ce point est particulièrement capital en laboratoire : des mesures draconiennes de prévention des contaminations doivent être respectées.

WAGENAAR *et al.* (2000) ont examiné 5 protocoles de PCR publiés et leur capacité à détecter le sérovar hardjo dans l'urine bovine, en reportant leurs variations de sensibilité et de spécificité. Ils ont ensuite comparé le meilleur avec les méthodes de culture, d'immunofluorescence et d'hybridation de l'acide nucléique. La PCR a donc une sensibilité similaire à celle de l'immunofluorescence (90% pour la détection du genre) et une grande spécificité de genre. Les auteurs concluent qu'aucune de ces techniques n'est fiable si on l'emploie seule sur un prélèvement individuel, et recommandent de les utiliser en association.

De façon générale, la PCR est inutilisable en routine pour identifier un sérovar sur un prélèvement individuel, mais peut avoir une application pour des diagnostics de troupeaux par exemple.

Dans un même laboratoire, un test humain est commercialisé à un prix d'environ 10€ et un test canin autour de 16€. Les différents tests rapides commercialisés produisent des résultats en quelques minutes à quelques heures.

- *Diagnostic immunologique*

Etant donnée la difficulté du diagnostic bactériologique, le diagnostic des leptospiroses est assuré essentiellement par sérologie. Il n'est possible que 10 à 12 jours après l'apparition des symptômes, le temps que l'immunité ait atteint un niveau détectable.

Méthodes directes

Le test de **macro-agglutination sur lame** (ou test TR) utilise un antigène thermorésistant (d'où le terme « TR »), préparé à partir d'une souche de *Leptospira* patoc. Ce test est de mise en œuvre très simple mais sa mauvaise sensibilité, et surtout sa mauvaise spécificité le rendent inadapté à une utilisation diagnostique.

Le test de **micro-agglutination microscopique** ou MAT est la technique de référence sérologique pour le diagnostic de la leptospirose. Il consiste à mettre en présence le sérum à tester avec des cultures vivantes de leptospires, puis à évaluer le degré d'agglutination au microscope à fond noir. La batterie de souches comprend 22 souches de références représentatives des principaux sérogroupes, des souches isolées localement ainsi qu'une souche de *Leptospira* patoc. Cette dernière, agglutinée chez l'homme par les anticorps induits par de nombreux sérovars pathogènes, contrôle la réactivité du sérum.

Le MAT détecte les immunoglobulines agglutinantes de type M (IgM) et de type G (IgG) dirigées contre le LPS de la membrane externe.

Les dilutions sériées d'anticorps donnent une valeur quantitative de la concentration des anticorps. Un sérum est positif, à une dilution donnée, pour la souche testée, si au moins 50% des leptospires sont agglutinées par rapport à une souche témoin. Cette valeur reste assez subjective car elle est estimée visuellement. Chez l'homme, ce seuil est fixé à 1/100, mais pour les animaux, les seuils varient en fonction du contexte épidémiologique.

Cependant, ce test est moins sensible pour la détection des infections chez les hôtes réservoirs que chez les hôtes accidentels. Par exemple, ELLIS *et al.* (1986) rapportent que les bovins infectés par le séovar hardjo peuvent avoir des titres inférieurs à 1/10.

OSWIN (1999) signale une contrainte majeure d'interprétation. Certains animaux vaccinés présentent souvent des titres en anticorps élevés. Cette situation peut se produire en réponse à la vaccination ou être significative d'une infection naturelle, postérieure à la vaccination.

Chez un animal vacciné, il est donc impossible de différencier une élévation du titre en anticorps due à la vaccination ou à une infection. Il n'existe pas de valeur seuil précise permettant de distinguer les deux situations.

Les réactions croisées se produisent non seulement entre différents sérovars du même sérotype, mais aussi, au début de l'infection (2-3 semaines) d'après FAINE *et al.* (1999), entre des sérovars de sérotypes différents ; le titre d'un séovar hétérologue peut également prédominer. La réaction au séovar homologue devient plus prononcée avec le temps (ACHA et SZYFRES, 1989).

Cette technique est de réalisation difficile : il faut manipuler et entretenir les souches de leptospires au laboratoire. Son interprétation délicate est réservée aux laboratoires spécialisés. Cependant, en comparant les laboratoires vétérinaires australiens, BEATTIE et ROHDE (2002) ont révélé des variations d'interprétation, associé avec des différences de méthode. Il paraît donc hasardeux de comparer des résultats émis par des laboratoires différents et la comparabilité d'études épidémiologiques dans différentes régions reste problématique.

Néanmoins, le MAT reste le seul test sérologique reconnu, capable de produire des résultats spécifiques des sérovars, ce qui est crucial dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques et d'échanges internationaux.

Les défauts du MAT ont amené les recherches à explorer des méthodes de détection des anticorps plus rapides et plus précises, notamment la **technique ELISA**.

De nombreux antigènes ont été testés : lysats de bactéries (BERCOVICH *et al.*, 1990), enzyme structurale (RIBEIRO *et al.*, 1995) ou encore extraits de culture formolé (RIBOTTA *et al.*, 2000). DHALIWAL *et al.* ont décrit en 1996 des sensibilités et des spécificités comparables pour les techniques ELISA indirectes utilisant différents antigènes structuraux non LPS chez les bovins.

Mais quel que soit l'antigène utilisé, la spécificité de la technique ELISA se limite au genre *Leptospira*. En effet, tous les auteurs rapportent des réactions croisées entre sérovars. Ce manque de spécificité borne cette méthode à un rôle de dépistage (CHO *et al.*, 1989, RIBOTTA *et al.*, 2000).

Le dépistage est plus précoce avec les protocoles ELISA utilisant des IgM que ceux qui détectent les IgG. RIBEIRO *et al.* (1995) décrivent une ELISA-IgM plus sensible que le MAT lors d'infection aiguë de leptospirose.

Un test similaire rapide, pratique et peu coûteux est proposé par SEGHAL *et al.* (1999) pour le dépistage des animaux malades à l'entrée à l'abattoir. Cependant, ce test ELISA Dipstick produit des faux positifs dus notamment à l'interférence avec les anticorps vaccinaux.

SMITS *et al.* (1999) évaluent un test ELISA Dipstick pour la détection des IgM dans des sérums humains. Ce test est validé pour un emploi en conditions matérielles de terrain minimales : utilisation simple, résultats rapides et réactifs stables, ne nécessitant pas de réfrigération.

Ce genre de test trouve un intérêt particulier en régions d'endémie pour la distinction entre une infection récente ou chronique.

De même, les techniques ELISA-IgG détectent les anticorps sur une période plus longue que le MAT. Cependant, BERCOVICH *et al.* (1990) rapportent chez les bovins que la technique ELISA-IgG détecte les anticorps contre le sérovar hardjo 25 jours après l'infection, alors que le MAT les détecte au bout de 10 jours.

Méthodes indirectes

La technique ELISA de compétition utilise des anticorps monoclonaux et est spécifique des sérovars. SURUJBALLI *et al.* (1997) ont découvert un anticorps monoclonal spécifiquement dirigé contre le sérovar hardjo et qui ne réagit pas avec les antigènes de 11 autres sérovars pathogènes, ni avec *Leptospira biflexa* serovar patoc. Les auteurs ont testé le protocole ELISA compétitive sur des sérums bovins positifs avec le MAT : les deux tests concordent. Dans une publication ultérieure, SURUJBALLI et ELMGREN (2000) aboutissent aux mêmes conclusions en utilisant 2 anticorps monoclonaux spécifiques du sérovar pomona. Cependant, le résultat fourni par le test ELISA est seulement qualitatif.

La technique ELISA est pour le moment un test de dépistage de l'infection leptospirosique, spécifique du genre *Leptospira*. Un test spécifique des sérovars pomona et hardjo devrait bientôt être fiable et utilisé chez les bovins.

Son principal avantage est l'information sur l'isotype des anticorps (IgM ou IgG) qui réagissent avec l'antigène leptospirosique. Ainsi, en zone endémique cette information est

particulièrement utile pour déterminer la date de l'infection leptospirosique, les IgM traduisant une infection récente et les IgG exprimant un fond sérologique.

D'autres tests sérologiques sont décrits dans la littérature mais ne sont pas fréquemment utilisés pour le diagnostic : le test d'hémagglutination indirecte, test de la fixation du complément, test d'agglutination sur lamelle et le test d'agglutination au latex.

La sérologie apporte la preuve que l'individu a été en contact avec les leptospires. Cependant, elle ne prouve pas qu'il est réservoir. Seul l'isolement bactériologique permet d'affirmer un état de porteur rénal.

La seule façon de poser un diagnostic définitif est d'isoler le microorganisme. Seulement, cela reste techniquement difficile et chronophage. De plus, tous les laboratoires d'analyses n'offrent pas ce service.

Ainsi, la méthode la plus courante utilisée par les vétérinaires reste le prélèvement sanguin expédié au laboratoire d'analyses. L'interprétation des résultats sérologiques n'est pas aisée dans le cas de la leptospirose. Les réactions croisées d'anticorps sont nombreuses, les anticorps induits par la vaccination fréquents et il existe un manque évident de consensus quant au seuil indicatif d'une infection active.

L'utilisation combinée de ces outils de diagnostic permet de dégager des profils cinétiques de la bactériémie, de la leptospirurie et des différents isotypes d'anticorps.

D'après les résultats obtenus par MERIEN *et al.* (1995) et YERSIN *et al.* (1998), on obtient la courbe de bactériémie chez l'homme représentée par la figure 20 :

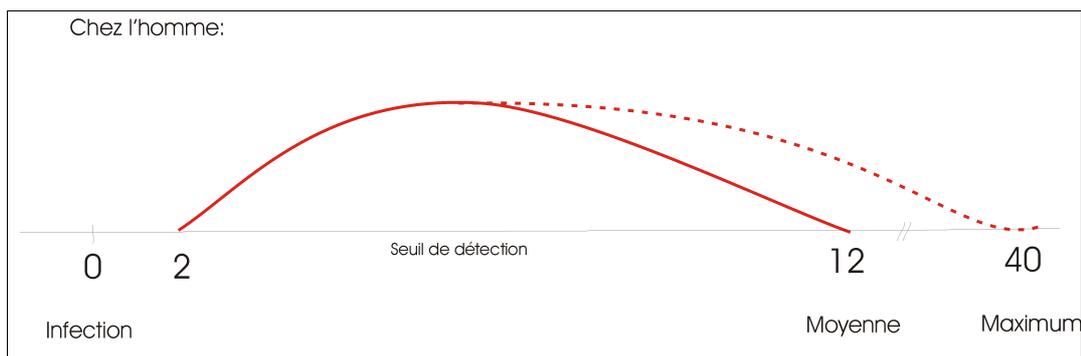


Fig. 20: Bactériémie chez l'homme (en jours).

D'après les publications de BAL *et al.* (1994) et CHAPPEL *et al.* (1985), la cinétique de la leptospirurie est encore très floue : elle est intermittente et contient une quantité variable de leptospires qui peut aller aux limites de la détection.

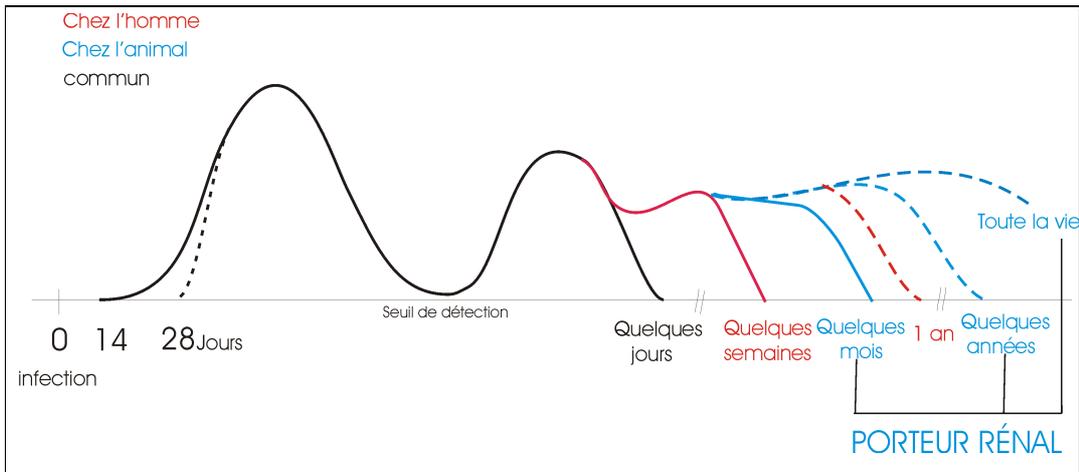


Fig. 21: Leptospirurie chez l'homme et chez les animaux.

On peut qualifier un animal de porteur rénal lorsqu'il excrète des leptospires pendant des périodes allant de quelques mois à toute sa vie.

La courbe cinétique des anticorps anti-leptospires est représentée par la figure 22, d'après PALIT et GULASEKHARAM (1973), BLACKMORE *et al.* (1984), BERCOVICH *et al.* (1990), EVERARD et BENNETT (1990).

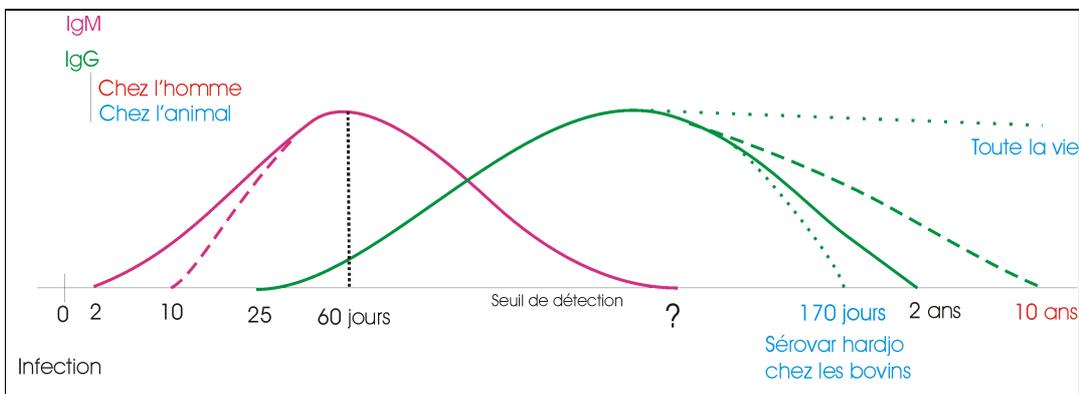


Fig. 22: Cinétique des anticorps.

L'apparition des anticorps IgM est précoce : la sérologie est un moyen efficace de dépistage et de diagnostic précoce de l'infection. En revanche, la cinétique des anticorps IgG est moins bien connue et varie selon l'espèce animale étudiée et selon les auteurs.

Ces résultats démontrent que malgré la diversité des moyens de diagnostics actuellement disponibles, l'épidémiologie de la leptospirose reste encore mal connue.

VI. Moyens de lutte

Les enquêtes sérologiques fournissent des informations épidémiologiques indispensables pour identifier les types de sérovars circulants dans les populations, et le niveau d'exposition de ces dernières. Comparés à ceux des cultures bactériologiques, ces résultats peuvent incriminer des espèces réservoirs et dévoiler des associations entre une espèce animale et un sérovar particuliers. Ultérieurement, ces informations peuvent être exploitées pour mettre en place des mesures de contrôle appropriées à la région d'investigation.

1. Méthodes sanitaires

La prophylaxie sanitaire est difficile compte tenu du grand nombre d'espèces animales susceptibles d'héberger des leptospires et de la survie des bactéries dans le milieu extérieur.

Elle repose sur l'information des personnels à risque, la lutte contre les rongeurs, le drainage des collections d'eau, le nettoyage des locaux infectés (abattoirs, cliniques vétérinaires) et sur le port de vêtements protecteurs par les professionnels exposés (gants, bottes et masque).

La lutte contre la circulation des leptospires au sein des animaux domestiques permet d'éviter la contamination de l'homme : mesures de quarantaine à l'introduction d'animaux dans un cheptel, éviter les points d'eau communs à plusieurs espèces, conduites d'élevages séparées des différentes espèces, éviter le partage d'un mâle reproducteur entre plusieurs élevages.

Ces mesures n'ont cependant qu'un impact limité sur l'épidémiologie de la leptospirose.

2. Méthodes médicales

Elles font appel à des vaccins inactivés. L'immunité étant spécifique des sérovars, les valences vaccinales doivent correspondre aux sérovars circulants dans l'espèce cible, dans une région donnée. Les vaccins commercialisés sont généralement multivalents, comme par exemple le vaccin bovin proposé par BOLIN *et al.* (1989b) qui réunit cinq valences.

Les chiens vaccinés (classiquement contre les sérovars canicola et icterohaemorrhagiae) expriment une forme clinique subaiguë lors d'une infection par d'autres sérovars : il existe donc une protection croisée limitée selon ANDRE-FONTAINE *et al.* (1994).

Cependant, la vaccination n'empêche pas le portage rénal et peut perturber une suspicion étiologique si le chien est malade, et donc retarder la mise en place du traitement.

BOLIN *et al.* (1999) établit qu'un vaccin protège efficacement les bovins contre *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo et empêche l'installation des leptospires dans le tractus urogénital. Cependant ces essais sont effectués sur des bovins naïfs vis-à-vis de l'infection leptospirosique. Dans le cas d'un troupeau en région d'enzootie, la vaccination n'empêche pas l'excrétion urinaire ni les avortements.

Tous les bovins sont vaccinés annuellement dans un troupeau voire tous les 6 mois en zone enzootique.

Un vaccin à usage humain est commercialisé en France, à Cuba et en Chine. Cette approche de la lutte est menée à grande échelle dans certaines régions de la Chine.

VII. Revue de la leptospirose dans le Pacifique Sud, à Fidji notamment

Dans certaines îles du Pacifique Sud, la leptospirose représente un réel problème de santé publique. Des cas cliniques humains de leptospirose, parfois mortels, ont été confirmés par des analyses de laboratoire à Hawaïi, Fidji, Palau, Etats Fédérés de Micronésie, Vanuatu et Nouvelle-Calédonie.

1. Historique de la leptospirose humaine à Fidji

D'après RAM (1978a), le premier cas clinique humain de leptospirose diagnostiqué à Fidji remonte à 1952, chez un soldat fidjien revenant de Singapour. Entre 1958 et 1959, EDMONDS et HAWLEY(1967) mettent en place une enquête sérologique sur la population humaine apparemment saine de Suva, et révèlent des anticorps dirigés contre les sérovars australis et icterohaemorrhagiae chez 35% des sujets. Ils en concluent que l'infection leptospirosique est fréquente dans la population fidjienne et suggèrent un dépistage chez les animaux ainsi qu'une recherche sérologique systématique chez les patients en hyperthermie admis à l'hôpital.

Toutefois le premier cas clinique n'est confirmé qu'en 1969 par des analyses de laboratoire au Colonial War Memorial Hospital de Suva : le sérotype icterohaemorrhagiae serovar copenhageni est identifié.

Le nombre de cas cliniques confirmés par le laboratoire de référence OMS/FAO pour la leptospirose à Brisbane (Australie), augmente chaque année jusqu'à atteindre 240 en 1977 dont 13 cas sont fatals. Les sérotypes les plus fréquemment isolés sont icterohaemorrhagiae, australis et canicola (RAM, 1978b). Les cas notifiés proviennent à 72.5% de Suva et de Levuka, peu de temps après la saison des pluies. Le plus souvent, les hospitalisations concernent des patients de sexe masculin, âgés de 20 à 50 ans, dont plus de la moitié sont des Fidjiens autochtones.

Cependant, cette enquête ne prend en compte que les cas du Colonial War Memorial Hospital, situé à Suva. On peut supposer que pour des raisons d'accessibilité, seule la population habitant à proximité de Suva se rend à l'hôpital et que les habitants des autres régions ne se déplacent que si la gravité du cas les y oblige. En effet, une hospitalisation représente des jours de travail perdus et une perturbation du cercle familial.

RAM et COLLINGS (1982) identifient les trois sérotypes majeurs précédemment déterminés (icterohaemorrhagiae, australis, canicola), en ajoutent un quatrième (copenhageni) et les estiment responsables de 86% des infections humaines. Les auteurs nuancent cependant ces résultats car seul le sérotype présentant le titre le plus élevé dans chaque prélèvement a été retenu.

Cette publication est en fait une analyse des cas cliniques hospitalisés au Colonial War Memorial Hospital, mais les auteurs généralisent leurs résultats à l'ensemble de la population

des Iles Fidji. Il paraît donc difficile d'accorder une signification réelle aux résultats annoncés, mais ils représentent toutefois des indicateurs pour les recherches ultérieures.

En 1977, RAM *et al.* effectuent une enquête épidémiologique sur la population humaine de deux villages de la division Centrale, qui présentent respectivement des séro-prévalences de 44% et 54%. Le séro-groupe Australis sérovar bratislava est mis en évidence chez les adultes et le séro-groupe Canicola est identifié chez les enfants. Les auteurs trouvent également 60% de séropositivité chez les employés des abattoirs.

Entre 1998 et 2000, les 136 cas rapportés proviennent essentiellement de Vanua Levu. En septembre 2000, une augmentation de la mortalité due à la leptospirose alerte le gouvernement: 23 morts sont déclarés dans la région Nord des Iles Fidji.

Le Ministère de la Santé lance en mai 2001 une enquête épidémiologique concernant les populations humaine et animale présentes dans les principaux foyers déclarés en 2000. Ces investigations représentent la première tentative de corrélation de l'épidémiologie de la leptospirose humaine avec celle des animaux à Fidji. Le MASLR est associé à la mise en œuvre de l'enquête et participe ainsi à la première action de collaboration entre les différentes autorités impliquées dans la santé publique. Malheureusement, les sérums animaux sont égarés et l'enquête ne présente plus qu'un intérêt limité.

Au mois d'avril 2002, dans cette même région, une seconde épidémie est responsable de 7 décès et 11 cas cliniques de leptospirose avérée sont détectés dans un même village sur Viti Levu. Une seconde enquête de séro-prévalence est alors rapidement mise sur pied au cours de ce même mois par les services de Santé. La CPS et le MASLR se chargent de la partie vétérinaire de l'étude, qui fait l'objet de ce rapport.

