



Rapport annuel d'activité

2014

**Centre National de Référence
de la Leptospirose**

**Année d'exercice
2013**

Responsables : M. Picardeau
P. Bourhy

Technicien(ne)s : D. Collot / F. Zinini
S. Brémont
A. Landier

Secrétaire : S. Murguet

Table des matières

	<i>Numéro de page</i>
Résumé	1
1 - Missions et organisation du CNR	2 à 3
2 - Activités d'expertises	4
2.1 Évolutions des techniques au cours de l'année 2013	4
2.2 Activités d'expertise de l'année 2013	4 à 6
3 - Activités de surveillance	7
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	7 à 18
3.2 Participation aux réseaux de surveillance	18
3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	18 à 19
4 - Alerte	20
5 - Activités d'information, de formation et de conseil	21 à 22
6 - Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	22
6.1 Activités de recherche en cours notamment ceux ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	22
6.2 Les publications et communications réalisées ou prévues en lien avec les activités du CNR	22 à 23
7 - Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux	24
8 - Programme d'activité pour 2014-2015	24 à 25
Annexes	26
Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	27 à 31
Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	32 à 35
Annexe 3 : Bilan de la surveillance de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie	
Annexe 4 : Rapport de l'activité diagnostic « Leptospirose » VetAgro Sup Campus Vétérinaire (ENVL)	

Nous remercions :

Dr A.S. Le Guern et Dr S. Behillil (Institut Pasteur de Paris)
D. Van Cauteren (InVS)
Dr C. Delmas (CHU de Toulouse)
Dr M. Brun (Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier)
Dr L. Collet (CH de Mayotte, Mamoudzou)
Dr. H.P. Nallet (Direction de la santé, Papeete)
Dr G.A. Denoyel et O. Schaal (Laboratoire Biomnis, Lyon)
Dr J.M. Estavoyer (CHRU de Besançon)
Dr A.C. Gourinat et Dr C. Goarant (Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, Nouméa)
Dr J.P. Grangeon (Direction des affaires sanitaires et sociales de la Nouvelle-Calédonie)
Dr A. Berlioz-Arthaud (Institut Pasteur de la Guyane)
Dr C. Herrmann (CHU Les Abymes, Pointe-à-Pitre)
Dr R. Théodose, Dr C. Olive et Dr P. Hochedez (CHU de Fort de France)
Dr M.C. Jaffar-Bandjee (CHD Félix Guyon, Saint Denis de la Réunion)
Dr A. Kodjo (Campus vétérinaire de Lyon, Marcy l'Etoile)
Dr A. Léon (Laboratoire départemental Frank Duncombe, Caen)
Dr F. Pagès (ARS Océan Indien)
Dr A. Michault (GH Sud Réunion, Saint Pierre de la Réunion)
Dr S. Trombert-Paolantoni (Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise)

pour leurs précieuses collaborations pour l'élaboration du rapport annuel

Résumé

Au cours de l'année 2013, le CNR qui est aussi un Centre Collaborateur de l'OMS de la Leptospirose a reçu plus de 4500 échantillons pour diagnostic sérologique ou identification bactérienne.

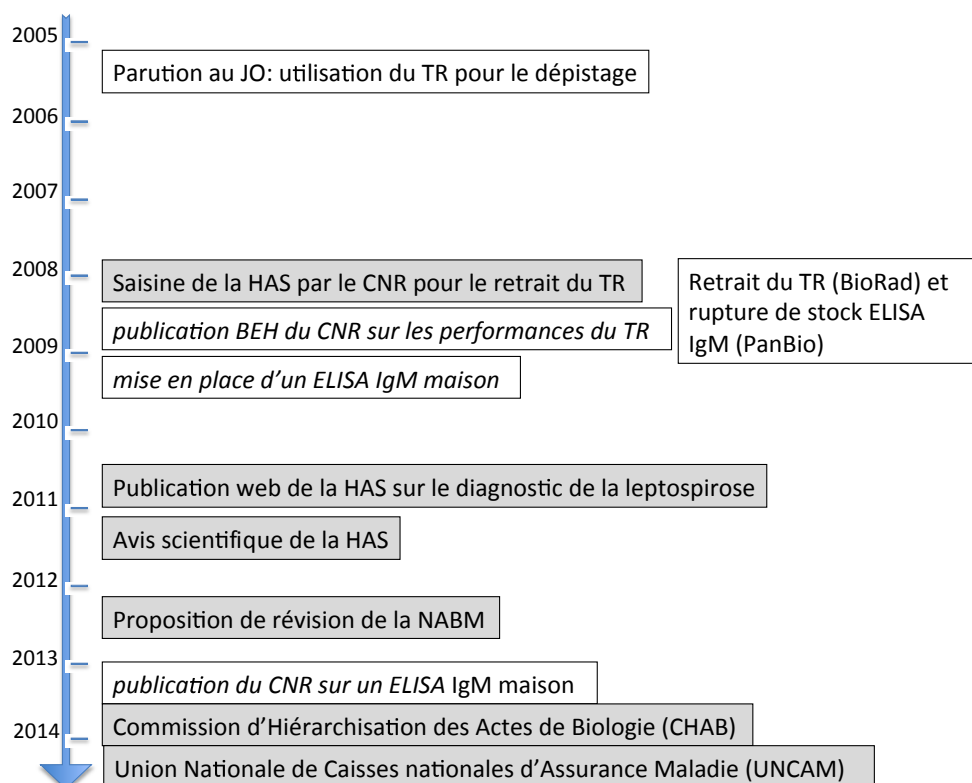
Pour l'année 2013, un total de 385 cas de leptospirose a été recensé en Métropole et 618 cas dans les régions Outre-Mer (Martinique, Guadeloupe, Guyane, Polynésie, Mayotte, La Réunion, Nouvelle Calédonie). L'incidence estimée de la leptospirose est de 0,60 / 100000 habitants en Métropole, soit la plus forte incidence enregistrée en Métropole au cours de ces dix dernières années. Comme les années précédentes, le sérotype Icterohaemorrhagiae est le principal sérotype retrouvé chez les cas diagnostiqués par la sérologie par micro-agglutination (MAT). Pour ce qui est des départements et territoires ultramarins, l'incidence est de 20 (Guyane, La Réunion) à plus de 50 fois (Polynésie Française, Mayotte, Guadeloupe, Martinique) plus élevée qu'en Métropole. On retrouve le caractère saisonnier de la leptospirose avec l'apparition de pics épidémiques lors de la saison des pluies ou de phénomènes climatiques inhabituels tels que les ouragans. Le sérotype Icterohaemorrhagiae est dominant dans la plupart des régions mais on retrouvera, exceptionnellement, des particularités locales comme à Mayotte. Dans l'ensemble, on notera une sous-estimation du nombre de cas, largement dépendant du système de surveillance mis en place et de la sensibilisation des médecins locaux à la maladie.

1 Missions et organisation du CNR

Le Centre National de Référence (CNR) de la leptospirose, qui est aussi un Centre Collaborateur de l'OMS, contribue à la surveillance épidémiologique de la leptospirose humaine en France métropolitaine et d'outre-mer. Il assure l'alerte en cas de recrudescence inhabituelle ou d'apparition de cas groupés. Il a également une mission d'expertise en garantissant l'identification des souches isolées en pathologie humaine, en développant des techniques permettant d'améliorer à la fois le diagnostic de la maladie et le typage des souches.

En 2013, la loi portant sur la réforme de la biologie médicale a été promulguée le 31 mai. Le texte de loi indique notamment que les responsables et adjoints des CNR peuvent, en fonction de leur expérience professionnelle et de l'avis de la commission, exercer la biologie médicale c'est-à-dire signer les résultats. La commission de biologie médicale mentionnée dans le texte de loi, qui doit statuer sur les dossiers des responsables et adjoints n'est toujours pas mise en place à ce jour. Cependant, en accord avec l'Institut Pasteur et après en avoir informé la DGS, le responsable et adjoint signent les résultats de sérologie humaine de leptospirose depuis septembre 2013 (les résultats étaient auparavant signés par des biologistes extérieurs au CNR).

Figure 1: Changement de la NABM pour le diagnostic de la leptospirose.



Depuis le changement de la nomenclature des actes de biologie médicale pour le diagnostic de la leptospirose en 2005, le test de macroagglutination TR est utilisé en première intention comme test de dépistage. Le test de référence de microagglutination MAT n'est donc pas remboursé s'il est utilisé en première intention (hors nomenclature). Le CNR a montré que les performances de ce test TR n'étaient pas satisfaisantes (Picardeau *et al.* 2008. Impact du changement de nomenclature médicale sur le diagnostic et la surveillance de la leptospirose en France. BEH n°37) et il a saisi la HAS pour le retrait de ce test de la nomenclature en 2008. A la même période, la commercialisation du test TR fut stoppée en raison de problèmes de stabilité du réactif et une procédure dérogatoire provisoire a été mise en place par l'Assurance Maladie pour ne pas s'opposer à la prise en charge du MAT en absence de réalisation du test de dépistage. Le CNR a aussi développé un nouveau test ELISA IgM qui

remplace avantageusement le test TR et permet le diagnostic précoce de la leptospirose (Bourhy et al. 2013. Evaluation of an in-house ELISA using the intermediate species *Leptospira fainei* for diagnosis of leptospirosis. J. Med. Microbiol. 62: 822-827); cet ELISA est utilisé en routine depuis 2009. Depuis le dépôt de notre dossier pour la révision de la nomenclature, la HAS a émis un avis et rédigé un document sur le diagnostic de la leptospirose. Le dossier a ensuite été évalué par la Commission de Hiérarchisation des Actes de Biologie médicale (CHAB) en 2013 et une décision devrait être prise par l'Union Nationale de Caisses nationales d'Assurance Maladie (UNCAM) début 2014 (Figure 1). La PCR et l'ELISA IgM devraient être introduits et remboursés.

Suite au dépôt d'un dossier auprès du COFRAC pour l'accréditation de la technique de microagglutination ou Microscopic Agglutination Test (MAT) à la norme ISO 15189, le CNR de la leptospirose a été audité les 14-17 octobre 2013. Le CNR de la leptospirose et 4 autres CNRs de l'Institut Pasteur et la CIBU ont ainsi obtenu l'accréditation ISO 15189 en mars 2014 sous la dénomination de Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site (LRE-MS).

Depuis janvier 2013, l'InVS a mis en place le transfert régulier et automatisé des résultats biologiques des principaux laboratoires de biologie médicale (CERBA et BIOMNIS) pour 11 maladies, dont la leptospirose. Les données ainsi disponibles tous les mois (et non plus une fois par an, après demande auprès des laboratoires pour la rédaction du rapport annuel, comme cela était le cas avant 2013) devraient permettre une meilleure surveillance épidémiologique. Le transfert régulier de ces données de l'InVS au CNR devrait être mis en place en 2014.

2 Activités d'expertise

2.1 Évolutions des techniques au cours de l'année 2013

- Techniques développées ou en développement

Génotypage par séquençage des régions intergéniques ou Multi spacer sequence typing (MST). Cette technique, qui a déjà été utilisée chez d'autres bactéries pathogènes telles que *Mycobacterium tuberculosis* ou *Borrelia burgdorferi*, a permis d'identifier des spacers chez *L. interrogans* qui après amplification et séquençage permettent de distinguer les souches au niveau du sérovar ou même à l'intérieur d'un sérovar (Zilber et al. 2014. High-resolution typing of *Leptospira interrogans* strains by multispacer sequence typing. J Clin Microbiol.52:564-71).

Un test de diagnostic rapide (TDR) de type immunochromatographique pour la détection des IgM a été mis au point et validé en collaboration avec les équipes de la plateforme 5 de l'Institut Pasteur, l'Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie et notre CNR. L'antigène utilisé et breveté est le même que celui utilisé pour notre ELISA IgM maison à savoir *L. fainei*. Ces bandelettes prototypes ont donné des résultats très encourageants avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 94%. (Goarant et al. 2013, Sensitivity and specificity of a new DipStick assay for the serological diagnosis of human leptospirosis. PLoS Negl Trop Dis 7: e2289). Une étude à plus grande échelle est en cours avec une production des TDR à l'Institut Pasteur de Madagascar. Le but de cette étude est la validation de ce test dans plusieurs laboratoires répartis à travers le monde, afin de mettre à disposition un test fiable utilisable facilement dans les pays en voie de développement où le test de référence n'est pas disponible.

- Techniques transférées vers d'autres laboratoires

L'ELISA IgM maison que nous avons développé (Bourhy et al. 2013. Evaluation of an in-house ELISA using the intermediate species *Leptospira fainei* for diagnosis of leptospirosis. J Med Microbiol.62:822-7 a été transféré dans de nombreux laboratoires:

- Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine - ULB (Bruxelles, Belgique)
- CHU de Fort de France
- Institut Pasteur de Madagascar
- Institut Pasteur d'Alger
- Institut Pasteur de Casablanca
- Universidad Federal Fluminense (Rio de Janeiro, Brésil)

2.2 Activités d'expertise de l'année 2013

Typage phénotypique et génotypique (52 souches)

Métropole (3 souches)

CHRU de Tours, hôpital Bretonneau

2 souches de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageneri

CHU de Reims, hôpital R. Debré

1 souche de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageneri

Guadeloupe (9 souches)

CHU de Pointe à Pitre

2 souches de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageneri génotype A

7 souches de *L. borgpetersenii* sérovar Castellonis / Arborea (sérogroupe Ballum) génotype C

Martinique (14 souches)

CHU de Fort-de-France

6 souches *L. borgpetersenii* sérovar Castellonis / Arborea (séro groupe Ballum) génotype C

4 souches *L. santarosai* séro groupe Celledoni génotype I

2 souches de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni génotype A

1 souche de *L. borgpetersenii* séro groupe Tarrasovi génotype D

1 souche de *L. borgpetersenii* séro groupe Autumnalis

La Réunion (1 souche)

CHR de La Réunion- CH F. Guyon

1 souche de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni

Mayotte (25 souches)

CH Mamoudzou

12 souches de *L. borgpetersenii* séro groupe Mini génotype ST1

3 souches de *L. kirschneri* séro groupe Mini génotype ST

3 souches de *L. interrogans* séro groupe Pyrogenes génotype ST2

3 souches de *L. borgpetersenii* –like séro groupe Mini génotype ST7

1 souche de *L. borgpetersenii* –like génotype ST7 (séro groupe indéterminé)

2 souches de *L. borgpetersenii* séro groupe Pomona génotype ST10

1 souche de *L. kirschneri* séro groupe Grippytyphosa génotype ST11

Typage génotypique (37 ADNs extraits de prélèvements sanguins)

Métropole (3 ADNs)

Centre Biologique Vaugirard

1 ADN de *L. santarosai* (séro groupe/sérovar indéterminé) / cas d'importation

Hôpital du pays d'Autan (Castres)

1 ADN de *L. kirschneri* (séro groupe/sérovar indéterminé)

CH R. Dubos (Cergy-Pontoise)

1 ADN de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni

Martinique (17 ADNs)

CHU de Fort-de-France

3 ADNs *L. borgpetersenii* sérovar Castellonis / Arborea (séro groupe Ballum) génotype C

1 ADN de *L. borgpetersenii* séro groupe Tarrasovi génotype D

6 ADNs de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni génotype A

3 ADNs de *L. kirschneri* sérovar Bogvere (séro groupe Icterohaemorrhagiae) génotype B

1 ADN de *L. noguchi* sérovar Bajan (séro groupe Australis) génotype E

2 ADNs de *L. santarosai* séro groupe Celledoni génotype I

1 ADN de *L. santarosai* génotype H (séro groupe indéterminé)

La Réunion (1 ADN)

CHR de La Réunion- CH F. Guyon

1 ADN de *L. interrogans* (séro groupe/sérovar indéterminé)

Polynésie Française (16 ADNs)

CH de Polynésie française

2 ADNs de *L. interrogans* sérovar Bratislava (séro groupe Australis)

7 ADNs de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni

7 ADNs de *L. interrogans* (séro groupe/sérovar indéterminé)

Nombre de souches ou échantillons de matériel biologique issus des collections du CNR distribué.

Dr Alain Michault - CHU de La Réunion
10 souches de leptospires

Dr Zorée Djelouadji -VETAGRO SUP
7 souches de leptospires
8 ADNs de leptospires

Dr. Olive et Dr. Theodose- C.H.U. de Fort de France
2 souches de leptospires
2 ADNs de leptospires

Dr. M. Brun- Hôpital Arnaud de Villeneuve CHU de Montpellier
8 souches de leptospires

Mme Irène Lecuyer- Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie
3 anti-sérums de lapins

Prof. Adriana Calderaro - University Hospital of Parma (Italie)
3 souches de leptospires

Dr. Elsie Wunder - Yale School of Public Health (Etats-Unis)
6 souches de leptospires

Pr. Benoît Jaulhac - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Faculté de Médecine de Strasbourg
20 souches de leptospires

Chris Evelyn Pinto Jimenez - Facultad de Medicina Veterinaria (Pérou)
60 souches de leptospires

Dr. Chantal Roure Sobas - Hôpital de la Croix Rousse Hospices Civils de Lyon
9 souches de leptospires

Prof. Dr. Kwai Lin Thong - University of Malaya (Malaysie)
9 souches de leptospires

Dr Carine Truyens - Faculté de Médecine - ULB (Bruxelles)
2 souches de leptospires
2 anti-sérums de lapins

Michael Marguerie - Laboratoire Frank Duncombe
1 souche de leptospires

M. Merlet - Laboratoire ACSEDIATE Maisons-Alfort
Envois hebdomadaires d'une série de 12 antigènes

Autres expertises

Contrôle de lots de milieu de culture pour leptospires (EMJH) commercialisés par la société Bio-Rad®.

Contrôle de l'identité de la souche rentrant dans la composition du vaccin humain par la société Imaxio.

3 Activités de surveillance

3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

L'activité diagnostique est assurée par :

- Le CNR

Le CNR contribue largement au diagnostic de la maladie par la sérologie et l'identification des cultures. Les prélèvements sont envoyés au CNR directement par les laboratoires privés ou hospitaliers ou sont reçus par l'intermédiaire du laboratoire CERBA. Le laboratoire CERBA effectue un test de dépistage par ELISA IgM (kit Serion) et nous adresse tous les sérums positifs ou douteux pour confirmation ou infirmation du diagnostic par le MAT. En 2013, le CNR a réalisé 4499 analyses sérologiques dont 3813 à partir de sérums humains, le reste concernant des sérologies animales, 1 culture à visée diagnostique, ainsi que 158 souches ou ADNs pour typage. On note une légère baisse des demandes de sérologie humaine (-10%) par rapport à l'année 2012. Cette baisse peut être en partie expliquée par la mise en place d'un test de dépistage au CHU de Pointe-à-Pitre (ELISA IgM). Au contraire, les demandes de sérologie animale ont augmenté de 24%. Il s'agit principalement de sérologies de chiens commandées par la Laboratoire MERIAL. Le diagnostic par PCR n'est pas encore utilisé en routine au CNR mais devrait être mis en place courant 2014. Pour les identifications, on notera une augmentation des demandes de génotypage à partir d'ADNs extraits de prélèvements sanguins.

- Un réseau de partenaires biologistes pratiquant le diagnostic :

En Métropole :

- Toulouse : Laboratoire de Bactériologie-Hygiène du CHU (Dr C. Delmas). 5 cas dépistés en sérologie MAT.

- Montpellier : Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Arnaud de Villeneuve (Dr M. Brun). Sur 188 sérologies MAT réalisées, une s'est avérée positive.

- Lyon/Paris : Laboratoire Biomnis (Dr G.A. Denoyel) : Pour 842 échantillons testés en MAT, 271 positifs en sérologie MAT. Ces chiffres sont à comparer avec les 5645 analyses de sérologies effectuées en 2012, dont 194 positifs. Il semble donc qu'il y ait une sous-estimation du nombre d'analyses effectuées en 2013, probablement due au nouveau système d'extraction automatique des données. Pour la PCR, 17 échantillons positifs sur 383 testés. Le nombre d'échantillons positifs par PCR ou sérologie est stable par rapport à l'année précédente. L'ensemble de ces analyses concerne la métropole mais aussi les territoires d'Outre-Mer.

- Cergy-Pontoise : Laboratoire CERBA (Dr S. Trombert-Paolantoni) : 748 PCR ont été réalisées dont 49 se sont révélées positives. 5104 demandes de sérologies ont été reçues ; parmi celles-ci, 4356 se sont révélées négatives par dépistage des IgM (kit ELISA Serion). Les sérums positifs ou douteux (748) par le test de dépistage ont été envoyés au CNR pour infirmation/confirmation du diagnostic par le MAT. L'ensemble des analyses concerne la métropole mais aussi les territoires d'Outre-Mer.

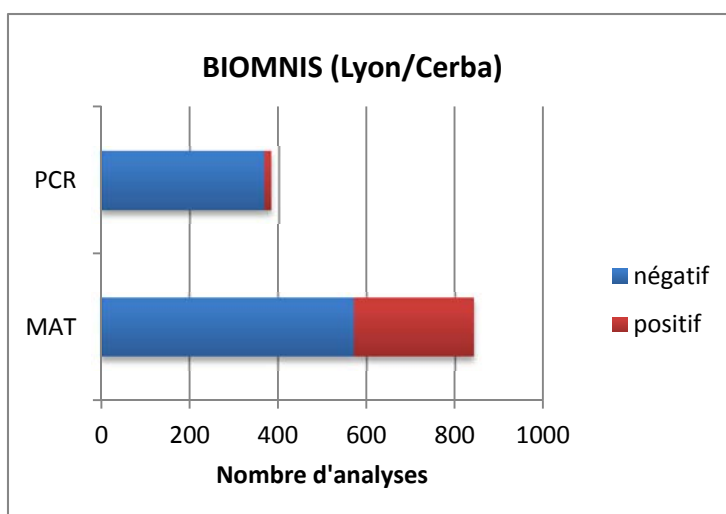
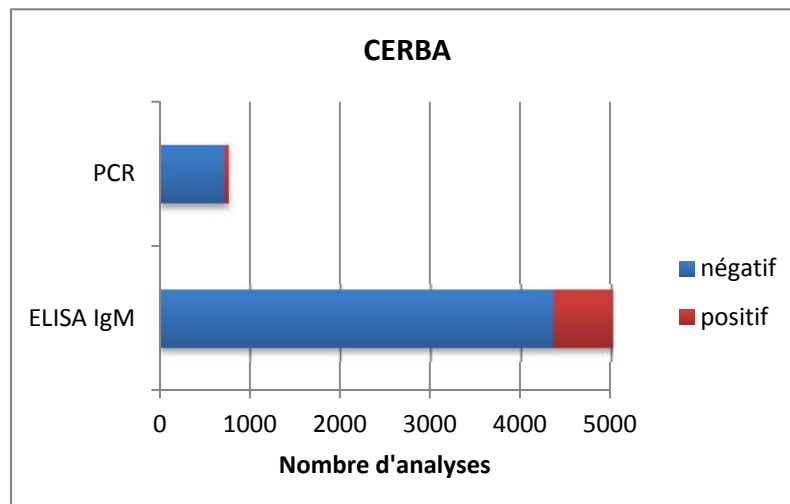
En Outre-mer :

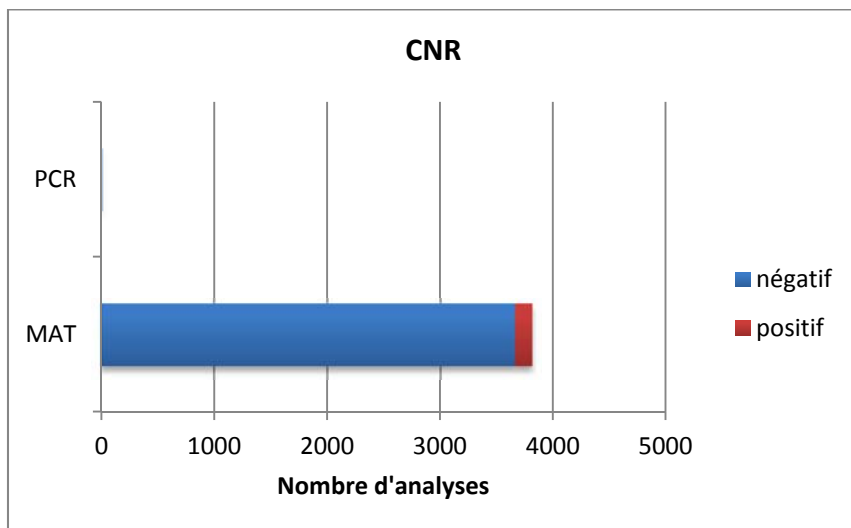
- Guadeloupe. Le CHU de Pointe-à-Pitre (Dr C. Herrmann-Storck) a réalisé 1037 analyses (ELISA IgM et/ou PCR) en 2013: 33 échantillons ont été positifs par PCR et 91 séropositifs par ELISA IgM (kit Serion). Les ELISA positifs ou douteux sont envoyés au CNR pour infirmation/confirmation du diagnostic par le MAT. Le CHU a aussi isolé 9 souches.

