

LA LEPTOSPIROSE, UNE ZONOSE SOUS SURVEILLANCE EN NOUVELLE-CALÉDONIE ET DANS LE PACIFIQUE

Fabrice Mérien ^{a,*}, Alain Berlioz-Arthaud ^b

Résumé

La leptospirose est connue comme l'une des pathologies infectieuses majeures de la Nouvelle-Calédonie. Sur un fond d'endémie présent tout au long de l'année, des foyers épidémiques sont habituellement constatés pendant les mois chauds et pluvieux, principalement de décembre à mars. Les contaminations humaines sont classiquement rencontrées dans les zones d'élevage bovin de la côte ouest et en milieu rural mélanésien le long de la côte est où la pluviométrie est la plus importante (côte sous les alizés). Le pronostic de cette zoonose est parfois sévère avec une mortalité associée importante. Le diagnostic clinique de cette spirochétose est difficile, les symptômes étant peu spécifiques allant de la simple forme grippale (fièvre, céphalées, myalgies) à la maladie de Weil associant atteintes hépatique et rénale. Le diagnostic biologique spécifique comprenant l'isolement de l'agent pathogène, la sérologie (MAT, ELISA) et les techniques de biologie moléculaire issues de la PCR restent l'apanage de structures spécialisées comme en possède l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, dont le laboratoire est associé au Centre national de référence des leptospires. Présente dans d'autres états et territoires insulaires du Pacifique, la leptospirose est une priorité du Réseau océanien de surveillance de la santé publique (ROSSP) créé en 1996 sous l'égide de la Communauté du Pacifique Sud et de l'Organisation mondiale de la santé. L'ensemble des données recueillies en réseau permettra aux services de santé concernés de sensibiliser les populations, mettre en place des mesures préventives et favoriser l'utilisation des outils diagnostiques disponibles.

Leptospirose – Nouvelle-Calédonie – zoonose – diagnostic.

Summary : Leptospirosis, a zoonose under monitoring in New Caledonia and in the Pacific.

Leptospirosis is caused by the Leptospira bacteria belonging to the order Spirochaetales. According to shared antigens, Leptospira is divided into serogroups and serovars, usually associated with a natural host. Leptospirosis is an important emerging disease and is at present recognised as a major endemic environmental disease in many tropical and wet countries, including some of the Pacific region. Peaks are usually seen during rainy seasons in tropical areas. Human contamination is due to direct or indirect contact with urine of infected animals. Contamination usually occurs through cuts in the skin. It may also happen through intact skin after prolonged contact with contaminated water. Following a 2- to 20-day incubation, the symptoms are variable, ranging from a classical flu syndrome to Weil disease (hepatic and renal failure), often leading to death. Leptospirosis is sometimes severe and the associated mortality may be high. Clinical as well as biological diagnosis of Leptospirosis is difficult. Specific biological tests, including bacteria isolation, DNA testing (PCR, real time PCR) and serology using the microagglutination test (MAT), still remain limited to highly specialised laboratories. Classical treatment is based on antibiotics such as ampicillin or doxycyclin.

Leptospirosis – New Caledonia – zoonosis – diagnosis.

1. Introduction

Zoonose de répartition mondiale, la leptospirose voit ses caractéristiques épidémiologiques varier en fonction des conditions écologiques, et le rôle des animaux réservoirs est fondamental dans l'épidémiologie de la maladie humaine. Le genre *Leptospira* comprend un grand nombre d'espèces regroupées en deux entités, *Leptospira interrogans* sensu lato et *Leptospira biflexa* sensu lato. *L. interrogans* sensu lato regroupe au moins 7 espèces pathogènes (classification génomique) pour de nombreux mammifères dont l'homme, et comprend au moins 230 sérovars répartis en 23 sérogroupes. Le sérovar est le taxon de base de la classification sérotypique du genre

^a Laboratoire de recherche des leptospires

^b Laboratoire de biologie médicale
Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie
B.P. 61 – 98845 Nouméa cedex
Nouvelle-Calédonie

* Correspondance
fmerien@pasteur.nc

article reçu le 23 novembre 2004, accepté le 10 février 2005.

© Elsevier SAS.

Leptospira. Quant à *L. biflexa* sensu lato, il comprend des espèces non pathogènes et saprophytes des eaux douces. La leptospirose chez l'homme a une expression clinique extrêmement variable allant des formes fébriles pures méconnues à l'atteinte multiviscérale avec syndrome hémorragique parfois mortelle. Sur le plan du diagnostic rapide et différentiel, les outils de la biologie moléculaire comme l'amplification génique permettent l'obtention d'un résultat spécifique et sensible pour le praticien. Ces mêmes outils ont permis des avancées importantes dans la connaissance de ces spirochètes caractérisés par une hétérogénéité antigénique extrême et un spectre très diversifié d'hôtes potentiels.