2. Historique de la leptospirose animale à Fidji

L'épidémiologie s'intéresse sporadiquement à l'aspect animal de la leptospirose à Fidji depuis déjà quarante ans. Cependant, aucun bénéfice en termes de santé publique n'en a encore découlé.

Le tableau 3 reprend les résultats des analyses sérologiques de l'infection leptospirosique obtenus par différents auteurs (NEWMAN, 1966, MUNRO, 1978, COLLINGS, 1984):

**Tabl. 3: Séro-prévalences de la leptospirose animale à Fidji
(en % puis nombre d'animaux testés).**

Année	Bovins	Ovins	Caprins	Porcins	Chiens	Chats	Souris	Rats	Mangoustes
1966	4.4 (500)	-	-	-	50.0 (20)	-	-	-	-
1978	0.3 (964)	-	0.0 (26)	2.2 (3720)	21.0 (19)	-	-	1.7 (58)	0.0 (80)
1984	27.5 (480)	17.1 (70)	10.3 (252)	10.0 (480)	57.0 (100)	0.0 (6)	40.0 (10)	55.8 (34)	53.1 (32)

Les chiffres présentés sont extrêmement différents. Seuls les chiens présentent à l'unanimité une prévalence très élevée.

Toutefois, le crédit apporté à ces résultats est limité par les informations concernant les plans d'échantillonnages. En effet, NEWMAN (1966) prélève les bovins d'un abattoir à proximité du siège du MASLR à Suva et ne précise pas les modalités du choix des chiens. On sait seulement que ces derniers présentent des signes cliniques d'hépatite ou de néphrite.

MUNRO (1978) rapporte les résultats obtenus par le laboratoire vétérinaire de Fidji (Veterinary Pathology Laboratory) entre 1971 et 1977. Les bovins et les porcins proviennent de grosses exploitations, d'un niveau technique légèrement supérieur à la moyenne. L'auteur ne fournit aucune indication quant à l'origine des autres échantillons.

COLLINGS (1984) précise que les chiens étudiés sont prélevés parmi la clientèle du cabinet vétérinaire de Suva présentant des signes cliniques de leptospirose, auxquels s'ajoutent quelques individus errants, capturés au même endroit.

Etant donné les modalités de sélection des animaux prélevés, aucune généralisation des résultats des analyses précitées n'est envisageable à l'ensemble des populations animales des Iles Fidji.

Ces chiffres apportent seulement la preuve que la leptospirose est présente dans ces populations.

De plus, les méthodes de diagnostic utilisées par les différents auteurs ne sont pas comparables, bien que toutes effectuées par le Veterinary Pathology Laboratory.

En effet, MUNRO (1978) utilise le MAT, COLLINGS (1984) emploie le test de fixation du complément et NEWMAN (1966) ne précise pas la nature de son test de diagnostic.

Les anticorps fixant le complément ont une durée de vie plus courte que les anticorps agglutinants, de ce fait, cette méthode de dépistage sous-estime probablement la prévalence réelle de l'infection. MUNRO (1978) le suggère et projette l'utilisation du MAT comme un outil de dépistage plus juste.

Le test MAT réalisé à Fidji, comporte une batterie de 12 sérovars qui sont : pomona, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, hardjo, ballum, tarassovi, canicola, australis, bratislava, autumnalis, pyrogenes, bataviae. Le test de fixation du complément comporte un sérovar supplémentaire, copenhageni, et ne teste pas le sérovar icterohaemorrhagiae.

Seuls NEWMAN (1966) et COLLINGS (1984) identifient les sérovars infectants.

Le tableau 4 présente la répartition des sérovars selon les espèces :

Tabl. 4: Répartition des sérovars par espèce animale selon les enquêtes.
Avec N pour NEWMAN (1966) et C pour COLLINGS (1984)

	pomona	icterohaemor.	grippotyphosa	hardjo	ballum	tarassovi	canicola	australis	bratislava	autumnalis	pyrogenes	bataviae	copenhageni
Bovins	N			C		C		C	C	C		C	
Ovins									C	C			
Caprins								C				C	C
Porcins	C						C		C	C			
Chiens		N			C		N		C				C
Rats								C	C	C		C	C
Mangoustes				C				C		C			
Souris								C		C			

Les résultats obtenus sont très différents entre les deux publications, et aboutissent par conséquent à des conclusions très différentes.

Quelques animaux n'ont qu'un seul sérovar infectant, alors que la majorité présentent des infections plurielles (COLLINGS, 1984). Ces pluri-infections sont-elles véritables ou simplement l'expression de réactions croisées ?

Les résultats de l'ensemble de ces publications jouent seulement un rôle d'indicateurs de la présence de la leptospirose à Fidji.

Ainsi, la CPS, en partenariat avec le MASLR et le Ministère de la Santé, propose une étude de la leptospirose à Fidji dans le cadre du projet d'amélioration de la santé publique. Une mise à jour des connaissances épidémiologiques de la leptospirose animale à Fidji apparaît donc indispensable avant d'entreprendre un projet d'une telle envergure.

Le Veterinary Pathology Laboratory ne procède plus au diagnostic de la leptospirose. Les souches utilisées pour le MAT ont été éliminées par manque de moyens d'entretien et de conservation.

Les analyses de laboratoire de l'enquête sont donc effectuées dans un laboratoire de référence pour la leptospirose de l'OMS/FAO/OIE. De plus, le recours à un laboratoire de référence permet de comparer les résultats avec ceux obtenus dans d'autres îles proches de Fidji, ce qui représente un avantage majeur pour un projet dont la dimension est régionale.

TROISIEME PARTIE : LE PROJET LEPTOSPIROSE A FIDJI

I. L'évolution des objectifs du projet

Cette enquête était originellement prévue pour initier le programme régional sur les zoonoses dans le Pacifique dirigé par la CPS, en collaboration avec les institutions gouvernementales de santé publique.

En effet, le Ministère de la Santé de Fidji a mené une enquête de séro-prévalence dans les foyers humains de leptospirose déclarés au mois d'avril 2002, sur les îles de Viti Levu et de Vanua Levu. La CPS, en collaboration avec le MASLR, a donc suivi le même protocole pour l'étude animale de la leptospirose dans ces foyers, afin d'identifier d'éventuels réservoirs animaux d'infection pour l'homme. Cependant, il n'a plus été possible d'accéder aux résultats des analyses humaines effectuées dans les foyers de leptospirose.

Une étude zoonotique de la leptospirose sans confrontation des résultats des deux parties ne présentait alors plus qu'un intérêt limité. Les objectifs de l'enquête ont donc été réorientés afin de tenter d'établir une description intéressante du cycle épidémiologique animal de la leptospirose dans deux zones climatiques différentes de l'île de Viti Levu, puis d'analyser le lien entre le climat et l'infection leptospirosique (*cf.* annexe 1).

1. Objectifs généraux

1. Evaluer l'importance des différentes populations animales –domestiques et sauvages- en tant que réservoir potentiel de leptospirose dans deux zones climatiques distinctes.
2. Examiner le rôle de chaque espèce animale –domestique ou sauvage- dans la circulation des différents sérovars de *Leptospira* dans deux zones climatiques différentes.

2. Objectifs détaillés

1. Estimer la séro-prévalence de la leptospirose dans chaque espèce animale : bovins, caprins, ovins, porcins, équins, chiens, chats, souris, rats, mangoustes présents dans les villages fidjiens de l'île de Viti Levu des zones climatiques humide et intermédiaire, pendant 3 mois de la saison sèche 2002.

2. Déterminer la prévalence de chaque sérovar de *Leptospira*, dans les populations étudiées.

Le climat de l'île de Viti Levu est assez contrasté, avec une zone dite sèche et une région humide (*cf.* Première partie.I.3), et la bibliographie de la leptospirose à Fidji indique une fréquence de l'infection plutôt élevée chez les animaux (*cf.* Deuxième partie.VII.2). Une enquête de cohorte permettrait donc d'estimer la fréquence de l'infection chez les sujets exposés et chez les non-exposés au facteur climatique. Cependant le temps imparti était insuffisant pour conduire une telle enquête. De plus, le climat d'une même zone change selon les saisons et les animaux âgés de plus d'un an sont en fait exposés à plusieurs types climatiques.

La leptospirose ne paraît pas être une maladie rare à Fidji et une approche cas-témoin de son étude semblerait inappropriée. Une proportion de trois ou quatre témoins pour un seul cas permet habituellement de s'affranchir des facteurs de variation individuels. Cependant, ce rapport serait difficile à obtenir car la définition du cas découlerait des analyses de laboratoires, postérieures à l'enquête.

Une enquête transversale permettait une description de la prévalence de l'infection et de l'exposition au facteur climatique simultanément. Par conséquent, une enquête transversale mixte a semblé être le compromis le plus acceptable en termes de durée et de logistique.

Une première partie se bornera à la description de la fréquence de l'infection et de la répartition des sérovares parmi les différentes populations animales, et des bases pour la formulation d'hypothèses quant aux principaux facteurs de risque seront établies dans une deuxième partie.

II. Protocole

1. Définition des indicateurs

- *Population cible*

Cette étude vise à étendre ses résultats à l'ensemble des populations animales, présentes dans les villages traditionnels fidjiens de Viti Levu, île principale des Fidji.

Toutes les espèces animales mammifères sont réceptives à l'infection leptospirosique. Les espèces animales examinées sont donc: bovins, petits ruminants, porcins, équins, chiens et chats pour les espèces domestiques ; souris, rats et mangoustes pour la faune sauvage.

Les batraciens, identifiés comme réceptifs à la leptospirose, ne sont pas étudiés pour des contraintes techniques de prélèvement. De façon similaire, des contraintes pratiques de contention excluent les chauves-souris de l'enquête.

Chaque espèce animale ne subit pas la même exposition au risque d'être infecté. En effet les conduites d'élevage ne sont pas toutes équivalentes, comme cela a été vu dans la première partie.

L'enquête s'est déroulée entre le mois de juin 2002 et le mois d'août 2002. Sur une période de 3 mois, les effectifs ont pu être considérés comme stables.

- *Unité épidémiologique*

Le risque d'exposition à la maladie varie selon l'espèce animale considérée. On estime qu'elle est identique pour tous les animaux d'une même espèce, sous réserve qu'ils aient une utilisation comparable et évoluent dans un environnement comparable. On distingue par exemple les bovins de trait des bovins de races bouchères.

L'unité épidémiologique se définit donc comme un **groupe d'animaux** de la même espèce, détenus par un même propriétaire et ayant des utilisations comparables, dans un environnement comparable.

2. Plan de sondage

- *Echantillonnage*

Deux villages ont été sélectionnés pour la réalisation de cette enquête.

Le choix du premier village de Naduri, guidé par les lignes directrices du protocole initial, attendait des résultats indicateurs de facteurs de risque et a donc été inclus dans l'étude. Les prélèvements animaux avaient déjà été effectués quand la réorientation forcée des objectifs a eu lieu.

Lors du premier protocole mis en place, l'échantillonnage vétérinaire a été effectué sur les bases du plan de sondage humain, dont les détails n'ont pas été accessibles. Les populations animales de ces villages ont logiquement été choisies pour l'étude vétérinaire du projet.

La population animale retenue est donc représentative des animaux vivant dans les foyers humains de leptospirose déclarés en 2002.

Le village de Naduri est situé au bord de la rivière Sigatoka dans la zone climatique intermédiaire de Viti Levu, à proximité d'un centre hospitalier. Il est représentatif des villages fidjiens par son organisation communautaire et ses modes d'élevage, les espèces animales présentes et la gestion des terres. On considère ainsi que ses populations animales sont représentatives de celles des villages fidjiens de la zone climatique intermédiaire de Viti Levu.

Après l'annulation du premier protocole, le choix d'une deuxième population animale a été contraint par des critères de comparabilité. Il s'agissait de sélectionner un village fidjien en bordure d'une rivière, à proximité d'un centre de soins médicaux, avec une gestion communautaire traditionnelle. L'étude comparative portait ainsi sur l'impact du facteur climatique sur l'infection leptospirosique. Le village de Burebasaga, situé dans la région humide de Viti Levu, en bordure de la rivière Rewa, a donc été choisi. Ce village n'a déclaré aucun cas humain de leptospirose cette année.

- *Taille des échantillons*

La taille de la population animale par village est impossible à connaître : les recensements agricoles, de qualité discutable, détaillent seulement le nombre d'animaux par province.

La totalité des populations animales de chaque village sélectionné a donc été prélevée, ce qui représente un total de 373 animaux et dont le tableau 5 présente la répartition par espèce et par village:

Tabl. 5: Composition de l'échantillon de l'enquête.

	bovins	chèvres	porcs	chevaux	chiens	chats	souris	rats	mangoustes	Total
Naduri	131	13	41	20	26	2	18	1	4	256
Burebasaqa	52	-	36	3	8	1	7	7	3	117
Total	183	13	77	23	34	3	25	8	7	373

La puissance de l'enquête n'a pu être donc calculée qu'*a posteriori*.

3. Récolte des données

- *Equipe responsable de l'enquête*

Le Vétérinaire Epidémiologiste de la CPS et le Senior Veterinary Officer du MASLR ont dirigé une équipe de terrain de 6 techniciens en productions animales du MASLR, dont 2 habitants du village de Naduri pour la première sortie, remplacés par le chef du village de Burebasaqa pour la seconde.

Deux équipes autonomes se sont réparties entre les animaux de ferme et les animaux de compagnie. Un membre de l'équipe a collecté les informations ayant trait à l'identification de chaque prélèvement et a interrogé chaque propriétaire d'animaux. Les autres membres ont effectué les prélèvements sanguins, aidés des éleveurs pour la contention des animaux.

- *Prélèvements biologiques*

Les animaux domestiques ont été contenus dans les couloirs présents dans les villages et ont été prélevés par ponction veineuse.

Des pièges captureurs à appât, munis d'une palette déclenchant la fermeture de la trappe sous l'effet du poids de l'animal ont été utilisés pour capturer la faune sauvage. Placés dans des endroits facilement accessibles et aux alentours des habitations humaines, les pièges ont été déployés de jour comme de nuit, pour couvrir les habitudes diurnes ou nocturnes des

animaux recherchés. Chaque éleveur inclus dans l'étude avait la charge de quelques pièges qu'il plaçait et vérifiait régulièrement.

Le sang de la faune sauvage a été prélevé par ponction intracardiaque pour permettre l'extraction d'un volume suffisant.



Fig. 23: Ponction intracardiaque effectuée sur une mangouste anesthésiée au chloroforme.

Un prélèvement d'urine par cystocentèse et une biopsie rénale ont été réalisés sur tous les souris, rats et mangoustes piégés.

Tous les prélèvements obtenus ont été aliquotés puis répertoriés sur un questionnaire qui a tenu le rôle d'une feuille d'enquête épidémiologique. Chacun a été identifié de façon unique par un code.

- *Questionnaire*

Le questionnaire, établi dans le cadre du protocole initial, explorait des hypothèses de facteurs de risque pour l'homme. Cet abord zoonotique a du être conservé après la réorientation des objectifs de l'enquête pour des raisons évidentes de standardisation des méthodes.

Dans l'objectif d'assurer une coopération maximale des éleveurs et diminuer le risque de non-réponse et de biais de sélection, le déroulement de l'enquête et les bénéfices que le village pourrait en retirer, ont été exposés clairement au cours d'une réunion d'information préalable dans le village choisi.

Chaque propriétaire a été interrogé lors d'un entretien en face-à-face après la phase de prélèvement des animaux. Afin de limiter les biais de classement dus à des problèmes de mauvaise compréhension de l'anglais, l'entretien a été mené par un technicien du MASLR en fidjien.

Un questionnaire a été rempli pour chaque éleveur et identifié de façon unique par un code spécifique. Il se composait d'une seule feuille recto-verso et contenait toutes les données à collecter, d'ordre technique et descriptif (*cf.* annexe 2).

Une première partie rassemblait les caractéristiques personnelles de l'éleveur (4 variables). Tous les animaux de la personne interrogée ont été décrits sur cette même feuille et un numéro a été attribué par animal. Pour chaque animal prélevé, une identification la plus complète possible a été reportée (5 variables).

Un tableau résumant le nombre d'animaux possédés par espèce et par sexe, a permis de vérifier les informations précédentes au cours de l'enquête, et de compléter les prélèvements quand un animal avait été oublié.

Une colonne a été également prévue pour les résultats des analyses de laboratoire pour synthétiser toutes les informations brutes en un seul support.

Le verso du questionnaire se composait de questions ouvertes concernant les pratiques d'élevage, celles-ci pouvant varier fortement d'un village à l'autre et par conséquent difficilement répertoriables de façon exhaustive.

Quelques risques de transmission les plus fréquemment mis en évidence par d'autres études ont également été abordés au travers de questions fermées (6 variables).

Enfin, les personnes manipulant les différentes espèces animales ont été recensées pour déceler éventuellement des contacts plus à risque que d'autres.

4. Mesures de laboratoire

L'ensemble des analyses des prélèvements a été fait dans un laboratoire de référence mondial pour la leptospirose :

WHO/FAO/OIE Collaborating Center for Reference and Research on Leptospirosis
39, Kessels Road
Coopers Plains
Queens land, Australia, 4108.

Tous les sérums prélevés ont été soumis au test de référence d'agglutination microscopique (MAT), qui présente une batterie de 21 sérovars et de 22 souches représentative des sérovars majeurs dans la région du Pacifique. Le seuil de positivité a été fixé par le laboratoire à la dilution d'anticorps de 1/50.

Les prélèvements d'urine ont été soumis à la technique de PCR quantitative « real time », qui distingue les sérovars pathogènes des saprophytes et détecte à un seuil minimum de 2 leptospires dans un prélèvement (SMYTHE *et al.*, 2002).

Les biopsies rénales ont été mises en culture dès leur prélèvement dans des milieux EMJH, fournis par le laboratoire.

La mise en évidence de leptospires dans l'urine par PCR ou le tissu rénal par observation des cultures est le critère de positivité.

Les prélèvements ont été stockés pendant un à deux mois à une température de -20°C en attendant que le permis d'importation du laboratoire soit renouvelé.

5. Gestion des données

Une saisie informatique et un codage des réponses aux questionnaires a été faite à l'aide du logiciel informatique Excel®. Les entrées ont été vérifiées deux fois par une même personne.

Les données ont été analysées avec le programme de traitement statistique SPSS®, en suivant la démarche exposée ci-après.

La séro-prévalence de l'infection leptospirosique a été décrite dans chaque village de façon globale et pour chaque espèce animale présente. Au sein de chaque espèce, la prévalence de l'infection a été détaillée en fonction des variables dichotomiques « sexe » des animaux et « âge » (jeune ou adulte).

La répartition de chaque sérovar circulant a été décrite dans l'ensemble des populations animales, ainsi que l'ensemble des sérovars hébergés par une même espèce animale.

Les pourcentages de séro-prévalence observés ont été comparés entre eux à chaque étape de la démarche présentée ci-dessus, afin de rechercher une infection significativement plus élevée dans un sous-groupe particulier (espèce, sexe, âge).

Pour chaque sérovar, les pourcentages de distribution par espèce ont également été comparés afin de détecter une association significative entre un sérovar et une espèce (suspectée d'être alors réservoir). Les prévalences des sérovars rencontrés au sein d'une seule espèce ont été confrontées, afin de déterminer s'il existe un sérovar majoritaire dans l'infection ou si elle est plutôt plurielle.

6. Suivi des résultats

Quels que soient les résultats, le chef du village est informé de leur qualité. En cas de résultat positif, une équipe de terrain réduite mobilisant uniquement les vétérinaires, est prête à fournir des recommandations.

III. Résultats et discussion

Sur les 373 animaux prélevés, 366 sérums ont été envoyés au laboratoire. 7 animaux n'ont effectivement pas pu être prélevés : prélèvement sanguin infructueux (1 souris, 1 rat et 2 mangoustes), animaux morts pendant le transport (1 souris), animaux perdus (1 mangouste et 1 rat). 364 prélèvements ont été soumis au test de référence pour le diagnostic de la leptospirose (MAT) : 2 sérums de bovins n'ont pas été analysés. Aucune information concernant ces échantillons manquants n'a été rapportée (problème d'étanchéité du conditionnement ?).

Les résultats des mises en culture des prélèvements d'urine et des biopsies rénales n'ont pas été communiqués par le laboratoire.

1. Aspects quantitatifs de l'infection leptospirosique

Pour chacun des échantillons, les séro-prévalences de chaque espèce animale étudiée sont répertoriées dans la figure 24.

Fig. 24: Séro-prévalence et composition démographique des échantillons de l'enquête.

NADURI

Espèces animales	Nombre d'animaux	Nombre de positifs	Taux spécifique (%)
Bovins	129	94	73
Porcs	41	9	22
Chevaux	20	17	85
Chèvres	13	5	38
Chiens	26	16	62
Chats	2	0	0
Rats	-	-	-
Mangoustes	3	1	33
Souris	16	2	13
TOTAL	250	144	

Taux brut non standardisé : **57,6%**

BUREBASAQA

Espèces animales	Nombre d'animaux	Nombre de positifs	Taux spécifique (%)
Bovins	52	32	62
Porcs	36	4	11
Chevaux	3	2	67
Chèvres	-	-	-
Chiens	8	3	38
Chats	1	0	0
Rats	6	0	0
Mangoustes	1	1	100
Souris	7	0	0
TOTAL	114	42	

Taux brut non standardisé : **36,8%**

Afin de neutraliser l'effet des différences de composition démographique au sein de chaque échantillon, une **standardisation des taux** a été réalisée (méthode directe). Une population de référence fictive de 900 individus a été choisie, comprenant les 9 espèces animales en proportions égales. Le nombre d'animaux positifs attendu a été calculé en appliquant les taux spécifiques pour chaque espèce. Le taux standardisé de séro-prévalence a ainsi été établi pour chaque village (tableau 6).

Tabl. 6: Standardisation directe des séro-prévalences animales pour le village de Naduri.

NADURI

Espèces animales	Nombre d'animaux	Taux spécifique (%)	Nombre de positifs attendu
Bovins	100	73	73
Porcs	100	22	22
Chevaux	100	85	85
Chèvres	100	38	38
Chiens	100	62	62
Chats	100	0	0
Rats	100	-	-
Mangoustes	100	33	33
Souris	100	13	13
<i>TOTAL</i>	900		323

Taux standardisé : $323/900 = 35,9\%$

Une démarche identique aboutit à un taux de séro-prévalence standardisé de **30,9%** pour la population animale de Burebasaqa.