- Martinique : le CHU de Fort-de-France a diagnostiqué 54 cas par PCR et a aussi isolé 17 souches.

- Guyane. Institut Pasteur de la Guyane (Dr A. Berlioz-Arthaud): 173 sérologies ont été traitées par ELISA IgM (PanBio) et 30 sérums positifs/douteux ont été envoyés au CNR pour infirmation/confirmation du diagnostic par le MAT.
- Le Centre de Biologie Médicale (Dr A.C. Gourinat) de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) effectue la totalité des diagnostics de Nouvelle-Calédonie (voir rapport DASS-Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie en annexe).
- La Réunion : 40 cas diagnostiqués par PCR et/ou sérologie MAT au Laboratoire du CH Sud Réunion (Dr A. Michault). 18 échantillons positifs par PCR sans et/ou urines à l'Hôpital Félix Guyon CHR de la Réunion (Dr M.C. Jaffar-Bandjee). Le Groupe Hospitalier Est Réunion (15 échantillons positifs) et le Centre hospitalier Gabriel Martin (2 échantillon positifs) participent aussi au diagnostic par PCR.
- Le Centre Hospitalier de Mamoudzou (Mayotte): 148 sérologies ont été envoyées à CERBA et/ou au CNR et 1042 PCR ont été effectuées (Dr L. Collet).
- Polynésie Française : 87 cas diagnostiqués par PCR à l'Institut Territorial Louis Mallardé (Dr. D. Musso) et au CH de Polynésie française (Dr. S. Lastère) et 58 cas probables par ELISA IgM.

Figure 2: Analyses effectuées dans les Laboratoires CERBA, BIOMNIS et au CNR. Ces analyses concernent des prélèvements provenant de la métropole et des DOM-TOM.





- Définition des cas

Dans ce rapport, seuls les cas confirmés ont été pris en compte. Un cas confirmé est défini par la mise en évidence de la bactérie (en culture) ou de son génome (par PCR) ou d'une sérologie positive avec la technique de référence (MAT). Pour la sérologie MAT, le seuil de 1/100 avec au moins un sérotype pathogène est retenu en métropole et dans les régions d'outre-mer (Guyane, Martinique, Guadeloupe, Mayotte) excepté La Réunion et la Nouvelle-Calédonie où le seuil de 1/400 est retenu. La détermination du sérotype est donnée par l'antigène donnant le titre le plus élevé en MAT. Pour la Polynésie française et Mayotte, le diagnostic s'effectue principalement par PCR.

- Analyse de la distribution des cas et analyse des tendances

Pour 2013 en métropole, plus de 80% des cas sont des hommes, l'âge moyen est de 45 ans (8-85 ans).

Comme en 2011, la majorité des cas en métropole ont été diagnostiqués par la sérologie MAT. Les sérotypes Icterohaemorrhagiae, puis Australis et Sejroe sont prédominants (Figures 3 et 4). On notera une augmentation significative du sérotype Canicola. Il faut noter que le sérotype Canicola a principalement été identifié parmi les cas diagnostiqués par le laboratoire Biomnis (52 des 58 cas à Canicola). On remarquera une baisse de 50% du nombre de cas dus au sérotype Australis (2ème sérotype en 2012 après Icterohaemorrhagiae). Pour 18% des cas, le sérotype n'a pu être identifié à cause de réactions croisées ou co-agglutinations. La PCR (laboratoires CERBA et Biomnis) avec 10% des cas totaux a aussi participé au recensement des cas de leptospirose en métropole, sans qu'il soit possible d'identifier le sérovar/sérotype en cause. Enfin, trois cultures ont été isolées en métropole (Figures 3 et 4).

Figure 3: Diagnostic de la leptospirose en Métropole en 2013. La détermination du sérotype est donnée par l'antigène donnant le titre le plus élevé en MAT.

AUS, Australis ; CAN, Canicola ; GT, Grippytyphosa ; ICT, Icterohaemorrhagiae ; HEB, Hebdomadis ; BAL, Ballum ; SEJ, Sejroe ; PAN, Panama ; POM, Pomona ; PYR, Pyrogenes ; DJA, Djasiman ; LOU, Louisiana ; SHA, Sharmin ; BAT, Bataviae ; MIN, Mini ; SAR, Sarmin ; CYN, Cynopteri ; CEL, Celledoni ; AUT, Autumnalis ; AUS, Australis ; JAV, Javanica ; COAGG, co-agglutination ; PCR, PCR.

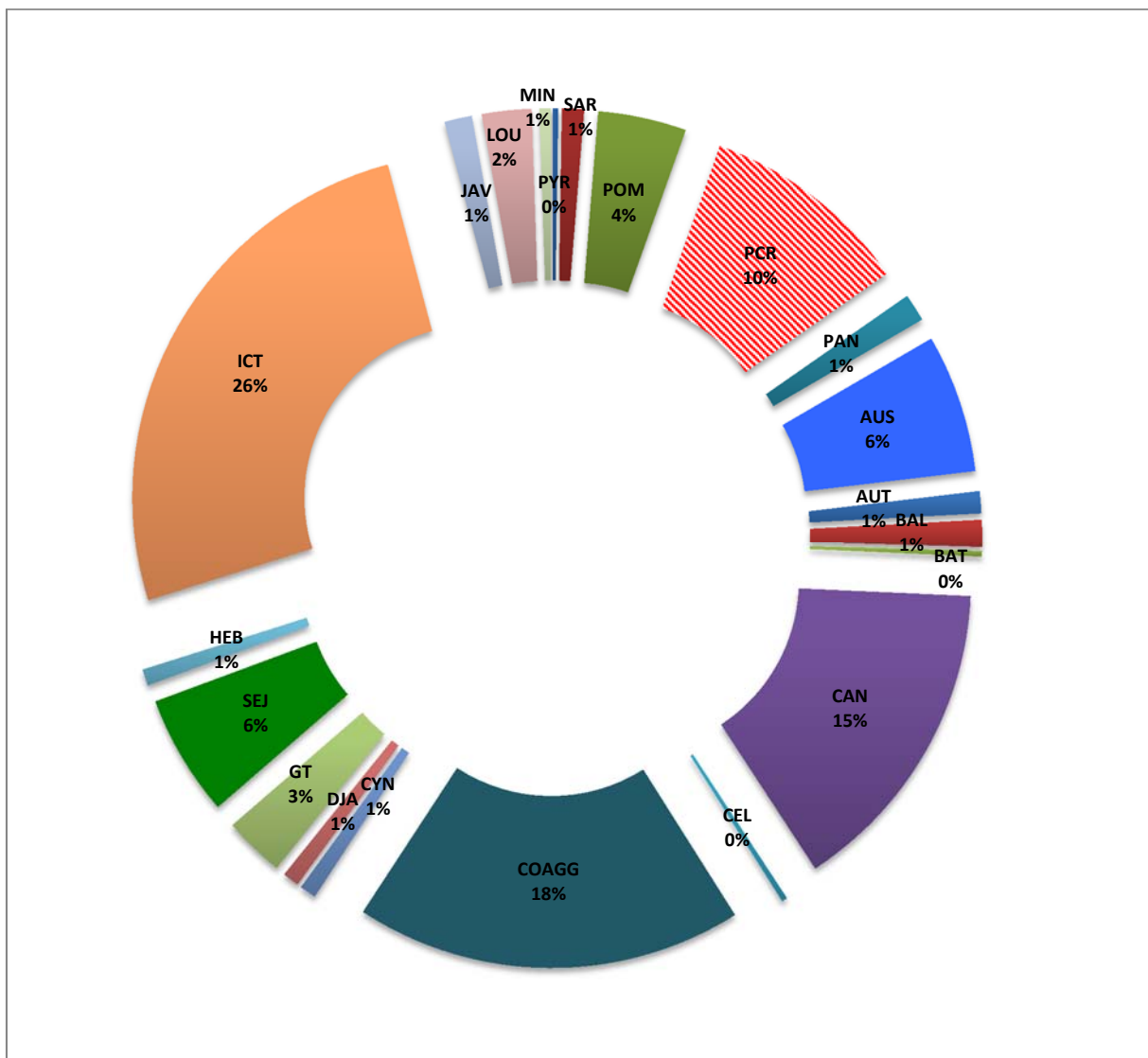


Figure 4: Répartition des principaux sérogroupes identifiés par MAT parmi les cas positifs en 2013. Pour 70 cas séropositifs, le sérotype n'a pu être identifié à cause de réactions croisées ou co-agglutinations.

AUS, Australis ; CAN, Canicola ; GRI, Grippotyphosa ; ICT, Icterohaemorrhagiae ; HEB, Hebdomadis ; BAL, Ballum ; SEJ, Sejroe ; PAN, Panama ; POM, Pomona ; PYR, Pyrogenes ; DJA, Djasiman ; LOU, Louisiana ; SHA, Sharmin ; SHER, Shermani ; BAT, Bataviae ; MIN, Mini ; SAR, Sarmin ; CYN, Cynopteri ; JAV, Javanica ; CEL, Celddoni ; DJA, Djasiman ; AUT, Autumnalis.

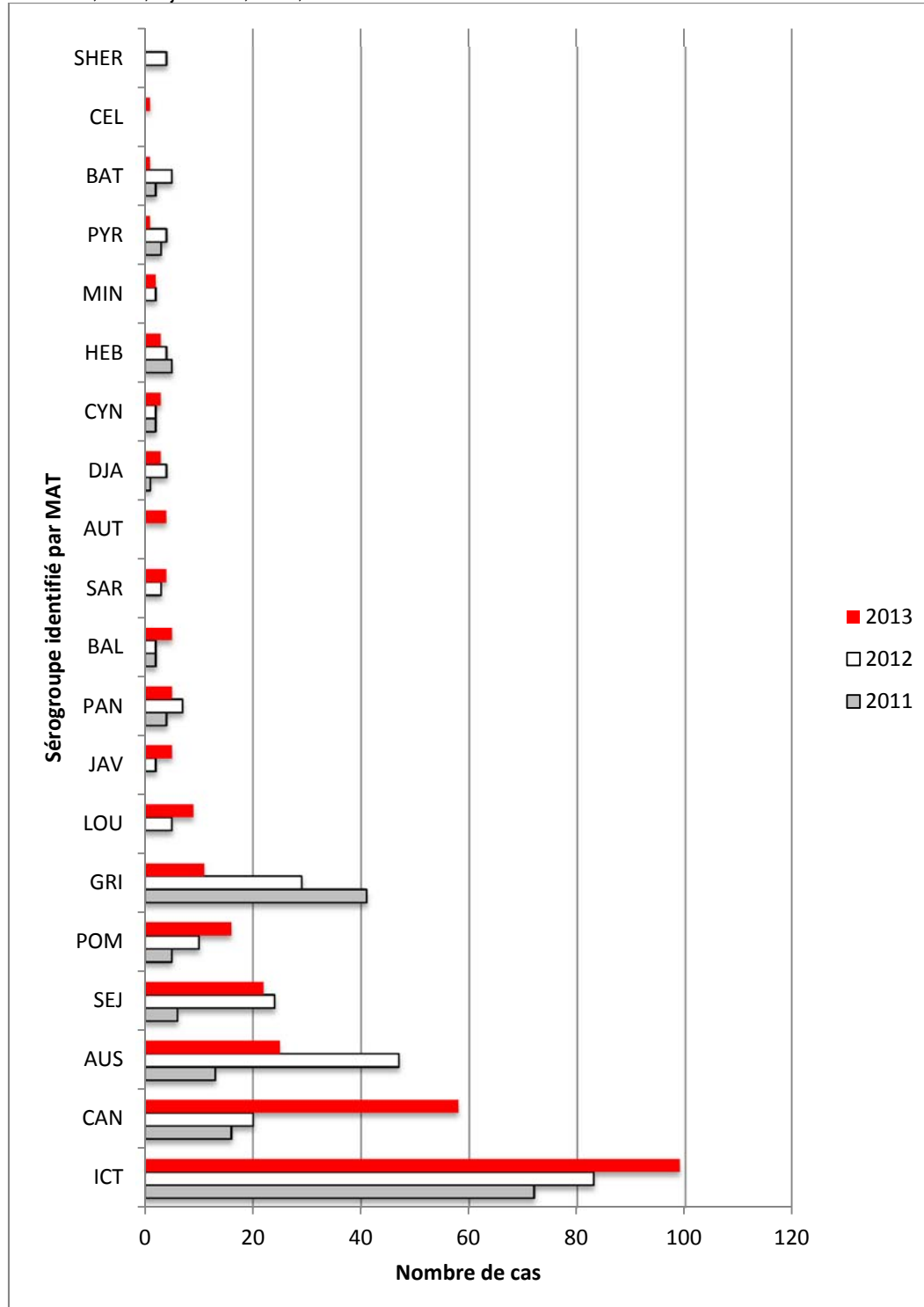


Tableau 1: Répartition du nombre de cas (lieu d'hospitalisation ou de domicile des patients) en France métropolitaine par départements et régions.

Régions	Département	nbre de cas						
		2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Alsace		7	4	3	9	6	10	7
	67 Bas-Rhin	5	3	1	6	3	6	1
	68 Haut-Rhin	2	1	2	3	3	4	6
Aquitaine		21	23	17	18	13	15	23
	24 Dordogne	4	4	2	5	3	2	1
	33 Gironde	6	9	5	3	1	4	7
	40 Landes	1	3	1	6	2	2	1
	47 Lot-et-Garonne	2	2	3	0	1	0	7
64 Pyrénées-Atlantiques	8	5	6	4	6	7	7	
Auvergne		7	8	4	5	3	2	7
	03 Allier	7	3	2	4	0	2	2
	15 Cantal	0	2	0	0	0	0	5
	43 Haute-Loire	0	0	0	0	1	0	0
63 Puy-de-Dôme	0	3	2	1	2	0	0	
Bourgogne		13	16	9	10	8	8	3
	21 Côte-d'Or	2	7	3	3	2	1	0
	58 Nièvre	1	1	1	1	1	1	0
	71 Saône-et-Loire	8	7	3	6	5	4	3
	89 Yonne	2	1	2	0	0	2	0
Bretagne		22	23	11	9	9	37	22
	22 Côtes-d'Armor	7	3	4	5	1	5	5
	29 Finistère	6	2	2	2	0	7	6
	35 Ille-et-Vilaine	5	16	2	2	5	23	6
	56 Morbihan	4	2	3	0	3	2	5
Centre		9	9	8	4	5	14	9
	18 Cher	1	0	2	2	2	0	4
	28 Eure-et-Loir	1	0	0	1	0	3	1
	36 Indre	2	1	0	0	1	1	1
	37 Indre-et-Loire	2	5	4	1	1	4	0
	41 Loir-et-Cher	1	2	2	0	1	5	1
45 Loiret	2	1	0	0	0	1	2	
Champagne-Ardenne		19	14	20	5	1	14	3
	08 Ardennes	8	7	6	0	1	7	1
	10 Aube	2	3	10	1	0	4	0
	51 Marne	9	1	4	3	0	3	2
	52 Haute-Marne	0	3	0	1	0	0	0
Corse		2	2	1	1	0	3	6
	2A Corse-du-Sud	1	1	1	1	0	1	5
	2B Haute-Corse	1	1	0	0	0	2	1
Franche-Comté		20	14	3	20	13	26	44
	25 Doubs	11	7	1	10	4	11	29
	39 Jura	6	4	1	5	2	5	9
	70 Haute-Saône	1	2	0	4	5	7	5
	90 Territoire de Belfort	2	1	1	1	2	3	1
Ile-de-France		45	63	36	38	49	55	37
	75 Paris	5	17	11	22	17	24	20
	77 Seine-et-Marne	1	0	1	1	1	6	1
	78 Yvelines	4	1	1	4	1	2	4
	91 Essonne	1	3	0	2	1	3	3
	92 Hauts-de-Seine	5	3	3	0	1	3	2
	93 Seine-Saint-Denis	1	0	2	3	0	3	0
	94 Val-de-Marne	25	37	16	3	27	12	4
	95 Val-d'Oise	3	2	2	3	1	2	3
Languedoc-Roussillon		6	4	4	5	4	2	9
	11 Aude	0	0	1	0	0	0	0
	30 Gard	0	0	1	0	2	1	1
	34 Hérault	5	4	1	3	1	1	3
	48 Lozère	1	0	0	1	0	0	0
66 Pyrénées-Orientales	0	0	1	1	1	0	5	

(suite tableau)

Régions	Département	nbre de cas						
		2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Limousin		9	5	1	4	3	3	3
	19 Corrèze	3	1	1	3	3	3	2
	23 Creuse	0	2	0	1	0	0	1
	87 Haute-Vienne	6	2	0	0	0	0	0
Lorraine		8	5	14	3	4	3	6
	54 Meurthe-et-Moselle	3	0	9	0	1	0	4
	55 Meuse	1	1	1	0	1	0	0
	57 Moselle	2	3	3	1	0	1	2
	88 Vosges	2	1	1	2	2	2	0
Midi-Pyrénées		10	14	14	10	10	11	19
	09 Ariège	0	0	1	1	1	0	0
	12 Aveyron	0	2	0	1	0	1	2
	31 Haute-Garonne	7	8	8	6	2	8	5
	32 Gers	1	0	0	0	0	1	0
	46 Lot	2	0	1	1	5	0	0
	65 Hautes-Pyrénées	0	4	0	0	1	1	4
	81 Tarn	0	0	3	0	0	0	3
82 Tarn-et-Garonne	0	0	1	1	1	0	5	
Nord, Pas-de-Calais		19	31	7	22	10	19	13
	59 Nord	12	30	6	22	8	18	10
	62 Pas-de-Calais	7	1	1	0	2	1	3
Basse-Normandie		25	12	10	6	6	18	10
	14 Calvados	11	4	5	2	3	8	5
	50 Manche	10	7	5	4	2	6	3
	61 Orne	4	1	0	0	1	4	2
Haute Normandie		5	4	0	3	7	9	4
	27 Eure	0	0	0	2	1	0	0
	76 Seine-Maritime	5	4	0	1	6	9	4
Pays de Loire		24	22	9	17	23	33	34
	44 Loire-Atlantique	4	4	3	5	7	8	9
	49 Maine-et-Loire	5	8	1	8	6	5	12
	53 Mayenne	1	0	0	0	2	1	1
	72 Sarthe	10	3	4	2	3	6	6
	85 Vendée	4	7	1	2	5	13	6
Picardie		5	3	2	6	6	9	3
	02 Aisne	2	0	0	2	1	3	0
	60 Oise	1	2	1	2	1	3	2
	80 Somme	2	1	1	2	4	3	1
Poitou-Charentes		14	9	6	10	5	14	19
	16 Charente	2	0	2	2	0	2	2
	17 Charente-Maritime	4	2	2	2	3	3	7
	79 Deux-Sèvres	6	5	1	5	1	4	8
	86 Vienne	2	2	1	1	1	5	2
Provence-Alpes-C.d'Azur		14	12	4	14	11	11	12
	04 Alpes-de-Haute-Prov.	0	0	0	0	0	0	0
	05 Hautes-Alpes	0	0	1	0	1	0	0
	06 Alpes-Maritimes	1	4	1	1	1	1	0
	13 Bouches-du-Rhône	6	2	2	8	7	4	8
	83 Var	3	4	0	5	1	3	4
	84 Vaucluse	4	2	0	0	1	3	0
Rhône-Alpes		23	44	14	62	32	31	92
	01 Ain	6	10	3	6	4	4	11
	07 Ardèche	1	0	0	0	0	0	3
	26 Drôme	0	5	4	1	2	1	14
	38 Isère	3	9	2	9	6	4	21
	42 Loire	0	2	1	0	1	3	5
	69 Rhône	5	11	2	41	13	10	26
	73 Savoie	4	5	2	2	6	4	8
	74 Haute-Savoie	4	2	0	3	0	5	4

Tableau 2: Incidence de la leptospirose par région en Métropole. Les incidences supérieures à l'incidence moyenne annuelle sont colorées.