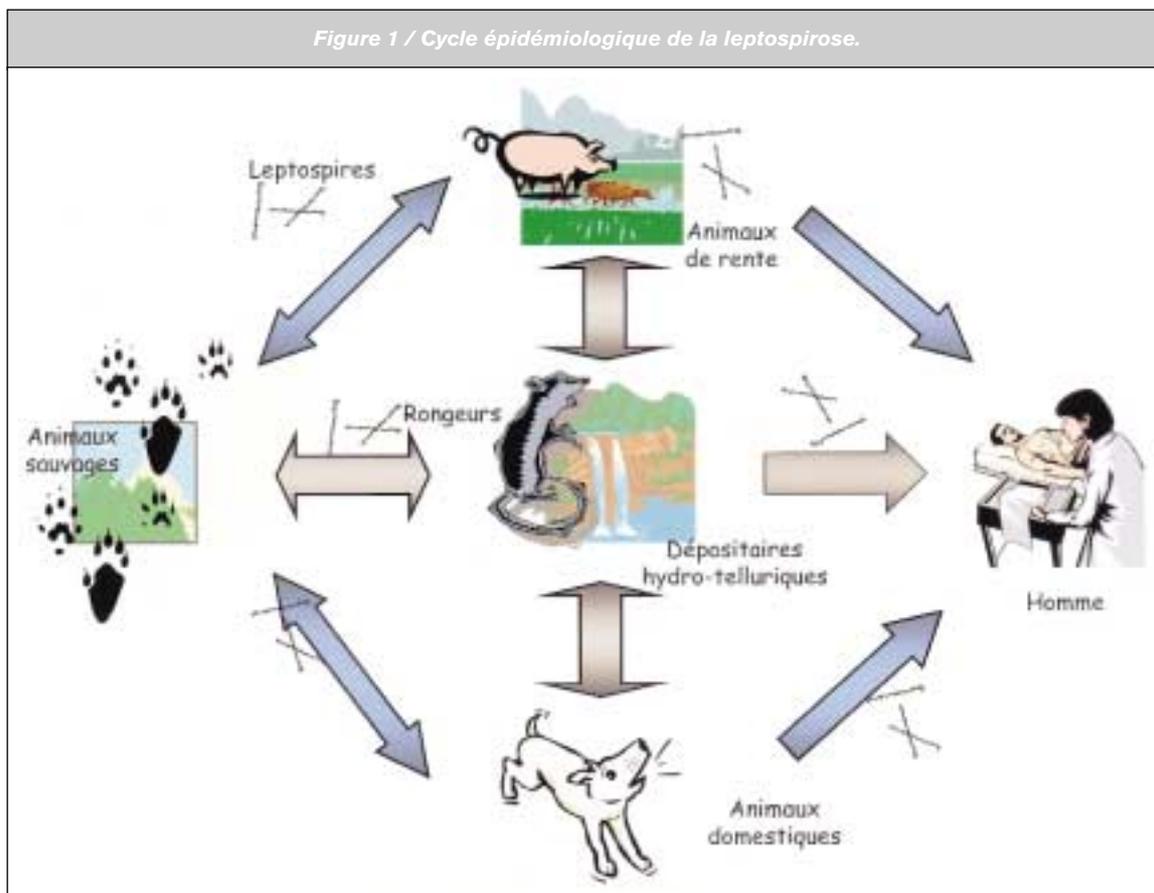
2. Un cycle épidémiologique digne d'un parasite

L'épidémiologie de cette zoonose est complexe et la présence des leptospires dans le milieu extérieur, représenté par l'ensemble des milieux hydro-telluriques (eaux douces, mares, boues), est l'un des éléments essentiels de leur transmission (figure 1). Les animaux infectés éliminent les leptospires par voie urinaire dans leur biotope naturel exposant ainsi tout animal sensible à un risque de contamination. En Nouvelle-Calédonie, les muridés, en particulier diverses espèces de rats (*Rattus rattus* et *Rattus exulans*), représentent le réservoir sauvage et assurent la pérennité de l'endémie. Il s'agit d'un véritable réservoir primaire : après une courte phase de leptospirose, les leptospires se multiplient au niveau des reins pour être éliminés de manière intermittente dans les urines durant toute sa vie et sans aucun préjudice pour l'animal réservoir. La survie des leptospires dans l'eau douce et

dans les sols humides à pH alcalin est favorisée par des conditions environnementales telles que la chaleur et l'humidité, ce qui explique son incidence plus élevée dans la zone intertropicale.

La peau saine, lésée (une égratignure peut suffire) ou macérée par un séjour prolongé dans l'eau douce (baignade) d'une part, et les muqueuses d'autre part, constituent les voies d'entrée privilégiées des leptospires. Deux modes de contamination sont souvent évoqués, directe et indirecte, la première (contact avec les urines) étant la moins fréquente et rendant compte de l'existence de maladies professionnelles (agents de voirie, agriculteurs, éleveurs, employés d'abattoirs, vétérinaires). La contamination indirecte, qui est liée à la présence de l'homme lors de ses activités professionnelles ou de loisirs dans un environnement infecté, reste au premier plan. Il est toutefois nécessaire de distinguer les zones tempérées des zones tropicales comme la Nouvelle-Calédonie, où pour cette dernière la contamination est continue [17] mais étroitement liée aux conditions climatiques toujours compatibles avec la survie et à la dissémination des leptospires (température, humidité).

