

Académie Vétérinaire de France



Un monde une Santé  
Journée de l'Académie Vétérinaire de France  
18 Janvier 2018



Leptospiroses et Maladie de Lyme  
chez l'Homme et les animaux  
*Entre sous estimation et surmédiatisation ?*



Amphithéâtre d'Honneur  
7 avenue du Général de Gaulle  
94700 Maisons Alfort



*Recueil des articles publiés dans le Bulletin  
de l'Académie Vétérinaire de France*

# NUMÉRO SPÉCIAL LEPTOSPIROSES ET BORRÉLIOSE DE LYME

## EDITORIAL

## COMMUNICATIONS

### LEPTOSPIROSES

- La leptospirose, négligée parmi les maladies négligées, par M. Picardeau.
- Un nouveau regard sur la leptospirose humaine , par E. Tuailon & S. Zida.
- Suspecter, diagnostiquer et prévenir la leptospirose chez le chien par, M. Hugonnard.
- Prise en charge médicale de la leptospirose chez le chien, par A. Barthélemy.
- Les infections leptospirosiques du cheval : mythes et réalités, par F. Valon & J.-L. Cadore.
- La leptospirose dans les uvéites récidivantes du cheval : mythe ou réalité, par T. Launois.
- *Leptospira*, élevages et écosystèmes : ce que les données de laboratoire nous disent, par F. Ayral, F. Gazso, L. Crespin, J. Cappelle & A. Kodjo.

### BORRELIOSE de LYME

- La borrélioze de Lyme : épidémiologie pathogènes impliqués et diagnostic biologique par B. Jauhac, P. Boyer, A. Grillon, S. de Martino.
- La maladie de Lyme chez l'Homme : quid en 2018 ?, par F. Bricaire.
- La maladie de Lyme chez le chien, par H.-J. Boulouis & L. Chabanne.
- La maladie de Lyme chez le cheval : un défi clinique et diagnostique, par M.-C. Dupuis-Tricaud & M. Depecker.

### AVERTISSEMENT :

La rédaction du Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France a souhaité regrouper les Communications et Notes issues des conférences prononcées lors de la séance du 18 Janvier 2018 « Leptospirose et Maladie de Lyme chez l'Homme et les Animaux ».

Le lecteur pourra être surpris de la pagination de ce volume mais celle-ci s'explique par le fait que les articles ont été publiés dans deux numéros différents de 2018 du BAVF et par ordre de réception.

La rédaction remercie tous les contributeurs, Christine Médaille et François Valon pour la collecte des articles, tous les relecteurs anonymes, Serge Rosolen et Jean Paul Rousseau pour leurs conseils avisés et Cécile Kleber pour la parfaite réalisation technique.

Enfin cet ouvrage n'aurait pu voir le jour sans l'organisation de cette séance par le Président de l'Académie Vétérinaire de France, Éric Plateau. Le Secrétaire Général, Jean-Pierre Jégou, a contribué au parfait déroulement de cette journée et à l'édition de ce volume. Enfin, il faut remercier Pascal Bouret pour la réalisation des vidéos ainsi que les nombreux relecteurs des articles pour leurs critiques constructives.

Jean Dupouy-Camet  
Rédacteur en chef

Le 18 janvier 2018, l'Académie Vétérinaire de France a organisé, au sein de l'École Vétérinaire de Maisons Alfort, un colloque de médecine comparée concernant les maladies bactériennes dues aux spirochètes, chez l'homme et les animaux. Cette journée s'est inscrite dans le cadre du concept : un monde une santé (One Health). Deux grands groupes de maladies ont été abordés, les leptospiroses et la borréliose de Lyme.

La leptospirose est la zoonose la plus répandue dans le monde en raison du grand nombre de mammifères réservoirs, sauvages ou domestiques, qui peuvent être porteurs de la bactérie. Un siècle après la découverte de l'agent responsable de la leptospirose, cette zoonose reste une maladie sous-estimée du fait d'un système de surveillance limité et d'outils de diagnostic peu performants.

La borréliose de Lyme est une pathologie infectieuse liée à des bactéries du genre *Borrelia*. Maladie vectorielle transmise par des tiques, zoonose, son diagnostic requiert des critères épidémiologiques, anamnestiques, cliniques et biologiques. La manifestation clinique la plus fréquente chez l'homme est l'« Erythème migrant » au site de la morsure. Les pathogènes peuvent ensuite se disséminer vers les différents tissus et organes, dont principalement le système nerveux, les articulations, et la peau. Les tests biologiques, principalement basés sur la sérologie, sont essentiels pour le diagnostic de la maladie de Lyme. En revanche, le diagnostic de l'« érythème migrant » reste clinique, mais cet érythème n'est qu'exceptionnellement identifié chez l'animal.

On considère que ce sont des maladies émergentes au sens large par l'augmentation de leur incidence liée à de nombreuses causes et par l'implication de nouvelles « espèces » responsables de nouveaux tableaux cliniques. On reconnaît que leurs symptomatologies sont généralement protéiformes, que leurs diagnostics sont difficiles car reposant le plus souvent sur la sérologie, et que les cas bien documentés sont rares tout particulièrement en médecine vétérinaire. On observe pour ces raisons que ces maladies peuvent être sous diagnostiquées et parfois négligées, mais a contrario également sur évoquées, notamment par le canal des réseaux sociaux et des médias. La conséquence de ces modes de communication conduisent à l'incompréhension des patients et des propriétaires, à des controverses et des dérives diagnostiques et thérapeutiques en médecine humaine et vétérinaire, particulièrement pour les formes chroniques. Les phénomènes de sur-diagnostic et de sur-traitement sont importants pour la borréliose de Lyme.

Ce problème, toujours d'actualité, est préoccupant, notamment à « l'heure du bon usage » des antibiotiques (Desenclos, 2019 ; Haddad et al 2018).

Tous ces éléments justifient pleinement cette réunion qui a réuni les experts incontestables de ces sujets complexes. L'importance des pathologies provoquées par ces bactéries a été clairement démontrée chez l'Homme et chez l'animal. Cette manifestation scientifique illustre, une fois de plus, l'unicité de la médecine et l'intérêt, aussi bien pour les conférenciers que pour l'auditoire, d'une confrontation des données disponibles en pathologie comparée, mais aussi de la spécificité de l'Académie Vétérinaire de France dans ce domaine pour la transmission du savoir. En complément des articles des conférenciers, ce numéro spécial du bulletin propose un accès aux présentations qui ont été filmées et enregistrées (**tableau 1**).

François VALON

## BIBLIOGRAPHIE

- Desenclos J C. L'élaboration des recommandations de prises en charges de la maladie de Lyme, un nécessaire questionnement éthique. Bull Epidémiol Hebd 2019;14 : 246
- Haddad E, Chabane K, Jaureguiberry S, Monsel G, Pourcher V, Caumes E. L'approche holistique des patients consultant pour borréliose de Lyme présumée aboutit à 9,6% de confirmation diagnostique. Bull Epidémiol Hebd 2019;14: 248-255.



<p>Éric PLATEAU, Président AVF 2018 et Christophe DEGUEURCE, directeur ENVA : Introduction de la journée</p>
<p><b>LEPTOSPIROSES</b> MODÉRATEUR : François VALON</p>
<p>Mathieu PICARDEAU : « La leptospirose, négligée parmi les maladies négligées » <a href="https://www.youtube.com/watch?time_continue=11&amp;v=YhT2UMYmAWo">https://www.youtube.com/watch?time_continue=11&amp;v=YhT2UMYmAWo</a></p>
<p>Edouard TUAILLON : « Expression clinique, diagnostic et prophylaxie de la leptospirose chez l'Homme » <a href="https://www.youtube.com/watch?v=2nFdFa5WGmM">https://www.youtube.com/watch?v=2nFdFa5WGmM</a></p>
<p>Marine HUGONNARD : « Suspecter, diagnostiquer et prévenir la leptospirose chez le chien » <a href="https://www.youtube.com/watch?v=0CeQk5DRFR4">https://www.youtube.com/watch?v=0CeQk5DRFR4</a></p>
<p>Anthony BARTHELEMY : « Prise en charge médicale de la leptospirose chez le Chien » <a href="https://www.youtube.com/watch?time_continue=2&amp;v=0fod60Aj2xg">https://www.youtube.com/watch?time_continue=2&amp;v=0fod60Aj2xg</a></p>
<p><b>MODÉRATEUR : Bernard DAVOUST</b></p>
<p>Jean-Luc CADORE et François VALON : « La leptospirose des équidés: quand la suspecter, comment la diagnostiquer, comment la traiter » <a href="https://www.youtube.com/watch?v=Cy9wl76yMIA">https://www.youtube.com/watch?v=Cy9wl76yMIA</a></p>
<p>Thomas LAUNOIS : « Les leptospiroses dans la pathogénie des uvéites chez le cheval : Mythe ou réalité » <a href="https://www.youtube.com/watch?v=oK-E3JQN5Bs">https://www.youtube.com/watch?v=oK-E3JQN5Bs</a></p>
<p>Florence AYRAL : « Leptospira, élevage et écosystème : ce que nous disent les données de laboratoire » <a href="https://www.youtube.com/watch?v=JaIS4qNFFwI">https://www.youtube.com/watch?v=JaIS4qNFFwI</a></p>
<p><b>BORRÉLIOSE de LYME</b> MODÉRATEUR : René HOUIN <b>LA MALADIE DE LYME</b></p>
<p>Benoît JAULHAC : « La borréliose de Lyme : épidémiologie et pathogènes impliqués »</p>
<p>François BRICAIRE : « Maladie de Lyme chez l'Homme » <a href="https://www.youtube.com/watch?v=9GqBo8E0nuA">https://www.youtube.com/watch?v=9GqBo8E0nuA</a></p>
<p>Benoît JAULHAC : « La borréliose de Lyme: diagnostic biologique »</p>
<p>Henri Jean BOULOUIS « La maladie de Lyme chez le chien » <a href="https://www.youtube.com/watch?time_continue=2&amp;v=2BVYZBwGXkA">https://www.youtube.com/watch?time_continue=2&amp;v=2BVYZBwGXkA</a></p>
<p>Marianne DEPECKER: « La maladie de Lyme chez le cheval: un défi clinique et diagnostique » <a href="https://www.youtube.com/watch?time_continue=12&amp;v=UZNKbtGNC4Q">https://www.youtube.com/watch?time_continue=12&amp;v=UZNKbtGNC4Q</a></p>