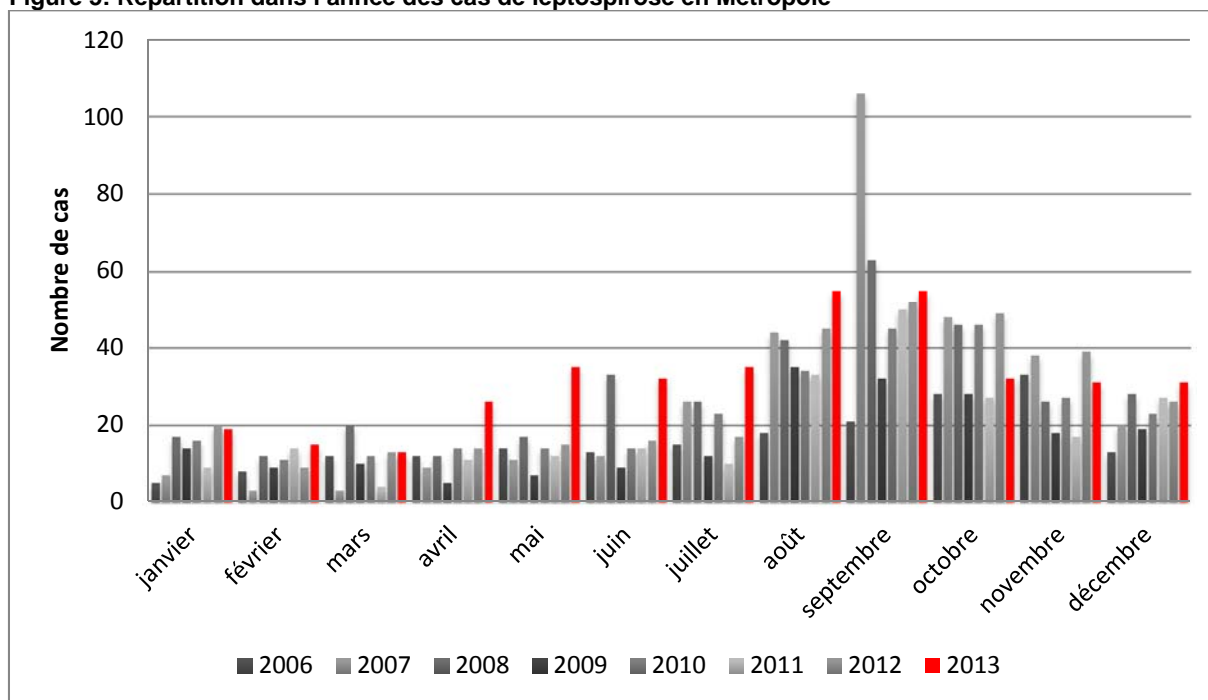
Régions	Pop. * (Khab.)	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013	
		nbre cas	Incidence /100000 hab.	nbre cas	Incidence /100000 hab.	nbre cas	Incidence /100000 hab.	nbre cas	Incidence /100000 hab.	nbre cas	Incidence /100000 hab.	nbre cas	Incidence /100000 hab.	nbre cas	Incidence /100000 hab.
Alsace	1861	7	0,38	4	0,22	3	0,16	9	0,49	6	0,32	10	0,54	7	0,38
Aquitaine	3303	21	0,66	23	0,72	17	0,53	18	0,56	13	0,41	15	0,47	23	0,70
Auvergne	1356	7	0,52	8	0,6	4	0,3	5	0,37	3	0,22	2	0,15	7	0,52
Bourgogne	1644	13	0,79	16	0,98	9	0,55	10	0,61	8	0,49	8	0,49	3	0,18
Bretagne	3260	22	0,69	23	0,73	11	0,35	9	0,28	9	0,28	37	1,17	22	0,67
Centre	2573	9	0,35	9	0,35	8	0,31	4	0,16	5	0,2	14	0,55	9	0,35
Champagne-Ardenne	1333	19	1,42	14	1,05	20	1,5	5	0,37	1	0,07	14	1,05	3	0,22
Corse	322	2	0,65	2	0,65	1	0,32	1	0,32	0	-	3	0,98	6	1,86
Franche-Comté	1178	20	1,71	14	1,2	3	0,26	20	1,71	13	1,11	26	2,23	44	3,73
Ile-de-France	11978	45	0,38	63	0,54	36	0,31	38	0,32	50	0,42	55	0,47	37	0,31
Languedoc-Roussillon	2727	6	0,23	4	0,15	4	0,15	5	0,19	4	0,15	2	0,08	9	0,33
Limousin	741	9	1,21	5	0,67	1	0,13	4	0,54	3	0,4	3	0,4	3	0,40
Lorraine	2351	8	0,34	5	0,21	14	0,6	3	0,13	4	0,17	3	0,13	6	0,26
Midi-Pyrénées	2947	10	0,35	14	0,49	14	0,49	10	0,35	10	0,35	11	0,38	19	0,64
Nord, Pas-de-Calais	4052	19	0,47	31	0,77	7	0,17	22	0,55	10	0,25	19	0,47	13	0,32
Basse-Normandie	1479	25	1,7	12	0,82	10	0,68	6	0,41	6	0,41	18	1,23	10	0,68
Haute-Normandie	1848	5	0,27	4	0,22	0	-	3	0,16	8	0,44	9	0,49	4	0,22
Pays de Loire	3658	24	0,68	22	0,62	9	0,25	17	0,48	23	0,65	33	0,93	34	0,93
Picardie	1925	5	0,26	3	0,16	2	0,1	6	0,31	6	0,31	9	0,47	3	0,16
Poitou-Charentes	1792	14	0,8	9	0,51	6	0,34	10	0,57	5	0,28	14	0,8	19	1,06
Provence-Alpes-C.d'Azur	4937	14	0,28	12	0,24	4	0,08	14	0,28	11	0,22	11	0,22	12	0,24
Rhône-Alpes	6393	23	0,37	44	0,71	14	0,23	62	1,01	32	0,52	31	0,2	92	1,43
Total Métropole	63660	327	0,52	341	0,55	197	0,32	281	0,45	230	0,37	347	0,56	385	0,60

* Estimation de la population au 1er janvier 2013 (INSEE)

Pour l'année 2013, l'incidence moyenne est de 0,60 cas/100000 habitants. Comme les années précédentes, l'incidence la plus élevée (3,73 cas/100000 h.) est retrouvée en Franche-Comté (44 cas). On trouve ensuite la Corse (1,86 cas/100000 h; 6 cas), Rhône-Alpes (1,43 cas/100000 h; 92 cas), Pays de Loire (à 0,93 cas/100000 h; 34 cas), Bretagne (0,67 cas/100000 h; 22 cas) et Aquitaine (0,70 cas/100000 h; 23 cas). Au contraire, les régions du Languedoc-Roussillon, Provence-Alpes-Côte d'Azur, Champagne-Ardenne, Picardie, Lorraine, Bourgogne ont une incidence deux fois moindre que l'incidence moyenne (Tableaux 1 et 2)

La répartition annuelle en Métropole confirme le caractère saisonnier de la leptospirose. Le maximum de cas est retrouvé en août et septembre. Cependant, le pic estivo-automnal qui représentait près de 50% des cas de leptospirose les années précédentes est moins marqué en 2013 (Figure 5).

Figure 5: Répartition dans l'année des cas de leptospirose en Métropole



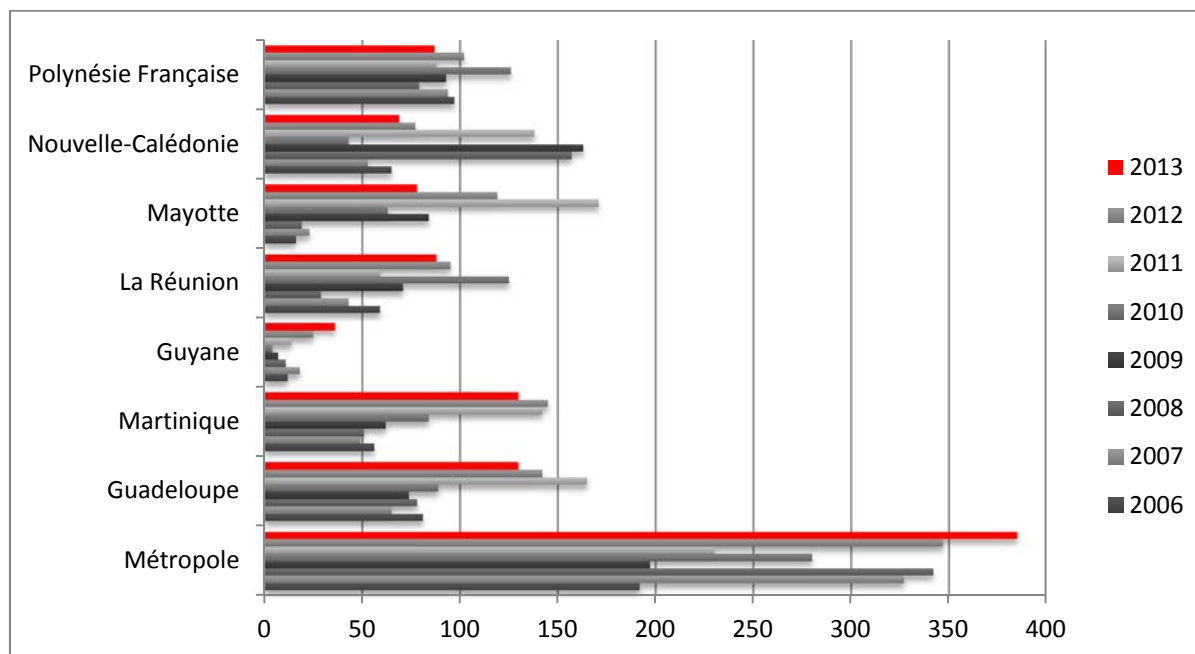
Cas de leptospirose dans les régions Outre-mer

Répartition des cas dans les régions d'Outre-mer en 2013.

Régions	Nombre de cas *	Pop. en K hab.	Incidence / 100 000 hab.
Guadeloupe (971)	130 (142)	404	32,18
Martinique (972)	130 (145)	402	32,34
Guyane (973)	36 (25)	237	15,19
La Réunion (974)	88 (95)	828	10,63
Mayotte (976)	78 (119)	217	35,94
Polynésie française	87 (102)	274	31,75
Nouvelle-Calédonie	69 (77)	291	23,71
TOTAL OUTRE-MER	618 (708)		

* entre parenthèse les données 2012

Figure 6: Nombre de cas de leptospirose en France métropolitaine et en Outre-Mer par année.



Dans la Zone Antilles

En Guadeloupe : On observe 130 cas en 2013 (142 cas en 2012). La moitié des cas a été diagnostiquée par sérologie MAT. Les sérogroupes majoritaires sont Icterohaemorrhagiae (12 cas), Australis (10 cas), Ballum (12 cas) et Louisiana (11 cas). Comme l'année dernière, un nombre significatif de sérums de patients agglutinent avec le séro groupe Louisiana, nouvellement introduit dans le panel d'antigènes du CNR. Cependant, aucune souche du séro groupe Louisiana n'a été isolée jusqu'à maintenant; il s'agit donc probablement d'une co-agglutination avec d'autres souches circulantes. Le plus grand nombre de cas est retrouvé en octobre (22 cas) et novembre (30 cas).

En Martinique : 130 cas en 2013. Le nombre de cas est stable par rapport aux deux dernières années (145 cas en 2012 et 142 cas en 2011). Pour les sérologies, le séro groupe Icterohaemorrhagiae représente la grande majorité (31 cas sur 70) des sérogroupes déterminés par le MAT, puis les sérogroupes Australis (5 cas) et Panama (7 cas). Tout comme en Guadeloupe, la majorité des cas est retrouvée d'octobre à janvier.

En Guyane : Le nombre de cas est en nette augmentation avec 36 cas en 2013 (4 cas en 2010, 14 cas en 2011 et 25 cas en 2012). Pour les sérologies positives par MAT, les sérogroupes identifiés appartiennent à Icterohaemorrhagiae (5), Ballum (2), Australis (2), Canicola (2), Tarassovi (2), Louisiana (2) Panama (1), Pomona (1), Javanica (1), Celledoni (1) et Mini (1). Aucune souche n'a été isolée de Guyane ces dernières années.

Dans la Zone Océan Indien

A Mayotte : Grâce à la mobilisation des médecins et biologistes locaux (Dr L. Collet), le diagnostic de la leptospirose a été optimisé et l'isolement des souches est fréquent depuis 2007. Ainsi, 25 souches ont été isolées et identifiées par le CNR en 2013. Parmi ces souches, la majorité (72%) appartient au séro groupe Mini, les autres souches appartiennent aux sérogroupes Pyrogenes, Pomona et Grippotyphosa. Cette distribution est similaire à celles observées les années précédentes et confirme une épidémiologie atypique avec une prédominance du séro groupe Mini et une absence du séro groupe Icterohaemorrhagiae. Le diagnostic s'effectue principalement par PCR sur le sang.

A La Réunion : Avec 88 cas, dont 9 suite à un triathlon, le nombre de cas est stable par rapport à 2012 (95 cas). La moitié des cas sont diagnostiqués aux mois de février et mars. La plupart des cas sont liés à des loisirs en eau douce ou des loisirs agricoles ou de pleine nature (jardinage, randonnée, etc). Le diagnostic est principalement effectué par PCR (65% des cas positifs) et la grande majorité des sérogroupes identifiés par MAT appartiennent au séro groupe Icterohaemorrhagiae (20 cas à Icterohaemorrhagiae, 4 cas indéterminés, 2 cas à Canicola, 1 cas à Cynopteri et 1 cas à Sejroe). La seule souche isolée appartient au séro groupe Icterohaemorrhagiae.

Dans la zone Pacifique

En Polynésie : 87 cas confirmés par PCR en 2013 (102 en 2012). Le nombre de cas est constant et se situe à une centaine de cas tous les ans. Un ELISA IgM est aussi utilisé et a permis d'identifier 61 cas probables supplémentaires. L'absence de données de MAT ou d'isolement de souches rend difficile le suivi de l'évolution des souches circulantes dans cette région. C'est pourquoi, en collaboration avec Dr S. Lastere (CH Polynésie Française),

nous typons les souches directement à partir des extraits d'ADN de sang de patients. Nous avons ainsi pu identifier 2 souches de *L. interrogans* sérovar Bratislava (séro groupe Australis) et 7 souches de *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae/Copenhageni parmi les 24 extraits testés. Cette étude sera poursuivie en 2014.

En Nouvelle-Calédonie: Voir « *Bilan de la surveillance de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie en 2013* » en Annexe.

3.2 Participation aux réseaux de surveillance

- Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS

Depuis janvier 2013, l'InVS a mis en place le transfert régulier et automatisé des résultats biologiques des principaux laboratoires de biologie médicale (CERBA et BIOMNIS Lyon et Paris) pour 11 maladies, dont la leptospirose. Nous avons eu plusieurs contacts avec l'InVS au cours de l'année pour discuter des données à intégrer pour la surveillance de la leptospirose.

L'ARS de Basse-Normandie mène une action de prévention contre la leptospirose et elle a saisi la Cire Normandie afin de cibler la population à risque. Nous avons ainsi été sollicités pour transmettre les données des cas survenus dans la région depuis 2010.

L'ARS Océan Indien nous a demandé les données sur la leptospirose sur l'île de La Réunion accumulées au cours de ces dernières années. Cette étude a fait l'objet d'une publication (Pagès et al. 2014. Human leptospirosis on Reunion Island: past and current burden. *Int J Environ Res Public Health*;11:968-82)

- Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

Tous les ans, nous transmettons les données de surveillance à l'ECDC via l'InVS.

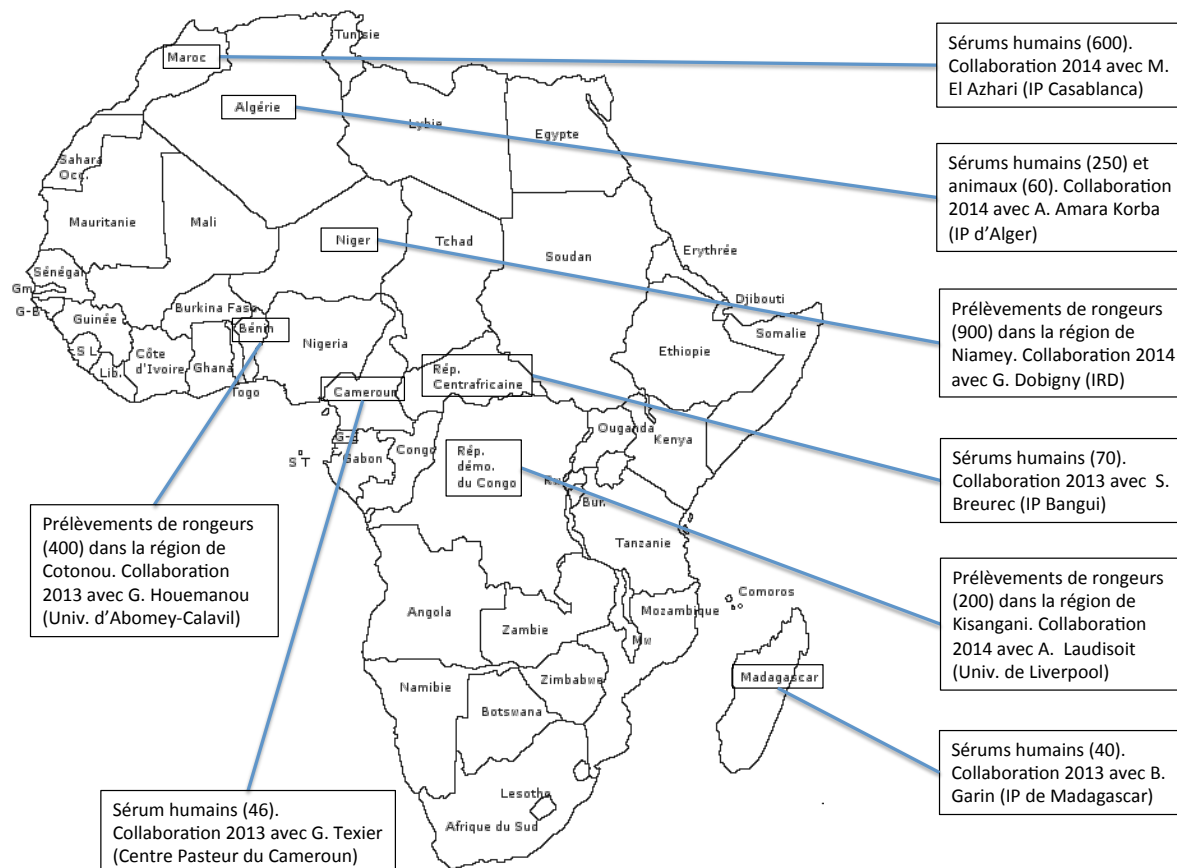
Le CNR contribue aussi au développement de la thématique de la leptospirose dans les Instituts Pasteur du réseau international (32 Instituts répartis sur les 5 continents) et participe à de nombreux projets collaboratifs avec ces Instituts.

3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Typage moléculaire des souches de leptospires à partir d'extraits d'ADNs d'échantillons biologiques de patients

Le diagnostic par PCR tend à supplanter la sérologie dans de nombreuses régions où la leptospirose est endémique. C'est le cas, par exemple, en Martinique et en Polynésie Française. Cependant, cette technique de diagnostic ne permet pas d'identifier le sérotype. Afin de combler ce vide, nous avons développé différentes techniques moléculaires au cours de ces dernières années permettant l'identification des leptospires directement à partir des échantillons biologiques de patients suspectés de leptospirose. Au cours de l'année 2013, nous avons ainsi procédé au typage génotypique systématique des ADNs provenant du CH de Polynésie française (Dr. S. Lastère) et du CHU de Martinique (Dr. P. Hochedez). Ces ADNs ont été typés par amplification et séquençage de l'ARNr 16S et du gène *secY* pour identification de l'espèce et du génotype et le typage a été complété par l'analyse des VNTR (MLVA) pour les souches appartenant aux espèces *L. interrogans* et *L. kirschneri*. Les données ainsi obtenues sont comparées avec notre base de données de séquences et de profils VNTR afin d'identifier les souches au niveau du sérovar. Ce travail a fait l'objet d'un poster (M. Picardeau "Molecular typing of circulating *Leptospira* strains in the French overseas territories" ILS 2013), d'une publication (Bourhy et al. 2013. Serovar diversity of pathogenic *Leptospira* circulating in the French West Indies. *PLoS Negl Trop Dis*.7:e2114) et un manuscrit a été soumis (Hochedez et al. Severe leptospirosis is associated with high levels of leptospiremia and *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae in Martinique).

Figure 7: Collaborations en cours sur l'étude de la leptospirose en Afrique



Etude de la leptospirose humaine et/ou animale en Afrique.

En Afrique, l'incidence de la leptospirose est mal connue et très peu de publications font état de cas humains, alors que les conditions climatiques et environnementales devraient lui être très favorables dans de nombreux pays. Nous avons ainsi récemment publié une étude montrant qu'un nombre important de patients déclarés lors d'une épidémie de peste en République Démocratique du Congo en 2006 étaient séropositifs pour la leptospirose (Bertherat *et al.* 2014. Discovery of a leptospirosis cluster amidst a pneumonic plague outbreak in a miners' camp in the Democratic Republic of the Congo. *Int J Environ Res Public Health*; 11:1824-33).

Au cours de l'année 2013, nous avons été sollicités pour plusieurs enquêtes ponctuelles au Bénin, Cameroun et Madagascar. Ces études ont permis de déterminer si la leptospirose était responsable de cas humains de fièvres inexplicables (Madagascar et Cameroun) ou de déterminer si les rongeurs de la ville de Cotonou (Bénin) pouvaient constituer un risque pour la santé humaine.

D'autres enquêtes sont aussi en cours sur des prélèvements humains ou animaux provenant du Maroc, Algérie, République Démocratique du Congo, Niger et la République Centrafricaine (Figure 7).

4 Alerte

Procédure d'alerte de l'InVS et de la DGS en cas de détection de phénomène anormal, les événements ayant fait l'objet d'un signalement ou d'une alerte au cours de l'année

La surveillance est effectuée quotidiennement par les biologistes lors de la validation biologique des résultats de sérologie. Il s'agit d'une surveillance passive exercée à partir des résultats d'analyses demandées au CNR des Leptospires par des tiers (hôpitaux, LABM). Un relevé des cas positifs par département (France Métropolitaine) est effectué en fin de semaine grâce au logiciel Lagon par les responsables du CNR. Le CNR peut aussi recevoir les données de sérologie positives des autres laboratoires comme par exemple les Laboratoires Biomnis ou CERBA. Lorsqu'on constate un groupement d'au moins 3 cas positifs (titre MAT $\geq 1/100$ pour un des antigènes pathogènes) d'une même provenance, ou un nombre anormalement élevé de cas dans un département ou une région, le phénomène est immédiatement signalé à l'InVS par courriel (zoonose@invs.sante.fr) et/ou par téléphone. L'InVS prend contact avec les médecins et/ou les responsables des laboratoires concernés, afin d'obtenir le maximum de renseignements concernant les patients. L'InVS se charge de contacter les ARS (agences régionales de Santé) et les CIRE (Cellule Interrégionale d'Epidémiologie), de mener les investigations autour des cas et de prendre les mesures de prévention éventuelles.

Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Risque de leptospirose autour du plan d'eau de Flumet (73)
Réunion téléphonique du 27 juin 2013 (ARS Rhône-Alpes, DDCSPP73, CIRE Rhône-Alpes, InVS, CNR).

La mairie de Flumet a signalé le décès de deux chiots, dont la cause fortement suspectée par les vétérinaires est la leptospirose. Ces deux chiots auraient fréquenté le plan d'eau de Flumet. Deux personnes en contact avec le deuxième chiot ont présenté des syndromes grippaux et ont consulté leur médecin traitant en évoquant la leptospirose. Le vétérinaire qui a soigné le chiot a eu une sérologie et une PCR, toutes deux négatives. La propriétaire du chiot n'a pas eu de prélèvements, son médecin traitant ayant écarté l'éventualité d'une leptospirose. Les deux personnes ont néanmoins eu un traitement antibiotique. Le plan d'eau est un plan d'eau aménagé pour la baignade, qui doit ouvrir le 29 juin. Une rumeur et des questionnements circulent autour du risque de baignade. Il est décidé que la non-ouverture du plan d'eau n'est pas justifiée et les recommandations générales vis-à-vis du risque de leptospirose sont transmises au maire.

Diagnostic de leptospirose chez un éleveur de rongeurs (décembre 2013).
Un patient éleveur de rongeurs en métropole a été diagnostiqué pour une leptospirose au sérogroupe Icterohaemorrhagiae. Les rongeurs de cet élevage sont destinés à l'enseignement des sciences de la vie (collèges et lycées) et aux professionnels de la biologie. Le CNR a alerté l'InVS qui, après enquête auprès de l'ARS, de la DDPP et des services vétérinaires a répondu que cet élevage était régulièrement suivi par les services vétérinaires et qu'il n'était pas compétent pour poursuivre l'enquête et notamment pour la recherche des manipulateurs potentiellement exposés à ces rongeurs.

5 Activités d'information, de formation et de conseil

Enseignement

Le 22 mai 2013.

Conférence du Cours de Bactériologie Médicale 2013, Institut Pasteur. Paris, France.

Participant : Pascale Bourhy

Présentation : « Leptospires et leptospirose »

Formation aux professionnels de santé

- Le 28 mars 2013.

IMAXIO - Journée d'Information sur la Leptospirose. Nantes, France.

Participant : Pascale Bourhy.

- Le 12 décembre 2013.

IMAXIO - Journée d'Information sur la Leptospirose. Nantes, France.

Participant : Mathieu Picardeau.

Accueil de stagiaires

Du 2 septembre 2013 au 2 janvier 2014.