La répartition de la maladie dans le temps est étroitement liée aux variations climatiques. En zone tempérée, une recrudescence des cas est observée surtout pendant l'été et l'automne [28], alors que dans la zone intertropicale s'ajoutent, à une transmission quasi continue (bruit de fond de la contamination), des variations saisonnières liées au régime des pluies ou à des événements climatiques irréguliers (périodes cycloniques). À titre d'exemple, en France métropolitaine, le niveau d'endémie est faible avec une moyenne de 200 à 300 cas annuels. En zone tropicale comme à Hawaï [26] ou aux Seychelles [5, 34], l'incidence annuelle est beaucoup plus élevée. En Nouvelle-Calédonie, elle était par exemple en 1999 de 122 cas/100 000 habitants avec un pic



important en février-mars en pleine saison chaude et pluvieuse. En Nouvelle-Calédonie, des foyers permanents de leptospirose ont été décrits en relation avec les activités d'élevage bovin, dans la région de Bourail notamment [4]. Mais une part importante des contaminations reste liée aux mauvaises conditions d'hygiène de l'environnement, en particulier en milieu tribal et à la périphérie de Nouméa où l'habitat précaire se développe. Enfin, les modifications des activités humaines doivent être prises en considération comme l'augmentation depuis quelques années des activités de loisirs en eau douce (canoë-kayak et canyoning).

Dans le Pacifique, les leptospires sont particulièrement bien connues en Australie et en Nouvelle-Zélande comme maladies professionnelles affectant principalement les éleveurs et les employés d'abattoir [29, 30]. Parmi les différents états et territoires insulaires de la région Pacifique, seuls Hawaii et la Nouvelle-Calédonie possèdent des laboratoires spécialisés et fournissent des données locales actualisées sur l'épidémiologie de cette zoonose [4, 12, 17]. En revanche, peu d'études sont disponibles pour d'autres îles comme la Polynésie française [10, 24] ou le Vanuatu [21]. Depuis la création du ROSSP (Réseau océanien de surveillance de la santé publique) en 1995 à l'initiative de la CPS (Communauté du Pacifique Sud) et du bureau régional de l'OMS, des foyers de leptospirose ont été décrits à Kosrae [6, 20], Fidji [25], Palau [22], aux Iles Mariannes du Nord [33] et Guam (données non publiées). Suite à un atelier thématique du ROSSP, tenu à Guam en décembre 2001, la leptospirose figure au rang des maladies transmissibles prioritaires et ciblées par les activités du réseau. Un projet pilote de surveillance de cette pathologie par les laboratoires a été lancé en 2003, à l'initiative de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, et accepté pour financement par l'OMS [3]. Pour les 9 états et territoires participant à ce projet, les objectifs sont une meilleure connaissance des modes de circulation de cette maladie (endémique, épidémique), l'identification des sérogroupes en cause, l'étude de la répartition spatio-temporelle (relation avec les facteurs climatiques) et une quantification de l'incidence locale. L'ensemble des données recueillies permettra aux services de santé concernés de sensibiliser les populations, mettre en place des mesures préventives et promouvoir l'utilisation pérenne des outils diagnostiques disponibles. Selon leurs niveaux de compétence et leur technicité, les différents laboratoires inclus dans le protocole de surveillance réaliseront des tests sérologiques de dépistage (Dot Blot sur bandelette), de confirmation (ELISA IgM) ou de référence (test de microagglutination ou MAT à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie).

3. Une symptomatologie peu évocatrice

La période d'incubation dure de 7 à 13 jours avec des extrêmes de 2 à 26 jours. Assez classiquement, les signes les plus fréquemment rencontrés parmi les patients biologiquement confirmés sont la fièvre, les céphalées, les myalgies et l'ictère dans un contexte d'hyperleucocytose, de thrombopénie et d'inflammation (augmentation significative de la CRP et de la vitesse de sédimentation). La gravité de la maladie est due à sa forme la plus caractéristique, décrite sous le nom de syndrome de Weil qui se traduit par une hépatonéphrite rapidement mortelle. Le *tableau 1* présente des données comparées concernant le nombre de décès dus à la leptospirose et à la dengue en Nouvelle-Calédonie (DASS Nouvelle-Calédonie), et démontre l'importance de la leptospirose dans la mortalité liée aux maladies infectieuses. D'autres présentations cliniques existent, notamment les méningites, les infections pulmonaires basses et les uvéites. Toutefois, les formes fébriles pures, encore qualifiées de « pseudogrippales » sont de loin les plus fréquentes. Ainsi, l'aspect protéiforme de cette maladie rend son identification clinique difficile et aléatoire, surtout dans le contexte tropi-

Tableau 1 / Comparaison des nombres de cas déclarés et de décès dus à la leptospirose et à la dengue en Nouvelle-Calédonie de 1995 à 2001

Année	Leptospirose		Dengue	
	Cas déclarés	Décès	Cas déclarés	Décès
1995	294	3	2212	4
1996	280	6	2121	5
1997	366	3	251	0
1998	374	3	2612	1
1999	239	19	354	0
2000	104	5	12	0
2001	147	7	34	0

Données fournies par la Direction des affaires sanitaires et sociales de Nouvelle-Calédonie : rapports annuels « Situation sanitaire en Nouvelle-Calédonie », n° 12 à 18.

cal où se pose le problème du diagnostic différentiel avec d'autres pathologies comme les arboviroses (dengue), les hépatites virales, le paludisme ou d'autres infections virales, la grippe ou les infections à Hantavirus notamment. Le diagnostic biologique demeure donc un outil fondamental pour la confirmation des cas de leptospirose [11].