Les taux d'infection leptospirosique sont donc de **35,9% en zone climatique intermédiaire**, avec un intervalle de confiance à 95% de [30,0 ; 41,8] et de **30,9% en zone humide**, avec un intervalle de confiance à 95% de [22,4 ; 39,4].

La qualité de la mesure de la séro-prévalence est conditionnée par la **représentativité** de l'échantillon. Pour des raisons pratiques d'organisation de l'enquête, ce dernier a été constitué à partir d'une population source composée des villages dans lesquels au moins un habitant travaillait pour les services de productions animales du MASLR. En effet, il n'existe pas de base de sondage des villages de Fidji au sein de laquelle l'échantillon aurait pu être choisi par tirage au sort.

La population source retenue n'est pas représentative de la population cible visée par cette étude. En effet, les villages éligibles sont situés près des stations du MASLR, qui sont très inégalement réparties sur Viti Levu. Ces dernières sont notamment plutôt concentrées autour de Suva, dans la zone humide de l'île. Du fait de cette localisation péri-urbaine, ces villages ont des revenus stables car nombre de leurs habitants ont un emploi de fonctionnaire en ville.

Ils accordent alors un minimum de soins à leurs animaux et sont moins dépendants des revenus de l'agriculture.

Ce **biais de sélection** se répercute sur la motivation et la collaboration du village ainsi que sur la prise en charge des animaux cliniquement atteints de leptospirose. Et bien que les villages échantillonnés restent représentatifs des villages fidjiens de Viti Levu par leur organisation communautaire et leurs systèmes d'élevage, les techniciens du MASLR y habitant ont les connaissances suffisantes pour traiter ou abattre les animaux présentant des symptômes évocateurs de leptospirose. Ces actions ont des conséquences directes sur la séro-prévalence du village. Ces éleveurs avertis appliquent également des moyens de contrôle des populations de rongeurs, à la différence des autres villageois, réduisant ainsi les facteurs de risque d'exposition humaine et animale.

On peut donc considérer qu'il entraîne une distorsion lors de l'extrapolation des résultats aux populations cibles de l'enquête dans le sens d'une **sous-estimation**.

Alors que le biais de sélection entraîne une impossibilité de généraliser les résultats de cette étude à la population cible des villages fidjiens de Viti Levu, les précautions destinées à limiter les **biais de classement** ont été efficaces.

En effet, les erreurs différentielles ont été évitées par le choix d'un laboratoire mondial de référence pour la leptospirose qui a permis la **standardisation des critères de diagnostic**. Malgré le changement des objectifs au cours de l'enquête, le même questionnaire a également été conservé pour standardiser les conditions de recueil de l'information. La recherche des facteurs de risque ne s'est pas focalisée sur le facteur climatique et a concerné d'autres facteurs de risque classiques comme le traitement des déchets et le contrôle des rongeurs.

Le questionnaire a été mené en fidjien pour limiter les erreurs de classement liées à une mauvaise compréhension de l'anglais, par un membre de l'équipe ne résidant pas dans le village.

Ainsi, les erreurs de classement commises au cours de ce protocole ne peuvent être que non différentielles. Et bien que le MAT soit le test de référence, il n'est pas exclu que de telles erreurs de classement arrivent, sans influencer l'association mesurée.

Le laboratoire a fixé le seuil de positivité du test de diagnostic de MAT à 1/50 de façon arbitraire. Un titre seuil de 1/100, communément utilisé dans les enquêtes épidémiologiques humaines, aurait donné une séro-prévalence de 28,8% pour Naduri et de 26,0% pour Burebasqa après standardisation. Le choix d'un critère de positivité de 1/50 augmente la sensibilité de cette enquête. Comme aucune campagne de vaccination n'a été conduite dans

les Iles Fidji, aucune interférence avec des anticorps vaccinaux, généralement présents à des titres moindres, n'est envisageable. La présence d'anticorps est obligatoirement la preuve d'un contact avec la bactérie « sauvage ».

-Peut-on considérer que l'infection leptospirosique animale est plus fréquente à Naduri qu'à Burebasaga ?

Un test de χ^2 à 1 degré de liberté permet de comparer les deux séro-prévalences :

Tabl. 7: Séro-prévalence leptospirosique et exposition climatique.

		CLIMAT			
		humide	intermédiaire		
INFECTION	Oui	35	91	$\chi^2 = 1,12$ OR= 1,29	[0,78 ; 2,13]
	Non	79	159		
% d'infectés		30.9	35.9		

La différence entre les séro-prévalences n'est pas statistiquement significative (au risque 5%), c'est-à-dire **qu'on ne met pas en évidence de différence entre les séro-prévalences d'infection leptospirosique des zones climatiques intermédiaire et humide.**

Cette absence de signification peut s'interpréter comme une réelle différence entre les vraies valeurs comparées ou comme un manque de puissance.

La validité de la mesure de l'association entre l'infection et l'exposition au facteur climatique est appréciée par la notion de **comparabilité** des villages. Le changement d'orientation des objectifs de l'enquête a eu lieu seulement un mois et demi avant la fin du stage (*cf.* annexe 1). Le choix du village de Burebasaga a permis à l'équipe de procéder aux prélèvements des animaux de son village très rapidement car le chef travaillait au MASLR. Ce village présentait en outre des critères de comparabilité satisfaisants comme une gestion communautaire, la proximité d'un centre de soins médicaux et l'implantation près d'une rivière.

Toutefois, le village de Burebasaga est plus petit (moins de 300 habitants) que celui de Naduri (environ 500 habitants) et possède un nombre d'animaux domestiques total inférieur (97 et 230 respectivement). Cette différence aboutit à une **diminution de la puissance de l'enquête**, vraisemblablement responsable en partie de la non signification de test de comparaison.

Dans l'hypothèse d'une fréquence moindre en zone humide, le calcul de la différence minimale détectable avec une « bonne » puissance de 80% est :

$$\text{Arcsin}\sqrt{P} = \text{Arcsin}\sqrt{0,359 - \phi\sqrt{(1/4*250 + 1/4*114)}} \quad \text{on obtient alors } P= 0,07.$$

Cela signifie que la séro-prévalence devrait être égale au plus à 7% pour que le test de comparaison ait 80% de chances d'être significatif.

Le ratio comparatif de prévalence vrai des séro-prévalences leptospirosiques des deux zones climatiques est donc vraisemblablement inférieur à $35,9/7= 5$, avec un risque d'erreur de 20%.

Les séro-prévalences calculées sur les deux populations de cette étude sous-estiment probablement les vraies séro-prévalences des populations animales des villages traditionnels fidjiens de Viti Levu. Mais, comme le mode de sélection des deux villages est identique, la sous-estimation est certainement du même ordre de grandeur pour les deux villages et le ratio comparatif de prévalence observé ($35,9/30,9= 1,17$) ne doit pas être trop différent du vrai ratio. Il paraît alors hasardeux de conclure à une vraie différence élevée entre l'infection leptospirosique des deux zones climatiques étudiées.

Plus d'un tiers de la population animale est infectée par la leptospirose dans chacune des deux zones climatiques, sans qu'aucune différence importante entre les séro-prévalences ne soit mise en évidence par le facteur climatique. Aucun animal ne présentait de signe clinique de leptospirose lors des prélèvements : **l'infection leptospirosique subclinique est fréquente**, aussi bien en zone climatique humide qu'en zone intermédiaire.

-Existe-t-il une différence entre les taux d'infection des différentes espèces animales prélevées ?

La séro-prévalence par espèce animale dans les deux échantillons est résumée dans le tableau 8 (les effectifs testés ne sont pas repris puisqu'ils ont été présentés dans la figure 24).

Tabl. 8: Séro-prévalences par espèce animale.

Espèce animale	NADURI	BUREBASAQA
Bovins	73%	62%
Porcs	22%	11%
Chevaux	85%	67%
Caprins	39%	-
Chiens	62%	38%
Chats	0%	0%
Rats	-	0%
Mangoustes	33%	100%
Souris	13%	0%

A Naduri, 3 espèces animales présentent une infection chez au moins 50% de leurs sujets : **bovins, chevaux et chiens**. Les valeurs des séro-prévalences sont très élevées, pourtant aucun cas clinique n'a été détecté durant la phase de prélèvements de l'enquête. L'infection subclinique est extrêmement fréquente. Seuls les chats (0 sujets sur 2) sont séro-négatifs.

A Burebasqa, 3 espèces animales affichent également des taux d'infection élevés : **bovins, chevaux** et mangoustes (mais 1 seul sujet étudié). Ni les chats (1 animal testé), ni les rongeurs (7 souris et 6 rats) ne sont positifs. Cette dernière observation est surprenante car les rongeurs sont réputés être des réservoirs efficace pour la leptospirose. Toutefois, la bactériémie est intermittente et souvent très faible, à la limite de la détection. Les résultats des mises en culture des biopsies rénales et des prélèvements d'urine de la faune sauvage devrait apporter un complément d'information essentiel. Malheureusement, les résultats n'ont toujours pas été communiqués par le laboratoire.

L'infection équine n'est pas documentée dans la littérature relatant les études de la leptospirose animale aux Iles Fidji. Les chats ne présentent pas d'infection, comme dans cette enquête, alors que la séro-prévalence chez les rats s'avère élevée. Les bovins, les chèvres, les porcs, les chiens, les souris et les mangoustes sont également infectés. Cependant, il semble difficile de comparer les chiffres annoncés par COLLINGS (1984), MUNRO (1978) ou NEWMAN (1966) avec les résultats présentés ici. Le crédit apporté à leurs conclusions est effectivement limité par les informations concernant les plans d'échantillonnage, comme vu précédemment (*cf.* Deuxième partie.VII.2). Ces renseignements constituent toutefois des indicateurs de présence de l'infection leptospirosique dans les populations animales étudiées.

La figure 25 présente les effectifs d'animaux testés lors de cette étude et les différences de séro-prévalences observées par espèce dans chaque village évaluées par un test statistique du χ^2 (après regroupement des effectifs pour satisfaire aux conditions d'application du test).

Fig. 25: Tableaux de contingence de la séro-prévalence par espèce animale.

NADURI

		INFECTION			
		non	oui	total	
ESPECES	bovins	observé	35	94	129
		attendu	54,7	74,3	129,0
		% d'infectés		73,0%	
	carnivores	observé	12	16	28
		attendu	11,9	16,1	28,0
		% d'infectés		57,0%	
	chevaux	observé	3	17	20
		attendu	8,5	11,5	20,0
		% d'infectés		85,0%	
	chèvres	observé	8	5	13
		attendu	5,5	7,5	13,0
		% d'infectés		38,5%	
	faune sauvage	observé	16	3	19
		attendu	8,1	10,9	19,0
		% d'infectés		15,8%	
	porcs	observé	32	9	41
		attendu	17,4	23,6	41,0
		% d'infectés		22,0%	
total		observé	106	144	250
		attendu	106,0	144,0	250,0
		% d'infectés		57,6%	

$\chi^2 = 55,4$ à 5ddl
 $p < 1\%$

BUREBASAQA

		INFECTION			
		non	oui	total	
ESPECES	animaux divagants	observé	19	4	23
		attendu	14,5	8,5	23,0
		% d'infectés		17,4%	
	animaux ayant accès à de grandes étendues	observé	21	34	55
		attendu	34,7	20,3	55,0
		% d'infectés		61,8%	
	porcs	observé	32	4	36
		attendu	22,7	13,3	36,0
		% d'infectés		11,1%	
total		observé	72	42	114
		attendu	72,0	42,0	114,0
		% d'infectés		36,8%	

$\chi^2 = 28,7$ à 2ddl
 $p < 1\%$

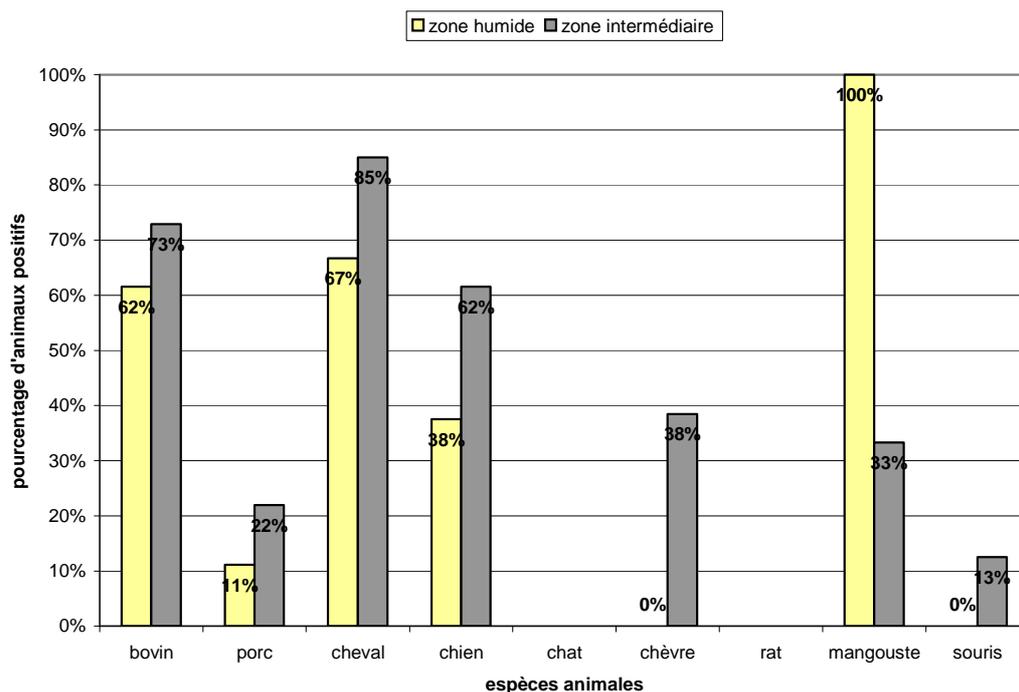
Pour le village de Naduri, la différence est significative avec un degré de signification $p < 1\%$. Le taux d'infection leptospirosique varie donc selon l'espèce animale (au risque 5%). On observe que **les chevaux sont les plus infectés**. Les **bovins** et les carnivores (les **chiens** en réalité) présentent également des taux d'infection élevés.

A Burebasqa, le regroupement prend en compte l'exposition au risque de contracter la leptospirose dans l'environnement. La différence des séro-prévalences dans les sous-populations animales est significative, avec un degré de signification $p < 1\%$. Les animaux qui ont un accès à de grandes étendues, comme les **bovins** et les **chevaux**, sont les plus infectés.

Ces taux de séro-prévalences ne servent qu'à déterminer le sens de la liaison et n'ont pas de sens en eux-mêmes. Ceci est la conséquence du mode d'échantillonnage où les villages proches des stations du MASLR ont certainement des taux inférieurs à ceux des autres villages.

La comparaison des distributions globales des séro-prévalences dans les sous-populations animales entre les deux villages est illustrée par la figure 26.

Fig. 26: Proportion d'animaux leptospirosiques par espèce et en fonction du climat.



Les deux distributions semblent assez proches : les chevaux et les bovins sont les plus infectés, les chiens sont en troisième position. Seule une différence de séro-prévalence importante est observée chez les mangoustes, mais le faible nombre d'individus testés limite le crédit à apporter ces chiffres.

Le test statistique du χ^2 n'est pas applicable dans ce cas précis même en opérant des regroupements logiques d'espèces car les effectifs sont trop faibles.

Néanmoins, les comparaisons des séro-prévalences par espèce animale entre les deux zones climatiques sont présentées dans le tableau 9 :

Tabl. 9: Tableau de contingence du taux d'infection par espèce en fonction de la zone climatique.

ESPECES	CLIMAT		INFECTION			total	
			non	oui			
bovins	CLIMAT	humide	observé	20	32	52	$\chi^2= 2,25$ OR= 1,68 [0,80 ; 3,50]
			attendu	15,8	36,2	52,0	
			% d'infectés		61,5%		
		intermédiaire	observé	35	94	129	
			attendu	39,2	89,8	129,0	
			% d'infectés		72,9%		
chiens	CLIMAT	humide	observé	5	3	8,0	$\chi^2_{Y=} 0,63$ OR= 2,67 [0,40 ; 20,48]
			attendu	3,5	4,5	8,0	
			% d'infectés		37,5%		
		intermédiaire	observé	10	16	26	
			attendu	11,5	14,5	26,0	
			% d'infectés		61,5%		
chevaux	CLIMAT	humide	observé	1	2	3	p= 0,45 OR= 2,83 [0,04 ; 69,48]
			attendu	,5	2,5	3,0	
			% d'infectés		66,7%		
		intermédiaire	observé	3	17	20	
			attendu	3,5	16,5	20,0	
			% d'infectés		85,0%		
mangoustes	CLIMAT	humide	observé	0	1	1	p= 1,0 OR= 0 [0,00 ; 39,00]
			attendu	,5	,5	1,0	
			% d'infectés		100,0%		
		intermédiaire	observé	2	1	3	
			attendu	1,5	1,5	3,0	
			% d'infectés		33,3%		
souris	CLIMAT	humide	observé	7	0	7	p= 1,0 OR= 0 IC non défini
			attendu	6,4	,6	7,0	
			% d'infectés	100,0%	,0%		
		intermédiaire	observé	14	2	16	
			attendu	14,6	1,4	16,0	
			% d'infectés		12,5%		
porcs	CLIMAT	humide	observé	32	4	36	$\chi^2= 1,6$ OR= 2,25 [0,55 ; 10,93]
			attendu	29,9	6,1	36,0	
			% d'infectés		11,1%		
		intermédiaire	observé	32	9	41	
			attendu	34,1	6,9	41,0	
			% d'infectés		22,0%		

Tous les tests sont non significatifs (à comparer avec la valeur au risque 5% d'une loi de χ^2 à 1 ddl, soit 3,84). **Aucune différence entre les taux d'infection d'une espèce donnée n'est mise en évidence dans la zone humide et dans la zone intermédiaire.**

Néanmoins, les valeurs des odds-ratio révèlent un risque d'infection supérieur en zone climatique intermédiaire pour les bovins, les chiens, les chevaux et les porcs. Mais les sous-groupes ainsi étudiés deviennent trop petits pour que la puissance des tests soit acceptable.

De plus, Naduri a déclaré une épidémie de leptospirose humaine en avril 2002. En revanche, Burebasqa n'a reporté aucun cas humain. On peut considérer que, l'accès aux soins médicaux étant comparable, la sensibilité de détection des cas humains est équivalente dans les deux villages. Un **facteur de confusion** potentiel intervient alors. En effet, la variable « **cas humain** » se superpose à la variable climatique. Il semble difficile de distinguer la portée de chacune sur la séro-prévalence et de prendre en compte les effets du facteur de confusion dans l'analyse. L'estimation du risque relatif qui mesure la relation entre l'exposition au facteur climatique et l'infection ajustée sur le facteur de confusion « cas humains », n'est pas réalisable. Il aurait été préférable de contrôler ce biais de confusion au moment de la planification de l'enquête et de choisir un autre village situé dans la zone humide, ayant déclaré des cas humains de leptospirose en avril 2002.

-Existe-t-il un lien entre l'âge des animaux et l'infection leptospirosique ?

Cette partie de l'analyse n'a pu être effectuée que sur le village de Naduri. L'âge des animaux de Burebasqa n'a effectivement pas toujours été reporté pour des raisons de négligence.

Lorsqu'il a été mentionné, l'âge des animaux a été rapidement estimé par les propriétaires ou le technicien du MASLR originaire du village lors des prélèvements. Il comporte ainsi une marge d'erreur certaine. Les classes d'âge ont alors été simplifiées et réduites à « jeunes » et « adultes ». La catégorie « jeune » regroupe tous les animaux de moins d'une année pour étudier l'exposition au risque de la saison chaude 2001.

La faune sauvage n'est pas incluse dans cette part de l'étude pour des raisons évidentes d'impossibilité de diagnose de l'âge.

Le tableau 10 présente la répartition de la séro-prévalence des sujets par âge et par espèce.

Tabl. 10: Composition de l'échantillon de Naduri par âge et par espèce.

NADURI

ESPECES			ÂGE		Total		
			jeune	adulte			
bovins	infection	non	observé	11	21	32	$\chi^2 = 0,25$ OR = 1,24 [0,53 ; 2,93]
			attendu	9,9	22,1	32,0	
	oui		observé	27	64	91	
			attendu	28,1	62,9	91,0	
	Total		observé	38	85	123	
			attendu	38,0	85,0	123,0	
chevaux	infection	non	observé	1	2	3	p = 0,53 OR = 2,17 [0,14 ; 32,50]
			attendu	,6	2,4	3,0	
	oui		observé	3	13	16	
			attendu	3,4	12,6	16,0	
	Total		observé	4	15	19	
			attendu	4,0	15,0	19,0	
chèvres	infection	non	observé	8		8	
			attendu	8,0		8,0	
	oui		observé	5		5	
			attendu	5,0		5,0	
	Total		observé	13		13	
			attendu	13,0		13,0	
chiens	infection	non	observé	5	5	10	p = 0,018 OR = 15 [1,40 ; 161,05]
			attendu	2,3	7,7	10,0	
	oui		observé	1	15	16	
			attendu	3,7	12,3	16,0	
	Total		observé	6	20	26	
			attendu	6,0	20,0	26,0	
porcs	infection	non	observé	26	3	29	p = 0,041 OR = 6,93 [1,17 ; 41,00]
			attendu	23,7	5,3	29,0	
	oui		observé	5	4	9	
			attendu	7,3	1,7	9,0	
	Total		observé	31	7	38	
			attendu	31,0	7,0	38,0	

Le test du χ^2 est significatif seulement pour les chiens car $2p < 0,05$, avec un degré de signification $2p = 3,6\%$. On observe que le **taux d'infection leptospirosique est plus élevé chez les chiens adultes** que chez les jeunes. Pour les autres espèces, aucune différence n'est mise en évidence entre les séro-prévalences des jeunes et des adultes. Cependant, les odds-ratio révèlent un risque d'infection accru chez les adultes pour les chevaux et les porcs, et pour ces derniers, le test de comparaison est proche de la signification. L'absence de signification est vraisemblablement due à un manque de puissance, les effectifs comparés étant trop faibles pour que la puissance des tests soit acceptable.

Ces observations étaient attendues. Lorsque les jeunes sont infectés par la leptospirose, ils développent souvent des formes cliniques sévères dont l'issue peut être fatale. Il semble donc

logique que le taux d'infection de jeunes animaux apparemment sains soit moins élevé que celui des adultes, soumis à une pression d'infection tous les ans, qui présentent en outre une sensibilité moindre.