Camila Hamond Regua Motta Reis, étudiante en thèse, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brésil.

Sujet du stage : Multidisciplinary approach of advance methods of bacteriological, serological and molecular diagnosis of Leptospirosis in animals.

Du 19 au 29 juin 2013.

Visite du laboratoire du Prof. Walter Lilenbaum, Professor Associado de Bacteriologia Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, Brésil

Du 19 au 30 août 2013

Célia Fontana, étudiante en thèse, Merial (Lyon)

Sujet du stage : Génétique des leptospires

Guides élaborés

Participation à un numéro du Bulletin de veille sanitaire thématique sur la leptospirose produit par la CIRE Antilles-Guyane.

Modalités de diffusion des données de surveillance et production du CNR

Les données du rapport annuel sont mise en ligne tous les ans sur le site du CNR de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-ccoms-des-leptospires/identite-et-coordonnees>)

Décrire les activités de conseil aux professionnels

Les appels téléphoniques sont transmis aux responsables du CNR par le secrétariat. De nombreux médecins (cliniciens, biologistes et médecins du travail) ainsi que des vétérinaires et des particuliers s'adressent au CNR pour des conseils. 15 appels téléphoniques sont reçus en moyenne toutes les semaines. Les courriels sont adressés directement aux responsables par le site internet de l'Institut Pasteur ou sur une adresse commune (spiroc@pasteur.fr). Nous recevons environ deux à trois messages par semaine.

Activités d'expertises auprès du ministère chargé de la santé, de l'Institut de veille sanitaire, des agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité en Santé ou de structure européenne (ECDC...) ou internationale (OMS...)

HAS (Haute Autorité de Santé) : le CNR a déposé une saisine pour la révision de la NABM pour le diagnostic de la leptospirose (voir figure 1). Le CNR a été contacté à plusieurs reprises en 2013 pour l'évaluation de ce dossier.

OMS: le CNR est un Centre Collaborateur de l'OMS pour la leptospirose

GLEAN (Global Leptospirosis Environmental Action Network; <http://www.glean-lepto.org/>): M. Picardeau participe à plusieurs groupes de travail du GLEAN et a rédigé avec d'autres membres une revue sur les tests de diagnostic rapide (Picardeau et al. 2014. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 78:1-8)

ILS (International Leptospirosis Society): M. Picardeau est membre exécutif de l'ILS et du comité de taxonomie des *Leptospiraceae* (Subcommittee on the taxonomy of Leptospiraceae)

6 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours notamment ceux ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.

Description d'une nouvelle espèce de leptospire pathogène

On dénombre aujourd'hui neuf espèces de leptospires pathogènes. Le typage moléculaire de souches isolées de patients sur l'île de Mayotte dans l'Océan Indien (101ème département français depuis mars 2011) a permis d'identifier un groupe de souches présentant des caractères génotypiques différents des autres espèces pathogènes (Bourhy et al. 2012. Human leptospira isolates circulating in Mayotte (Indian Ocean) have unique serological and molecular features. *J Clin Microbiol.* 50:307-11). En collaboration avec le J. Craig Venter Institute, les génomes de deux souches représentatives de ce groupe ont été entièrement séquencés. L'analyse de ces génomes et leur comparaison avec les séquences existantes dans les bases de données confirment qu'il s'agit bien d'une nouvelle espèce de leptospire pathogène. Nous devons maintenant procéder à la caractérisation phénotypique de cette nouvelle souche et notamment confirmer que ces souches sont bien virulentes dans les modèles animaux expérimentaux de la leptospirose. Cette étude devrait être soumise pour publication.

6.2 Les publications et communications réalisées ou prévues en lien avec les activités du CNR

Publications nationales

Lernout, T, Collet, L, Bourhy, P, Achirafi, A, Giry, C, Picardeau, M, Filleul, L. 2013. Epidemiology of human leptospirosis in Mayotte : an emerging public health problem on the island ?, *Arch Inst. Pasteur Madagascar* 70 : 1-6.

Publications internationales,

Goarant C, Bourhy P, D'Ortenzio E, Darteville S, Mauron C, Soupé-Gilbert ME, Bruyère-Ostells L, Gourinat AC, Picardeau M, Nato F, Chanteau S. 2013. Sensitivity and Specificity of a New Vertical Flow Rapid Diagnostic Test for the Serodiagnosis of Human Leptospirosis. *PLoS Negl Trop Dis.*;7:e2289.

Hochedez P, Escher M, Decoussy H, Pasgrimaud L, Martinez R, Rosine J, Théodose R, Bourhy P, Picardeau M, Olive C, Ledrans M, Cabie A. 2013. Outbreak of leptospirosis among canyoning participants, Martinique, 2011. *Euro Surveill.* 18(18):20472.

Bourhy P, Herrmann Storck C, Theodose R, Olive C, Nicolas M, Hochedez P, Lamaury I, Zinini F, Brémont S, Landier A, Cassadou S, Rosine J, Picardeau M. 2013. Serovar diversity of pathogenic *Leptospira* circulating in the French West Indies. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(3):e2114.

Bourhy P, Vray M, Picardeau M. Evaluation of an in-house ELISA using the intermediate species *Leptospira fainei* for diagnosis of leptospirosis. 2013. *J Med Microbiol.*;62:822-7.

Picardeau M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. 2013. *Med Mal Infect.*;43:1-9. Revue.

van de Werve C, Perignon A, Jauréguiberry S, Bricaire F, Bourhy P, Caumes E. 2013. Travel-related leptospirosis: a series of 15 imported cases. *J Travel Med.* 20:228-31.

Desvars A, Michault A, Bourhy P. 2013. Leptospirosis in the western Indian Ocean islands: what is known so far? *Vet Res.*;44:80.

Communications nationales

Le 28 novembre 2013

6ème séminaire des Centres nationaux de référence (CNR) (Paris)

Picardeau M. Révision de la NABM pour le diagnostic de la leptospirose: retour d'expérience

Communications internationales

Du 8 au 11 oct. 2013

8th Scientific meeting of International Leptospirosis Society in Fukuoka (Japan)

Participant: Mathieu Picardeau

Présentation: "Molecular typing of circulating *Leptospira* strains in the French overseas territories." et "Preservation of *Leptospira*: two-year results of a comparative study of freezing protocols."

Du 23 au 25 octobre 2013

Congrès International sur la Bio-Surveillance de l'Environnement. Institut Pasteur du Maroc. Casablanca, Maroc.

Participant : Pascale Bourhy.

Présentation : Le rôle du laboratoire dans la surveillance de la leptospirose.

Du 2 au 7 novembre 2013

International workshop "Bats and small mammals and infectious agents" (Framework of RUN-Emerge programme), Université de l'île de la Réunion - Saint Denis. Saint Denis de la Réunion, France.

Participant : Mathieu Picardeau.

Présentation : Genetic diversity of pathogenic *Leptospira* isolates in French overseas territories.

Conférences sur invitations

Le 13 novembre 2013

Faculté de Médecine - ULB (Bruxelles, Belgique)

Participant : Mathieu Picardeau

Présentation: Leptospirose: diagnostic et épidémiologie d'une zoonose émergente

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

- Échanges techniques entre le CNR et le LNR

Envoi de souches et d'ADNs au Laboratoire des Leptospires de VetAgro Sup - Campus Vétérinaire (Marcy l'Etoile) et participation au développement d'une nouvelle méthode de typage moléculaire des leptospires (Zilber et al. 2014. High-resolution typing of *Leptospira interrogans* strains by multispacer sequence typing. J Clin Microbiol.52:564-71).

Les rapports d'activité de VetAgro Sup-Campus vétérinaire de Lyon et du Laboratoire Départemental Frank Duncombe (Saint Contest, Caen) qui assurent le diagnostic de la leptospirose animale en France métropolitaine nous sont adressés tous les ans (voir annexe).

- Projets partagés (études, comité scientifique, groupe de travail ou d'experts .. ?) où le CNR et le LNR apportent et échangent leur expertise

Le CNR de la Leptospirose et le Laboratoire des Leptospires de VetAgro Sup - Campus Vétérinaire (Marcy l'Etoile) sont partenaires du projet COVALEPT intitulé "Découverte et conception de nouveaux antigènes pour des vaccins conférant un large spectre de protection contre la leptospirose". Ce projet a été sélectionné dans le cadre de l'AAP14 du Fonds Unique Interministériel.

8 Programme d'activité pour 2014-2015

Mayotte comme région modèle pour l'étude de l'éco-épidémiologie de la leptospirose

Nous collaborons maintenant depuis plusieurs années avec le Dr L. Collet du Centre Hospitalier de Mamoudzou. Nous avons ainsi pu identifier plus de 200 souches isolées chez des patients atteints de leptospirose depuis 2007. L'identification de ces souches a permis de mettre en évidence une épidémiologie atypique avec la prédominance de souches appartenant au sérogroupe Mini, la présence de nouveaux sérotypes, génotypes et d'une nouvelle espèce. De plus, le sérogroupe Icterohaemorrhagiae, le plus fréquemment rencontré en clinique humaine à travers le monde, n'a jamais été identifié à Mayotte. Nous disposons aussi de données chez l'animal où la distribution des sérogroupe est similaire à celle observée chez l'homme (Desvars et al. 2012. Similarities in *Leptospira* serogroup and species distribution in animals and humans in the Indian ocean island of Mayotte. Am J Trop Med Hyg. 87:134-40.). Enfin, une étude de séroprévalence a été réalisée par la CIRE Océan Indien (Tinne Lernout et Laurent Filleul) en 2011 auprès de 1420 individus. Dans cette étude, 16,5% de la population générale âgée de 5 ans ou plus présente des anticorps contre la leptospirose (sérologies effectuées au CNR). Les personnes les plus exposées au risque de la maladie sont des personnes vivant sur l'île depuis un certain temps. Les facteurs connus comme associés à la transmission de la leptospirose (notamment le sexe, l'âge, la profession d'agriculteur, le contact avec des animaux) ont été retrouvés, avec en plus un rôle potentiel d'un sol en matières non dures (terre ou vinyl) qui permettent une survie plus longue des leptospires dans le milieu intradomiciliaire et un historique de jeux dans les poubelles. L'étude confirme également le rôle joué par les zébus et vraisemblablement le rat comme réservoirs de la maladie et sources de contamination de l'environnement.

Nous poursuivrons notre travail de typage des souches animales et humaines. Nous envisageons aussi d'étudier les leptospires dans l'environnement pour mieux comprendre l'épidémiologie de la leptospirose à Mayotte. Par exemple, nous voulons isoler les leptospires sur le terrain, lors de la saison des pluies, au voisinage des habitations à risques.

Cette étude devrait nous permettre de mieux connaître les facteurs favorisant la survie des leptospires dans l'environnement et de mieux comprendre la transmission de la leptospirose localement. On essaiera aussi de mieux comprendre la raison de cette distribution atypique des sérogroupes sur Mayotte (historique de la colonisation des animaux sur l'île, situation épidémiologique dans les autres îles des Comores, etc).

Evaluation de la leptospirose au Maroc et en Algérie.

Le CNR reçoit régulièrement des sérums positifs du Maroc et d'Algérie envoyés par les laboratoires locaux pour diagnostic. Cependant, nous disposons de très peu d'informations de la situation épidémiologique de la leptospirose dans ces pays. En Algérie, Mme Anissa Amara Korba de l'Institut Pasteur d'Alger travaille depuis plusieurs années sur la leptospirose et elle dispose d'une collection de sérums et de souches isolées de l'homme, de l'animal et de l'environnement. Nous procéderons à l'analyse de ces échantillons pour mieux connaître les souches circulantes dans cette région. A la demande de l'Institut Pasteur de Casablanca, nous devons former une équipe pilote pour la création d'un laboratoire de diagnostic biologique au niveau de l'Institut Pasteur du Maroc. Nous avons ainsi accueilli M. Mohamed Al Azhari au mois de mars 2014. Une enquête séro-épidémiologique sur la leptospirose au niveau des groupes à risque des abattoirs de Casablanca ainsi que chez des patients présentant une fièvre inexpliquée sera aussi effectuée afin d'évaluer la prévalence de la leptospirose.

Prévalence de la leptospirose chez les rongeurs capturés au Niger et en République Démocratique du Congo

En Afrique, l'incidence de la leptospirose est mal connue, alors que les conditions climatiques et environnementales devraient lui être très favorables dans de nombreuses régions. Parce que la leptospirose est une zoonose et que les études sont plus faciles à mettre en place chez l'animal que chez l'homme, nous avons souhaité connaître la prévalence de la leptospirose chez l'animal et notamment chez les rongeurs qui sont le principal réservoir. Une étude mammalogique conduite par Gauthier Dobigny (Institut de Recherche pour le Développement, Centre de Biologie pour la Gestion des Populations Campus International de Baillarguet) sur plus de 900 rongeurs prélevés à Niamey (Niger) et le long du fleuve, nous donne l'occasion d'explorer la question. Nous disposons d'échantillons (reins) de rongeurs identifiés et géoréférencés, mais aussi des résultats d'une étude socio-écologique de voisinage qui a été conduite en parallèle. Une autre étude concerne des rongeurs capturés par Anne Laudisoit (University of Liverpool) dans plusieurs régions de la République Démocratique du Congo (Kisangani, Rethy, Epulu et le long du fleuve Congo).

ANNEXES

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

Annexe 3 : Bilan de la surveillance de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie

**Annexe 4 : Rapport de l'activité diagnostic « Leptospirose »
VetAgro Sup Campus Vétérinaire (ENVL)**

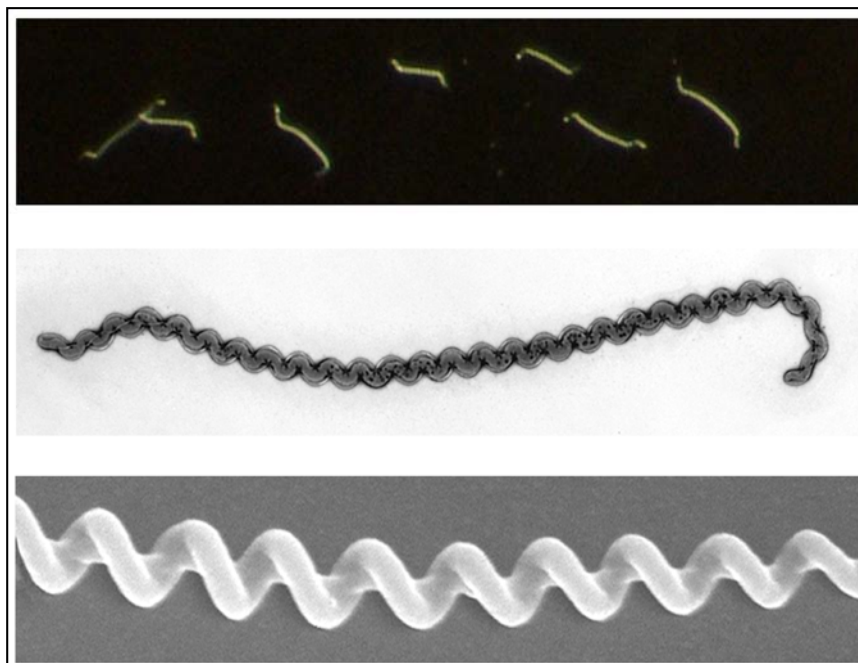
Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR

Les leptospires pathogènes sont responsables d'une zoonose de répartition mondiale, la leptospirose, où l'homme se retrouve être un hôte occasionnel dans un cycle impliquant les animaux sauvages et domestiques. Le réservoir animal, principalement les rongeurs, excrète les leptospires dans ses urines et contamine ainsi l'environnement hydrique, propageant la maladie à d'autres animaux ou à l'homme.

Les leptospires appartiennent au phylum des spirochètes et sont constituées de bactéries saprophytes et pathogènes. Les spirochètes ont des caractéristiques morphologiques uniques dans le monde bactérien. Les leptospires ont une forme hélicoïdale (Figure 8) et possèdent un organe locomoteur interne, l'endoflagelle, qui leur confère une grande mobilité, même dans les milieux les plus visqueux. Le genre *Leptospira* a été initialement divisé en deux groupes : *Leptospira interrogans* sensu lato pour désigner les souches pathogènes et *Leptospira biflexa* sensu lato pour les souches saprophytes et aquicoles. Aujourd'hui, vingt et une espèces de leptospires et plus de 300 sérovars regroupés en une vingtaine de sérogroupes ont été décrits.

Figure 8 : Vue en microscope à fond noir et en microscope électronique de leptospires. Les leptospires ont une longueur de 6 à 20 μm et un diamètre d'environ 0,1 μm . De par leur taille, le microscope à fond noir s'avère indispensable à leur observation.



La leptospirose représente un problème de santé publique majeur dans de nombreux pays, notamment en Amérique Latine et en Asie du Sud-Est. On estime à plus d'un million le nombre de cas sévères de leptospirose chaque année, avec un taux de mortalité de 5 à 20 %. En France métropolitaine, plus de 300 cas annuels sont diagnostiqués. Pour les Départements et Territoires d'Outre-Mer, le taux d'incidence peut être 100 fois plus élevé qu'en Métropole. La France est parmi les pays industrialisés celui qui a le taux d'endémie le plus élevé. Dans les pays industrialisés des zones tempérées, la leptospirose est une maladie qui touche certaines catégories professionnelles exposées (éleveurs, égoutiers, pisciculteurs) et les adeptes de loisirs en plein air (pêche, rafting, canyoning) par contact avec les eaux douces souillées par les urines d'animaux infectés. Un rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments cite la leptospirose comme une des affections humaines dont l'incidence est susceptible d'être modifiée par le changement climatique en

France métropolitaine (<http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/SANT-Ra-Rechauffementclimatique.pdf>). Il existe un traitement antibiotique mais celui-ci doit être administré le plus rapidement possible pour éviter les formes les plus graves. Cependant, le diagnostic est souvent tardif au cours de l'infection. En effet, le spectre clinique de la leptospirose peut varier d'un état pseudo-grippal à une insuffisance rénale aiguë et ce syndrome peut être confondu avec d'autres maladies tropicales telles que le paludisme ou la dengue. En France, un vaccin est disponible (Spirolept®). Il s'agit d'une souche du sérovar *Icterohaemorrhagiae* formolée. Le sérovar *Icterohaemorrhagiae* est le plus fréquemment rencontré en clinique humaine et il est responsable des formes les plus graves. Cependant, cette vaccination a une efficacité courte et ne protège pas contre l'ensemble des sérovars.

La plupart des cas de leptospiroses sont diagnostiqués par sérologie; or les anticorps ne sont détectés dans le sang (ELISA et/ou MAT) que plus d'une semaine après l'apparition des symptômes (Figure 9). Le diagnostic bactériologique est peu pratiqué car il nécessite un milieu de culture spécifique et le temps de génération des leptospires est particulièrement long entraînant ainsi une réponse tardive (plusieurs semaines). Aujourd'hui, la détection de l'ADN bactérien par PCR sur des prélèvements biologiques précoces tend à supplanter la sérologie, surtout en Outre-Mer.

Le Centre National de Référence (CNR) de la leptospirose contribue à la surveillance épidémiologique de la leptospirose humaine en France métropolitaine et d'outre-mer. Il assure l'alerte en cas de recrudescence inhabituelle ou d'apparition de cas groupés. Il a également une mission d'expertise en garantissant l'identification des souches isolées en pathologie humaine, en développant des techniques permettant d'améliorer à la fois le diagnostic de la maladie et le typage des souches.

Rappel du cahier des charges du CNR de la leptospirose (arrêté du 29 nov. 2004)

Il sera particulièrement demandé au Centre National de Référence de la Leptospirose de :

1. Apporter une expertise microbiologique :

- développer de nouvelles techniques diagnostiques et de typage de *Leptospira*,
- identifier et typer les souches humaines de *Leptospira*,
- apporter son expertise aux laboratoires de biologie médicale de ville et hospitaliers pour le diagnostic des leptospiroses (confirmation du diagnostic, typage),
- collaborer avec les structures en charge de la leptospirose animale (échanges d'informations, de souches, études, etc).

2. Contribuer en lien avec l'Institut de veille sanitaire à la surveillance microbiologique :

- en s'appuyant sur un réseau de laboratoires de biologie médicale métropolitains et d'Outre Mer,
- en participant à l'investigation de cas groupés
- en contribuant aux systèmes de surveillance internationaux, en particulier européens, notamment dans le cadre de l'application de la directive zoonose 2003/99/CE

3. Contribuer à l'alerte en signalant à l'Institut de veille sanitaire tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés ; modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles) ; apparition d'un nouveau phénotype de résistance ; etc

Le CNR de la leptospirose est intégré à l'unité de Biologie des Spirochètes de l'Institut Pasteur à Paris. Cette unité comprend une équipe de recherche dont les thématiques principales sont la génétique et la virulence des leptospires. Cette organisation permet des collaborations étroites entre le CNR de la leptospirose et ce groupe de recherche. Le CNR, de par sa localisation à l'Institut Pasteur, a aussi engagé d'étroites collaborations avec de nombreux Instituts du réseau des Instituts Pasteur (32 Instituts répartis sur les cinq continents), notamment dans les pays où la leptospirose est endémique.

Le CNR de la leptospirose fait partie d'un des cinq Centres Collaborateurs de l'Organisation Mondiale de la Santé (CCOMS) sur la leptospirose à travers le monde.

Référence	Institution	Ville	Pays	Région	Titre
FRA-58	Institut Pasteur	Paris	France	EURO	Centre collaborateur OMS/FAO pour l'Epidémiologie de la Leptospirose
NET-34	Royal Tropical Institute	Amsterdam	Pays Bas	EURO	WHO/FAO Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis
IND-91	Indian Council of Medical Research	Port Blair	Inde	SEARO	WHO Collaborating Centre for Diagnosis, Reference, Research and Training in Leptospirosis
AUS-88	Queensland Health Scientific Services	Coopers Plains	Australie	WPRO	WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis
BRA-65	Instituto Oswaldo Cruz	Rio de Janeiro	Brésil	AMRO	WHO Collaborating Centre for Leptospirosis

Le CNR de la leptospirose est le principal laboratoire français à pratiquer le diagnostic de la leptospirose humaine. Tous les ans, le CNR reçoit environ 4000 sérums humains pour diagnostic sérologique de la leptospirose. Cette implication directe du CNR dans le diagnostic de la maladie facilite la surveillance et l'alerte. Le CNR collabore avec les autres laboratoires assurant le diagnostic en Métropole (Cerba, Biomnis, CHU Toulouse, hôpital Arnaud de Villeneuve de Montpellier) et Outre-mer (Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, Institut Pasteur de Guadeloupe, Institut Pasteur de la Guyane, CH Sud-Réunion, CHD Félix Guyon, CHU Fort-de-France, CHU Pointe-à-Pitre, CH de Mayotte, Institut Territorial Louis Mallardé et CH Polynésie Française à Papeete). Le CNR assure également l'identification de toutes les souches isolées en pathologie humaine en métropole et outre-mer. Il interagit aussi avec le Campus Vétérinaire de Lyon (VetAgro Sup) et le Laboratoire départemental Frank Duncombe (Caen) pour la leptospirose animale.