4. Diagnostic biologique

Chronologiquement, les techniques classiques ou traditionnelles (bactériologie, sérologie) peuvent être distinguées des techniques plus récentes utilisant majoritairement les outils de la biologie moléculaire (PCR, real-time PCR).

4.1. Isolement bactérien

Avant la mise en culture, l'examen direct au microscope à fond noir des produits pathologiques présente peu d'intérêt en biologie humaine, du fait de sa faible sensibilité mais aussi de sa spécificité médiocre. En effet, certains germes accolés, des fibrilles ou des éléments cellulaires peuvent en imposer pour des leptospires à un œil non averti [23]. Deux données importantes inhérentes à la physiologie des leptospires doivent être prises en compte, d'une part le temps de croissance relativement lent, d'autre part des exigences métaboliques particulières [23]. L'isolement des leptospires à partir des prélèvements biologiques (sang, urines, LCR) nécessite un délai de 10 jours à 2 mois, ce qui en limite son intérêt pour le praticien dans les formes graves aiguës ou suraiguës. Toutefois, l'isolement ne doit pas être entrepris sur un plan uniquement diagnostique car il demeure la base de la surveillance épidémiologique. Le métabolisme original des leptospires oblige le bactériologiste à utiliser des milieux de culture complexes comme le milieu EMJH (Ellinghausen-McCullough modifié par Johnson et Harris) qui est le plus utilisé pour l'isolement (incubation à 30 °C) et l'entretien des souches de leptospires. Aucun milieu de culture sélectif ou électif n'ayant été développé, l'isolement des leptospires n'est pas aisé et demeure réservé à des laboratoires spécialisés.

4.2. Techniques sérologiques

4.2.1. Test de microagglutination

Le test de microagglutination (MAT) demeure la technique de référence [23] ; il dérive de l'ancienne réaction d'agglutination-lyse (RAL) mise

au point par Martin et Pettit en 1918. Ce test est utilisé pour la mise en évidence et le titrage des anticorps sériques mais aussi pour l'identification et le sérotypage des souches isolées. Son principe est basé sur la lecture au microscope à fond noir du pouvoir agglutinant du sérum à tester vis-à-vis de cultures vivantes de *Leptospira*. Une batterie de souches (ou « antigènes » dans la terminologie du MAT) choisies en fonction de la fréquence connue de certains sérovars et de la probabilité de les rencontrer selon les critères épidémiologiques locaux, est constituée pour permettre l'identification du sérovar en cause lors d'une infection à *Leptospira*. Ainsi, pour les prélèvements de Nouvelle-Calédonie, 11 antigènes seulement sont utilisés (tableau II). Au besoin, en particulier à l'occasion d'enquêtes régionales, le panel complet (23 antigènes) est utilisé. Pour garantir la qualité de cette analyse, l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie participe depuis 2001 à des programmes internationaux de contrôle externe de qualité (National Reference Laboratory de Melbourne et Queensland Health Scientific Services, Brisbane).

L'interprétation des résultats sérologiques est parfois délicate et doit tenir impérativement compte des techniques utilisées, du sérotype en cause, de la chronologie des prélèvements dans le déroulement de la maladie et de la thérapeutique antibiotique instituée. L'étude de la cinétique des anticorps agglutinants sur deux voire trois sérums espacés chacun d'une dizaine de jours est le plus souvent indispensable pour l'interprétation et la détermination du sérotype en cause.

Tableau II / Liste des souches utilisées pour le test de microagglutination (MAT).

Sérogroupe	sérovar	souche
<i>Australis</i>	<i>australis</i>	Ballico
<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i>	Akiyami A
<i>Ballum</i>	<i>castellonis</i>	Castellon 3
<i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i>	Van Tienen
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	Hond Utrecht
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	Verdun
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>copenhagieni</i>	Winjberg
<i>Panama</i>	<i>panama</i>	CZ 214 K
<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	Pomona
<i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i>	Salinem
<i>Semarangia</i>	<i>patoc</i>	Patoc I

Les anticorps agglutinants sont détectables entre le 8^e et le 10^e jour de l'infection. L'obtention en MAT d'un titre au 1/100 vis-à-vis d'un ou plusieurs antigènes constitue une réaction positive au seuil mais ne permet en aucun cas d'affirmer qu'il s'agit d'une leptospirose sérologiquement confirmée. L'examen d'un second sérum 8 à 10 jours plus tard est nécessaire pour mettre en évidence une ascension sérologique avec un titre supérieur ou égal d'au moins deux dilutions (une dilution d'écart n'étant pas significative) en cas de leptospirose évolutive. De même, une séroconversion sur deux prélèvements séquentiels peut être observée à partir d'un premier sérum précoce négatif en MAT. Les réactions croisées, habituelles sur un sérum trop précoce, ont tendance à disparaître en phase de convalescence. À ce stade, l'antigène donnant le titre le plus élevé correspond habituellement au sérovar en cause. Enfin, il faut signaler le rôle des antibiothérapies précoces qui ont été décrites comme pouvant minimiser voire décapiter la réponse humorale.