-Existe-t-il un lien entre le sexe des animaux et l'infection leptospirosique ?

Les séro-prévalences par sexe et par espèce sont présentées par la figure 27.

Fig. 27: Tableaux de contingence de la répartition des échantillons par sexe et par espèce.

NADURI

ESPECES				SEXE		total
				F	M	
bovins	infection	non	observé	17	18	35
			attendu	17,1	17,9	35,0
		oui	observé	46	48	94
			attendu	45,9	48,1	94,0
	total		observé	63	66	129
			attendu	63,0	66,0	129,0
chevaux	infection	non	observé	1	2	3
			attendu	1,3	1,7	3,0
		oui	observé	8	9	17
			attendu	7,7	9,4	17,0
	total		observé	9	11	20
			attendu	9,0	11,0	20,0
chèvres	infection	non	observé	5	3	8
			attendu	5,5	2,5	8,0
		oui	observé	4	1	5
			attendu	3,5	1,5	5,0
	total		observé	9	4	13
			attendu	9,0	4,0	13,0
chiens	infection	non	observé	5	5	10
			attendu	4,6	5,4	10,0
		oui	observé	7	9	16
			attendu	7,4	8,6	16,0
	total		observé	12	14	26
			attendu	12,0	14,0	26,0
mangoustes	infection	non	observé	1	1	2
			attendu	1,3	,7	2,0
		oui	observé	1	0	1
			attendu	,7	,3	1,0
	total		observé	2	1	3
			attendu	2,0	1,0	3,0
porcs	infection	non	observé	20	12	32
			attendu	21,9	10,1	32,0
		oui	observé	8	1	9
			attendu	6,1	2,9	9,0
	total		observé	28	13	41
			attendu	28,0	13,0	41,0
souris	infection	non	observé	5	9	14
			attendu	5,3	8,8	14,0
		oui	observé	1	1	2
			attendu	,8	1,3	2,0
	total		observé	6	10	16
			attendu	6,0	10,0	16,0

$\chi^2= 0$
OR= 0,9 [0,45 ; 2,14]

p= 1
OR= 0,56 [0,04 ; 7,44]

p= 1
OR= 0,42 [0,03 ; 5,70]

p= 1
OR= 1,23 [0,26 ; 6,27]

p= 1
OR non défini

$\chi^2_Y= 1,21$
OR= 0,21 [0,02 ; 1,88]

p= 1
OR= 0,56 [0,03 ; 10,93]

BUREBASAQA

ESPECES				SEXE		total
			F	M		
bovins	infection	non	observé	10	10	20
			attendu	11,9	8,1	20,0
		oui	observé	21	11	32
			attendu	19,1	12,9	32,0
	total		observé	31	21	52
			attendu	31,0	21,0	52,0
chevaux	infection	non	observé	0	1	1
			attendu	,7	,3	1,0
		oui	observé	2	0	2
			attendu	1,3	,7	2,0
	total		observé	2	1	3
			attendu	2,0	1,0	3,0
chiens	infection	non	observé	1	4	5
			attendu	,6	4,4	5,0
		oui	observé	0	3	3
			attendu	,4	2,6	3,0
	total		observé	1	7	8
			attendu	1,0	7,0	8,0
mangoustes	infection	oui	observé		1	1
			attendu		1,0	1,0
	total		observé		1	1
			attendu		1,0	1,0
porcs	infection	non	observé	24	8	32
			attendu	24,9	7,1	32,0
		oui	observé	4	0	4
			attendu	3,1	,9	4,0
	total		observé	28	8	36
			attendu	28,0	8,0	36,0
souris	infection	non	observé	6	1	7
			attendu	6,0	1,0	7,0
	total		observé	6	1	7
			attendu	6,0	1,0	7,0

$\chi^2= 1,25$
OR= 0,52 [0,14 ; 1,90]

p= 0,33
OR= 0,00 [0,00 ; 19,50]

p= 1
OR non défini

p= 0,56
OR= 0,00 [0,00 ; 5,53]

Pour chacun des villages, aucune différence n'est mise en évidence entre les taux d'infection des mâles et des femelles au sein de chaque espèce. Cependant, les odds-ratio révèlent un risque d'infection leptospirosique supérieur chez les femelles des espèces équine, caprine, porcine et murine en zone climatique intermédiaire, et à l'inverse un risque accru chez les chiens mâles. En zone humide, les bovins femelles sembleraient plus infectées. Mais les effectifs ainsi créés deviennent trop faibles pour que la puissance des tests soit acceptable.

Cette première partie de l'analyse a permis d'aboutir à plusieurs conclusions intéressantes. **Plus d'un tiers des populations animales des villages fidjiens de Viti Levu, situés en zone climatique humide ou intermédiaire, présente une infection sub-clinique de leptospirose. Les chevaux et les bovins représentent les espèces animales les plus infectées dans les**

deux régions. En zone intermédiaire, les adultes sont plus infectés que les jeunes, notamment chez les chiens. En revanche, aucun lien n'a été mis en évidence entre le sexe des animaux et l'infection leptospirosique, pour des problèmes de manque de puissance principalement.

2. Aspects qualitatifs de l'infection leptospirosique

L'analyse qui suit se concentre sur les animaux séropositifs, les chats et les rats en ont donc été écartés.

-Quels sont les sérovars les plus fréquents dans chaque zone climatique ?

La figure 28 détaille le nombre d'animaux positifs à un sérovar leptospirosique donné, en fonction de l'espèce et du village étudiés. Un animal peut réagir à plusieurs sérovars.

Fig. 28: Répartition des sérovars par espèce animale dans les deux échantillons.

NADURI

	bovins	porcs	chevaux	chiens	caprins	mangoustes	souris	Total
pomona	-	-	-	-	-	-	-	-
hardjo	59	1	4	-	1	1	-	66
tarassovi	22	-	1	1	-	-	-	24
grippotyphosa	-	-	-	-	-	-	-	-
celledoni	-	1	1	-	-	-	-	2
copenhageni	4	3	7	3	2	-	-	19
australis	24	-	7	6	-	-	-	37
pyrogenes	17	2	11	10	1	-	-	41
canicola	-	-	1	7	-	-	-	8
hebdomadis	39	-	-	-	-	1	-	40
mini	20	-	-	-	-	1	-	21
sarmin	-	3	9	-	-	-	-	12
bulgarica	2	-	4	1	-	-	-	7
cynopteri	-	1	3	-	-	-	-	4
ballum	10	2	7	3	-	-	2	24
bataviae	8	-	-	-	1	-	-	9
djasiman	1	2	5	-	-	-	-	8
javanica	-	-	-	-	-	-	-	-
panama	2	-	-	-	-	-	-	2
shermani	11	-	-	-	-	-	-	11
mwalok	28	2	9	5	-	-	-	44

BUREBASAQA

	bovins	porcs	chevaux	chiens	mangoustes	Total
pomona	15	-	1	-	-	16
hardjo	2	-	-	-	-	2
tarassovi	-	-	-	-	-	-
grippotyphosa	-	-	-	-	-	-
celledoni	-	-	-	-	-	-
copenhageni	4	2	1	-	-	7
australis	6	-	-	2	1	9
pyrogenes	2	-	1	-	-	3
canicola	1	-	-	-	-	1
hebdomadis	10	-	-	-	-	10
mini	1	-	-	-	-	1
sarmin	-	-	-	-	-	-
bulgarica	-	1	-	-	-	1
cynopteri	1	2	1	-	-	4
ballum	5	-	2	-	-	7
bataviae	4	-	1	-	-	5
djasiman	-	-	-	-	-	-
javanica	-	1	-	-	-	1
panama	2	-	-	-	-	2
shermani	-	-	-	-	-	-
mwalok	9	3	-	3	1	16

Afin de neutraliser l'effet des différences de composition démographique, une **standardisation des taux** directe a été réalisée pour chaque sérovar, dans chacun des villages.

Afin de rendre les deux villages comparables, une population de référence fictive de 700 individus a été choisie, comprenant les 7 espèces animales séropositives en proportions égales (bovins, porcs, chevaux, chiens, caprins, mangoustes et souris). Le nombre d'animaux positifs attendu a été calculé en appliquant les taux spécifiques pour chaque espèce. Le taux de séro-prévalence de chaque sérovar a ainsi été établi pour chacun des villages. La figure 29 explique la procédure suivie pour le sérovar hardjo dans le village de Naduri.

Fig. 29: Standardisation directe de la séro-prévalence du sérovar hardjo dans le village de Naduri.

NADURI			
Espèces animales	Nombre d'animaux	Nombre de positifs	Taux spécifique (%)
Bovins	94	59	63
Porcs	9	1	11
Chevaux	17	4	24
Chèvres	16	0	0
Chiens	5	1	20
Mangoustes	1	1	100
Souris	2	0	0
TOTAL	144	66	
Taux brut non standardisé : 46%			
POPULATION FICTIVE			
Espèces animales	Nombre d'animaux	Taux spécifique (%)	Nombre de positifs attendu
Bovins	100	63	63
Porcs	100	11	11
Chevaux	100	24	24
Chèvres	100	0	0
Chiens	100	20	20
Mangoustes	100	100	100
Souris	100	0	0
TOTAL	700		218
Taux brut standardisé : $218/700 =$ 31%			

La même méthode a été utilisée pour chaque sérovar, dans chacun des villages. Les résultats sont présentés par le tableau 11:

Tabl. 11: Taux de séro-prévalences standardisés par sérovar et par village (%).

Sérovars	NADURI	BUREBASAQA
pomona	-	14
hardjo	31	1
tarassovi	5	-
grippotyphosa	-	-
celledoni	2	-
copenhageni	20	16
australis	15	27
pyrogenes	27	8
canicola	7	0,5
hebdomadis	20	4
mini	17	0,5
sarmin	12	-
bulgarica	5	4
cynopteri	4	15
ballum	28	17
bataviae	4	9
djasiman	7	-
javanica	-	4
panama	3	1
shermani	2	-
mwalok	19	43

Pour le village de Naduri, la comparaison statistique par un test du χ^2 à 20 degrés de liberté met en évidence une différence significative entre les séro-prévalences des sérovars, avec un degré de signification $p < 1\%$. On observe que hardjo, ballum et pyrogenes présentent les séro-prévalence les plus élevées.

De même, une différence statistiquement significative entre les séro-prévalences des sérovars leptospirosiques est mise en évidence à Burebasaqa, avec un degré de signification $p < 1\%$. On observe que les sérovars mwalok et australis se démarquent par des fréquences plus élevées.

Pour la suite de l'analyse, seuls les sérovirs estimés majeurs, c'est-à-dire présentant une prévalence globale supérieure à 10%, ont été arbitrairement conservés. Ces taux de séro-prévalences ne servent qu'à déterminer le sens de la liaison et n'ont pas de sens en eux-mêmes. Ceci est la conséquence du mode d'échantillonnage où les villages proches des stations du MASLR ont certainement des taux inférieurs à ceux des autres villages. Le sens des différences observées sur ces deux villages est toutefois généralisable à l'ensemble des villages des zones climatiques étudiées.

Ces sérovirs majoritaires sont au nombre de 9 pour la **zone climatique intermédiaire (hardjo, ballum, pyrogenes, copenhageni, hebdomadis, mwalok, mini, australis et sarmin)** et 6 pour la **zone climatique humide (mwalok, australis, ballum, copenhageni, cynopteri et pomona)**.

- *Les distributions des sérovirs sont-elles identiques dans les deux zones climatiques ?*

Le tableau 12 présente les valeurs du test du χ^2 à 1 degré de liberté pour la comparaison des séro-prévalences des sérovirs considérés comme majoritaires entre les deux villages étudiés.

Tabl. 12: Comparaison des séro-prévalences des sérovirs entre les deux échantillons.

Sérovir	Valeur du χ^2	Degré de signification	Conclusion
pomona	104,22	<1‰	+ fréquent à Burebasqa
hardjo	238,86	<1‰	+ fréquent à Naduri
copenhageni	2,80	non significatif	-
australis	28,46	<1‰	+ fréquent à Burebasqa
pyrogenes	86,48	<1‰	+ fréquent à Naduri
hebdomadis	80,20	<1‰	+ fréquent à Naduri
mini	123,20	<1‰	+ fréquent à Naduri
sarmin	91,63	<1‰	+ fréquent à Naduri
cynopteri	45,86	<1‰	+ fréquent à Burebasqa
ballum	24,62	<1‰	+ fréquent à Naduri
mwalok	92,55	<1‰	+ fréquent à Burebasqa

Mise à part copenhageni, tous les sérovirs présentent des différences de séro-prévalence statistiquement significatives entre les deux villages, avec un degré de signification $p < 1\%$.

De la même façon que précédemment, le sens des différences est généralisable à la population cible de cette étude.

Naduri a déclaré une épidémie de leptospirose en avril 2002, peu de temps avant cette enquête. Le facteur de confusion « cas humains » a précédemment été abordé ainsi que l'impossibilité de dissocier ses effets de ceux du facteur climatique sur la séro-prévalence et la nature de la leptospirose animale. Or l'homme est toujours un hôte accidentel et la transmission entre hôtes accidentels est rare (cf. Deuxième partie, IV.2.). Ces conclusions semblent ainsi généralisables aux villages n'ayant pas déclaré de cas humains de leptospirose en zone climatique intermédiaire. Mais est-ce une preuve tangible que ces mêmes villages sont exempts de cas humains en 2002 ? En effet, les Fidjiens ont des accès aux centres de soins très inégaux entre les régions. Les habitants des zones éloignées des centres urbains ne se déplacent à l'hôpital que lorsque la gravité de la maladie les y obligent. Une hospitalisation représente en outre des jours de travail perdus et une perturbation du cercle familial.

Le sérovar **pomona** est présent **exclusivement en zone humide**, et le sérovar **sarmin** se rencontre **uniquement en zone intermédiaire**. Les sérovars **hardjo**, **pyrogenes**, **hebdomadis**, **mini** et **ballum** sont **plus fréquents en zone intermédiaire**. Les sérovars **australis**, **cynopteri** et **mwalok** se retrouvent **plus souvent en zone humide**.

Le test de comparaison des séro-prévalences du sérovar *copenhageni* n'est pas significatif. Cette absence de signification peut s'interpréter comme une absence de différence entre les vraies valeurs comparées ou comme un manque de puissance. Dans l'hypothèse d'une fréquence moindre à Burebasaga, le calcul de la différence minimale détectable avec une « bonne » puissance de 80% est :

$$\text{Arcsin}\sqrt{P} = \text{Arcsin}\sqrt{0,20} - \phi\sqrt{(1/4*700 + 1/4*700)} \quad \text{on obtient alors } P= 0,14.$$

Cela signifie que la séro-prévalence devrait être égale au plus à 14% pour que le test de comparaison ait 80% de chances d'être significatif.

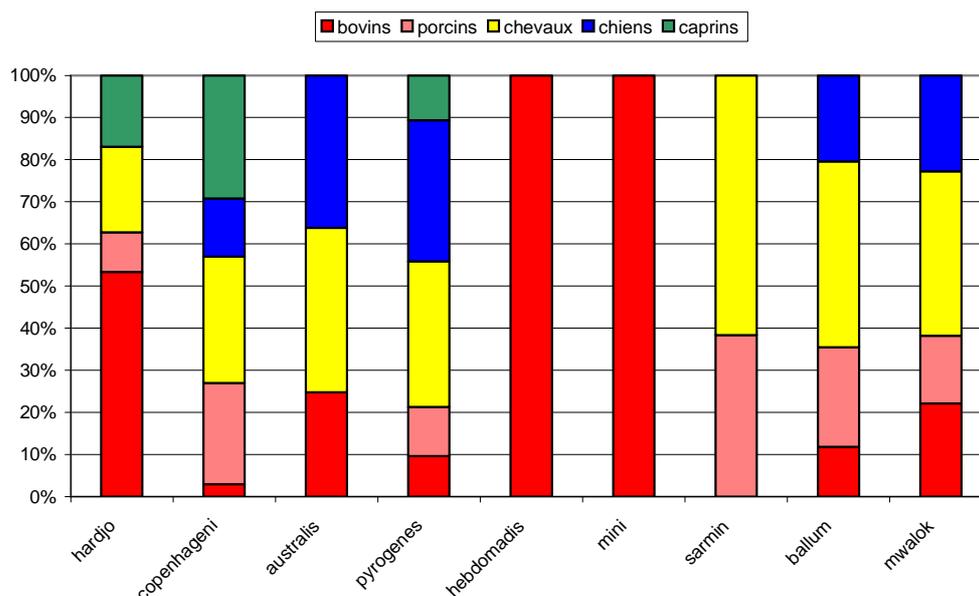
La différence vraie des séro-prévalences de *copenhageni* entre les zones climatiques étudiées est vraisemblablement inférieure à 6% (20%-14%), cette dernière conclusion étant émise avec un risque d'erreur de 20%.

-Existe-t-il des relations hôte-sérovar privilégiées dans chacune des zones climatiques?

Cette partie de l'étude prend en compte les espèces animales domestiques uniquement. En effet, le nombre d'animaux sauvages séropositifs est trop faible (3 à Naduri, 1 à Burebasqa) pour que les tests soient significatifs et leur puissance acceptable.

La répartition des espèces animales par sérovar majeur circulant dans le village de Naduri est illustrée par la figure 30:

Fig. 30: Répartition des espèces animales par sérovar à Naduri¹.



¹ Une barre représente la contribution en pourcentage de chaque espèce animale au total des animaux positifs pour un sérovar donné. Dans cette figure, la même importance est attribuée à chaque sérovar examiné et une standardisation des taux a été effectuée en fonction de l'espèce animale.

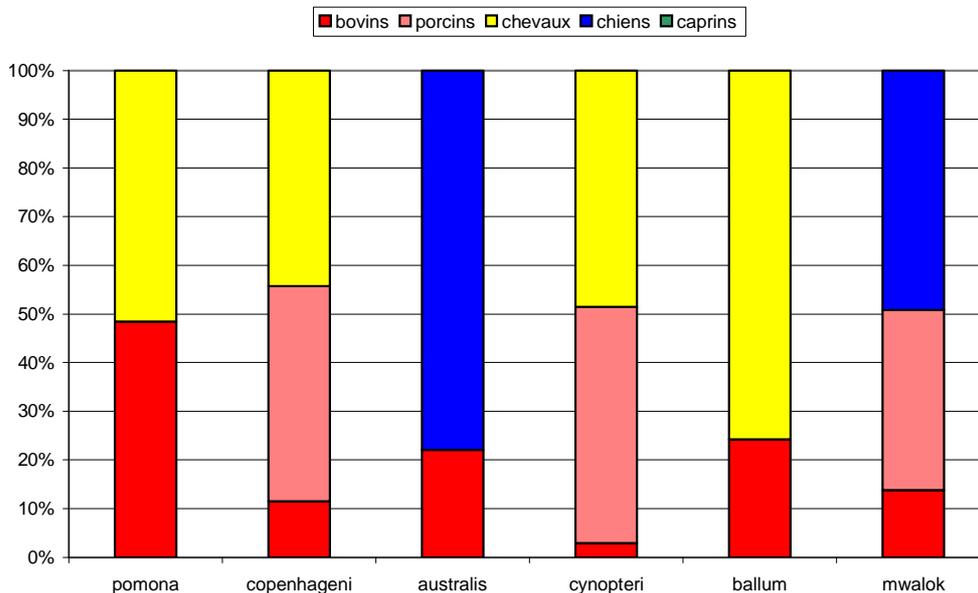
La comparaison des pourcentages d'animaux positifs, regroupés par espèce, aurait permis de détecter des associations statistiquement significatives entre un sérovar et une espèce animale, suspectée d'être alors hôte de prédilection. Cependant, les effectifs des sous-groupes ainsi formés n'autorisent pas une puissance des tests satisfaisante, et ceci malgré des regroupements logiques d'effectifs en fonction de l'exposition au risque d'infection leptospirosique.

Les pourcentages observés sur l'échantillon permettent tout de même quelques observations. **Le sérovar hardjo semble être plus fréquent chez les bovins. Les sérovares hebdomadis et mini sont vraisemblablement restreints à la seule espèce bovine tandis que copenhageni**

et pyrogenes circulent dans la totalité des espèces animales domestiques. Les sérovars sarmin, ballum et mwalok semblent infecter plus souvent les chevaux.

Le même raisonnement pour le village de Burebasaga aboutit à la figure 31 :

Fig. 31: Répartition des espèces animales par sérovar à Burebasaga¹.



¹Une barre représente la contribution en pourcentage de chaque espèce animale au total des animaux positifs pour un sérovar donné. Dans cette figure, la même importance est attribuée à chaque sérovar examiné et une standardisation des taux a été effectuée en fonction de l'espèce animale.