1.2 Description détaillée de l'équipe:

- Equipe : personnels dévolus dans les activités du CNR et laboratoires associés

Mathieu Picardeau: responsable

Pascale Bourhy: responsable adjoint

Anne-Sophie Le Guern / Sylvie Behillil: biologiste (jusqu'en sept. 2013)

Sylvie Murguet: secrétaire

Farida Zinini: technicienne supérieure (retour congé parental en sept. 2013)

Sylvie Brémont: technicienne supérieure

Annie Landier: technicienne supérieure

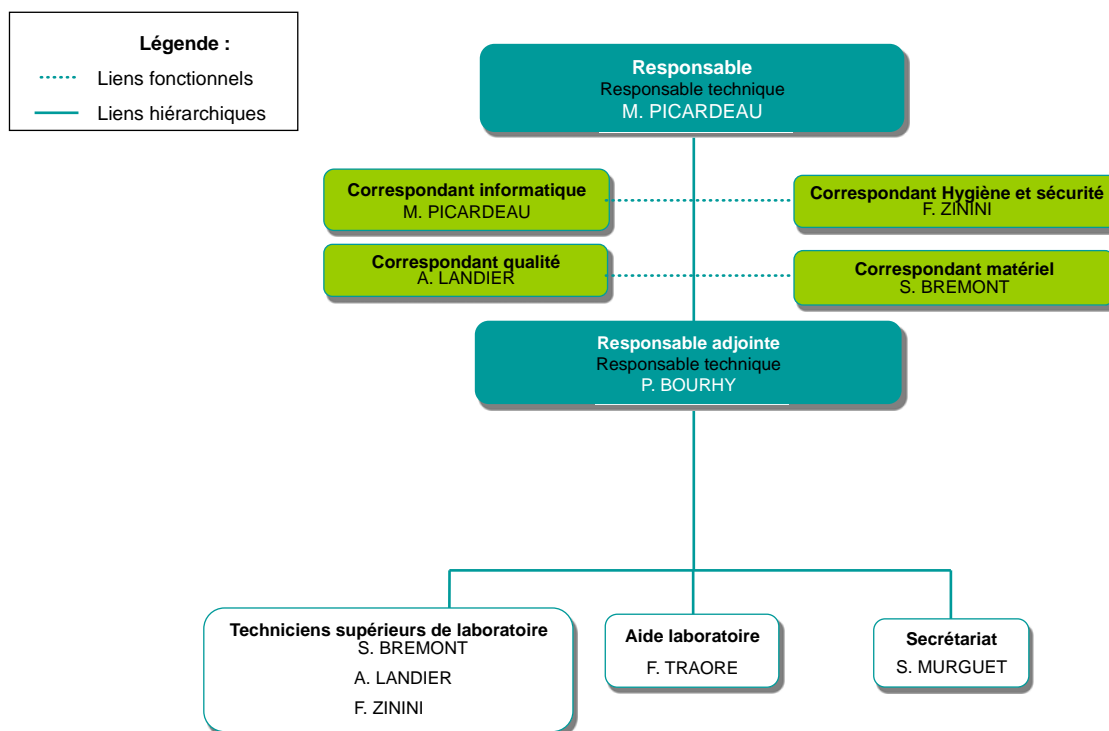
Fatimata Traore: aide de Laboratoire

Annie Prêtesac, Françoise Guinandie, Patrick Denis, Chrystelle Roux et Fatimata Traore: personnel du Laboratoire de préparation

- Fonction, ETP, qualification, statut, organisme payeur

	Scientifiques	Techniciens	Personnel administratif	Personnel laboratoire de préparation	Total
Equivalent Temps Plein (ETP)	0,7	2	0,25	1,2	4,15
Nombre de personnes	2	3	1	4	10

- Organigramme



1.3 Locaux et équipements du CNR.

L'Unité de Biologie des Spirochètes de l'Institut Pasteur de Paris qui héberge le CNR de la Leptospirose est située au 3ème étage du Bâtiment BioTop à l'Institut Pasteur. L'Unité d'une superficie totale de 90 m² comprend deux laboratoires (un affecté pour le CNR et un autre pour le groupe de recherche), une pièce de microscopie, un secrétariat et un laboratoire de préparation partagé avec l'Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques (Dr F.X. Weill). Depuis 2013, le CNR a aussi accès à une pièce PCR "marche en avant" située au 1er étage du Bâtiment BioTop, ce qui lui permettra de réaliser le diagnostic de la leptospirose par PCR. Cette pièce est aussi partagée avec l'Unité de Recherche et d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques.

Le CNR est équipé de : 3 étuves, 3 microscopes à fond noir, 1 hotte à flux laminaire, congélateurs à -20°C et -80°C, 1 cuve à azote liquide, 1 congélateur à -150°C, 3 thermocycleurs, 1 appareil de PCR quantitative (CFX96, BioRad), 3 matériels d'électrophorèse y compris électrophorèse à champ pulsé (DRIII, BioRad) et 1 autoclave partagé avec les autres structures de l'étage.

1.4 Description de la démarche qualité du laboratoire.

Historique :

En 1996, les Centres Nationaux de Référence (CNR) de l'Institut Pasteur ont entrepris une démarche qualité pour suivre le référentiel GBEA et, depuis 2008, dans le cadre des inspections ANSM, les exigences des arrêtés du 30 juillet 2004 et du 16 juillet 2007 liés aux Micro-Organismes et Toxines (MOT).

Le Service Qualité, Environnement et Développement Durable (QE-DD) apporte ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 des Laboratoires de Références et d'Expertise (CNR et CIBU) conformément à l'ordonnance du 13 janvier 2010 et à la loi du 31 mai 2013 relative aux activités de biologie médicale.

Projet ISO 15189 du Laboratoire de Référence et d'Expertise Multi-Site (LREMS) de l'Institut Pasteur :

➤ **Bilan des actions réalisées en 2013 :**

- Groupe de Travail Technique pour les validations de méthode (biologie moléculaire et sérologie)
- Formations : WebCampus, Manuel Qualité LREMS et Kalilab
- Audits internes techniques ISO 15189 pour les sites concernés par l'audit ISO 15189 (CIBU, CNR Leptospirose, CNR coqueluche et autres bordetelloses, CNR Corynebactéries du complexe *Diphtheriae*, CNR Virus *Influenzae* et CNR Rage)
- Revue de direction LREMS.

➤ **Contrôle de qualité externe**

- Participation au contrôle de qualité externe de l'International Leptospirosis Society. Le sérotype des cinq sérums envoyés en aveugle ont bien été identifiés par le CNR.

➤ **Evènements d'importance 2014 :**

- Accréditation ISO 15189 du LREMS (CIBU, CNR Leptospirose, CNR coqueluche et autres bordetelloses, CNR Corynebactéries du complexe *Diphtheriae*, CNR Virus *Influenzae* et CNR Rage) par le COFRAC

➤ **Perspectives 2014 :**

- Audits internes qualité et technique ISO 15189 : Mars 2014
- Revue de direction LREMS : 8 Avril 2014
- Poursuite du groupe de travail technique pour les validation de méthode : Juin et octobre 2013
- Audit de suivi ISO 15189 avec extension du périmètre (nouvelles techniques et nouveaux sites) : Novembre/décembre 2014. Le CNR de la Leptospirose déposera un dossier de demande d'accréditation de la technique ELISA IgM.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence :

Liste des techniques pour le diagnostic biologique :

1. Culture à partir de sang, urines ou LCR, sur milieu spécifique Ellinghausen et McCullough modifié par Johnson et Harris (EMJH).

2. Sérologie par :

- ELISA IgM : ce test « maison » remplace le test de Macroagglutination sur lame ou «TR» (antigène Thermo-Résistant) peu sensible et spécifique (voir Picardeau et al. 2008 BEH 37 : 329-331). Cet ELISA est complémentaire au MAT et aide dans l'interprétation des résultats par les biologistes. Un article décrivant ce test ELISA a été récemment accepté pour publication (voir Bourhy et al. 2013 J. Med. Microbiol. 62: 822-827).

- MAT (Microscopic Agglutination Test): Test de microagglutination dérivé du test d'agglutination-lyse de Martin et Pettit. C'est la réaction de référence permettant la mise en évidence quantitative des anticorps agglutinants totaux. Elle permet non seulement un diagnostic sensible et spécifique mais aussi la détermination du sérotype. Elle a donc un intérêt à la fois diagnostique et épidémiologique. Ce test nécessite l'entretien d'un grand nombre de souches vivantes correspondant aux sérotypes attendus. La «batterie» usuelle comprend, depuis janvier 2012, 24 souches et peut être étendue si l'on suspecte un sérotype ou sérovar plus rare. Les 24 souches ou antigènes utilisés en routine sont détaillés dans le tableau 3. Les autres laboratoires proposant le MAT (Biomnis, CHU de Toulouse Purpan et CHU de Montpellier Hôpital Arnaud de Villeneuve) utilisent 9 antigènes.

3. Diagnostic de la leptospirose par PCR en temps réel (techniques Taqman et SYBR Green) : utilisé actuellement de manière ponctuelle (une pièce de réception des produits biologiques est prévue début 2014).

Liste des techniques pour l'identification et le typage :

Le laboratoire du CNR est le seul en France à pratiquer l'identification des souches de leptospires isolées en pathologie humaine. Cette identification nécessite l'entretien et le stockage d'un grand nombre de sérovats ainsi que des antisérums de lapins dirigés contre les souches représentatives des 24 sérotypes décrits chez les pathogènes. Plusieurs méthodes sont utilisées pour chaque souche :

1. Identification du sérotype par microagglutination (MAT) avec des antisérums de lapins.

2. Identification de l'espèce génomique par amplification d'un fragment du gène de l'ARNr 16S ou *secY* et séquençage.

3. Identification du sérovar par la méthode moléculaire rapide de l'analyse du polymorphisme des Variable Number of Tandem Repeats (VNTR). Cette méthode vise à terme à remplacer l'électrophorèse en champ pulsé. Elle a été mise au point par le groupe de recherche de l'Unité de Biologie des Spirochètes (Salaün et al. 2006). Cette méthode est applicable aux souches des espèces *L. interrogans*, *L. kirschneri* et *L. borgpetersenii* et permet l'identification des sérovats les plus fréquemment retrouvés en pathologie humaine.

4. Identification du sérovar par détermination du profil de macro-restriction de l'ADN génomique total par électrophorèse en champ pulsé.

5. Typage par Multi Locus Sequence Typing (MLST).

6. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) par la technique de microdilution.

Tableau 3 : Antigènes utilisés dans le MAT réalisé au CNR

En gras, les souches utilisées comme antigènes pour le MAT par le Laboratoire BIOMNIS.

N°	ESPECE	SEROGROUPE	SEROVAR	SOUCHE
1	<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
2	<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
3	<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
4	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
5	<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	Castellon 3
6	<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
7	<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
8	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjobovis	Sponselee
9	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
10	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Wijnberg
11	<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214 K
12	<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1
13	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
14	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
15	<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroë	Sejroë	M 84
16	<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Mitis Johnson
17	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Verdun
18	<i>L. weilii</i>	Celledoni	ND	2011/01963
19	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
20	<i>L. borgpetersenii</i>	Mini	ND	2008/01925
21	<i>L. weilii</i>	Sarmin	Sarmin	Sarmin
22	<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K
23	<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Poi
24	<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Louisiana	LUC1945

ND: non déterminé

2.2 Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles

sérogroupe (n = 24), sérovars (n > 225) et espèces génomiques (n = 21).

2.3 Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence :

- Description : nombre de souches, caractérisation

L'Unité de Biologie des Spirochètes dispose de 2 collections de souches :

Une collection gérée par le Centre de Ressources Biologiques de l'Institut Pasteur (CRBIP) et consultable sur <http://www.crbip.pasteur.fr/>

Cette collection comprend 323 souches de référence. L'obtention de ces souches auprès du CRBIP est payante.

Une collection de souches propres à l'Unité comprenant plus de 1200 souches réparties en souches de référence, souches isolées de produits biologiques humains (environ 500), animales (environ 500) ou environnementales (environ 100). Seuls quelques sérovars ne sont pas représentés. Environ 200 souches de cette collection ont été obtenues du Center for Disease Control and Prevention (CDC). Ces souches ont été identifiées par hybridation ADN/ADN. Cette collection comprend plusieurs aliquots de chaque souche conservés à la fois en congélateur à -150°C et dans une cuve à azote liquide. Le CNR possède les souches de référence de l'ensemble des 21 espèces de leptospires aujourd'hui décrites (**Tableau 4**).

Tableau 4: Caractéristiques des vingt et une espèces de leptospires aujourd'hui décrites

Espèce	Sérogroupe	Sérovar	Souche	Source	Origine
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA	homme	Belgique
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522C	chauve souris	Indonesie
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214 K	opossum	Panama
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Sejroe	M84	souris	Danemark
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni	homme	Australie
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	LT821	rat	Panama
<i>L. alexanderi</i>	Manhao	Manhao 3	L 60	inconnue	Chine
<i>L. alstonii</i>	ND	Sichuan	79601	grenouille	Chine
<i>L. kmetyi</i>	Tarassovi	Malaysia	Bejo-Iso 9	sol	Malaysia
<i>L. wolffii</i>	ND	Khorat	Khorat-H2	homme	Thaïlande
<i>L. licerasiae</i>	Iquitos	Varillal	VAR010	homme	Pérou
<i>L. inadai</i>	Tarassovi	Kaup	LT64-68	homme	Etats Unis
<i>L. fainei</i>	Hurstbridge	Hurstbridge	BUT6	cochon	Australie
<i>L. broomii</i>	Hurstbridge	inconnu	5399	homme	Danemark
<i>L. wolbachii</i>	Codice	Codice	CDC	eau	Etats Unis
<i>L. meyeri</i>	Semarang	Semarang	Veldrat Semarang 173	rat	Indonesie
<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1	eau	Italie
<i>L. vanthielii</i>	Holland	Holland	WaZ Holland	eau	Hollande
<i>L. terpstrae</i>	Icterohaemorrhagiae	Hualin	LT 11-33	inconnue	Chine
<i>L. yanagawae</i>	Semarang	Saopaulo	Sao Paulo	eau	Brésil
<i>L. idonii</i>	Hebdomadis	inconnu	Eri-1	eau	Japon

L'Unité possède aussi une collection d'immunsérums de lapins correspondant aux principaux sérogroupes et sérovars de leptospires.

- Conditions de stockage

immunsérums: -20°C

souches: -80°C, -150°C, azote liquide

- Conditions de mise à disposition de ces collections

Les souches de notre collection sont envoyées gracieusement dans le cadre d'une collaboration et sont facturées lorsque la demande n'entre pas dans le cadre des missions du CNR.

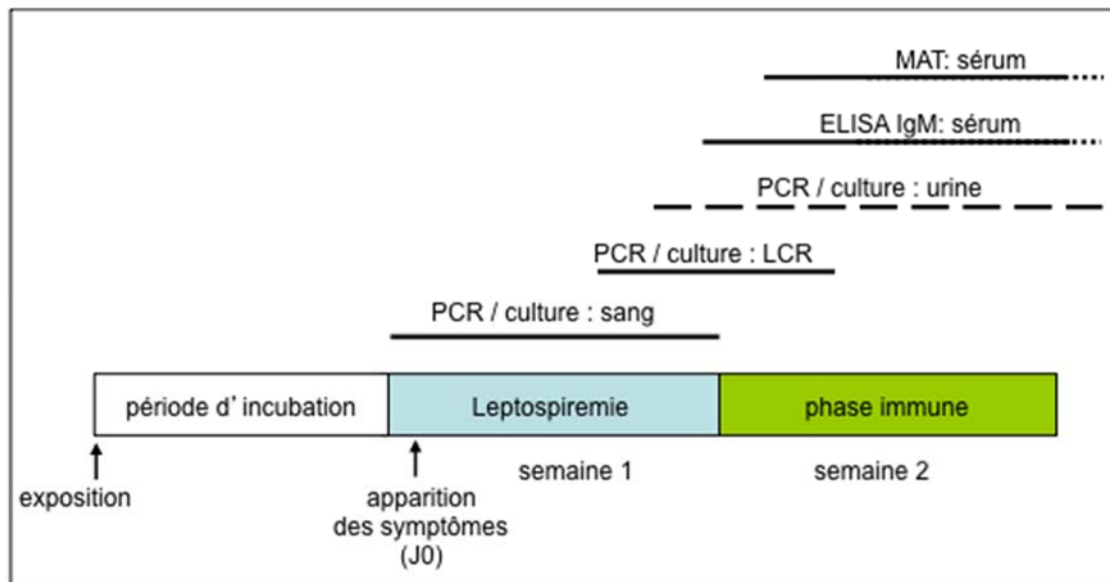
2.4 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le diagnostic s'effectue par la détection de l'ADN bactérien par PCR dans le sang lors de la première semaine de la maladie ou plus tardivement dans le LCR ou les urines. Plusieurs méthodes de PCR conventionnelle ou en temps réel ont été développées pour la détection des leptospires pathogènes. Une PCR positive indique la présence de leptospires pathogènes dans l'échantillon (si la cible est bien spécifique des espèces pathogènes) mais en aucun cas elle ne permet l'identification directe du sérovar.

La recherche des anticorps s'effectue à partir de la deuxième semaine après l'apparition des symptômes par un ELISA IgM et/ou le MAT. L'ELISA IgM est habituellement plus précoce mais un résultat positif ne donnera aucune indication sur le sérovar/sérogroupe infectant et l'ELISA ne peut suffire à lui seul pour diagnostiquer un cas de leptospirose. Il est nécessaire de confirmer par le MAT qui est pratiqué par quelques rares laboratoires de référence.

Le diagnostic bactériologique est peu pratiqué car il nécessite un milieu de culture spécifique et le temps de génération des leptospires est particulièrement long, entraînant ainsi une réponse tardive (plusieurs semaines).

Figure 9: Cinétique de la leptospirose au cours de l'infection. L'infection entraîne une bactériémie durant les premiers jours après exposition. Suite à l'augmentation du titre des anticorps agglutinants (phase immune), les leptospires sont éliminés de la circulation sanguine. Les leptospires sont aussi retrouvés dans le LCR et de manière transitoire dans les urines. MAT, microscopie agglutinative ; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay ; PCR, polymérase chain reaction.



Secrétariat général du gouvernement

Nouméa, le 26 mars 2013

direction des affaires sanitaires et sociales de la
Nouvelle-Calédonie

Service des actions sanitaires

Mél : dass@gouv.nc

Tél. : 24.37.18 - Fax : 24.37.14

N° CS12-3400-

BILAN DE LA SURVEILLANCE DE LA LEPTOSPIROSE
EN NOUVELLE-CALEDONIE
Année 2013

SOMMAIRE :

SOMMAIRE :	2
1 CONTEXTE EN NOUVELLE-CALEDONIE.....	3
2 OBJECTIFS	4
3 MATERIEL ET METHODE	4
3.1 FICHE DE MALADIE A DECLARATION OBLIGATOIRE	4
3.2 METHODE	5
3.3 TESTS DIAGNOSTICS	5
3.4 DEFINITION DE CAS (source IPNC).....	6
4 RESULTATS	7
4.1 SITUATION ENDEMO-EPIDEMIQUE SAISONNIERE (Source météo.nc).....	7
4.2 DESCRIPTION DES CAS	8
4.2.1 Age et sexe des malades.....	8
4.2.2 Catégories socio-professionnelles.....	9
4.2.3 Cadres de vie.....	9
4.2.4 Biologie.....	10
4.2.5 Signes cliniques	10
4.2.6 Facteurs d'exposition	11
4.2.7 Hospitalisation, réanimation	12
4.2.8 Délai de diagnostic.....	12
4.2.9 Décès.....	13
4.2.10 Historique des nombres de cas de leptospirose de 1997 à 2012	15
4.2.11 Incidence pour 10 000 habitants par commune	16
4.3 LES SEROGROUPES (source de données : Unité de recherche sur la leptospirose de l'IPNC, sous la responsabilité de M. Cyrille Goarant)	18
4.3.1 Activité du laboratoire	18
4.3.2 Les souches de leptospires, sérogroupes et sérovars, utilisé par l'IPNC pour le diagnostic sérologique de la leptospirose.....	18
4.3.3 Les sérogroupes identifiés de 2009 à 2013	19
4.3.4 Croisement entre la souche I5, les facteurs de risque et de gravité	20
5 CONCLUSION.....	21

1 CONTEXTE EN NOUVELLE-CALEDONIE

La Nouvelle-Calédonie est un territoire français insulaire situé au Sud-Ouest de l'Océan Pacifique à environ 18000 km de la France métropolitaine. Elle se situe au cœur de la zone subtropicale où sévissent de manière épidémique ou endémique de nombreuses maladies infectieuses dont la leptospirose.

En Nouvelle-Calédonie, ainsi que dans les autres collectivités Françaises du Pacifique, la leptospirose est reconnue depuis de nombreuses années comme un problème majeur de santé publique. C'est la zoonose la plus répandue au niveau mondial, caractérisée par l'étendue du réservoir animal, une forte incidence en milieu tropical, et un grand polymorphisme d'expression clinique.

La leptospirose est une maladie due à des bactéries, les leptospires, répandues dans le monde entier et dont il existe plusieurs variétés (sérogroupes). Le réservoir est l'animal sauvage (rats, mulots, cerfs,...) ou domestique (chiens, chevaux, bovins, ovins, porcs,...).

Le leptospire pénètre la peau lésée par l'intermédiaire d'eau, de terre humide, ou de végétation contaminée par l'urine d'animaux infectés. La transmission directe par contact animal est peu fréquente.

L'incubation est de durée variable selon le mode de contamination et peut aller de 2 à 21 jours dans les cas extrêmes. Les symptômes apparaissent 1 à 2 semaines en moyenne après la contamination. Il s'agit principalement :

- d'une fièvre élevée (en général supérieure à 39°C),
- de douleurs musculaires, articulaires, abdominales,
- de céphalées.

C'est une maladie grave et parfois mortelle, pouvant entraîner des manifestations hépatiques, rénales, hémorragiques, neurologiques, cardiovasculaires et pulmonaires.

Son épidémiologie est typiquement endémique avec des flambées épidémiques lors des périodes de forte pluviométrie, comme ce fut le cas au début de l'année 2008, puis en 2009.

C'est à nouveau le cas pour ce début d'année 2013. La Nouvelle-Calédonie a connu une situation climatique marquée par de fortes précipitations qui a contribué à une nette augmentation du nombre de cas confirmés de leptospirose.

2 OBJECTIFS

- **Objectif principal** : Proposer un descriptif précis de la situation épidémiologique 2013 de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie.
- **Objectif secondaire** : Identifier les facteurs de risque de la souche « Interrogans 5 » présente en Nouvelle-Calédonie et dont le réservoir est inconnu.

3 MATERIEL ET METHODE

3.1 FICHE DE MALADIE A DECLARATION OBLIGATOIRE

La Nouvelle-Calédonie est une collectivité qui dispose d'un statut particulier de large autonomie - *sui generis* ou « de son propre genre » - instauré par l'accord de Nouméa en 1998. De ce fait, certains domaines relèvent soit de la compétence de l'Etat français, soit d'une compétence partagée, soit d'une compétence exclusive de la Nouvelle-Calédonie. Ainsi, elle définit sa propre réglementation en matière de santé. Depuis 1991, cette réglementation inclut la leptospirose dans la liste des maladies à déclaration obligatoire.

Tout clinicien ou biologiste diagnostiquant un cas de leptospirose doit transmettre cette information au médecin inspecteur du Service des Actions Sanitaires. Les informations parviennent donc à la DASS-NC par fax ou courrier sous forme de fiche de maladie à déclaration obligatoire. Cette fiche regroupe les informations suivantes :

- **données administratives** : nom, prénom, sexe, date de naissance, adresse, numéro de téléphone, profession, coordonnées du médecin ou biologiste déclarant ;
- **données sur différentes expositions** : contact avec des animaux, activités de loisirs, cadre de vie ;
- **données cliniques** : signes cliniques avec date d'apparition, antécédents, diagnostic biologique, traitement antibiotique, hospitalisation, évolution.