4.2.2. ELISA

L'ELISA est une technique sérologique qui peut présenter de multiples variantes quant à la nature de l'antigène utilisé et aux réactifs mis en

œuvre dans la réalisation du test [23]. L'antigène choisi est un extrait formolé et thermolysé habituellement de la souche saprophyte Patoc I, mais d'autres sérovars peuvent être utilisés. Un délai de réponse identique à celui du MAT (voire plus court si utilisation d'un conjugué anti-IgM) est généralement observé. En revanche, il se négative plus rapidement, environ deux mois après le début de la maladie. Ce test ELISA trouve tout son intérêt dans le diagnostic différentiel entre leptospirose évolutive et leptospirose ancienne dans la mesure où les anticorps séquellaires des infections ou des immunisations antérieures ne sont pas décelés. C'est une technique sensible et spécifique qui demeure essentiellement une réaction sérologique de dépistage comparativement au test de microagglutination microscopique qui demeure la technique de référence. Cependant, le test ELISA est négatif dans un fort pourcentage des leptospiroses à *Grippityphosa*, et dans une moindre mesure des leptospiroses à *Australis* [23]. L'utilisation comme antigènes de plusieurs souches de leptospires appartenant à des sérogroupes différents améliore sensiblement les résultats comparativement à l'utilisation d'un antigène consensus de la souche aquicole Patoc I, mais rend le test plus long et plus coûteux.

4.2.3. Test sur bandelette (dipstick assay)

Les tests unitaires sur bandelette de nitrocellulose (dipstick-assay) reprennent les étapes de l'ELISA adaptées à un support solide selon le principe du Dot-Blot. Lorsque l'antigène est présenté à plusieurs concentrations sur la bandelette, une réponse semi-quantitative est possible. Ces réactifs donnent des résultats satisfaisants pour un dépistage, mais de spécificité et sensibilité moindres que les ELISA en phase liquide [7, 27]. L'intérêt de ces réactifs repose dans leur facilité de mise en œuvre et l'utilisation possible au coup par coup. Ils restent en revanche d'un coût élevé qui limite leur large diffusion.

4.2.4. Remarques sur l'utilisation du test TR

Historiquement, un test de macro-agglutination sur lame utilisant l'antigène TR (pour thermo-résistant : culture chauffée de *L. Patoc*) fut l'un des premiers proposé pour le dépistage sérologique de la leptospirose. S'il est très simple et très rapide à mettre en œuvre, les agglutinations obtenues sont le plus souvent difficiles à lire et son manque de spécificité et de sensibilité doit définitivement en interdire son usage comme test unique de dépistage, malgré sa disponibilité chez certains fournisseurs [2].

4.3. Diagnostic moléculaire : apport de l'amplification génique

S'il constitue un indéniable outil épidémiologique, l'isolement des leptospires à partir des échantillons biologiques (sérum, urines, LCR), n'en demeure pas moins une technique de moins en moins requise par le praticien du fait du rendu tardif des résultats alors qu'une décision thérapeutique peut s'imposer précocement en cas de forme grave. En effet, la croissance des leptospires est lente, le rendement des cultures est faible et l'absence de caractère sélectif du milieu EMJH ne permet pas de s'affranchir des contaminations bactériennes, nombreuses lorsqu'il s'agit d'urines. Le diagnostic sérologique ne peut se faire lui aussi que tardivement dans le déroulement de la maladie, environ à partir du huitième jour suivant les manifestations des premiers signes cliniques.

Dans les premiers jours de la maladie, le praticien se retrouve alors avec bien peu d'examen biologiques utilisables pour le diagnostic spécifique de la leptospirose, s'il s'en tient uniquement aux techniques traditionnelles de référence. C'est dans cette phase critique, caractérisée par une absence de symptômes pathognomoniques que le diagnostic différentiel avec d'autres pathologies infectieuses, particulièrement en zone tropicale, est essentiel pour l'instauration rapide d'une antibiothérapie.

Une technique de diagnostic faisant appel à la réaction d'amplification génique (PCR) a été mise au point à l'Institut Pasteur à Paris [14] puis développée et validée à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie en zone d'endémie [15, 16]. Ces travaux ont permis d'établir une technique reposant sur la détection de l'ADN des leptospires et applicable au diagnostic précoce, sensible et spécifique de la leptospirose. L'amplification d'une séquence de 331 pb du gène *rrs* spécifique du genre *Leptospira* est couplée soit à une hybridation avec une sonde froide marquée à la digoxigénine, soit à une seconde PCR avec des amorces internes (nested-PCR). Ceci permet l'obtention en 24 à 36 heures d'une réponse positive dès l'apparition des premiers symptômes [16]. Cette précocité permet non seulement un diagnostic différentiel avec d'autres pathologies infectieuses présentant les mêmes signes cliniques initiaux mais aussi une prise en charge thérapeutique adaptée. Un signal PCR est en moyenne détectable dans le sang jusqu'à 12 jours après l'apparition des symptômes et parfois au-delà dans les urines.