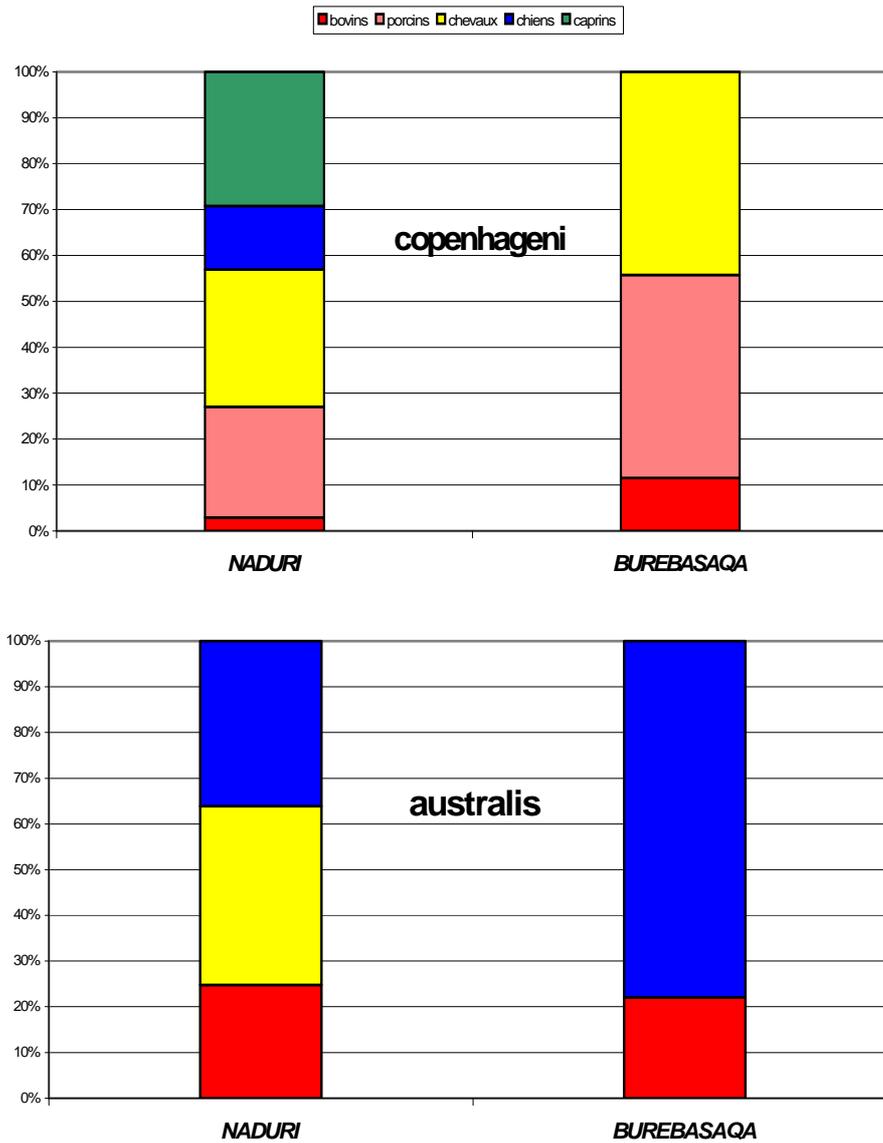
Le même problème de puissance des tests de comparaison des pourcentages d'espèces par sérovar se retrouve ici. Seul le test de comparaison du χ^2 pour le sérovar ballum est significatif, avec un degré de signification $p=3,7\%$. L'infection par le sérovar ballum est plus fréquente chez les chevaux que chez les bovins.

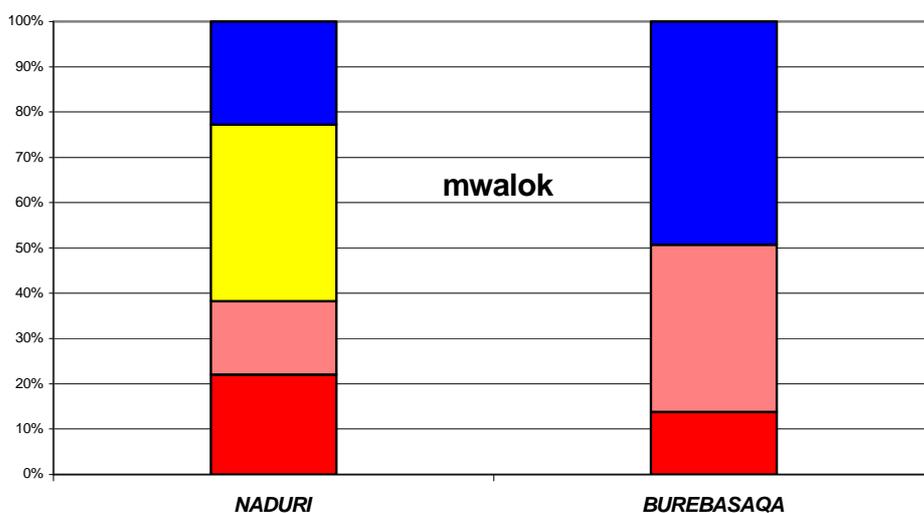
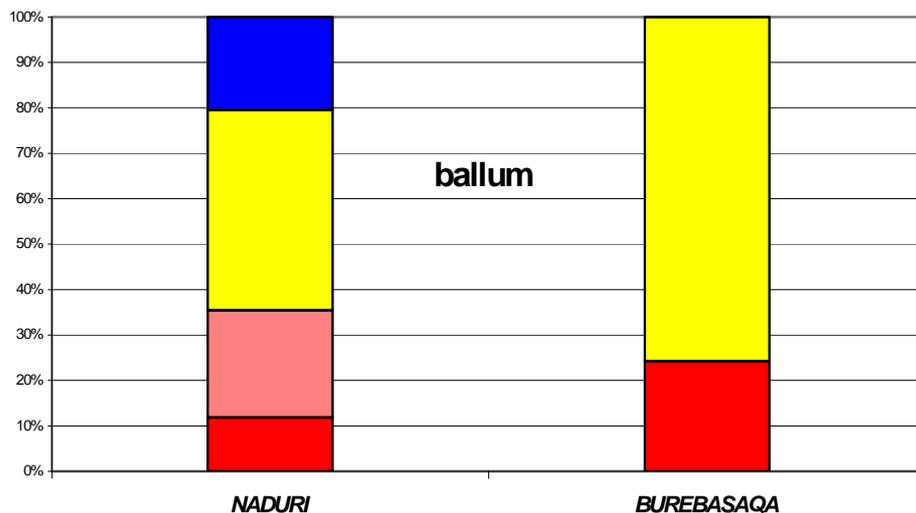
Sur cet échantillon, les différents sérovars étudiés circulent dans un nombre plus restreint d'espèces animales domestiques, 3 au plus. **Le sérovar australis semble être plus fréquent chez les chiens et le sérovar ballum est majoritairement présent chez les chevaux. Les sérovars copenhageni et cynopteri se retrouvent principalement chez les porcs et les chevaux.**

-Existe-t-il des différences entre les espèces animales infectées par un même sérovar majeur entre les deux régions étudiées ?

La figure 32 illustre la comparaison des pourcentages des espèces animales domestiques pour un sérovar donné entre les deux zones climatiques étudiées. Seuls les sérovats majeurs communs sont comparés.

Fig. 32: Répartition des espèces animales pour les sérovats copenhageni, australis, ballum et mwalok selon le village.





Les tests de comparaison des distributions des sérovars dans les sous-populations animales n'ont pas pu être effectués par défaut de puissance dû à la taille des effectifs. Les comparaisons des pourcentages deux à deux pour chaque espèce n'a apporté aucune information supplémentaire. Il semble difficile de conclure en faveur d'une absence de différence entre les vraies séro-prévalences étant donnée la taille des sous-groupes formés. Les observations qui suivent ne s'appuient donc sur aucun support statistique et sont à nuancer.

Le sérovar copenhageni circule au sein de toutes les populations animales domestiques de Naduri tandis qu'à Burebasqa les chiens ne sont pas infectés par ce sérovar. Les espèces communément infectées sont présentes dans des proportions équivalentes : les bovins semblent minoritaires, les porcs et les chevaux sont plus souvent infectés par ce sérovar. **Les**

distributions des séro-prévalences de copenhageni entre les espèces animales paraissent semblables dans les deux villages. L'infection des chiens diffère seulement. Burebasaga ne compte pas de chèvre dans son cheptel, ce qui annule toute comparaison pour cette espèce.

COLLINGS avait déjà identifié ce sérovar chez les caprins et les chiens en 1984. Copenhageni semble être un sérovar sans aucune spécificité d'hôte dans les deux villages étudiés, qui circule dans de nombreuses espèces animales. La faune sauvage n'est pas étudiée ici mais il est probable que ce sérovar s'y retrouve également. Il peut représenter un danger pour l'homme si une espèce excrétrice (ou réservoir) est identifiée. La sérologie apporte la preuve que l'individu a été en contact avec les leptospires mais elle ne prouve pas qu'il est réservoir. Seul l'isolement bactériologique permet d'affirmer l'état de porteur rénal. Des biopsie rénales et des prélèvements d'urine répétés pourraient apporter des éléments de réponse plus solides et ont été réalisés sur la faune sauvage capturée au cours de cette enquête. Malheureusement, le laboratoire n'a toujours pas communiqué les résultats.

Le sérovar australis se rencontre plus souvent chez les chiens que chez les bovins dans les deux villages. Il infecte également les chevaux à Naduri dans les mêmes proportions que les chiens. Australis circule donc au sein des espèces ayant accès à de grandes étendues, comme les champs cultivés. Ce sérovar aurait plutôt un cycle épidémiologique sauvage et les animaux domestiques seraient alors accidentellement infectés. La séro-prévalence standardisée d'australis est supérieure à Burebasaga. Les chevaux ne participent donc pas vraiment au cycle et sont plutôt des témoins de l'infection. A l'inverse, les chiens sont majoritaires dans le village présentant la plus forte séro-prévalence et pourraient être des hôtes de prédilection. Une recherche de leptospires rénale et urinaire permettrait d'explorer cette hypothèse.

Le sérovar ballum présente deux distributions différentes entre les deux villages. Il paraît très répandu à Naduri puisqu'il infecte 4 des espèces animales domestiques présentes alors qu'il ne circule qu'entre deux espèces à Burebasaga. **Les chevaux semblent être cependant l'hôte principal dans les deux échantillons.** La séro-prévalence de ballum est supérieure et ce sérovar infecte plus d'espèces à Naduri, qui a déclaré des cas humains de leptospirose peu de temps avant l'enquête. La variable « cas humain » joue ici pleinement son rôle de facteur de confusion. Une comparaison avec les sérovats infectant les hommes permettrait d'étoffer cette hypothèse.

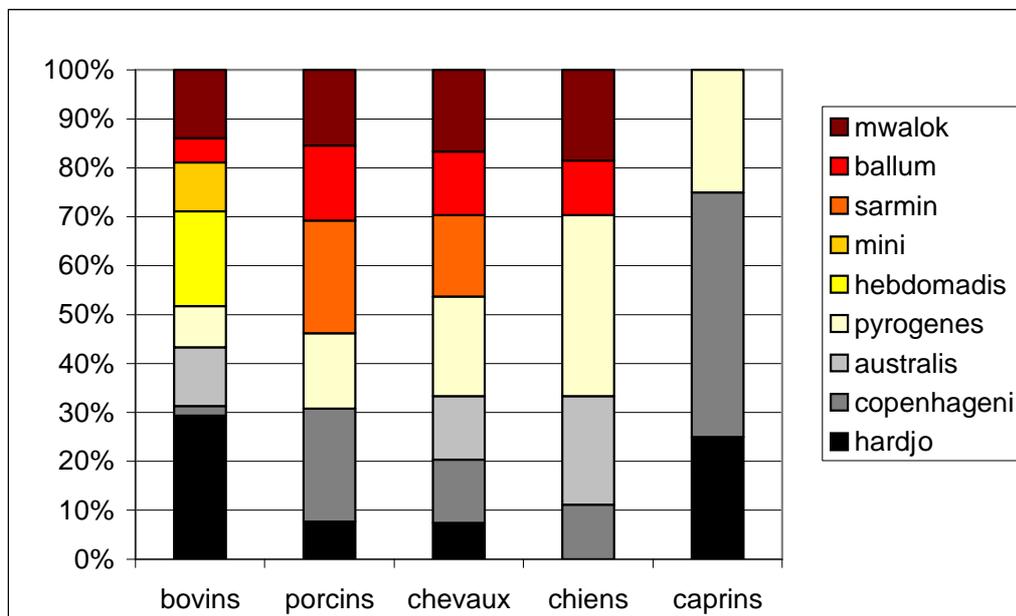
Le sérovar mwalok est également répandu dans les deux villages parmi les bovins, les porcs et les chiens. A **Naduri**, les **chevaux** sont infectés et espèce majoritaire, alors qu'ils ne

participent pas au cycle de **Burebasaga**, où les **chiens** sont les hôtes les plus fréquents. La séro-prévalence de mwalok est supérieure à Burebasaga. Les chevaux ne jouent donc pas un rôle efficace dans le cycle épidémiologique de ce sérovar, et ne sont vraisemblablement que des hôtes accidentels. Il serait intéressant en revanche d'étudier plus précisément l'ampleur de la participation des chiens à ce cycle en pratiquant des biopsies rénales et des prélèvements d'urine.

-Quels sont les sérovars les plus fréquemment rencontrés par espèce dans chacune des zones climatiques étudiées ?

La répartition des sérovars circulant dans chaque espèce animale du village de Naduri est présentée dans la figure 33 :

Fig. 33: Spectres sérotypiques de la leptospirose par espèce animale à Naduri¹.



¹ Les valeurs sont calculées par rapport au nombre d'animaux positifs par espèce.

La confrontation de la séro-prévalence des sérovars rencontrés par population animale a permis de déterminer un ou des sérovars majoritaires par espèce étudiée. Une fois de plus, les effectifs trop faibles n'ont pas permis l'application de tests statistiques de comparaison.

On observe que les bovins hébergent plus fréquemment le sérovar hardjo, comme le décrit souvent la littérature dans d'autres régions du monde. D'après la figure 30, cette espèce représente plus de la moitié des infections à hardjo. Il paraît légitime de s'interroger sur une éventuelle adaptation du sérovar à l'espèce bovine, dite de prédilection.

Les bovins subissent l'infection de la quasi-totalité des autres sérovars majeurs du village, sans prédominer dans la distribution de leurs infections. Cette espèce est vraisemblablement la sentinelle de la circulation des sérovars leptospirosiques dans le village sans cependant y jouer un rôle déterminant.

Les sérovars copenhageni et sarmin sont majoritaires chez les porcins mais le spectre sérotypique montre peu de différence. Le premier circule dans l'ensemble des populations animales domestiques de Naduri et le second se limite aux chevaux et aux porcs. L'espèce porcine ne présente pas un taux d'infection élevé (22%) et aucune association avec un sérovar particulier n'a été mise en évidence. Cette espèce est probablement un hôte accidentel dans le cycle épidémiologique de la leptospirose à Naduri.

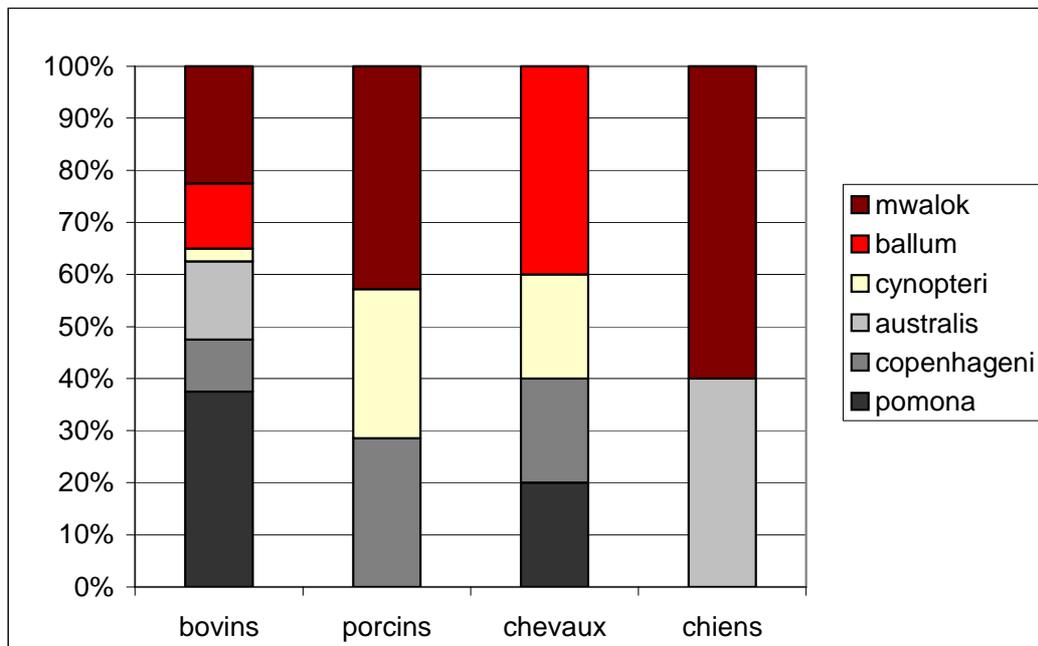
De même, le spectre sérotypique des chevaux ne met pas en évidence de sérovar vraiment majoritaire. Par contre, cette espèce a une séro-prévalence leptospirosique très élevée (85%). Les chevaux semblent être très sensibles à l'infection et pourraient avoir un rôle de sentinelle, comme les bovins.

Les chiens présentent des infections fréquentes avec pyrogenes, sérovar distribué dans toutes les populations animales domestiques. Les fréquences des sérovars australis et mwalok ne sont pas suffisamment élevées dans cette espèce pour maintenir les suspicions d'association avec ces deux sérovars.

Les caprins hébergent les sérovars copenhageni et pyrogenes, peu spécifiques, et le sérovar hardjo. La conduite d'élevage amène souvent les troupeaux de bovins et de caprins à se mélanger (cf. Première Partie.III.2). Si les bovins sont réservoirs pour hardjo, il semble logique de rencontrer ce sérovar chez les espèces en contact.

La figure 34 présente les spectres sérotypiques par espèce animale de la leptospirose à Burebasaqa :

Fig. 34: Spectres sérotypiques de la leptospirose par espèce animale à Burebasqa¹.



¹ Les valeurs sont calculées par rapport au nombre d'animaux positifs par espèce.

Le test de comparaison des séro-prévalences des sérovars majeurs de Burebasqa au sein de l'espèce bovine est le seul à être significatif, avec un degré de signification $p < 1\%$. Les autres espèces ont des effectifs trop petits pour que la puissance des tests soit significative.

Les séro-prévalences chez les bovins sont donc différentes selon le sérovar et le plus fréquent est pomona dans cette espèce. D'après la figure 31, l'espèce bovine représente la moitié des infections à pomona. Elle a également une séro-prévalence leptospirosique globale de 62% dans ce village. Une association particulière entre les bovins et le sérovar pomona est peut-être envisageable. Comme dans l'autre échantillon étudié, ces animaux sont infectés par l'ensemble des sérovars majeurs et sont probablement la sentinelle de la circulation des sérovars leptospirosiques dans le village.

Le sérovar dominant chez les porcins est probablement mwalok. Cette espèce présente un séro-prévalence faible par rapport aux autres (11%) et aucun lien ne semble la lier à un sérovar spécifique.

Chez les chevaux, le sérovar dominant semble être ballum et cette espèce représente la majorité des animaux infectés par ce sérovar. Associés à une séro-prévalence élevée (67%), ces arguments supportent l'hypothèse d'une association significative entre le sérovar ballum et les chevaux à Burebasqa.

Les chiens hébergent seulement deux sérovars distincts dont le plus fréquent est mwalok. Cette population animale représente plus de la moitié des infections impliquant ces deux sérovars d'après la figure 31. Une adaptation entre l'espèce canine et les sérovars mwalok et australis est alors peut être à envisager, dans laquelle les chiens seraient des hôtes de prédilection pour ces sérovars.

-Existe-t-il une relation entre l'espèce animale et le seuil de réactivité au MAT ?

La figure 35 détaille les moyennes des seuils de réactivité au MAT (1/dilution) en fonction de l'espèce animale :

Fig. 35: Seuils de réactivités moyens par espèce animale et par village étudiés.

NADURI

		ESPECES					
		bovins	chevaux	chien	chèvre	porcs	total
hardjo	moyenne	259,32	112,50		50,00	100,00	244,62
	nb de positifs	59	4		1	1	65
	écart-type	207,71	62,92		,	,	203,70
copenhageni	moyenne	100,00	78,57	66,67	50,00	83,33	78,95
	nb de positifs	4	7	3	2	3	19
	écart-type	70,71	56,69	28,87	,00	28,87	48,06
australis	moyenne	352,08	142,86	125,00			275,68
	nb de positifs	24	7	6			37
	écart-type	440,23	123,92	136,93			374,28
pyrogenes	moyenne	76,47	190,91	80,00	50,00	75,00	107,32
	nb de positifs	17	11	10	1	2	41
	écart-type	39,99	224,52	48,30	,	35,36	128,24
hebdomadis	moyenne	85,90					85,90
	nb de positifs	39					39
	écart-type	41,28					41,28
mini	moyenne	67,50					67,50
	nb de positifs	20					20
	écart-type	24,47					24,47
sarmin	moyenne		72,22			66,67	70,83
	nb de positifs		9			3	12
	écart-type		26,35			28,87	25,75
ballum	moyenne	65,00	78,57	83,33		75,00	72,73
	nb de positifs	10	7	3		2	22
	écart-type	24,15	56,69	28,87		35,36	36,93
mwalok	moyenne	567,86	166,67	200,00		75,00	421,59
	nb de positifs	28	9	5		2	44
	écart-type	851,38	100,00	122,47		35,36	705,16

BUREBASAQA

		ESPECES				
		bovins	chevaux	chiens	porcs	total
pomona	moyenne	183,33	50,00			175,00
	nb de positifs	15	1			16
	écart type	142,26	,			141,42
copenhageni	moyenne	412,50	50,00		125,00	278,57
	nb de positifs	4	1		2	7
	écart type	306,53	,		106,07	278,17
australis	moyenne	316,67		50,00		250,00
	nb de positifs	6		2		8
	écart type	629,02		,00		545,76
cynopteri	moyenne	50,00	50,00		150,00	100,00
	nb de positifs	1	1		2	4
	écart type	,	,		70,71	70,71
ballum	moyenne	340,00	50,00			257,14
	nb de positifs	5	2			7
	écart type	311,05	,00			290,73
mwalok	moyenne	794,44		300,00	100,00	556,67
	nb de positifs	9		3	3	15
	écart type	2102,59		173,21	,00	1620,39

Pour tester s'il y a une relation entre l'espèce animale et le seuil de réactivité des anticorps, les moyennes des titres en anticorps ont été comparées par analyse de la variance pour chaque sérovar présent, sous l'hypothèse de distribution normale du seuil de réactivité et d'égalité de sa variance dans les espèces.

Dans les deux villages, **aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les seuils moyens de réactivité au MAT des espèces animales, quel que soit le sérovar testé.**

Les titres moyens en anticorps diffèrent néanmoins selon le sérovar. A Naduri, l'ensemble des animaux réagit fortement aux sérovats mwalok, hardjo et australis. A Burebasaga, seul le sérovar mwalok engendre des réactions immunitaires importantes.

Ces titres élevés en anticorps traduisent une circulation anormalement active des sérovats sus-nommés dans les populations animales, alors que des titres plus faibles sont la trace d'un contact avec un sérovar donné mais qui n'est pas obligatoirement d'actualité.

Sous réserve d'un potentiel facteur de confusion « cas humain », **les sérovats mwalok, hardjo et australis semblent endémiques en zone climatique intermédiaire et le sérovar mwalok endémique en zone humide.**

Mais le taux résiduel des anticorps après une infection leptospirosique est-il identique pour tous les sérovars ? Il n'est pas improbable que la cinétique des anticorps IgG varie d'un sérovar leptospirosique à l'autre et il n'existe pas actuellement de consensus quant au seuil indicatif d'une infection active.