**Tableau 1** : Sur ce tableau figurent les liens vers les enregistrements video du colloque. Les articles, issus de ces conférences, sont également disponibles dans ce recueil et dans l'ordre des interventions.

# LA LEPTOSPIROSE, NÉGLIGÉE PARMIS LES MALADIES NÉGLIGÉES

## LEPTOSPIROSIS, NEGLECTED AMONG THE NEGLECTED DISEASES

Par Mathieu PICARDEAU<sup>(1)</sup>

(Communication présentée le 18 Janvier 2018,

Manuscrit accepté le 23 Mars 2019)

### RÉSUMÉ

Un siècle après la découverte de l'agent responsable de la leptospirose, cette zoonose reste une maladie négligée. Elle est sous-estimée du fait de l'absence de symptômes spécifiques, d'un système de surveillance limité, d'outils de diagnostic peu performants et d'un manque de sensibilisation au sein de la communauté médicale. La maladie est aussi complexe du fait des différents modes de transmission et de la grande diversité des leptospires et des hôtes réservoirs. La principale voie de transmission à l'homme est le contact de la peau abîmée ou les muqueuses avec l'eau souillée par l'urine de rongeurs porteurs de leptospires pathogènes. Le changement climatique (réchauffement climatique et phénomènes climatiques extrêmes plus fréquents entraînant des inondations) et l'urbanisation grandissante (transmission par l'intermédiaire des rats dans les zones insalubres de type bidonvilles) favorisent l'émergence de la leptospirose dans le monde.

**Mots-clés :** leptospirose, spirochètes, zoonose, rongeurs.

### ABSTRACT

*Leptospira spp. were identified as the causative agents of leptospirosis 100 years ago, but this zoonosis remains a neglected disease. The non-specific clinical manifestations, the limitations of surveillance systems, difficult diagnosis and the lack of awareness of the disease among the medical community likely contribute to an underestimation of its burden. The disease is also complex and has several modes of transmission and a wide range of serovars and host reservoirs. Human infection with *Leptospira spp.* predominantly occurs through the contact of abraded skin or mucous membranes with water that is contaminated with the urine of infected animals. Leptospirosis is an emerging disease because of the growing number of inhabitants residing in urban slums (rat-borne transmission) and increased frequency of extreme climatic events which results in flooding.*

**Key words:** leptospirosis, zoonosis, spirochetes, rodent.

## UN SIÈCLE DE RECHERCHE SUR LA LEPTOSPIROSE

La première description du syndrome hépatorénal de ce qui fut appelé plus tard la maladie de Weil ou leptospirose fut publiée en 1886 par Adolf Weil à Heidelberg (Weil, 1886). Quelques années après l'observation *post-mortem* de spirochètes dans des coupes de reins d'un patient diagnostiqué d'une fièvre jaune (Stimson, 1907), les japonais Inada *et al.* démontrèrent que ces spirochètes étaient les agents étiologiques de la leptospirose (Inada *et al.* 1916). Cette découverte fut confirmée à la même époque par d'autres groupes

(Hübener & Reiter, 1915; Uhlenhuth & Fromme, 1915) et les premières souches de leptospires, alors désignée *Spirochaeta interrogans*, furent isolées en France de « poilus » dans les tranchées de Verdun par Louis Martin et Auguste Pettit en 1917 (Martin & Pettit, 1919). En l'espace de quelques années, l'équipe japonaise fournira un travail considérable montrant aussi que le rat est un hôte privilégié (Ido *et al.* 1917), que la transmission peut se faire par l'intermédiaire de l'environnement hydrique et que l'inoculation de souches tuées pouvait

(1) Unité Biologie des Spirochètes Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15.  
Courriel: mpicard@pasteur.fr

protéger les hamsters d'une infection (Ido *et al.* 1916). Les années suivantes, de nombreuses souches furent isolées de l'environnement, des animaux ou de l'homme. En l'absence de caractères phénotypiques spécifiques, les leptospires furent initialement classées en fonction de leur pathogénicité (*L. biflexa sensu lato* pour les souches saprophytes et *L. interrogans sensu lato* pour les souches pathogènes) et de l'antigénicité des lipopolysaccharides (LPS) de surfaces, définissant ainsi le sérovar. Avec l'avènement de la biologie moléculaire, le genre *Leptospira* fut ensuite divisé en espèces, aujourd'hui au nombre de 23.

## LA LEPTOSPIROSE, UNE ZOOOSE ÉMERGENTE

### Épidémiologie de la leptospirose

La leptospirose est la zoonose la plus répandue dans le monde en raison du grand nombre de mammifères réservoirs, sauvages ou domestiques, qui peuvent être porteurs de la bactérie (Levett, 2001). On la retrouve sous tous les climats mais le climat chaud et humide de la zone intertropicale lui est particulièrement favorable. Ainsi, l'incidence de la leptospirose peut être plus de 50 fois plus élevée dans les départements et collectivités d'outre-mer (Martinique, Guadeloupe, Guyane, La Réunion, Mayotte, Nouvelle-Calédonie, Polynésie française) qu'en France métropolitaine. Elle provoque plus de 1 millions de cas sévères et est responsable d'environ 60 000 décès par an. Le fardeau de la leptospirose est donc comparable, voire supérieur à celui d'autres maladies tropicales négligées comme la dengue ou la leishmaniose (Costa *et al.* 2015; Torgerson *et al.* 2015). Cependant, l'absence de systèmes de surveillance dans de nombreux pays contribue très probablement à une sous-estimation du nombre de cas. C'est le cas en Afrique, par exemple, où il est de plus en plus évident que la leptospirose représente une proportion significative des cas de fièvre qui ne sont pas dus au paludisme (Allan *et al.* 2015; Crump *et al.* 2013). En Europe, la France est un des pays qui a l'incidence la plus élevée (incidence annuelle comprise entre 0,5 et 1 cas / 100 000 habitants). Selon les données issues du CNR et de son réseau de laboratoires, on observe une augmentation du nombre de cas ces dernières années, avec une incidence record jamais enregistrée depuis 1920 (Baranton & Postic, 2006) pour les années 2014-2016, d'environ 1 cas pour 100 000 habitants (incidence 2 fois plus élevée qu'en 2011) (Bourhy *et al.* 2017). Cette augmentation est aussi observée dans les pays européens possédant un système de surveillance passive comme les Pays-Bas (Pijnacker *et al.* 2016). Plusieurs hypothèses peuvent être avancées sur les raisons de cette augmentation : hivers plus doux, augmentation de la population des rongeurs, comportements à risques plus importants (loisirs aquatiques, nouveaux animaux de compagnie), meilleure sensibilité des outils de diagnostic et généralisation de l'ELISA et de la PCR à visée diagnostique. En métropole, plus de 75 % des cas sont des hommes, l'âge moyen est de 45 ans. Pour les cas documentés (environ 25 % des cas), plus de 85 % n'avaient pas effectué de

voyages le mois précédent l'apparition des symptômes. Pour les autres cas, un voyage en région endémique (Amérique Latine, Asie, Antilles ou Océan Indien) est rapporté. Au niveau mondial, la leptospirose est aussi considérée comme une maladie émergente en raison du changement climatique (réchauffement climatique et phénomènes climatiques extrêmes plus fréquents entraînant des inondations) et de l'urbanisation grandissante. Ainsi, alors que la leptospirose était plutôt observée en milieu rural, une part de plus en plus importante des cas concerne les milieux urbains et périurbains en zones insalubres de type bidonvilles propices à la transmission par l'intermédiaire des rats. La leptospirose est une maladie émergente parce que cette population urbaine est amenée à doubler dans les 20 prochaines années (Mwachui *et al.* 2015). Les expositions associées à l'eau (activités aquatiques récréatives dans les pays développés et inondations et fortes pluies saisonnières dans les pays tropicaux) sont les principaux facteurs de risque. D'autres facteurs de risque incluent les pratiques agricoles, le contact avec les animaux et un mauvais assainissement. Le fardeau de la leptospirose semble être principalement déterminé par l'interaction de trois facteurs : conditions de vie, géographie et climat (Mwachui *et al.* 2015).