La DASS-NC reçoit par ailleurs un relevé mensuel de l'IPNC récapitulant les cas de leptospirose probables et confirmés.

3.2 METHODE

La majeure partie des fiches de déclaration a été demandée ou complétée par entretien téléphonique auprès du médecin prescripteur.

Une première analyse des fiches de déclaration obligatoire recueillies pour l'année 2013 a mis en évidence la nécessité de vérifier et compléter les réponses de ces formulaires, afin de proposer à l'analyse statistique une base de données complète.

Chaque déclaration de cas positifs de leptospirose durant l'année 2013 a fait l'objet d'une investigation par la DASS-NC. Un agent s'est chargé de joindre par téléphone les cas positifs, ceci afin de déterminer ou confirmer le lieu de séjour de la personne durant les 30 jours précédant l'apparition des signes cliniques, et de compléter le restant de la fiche si nécessaire.

Par ailleurs, certains dossiers médicaux ont été consultés au CHT Gaston Bourret par des médecins de la DASS, car un certain nombre de fiches de déclaration n'avaient pas été complétées par le médecin prescripteur de la sérologie de leptospirose.

Les fiches de déclaration ont ensuite été saisies et analysées à l'aide du logiciel EpiInfo2000.

3.3 TESTS DIAGNOSTICS

Les tests sont réalisés par l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie.

Tests sanguins disponibles	Positivité des tests de leptospirose en jours après le début de la maladie										
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	2-3 mois
PCR *											
Sérologie **											

Le test PCR peut également être demandé sur des prélèvements de liquide céphalo-rachidien et d'urine.

* **Test PCR** : mise en évidence de l'ADN bactérien par PCR (Polymerase Chain Reaction ou Amplification génique).

**** Sérologie :** recherche des anticorps, nécessitant la comparaison de deux prélèvements espacés d'une dizaine de jours. La technique sérologique est la réaction de micro agglutination (MAT). La réponse est spécifique au sérotype, et nécessite l'emploi d'une batterie représentative des souches de *Leptospira* présentes en Nouvelle-Calédonie (actuellement, 10 antigènes sélectionnés).

La sérologie est considérée comme positive s'il y a :

- Séroconversion : apparition des anticorps entre 2 prélèvements précoce et tardif ; le titre passe de 0 à 400 minimum,
- Séroascension : multiplication par 4 du titre entre 2 prélèvements précoce et tardif.

3.4 DEFINITION DE CAS (source IPNC)

Cas probable	Prélèvement unique ayant un titre MAT supérieur au 1/400 ^{ème}
Cas confirmé	PCR positive ou Séroconversion ou Séroascension

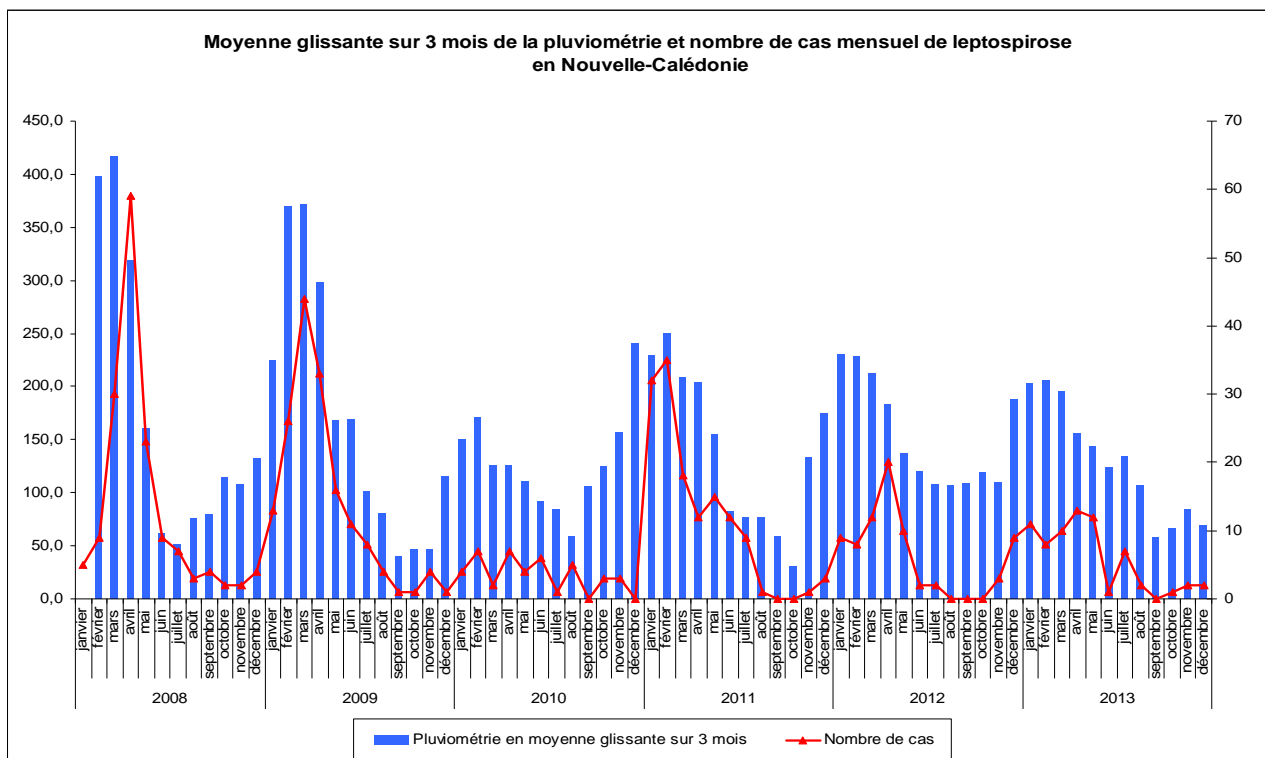
4 RESULTATS

Parmi les 69 cas confirmés de l'année 2013 :

- 68 fiches de déclaration obligatoire (98,6%), ont été envoyées à la DASS.

4.1 SITUATION ENDEMO-EPIDEMIQUE SAISONNIERE (Source météo.nc)

En 2013, la majeure partie des cas positifs de leptospirose (80%) est survenue durant les 6 premiers mois de l'année, comme chaque année depuis 2008 sauf en 2010.



La moyenne de pluviométrie a été calculée à partir des taux de pluviométrie relevés dans les communes de Nouméa, Koumac et Poindimié. L'observation de la pluviométrie et du nombre de cas de leptospirose sur un historique de 6 ans met en évidence une correspondance entre les mois où le niveau de pluviométrie est élevé et les mois où le nombre de cas de leptospirose est élevé. Notons que l'année 2010 où la pluviométrie globale a été inférieure à la moyenne a été marquée par un plus faible nombre de cas de leptospirose.

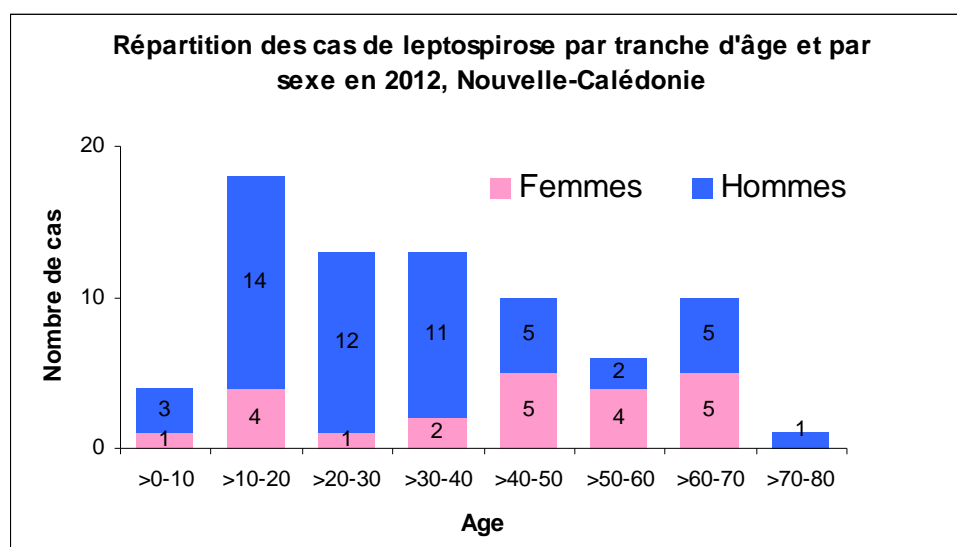
Les périodes épidémiques ainsi que le nombre annuel de cas positifs sont donc corrélés à la pluviométrie mensuelle et totale.

4.2 DESCRIPTION DES CAS

4.2.1 Age et sexe des malades

Le sexe ratio M/F est de 5,9. L'âge médian est de 28 ans (31 en 2012). L'âge moyen est de 32 ans avec des valeurs comprises entre 0 et 80 ans.

La répartition des malades par tranches d'âges et par sexe se présente de la façon suivante :



4.2.2 Catégories socio-professionnelles

ACTIVITES	2011		2012		2013		2011-2013	
	NB	%	NB	%	NB	%	NB	%
Enfant (- 6 ans)	2	1,4	0	0,0	1	1,4	3	1 %
Scolaire (6 ans et plus)	27	19,6	15	20,0	20	29,0	62	22 %
Retraité	4	2,9	7	9,3	1	1,4	12	4 %
Métiers à risque	14	10,1	14	18,7	8	11,6	36	13 %
Métiers divers	27	19,6	13	17,3	14	20,3	54	19 %
Sans emploi	58	42,0	13	17,3	4	5,8	75	27 %
Info manquante	6	4,3	13	17,3	21	30,4	40	14 %
Totaux	138	100 %	75	100 %	69	100 %	282	100 %

* Métiers à risque: agriculteur, maraîcher, éleveur de bétails, ingénieur des travaux publics...

** Autres métiers : métier sans exposition particulière aux facteurs de risques connus de la leptospirose.

Les enfants de 6 à 18 ans semblent définir une population particulièrement à risque.

4.2.3 Cadres de vie

De 2011 à 2013, 78 % des cas de leptospirose ont un cadre de vie tribal, tandis que 16 % appartiennent au milieu rural et 5 % au milieu citadin. A noter que sur l'année 2013, les personnes vivant dans le Grand Nouméa semblent surreprésentées.

Cadre de vie	2011		2012		2013		2011-2013	
Citadin	5	4 %	2	3 %	8	12 %	15	5 %
Rural	26	19 %	11	15 %	8	12 %	45	16 %
Tribal	107	77 %	61	81 %	52	75 %	220	78 %
Indéterminé	0	0 %	1	1 %	1	1 %	2	1 %
Totaux	138	100 %	75	100 %	69	100 %	282	100 %

4.2.4 Biologie

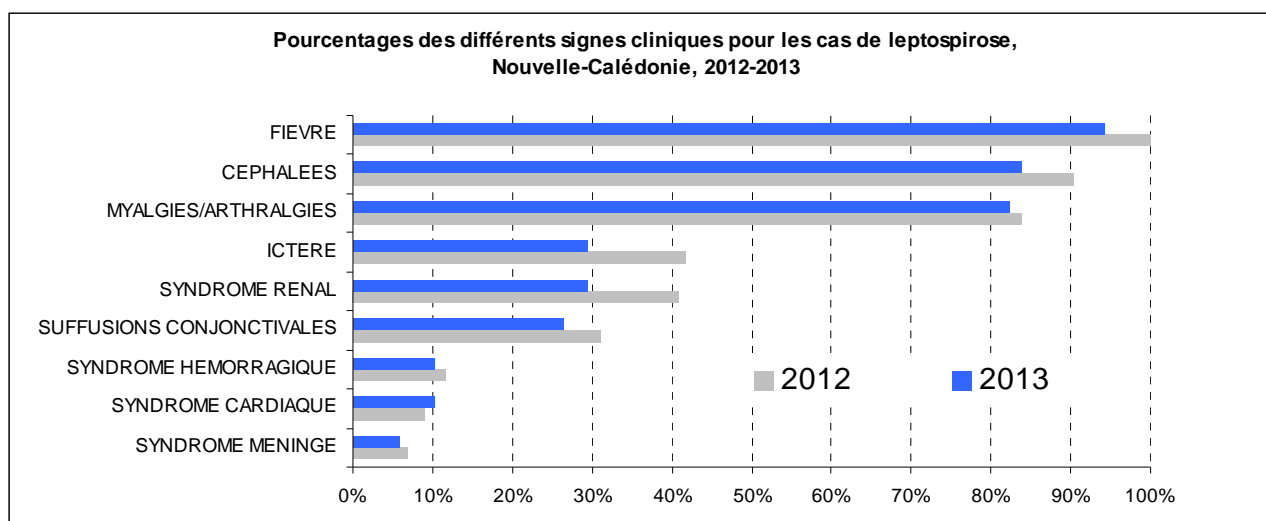
Parmi les 69 cas de leptospirose de l'année 2012 en Nouvelle-Calédonie, il y a :

69 cas confirmés :

- **65 cas** ont été diagnostiqués par PCR uniquement
- **3 cas** l'ont été par PCR + sérologie
- **1 cas** l'a été par séroconversion ou séroascension

4.2.5 Signes cliniques

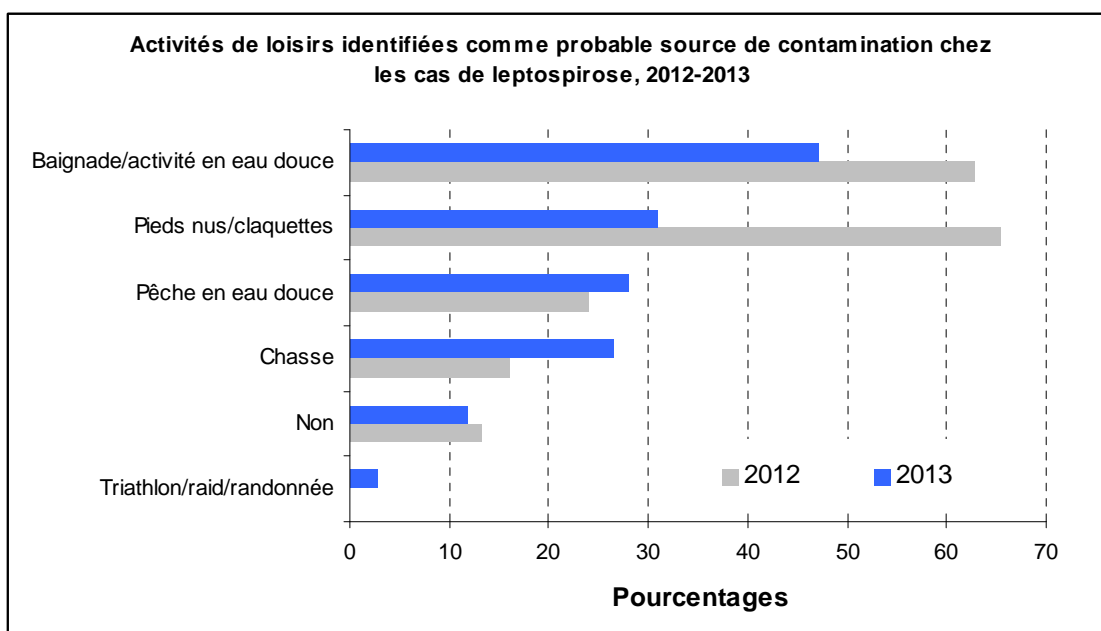
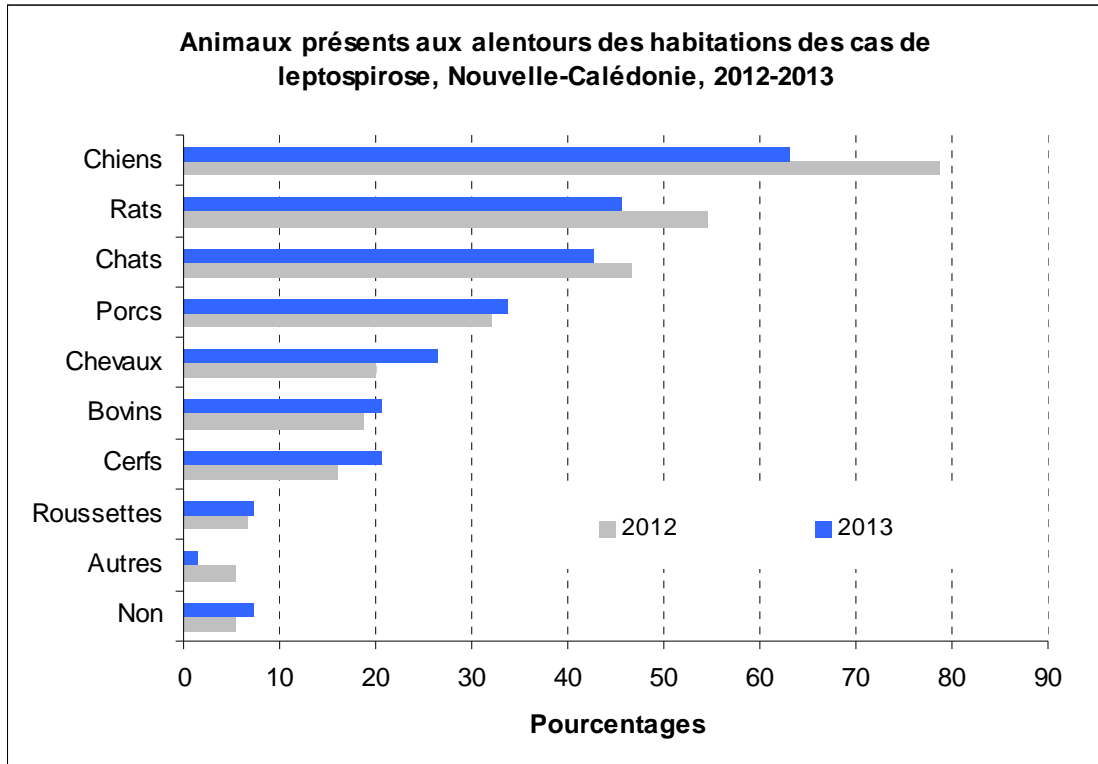
L'histogramme ci-dessous représente les pourcentages des différents signes cliniques notés sur les fiches de déclaration quand celles-ci ont été complétées.



La fièvre, les céphalées et les myalgies/arthralgies sont les trois signes cliniques principaux qui sont présents dans la majorité des cas positifs de leptospirose (plus de 80 %).

4.2.6 Facteurs d'exposition

4 personnes déclarent n'avoir jamais été en contact avec des animaux (contact avec les animaux = Non). 1 personne déclare avoir été en contact avec un animal non présent dans cette liste (poules).



32 personnes déclarent avoir exercé une activité en eau douce dans les 30 jours précédant la maladie, soit 47% des déclarations de leptospirose. Il est à noter également que 21 personnes déclarent avoir marché pieds nus. Ce dernier facteur aggravant semble se retrouver fréquemment en complément d'autres facteurs de risque, comme le contact avec les animaux. 14 parmi les 21 marcheurs pieds nus déclarent par exemple être en « contact » avec des rats.

4.2.7 Hospitalisation, réanimation

Parmi les 69 cas de leptospirose diagnostiqués en 2013 :

- 44 personnes ont nécessité une hospitalisation (63,8% du nombre total de cas, 87% en 2012), dont 6 en service de réanimation de l'hôpital Gaston Bourret (13,6% du nombre de cas hospitalisés, 26% en 2012).
- Une personnes est décédée (2% du nombre de cas hospitalisés, 3% en 2012).

La durée moyenne des hospitalisations est de 6 jours, la médiane est de 4 jours. Les valeurs sont inégalement réparties autour de la moyenne, avec une valeur maximale de 39 jours. La durée moyenne de séjour est sensiblement identique à celle observée en 2012 (5,6 jours).

La durée moyenne des hospitalisations en réanimation est de 6.8 jours (contre 3.3 en 2012), avec un minimum de 3 jours et un maximum de 10 jours.

En 2013, il semble que les formes de leptospirose soient en moyenne moins graves, puisque les taux d'hospitalisation et de réanimation ont été sensiblement moins élevés. Cependant, la durée moyenne du séjour en réanimation ayant été en moyenne 2 fois plus élevée, on peut s'interroger sur une possible évolution des critères d'hospitalisation en réanimation.

4.2.8 Délai de diagnostic

Année	Nombre d'observations	Moyenne	Minimum	Médiane	Maximum
2012	75	2,8 jours	0	3	14
2013	63	2,9 jours	0	2	23

Le délai de diagnostic est l'écart entre la date de début des signes cliniques et la date de traitement. Dans le cas où la date de traitement n'avait pas été renseignée sur la fiche de déclaration, nous avons retenu la date du premier prélèvement sanguin.

4.2.9 Décès

En 2013, une personne pour 69 cas de leptospirose est décédée des suites d'une leptospirose comme cause principale de décès (2 décès pour 75 cas en 2012). Le taux de mortalité de la leptospirose observé chaque année est très élevé, malgré un nombre contenu de cas.