-Quelles sont les modalités de l'infection leptospirosique ?

Plusieurs sérovars concomitants sont fréquemment impliqués dans l'infection leptospirosique, quel que soit le village étudié. La figure 36 présente les différentes modalités observées dans chacun des échantillons.

Fig. 36: Tableaux de fréquence du nombre de sérovars impliqués dans l'infection leptospirosique.

NADURI

Espèces	1	2	3	>4	total
bovins	20	27	27	20	94
porcins	5	1	2	1	9
chevaux	1	3	5	8	17
chiens	5	5	3	3	16
chèvres	5	-	-	-	5
total	36	36	37	32	141

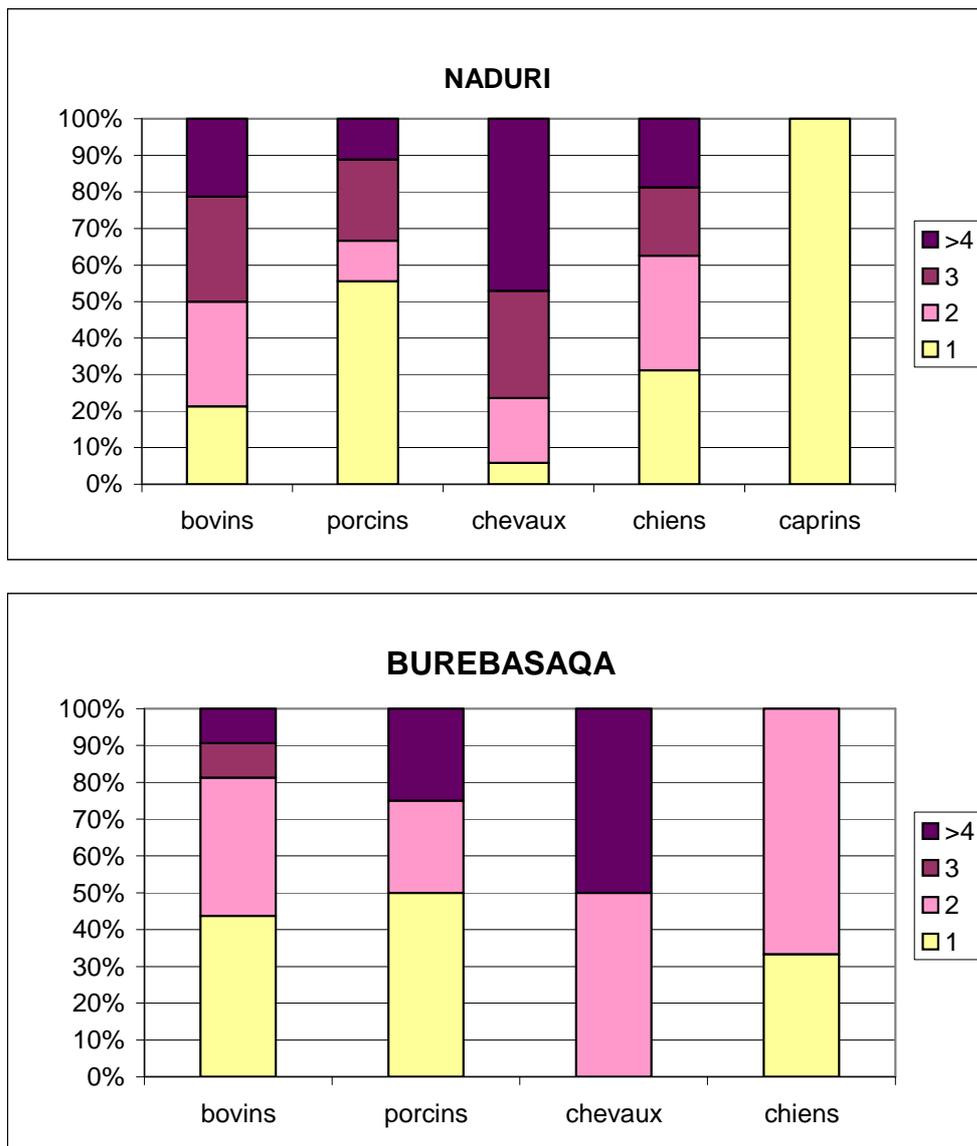
BUREBASAQA

Espèces	1	2	3	>4	total
bovins	14	12	3	3	32
porcins	2	1	-	1	4
chevaux	-	1	-	1	2
chiens	1	2	-	-	3
total	17	16	3	5	41

Globalement, la répartition du nombre de sérovars impliqués dans l'infection leptospirosique à Naduri est homogène, alors qu'à Burebasqa les animaux semblent infectés principalement par un ou deux sérovars. La composition démographique de chaque échantillon est très

hétérogène et sa prise en compte est nécessaire. La visualisation de la répartition du nombre de sérovars impliqués en fonction de l'espèce est réalisée dans la figure 37.

Fig. 37: Répartition du nombre de sérovars dans l'infection par espèce animale.



La taille des effectifs n'a pas permis de réaliser des tests statistiques de comparaison afin de déterminer le mode d'infection majoritaire par espèce et par village.

Les bovins de Naduri ne présentent pas de type d'infection majoritaire alors que ceux de Burebasaga sont plutôt infectés par un faible nombre de sérovars (un ou deux). Comme Naduri a déclaré une épidémie de leptospirose peu de temps avant la mise en place de cette

enquête, la variable « cas humain » se superpose au facteur climatique et il semble difficile d'attribuer ces différences à l'un des deux en particulier. En effet, les cas cliniques humains peuvent être l'expression d'une pression d'infection supérieure permanente en zone climatique intermédiaire, ou ces infections multiples la conséquence d'un affolement ponctuel du cycle épidémiologique en relation avec l'épidémie qui n'aurait pas trouvé pas ses sources dans les populations animales.

Dans les deux villages, les **porcs** sont infectés principalement par **un ou deux sérovars**.

A Naduri comme à Burebasaqa, les **chevaux** présentent surtout des **infections multiples**.

L'infection **canine** implique plutôt **un faible nombre de sérovars** dans les deux villages.

Les **chèvres** sont infectés exclusivement par un **sérovar unique**.

-Parmi les infections multiples, quelles sont les associations de sérovars les plus fréquentes ?

Le tableau 13 présente les associations de sérovars recensées dans cette enquête.

Tabl. 13: Associations de sérovars recensées dans l'étude.

NADURI

	hardjo	copenhagени	australis	pyrogenes	hebdomadis	mini	sarmin	ballum	mwalok	nombre de positifs
hardjo	-	1	13	10	38	20	1	7	14	65
copenhagени		-	5	8	0	0	7	5	7	19
australis			-	7	5	3	4	5	32	37
pyrogenes				-	2	1	9	11	10	41
hebdomadis					-	20	0	3	6	39
mini						-	0	3	2	20
sarmin							-	4	7	12
ballum								-	6	22
mwalok									-	44

BUREBASAQA

	pomona	copenhageni	australis	cynopteri	ballum	mwalok	nombre de positifs
pomona	-	3	2	1	2	2	16
copenhageni		-	1	2	4	3	7
australis			-	0	0	7	8
cynopteri				-	1	1	4
ballum					-	0	7
mwalok						-	15

A Naduri, le sérovar hebdomadis est rencontré 38 fois sur 39 en présence de hardjo et australis est associé 32 fois sur 37 à mwalok. Les associations majoritaires de deux sérovars sont donc hardjo-hebdomadis et australis-mwalok en zone climatique intermédiaire. Le sérovar mini est exclusivement rencontré en association avec hardjo et hebdomadis.

Les associations **hardjo-hebdomadis** et **hardjo-hebdomadis-mini** sont constatées **exclusivement chez les bovins**. L'association **australis-mwalok** en revanche affiche un caractère plus **cosmopolite**. Elle est recensée chez trois espèces domestiques : les bovins principalement (21 animaux sur 37), les chevaux (7 sujets) et les chiens (4 individus).

A Burebasqa, le sérovar australis est retrouvé 7 fois sur 8 en présence de mwalok. **L'association australis-mwalok est également rencontrée en zone humide**. Les bovins (5 animaux sur 7) et les chiens (2 individus) sont les seules espèces concernées.

Mais ces associations sont-elles réelles ou simplement l'expression de réactions croisées? FAINE *et al* (1999) rappellent que de telles réactions se produisent non seulement entre différents sérovars du même séroroupe, mais aussi, en début d'infection (2-3 semaines), entre des sérovars de sérogroupe différents. Le titre d'un sérovar hétérologue peut également prédominer.

Les caractéristiques des sérovars utilisés par le laboratoire pour le test de diagnostic sérologique MAT par le laboratoire sont présentées par le tableau 14.

Tabl. 14: Caractéristiques de quelques leptospires utilisées pour le test MAT par le laboratoire collaborateur de référence OMS/FAO/OIE pour la leptospirose.

Sérovar	Sérogroupe	Source
hardjo	Sejroe	Homme
hebdomadis	Hebdomadis	Homme
mini	Mini	Homme

Les leptospires utilisées proviennent de sérogroupe différents : des réactions croisées entre sérogroupe sont alors peu probables.

Toutefois, ces antigènes ont toutes été isolés chez l'homme. La même batterie de micro-organismes étant utilisée pour tous les prélèvements, des biais liés à l'espèce ne peuvent pas être exclus.

Ces associations de sérovars ne sont pas forcément simultanées, comme le laisse penser l'analyse des titres moyens en anticorps de la figure 35. En effet, les titres moyens des sérovars hebdomadis et mini sont faibles en comparaison avec le titre moyen de hardjo. L'infection de hardjo pourrait être facilitée par la présence antérieure des deux autres sérovars en profitant d'une baisse de l'immunité par exemple.

**QUATRIEME PARTIE : L'EVALUATION D'UNE METHODE
DE DEPISTAGE DE LA LEPTOSPIROSE CANINE**

La population canine connaît une explosion démographique dans la région du Pacifique Sud sans qu'aucun contrôle réellement efficace ne soit effectué, et les chiens envahissent autant les zones rurales que les agglomérations urbaines. Parmi les nuisances perpétrées, la transmission potentielle de maladies zoonotiques telles que la leptospirose tient une place préoccupante.

Toutefois les vétérinaires praticiens effectuent seulement des suspicions cliniques de leptospirose, sans les confirmer par des analyses de laboratoires. En effet, le MAT, méthode de référence pour le diagnostic de la leptospirose, n'est réalisé que dans des laboratoires hautement spécialisés dont le plus proche se trouve en Australie. Dans ces conditions, pour un prélèvement individuel, les coûts de transport et d'analyse deviennent prohibitifs et la mise en place précoce d'un traitement est affectée par les délais de réception des résultats.

Le test INDX® LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks® (Panbio, inc.), déjà commercialisé pour le sérodiagnostic de la leptospirose canine, utilise une méthode ELISA de détection des IgM et des IgG spécifiques de *Leptospira biflexa* sérovar patoc 1, *L. interrogans* séro groupe Icterohaemorrhagiae et *L. kirschneri* séro groupe Grippytyphosa. Ce test est d'utilisation simple, fournit des résultats rapides (moins d'une heure) et ses réactifs sont stables, sans nécessité de réfrigération.

Cependant, une validation effectuée dans le contexte d'utilisation et hors d'un cadre commercial semble opportune avant d'entreprendre une utilisation à l'échelle régionale. La CPS présente ainsi un volet d'évaluation d'une méthode rapide de dépistage de la leptospirose canine en conditions matérielles de terrain minimales, dans le cadre du programme régional sur les zoonoses. Et en cas de résultat positif, ce « screening » ouvrirait le champ à des investigations de laboratoire plus approfondies.

I. Objectifs

L'objectif général est d'évaluer une méthode de dépistage de la leptospirose canine, en conditions matérielles de terrain minimales.

Pour cela, on s'interroge sur la valeur diagnostique de la méthode utilisée, en la comparant au test de référence (le MAT) pour évaluer sa sensibilité et sa spécificité, notamment sa

spécificité de genre, en étudiant sa précision et sa reproductibilité (évaluation technologique) en conditions de terrain minimales.

Cette évaluation est faite au moyen de méthodes « expérimentales » in vivo, sur l'animal.

II. Plan d'échantillonnage

L'échantillon est défini sur trois populations différentes dont une est urbaine.

Les sérums des chiens citadins ont été prélevés avec la coopération de la Society for the Prevention of Cruelty to Animals (SPCA) de Suva. Tous les chiens anesthésiés à la clinique vétérinaire ont été prélevés et les nouveaux pensionnaires capturés sur la période de l'étude ont également été échantillonnés.

Les chiens prélevés étaient donc représentatifs de la zone urbaine et péri-urbaine de Suva, hospitalisés ou capturés pendant la durée de l'enquête. Ce plan d'échantillonnage présentait néanmoins l'avantage de prélever un grand nombre de sujets dans un même endroit et sur une courte période.

Les sérums des chiens collectés dans les deux villages du volet précédent du projet leptospirose, ont été inclus dans ce protocole et représentent la partie rurale de la population canine (*cf.* Troisième Partie.II.2.).

L'objectif de l'étude était de recueillir le maximum d'échantillons.

Tous les chiens présents dans les villages au moment de l'enquête ont été prélevés (*cf.* Troisième partie.II.2.). Cependant, une campagne gouvernementale de contrôle de la population canine dans le village de Burebasqa avait été effectuée deux mois avant l'enquête, ce qui explique le faible nombre de chiens prélevés.

A chaque visite à la SPCA, le maximum de sujets a été prélevé afin d'obtenir une précision intéressante de la mesure. Cependant, la coopération n'a pas été constante et les prélèvements des chiens anesthésiés à la clinique n'ont rapidement plus été effectués. Les campagnes de piégeages ne suivant pas un calendrier rigoureux, le renouvellement des pensionnaires n'était pas très fréquent.

Ainsi un nombre assez limité de sérums a pu être obtenu, comme le présente le tableau 15 :

Tabl. 15: Nombre de sérums canins par zone d'échantillonnage.

zone	SPCA	Naduri	Burebasaqa	Total
nombre	54	26	8	88

III. Définition du cas et constitution des groupes

La définition des sujets infectés ou non infectés a reposé sur les résultats de la méthode de référence pour le diagnostic de la leptospirose: les sujets MAT+ ont été assimilés à des cas, et les sujets MAT- à des non-cas.

Le seuil de positivité a été établi selon les mêmes procédures que dans la troisième partie.II.4. par le laboratoire de référence OMS/FAO/OIE pour la leptospirose de Brisbane, en Australie.

IV. Le test LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks

Le test de dépistage dipstick a été effectué au laboratoire de la CPS à Suva, par un seul opérateur, en suivant le protocole fourni par le fabricant (*cf.* annexe 3).

Brièvement, le test dipstick consiste à incuber une bandelette contenant des antigènes de *Leptospira* avec 20 µL de sérum dans 2 mL de réactif diluant, puis à procéder à des bains successifs de conjugué IgM/IgG puis de révélateur coloré, à une température de 50°C. A la fin de ces manipulations, la bandelette est rincée à l'eau distillée et séchée à l'air libre.

Le nombre de fenêtres colorées sur la bandelette indique la dilution à laquelle le sérum réagit et la notation est de 0 pour un résultat négatif et de 1 à 4 pour un résultat positif. Lorsqu'une fenêtre ne présente pas une coloration d'intensité franche, on note « .5 ».

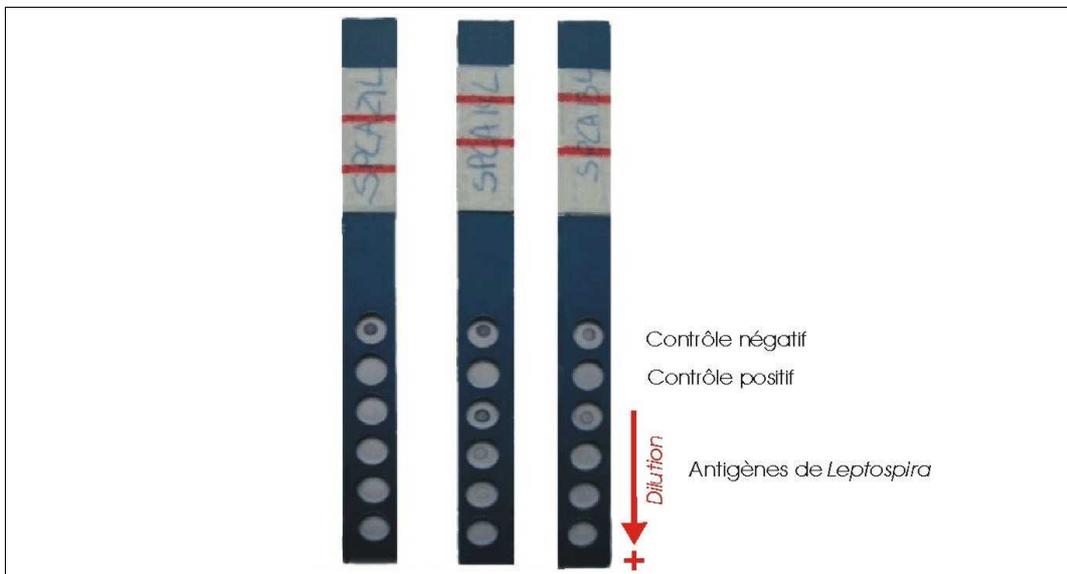


Fig. 38: Interprétation du test dipstick.

De gauche à droite : négatif (0), positif (1.5), douteux (0.5)

V. Principe de l'évaluation statistique

Pour évaluer la valeur diagnostique du test dipstick, ses résultats chez les sujets infectés (MAT+) que l'on cherchait à dépister ont été comparés à ceux qui ne l'étaient pas (MAT-), comme l'explique le tableau 16:

Tabl. 16: Tableau d'étude de la valeur diagnostique.

	MAT +	MAT-	Total
Dipstick +	a	b	44
Dipstick -	c	d	38
Total	m ₁	m ₂	82

Ce test devait être capable de détecter tous les cas de leptospirose. Une grande sensibilité était donc attendue et les faux-positifs seraient infirmés par des investigations de laboratoire ultérieures lors de l'utilisation du test par les praticiens.

Les paramètres intrinsèques du test, sensibilité et spécificité, ont donc été calculés à partir du tableau 16:

Sensibilité = vrais positifs / infectés = a / m_1

Spécificité = vrais négatifs / non infectés = d / m_2

La présence d'un sérovar infectant particulier parmi les faux-négatifs a été recherchée afin d'évaluer la spécificité du groupe *Leptospira* du test dipstick.

VI. Résultats et discussion

Sur les 88 chiens prélevés, 3 n'ont pas été soumis au test dipstick par manque de sérum pour effectuer les deux tests. Ces 3 sujets provenaient de la partie rurale de l'échantillon et la priorité a été donnée à l'enquête de séro-prévalence. Le MAT a donc été privilégié afin de typer les sérovirs en cause. 3 autres chiens ont fourni des résultats non interprétables au test dipstick et ont été exclus de l'analyse. Ceci contribue à altérer la puissance de l'évaluation.

Le classement des chiens en sujets infectés ou non infectés a été effectué *a posteriori* et en aveugle afin d'éviter des erreurs différentielles. Il a en effet été établi à partir des résultats de la technique de dépistage de référence pour la leptospirose (MAT).

La valeur diagnostique du test dipstick a été évaluée par la confrontation de ses résultats à ceux du MAT, comme le présente le tableau 17 :

Tabl. 17: Tableau d'étude de la valeur diagnostique du test dipstick.

	MAT +	MAT -	total
dipstick +	28	15	43
dipstick -	10	29	39
total	38	44	82

Les paramètres intrinsèques du test sont :

Sensibilité = vrais positifs / infectés = $28/38 = 0,74$

Spécificité = vrais négatifs / non infectés = $29/44 = 0,66$

L'objectif principal de l'étude est de détecter tous les cas d'infection leptospirosique dans les populations canines. Or, la **sensibilité individuelle** du test dipstick ainsi calculée n'est **pas très importante** (74%) mais la sensibilité d'un test de dépistage à l'échelle d'une population lui est supérieure. En effet, plus le nombre d'animaux infectés est élevé, plus la probabilité de détection de l'infection dans la population sera élevée et plus le nombre d'animaux qui seront soumis au dépistage pourra être réduit. Ce test semble alors convenable pour un premier « screening » des populations canines.

Le test dipstick est **peu spécifique** (66%) et conduit à considérer de nombreux animaux indemnes comme infectés, à tort. Cependant, comme l'objectif principal de l'utilisation du test dipstick est de détecter tous les cas de leptospirose, sa spécificité n'est pas primordiale dans son évaluation, du moins dans la situation épidémiologique actuelle de la leptospirose dans la région.

Le choix des sujets de l'étude a été empirique et quatre types de populations ont été représentées *a priori*: les chiens urbains avec ou sans propriétaire, les chiens ruraux du village de Naduri et ceux du village de Burebasqa.

Parmi les chiens urbains, les chiens hospitalisés doivent être distingués des chiens errants capturés. Les premiers font l'objet d'un minimum d'attention de la part de leur propriétaire et les seconds divaguent dans la rue. Toutefois, les modes de vie de ces deux catégories d'animaux sont comparables aux Iles Fidji : les chiens ne sont pas gardés dans des jardins et ils ont un territoire qui dépasse le périmètre de l'habitation. Les territoires des chiens errants sont comparables : les individus restent sur un territoire qui est matérialisé par un quartier de la ville. Les chiens urbains sont donc en contact avec leurs congénères des territoires limitrophes, qu'ils aient ou non un propriétaire, et présentent des facteurs de risque équivalents. Cependant, leur inclusion dans l'étude n'est pas homogène car les chiens de propriétaire ont plus de chances de dissimuler la leptospirose sous les causes apparentes de leur hospitalisation.

En revanche, les populations canines rurales sont effectivement distinctes car elles proviennent de villages différents et sélectionnés selon le schéma présenté précédemment (*cf.* Troisième partie.II.2).