### Diagnostic de la leptospirose

Après une période d'incubation d'une dizaine de jours, la leptospirose humaine se manifeste par une présentation clinique très polymorphe, depuis la forme fébrile anictérique observée dans la grande majorité des cas jusqu'à une défaillance multiviscérale potentiellement mortelle, caractérisée par une insuffisance rénale, des hémorragies viscérales et un ictère. Un panel de tests pour le diagnostic moléculaire ou sérologique de la leptospirose est disponible. Cependant, le choix dans la prescription du test est très dépendant de la cinétique de l'infection, notamment de la date d'apparition des signes cliniques (Bourhy & Picardeau, 2016). Ainsi, on privilégiera la PCR sur le sang pendant la première semaine après l'apparition des symptômes et la recherche des anticorps anti-leptospires par un ELISA IgM ou le test de Microscopic Agglutination Test (MAT) à partir de la deuxième semaine. L'isolement en culture des leptospires pathogènes à partir des prélèvements biologiques est fastidieux et long (incubation de plus de 4 semaines) et n'a donc pas de valeur de diagnostic. La culture nécessite un milieu spécial : le milieu EMJH. L'isolement reste cependant essentiel pour l'identification complète de la souche. En France, plus de 85 % des cas en métropole sont diagnostiqués par PCR ou ELISA IgM sans qu'il soit possible d'identifier le sérovar/sérogroupe en cause. Suite au changement de nomenclature en 2014, le remplacement progressif du MAT (non remboursé) par l'ELISA (remboursé) entraîne une perte d'information sur les sérogroupe infectants. Le MAT est réalisé au CNR de manière systématique sur tous sérums limites ou positifs par ELISA. Pour les cas diagnostiqués par le MAT, le sérogroupe Icterohaemorrhagiae est prédominant (environ un tiers des cas).

## LES LEPTOSPIRES, BACTERIES DIVERSES ET ATYPIQUES

### Le genre *Leptospira*

Les leptospires appartiennent au phylum des spirochètes, qui partagent des caractéristiques morphologiques uniques dans le monde bactérien : les leptospires sont des bactéries fines (diamètre de 0,15 µm et longueur de 10-20 µm) et spiralées possédant un organe locomoteur interne, les flagelles péripasmiques ou endoflagelles (**Figure 1**). La paroi des leptospires est proche de celle des bactéries à Gram négatif et les leptospires possèdent des lipopolysaccharides (LPS) de surface. Le genre *Leptospira* comprend 23 espèces, dont 10 pathogènes (*L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. mayottensis*, *L. borgpetersenii*, *L. alexanderi*, *L. weilii*, *L. kmetyi* et *L. alstonii*), et plus de 300 sérovars regroupés en au moins 24 sérogroupe. De récentes études génomiques font état d'une grande diversité d'espèces, la plupart restant à caractériser, dans l'environnement. Plusieurs publications récentes ont aussi montré l'importance des espèces dites « intermédiaires » dans des infections bénignes. Ces espèces diffèrent des espèces pathogènes du fait de leur incapacité à infecter les modèles animaux sensibles à la leptospirose (hamsters, gerbilles et cochons d'Inde).

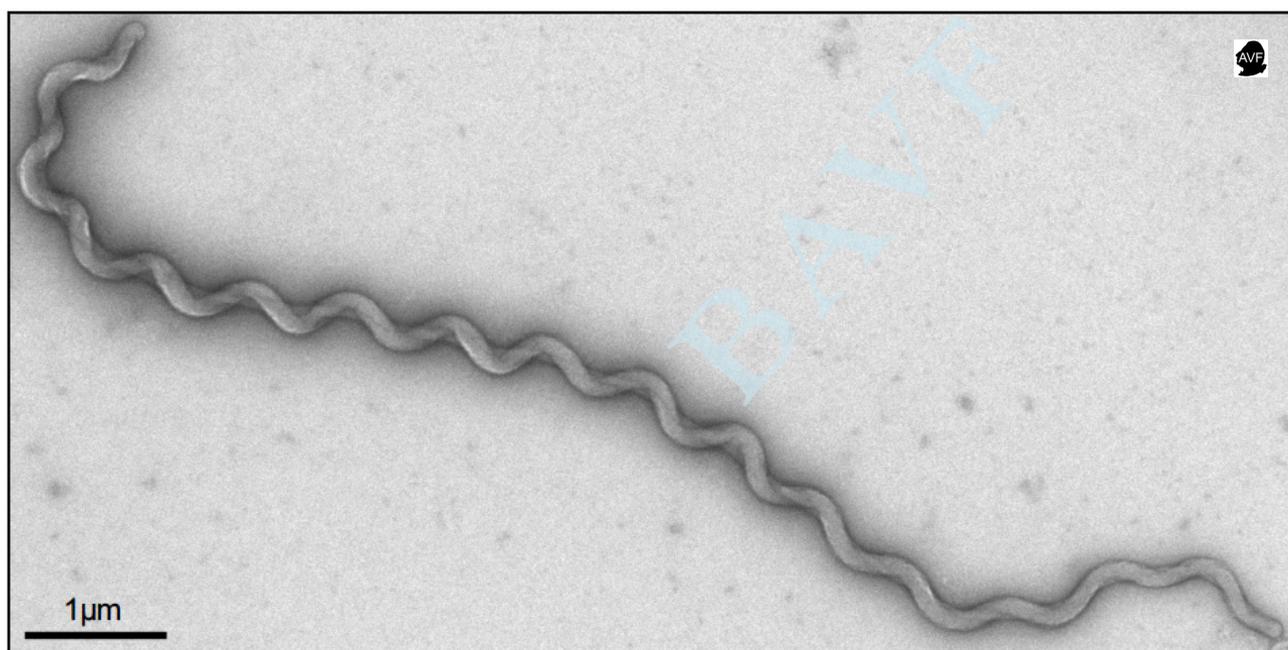
### Réservoirs de leptospires

Tous les mammifères sont susceptibles d'héberger les leptospires pathogènes au niveau des tubules rénaux proximaux. L'infection aiguë et la colonisation chronique représentent les deux pôles d'un large spectre de signes cliniques observés chez les animaux. On distinguera ainsi les animaux porteurs asymptomatiques,

principalement les rongeurs, et les animaux sensibles tels que le bétail (avortements, perte de production de lait) et les chiens (formes sévères pouvant entraîner la mort). Il existe une spécificité d'hôtes vis-à-vis de certains sérovars : ainsi, *Canicola* est associé au chien, *Icterohaemorrhagiae* au rat, *Ballum* à la souris domestique, etc. (Levett, 2001), mais cette spécificité d'hôte n'est pas exclusive. L'animal excrète les leptospires dans ses urines et contamine ainsi l'environnement hydrique, propageant la maladie à d'autres animaux ou à l'Homme.

### Facteurs de survie dans l'environnement et de virulence

Dans des conditions environnementales favorables (eau ou sol mouillé à pH neutre ou légèrement alcalin à l'abri des UV), les leptospires peuvent survivre pendant plusieurs semaines (André-Fontaine *et al.* 2015). L'écologie des leptospires est encore trop peu étudiée et les déterminants génétiques impliqués dans la survie des leptospires ne sont pas identifiés. La capacité des leptospires à former des biofilms pourrait avoir un rôle important dans leur persistance dans l'environnement (Ristow *et al.* 2008). Les leptospires pénètrent dans l'organisme humain au niveau de lésions du revêtement cutané ou par les muqueuses des yeux, de la bouche ou du nez après contact avec de l'eau contaminée. Le succès des leptospires en tant que pathogènes s'explique par leur forme en spirale et leur motilité endoflagellaire qui permettent aux spirochètes de traverser rapidement les tissus conjonctifs et les barrières de l'hôte, ainsi que leur capacité à s'échapper ou à détourner le système immunitaire de l'hôte (Picardeau, 2017). Cependant, la manipulation génétique des leptospires pathogènes reste difficile et un nombre limité de facteurs de virulence a été identifié (Picardeau, 2017).