- Taux de létalité

	Année		
	2011	2012	2013
Nombre de décès	6	2	1
Taux de létalité (pour 1000)	43,5	26,7	14,5

- Données socio-démographiques :

		Année		
		2011 N(age)	2012 N(age)	2013 N(age)
Sexe	Masculin	2	2	1
	Féminin	4		
Cadre de vie	Tribal	5	2	1
	rural	1		
Profession	Agriculteur		1	0
	Agriculteur-éleveur		1	1
Age	< 20 ans	1(17)		
	Entre 20 et 50	2(26, 45)	2(24, 34)	
	> 50ans	3(53, 56, 57)		1(61)

- En contacts avec les animaux :

Année	Bovins	Cerfs	Chats	Chevaux	Chiens	Porcs	Rats	Roussettes
2011	1	2	3	1	4	2	4	1
2012	0	1	2	1	2	1	2	1
2013	1	0	0	0	0	0	0	0

- Autres facteurs de risque :

	Année		
	2011	2012	2013
Pêche en eau douce	1	2	0
Baignade/activité en eau douce	2	2	0
Chasse	0	1	0
Triathlon/Raid/Randonnée	0	0	0
Pieds nus	3	2	0

- Symptômes :

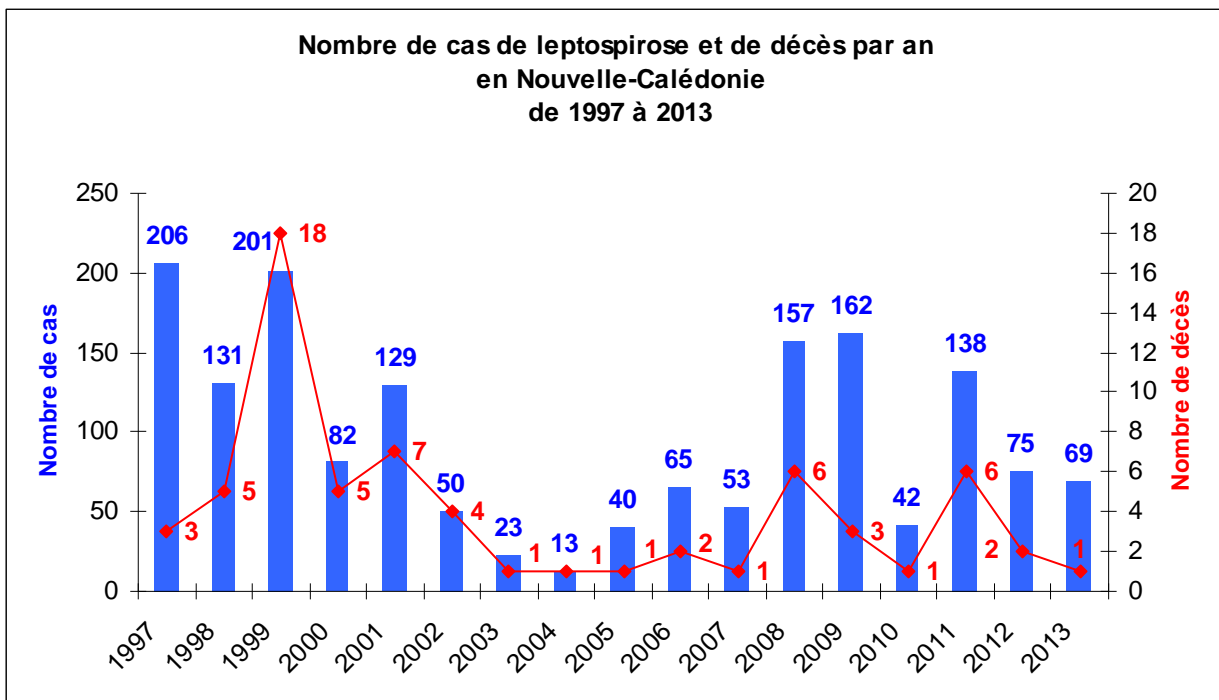
Année	Fièvre	Céphalées	Ictère	Syndrome méningé	Syndrome hémorragique	Myalgies/Arthralgies	Suffusions conjonctivales
2011	6	4	4	2	2	4	1
2012	2	1	1	0	0	2	1
2013	1	0	1	0	0	1	0

Année	Syndrome cardiaque	Syndrome rénal	Choc
2011	2	6	6
2012	2	1	1
2013	1	0	1

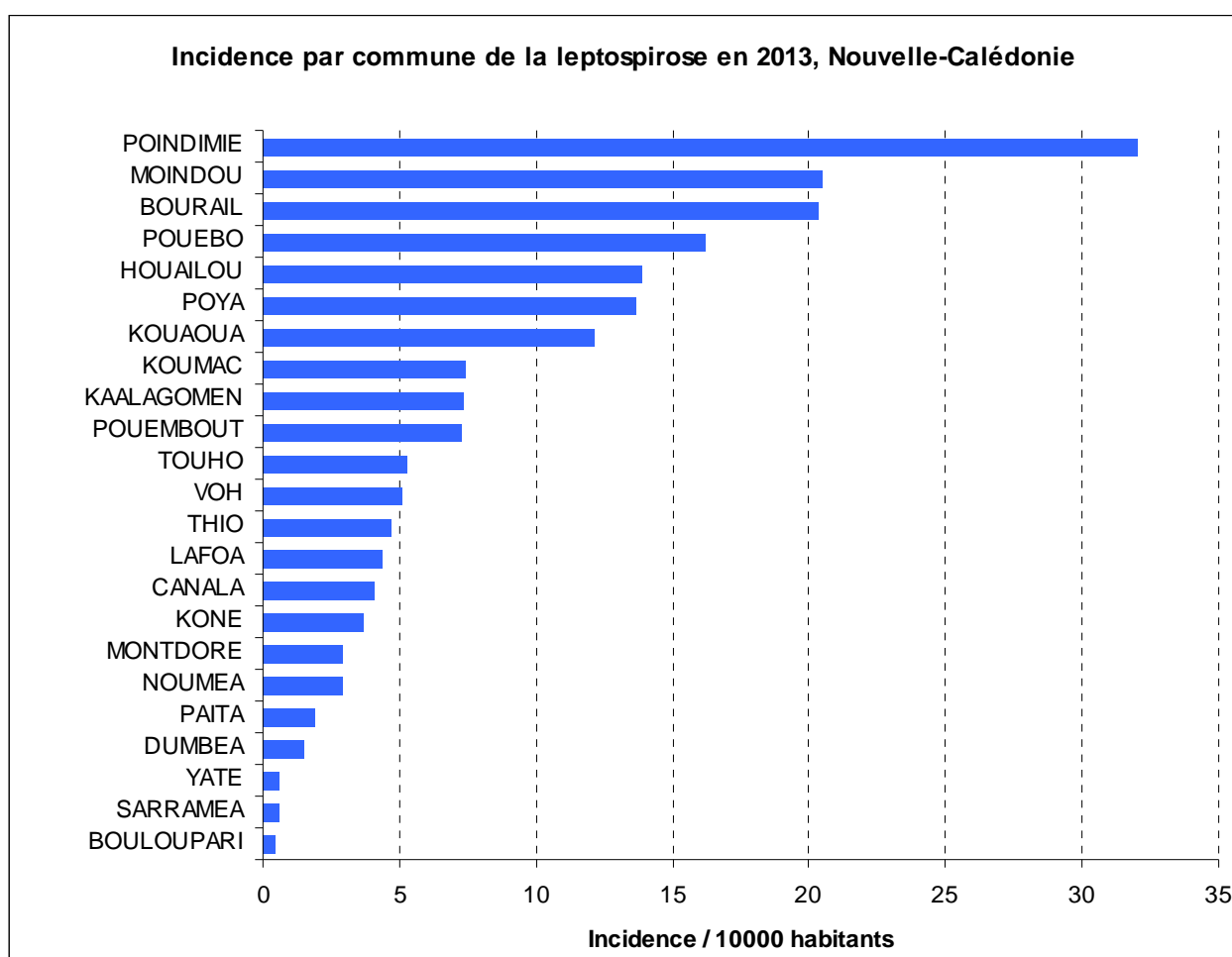
- Sérogroupes, durée d'hospitalisation et délai de diagnostic :

		Année		
		2011	2012	2013
Sérogroupes	Icterohaemorrhagiae	5	2	1
	Australis	1		
Durée d'hospitalisation		De 1 à 3 jours	Moins de 1 jour	2 jours
Délai de diagnostic		De 2 à 4 jours	3 et 4 jours	Le jour même

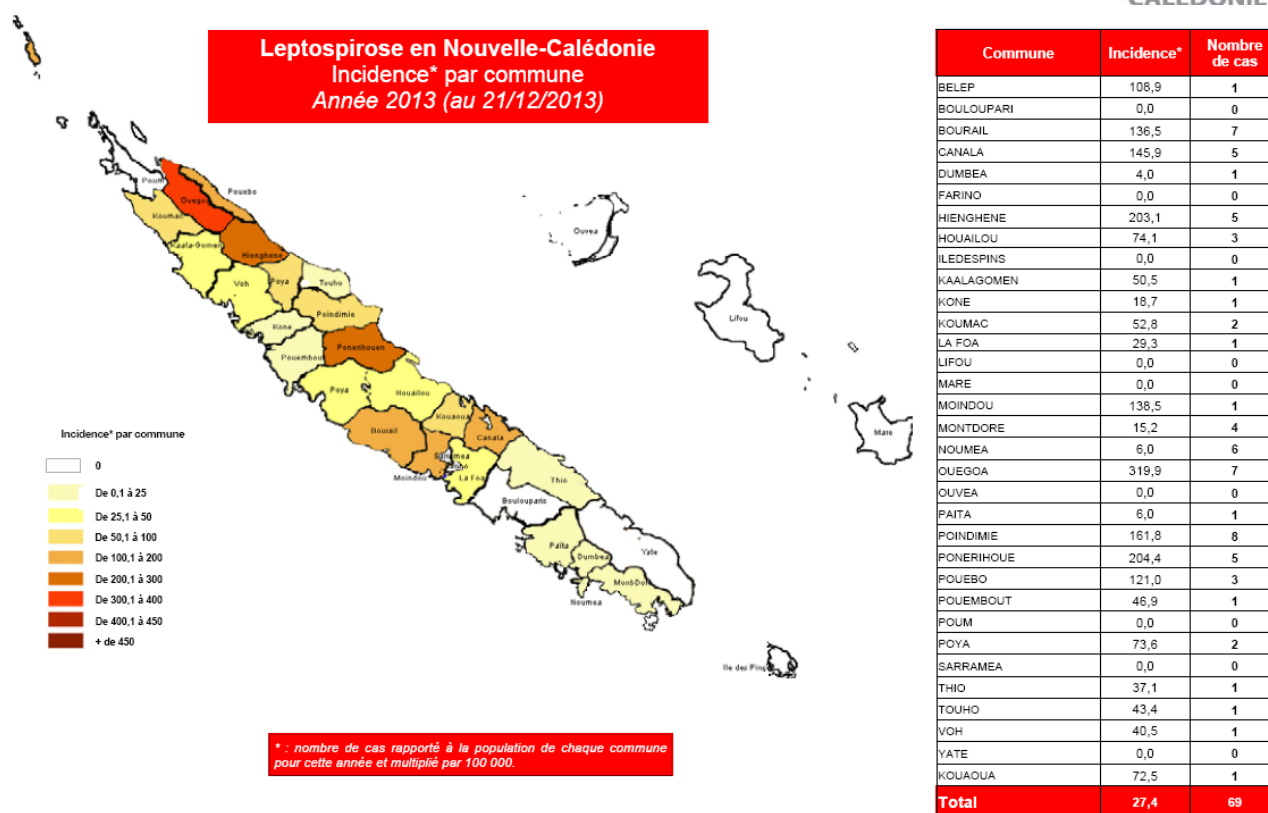
4.2.10 Historique des nombres de cas de leptospirose de 1997 à 2012



4.2.11 Incidence pour 10 000 habitants par commune



Les données du nombre d'habitants par commune sont tirées du recensement de la population de Nouvelle-Calédonie en 2009 réalisé par l'ISEE.



Cette carte met en évidence une concentration de cas positifs dans la partie Nord-Est de la Nouvelle-Calédonie. Par ailleurs, aucun cas n'a été déclaré sur les îles loyautés. Cette répartition correspond à celle constatée les années précédentes.

4.3 LES SEROGROUPES (source de données : Unité de recherche sur la leptospirose de l'IPNC, sous la responsabilité de M. Cyrille Goarant)

4.3.1 Activité du laboratoire

Année 2006		2007	2008	2009	2010	2011	2012
Nombre d'échantillons testés		1310	2823	4512	1612	2719	2081
Nombre d'analyses réalisées	Sérologies MAT	1277	2607	4479	1493	2209	1377
	Tests PCR	252	674	936	353	970	974
	Total	1518	3281	5415	1846	3179	2351
Patients testés positifs pour la Leptospirose		110	210	214	51	138	75
% positifs		8,4 %	7,4 %	4,7 %	3,2 %	5,1 %	3,4 %

4.3.2 Les souches de leptospires, sérogroupes et sérovars, utilisé par l'IPNC pour le diagnostic sérologique de la leptospirose

Sérogroupe	Sérovar
AUSTRALIS	australis
AUTUMNALIS	autumnalis
BALLUM	castellonis
BATAVIAE	bataviae
CANICOLA	canicola
ICTEROHAEMORRHAGIAE	icterohaemorrhagiae
ICTEROHAEMORRHAGIAE	copenhageni
PANAMA	panama
POMONA	pomona
PYROGENES	pyrogenes
SEMARANGA	patoc

4.3.3 Les sérogroupes identifiés de 2009 à 2013

Evolution des sérogroupes ou génotypes les plus représentés entre 2009 et 2013

Année	2009		2010		2011		2012		2013	
	NB	%	NB	%	NB	%	NB	%	NB	%
Ballum	9	6.7	3	8.8	8	6.1	3	4.2	5	7.2
Australis	11	8.1	1	2.9	18	13.6	9	12.5	8	11.6
Pyrogenes (réservoir inconnu)	8	5.9	10	29.4	39	29.5	18	25.0	10	14.5
Icterohaemorrhagiae	107	79.3	20	58.8	67	50.7	41	56.9	39	56.5
Autres							1	1.4	7	10.1
TOTAL	135	100	34	100	132	100	72	100	69	100

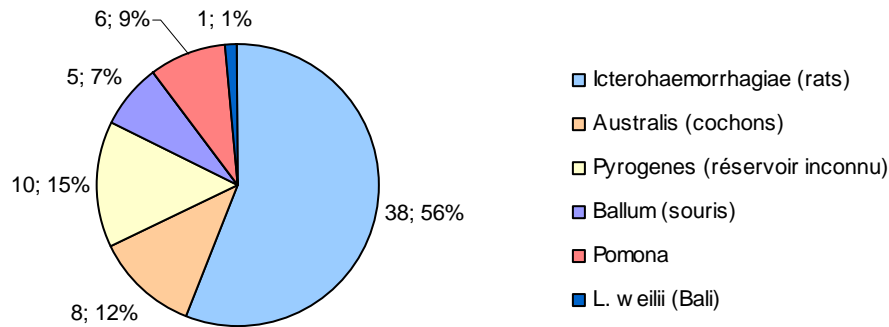
En 2013, parmi les 69 cas positifs de leptospirose :

- 69 cas ont leur séro groupe identifié,
 - Dont 1 provient de la sérologie (MAT),
 - Et 68 proviennent du génotypage.

Répartition des sérogroupes ou génotypes chez les 69 cas de leptospirose de l'année 2013

Génotype ou séro groupe	Nombre
Icterohaemorrhagiae	39 (56.5%)
Pyrogenes	10 (14.5%)
Australis	8 (11.6%)
Pomona	6 (8.8%)
Ballum	5 (7.4%)
L. weilii (Bali)	1 (1.4%)
Total	69

2013



La répartition des sérogroupes de 2009 à 2013 semble montrer une certaine variabilité dans la représentativité des sérogroupes. Le séro-groupe Icterohaemorrhagiae varie par exemple d'une proportion de 79.3 % de l'ensemble des cas en 2009 à 50% en 2011, le séro-groupe Australis de 2.9% en 2010 à 13.6% en 2011. Néanmoins, sur la période d'observation allant de 2009 à 2013, certaines observations semblent constantes. Icterohaemorrhagiae est le séro-groupe systématiquement majoritaire avec une proportion dépassant les 50%. Depuis 2010, la souche Interrogans 5 (I5), qui donne des séroconversions pour le séro-groupe Pyrogenes et dont le réservoir est inconnu est le second séro-groupe le plus représenté avec une fréquence de 25 % sur les 4 dernières années. Le troisième séro-groupe est le séro-groupe Australis avec 11,4 % sur les 4 dernières années. De plus, en 2013, 6 sérogroupes de souche Pomona ont été identifiés, soit un chiffre bien supérieur aux années précédentes pour ce séro-groupe relativement rare sur le territoire (en moyenne 1 cas par an).

4.3.4 Croisement entre la souche I5, les facteurs de risque et de gravité

Le croisement des données de la fiche de déclaration avec la souche I5 met en évidence des différences significatives pour les variables suivantes :

- Concernant les facteurs de risque :

Baignade en eau douce : 82 % pour la souche I5 contre 53 % pour les autres (P<0,001).

Seule la baignade en eau douce est restée significative, puisque le contact avec les rats ainsi que la pratique de la chasse n'ont pas confirmé leurs liens statistiques avec ce séro-groupe en 2013.

- Concernant les facteurs de gravité :
 - Syndrome rénal** : 27.9 % pour la souche I5 contre 47.4 % pour les autres (P<0,01).
 - Syndrome cardiaque** : 3.2 % pour la souche I5 contre 13.7 % pour les autres (P<0,01).
 - **Passage en réanimation** : 20.4 % pour la souche I5 contre 36.5% pour les autres sérovars (P<0,05).
- La réanimation étant un facteur de gravité, la souche I5 semble donner une forme de leptospirose moins grave que les autres.

5 CONCLUSION

L'année 2013 a été marquée par une saison épidémique modérée de leptospirose : 69 cas confirmés, 1 décès. Tous les sérovars ont pu être identifiés précisément par l'Unité de recherche sur la leptospirose de l'IPNC (sous la responsabilité du DR Cyrille Goarant).

L'étude épidémiologique effectuée par le Service des Actions Sanitaires a permis de consolider la base de données en renseignant le nombre de champs mal ou non-remplis de la fiche de déclaration obligatoire. L'année 2013 confirme l'installation de la souche I5 sur le sol calédonien dont le positionnement comme second serovar sur le territoire en terme de fréquence semble acquise. A noter que l'analyse des questionnaires concernant ce serovar a permis d'identifier l'activité de baignade comme facteur de risque particulier ainsi que sa présence prédominante dans 3 communes de la côte Nord Est (Poindimié, Hienghène et Ponérihouen).

L'identification du réservoir animal de la souche I5 est une priorité pour 2014 et se fait à la fois de façon prospective par échantillonnage actif de mammifères domestiques et sauvages afin de déterminer les souches de leptospires pathogènes en circulation (IPNC) et par la surveillance des cas humains positifs à I5 avec identification des contacts animaux et prélèvements de ces derniers (collaboration DASS-IPNC).

*Le médecin inspecteur
Chef du service des actions sanitaires*

Direction des affaires sanitaires et sociales de la Nouvelle-Calédonie



Docteur Jean-Paul GRANGEON



VetAgro Sup

Campus Vétérinaire
de Lyon

Ministère de l'Agriculture et de l'Agro-Alimentaire et de la Forêt

Institut d'enseignement supérieur et de recherche
en alimentation, santé animale, sciences agronomiques et de l'environnement



Laboratoire des Leptospires

Rapport de l'activité diagnostic « Leptospirose » VetAgro Sup Campus Vétérinaire (ENVL) N°6

Pr. Angeli KODJO
Pr. Pierre DEMONT

Sommaire

Faits notifiables	page 3
1 - Présentation du laboratoire	page 4
2 - Données générales	page 4
3 - Origine des souches utilisées	page 5
4 – Résultats	page 6
4 – 1 Motifs des analyses	page 6
4 – 2 Panel des sérogroupes utilisés et seuil de positivité selon les espèces animales.	page 6
4 – 3 Résultats annuels	page 8
4 – 4 Etude par espèce	page 11
Conclusion	page 17
Annexes	page 18

Laboratoire des Leptospires

Rapport d'activité Diagnostic - Recherche

Faits notifiables

- Démarrage du projet de recherche « Covalept »
- Travaux de Thèse de Doctorat d'Université de Anne-Laure ZILBER.
- Publications 2013:

- * Epidemiological study of animal leptospirosis in new caledonia..
- * Human leptospirosis: An emerging risk in Europe?.
- *High-resolution typing of *Leptospira interrogans* strains by multispacer sequence typing (sous presse).

- **Groupe de travail GLEAN:**
Brasilia – mars 2013

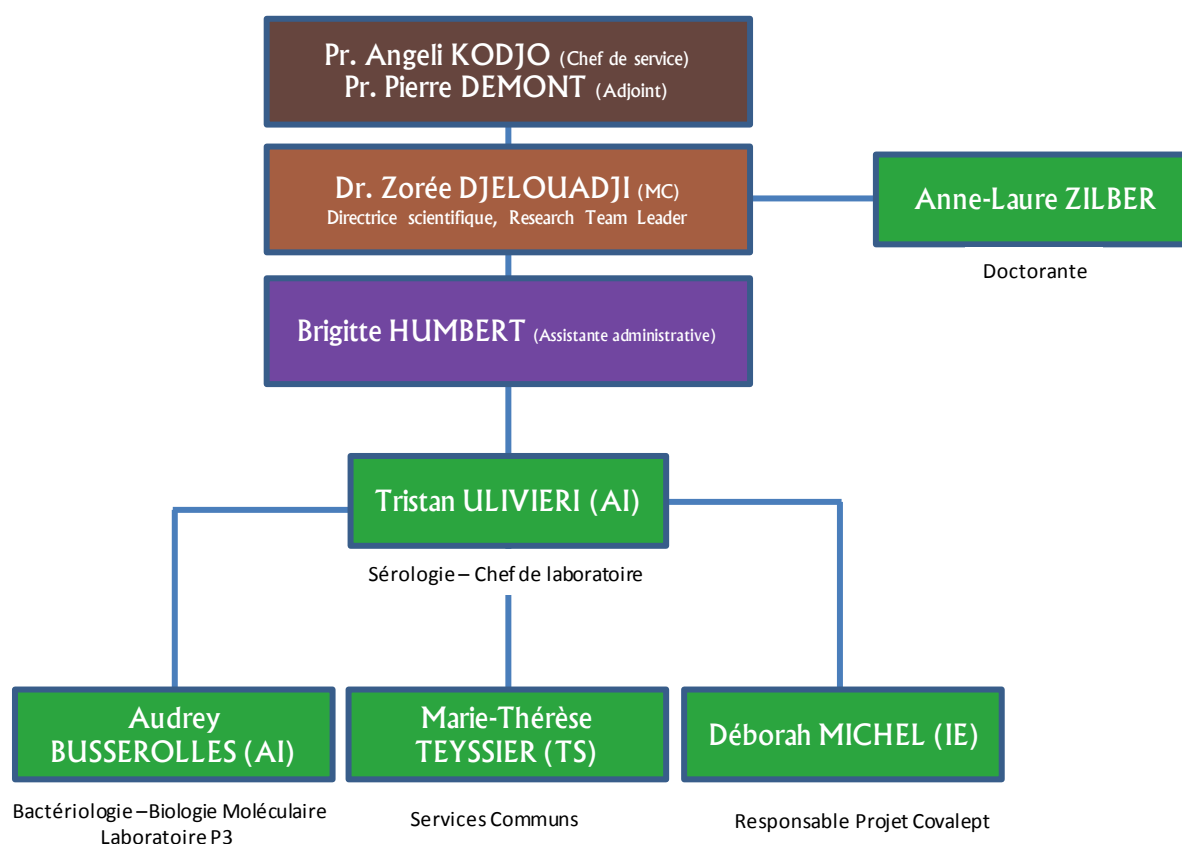
- **Encadrement de la recherche :**

- * Soutenance de la thèse d'Université de Julie Vein
- * Anne-Laure Zilber Thèse d'Université Lyon 1
- * Florence Ayrat Résidence Santé Publique (European College Public Health)
- * Solange Same (Master recherche Epidémiologie – Lyon 1)

1 - Présentation du laboratoire

L'activité « Diagnostic Leptospirose » est intégrée au laboratoire de diagnostic bactériologique en complément d'une activité d'appui technique (diagnostic, expertise, conseil en bactériologie vétérinaire). Les domaines relatifs aux activités de recherche, (y compris celles sur les Leptospire), s'inscrivent dans le cadre de l'Unité Propre de Recherche « Rongeurs Sauvages », Unité sous contrat INRA 1233. Le présent document concerne principalement l'activité « Diagnostic de la Leptospirose ». Quelques informations sur les prolongements en recherche seront données en complément. L'équipe a la composition et les activités suivantes :

Organigramme du Laboratoire « Diagnostic bactériologique »



Voir les divers contacts en annexe.

2 - Données générales

Le bilan des analyses sérologiques présenté concerne les sérums d'animaux reçus dans le cadre d'une démarche diagnostique, qu'il s'agisse d'individus isolés, de cheptels ou groupes d'animaux. En parallèle, le laboratoire a reçu 82 sérums d'animaux à tester dans le cadre d'une exportation. Les résultats obtenus pour ces animaux d'exportation ont été exclus des données globales, ceci afin de permettre la comparaison avec les années précédentes.

Sur le plan technique, les analyses sont effectuées par le test de référence ou test de microagglutination (MAT) réalisé avec des souches de référence vivantes. Les

souches employées sont entretenues et cultivées au laboratoire. Selon les procédures du laboratoire, elles sont utilisées vivantes dans un délai de 6 à 8 jours maximum après la mise en culture.