L'échantillon de cette étude se constitue donc de trois populations canines différentes. Cependant, cette méthode de sélection n'entraîne **pas de biais** dans cette étude car l'objectif est d'évaluer une méthode de dépistage en conditions matérielles de terrain minimales. En

effet, seul la nature positive ou négative du résultat est prise en considération et l'évaluation porte sur la sensibilité de détection du test. Dans l'hypothèse que les sérovars circulant chez l'homme sont ceux qui circulent aussi chez les chiens, le choix du village de Naduri est intéressant car l'infection canine a des chances d'y être plus fréquente du fait de l'épidémie du mois d'avril 2002.

Par contre, les chiens vaccinés ont été inclus dans le protocole. Or, le test évalué est théoriquement spécifique du groupe *Leptospira*. Ces sujets ont pu être classés dans le groupe des positifs alors qu'ils n'étaient pas infectés (faux positifs) ou étaient infectés par une autre souche de leptospire, contre laquelle ils n'étaient pas vaccinés. Cette observation présente un intérêt certain, mais ce n'est pas l'objet de recherche de cette étude.

Les paramètres extrinsèques du test dipstick sont :

Valeur Positive Prédictive (VPP) = vrais positifs / positifs = $28/43 = 0,65$

Valeur Prédictive Négative (VPN) = vrais négatifs / négatifs = $29/43 = 0,74$

Dans cette population canine où la séro-prévalence leptospirosique est élevée (46%), la confiance accordée à un résultat positif (VPP) est limitée à 65% par la sensibilité et la spécificité peu élevées du test dipstick. Mais le risque de faux-positifs a été préféré à celui de faux-négatifs. Des investigations complémentaires de laboratoire seront mises en place sur les chiens ayant fourni une réponse positive au test dipstick pour compléter cette action de dépistage, fondée pour des raisons économiques évidentes, sur un test utilisable à grande échelle, commode et peu onéreux.

Le crédit accordé à un résultat négatif (VPN) est de 74%. La présence d'un sérovar particulier parmi les faux-négatifs a été recherchée afin d'évaluer la spécificité du groupe *Leptospira* du test dipstick. Le tableau 18 présente les caractéristiques des 10 faux-négatifs obtenus avec le test dipstick.

Tabl. 18: Caractéristiques démographiques des faux-négatifs au test dipstick.

Sérovar non détecté	Effectif ²	PROVENANCE ¹			SEXE		AGE		VACCINATION	
		B	N	SPCA	M	F	jeune	adulte	oui	non
copenhageni	4/19			4	1	3	0	3	0	3
pyrogenes	3/17		2	1	2	1	0	3	0	3
canicola	2/9		1	1	1	1	0	2	0	2
hebdomadis	1/1			1	0	1	0	1	0	1
sarmin	1/5			1	0	1	0	1	0	1
bataviae	1/3			1	1	0	1	0	0	1
javanica	1/4			1	0	1	0	1	0	1
mwalok	3/14	1		2	1	2	1	2	0	3
Total³	10/38	1	3	7	5	5	2	7	0	9

¹ B pour Burebasqa, N pour Naduri, SPCA pour Society for the Prevention of Cruelty to Animals.

² Nombre de sujets pour lequel le sérovar n'est pas détecté par le test dipstick / nombre de fois où le sérovar est présent (résultat du MAT).

³ Il peut y avoir des infections impliquant plusieurs sérovirs.

Les effectifs considérés sont trop faibles pour réaliser des tests statistiques avec une puissance acceptable. Cependant, aucune différence ne semble mise en évidence entre la répartition des sujets faux-négatifs selon leur provenance, leur sexe ou leur âge. Aucun des sujets n'est vacciné.

Dans l'ensemble de l'échantillon, le sérovar **hebdomadis** est rencontré chez un seul chien et n'est **pas détecté** par le test dipstick. Les **autres sérovirs** ne sont **pas dépistés dans 20% des cas environ**.

Il semble que les faux-négatifs ne présentent **aucune particularité susceptible d'expliquer le défaut de sensibilité du test dipstick**. Le test INDX® LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks® (Panbio, inc.) est commercialisé par un laboratoire australien et détecte les anticorps spécifiques de *Leptospira biflexa* sérovar patoc 1 (témoin positif), *L. interrogans* séro groupe Icterohaemorrhagiae et *L. kirschneri* séro groupe Grippotyphosa. Ce test de dépistage semble mal adapté au spectre sérotypique de la leptospirose aux Iles Fidji puisque 20% des infections ne sont pas détectées. Malgré tout, dans un premier temps, l'objectif est de détecter la majorité des cas d'infection leptospirosique afin de mettre en place rapidement des mesures de lutte. Pour cela, **ce test dipstick peut s'avérer approprié**.

Par la suite, lorsque la prévalence de la leptospirose canine aura été fortement diminuée, un autre test, plus sensible et plus spécifique, pourra être utilisé. Des enquêtes de séro-

prévalences seront alors indispensables pour établir la situation épidémiologique de la leptospirose canine à Fidji afin de développer un test de dépistage adéquat.

Le test dipstick évalué détecte les anticorps totaux dirigés contre le groupe *Leptospira*. Le fait qu'il ne produise aucune information sur la date de l'infection ne constitue pas une limite à son utilisation, puisqu'il est destiné à un « screening » des populations canines. Par ailleurs, les résultats positifs sont confirmés par des investigations complémentaires (MAT).

Cette méthode de dépistage de la leptospirose canine représente une véritable avancée technologique pour les pays membres de la CPS.

CONCLUSION

Cette étude transversale mixte essaie de mesurer la séro-prévalence de l'infection dans les villages fidjiens de l'île de Viti Levu ainsi que l'association entre l'infection et l'exposition au facteur climatique.

Plus d'un tiers des populations animales des villages fidjiens de Viti Levu, situés en zone climatique humide ou intermédiaire, présente une infection sub-clinique de leptospirose. Les chevaux et les bovins représentent les espèces animales les plus infectées dans les deux régions. En zone intermédiaire, les adultes sont plus infectés que les jeunes, notamment chez les chiens.

Deux sérovars sont spécifiques d'un type climatique : pomona pour la zone humide et sarmin pour la zone intermédiaire. Le sérovar mwalok semble endémique dans les villages fidjiens de Viti Levu, situés en zone climatique humide ou intermédiaire. Les sérovars hardjo et australis sont vraisemblablement endémiques en zone intermédiaire.

Le sérovar copenhageni ne présente aucune spécificité d'hôte et circule dans la quasi-totalité des espèces animales domestiques des deux zones climatiques. Australis et mwalok auraient un cycle épidémiologique sauvage avec un hôte de prédilection canin en zone humide.

Dans les deux zones, les bovins et les chevaux, qui ont accès à de grandes étendues, seraient des sentinelles de la circulation des sérovars leptospirosiques. Une association particulière semble lier l'espèce bovine au sérovar hardjo en zone intermédiaire et à pomona en zone humide. Dans cette région, l'espèce équine est peut-être un hôte de prédilection pour le sérovar ballum.

Les bovins sont souvent infectés par l'association des sérovars australis-mwalok dans les deux zones climatiques. En zone intermédiaire, cette espèce héberge en outre l'association hardjo-hebdomadis et même hardjo-hebdomadis–mini.

L'échantillonnage de cette enquête introduit un biais de sélection qui entraîne une distorsion lors de l'extrapolation des résultats aux populations cibles dans le sens d'une sous-estimation.

Un facteur de confusion potentiel, la variable « cas humains », se superpose en outre à la variable climatique. Il semble alors difficile de prendre en compte ses effets dans l'analyse et de mesurer l'association entre le facteur climatique et l'infection leptospirosique.

Enfin, cette étude présente un manque de puissance qui limite l'interprétation des observations.

Les résultats de cette enquête sont donc difficilement généralisables aux populations animales des villages fidjiens de Viti Levu. Sur les bases des objectifs du protocole initial, la transition imposée en cours d'étude n'a pas permis de rétablir un protocole cohérent. Ceci illustre remarquablement le fait qu'un protocole reste adapté aux objectifs qui le déterminent, et qu'il est très difficile d'ajuster des objectifs nouveaux à un protocole existant.

L'intérêt de ce travail est limité à l'heure actuelle : il ne trouvera sa place réelle qu'après une confrontation de ses résultats avec les résultats humains. Et pour cela, une collaboration entre les différentes autorités médicales impliquées est capitale.

La validation d'un test de dépistage de la leptospirose canine en conditions matérielles de terrain minimales représente une avancée diagnostique majeure pour la région du Pacifique Sud. Dans la situation épidémiologique actuelle de la leptospirose canine aux Iles Fidji, le test évalué dans cette étude reste utilisable. Des enquêtes de séro-prévalence ultérieures seront à envisager afin d'affiner cette action de dépistage.

Outre la complexité du cycle épidémiologique de la leptospirose dans la région du Pacifique Sud, il faut réussir à concilier les contraintes d'organisation des projets avec une interprétation scientifique crédible et valable. Ceci demanderait une collaboration des autorités impliquées dans la santé publique à un niveau bien supérieur que celui que cette étude a pu obtenir.

Ce travail représente le préliminaire d'un projet régional. Bien que son intérêt scientifique soit limité par la présence de biais, leur identification ne supprime pas sa valeur, mais engendre des limites aux conclusions apportées.

La mise en place d'un protocole requiert des objectifs précis définis à l'avance et les concessions accordées en situation de terrain ne sont pas toujours évidentes à justifier. Les contraintes techniques rencontrées ne doivent pas altérer pour autant l'évaluation critique d'une étude. L'intégration de leurs conséquences dans l'argumentation scientifique peut en outre apporter un nouvel angle d'étude ultérieure de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHA, P.N., SZYFRES, B. (1989)
Leptospirose.
In: Office International des Epizooties, editors. Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. 2nde édition.
Paris : OIE, 90-97
- ANDRE-FONTAINE *et al.* (1994)
Données récentes sur la leptospirose canine.
Rec Méd Vét, **170**, 663-668
- ANIMAL HEALTH AND PRODUCTION DIVISION (2001)
Corporate plan 2001-2003
Government of Fiji
- ANONYME (2001)
Update : outbreak of acute febrile illness among athletes participating in Eco Challenge, Sabah 2000.
MMWR Morb Mortal Wkly Rep, **19**, 21-24
- BAL *et al.* (1994)
Detection of leptospire in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis.
J Clin Microbiol, **32**, 1894-1898
- BEATTIE, J., ROHDE, M. (2002)
Microscopic agglutination test (MAT).
In : Australian National Quality Assurance Program (Veterinary Serology and Virology): Phase 10.
Attwood: Victorian Institute of Animal Science, 135-137
- BERCOVICH *et al.* (1990)
Evaluation of an ELISA for the diagnosis of experimentally induced and naturally occurring *Leptospira hardjo* infections in cattle.
Vet Microbiol, **21**, 255-262
- BLACKMORE *et al.* (1984)
The magnitude and duration of titres of leptospiral agglutinins in human sera.
N Z Med J, **97**, 83-86
- BOLIN *et al.* (1989a)
Comparison of three techniques to detect *Leptospira interrogans* serovar hardjo type *hardjo-bovis* in bovine urine.
Am J Vet Res, **50**, 1001-1003
- BOLIN *et al.* (1989b)
Effect of vaccination with pentavalent leptospiral vaccine containing *Leptospira interrogans* serovar hardjo on type hardjo-bovis infection of cattle.
Am J Vet Res, **50**, 2004-2008
- BOLIN *et al.* (1999)
Protection of cattle from infection with *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo.
International Leptospirosis Society Program 18

BRENNER *et al.* (1999)

Further determination of deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genospecies.
Int J Syst Bacteriol, **49**, 839-858

BROWN *et al.* (1995)

Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis.
J Med Microbiol, **43**, 110-114

CHAPPEL *et al.* (1985)

Enzymatic radioimmunoassay for detecting *Leptospira interrogans* serovar pomona in the urine of experimentally-infected pigs.
Vet Microbiol, **10**, 279-286

CHO *et al.* (1989)

Diagnostic specificity, sensitivity and cross-reactivity of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody against *Leptospira interrogans* serovars pomona, sejroe and hardjo in cattle.
Can J Vet Res, **53**, 285-289

COLLINGS, D.F. (1984)

Leptospira interrogans infection in domestic and wild animals in Fiji.
N Z Vet J, 1984, **32**, 21-24

DHALIWAL *et al.* (1996)

Presence of antigen and antibodies in serum and genital discharges of cows from dairy herds naturally infected with *Leptospira interrogans* serovars hardjo.
Research in Veterinary Science, **60**, 163-167

DIESCH, S.L. *et al.* (1966)

Leptospire isolated from frog kidneys.
Nature, **209**, 939-946

EDMONDS, A.R., HAWLEY, T.G. (1967)

Leptospirosis in Suva.
Fiji School of Medicine Journal, **10**, 6-8

ELLIS *et al.* (1986)

Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo in the genital and urinary tracts of non-pregnant cattle.
Vet Rec, **118**, 11-13

ELLIS, W.A. (1998)

Leptospirosis. In: PALMER, S.R., LORD SOULBSY, SIMPSON, D.I.H., éditeurs
Zoonoses, Biology, Clinical Practice, and Public Health Control.
New York: Oxford medical Publications, 115-126

EUZEBY, J.P.

Dictionnaire de bactériologie vétérinaire [en ligne]. Mise à jour le 6 Mai 1999.[<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/ll/leptospira.html>], (consulté le 22 Février 2002)

- EVERARD, C.O., BENNETT, S. (1990)
Persistence of leptospiral agglutinins in Trinidadian survey subjects.
Eur J Epidemiol, **6**, 40-44
- EXCEL 2000 (1999). Microsoft corporation
- FAO-OIE-WHO (1995)
Animal Health Yearbook.
FAO-OIE-WHO, 1997 edition
- FAINE *et al* (1999)
Leptospires and Leptopirosis. 2nd edition.
Melbourne, Australia: MediSci, 1999. 296 p.
- Fiji Islands Bureau of Statistics.
Site du Fiji Islands Bureau of Statistics [en ligne], Mise à jour le 18 Juillet 2002
[<http://www.statsfiji.gov.fj>], (consulté le 29 Juillet 2002).
- GILES, N., HATHAWAY, S.C., STEVENS, A.E. (1983)
Isolation of *Leptospira interrogans* serovar hardjo from a viable premature calf.
Vet Rec, **113**, 174-176
- HAAKE, D.A. *et al.* (1998)
Characterization of leptospiral outer membrane lipoprotein LipL36: downregulation associated with late-log-phase growth and mammalian infection.
Infect Immun, **66**, 1579-87.
- Infectious Diseases Weekly Report-Japan
site Infectious Diseases Weekly Report-Japan
[<http://idsc.nih.go.jp/kansen>] en japonais
- JONES, R., PINHEIRO, L. (2000)
Facts about Fiji. In: *Fiji*. 5^{ème} édition.
Australie: Lonely Planet, 13-56.
- JOST *et al.* (1989)
Experimental immunization of hamsters with lipopolysaccharide antigens of *Leptospira*.
Australian Microbiologist, **9**, 399-404
- LAL, B.V., FORTUNE, K. (2000)
The Pacific Islands: An Encyclopedia.
Canberra: B.V. Lal et K. Fortune, 664 p.
- LETOCART *et al.* (1999)
Genetic structure of the genus *Leptospira* by multifocus enzyme electrophoresis.
Int J Syst Bacteriol, **49**, 231-238
- MAPINFO Professional 6.5 (2001). MapInfo corporation
- MERIEN *et al.* (1992)
Polymerase Chain Reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples.
J Clin Microbiol, **30**, 2219-24

- MERIEN *et al.* (1995)
Comparison of polymerase chain reaction with microagglutination test and culture for diagnosis in leptospirosis.
J Infect Dis, **172**, 281-285
- Ministry of Agriculture, Fisheries, Forests (1999)
Fiji National Agricultural Survey 1999.
Government of Fiji
- MUNRO, R. (1978)
Leptospirosis in the animal population in Fiji.
Fiji School of Medicine Journal, **6**, 79-80
- MURGIA *et al.* (1997)
Oligonucleotides specific for pathogenic and saprophytic leptospira occurring in water.
FEMS Microbiol. Let., **148**, 27-34
- NEWMAN, A.J. (1966)
Données non publiées
- O'KEEFE, J.S. (2002)
A brief review on the laboratory diagnosis of leptospirosis.
N Z Vet J, **50** (1), 9-13
- OSWIN, S. (1999)
Leptospirosis-an update on control through cattle vaccination.
Texte non publié
- PALIT, A., GULASEKHARAM, J. (1973)
Genus-specific leprospirial antigen and its possible use in laboratory diagnosis.
J Clin Pathol, **26**, 7-16
- PEROLAT *et al.* (1998)
Leptospira fanei sp. nov., isolated from pigs in Australia.
Int J Syst Bacteriol, **48**, 851-858
- RAM, P. (1978a)
History of leptospirosis in Fiji.
Fiji School of Medicine Journal, **6(4)**, 68-69
- RAM, P. (1978b)
Epidemiology of Leptospirosis in Fiji.
Fiji School of Medicine Journal, **6**, 70-72
- RAM, P., COLLINGS, D.F. (1982)
Further observations on the epidemiology of leptospirosis in Fiji.
Fiji School of Medicine Journal, **10**, 71-75
- RAM *et al.* (1977)
Antibody levels to *Brucella abortus*, *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* serogroups in sera collected from healthy people in Fiji.
J Comp Immunol Microbiol Inf Dis, **5**, 397-403

- RAMADASS *et al.* (1992)
Genetic characterization of pathogenic *Leptospira* species by DNA hybridization.
Int J Syst Bacteriol, **42**, 215-219
- RIBEIRO *et al.* (1995)
Dot-ELISA for human leptospirosis employing immunodominant antigen.
J Trop Med Hyg, **98**, 452-456
- RIBOTTA *et al.* (2000)
Development of an indirect enzyme-linked immunosorbant assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs.
Can J Vet Res, **64**, 32-37
- Le Secrétariat général de la Communauté du Pacifique
Site du Secrétariat général de la Communauté de Pacifique [en ligne], Mise à jour le 14 Août 2002, [<http://www.spc.int>], (consulté le 15 août 2002).
- SEGHAL *et al.* (1999)
LEPTO Dipstick : a rapid and simple method for serodiagnosis of acute leptospirosis.
Trans R Soc Trop Med Hyg, **93**, 161-164
- SMITS *et al.* (1999)
International Multicenter Evaluation of the Clinical Utility of a Dipstick Assay for Detection of *Leptospira*-Specific Immunoglobulin M Antibodies in Human Serum Specimens.
J Clin Microbiol, **37**, 2904-2909
- SMYTHE *et al.* (2002)
A quantitative PCR (TaqMan) assay for *Leptospira* spp.
BMC Infect Dis, **8**, 2-13
- SONGER, G.
Site de l'Université de l'Arizona [en ligne],
[http://microvet.arizona.edu/courses/MIC420/lecture_notes/spirochetes/spirochete_cr.html],
(consulté le 13 Août 2002).
- SPSS (1999). SPSS Inc.
- SURUJBALLI, O., ELMGREN, C. (2000)
Monoclonal antibodies suitable for incorporation into a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of specific antibodies to *Leptospira interrogans* serovar pomona.
Vet Microbiol, **71**, 149-159
- SURUJBALLI *et al.* (1997)
Development of a monoclonal antibody-based competitive enzyme-linked-immunosorbent assay for the detection of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo type hardjo-bovis antibodies in bovine sera.
Can J Vet Res, **61**, 267-274
- VAN CREVEL *et al.* (1994)
Leptospirosis in travellers.
Clin Inf Dis, **19**, 132-134

VAN DEN INGH, T.S., HARTMAN, E.G. (1986)

Pathology of acute *Leptospira interrogans* serotype icterohaemorrhagiae infection in the Syrian hamster.

Vet Microbiol, **12**, 367-376

WAGENAAR *et al.* (2000)

Comparison of polymerase chain reaction assays with bacteriologic culture, immunofluorescence and nucleic acid hybridisation for detection of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in urine cattle.

Am J Vet Rec, **61**, 316-320

YASUDA *et al.* (1987)

Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and sérovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species.

Int J Syst Bacteriol, **37**, 407-415

YERSIN *et al.* (1998)

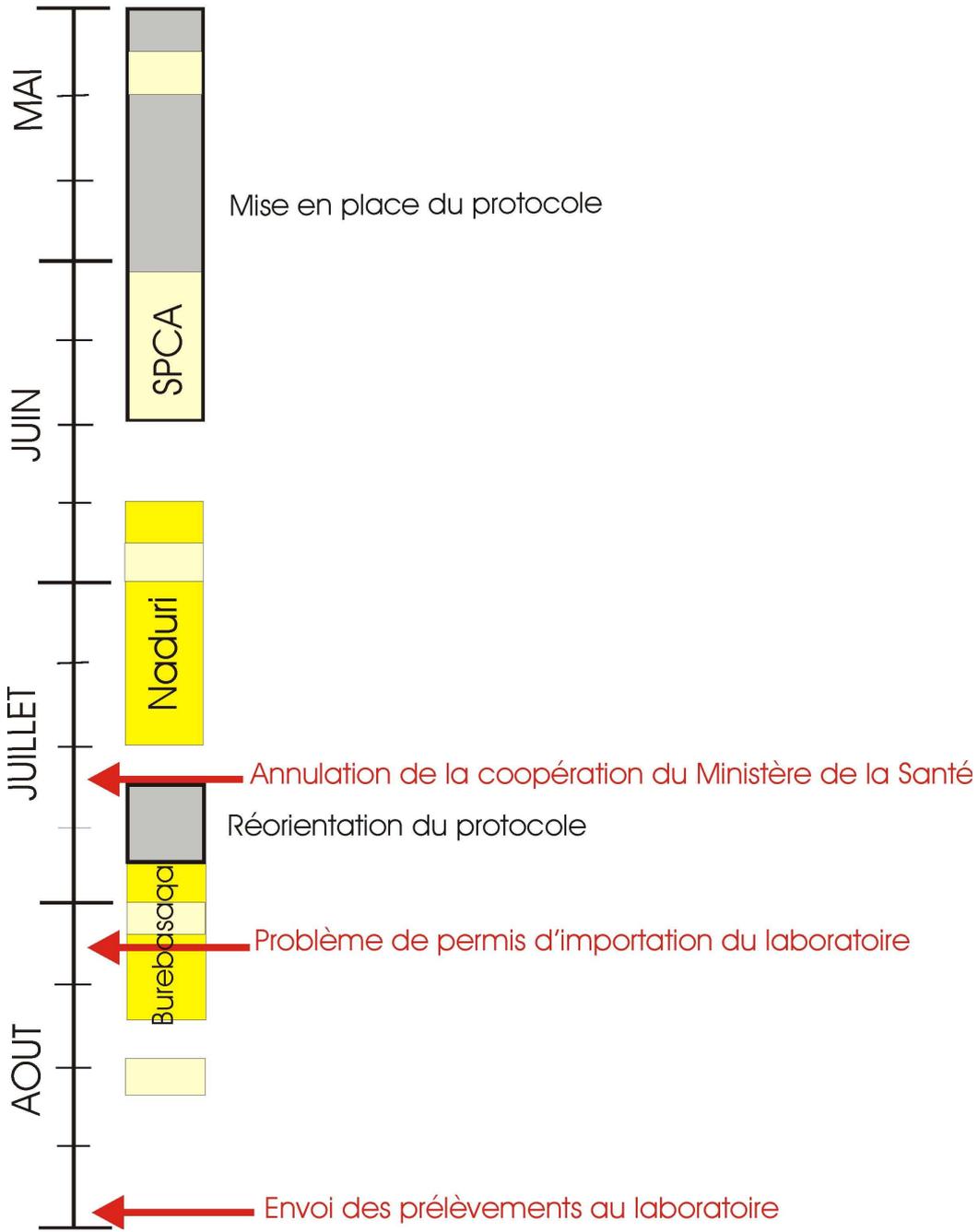
Human leptospirosis in the Seychelles (Indian Ocean): a population-based study.