Cette technique est strictement complémentaire des méthodes traditionnelles de référence (bactériologie, sérologie) et doit être judicieusement utilisée en fonction de l'évolution chronologique de la maladie. Des PCR successives sur des prélèvements sanguins séquentiels peuvent être effectuées pour suivre l'évolution de la charge en leptospires jusqu'à négativation du signal. Elles permettent d'optimiser l'antibiothérapie (molécule utilisée, dose, durée) surtout chez les patients pour lesquels une leptospirose [16] ou une leptospirose prolongée [1] peuvent être observées. L'utilisation de cette technique a permis de mieux appréhender certaines formes cliniques de la leptospirose comme les atteintes neurologiques. Ainsi, à l'opposé des formes méningées qui évoluent pendant la phase de leptospirose, d'autres atteintes périphériques (polynévrite, radiculite, syndrome de Guillain Barré, atteintes de nerfs crâniens) ou centrales (encéphalite, myélite, accident vasculaire cérébral) peuvent survenir pendant la phase de convalescence. L'utilisation de la PCR a également permis de démontrer que ces dernières atteintes sont souvent sous-évaluées dans le cadre du diagnostic différentiel avec les étiologies habituellement rencontrées (G. Angibaud, communication personnelle). La même conclusion s'applique aux atteintes oculaires tardives de type uvéites unilatérale ou bilatérale [13, 15]. L'apport du diagnostic biologique de ces formes tardives par l'amplification génique a permis de mieux apprécier l'importance réelle de ces complications auparavant peu investiguées (évolution vers la chorioretinite voire la rétinite nécrosante).

Toutefois, même si un résultat peut être rendu relativement rapidement au clinicien, un délai de 24 à 36 heures reste encore trop long lorsque coexistent en même temps dengue, grippe, paludisme d'importation ou tout syndrome fébrile d'origine inconnue. Ce délai devrait encore être raccourci avec l'utilisation de la PCR en temps réel (Real Time PCR) qui permet de donner un résultat quantitatif. L'Institut Pasteur travaille actuellement sur le transfert du diagnostic moléculaire de la leptospirose de la PCR traditionnelle vers la PCR en temps réel (travaux non encore publiés). L'extraction de l'ADN à partir de 200 µl de sérum à l'aide d'un kit commercial puis l'amplification d'une séquence spécifique des leptospires pathogènes sur un appareil de type Light-Cycler (Roche™) sont réalisés en 3 heures au laboratoire.

5. Antibiothérapie

Depuis plusieurs décennies, une controverse demeure au sujet du traitement des leptospiroses par antibiotiques du fait du peu d'études contrôlées disponibles. Les quelques travaux menés sur la sensibilité *in vitro* de *Leptospira* spp. ont démontré une grande efficacité de la plupart des molécules couramment utilisées [8]. Les CMI les plus basses ont été obtenues avec l'ampicilline, la pénicilline, la tétracycline et la ciprofloxacine.

Il est nécessaire de considérer certaines données qui ont permis d'appréhender la physiopathologie de cette zoonose sous un jour nouveau. En effet, l'utilisation de la PCR pour suivre l'efficacité de l'antibiothérapie « standard » [9] a mis en évidence une détection des leptospires jusqu'à près d'un an dans les urines [1] et 40 jours dans le sang [16]. Dans un modèle expérimental (hamster), des leptospires ont été observés en position intercellulaire dans le foie avec une induction de l'apoptose hépatocytaire [19]. Dans un autre modèle cellulaire *in vitro* (cellules rénales et macrophages), une technique de double-fluorescence a permis l'observation de leptospires en position intracellulaire [18]. Les résultats précédents soulignent la nécessité d'utiliser des antibiotiques dont la pharmacodynamie et la pharmacocinétique leur permettent d'atteindre les leptospires localisés dans des sites où ils sont relativement protégés des effecteurs du système immunitaire de l'hôte. Une étude *in vivo* chez le hamster infecté par une souche virulente de leptospires et traité avec de l'ampicilline, de la doxycycline ou de l'ofloxacine a démontré une meilleure efficacité de la doxycycline, molécule présentant un net tropisme intracellulaire [31, 32]. Chez l'homme, la question de l'utilisation hebdomadaire de la doxycycline en prévention a été posée récemment dans la revue *Prescrire* [28]. Si une étude versus placebo a été menée chez des militaires, l'utilisation d'une telle antibio-prophylaxie dans le grand public ne nous semble raisonnablement pas justifiée. In fine, l'ensemble des données précédemment exposées devrait permettre aux cliniciens de modifier leur conduite à tenir face à une leptospirose, en ne se limitant pas aux antibiotiques conventionnels afin d'élaborer de meilleures stratégies thérapeutiques.

6. La vaccination, une mesure de prévention ?

Tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, seuls les vaccins inactivés composés de corps bactériens entiers traités par le formol sont utilisés. Ils procurent une protection limitée au sérotype tout comme les anticorps circulants chez les sujets convalescents assurent une protection plus ou moins spécifique du sérotype de la souche infectante [35]. En France, la vaccination humaine instaurée en 1975 s'adressait d'abord aux égoutiers parisiens, population à risque surexposée quotidiennement aux rats [35]. Il s'agit d'un vaccin monovalent obtenu à partir du sérum icterohaemorrhagiae majoritairement rencontré chez le rat. Si ce vaccin a fait la preuve de son efficacité chez l'adulte dans ce contexte épidémiologique très restreint [35], ceci ne justifie en aucune façon son utilisation généralisée; ses indications en demeurent donc limitées. De plus, la protection conférée reste de courte durée et des rappels sont nécessaires tous les deux ans [35]. Le développement de nouvelles stratégies vaccinales doit prendre en compte les résultats des études d'épidémiologie moléculaire lorsque le niveau d'hétérogénéité et éventuellement la nature clonale des souches impliquées est peu connue. Le développement d'un vaccin efficace en terme de protection tant pour l'homme que pour l'animal reste donc à l'ordre du jour.