**Figure 1** : Vue en microscopie électronique à transmission de *Leptospira biflexa*.

## PERSPECTIVES ET CHALLENGES D'UNE MALADIE NÉGLIGÉE

Au cours de la dernière décennie, la leptospirose est apparue comme une cause de mortalité et de morbidité non négligeable dans le monde entier mais la maladie est complexe : elle a plusieurs modes de transmission, des manifestations cliniques non spécifiques et il existe une grande diversité de leptospires et de réservoirs hôtes. Bien que la leptospirose soit une maladie émergente en raison du nombre croissant d'habitants résidant dans des bidonvilles et de la fréquence accrue d'événements climatiques extrêmes, la leptospirose ne figure toujours pas dans la liste des maladies négligées prioritaires de l'OMS ([http://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/)). La priorité est de pouvoir faire reconnaître la leptospirose comme une maladie négligée importante et émergente. Il est nécessaire de disposer de tests de diagnostic précis et rapides pour une meilleure prise en charge des patients, notamment dans les pays à ressources limitées (Picardeau *et al.* 2014). En effet, les signes cliniques initiaux étant peu spécifiques, ceux-ci peuvent conduire à un retard diagnostique et thérapeutique par confusion avec des diagnostics différentiels tels que la grippe, le paludisme, le chikungunya ou la dengue. Dans de nombreuses régions, nous n'avons aucune information sur la présence ou non de leptospi-

rose humaine ou animale. Il est donc nécessaire de mener des études épidémiologiques et cliniques dans ces pays, notamment parmi les cas fébriles dans les pays pour lesquels il n'y a pas de programmes de surveillance de la leptospirose. Le coût économique de la leptospirose animale, notamment pour le bétail, reste à être déterminé. De même, en raison de la difficulté à isoler les souches, les informations sur les souches pathogènes qui circulent sont limitées ; or il est essentiel de pouvoir isoler et identifier les souches afin d'évaluer l'efficacité des tests de diagnostic et de les améliorer mais aussi pour l'élaboration de nouveaux vaccins. Des vaccins inactivés qui consistent en un ou plusieurs sérovars ont été utilisés pendant des décennies à la fois chez les humains et les animaux, mais ils ne confèrent qu'une immunité de courte durée et pas de protection croisée. Des approches novatrices sont nécessaires pour générer de nouveaux vaccins. Cependant, l'application de mesures hygiéniques strictes en milieu professionnel tels le port de bottes, de lunettes, de tabliers explique une nette diminution des cas professionnels en France (employés d'abattoir, égoutier par exemple).

Une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la leptospirose devrait permettre l'élaboration de nouvelles stratégies pour la prévention et le contrôle de cette maladie négligée émergente.

## BIBLIOGRAPHIE

- Allan KJ, Biggs HM, Halliday JE, Kazwala RR, Maro VP, Cleaveland S *et al.* Epidemiology of leptospirosis in Africa: a systematic review of a neglected zoonosis and a paradigm for 'One Health' in Africa. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9, e0003899.
- André-Fontaine G, Aviat F, Thorin C. Water borne leptospirosis: survival and preservation of the virulence of pathogenic *Leptospira* spp. in fresh water. *Curr Microbiol.* 2015; 71: 136-142.
- Baranton G & Postic D. Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. *Int J Infect Dis.* 2006; 10: 162-170.
- Bourhy P. & Picardeau M. Leptospirose: moyens diagnostiques. *EMC-Biologie Médicale* 2016; 11.
- Bourhy P, Septfons A, Picardeau M. Diagnostic, surveillance et épidémiologie de la leptospirose en France. *Bull Epidémio Heb* 2017; 131-136.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS *et al.* Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9, e0003898.
- Crump JA, Morrissey AB, Nicholson WL, Massung RF, Stoddard RA, Galloway RL *et al.* Etiology of severe non-malaria febrile illness in Northern Tanzania: a prospective cohort study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; 7, e2324.
- Hübener EA & Reiter H. Beiträge zur Aetiologie der Weilschen Krankheit. *Dtsch Med Wochenschr.* 1915; 41: 1275-1277.
- Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. The prophylaxis of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). *J Exp Med.* 1916; 24: 471-483.
- Ido Y, Hoki R, Ito H, Wani H. The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of Weil's disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). *J Exp Med* 1917; 26: 341-353.
- Inada R, Ido Y, Hoki R, Kakeno R, Ito H. The etiology, mode of infection and specific therapy of Weil's disease (*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*). *J Exp Med.* 1916; 23: 377-403.
- Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 296-326.
- Martin L & Pettit A. Spirochétose ictéro-hémorragique. Masson et Cie. Paris. Monographies de l'Institut Pasteur. 1919.
- Mwachui MA, Crump L, Hartskeerl R, Zinsstag J, Hattendorf J. Environmental and behavioural determinants of leptospirosis transmission: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9: e0003843.
- Picardeau M. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still *terra incognita*? *Nat Rev Microbiol.* 2017; 15: 297-307.
- Picardeau M, Bertherat E, Janclous M, Skouloudis A., Durski K, Hartskeerl RA. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014; 78: 1-8.
- Pijnacker R, Goris MG, Te Wierik MJ, Broens EM, van der Giessen JW, de Rosa M. *et al.* Marked increase in leptospirosis infections in humans and dogs in the Netherlands, 2014. *Euro Surveill.* 2016; 21:pii 30211
- Ristow P, Bourhy P, Kerneis S, Schmitt C, Prevost MC, Lilenbaum W *et al.* Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospires. *Microbiology.* 2008; 154: 1309-1317.
- Stimson AM. Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Public Health Reports (Washington)* 1907; 22: 541.
- Torgerson PR, Hagan JE, Costa F, Calcagno J, Kane M, Martinez-Silveira MS *et al.* Global burden of leptospirosis: estimated in terms of disability adjusted life years. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9: e0004122.
- Uhlenhuth P & Fromme W. Experimentelle Untersuchungen über die sogenannte Weilsche Krankheit (ansteckende Gelbsucht). *Med Klin (München).* 1915; 44: 1202, 1264, and 1296.
- Weil, A. Ueber eine eigenthümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende acute Infektionskrankheit. *Deutsche Archive für Klinische Medizin* 1886; 39: 209.

# UN NOUVEAU REGARD SUR LA LEPTOSPIROSE HUMAINE

## A NEW LOOK ON HUMAN LEPTOSPIROSIS

Par Edouard TUAILLON<sup>(1)</sup> et Syvie ZIDA<sup>(2)</sup>  
(Communication présentée le 18 janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 8 mai 2019)

### RÉSUMÉ

En 1918 Martin et Pettit démontraient la présence d'anticorps agglutinants dans le sérum des malades atteints de leptospirose. Un siècle plus tard, alors que la réaction d'agglutination-lyse reste la technique de référence pour la confirmation des cas, cette zoonose mériterait qu'on lui prête un regard plus attentif tant son impact demeure important dans le monde. La leptospirose est une infection dont les présentations cliniques constituent un continuum, allant des formes asymptomatiques aux formes les plus sévères conduisant au décès. L'incidence de la leptospirose dans les zones climatiques tropicales semi-arides comme en Afrique de l'Ouest semble sous-estimée mais les données disponibles sont rares. Une étude réalisée au Burkina Faso par le Centre Muraz montre que la leptospirose constitue une des causes d'ictère fébrile observées dans ce pays. Il est indispensable de mettre en place des programmes spécifiques de recherche et de prise en charge de cette zoonose négligée. Le réseau francophone sur les maladies tropicales négligées a retenu la leptospirose comme une des infections prioritaires dans une approche One Health pour les années 2019-2020.

**Mots-clés :** Leptospirose, diagnostic, Afrique.

### ABSTRACT

*In 1918 Martin and Pettit demonstrated the presence of agglutinating antibodies in the serum of patients with leptospirosis. A century later, while the agglutination-lysis reaction remains the gold standard for case confirmation, this zoonosis needs a renewed look taking into account the burden of leptospirosis over the world. Leptospirosis severity constitutes a continuum ranging from asymptomatic forms to the most severe forms leading to the death. The incidence of leptospirosis in semi-arid tropical climates - such as in West Africa - seems significant even though scarce data are available. In a study conducted in Burkina Faso we observed that leptospirosis is one of the causes of febrile jaundice observed in this country. It is essential to set up specific research and management programs for this neglected zoonosis.*

**Key-Words:** Leptospirosis, diagnostic, Africa.

### INTRODUCTION

La leptospirose humaine est une des principales zoonoses dans le monde. En 1918 Martin et Pettit démontraient la présence d'anticorps agglutinants dans le sérum des malades par la mise en évidence de la réaction d'agglutination-lyse. En 2018 - soit exactement un siècle plus tard - cette méthode constitue toujours le test de confirmation de référence pour la leptospirose. Longtemps considérée comme une maladie sévère associée à des situations d'exposition en zones tropicales humides, il doit être tenu

compte de la prévalence importante de la leptospirose dans des zones climatiques semi-arides, de l'augmentation de l'incidence rapportée en zone tempérée depuis quelques années (Bourhy et al. 2017; ECDC, 2016), et du grand nombre de cas modérément symptomatiques entraînant une sous-estimation de l'incidence réelle de cette infection. Les leptospires, bactéries spiralées mobiles aérobies, appartiennent à l'ordre des *Spirochaetales*. Le genre *Leptospira* comprend des espèces saprophytes et des espèces

(1) Pathogenesis and control of chronic infections, UMR 1058 Université de Montpellier ; CHU de Montpellier, France.  
Email : e-tuillon@chu-montpellier.fr

(2) Centre Muraz, Bobo Dioulasso, Burkina Faso.

pathogènes dont *L. interrogans*. L'homme est un hôte accidentel dans un cycle impliquant les animaux sauvages et domestiques, rongeurs et surtout le rat, mais aussi animaux d'élevage, chiens, chevaux. Les leptospires pénètrent dans l'organisme *via* des plaies cutanées, ou lors d'exposition des muqueuses avec un environnement contaminé ou avec un animal porteur.