3 – Liste et origine des souches utilisées

Tableau 1 : Liste des souches utilisées pour le diagnostic de la leptospirose

Nom du séro groupe	Abréviation du séro groupe	Nom du sérovar	Souche	Origine*
ICTEROHAEMORRAGIAE	IH	icterohaemorrhagiae icterohaemorrhagiae copenhageni	19 RGA Wijnberg	ENVN CNR CNR
AUSTRALIS	AUS	munchen australis bratislava	Munchen C 90 Ballico Jez-Bratislava	CNR CNR CNR
AUTUMNALIS	AUT	autumnalis bim	Akiyami A 1051	CNR CNR
BALLUM	BAL	castellonis	Castellon 3	CNR
BATAVIAE	BAT	bataviae	Van Tienen	CNR
CANICOLA	CAN	canicola	Hond Utrecht IV	CNR
GRIPPOTYPHOSA	GRIP	grippotyphosa vanderhoedoni	Moskva V. Kipod 179	CNR CNR
HEBDOMADIS	HEB	kremastos hebdomadis	Kremastos Hebdomadis	CNR CNR
PANAMA	PAN	panama mangus	CZ 214 K TRVL/CAREC137774	CNR CNR
POMONA	POM	pomona mozdok	Pomona 5621	CNR CNR
PYROGENES	PYR	pyrogenes	Salinem	CNR
SEJROE	SEJ	sejroe	M84	CNR
		saxkoebing	Mus 24	CNR
		hardjo	Hardjoprajitno	CNR
TARASSOVI	TAR	tarassovi	Perepelitsin	CNR

ENVN : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes ; Centre National de Référence Institut Pasteur-Paris.

Des souches représentant un exemplaire de chaque espèce de Leptospire acquises auprès du CNR sont également disponibles, elles sont utilisées dans le cadre des travaux de recherche.

4 – Résultats

4 – 1 Motifs des analyses :

Pour les animaux de sport et de loisir (Chien et Cheval) les demandes sont émises lors d'évolution d'une maladie d'expression aiguë et de plus en plus fréquemment chez le chien lors d'insuffisance rénale et/ou hépatique chroniques. Chez le cheval les demandes sont associées au syndrome d'uvéite récidivante, à un avortement. Par ailleurs la recherche d'infection leptospirosique est actuellement réalisée dans le cadre de baisse de forme ou performance. Chez les animaux de production, (Ruminants et Porcs) il s'agit généralement de rechercher les causes à l'origine de troubles de la reproduction (infertilité, avortements, retours en chaleurs...)

4 – 2 Panel des sérogroupes utilisés et seuil de positivité selon les espèces animales.

Ces panels par espèce animale, initialement proposés par le laboratoire B2ML de Nantes ont été légèrement modifiés compte-tenu de l'expérience propre du laboratoire. L'idéal serait de s'aligner sur un schéma national à définir en accord avec le CNR.

Animaux de loisirs

Chien

IH ; CAN ; GRIP ; AUS ; AUT ; SEJ ; PYR ; PAN ; BAT

Titre seuil retenu = 100

La vaccination est couramment pratiquée dans cette espèce, et des anticorps vis-à-vis des sérovirs vaccinaux traditionnels (*Canicola-icterohaemorrhagiae*) sont détectés, c'est pourquoi les résultats obtenus sont fournis ainsi qu'ils ont été interprétés au moment de leur édition compte-tenu de l'anamnèse. Des nouveaux vaccinaux sont intervenus au cours de l'année 2013 incluant le sérovir *Grippotyphosa* (vaccin L3), malheureusement l'information d'utilisation de ce vaccin n'est pas toujours indiquée sur les fiches d'anamnèse, dans ce cas, la sérologie a été interprétée comme précédemment.

Cheval

IH ; CAN ; GRIP ; AUS ; AUT ; SEJ ; PYR ; PAN ; BAT

Titre seuil retenu = 200

Le titre seuil de 200 est retenu pour le cheval car cette espèce qui développe une forte réponse humorale est par ailleurs très exposée aux leptospires du fait de son mode de vie, la présence d'anticorps est donc fréquente dans cette espèce. Idéalement, le diagnostic devrait reposer sur une détermination de cinétique, mais cette situation est rare ou peu connue car la plupart des demandes faites au laboratoire le sont dans le cadre d'une sous-traitance.

Animaux de production :

Pour les espèces de production (bovins, petits ruminants et porcs), les troubles de la reproduction sont observés alors que la réponse sérologique est généralement déjà établie, en particulier chez certains animaux du même élevage. C'est pourquoi il est recommandé d'inclure dans le diagnostic qui doit être de cheptel, des sérums issus des animaux présentant les troubles ET des sérums de congénères asymptomatiques. Cette considération est généralement assez bien respectée pour les porcs et reste encore perfectible pour les bovins.

Porc

IH ; CAN ; GRIP ; AUS ; AUT ; SEJ ; POM ; BAT; BAL; TAR

Titre seuil retenu = 100

Compte-tenu d'une très grande fréquence de réactions d'agglutination non spécifique dans cette espèce, une attention particulière doit être portée à la prise de sang. Un petit formulaire indiquant les précautions à prendre lors de ces prises de sang a été rédigé à cet effet.

Bovins

IH ; GRIP ; AUS ; AUT ; SEJ

Titre seuil retenu = 100

4 – 3 Résultats annuels

Au total, 6607 sérums ont été reçus au laboratoire dans le cadre d'un diagnostic d'infection leptospirosique .

Comparées à l'année 2012, le nombre total de demandes d'analyses est strictement stable.

Tableau 2 : Synthèse annuelle

	Chiens	Cheval	Bovins	Ovins-Caprins	Porcs	Autres	Total
Dilution seuil	100	200	100	100	100	40	
Nombre de sérums testés	793	1187	1355	74	3155	43 (principalement des rongeurs de laboratoire et 3 chats)	6607
Nombre de sérums présentant des anticorps à au moins un des sérogroupes testés	321	907	473	45	663		
Pourcentage 2013	40.7	76.4	34.9	60.8	21		
Pourcentage 2012	45.1	86	36.1	59.6	19.6		
Pourcentage 2011	45	87.3	31.2	41.3	15.2		
Pourcentage 2010	56.1		28.67	41.6	14.3		

Evolution de l'activité sur les dernières années

Activité générale de diagnostic

Tableau 3: Evolution générale de l'activité du laboratoire (diagnostic sérologique)

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Chiens	184	633	564	928	670	720 (+35)	793 (73)
Chevaux	30	61	44	126	642	1046	1187
Bovins	715	1261	1165	1122	1664 (+2170)	1646 (+2673)	1355 (2)
Ovins- Caprins	19	60	29	41	46	109	74
Porcins	1505	3035	3182	1793	2053 (+3103)	2818 (+91)	3155 (7)
Autres	30	12	65	194	910	265	43
Total	2483	5062	5049	4204	5985	6604	6607

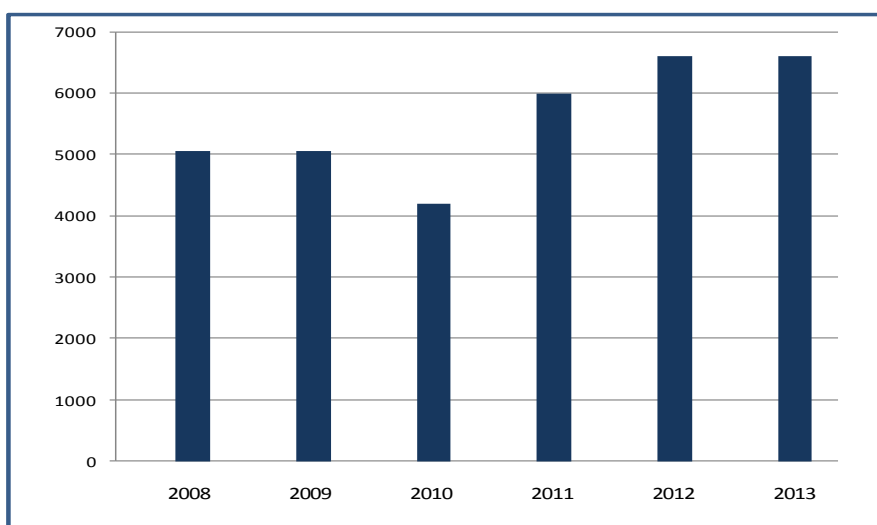


Fig1 : Evolution générale de l'activité du laboratoire (diagnostic)

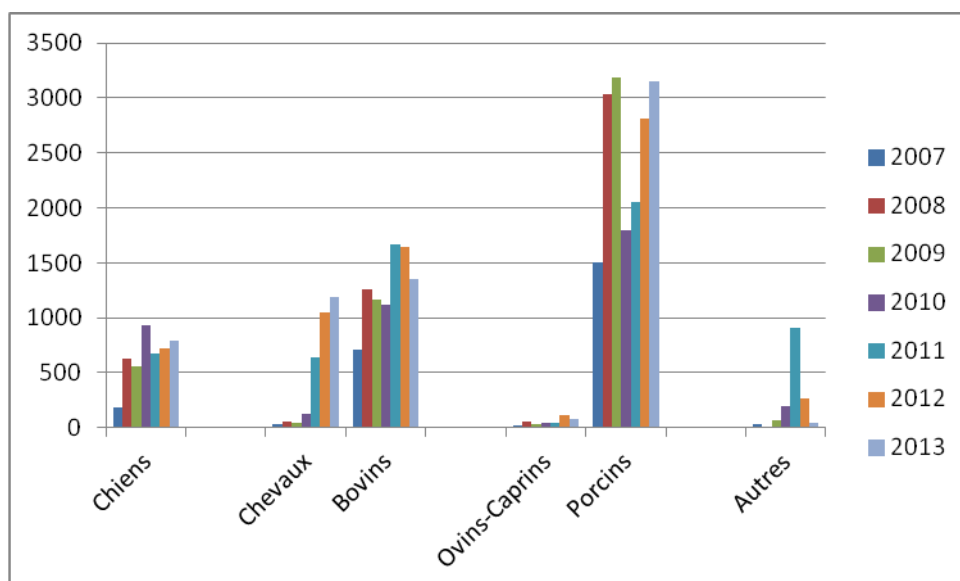


Fig 2 : Evolution par espèce de l'activité diagnostic du laboratoire.

Dans la catégorie « Autres », le laboratoire a analysé en 2011 des sérums exotiques dans le cadre de projets collaboratifs avec l'Unité « URMITE » de Marseille. Le projet ne s'est pas renouvelé cette année.

Tableau 4 : Synthèse des analyses PCR effectuées au laboratoire

Espèces ou types de prélèvement	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons +
Chiens	248	56
Bovins	46	5
Ovins-caprins	17	3
Chevaux	63	26
Porcins	12	0
Chevreaux	3	1
Eaux d'abreuvement chevaux	3	0
Total	392	91 (23%)

4 – 4 Etude par espèce :

- **Chiens (tableau 5)**

Les diagnostics sérologiques dans cette espèce, correspondent habituellement à des demandes relatives à des cas aigus de gastro-entérite hémorragique, d'insuffisance rénale ou hépatique aiguë. De plus en plus, cette demande s'inscrit également dans le cadre d'une recherche des causes de vomissements, d'apathie générale, et d'hémorragies pulmonaires.

Quelques demandes sont également faites dans le cadre d'évolution de leptospirose subaiguë et/ou chronique sur un tableau d'insuffisance hépatique et/ou rénale. La sérologie dans ce cas peut objectiver un contact avec des Leptospires sans pour autant qu'il soit possible de dater ce contact. En conséquence, inférer ce contact à l'évolution chronique ne reste donc qu'une hypothèse parmi d'autres.

Nombre total de sérums de chien testés dans un cadre diagnostique sérologique: 793

Nombre de chiens diagnostiqués atteints de leptospirose quel que soit le sérovar : 321 (soit 40.7%) des sérums de chien soumis à analyse dans un cadre de suspicion de leptospirose.

Ces données sont présentées de manière « interprétées » afin d'en faciliter la compréhension: On parle donc bien de profils sérologiques significatifs ou pas d'un contexte d'infection clinique leptospirosique, en considération du statut vaccinal de l'animal, lorsque celui-ci est connu. Lorsqu'ils sont univoques, les sérogroupe infectant sont indiqués. En dehors de cette indication, la réponse sérologique observée l'est à plusieurs sérovars et nous avons considéré que l'incidence relative de chaque sérovar reste la même que celle observée pour les réponses univoques.

Tableau 5 : Incidence des sérogroupe au cours des infections leptospirosiques canines.

	Total des sérums analysés	Confirmation d'infection leptospirosique
	793,0	321,0
		40,7%
	Nbre +	%
Réactions Croisées*	162	50,5
Confirmation d'infection à		
AUS	97	30,2
SEJ	14	4,4
IH	13	4,0
CAN	11	3,4
AUT	9	2,8
GRIP	8	2,5
PAN	5	1,6
PYR	2	0,6
POM	0	0,0
Total	159	49,5
		100,00

* Situation d'infection leptospirosique dans laquelle la nature du séroroupe infectant ne peut être indiquée de manière univoque.

Ces données montrent que l'épidémiologie de la leptospirose canine en France reste dominée par la fréquence des infections au sérotype Australis. Les sérotypes Icterohaemorrhagiae et Canicola, ont une prévalence qui reste globalement stable. Le sérotype Sejroë dont il n'avait pas été à tort, dans le dernier rapport ressort comme un des acteurs majeurs de l'infection canine. Il semble que ceci soit le cas dans de nombreux pays. Les autres sérotypes à mentionner sont Grippotyphosa, Autumnalis.

- Cheval (tableau 6)

Le nombre de sérums testés est resté globalement stable. Les données obtenues montrent que plus de 75 % des chevaux présentent des anticorps vis à vis des mêmes leptospires que celles rencontrées chez le chien, avec toutefois une incidence du sérotype Pyrogenes plus élevée dans cette espèce.

Nombre de sérums reçus : **1187**

Nombre de sérums répondant à au moins un des sérovars testés avec un titre ≥ 200 = **907 (76.4%)**.

Tableau 6 : Incidence des sérogroupes au cours des infections leptospirosiques équinnes.

		Total des sérums analysés	Positivité sérologique à un ou plusieurs sérovars (a)		
		1187,0	907,0		
			76,4%		
Sérogroupe	Sérologie positive au seul sérogroupe mentionné (b)	Positivité au séroupe à un titre ≥ 800 avec un titre < 800 en réaction croisée (c)	Réactions croisées incluant le sérovar indiqué*	Total	Incidence apparente du sérogroupe $=((b+c)/a)*100$
AUS	44	138	487	669	20,07
IH	98	38	641	730	14,99
SJ	4	28	65	97	3,53
PYR	3	14	262	279	1,87
GRIP	8	8	71	87	1,76
AUT	7	9	350	366	1,76
PAN	3	3	139	145	0,66
CAN	0	1	96	97	0,11
POM	0	1	53	54	0,11
Total	167	240	500**		
		407			
%		45,00	55,00		45,0

*Réactions sérologiques dans lesquelles une positivité équivoque est observée pour sérogroupe mentionné.

** Un séroupe donné peut réagir en conjonction avec un autre sérogroupe, la valeur indiquée concerne l'ensemble des réactions sérologiques, pour lesquelles il est impossible d'identifier le sérogroupe infectant de manière univoque

Ruminants (tableaux 7 et 8)

Les prélèvements proviennent en général d'exploitations pour lesquelles les performances de reproduction ne sont pas satisfaisantes (infécondité ou avortements). Compte tenu de l'évolution chronique, s'exprimant sur quelques individus d'un cheptel dont la cohorte est soumise au risque infectieux, il est généralement préconisé un diagnostic de cheptel. Les animaux objets du diagnostic sont donc des groupes dans lesquels des troubles pathologiques sont constatés et non exclusivement des individus malades ou suspects.

- Bovins

Nombre total de sérums de bovins testés= 1355

Nombre de bovins positifs (≥ 100) quel que soit le sérovar : 473 (soit 34,9,1%)

Tableau 7 : Incidence des sérogroupes au cours des infections leptospirosiques bovines

		Total des sérums analysés	Positivité sérologique à un ou plusieurs sérovars (a)	
		1355,0	473,0	
			34,9%	
Sérogroupe	Sérologie positive au seul sérogroupe cité (b)	Positivité au séroupe à un titre ≥ 800 avec un titre < 800 en réaction croisée (c)	Réaction croisée difficilement interprétable	Incidence apparente du sérogroupe $=((b+c)/a)*100$
SEJ	142	33	98	37
AUS	130	17		31,08
GRIP	28	2		6,34
AUT	13	0		2,75
IH	10	0		2,11
Total	323	52	98*	
		375		
%		79,30	20,7	79,3
*Un séroupe donné peut réagir en conjonction avec un autre sérogroupe, la valeur indiquée concerne l'ensemble des réactions sérologiques, pour lesquelles il est impossible d'identifier le sérogroupe infectant de manière univoque				

Dans cette espèce, et contrairement à ce qui a été observé chez les chevaux (ou les chiens), le profil sérologique observé semble objectiver un contact relativement ancien compte-tenu du faible nombre de réactions croisées. En effet dans près de 80% des cas il est possible d'indiquer le sérovar infectant, celui-ci étant un représentant d'un des 3 sérogroupes suivants Sejroë, Australis, ou dans une moindre mesure Grippyphosa.

Chez les petits ruminants

Nombre total de sérums de testés= **74**

Nombre de bovins positifs (≥ 100) quel que soit le sérovar : 45 (soit **60.8%**)

Même si le contexte clinique est identique à celui rencontré pour les bovins, les demandes d'analyse sont beaucoup moins fréquentes, en raison sans doute d'un contexte socio-économique plus difficile pour ce type d'élevage. Aussi, en raison de la taille des échantillons, il nous paraît difficile d'extraire une quelconque conclusion. Retenons néanmoins que la leptospirose n'est pas rare dans ces espèces puisque pour près de 60% des demandes, on peut objectiver un contact avec des leptospires appartenant aux mêmes sérogroupes que ceux observés chez les bovins, avec toutefois la prééminence des sérovars Icterohaemorrhagiae et Autumnalis.

Tableau 8 : Incidence des sérogroupes au cours des infections leptospirosiques des petits ruminants.

		Total des sérums analysés	Positivité sérologique à un ou plusieurs sérovars (a)	
		74,0	45,0	
			60,8%	
Sérogroupe	Sérologie positive au seul sérogroupe cité (b)	Positivité au séroupe à un titre ≥ 800 avec un titre < 800 en réaction croisée (c)	Réaction croisée difficilement interprétable	Incidence apparente du sérogroupe $=((b+c)/a)*100$
IH	8	2	60	22,20
AUT	4	1		11,11
SEJ	1	1		4,44
AUS	1	0		2,22
GRIP	0	0		0,00
Total	14	4		
		18	27*	
%		40,0	60,0	40,0

* Un séroupe donné peut réagir en conjonction avec un autre sérogroupe, la valeur indiquée concerne l'ensemble des réactions sérologiques, pour lesquelles il est impossible d'identifier le sérogroupe infectant de manière univoque

- Porcs (tableau 9).

La majorité des sérums de porcs analysés provient d'élevages présentant des troubles de la reproduction. Comme chez les bovins, une exploitation des résultats n'est rationnelle que dans le cadre d'un profil sérologique de cheptel .

Nombre total de porcs testés : **3155**

Nombre de porcs positifs (≥ 100) quel que soit le sérovar : **663 (21,6%)**.

		Total des sérums analysés	Positivité sérologique à un ou plusieurs sérovars (a)		
		3155,0	663,0		
			21,0%		
Sérogroupe	Sérologie positive au seul sérogroupe cité (b)	Positivité au sérope cité à un titre ≥ 800 avec un titre < 800 en réaction croisée (c)	Réactions croisées*	Total	Incidence apparente du sérogroupe $=((b+c)/a)*100$
IH	172	3	260	435	26,4
AUS	141	0	238	379	21,3
AUT	15	0	110	125	2,3
BAL	1	0	15	16	0,2
GRIP	0	0	6	6	0,0
POM	0	0	3	3	0,0
SJ	0	0	10	10	0,0
TAR	0	0	2	2	0,0
Total	329	3	331**		50,1
		332			
%		50,1	49,9		

*Réactions sérologiques dans lesquelles une positivité équivoque est observée pour sérogroupe mentionné.

** Un sérope donné peut réagir en conjonction avec un autre sérogroupe, la valeur indiquée concerne l'ensemble des réactions sérologiques, pour lesquelles il est impossible d'identifier le sérogroupe infectant de manière univoque

Si l'on considère les titres élevés, significatifs d'une réponse récente au moment du prélèvement, il semble que l'infection par l'un des 2 sérogroupes Icterohaemorrhagiae, Australis semble être la règle. La présence d'anticorps significatifs d'une infection par Grippotyphosa et Ballum est très rarement observée.

- **Autres espèces**

Chat : 3 sérums ont été analysés, dont 1 s'est révélé positif à des titres élevés vis-à-vis de Icterohaemorrhagiae et Australis. Ainsi que cela avait été noté en 2011 et 2012, ces données montrent que la leptospirose, même si elle n'est pas fréquente, doit être considérée dans l'étiologie des troubles de l'insuffisance rénale dans cette espèce.

Rongeurs de laboratoire :

Tous les autres prélèvements concernaient des rongeurs de laboratoire, probablement testés en vue d'une utilisation expérimentale. Tous les sérums se sont révélés négatifs.

Conclusion.

Les informations présentées dans ce rapport permettent de dégager les points-clés suivants:

Une circulation (en France métropolitaine) quasi continue des souches du sérogroupe ICTEROHAEMORRHAGIAE, et cela dans pratiquement toutes les espèces.

L'émergence du sérogroupe AUSTRALIS observée lors des années précédentes est maintenant un fait établi et constitue le fond de la leptospirose animale en France Métropolitaine.

Lors des années précédentes, il n'avait pas été fait cas, à tort, de la leptospirose due au sérogroupe Sejroë, en particulier dans les espèces autre que les Ruminants. Celle-ci nous semble pourtant bien présente, et même avec une incidence supérieure à celle de Grippothyphosa, et cela dans pratiquement toutes espèces.

Annexes

Annexe 1 : Publications 2013 du Laboratoire

Human leptospirosis: An emerging risk in Europe?

Dupouey J, Faucher B, Edouard S, Richet H, Kodjo A, Drancourt M, Davoust B. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2014 Mar;37(2):77-83.

Epidemiological study of animal leptospirosis in New Caledonia. Roqueplo C, Cabre O, Davoust B, Kodjo A. *Vet Med Int.* 2013;2013:826834.

Prevalence of the *Leptospira* serovars bratislava, grippotyphosa, mozdok and pomona in French dogs. Renaud C, Andrews S, Djelouadji Z, Lecheval S, Corrao-Revol N, Buff S, Demont P, Kodjo A. *Vet J.* 2013 Apr;196(1):126-7

High-resolution typing of *Leptospira interrogans* strains by multispacer sequence typing. Zilber AL, Picardeau M, Ayrat F, Artois M, Demont P, Kodjo A, Djelouadji Z.J *Clin Microbiol.* Sous presse

Annexe 2 : Contacts laboratoire

Laboratoire des Leptospires
Campus Vétérinaire de Lyon – VetAgro Sup
1, Av. Bourgelat
69280 Marcy l'Etoile

Contacts :

Laboratoire : 04 78 87 25 55 (T. Ulivieri – A. Busserolles, M.T Teyssier)

Secrétariat : 04 78 87 27 32 ou 04 78 87 25 55 (Brigitte HUMBERT)

labolepto@vet-lyon.fr Préférer un contact par mail S

Site internet : www.vet-lyon.fr/leptospirose

Pr Angeli KODJO : 04 78 87 26 88 (angeli.kodjo@vetagro-sup.fr;

Pr Pierre DEMONT : 04 78 87 25 52 (pierre.demont@vetagro-sup.fr)

Dr Zorée DJELOUADJI : 04 78 87 26 79 (zoree.djelouadji@vetagro-sup.fr)