7. Au quotidien, les méthodes de protection

Les méthodes de protection comme le port de gants, bottes et lunettes sont applicables de façon réaliste pour certaines catégories professionnelles à risques (égoutiers, personnels des abattoirs). Cette recommandation n'est pas envisageable pour le grand public chez qui le risque est méconnu, mais néanmoins omniprésent en particulier dans l'environnement tropical. L'exemple de la Nouvelle-Calédonie est remar-

quable et rend bien compte de la difficulté de faire passer certains messages de prévention. Dans son ensemble, la population est bien informée du rôle de vecteur de la dengue joué par certains moustiques grâce à des campagnes d'informations régulièrement relayées par les différents média audiovisuels. S'il est relativement facile de repérer et éliminer ces moustiques autour d'une habitation, la susceptibilité humaine individuelle est différente lorsqu'il faut parler de leptospirose et donc de rats. Ce petit rongeur porte l'image d'un animal « sale », véhicule d'épidémies diverses. Et il est bien connu que les rats viennent du voisin, sa propre habitation en étant toujours dépourvue ! Trop de personnes pensent qu'il y a plus de rats en dehors de Nouméa, ville à l'urbanisation rapide et parfois non contrôlée, alors qu'il s'agit de l'inverse : là où se concentre l'homme, se concentrent les rats. D'où la difficulté de faire respecter certaines recommandations de base comme ne pas constituer de décharges sauvages, disposer la nourriture à l'intérieur des habitations dans des zones fermées, ne pas marcher pieds nus où en « claquettes » dans les zones humides, ou encore éviter de se baigner en eau douce dans les zones à risque (périphé-

rie ou aval des zones habitées, ou d'élevage bovin intensif) surtout en présence de plaies cutanées.

8. Conclusion

La leptospirose est une maladie infectieuse majeure en Nouvelle-Calédonie, souvent sous-estimée car méconnue des professionnels de santé qu'il s'agisse des médecins, des praticiens hospitaliers et des biologistes. Connue en zone tempérée comme maladie essentiellement professionnelle, elle est en zone intertropicale une pathologie émergente où ré-émergente dont le faciès épidémiologique est multiple. Si les tests de laboratoire tendent actuellement à se diversifier, et évoluent en spécificité, en sensibilité et en rapidité d'exécution, ils restent néanmoins le plus souvent confiés à des laboratoires spécialisés. Enfin, sa prise en charge thérapeutique est facile par les antibiotiques, si le traitement est instauré précocement de façon pré-symptomatique, à condition donc que le diagnostic ait été évoqué...