## PHYSIOPATHOLOGIE

La physiopathologie de la leptospirose demeure incomplètement comprise. La pathogénicité résulte des effets directs de la bactérie et de l'immunopathogénicité secondaire. Les analyses par PCR du sang durant la phase bactériémique ont montré des niveaux de leptospirémie parfois supérieurs à un million par ml de sang (Agampodi *et al.* 2012). Les charges bactériennes  $> 10^4$  bactéries/ml seraient de mauvais pronostic (Segura *et al.* 2005). Ces bactériémies très élevées sont également rapportées dans les fièvres récurrentes, autres infections à spirochètes. Un défaut de reconnaissance du lipopolysaccharide des spirochètes par les défenses innées de l'organisme, et en particulier par le Toll Like Receptor 4 (TLR4) chez l'humain serait impliqué dans la réponse insuffisante de l'hôte (Werts *et al.* 2001). Les leptospires ont un tropisme particulier pour le foie, les reins, l'endothélium vasculaire et les poumons (Sato & Coburn, 2017). L'infection induit alors une réponse inflammatoire particulièrement forte avec libération de grande quantité de cytokines pro-inflammatoires et une forte élévation de la protéine C réactive (CRP).

## CLINIQUE

La durée de la phase d'incubation chez l'homme a été déterminée avec précision grâce aux cas d'infections groupées liées à des expositions simultanées lors de compétitions sportives en eau douce contaminée (Morgan *et al.* 2002 ; Sejvar *et al.* 2003). La durée de la phase d'incubation est en moyenne de 10 jours avec des extrêmes de 3 à 30 jours. La présentation clinique de la leptospirose symptomatique est classiquement décrite comme biphasique avec une première période caractérisée par un syndrome pseudo-grippal auquel fait suite une phase inconstante où peuvent survenir l'ictère, l'insuffisance rénale aiguë et l'atteinte pulmonaire, qui surviennent isolément ou de manière combinée. Dans la phase précoce, la fièvre et les frissons constituent des signes cliniques les plus fréquents; les céphalées et les myalgies diffuses sont évocatrices mais guères plus spécifiques. La phase secondaire est plus caractéristique avec possibles atteintes hépato-rénales et pulmonaires. Une hémorragie sous conjonctivale - assez spécifique mais rare - peut être observée. Le score de Faine est un score diagnostique de la leptospirose recommandé depuis 1982 par l'Organisation Mondiale de la Santé. La version actualisée du score de Faine combine des éléments cliniques, d'exposition et biologiques (Bandara *et al.* 2016). Le diagnostic avec le score de Faine est utile pour les études sur la leptospirose humaine mais présente des limites importantes en pratique clinique car il est souvent tardif alors que l'initiation thérapeutique rapide doit être basée sur des éléments précoces.

De même, la réalisation des analyses du diagnostic *in vitro* - PCR nécessitent d'évoquer précocement la leptospirose sur de simples éléments de suspicion.

L'âge au-delà de 40 ans et surtout au-delà de 60 ans constitue un facteur de risque de formes sévères et de mortalité (Haake & Levett, 2015). Parmi les autres facteurs associés à la mortalité, il faut particulièrement souligner la détresse respiratoire aiguë (Paganin *et al.* 2007). L'insuffisance rénale aiguë est également associée à la mortalité mais à condition d'un accès à l'épuration extra-rénale, la survie et la récupération de la fonction rénale sont la règle.

## LES FORMES PEU SYMPTOMATIQUES DE LEPTOSPIROSE : LA PART CACHÉE DE L'ÉPIDÉMIE

Il est difficile d'estimer la fréquence de survenue des complications viscérales parmi les cas de leptospirose, car de nombreuses infections passent inaperçues étant confondues avec d'autres infections tropicales de présentation similaire comme le paludisme, les arboviroses, la typhoïde. Quelle est la part de ces infections pauci-symptomatiques parmi les cas de leptospirose ? Des données de séroprévalence suggèrent que dans certaines zones tropicales humides une part importante de la population présente des anticorps dirigés contre les leptospires. Ainsi en Thaïlande près d'un tiers de la population des jeunes adultes masculins serait positif pour les IgG anti-leptospires (Gonwong *et al.* 2017). Une étude des IgG anti-leptospires chez des enfants vietnamiens âgés de 7 à 13 ans rapporte un taux de séropositivité de près de 10% sur une période de suivi de deux ans (Thai *et al.* 2008). Ces données soulignent les taux élevés de présence d'anticorps dirigés contre la bactérie alors que les mortalités et morbidités liées à la leptospirose demeurent en proportion relativement faibles (Costa *et al.* 2015). L'étude de cas groupés lors d'exposition collective met en évidence la rareté relative des complications viscérales. Lors d'une épidémie ayant touché 24 travailleurs saisonniers en Allemagne, il était noté une atteinte rénale dans un seul cas et un ictère pour trois cas (Desai *et al.* 2009). L'exploration des cas survenus lors des manifestations sportives en eau vive rapporte de manière très majoritaire des cas non compliqués où prédomine un syndrome pseudo grippal. À l'extrême du spectre de la physiopathologie de la leptospirose, la possibilité d'un portage chronique asymptomatique de la leptospirose chez l'homme est débattue, des études ont rapporté un portage urinaire asymptomatique chez des sujets fortement exposés à la leptospirose (Ganoza *et al.* 2010 ; Sivasankari *et al.* 2016).

## LA LEPTOSPIROSE UNE INFECTION NÉGLIGÉE DANS LE MONDE ; UNE INFECTION IGNORÉE EN AFRIQUE.

Dans le monde, il est estimé qu'environ un million de cas symptomatiques de leptospirose humaine surviennent chaque

année, entraînant environ 60 000 décès (Costa *et al.* 2015). De rares données épidémiologiques existent en Afrique, en particulier en Afrique de l'Ouest. Des observations suggèrent que la leptospirose pourrait être beaucoup plus répandue dans cette zone du monde qu'on ne le pensait (De Vries *et al.* 2014 ; Allan *et al.* 2015). Des cas de leptospirose ont été rapportés dans diverses régions d'Afrique de l'Ouest, chez des rongeurs, le bétail et chez l'Homme (Hogerzeil *et al.* 1986; Onyemelukwe *et al.* 1993; Ngbede *et al.* 2012; Awosanya *et al.* 2013 ; Houemenou *et al.* 2013 ; Isa *et al.* 2014 ; Dobigny *et al.* 2015). Des enquêtes sont nécessaires y compris dans les zones semi-arides qui étaient considérées jusqu'à présent comme peu concernées par la leptospirose. Au Burkina Faso, le climat est caractérisé par l'alternance d'une saison des pluies entre mai et mi-octobre et une saison sèche de mi-octobre à avril. La durée de la saison des pluies n'est pas homogène à travers le pays, avec une période plus courte dans le nord et l'est que dans le sud-ouest. Dans une étude récente, nous avons évalué l'implication de la leptospirose comme pathogène impliqué dans les cas d'ictères fébriles au Burkina Faso (Zida *et al.* 2018). L'étude a été réalisée au Centre Muraz à Bobo Dioulasso, qui héberge le laboratoire de référence chargé de la surveillance nationale de la fièvre jaune. Dans le cadre d'une étude exhaustive de l'étiologie de la maladie ictérique fébrile d'origine inconnue, des échantillons provenant de patients adultes et d'enfants, collectés entre de janvier 2014 et juillet 2015, ont été testés rétrospectivement pour la leptospirose. Parmi 781 échantillons, 45 (5,6%) étaient positifs pour les IgM anti-leptospire par ELISA et parmi ces échantillons, 23 (2,9%) sérologies ont été confirmées par le test de microagglutination au seuil de 1/400 et ont par conséquent été considérées comme des cas de leptospiroses aiguës confirmées. Les sérogroupes réactifs prédominants étaient Ballum et Grippytyphosa. La leptospirose aiguë a été également confirmée par PCR dans quatre échantillons supplémentaires testés négatifs par ELISA. Les cas de leptospirose survenaient plus fréquemment pendant la saison des pluies que pendant la saison sèche. Les régions situées au sud-ouest du pays étaient les plus touchées. La leptospirose apparaît comme une cause significative de maladie fébrile ictérique, suggérant que cette maladie est probablement endémique au