Am J Trop Med Hyg, **59**, 933-940

ANNEXES

Annexe 1: Calendrier du projet leptospirose

Calendrier de l'enquête Leptospirose à Fidji



Annexe 2: Questionnaire de l'enquête



Secretariat of the Pacific Community
Suva, Fiji.

Domestic Animals Specimen Collection Sheet

Questionnaire ID:



Collector ID: Date of collection:

Owner ID: Lat: Long:

Village ID:

Sample number	Animal ID	Species / breed	Sex	Age	Antibiotics? Yes / No	Animal's origins - born in farm or introduced?	Laboratory results	
							MAT	Culture
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								

Livestock number:

cattle		goats		sheep		pigs		horses	
M	F	M	F	M	F	M	F	M	F

Epidemiology of Leptospirosis in Fiji - 2002

What are your husbandry practices?

.....

.....

•Who handles **cattle**?

Is it a dairy farm?

Yes

No

If yes, how is the milking?

Handle

Machine

•Who handles **pigs**?

•Who handles **goats**?

•Who handles **sheep**?

•Who handles **horses**?

•Do you use a control method of rodents?

Yes

No

If yes, how?

•Do you use a waste disposal?

Yes

No

If yes, what kind?

Sea

River

Pit

Land fill

Another one

Annexe 3: Protocole du test dipstick commercialisé

INTENDED USE

The PANBIO LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks® test is an enzyme immunoassay for the detection of antibodies to *Leptospira biflexa* (serovar *patoc1*), *Leptospira interrogans* (Icterohaemorrhagiae), *Leptospira kirschneri* (Grippotyphosa) for the serological confirmation of infections in serum, plasma or heparinized whole blood. This test is intended to be performed by trained laboratory personnel only.

SUMMARY AND EXPLANATION

The clinical manifestations of leptospirosis range from a mild catarrh-like illness to icteric disease with severe liver and kidney involvement.

Natural reservoirs for leptospirosis include rodents as well as a large variety of domesticated mammals. The organisms occupy the lumen of nephritic tubules in their natural host and are shed into the urine. Canine infection derives from direct exposure to infected animals or by exposure to environments contaminated by animal carriers. Bathing or swimming in water sources about which livestock have been pastured has been demonstrated to be a potential infection hazard. The organisms enter the host through skin abrasions, mucosal surfaces or the eye.

The incubation period can range from 3 to 30 days but is usually found to be 10 to 12 days. Antibodies can become detectable by the 6th to 10th day of disease and generally reach peak levels within 3 to 4 weeks. Antibody levels then gradually recede but may remain detectable for years.

ASSAY PRINCIPLE

The PANBIO LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks® assay utilizes an enzyme-linked immunoassay (EIA) dot technique for the detection of total Ig antibodies. The antigens are dispensed as discrete dots onto a solid membrane. After adding specimen to a reaction cuvette, an assay strip is inserted, allowing patient antibodies reactive with the test antigens to bind to the strip's solid support membrane. In the second stage, the reaction is enhanced by removal of non-specifically bound materials. During the third stage, alkaline phosphatase-conjugated anti-canine antibodies (IgG/IgM) are allowed to react with bound canine antibodies. Finally, the strip is transferred to an enzyme substrate reagent, which reacts with bound alkaline phosphatase to produce an easily seen, distinct spot.

REAGENTS

Assay Strip. Includes a positive control, a negative control, and *Leptospira* antigen wells. Store at room temperature.

Liquids #1, #2, #3c, and #4 must be stored at 2-8°C.

Liquid #1 (Sample Diluent). Consists of diluent buffer salts, sodium azide as a preservative, and inert liquid materials (pH 6.2-7.6).

Liquid #2 (Enhancer). Consists of sodium chloride, sodium azide as a preservative, and inert liquid materials.

Liquid #3c (Conjugate). Consists of alkaline phosphatase conjugated goat anti-canine IgG/IgM antibodies in diluent buffer salts, sodium azide as a preservative, and inert liquid materials (pH 6.2-7.6).

Liquid #4 (Developer). Consists of 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate and p-nitro blue tetrazolium chloride in buffered diluent salts, sodium azide as a preservative, and inert liquid materials (pH 9.0-11.0).

PRECAUTIONS

For export use only.

PANBIO LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks® reagents have been optimized for use as a system. Do not substitute other manufacturers' reagents or other PANBIO Dip-S-Ticks® reagents. Dilution or alteration of these reagents may also affect the performance of the test.

Do not use any kits beyond the stated expiration date. Deionized or distilled water must be used as Clarifier.

Close adherence to the test procedure will assure optimal performance. Do not shorten or lengthen stated incubation times since these may result in poor assay performance. The assay is designed for use with the suggested Workstation. If using other heating units (e.g. water baths), exercise extreme caution to ensure that water does not splash into the reaction cuvettes.

STORAGE

Store liquid reagents at 2-8°C. Sticks may be stored at room temperature (15-30°C). Reagents must be at room temperature (15-30°C) before use.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

The PANBIO LEPTOSPIRA Dip-S-Ticks® assay can be performed with serum, heparinized plasma or heparinized whole blood. The test requires approximately 20 µl of serum or plasma or 40 µl of whole blood. Serum, heparinized plasma, and heparinized whole blood should be collected according to standard practices. Finger stick samples are stable at ambient temperatures for one day. Serum, plasma or heparinized whole blood may be stored at 2-8°C for up to five days. Serum and plasma may be frozen below -20°C for extended periods. Freezing whole blood samples is not advised. Sodium heparin is the only anti-coagulant that can be used.

Single specimens are used to assess exposure; two specimens collected at different times from the same animal are used to show seroconversion. **Paired specimens should be tested at the same time.** It is recommended that a convalescent specimen be collected from dogs showing either an initially non-reactive or weakly reactive result.

PROCEDURE

Materials Provided:

Assay Strip -Canine Leptospira

Liquid #1, (Sample Diluent)

Liquid #2, (Enhancer)

Liquid #3c, (Conjugate IgG/IgM)

Liquid #4, (Developer)

The liquid reagents must be refrigerated upon receipt.

Reaction Cuvettes - 4/test (RC)

Package Insert

Materials required but not provided:

Workstation Heat-block

Clarifier Vessel (cup)

Specimen collection apparatus

Timer

Distilled or deionized water to be used as Clarifier

Pipettes

Absorbent toweling to blot dry the Assay Strip

Positive control serum (suggested)

Negative control serum (suggested)

Set Up:

1. Turn on workstation and, if necessary, adjust to 50 ± 1 -C. (See workstation instructions).
2. Appropriately label the Assay Strips for dog identification.
3. Remove and label (#1 through #4) 4 Reaction Cuvettes (RC) per test from the product box and place in workstation heating block.
4. Add water to the Clarifier Vessel to a level that **insures that strip is adequately covered upon insertion**.
5. Place 2 ml Liquid #1 (Diluent) in RC #1; 2 ml Liquid #2 (Enhancer) in RC #2; 2 ml Liquid #3c (Conjugate) in RC #3; and 2 ml Liquid #4 (Developer) in RC #4.
6. Wait ten minutes before beginning "Assay Procedure." During this time specimen(s) may be added (step #7).
7. Add dog specimen (20 μ l serum or 40 μ l of whole blood) to RC #1.

Assay Procedure:

1. **Pre-wet Assay Strip by immersing in Clarifier Vessel for a minimum of 4 minutes.**
2. Using several (10-15) quick up and down motions with the Assay Strip, mix diluent and specimen thoroughly in Reaction Cuvette #1. Let strip stand for 10 minutes in RC.
3. Remove Assay Strip from RC and swish in the Clarifier Vessel. Use a swift back and forth motion for 6-10 seconds allowing for optimal washing of the Assay Strip's membrane windows. Dispose of used distilled water in Clarifier Vessel and replace with fresh distilled water.
4. Place Assay Strip into RC #2. Mix thoroughly with several (6-10) quick up and down motions. Let strip stand for 5 minutes in RC.
5. Remove Assay Strip from RC #2 and swish in Clarifier Vessel as described (step #3). Dispose of used distilled water in Clarifier Vessel and replace with fresh distilled water.
6. Place Assay Strip into RC #3. Mix thoroughly with several (6-10) quick up and down motions. Let strip stand in RC for the duration indicated on the Kit Master Label.
7. Remove Assay Strip from RC #3 and swish in Clarifier Vessel as described (step #3). **DO NOT** remove the Assay Strip from the Clarifier Vessel.
8. Allow the Assay Strip to stand in the Clarifier Vessel for 5 minutes. Dispose of used distilled water in Clarifier Vessel and replace with fresh distilled water.
9. Place Assay Strip into RC #4. Mix thoroughly with several (6-10) quick up and down motions. Let strip stand for 6 minutes in RC.
10. Remove Assay Strip from RC #4 and swish in Clarifier Vessel as described (step #3).
11. Blot and allow Assay Strip to dry. It is imperative that tests of borderline specimens be interpreted after the Assay Strip has been allowed to dry. Do not use artificial means to dry the strips, such as a hair dryer (a fan is acceptable).

Reading the Assay Strip:

Positive: A dot with an easily seen, distinct border is visible in the center of the window. The outer perimeter of the window must be white to pale gray.

Negative: If no dot is seen or a dot is difficult to see, interpret it as negative.

QUALITY CONTROL

The top two membrane windows of the Assay Strip contain reagent controls: the dot in the top window is a positive reagent control and must be positive for further interpretation. The dot in the second window is the reagent negative control (diluent and non-reactive proteins) and must

be negative (white to pale-gray) for further interpretation. Reagent controls assure that reagents are active and that the test has been performed properly. If either reagent control is invalid, the test results should not be reported, and the test repeated. **The intensity of the positive control dot must not be used as a guide to determine the intensity of reactive wells. Positive reactions in the other antigen windows of the strip may be either darker or lighter than the positive control depending on the antibody titer.**

PANBIO assures that its products perform as described. In addition, a positive control serum is separately available from PANBIO. The performance of each kit may be confirmed upon receipt by performing a determination using the positive control serum and obtaining a positive result.

The assay is performed at 50 ± 1 -C. The temperature of the heating block or water bath should be monitored to assure proper test performance.

INTERPRETATION

Results are interpreted as the number of reactive dots: 0 for negative, 1 to 4 for positive. An equivocal reaction (one in which the intensity of the dot is greater than 0 but less than +1) is recorded as 0.5. Intermediate reactions may be denoted with a ".5". For example, a test with 2 positive reactions dots and a third dot with an equivocal reaction would be recorded as a 2.5.

Positive Control

Negative Control

Leptospira antigens (as described) dilution 1 First well is 1:200 - 400 MAT equivalent.

L. antigen dilution 2

L. antigen dilution 3

L. antigen dilution 4

Initially non-reactive: Samples interpreted as non-reactive (no reactive dots) indicate that antibody is not present in the sample. Since antibodies may not be present during early disease, confirmation 2-3 weeks later is indicated for laboratory diagnosis. At this later time, dogs still showing weak reactions should be further tested by alternate methods or re-tested 2-3 weeks later. A convalescent serum with a significant reaction (3 or 4 dots) indicates the formation of specific antibody against the indicated organism. An initially negative result followed by a positive result implies seroconversion.

Initially weakly reactive: Weakly reactive specimens (1 or 2 reactive dots using IgG/M Conjugate) should be cautiously interpreted. In normal populations, weakly reactive samples are infrequent but possible. Confirmation with a sample collected 2-3 weeks later (paired acute and convalescent sera) is recommended. A stronger reaction (based on an increase in the strength of color development and/or increase in the number of positive dots) in the convalescent sera confirms the presence of recent, specific antibody. [Caution: If this is a cross reactive antibody, the convalescent serum sample may not show a higher antibody level than the acute sample.] If sample reading remains weakly reactive, a second methodology should be considered if acute infection is still suspect or the sample may be interpreted as taken beyond rising titer (titers declining) or not indicative of leptospira.

Initially reactive: Samples interpreted as strongly reactive (3 or 4 reactive dots) may indicate the presence of specific antibody. Antibody presence alone cannot be used for diagnosis of acute infection, however, because antibodies from prior exposure may circulate for a prolonged period of time.

Appropriate treatment for clinical symptoms should not be withheld based on these results.

LIMITATIONS

Treatment is often indicated prior to completion of serologic diagnosis, which requires at least two weeks. Diagnosis of these diseases should not be made based on results of the PANBIO LEPTOSPIRA DIP-S-TICKS® assay alone, but in conjunction with other clinical signs and symptoms and other laboratory findings.

Epidemiologic factors, clinical findings, exposure in endemic regions, and other laboratory results should be considered when making a diagnosis.

Since serological assay methods may yield different results for weakly reactive samples, a second serological method (i.e. an alternate method that tests specifically for IgM or IgG separately) is recommended.

EXPECTED RESULTS

The number of antibody positive subjects in a population depends on two factors: disease prevalence and clinical criteria used to select the tested population. Because very few positives should be seen in a randomly screened population in a non-endemic area, most serology tests are not specific enough to screen non-endemic populations. Even in an endemic region, serology screening **often yields many false positives if used to randomly screen dogs**. Serology tests are most useful to test dogs in an endemic region with signs and symptoms consistent with the disease.

Antibody levels are generally low or absent during early infection. Symptomatic dogs may have no antibody during the first 1-2 weeks after exposure and the antibody titer will rise with time.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Fig. 1: Situation des Iles Fidji dans la région du Pacifique Sud.	6
Fig. 2: Les Iles Fidji.	7
Fig. 3: Mangrove.	11
Fig. 4: Exploitation laitière à l'heure de la traite. (crédit : gwen)	19
Fig. 5: Traversée de la rivière au moment de la traite.	20
Fig. 6: La race ovine fidjienne.	21
Fig. 7: Parc communal.	22
Fig. 8: Bœuf de labour.	23
Fig. 9: Point d'eau naturel utilisé par les animaux. (crédit : gwen)	23
Fig. 10: Le cheval est un moyen de transport.	24
Fig. 11: Parc à cochons en terre.	25
Fig. 12: Cage en bois.	25
Fig. 13: Les quartiers de la CPS à Suva.	27
Fig. 14: Organigramme du Service Régional de Santé Animale.	28
Fig. 15: De gauche à droite, Peter Saville, Steve Angus et Alexandre Fediaevsky.	28
Fig. 16: Organigramme de la division Animal Health and Production du MASLR.	29
Fig. 17: Dendrogramme représentant les relations génétiques au sein de genre <i>Leptospira</i> .	34
Fig. 18: Leptospires observées au MEB.	35
Fig. 19: Observation des spirochètes au microscope à fond noir.	53
Fig. 20: Bactériémie chez l'homme (en jours).	59
Fig. 21: Leptospirurie chez l'homme et chez les animaux.	60
Fig. 22: Cinétique des anticorps.	60
Fig. 23: Ponction intracardiaque effectuée sur une mangouste anesthésiée au chloroforme.	75
Fig. 24: Séro-prévalence et composition démographique des échantillons de l'enquête.	79
Fig. 25: Tableaux de contingence de la séro-prévalence par espèce animale.	85
Fig. 26: Proportion d'animaux leptospirosiques par espèce et en fonction du climat.	86
Fig. 27: Tableaux de contingence de la répartition des échantillons par sexe et par espèce.	91
Fig. 28: Répartition des sérovars par espèce animale dans les deux échantillons.	94
Fig. 29: Standardisation directe de la séro-prévalence du sérovar hardjo dans le village de Naduri.	96
Fig. 30: Répartition des espèces animales par sérovar à Naduri ¹ .	100
Fig. 31: Répartition des espèces animales par sérovar à Burebasqa ¹ .	101
Fig. 32: Répartition des espèces animales pour les sérovars copenhageni, australis, ballum et mwalok selon le village.	102
Fig. 33: Spectres sérotypiques de la leptospirose par espèce animale à Naduri ¹ .	105
Fig. 34: Spectres sérotypiques de la leptospirose par espèce animale à Burebasqa ¹ .	107
Fig. 35: Seuils de réactivités moyens par espèce animale et par village étudiés.	108
Fig. 36: Tableaux de fréquence du nombre de sérovars impliqués dans l'infection leptospirosique.	110
Fig. 37: Répartition du nombre de sérovars dans l'infection par espèce animale.	111
Fig. 38: Interprétation du test dipstick.	119

Tabl. 1:	Effectifs de l'élevage à Fidji.	17
Tabl. 2:	Classement des espèces hôtes en fonction des sérovars les plus fréquents.	49
Tabl. 3:	Séro-prévalences de la leptospirose animale à Fidji	65
Tabl. 4:	Répartition des sérovars par espèce animale selon les enquêtes.	66
Tabl. 5:	Composition de l'échantillon de l'enquête.	74
Tabl. 6:	Standardisation directe des séro-prévalences animales pour le village de Naduri.	80
Tabl. 7:	Séro-prévalence leptospirosique et exposition climatique.	82
Tabl. 8:	Séro-prévalences par espèce animale.	84
Tabl. 9:	Tableau de contingence du taux d'infection par espèce en fonction de la zone climatique.	87
Tabl. 10:	Composition de l'échantillon de Naduri par âge et par espèce.	89
Tabl. 11:	Taux de séro-prévalences standardisés par sérovar et par village (%).	97
Tabl. 12:	Comparaison des séro-prévalences des sérovars entre les deux échantillons.	98
Tabl. 13:	Associations de sérovars recensées dans l'étude.	112
Tabl. 14:	Caractéristiques de quelques leptospires utilisées pour le test MAT par le laboratoire collaborateur de référence OMS/FAO/OIE pour la leptospirose.	114
Tabl. 15:	Nombre de sérums canins par zone d'échantillonnage.	118
Tabl. 16:	Tableau d'étude de la valeur diagnostique.	119
Tabl. 17:	Tableau d'étude de la valeur diagnostique du test dipstick.	120
Tabl. 18:	Caractéristiques démographiques des faux-négatifs au test dipstick.	123

LISTE DES ABREVIATIONS

AHP : Animal Health and Production

ARN: Acide Ribonucléique

CPS: Secrétariat général de la Communauté du Pacifique

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

EMJH: Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris

FAO: Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture

LPS: Lipopolysaccharide

MASLR: Ministry of Agriculture, Sugar and Land Resettlement

MAT: Test de Micro-Agglutination

OIE : Office International des Epizooties

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR: Polymerase Chain Reaction

SPCA : Society for the Prevention of Cruelty to Animals

SRSA: Service Régional de la Santé Animale

NOM : LUPO

PRENOM : Coralie

TITRE : Epidémiologie de la leptospirose animale aux Iles Fidji

RESUME :

La leptospirose est une maladie extrêmement fréquente en zone tropicale, notamment dans le Pacifique Sud. Chez l'homme, elle peut être létale. Les rongeurs sont souvent incriminés en tant que réservoir de leptospires, mais d'autres espèces animales peuvent intervenir dans la transmission de l'infection à l'homme. Afin de comprendre le cycle épidémiologique de cette zoonose aux Iles Fidji, une enquête sérologique a été conduite sur différentes espèces animales.

L'objectif premier est modifié pour mesurer l'association entre la leptospirose et l'exposition au facteur climatique. Le protocole de l'étude intègre les contraintes rencontrées au cours de la mise en place d'un projet d'une telle envergure, et les moyens disponibles pour les contourner dans un pays en voie de développement. Cette enquête met en évidence un taux de séro-prévalence élevé de l'infection leptospirosique dans les populations animales, notamment chez les bovins et les chevaux. Le sérovar mwalok paraît endémique sur l'île de Viti Levu tandis que l'endémie des sérovars hardjo et australis est vraisemblablement limitée à la zone climatique intermédiaire. Des associations particulières et spécifiques d'un type climatique semblent lier certains sérovars et une espèce animale donnée. L'échantillonnage de cette étude introduit un biais de sélection qui entraîne une distorsion lors de l'extrapolation des résultats aux populations cibles.

MOTS-CLES : leptospirose, Iles Fidji, enquête, épidémiologie

ENGLISH TITLE : Epidemiological study of animal Leptospirosis in Fiji Islands

ABSTRACT :

Leptospirosis is a very common disease of tropical countries, especially the South Pacific area. In humans, it is an acute generalized infection that can be lethal. Rodents are thought to be the reservoir of leptospira, but other species may transmit the infection to humans. In order to understand the epidemiological cycle of this zoonosis in the Fiji Islands, a serological survey was conducted on different animal species.

The first aim was changed to measure the link between leptospirosis and exposition to the climatic factor. The protocol had to take into account the specificities of such a project performed in the particular context of a developing country. This survey highlights a high sero-prevalence in animal populations, especially cattle and horses. Serovar mwalok may be endemic in the whole Viti Levu island, whereas serovars hardjo and australis may be endemic in the intermediate climatic area only. Special and specific associations of a climatic type seem to link a serovar to particular species.

Supprimé : RESUME DE LA THESE (EN ANGLAIS)

Sample frame of this study introduces a selection bias that doesn't reflect the reality when the results are extrapolated to target populations.

KEY WORDS : leptospirosis, Fiji Islands, survey, epidemiology