Références

- [1] Bal A.E., Gravekamp C., Hartskeerl R.A., De Meza-Brewster J., Korver H., Terpstra W.J., Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis, *J. Clin. Microbiol.* 32 (1994) 1894-1898.
- [2] Berlioz-Arthaud A., Evaluation of reagents for the serological diagnosis of leptospirosis, *Inform'Action (PPHSN quarterly bulletin, <http://www.spc.int/phs>)* 13 (2002) 19-21.
- [3] Berlioz-Arthaud A., Kiedrzyński T., Survey on leptospirosis in the Pacific, *Inform'Action (PPHSN quarterly bulletin, <http://www.spc.int/phs>)* 16 (2003) 5-8.
- [4] Bouree P., Benoist L., Perolat P., Etude épidémiologique et clinique de la leptospirose à Bourail (Nouvelle-Calédonie), *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 92 (1999) 51-55.
- [5] Bovet P., Yersin C., Merien F., Davis C.E., Perolat P., Factors associated with clinical leptospirosis: a population-based case-control study in the Seychelles (Indian Ocean), *Int. J. Epidemiol.* 28 (1999) 583-590.
- [6] Crippen P., Follow-up on febrile illness in Kosrae state, Federated States of Micronesia, message posted on Pacnet mailing list (2000).
- [7] Effler P., Bogard A., Domen H.Y., Katz A.R., Higa H.Y., Sasaki D.M., Evaluation of eight screening tests for acute leptospirosis in Hawaii, *J. Clin. Microbiol.* 40 (2002) 1464-1469.
- [8] Faine S., Adler B., Bolin C., Perolat P., *Leptospira* and leptospirosis, 2nd ed., *MediSci*, Armadale, Australia (1999).
- [9] Farr R.W., Leptospirosis, *Clin. Infect. Dis.* 21 (1995) 1-6.
- [10] Gendron Y., Prieur J., Gaufroy X., Gras C., Leptospirose en Polynésie Française : à propos de 120 cas, *Méd. Trop.* 52 (1992) 21-27.
- [11] Houpiquian P., Pérolat P., Baranton G., Brouqui P., *Leptospiroses*. *Encycl. Med. Chir.* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris - France), *Maladies infectieuses*, 8039 Q10 (2002).
- [12] Katz A.R., Ansdell V.E., Effler P.V., Middleton C.R., Sasaki D.M., Leptospirosis in Hawaii, 1974-1998: epidemiologic analysis of 353 laboratory-confirmed cases, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66 (2002) 61-70.
- [13] Mancel E., Merien F., Pesenti L., Salino D., Angibaud G., Perolat P., Clinical aspects of ocular leptospirosis in New Caledonia (South Pacific), *Aust. N. Z. J. Ophthalmol.* 27 (1999) 380-386.
- [14] Merien F., Amouriaux P., Perolat P., Baranton G., Saint Girons I., Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples, *J. Clin. Microbiol.* 30 (1992) 2219-2224.
- [15] Merien F., Perolat P., Mancel E., Persan D., Baranton G., Detection of *Leptospira* DNA by polymerase chain reaction in aqueous humor of a patient with unilateral uveitis, *J. Infect. Dis.* 168 (1993) 1335-1336.
- [16] Merien F., Baranton G., Perolat P., Comparison of polymerase chain reaction with microagglutination test and culture for diagnosis of leptospirosis, *J. Infect. Dis.* 172 (1995) 281-285.
- [17] Merien F., Perolat P., Public health importance of human leptospirosis in the South Pacific: a five-year study in New Caledonia, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55 (1996) 174-178.
- [18] Merien F., Baranton G., Perolat P., Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence, *Infect. Immun.* 65 (1997) 729-738.
- [19] Merien F., Truccolo J., Rougier Y., Baranton G., Perolat P., In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae, *FEMS Microbiol. Lett.* 169 (1998) 95-102.
- [20] O'leary M., Outbreak in Kosrae. Message posted on PacNet Mailing List (2000).
- [21] Perolat P., Reeve P.A., First evidence of leptospirosis in Vanuatu, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 86 (1992) 557-559.
- [22] Pineda M., Leptospirosis in Palau, *Inform'Action (PPHSN quarterly bulletin, <http://www.spc.int/phs>)* 8 (2001) 9-11.
- [23] Postic D., Merien F., Perolat P., Baranton G., Diagnostic biologique leptospirose-borréliose de Lyme, Série "Méthodes de Laboratoire", Collection des Laboratoires de Référence et d'Expertise, Institut Pasteur, Paris (2000).
- [24] Rougier Y., Mailloux M., Bourget D., Davy D., Surveillance immunologique de la leptospirose aux Iles Marquises, *Med. Trop.* 44 (1984) 23-25.
- [25] Saketa S., Leptospirosis outbreak and response : experience in Fiji, Epinet 1 workshop, Guam, (2001).
- [26] Sasaki D.M., Pang L., Minette H.P., Wakida C.K., Fujimoto W.J., Manea S.J., Kunioka R., Middleton C.R., Active surveillance and risk factors for leptospirosis in Hawaii, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 48 (1993) 35-43.
- [27] Smits H.L., Ananyina Y.V., Chereschsky A., Dancel L., Lai-A-Fat R.F., Chee H.D., Levett P.N., Masuzawa T., Yanagihara Y., Muthusethupathi M.A., Sanders E.J., Sasaki D.M., Domen H., Yersin C., Aye T., Bragg S.L., Gussenhoven G.C., Goris M.G., Terpstra W.J., Hartskeerl R.A., International multicenter evaluation of the clinical utility of a dipstick assay for detection of *Leptospira*-specific immunoglobulin M antibodies in human serum specimens, *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999) 2904-2909.
- [28] Synthèse élaborée collectivement par la rédaction, La leptospirose : ne pas exposer les plaies aux eaux et animaux contaminés, *Rev. Prescrire* 24 (2004) 452-455.
- [29] Terry J., Trent M., Bartlett M., A cluster of leptospirosis among abattoir workers, *Commun. Dis. Intell.* 24 (2000) 158-160.
- [30] Thornley C.N., Baker M.G., Weinstein P., Maas E.W., Changing epidemiology of human leptospirosis in New Zealand, *Epidemiol. Infect.* 128 (2002) 29-36.
- [31] Truccolo J., Serais O., Merien F., Perolat P., Following the course of human leptospirosis: evidence of a critical threshold for the vital prognosis using a quantitative PCR assay, *FEMS Microbiol. Lett.* 204 (2001) 317-321.
- [32] Truccolo J., Charavay F., Merien F., Perolat P., Quantitative PCR assay to evaluate ampicillin, ofloxacin, and doxycycline for treatment of experimental leptospirosis, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46 (2002) 848-853.
- [33] Villagomez J., Brostrom R., Diaz E., Tagabuel J., Habib F., Leptospirosis in the Northern Mariana Islands, *Inform'Action (PPHSN quarterly bulletin, <http://www.spc.int/phs>)* 10 (2001) 4-7.
- [34] Yersin C., Bovet P., Merien F., Wong T., Panowsky J., Perolat P., Human leptospirosis in the Seychelles (Indian Ocean): a population-based study, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 59 (1998) 933-940.
- [35] World Health Organization, Human leptospirosis : guidance for diagnosis, surveillance and control, WHO, Genève (2003) 1-109.