Burkina Faso. Une publication récente a estimé sur la base de modélisation que certains pays d'Afrique de l'Ouest, y compris dans les régions semi-arides, avait un taux d'invalidité (DALYs: Disability Adjusted Life Years) en raison de la leptospirose parmi les plus élevés (Torgerson *et al.* 2015). Des études menées au Ghana chez des patients présentant une maladie fébrile sans cause évidente de fièvre ont trouvé une fréquence de 3,2% de leptospirose confirmée chez les patients ictériques et de 7,8% des cas probables (De Vries *et al.* 2014). Des études menées au Sénégal et au Mali ont montré que les bovins, les porcs et les moutons sont fréquemment infectés (Niang *et al.* 1994 ; Riel *et al.* 2014). Une étude a montré que les rongeurs vivants dans les zones d'agricoles urbaines de Niamey, au Niger étaient fréquemment porteurs (Dobigny *et al.* 2015). Au Burkina Faso, les secteurs de l'agriculture et de l'élevage représentent 30% du produit intérieur brut (PIB) et constituent l'épine dorsale de l'économie avec environ 80% de la population active dépendant de ces activités (Ministry of Agriculture, Agri-Food and Forestry, 2015; Ministry of Animal Resources, 2010). Par conséquent, l'exposition humaine aux leptospires est probablement fréquente. Le groupe d'âge de 10 à 29 ans était le plus touché. Cette observation n'est pas inattendue car la population du Burkina Faso est jeune avec près des deux tiers de la population âgée de moins de 25 ans (National Institute of Statistics and Demography in Burkina Faso, 2006).

## CONCLUSION

Des études sont nécessaires pour explorer les réservoirs animaux et les facteurs de risque associés à la leptospirose humaine dans les zones semi-arides. Une meilleure connaissance de la leptospirose par les cliniciens est indispensable pour en améliorer le diagnostic et la prise en charge tant dans les zones tempérées que dans les zones tropicales. Il est indispensable de mettre en place des programmes spécifiques de recherche et de prise en charge de cette zoonose négligée. Le réseau francophone sur les maladies tropicales négligées a retenu la leptospirose comme une des infections prioritaires comme thématique de travail dans une approche One Health pour les années 2019-2020.

## BIBLIOGRAPHIE

- Agampodi SB, Matthias MA, Moreno AC, Vinetz JM. Utility of quantitative polymerase chain reaction in leptospirosis diagnosis: association of level of leptospiremia and clinical manifestations in Sri Lanka. *Clin Infect Dis*. 2012; 54:1249–1255.
- Allan KJ, Biggs HM, Halliday JE, Kazwala RR, Maro VP, Cleaveland S, *et al.* Epidemiology of Leptospirosis in Africa: A Systematic Review of a Neglected Zoonosis and a Paradigm for 'One Health' in Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 Sep 14;9(9):e0003899. Erratum in: *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(3):e0004552
- Awosanya EJ, Nguku P, Oyemakinde A, Omobowale O. Factors associated with probable cluster of leptospirosis among kennel workers in Abuja. *Nigeria Pan Afr Med J* 2013;16: 144.
- Bandara K, Weerasekera MM, Gunasekara C, Ranasinghe N, Marasinghe C, Fernando N. Utility of modified Faine's criteria in diagnosis of leptospirosis. *BMC Infect Dis*. 2016 ;16: 446.
- Bourhy P, Septfons A, Picardeau M. Diagnostic, surveillance et épidémiologie de la leptospirose en France. *Bull Epidémiol Hebd*. 2017;(8-9):131-7.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, *et al.* Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9: e0003898.
- De Vries SG, Visser BJ, Nagel IM, Goris MG, Hartskeerl RA, Grobusch MP. Leptospirosis in Sub-Saharan Africa: a systematic review. *Int J Infect Dis*. 2014; 28:47–64.
- Desai S, van Treec U, Lierz M, Espelage W, Zota L, Sarbu A, *et al.* Resurgence of field fever in a temperate country: an epidemic of leptospirosis among seasonal strawberry harvesters in Germany in 2007. *Clin Infect Dis*. 2009;48: 691-7.
- Dobigny G, Garba M, Tatard C, Loiseau A, Galan M, Kadaouré I, *et al.* Urban market gardening and rodent-borne pathogenic *Leptospira* in arid zones: a case study in Niamey, Niger. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9:e0004097.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – Leptospirosis. Stockholm: ECDC 2016. Disponible à : [https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/leptospirosis\\_0.pdf](https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/leptospirosis_0.pdf). Consulté le 09/05/2019.
- Ganoza CA, Matthias MA, Saito M, Cespedes M, Gotuzzo E, Vinetz JM. Asymptomatic renal colonization of humans in the peruvian Amazon by *Leptospira*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4: e612
- Gonwong S, Chuenchitra T, Khantapura P, Islam D, Ruamsap N, Swierczewski BE, *et al.* Nationwide Seroprevalence of Leptospirosis among Young Thai Men, 2007-2008. *Am J Trop Med Hyg*. 2017; 97:1682-1685.
- Haake DA & Levett PN. Leptospirosis in humans. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;387: 65-97.
- Hogerzeil HV, De Geus A, Terpstra WJ, Korver H, Ligthart GS. Leptospirosis in rural Ghana: Part 2, current leptospirosis. *Trop Geogr Med* 1986; 38:408–14.
- Houemenou G, Ahmed A, Libois R, Hartskeerl RA. *Leptospira spp.* prevalence in small mammal populations in Cotonou, Benin. *ISRN Epidemiology* 2013; 2013:8.
- Isa SE, Onyedibe KI, Okolo MO, Abiba AE, Mafuka JS, Simji GS, *et al.* A 21-year old student with fever and profound jaundice. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8:e2534.
- Ministry of Agriculture, Agri-Food and Forestry - Agricultural policies across the World. Fiche pays - Burkina Faso; 2015 [cited 14 Jul 2016]. Disponible à : [http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/fichepays2014-burkina-faso\\_cle499519.pdf](http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/fichepays2014-burkina-faso_cle499519.pdf) Consulté le 09/05/2019.
- Ministry of Animal Resources. National Policy for Sustainable Livestock Development in Burkina Faso. 2010-2025. September 2010. Disponible à : <http://www.legiburkina.bf/Les%20politiques%20sectorielles/POLITIQUE%20DE%20DEVELOPPEMENT%20DURABLE.pdf>
- Morgan J, Bornstein SL, Karpati AM, Bruce M, Bolin CA, Austin CC, *et al.* Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. *Clin Infect Dis*. 2002; 34:1593–1599.
- National Institute of Statistics and Demography in Burkina Faso. Census of Population and Housing. 2006. [Cited Jul 2008]. Disponible à : [http://www.insd.bf/documents/publications/insd/publications/resultats\\_enquetes/autres%20eng/Resultats\\_definitifs\\_RGPH\\_2006.pdf](http://www.insd.bf/documents/publications/insd/publications/resultats_enquetes/autres%20eng/Resultats_definitifs_RGPH_2006.pdf) Consulté le 09/05/2019.
- Ngbede EO, Raji MA, Kwanashie CN, Okolocha EC, Momoh AH, Adole EB, *et al.* Risk practices and awareness of leptospirosis in an abattoir in northwestern Nigeria. *Sci J Vet Adv* 2012; 1:65–9.
- Niang M, Will LA, Kane M, Diallo AA, Hussain M. Seroprevalence of leptospiral antibodies among dairy-cattle kept in communal corrals in periurban areas of Bamako, Mali, West Africa. *Prev Vet Med* 1994; 18:259-65.
- Onyemelukwe NE. A serological survey for leptospirosis in the Enugu area of eastern Nigeria among people at occupational risk. *J Trop Med Hyg* 1993; 96:301–4.
- Paganin F, Bourdin A, Dalban C, Courtin JP, Poubeau P, Borgherini G, *et al.* Leptospirosis in Reunion Island (Indian Ocean): analysis of factors associated with severity in 147 confirmed cases. *Intensive Care Med*. 2007; 33:1959-66.
- Riel J, Baylet R, Rioche M. Seroepidemiological surveys on leptospirosis of livestock in Senegal. *Villes Journ Med Dakar* February 1973. Reference in *Int J Infect Dis*. 2014; 28:47–64.
- Sato H & Coburn J. *Leptospira interrogans* causes quantitative and morphological disturbances in adherens junctions and other biological groups of proteins in human endothelial cells. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017; 11:e0005830.
- Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, *et al.* Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. *Clin Infect Dis*. 2005; 40:343–351.
- Sejvar J, Bancroft E, Winthrop K, Bettinger J, Bajani M, Bragg S, *et al.* Leptospirosis in “eco-challenge” athletes, Malaysian Borneo, 2000. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9:702–707.
- Sivasankari K, Shanmughapriya S, Natarajaseenivasan K. Leptospiral renal colonization status in asymptomatic rural population of Tiruchirappalli district, Tamilnadu, India. *Pathog Glob Health*. 2016; 110:209-15.
- Thai KT, Nga TT, Phuong HL, Giao PT, Hung le Q, Binh TQ, *et al.* Seroepidemiology and serological follow-up of anti-leptospiral IgG in children in Southern Vietnam. *Acta Trop*. 2008;106:128-31.
- Torgerson PR, Hagan JE, Costa F, Calcagno J, Kane M, Martinez-Silveira MS, *et al.* Global burden of leptospirosis: estimated in terms of Disability Adjusted Life Years. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9: e0004122.
- Werts C, Tapping RI, Mathison JC, Chuang T-H, Kravchenko V, Saint Girons I, *et al.* Leptospiral endotoxin activates cells via a TLR2-dependent mechanism. *Nat Immunol*. 2001; 2:346–352.
- Zida S, Kania D, Sotto A, Brun M, Picardeau M, Castéra J, *et al.* Leptospirosis as cause of febrile icteric illness, Burkina Faso. *Emerg Infect Dis*. 2018 : 24:1569-1572.

# SUSPECTER, DIAGNOSTIQUER ET PRÉVENIR LA LEPTOSPIROSE CHEZ LE CHIEN

## SYMPTOMS, DIAGNOSIS AND PREVENTION OF LEPTOSPIROSIS IN DOGS

Par Marine HUGONNARD<sup>(1)</sup>  
(Communication présentée le 18 Janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 6 Mars 2019)

**Mots clés :** *Leptospira*, leptospirose, chien, diagnostic, prophylaxie.

**Key words:** *Leptospira*, leptospirosis, dog, diagnosis, prophylaxis.

### SUSPECTER LA LEPTOSPIROSE

Les situations cliniques où la leptospirose doit figurer parmi les principales hypothèses diagnostiques chez le chien sont la présence isolée ou associée d'une insuffisance rénale aiguë, d'une glycosurie sans hyperglycémie, d'une hépatite aiguë avec ou sans ictère et d'une détresse respiratoire aiguë associé à une opacification pulmonaire réticulo-nodulaire ou alvéolaire (Schuller *et al.* 2015). Les situations cliniques où la leptospirose doit figurer, entre autres hypothèses, dans le diagnostic différentiel sont une gastro-entérite aiguë hémorragique, un syndrome fébrile aigu, des saignements extériorisés et une uvéite. Les critères paracliniques susceptibles de renforcer une suspicion clinique de leptospirose sont une élévation des phosphatases alcalines (PAL) et/ou des alanine aminotransférases (AlAt) présente(s) dans 30 à 80 % des cas et une augmentation de la créatinine relevée dans 55 à 95 % des cas (Sykes *et al.* 2011 ; Schuller *et al.* 2015). Des anomalies de la numération sanguine (anémie, thrombopénie, leucocytose) et un sédiment urinaire actif (pyurie, hématurie, protéinurie) sont également souvent présents. Lorsqu'on suspecte une leptospirose, la confirmer est une priorité car il s'agit d'une maladie potentiellement mortelle, zoonotique et requérant une antibiothérapie spécifique.

### DIAGNOSTIQUER LA LEPTOSPIROSE

Les méthodes utilisées en routine par les vétérinaires pour diagnostiquer une leptospirose chez le chien sont la sérologie par technique de micro-agglutination ou sérologie MAT (*micro-*

*scopic agglutination test*), les tests rapides détectant des anticorps anti-leptospires réalisables au chevet du patient et la technique de réaction en chaîne par polymérase ou PCR (*polymerase chain reaction*) sur sang et urines. Aucun de ces tests n'est parfait, chacun a ses forces et ses faiblesses. Les performances diagnostiques de chaque test varient en fonction du statut vaccinal du chien, du stade de l'infection, d'une éventuelle antibiothérapie antérieure au prélèvement analysé et de la procédure qualité du laboratoire prestataire. Ce dernier point est particulièrement critique pour la sérologie MAT.

### Sérologie MAT

La sérologie MAT est encore aujourd'hui le test de référence pour le diagnostic de la leptospirose canine. C'est également le test diagnostique le plus documenté chez le chien. Son principe est basé sur la lecture au microscope à fond noir du pouvoir agglutinant du sérum du chien suspect vis-à-vis de cultures vivantes de leptospires. La plus forte dilution de sérum causant l'agglutination de 50% des leptospires correspond au titre rendu par le laboratoire. En Europe, compte-tenu des sérogroupes circulant, des sérovars représentatifs *a minima* des sérogroupes icterohaemorrhagiae, canicola, australis, grippotyphosa et pomona doivent être testés. La seule façon de conclure avec certitude à une leptospirose par sérologie MAT est de documenter une séroconversion (titre multiplié par au moins 4 pour un ou plusieurs sérovar(s) en l'espace d'une à deux semaines ou titre  $\geq 800$  pour un ou plusieurs sérovar(s) enregistrant initialement des titres nuls)

(1) Dr Vét, PhD, Maître de Conférences, Médecine Interne des Animaux de Compagnie, VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Étoile, France.  
Courriel : marine.hugonnard@vetagro-sup.fr

(Sykes *et al.* 2011 ; Schuller *et al.* 2015). Lorsqu'on ne dispose pas de cinétique, à défaut, le titre minimal le plus souvent utilisé pour porter une suspicion de leptospirose est de 800 pour un ou plusieurs sérovars(s). Toutefois, certains spécialistes pensent qu'interpréter une sérologie unique n'a pas de sens, compte-tenu de la fréquence des séropositivités sur les chiens apparemment sains, *a fortiori* s'ils sont récemment vaccinés. L'étude de Martin *et al.* (2014) a ainsi montré qu'un pourcentage élevé de chiens vaccinés avec des vaccins quadrivalents présente des titres MAT élevés ( $\geq 1/800$ ) jusqu'à 7 semaines après l'injection, à la fois pour des sérogroupes vaccinaux et non vaccinaux. Les deux principaux écueils de la MAT sont ses difficultés d'interprétation, notamment lors de vaccination récente, ainsi qu'un manque de sensibilité sur sérum précoce. Ceci est lié au délai physiologique d'apparition des anticorps qui est en moyenne de 10 à 15 j après la contamination. La MAT donne des éléments d'orientation pour la détermination du sérotype infectant, à considérer toutefois avec prudence en raison de possibles réactions croisées entre sérogroupes (Miller *et al.* 2011).

### Tests détectant des anticorps anti-leptospire réalisables au chevet du patient

Un test immuno-enzymatique ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) mettant en évidence les immunoglobulines M (Ig M) et G (Ig G) reconnaissant la protéine de membrane LipL32 commune aux leptospire pathogènes a été récemment commercialisé (Snap® Lepto Test d'Idexx). Le pourcentage de tests positifs pour des sérums présentant un ou plusieurs titres MAT  $\geq 1/800$  est de 83% (Curtis *et al.* 2015). Ce test se rapproche dans son principe de la sérologie MAT. Depuis peu, des tests immunochromatographiques mettant en évidence spécifiquement les IgM produites contre les sérovars pathogènes sont également disponibles (Test-it™ de Life Assay et Witness® Lepto de Zoétis). Leurs performances diagnostiques comparées à la MAT sont annoncées comme bonnes à très bonnes (Kodjo *et al.* 2016 ; Gloor *et al.* 2017). Les IgM étant produites précocement au cours de la maladie, ces tests pourraient offrir un avantage sur la MAT en phase précoce de la maladie (test plus sensible). En conditions expérimentales, cet avantage a été récemment confirmé (Lizer *et al.* 2017). On manque toutefois encore de recul et de publications indépendantes sur ces tests rapides. Ils ne donnent aucune indication sur l'amplitude des titres ni sur les sérovars impliqués. Il semble exister des variabilités inter-lots dans les performances diagnostiques de certains kits immunochromatographiques. Une vaccination récente peut positiver le test.

### PCR

La PCR est une méthode réputée sensible et spécifique applicable sur sang, urines et tissus. Elle met directement en évidence l'ADN de l'agent pathogène. Son résultat est simple : positif ou négatif. Une PCR positive sur sang est fortement évocatrice d'une leptospirose. Une PCR positive sur urine peut correspondre à une leptospirose ou à un portage sain. Une vaccination récente n'interfère pas avec le résultat de la PCR. Cette

méthode offre donc de prime abord de nombreux avantages sur les précédentes. Il faut toutefois en connaître les limites. Le meilleur substrat pour réaliser la PCR varie en fonction de la date de contamination... qui par nature, est inconnue ! Le schéma pathogénique plaide pour une PCR sur sang pour des symptômes datant de moins d'une semaine et pour une PCR sur urines pour des symptômes datant de plus d'une semaine. Pour améliorer la sensibilité de détection, il est toutefois conseillé de faire systématiquement une PCR sur sang et une PCR sur urine quelle que soit la durée des symptômes. Une PCR négative n'écarte pas l'hypothèse de leptospirose. Les performances diagnostiques de la PCR sont probablement très variables en fonction du laboratoire (peu ou pas d'études comparatives), de la prise préalable d'antibiotiques (qui peut négativer la PCR) et sans doute des conditions pré-analytiques (Kümmerle-Fraune *et al.* 2013). Idéalement, la PCR doit être mise en œuvre avant toute antibiothérapie. En conclusion, PCR et sérologie MAT sont des techniques complémentaires. La clinique et la prise en compte du statut vaccinal restent primordiales pour leur interprétation optimale. Le résultat d'un test rapide devrait toujours être confirmé par une cinétique sérologique ou une PCR.

## PRÉVENIR LA LEPTOSPIROSE

### Prophylaxie sanitaire

En conditions de vie naturelle, la prophylaxie sanitaire se limite pour le chien vivant en chenil à la dératisation des bâtiments d'élevage, l'entreposage des gamelles d'eau à l'intérieur de ceux-ci et le drainage éventuel des eaux stagnantes dans les cours.

### Prophylaxie vaccinale

La protection vaccinale est spécifique de sérotype : les chiens vaccinés ne sont protégés que contre les sérovars appartenant aux sérogroupes contenus dans le vaccin. Jusqu'en 2012, les seuls vaccins disponibles en France étaient inactivés bivalents contre les sérogroupes Icterohaemorrhagiae et Canicola. À partir des années 80, l'implication additionnelle des sérogroupes Australis et Grippotyphosa dans les formes cliniques de leptospirose canine observées en Europe devient évidente (Renaud *et al.*, 2013; Major *et al.*, 2014). En France, deux vaccins tétravalents (Nobivac L4 de MSD Santé animale et Versican Plus L4 de Zoétis) incluant Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa et Australis sont disponibles, respectivement depuis 2012 et 2014 » par « En France, trois vaccins tétravalents (Nobivac L4 de MSD Santé animale, Versican Plus L4 de Zoétis et Canigen L4 de Virbac) incluant Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa et Australis sont disponibles, respectivement depuis 2012, 2014 et 2015. Deux vaccins trivalents (Versican® DHPPi L3 de Zoétis et Eurican® CHPPi2-L multi de Merial) incluant Icterohaemorrhagiae, Canicola et Grippotyphosa sont également disponibles, respectivement depuis 2012 et 2015. En conditions expérimentales, les deux vaccins tétravalents se sont révélés efficaces à court terme (un mois) et à long terme (un an)

pour réduire l'infection et le portage sain vis-à-vis des sérogroupes inclus (Wilson *et al* 2013 ; Klaasen *et al*, 2013). En Europe, il est recommandé d'utiliser des vaccins quadrivalents plutôt que bivalents pour étendre le spectre de protection (Schuller *et al*, 2015). La protection offerte par les vaccins quadrivalents n'est pas totale, comme pour n'importe quel vaccin et parce qu'il

existe toujours le risque que le chien soit exposé à un séro groupe contre lequel il n'est pas vacciné. On ne dispose pas encore du recul nécessaire pour savoir si l'utilisation de cette nouvelle génération de vaccins s'accompagne d'un recul de la maladie dans la population des chiens vaccinés en Europe.

## BIBLIOGRAPHIE

- Curtis KM, Foster PC, Smith PM, Monn MP, Stillman BA, Chandrashekar R *et al*. Performance of a recombinant LipL32 based in-clinic ELISA (Snap® Lepto) for the detection of antibodies against *Leptospira* in dogs. *Intern J Appl Res Vet Med*. 2015; 13:182-189.
- Gloor CI, Schweighauser A, Francey T, Rodriguez-Campos S, Vidondo B, Bigler B *et al*. Diagnostic value of two commercial chromatographic «patient-side» tests in the diagnosis of acute canine leptospirosis. *J Small Anim Pract*. 2017; 58:154-151.
- Klaasen HLBM, van der Veen M, Molkenboer MJCH, Sutton D. A novel tetravalent *Leptospira* bacterin protects against infection and shedding following challenge in dogs. *Vet Rec* 2013; 172:181-186.
- Kodjo A, Calleja C, Loenser M, Lin D, Lizer J. A rapid in-clinic test detects acute leptospirosis in dogs with high sensitivity and specificity. *Biomed Res Int*. 2016; 2016:3760191
- Kümmerle-Fraune CK, Schweighauser A, Francey T. Evaluation of the diagnostic value of serologic microagglutination testing and a polymerase chain reaction assay for diagnosis of acute leptospirosis in dogs in a referral center. *J Am Vet Med Assoc*. 2013; 242:1373-1380.
- Lizer J, Velineni S, Weber A, Krecic M, Meeus P. Evaluation of 3 serological tests for early detection of *Leptospira*-specific antibodies in experimentally infected dogs. *J Vet Intern Med*. 2018; 32: 201-207
- Major A, Schweighauser A, Francey T. Increasing incidence of canine leptospirosis in Switzerland. *Int J Environ Res Public Health* 2014; 11:7242-60.
- Martin LE, Wiggins KT, Wennogle SA, Curtis K, Chandrashekar R, Lappin MR. Vaccine-associated *Leptospira* antibodies in client-owned dogs. *J Vet Intern Med*. 2014; 28:789-792.
- Miller MD, Annis KM, Lappin MR, Lunn KF. Variability in results of the microscopic agglutination test in dogs with clinical leptospirosis and dogs vaccinated against leptospirosis. *J Vet Intern Med*. 2011; 25:426-432.
- Renaud C, Andrews S, Djelouadji Z, Lecheval S, Corrao-Revol N, Buff S *et al*. Prevalence of the *Leptospira* serovars *bratislava*, *grippityphosa*, *mozdok* and *pomona* in French dogs. *Vet J*. 2013; 196:126-127.
- Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE *et al*. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *J Small Anim Pract*. 2015; 56:159-179.
- Sykes JE, Hartmann K, Lunn KF, Moore GE, Stoddard RA, Goldstein RE. 2010 ACVIM Small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment and prevention. *J Vet Intern Med*. 2011; 25:1-13.
- Wilson S, Stirling C, Thomas A, King V, Plevova E, Chroma L *et al*. Duration of immunity of a multivalent (DHPPi/L4R) vaccine against four *Leptospira* serovars. *Vaccine*, 2013; 31:3126-3130.

# PRISE EN CHARGE MÉDICALE DE LA LEPTOSPIROSE CHEZ LE CHIEN

## MEDICAL MANAGEMENT OF LEPTOSPIROSIS IN DOGS

par Anthony BARTHELEMY<sup>(1)</sup>  
(Communication présentée le 18 janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 6 mars 2019)

### RÉSUMÉ

La leptospirose est une zoonose ré-émergente à l'origine de manifestations cliniques variées et dont l'intensité est variable. La prise en charge médicale de cette grave affection repose sur l'antibiothérapie (la doxycycline et les pénicillines étant les antibiotiques de choix) mais également sur les mesures de soutien de toutes les grandes fonctions vitales altérées par cette maladie. Les techniques d'épuration extrarénale utilisées pour suppléer la fonction rénale défaillante ne doivent pas être entreprises en dernier recours, mais envisagées rapidement afin d'améliorer le pronostic de ces chiens.

**Mots clefs :** leptospirose, antibiotiques, perfusion, dialyse.

### ABSTRACT

*Leptospirosis is a reemerging zoonosis causing various clinical manifestations with variable gravity. The medical management of this serious medical condition is based on antibiotics (doxycycline and penicillins are first-line antibiotics) but also on measures to support all major vital functions impaired by this disease. Extrarenal replacement therapy is used to supplement impaired renal function and should not be used as a last resort, but should be considered rapidly to improve the prognosis of these dogs.*

**Keywords:** leptospirosis, antibiotics, fluids therapy, dialysis.

La leptospirose est une maladie infectieuse bactérienne ré-émergente à répartition mondiale affectant de nombreuses espèces de mammifères. Chez le Chien, les manifestations cliniques sont variées et de gravité variable. Ces manifestations semblent également être influencées par la distribution mondiale de la bactérie avec des formes plus atypiques et sévères en Europe (syndrome d'hémorragies pulmonaires associé à la leptospirose, intussusceptions, mucocèles biliaires...). La leptospirose est une maladie systémique pouvant être à l'origine de nombreuses défaillances organiques. Le traitement de la leptospirose repose sur deux plans, le traitement causal et le soutien des grandes fonctions.

### L'ANTIBIOTHÉRAPIE : LA PIERRE ANGULAIRE DU TRAITEMENT ?

En médecine humaine, l'efficacité de l'antibiothérapie dans le traitement de la leptospirose reste controversée (Brett-Major & Coldren, 2012). Cependant, l'Organisation Mondiale de la

Santé recommande l'utilisation précoce d'antibiotiques lors de suspicion de leptospirose (WHO 2003). Chez le Chien, les recommandations actuelles ciblent la doxycycline et les pénicillines comme choix de première intention (Schuller *et al.*, 2015). La doxycycline s'avère être l'antibiotique de choix. Cependant, l'absence de formulation injectable et la nécessité de le donner chez un animal ne présentant pas de signes digestifs, rend son utilisation parfois discutable en première intention. L'autre famille d'antibiotique de choix sont les  $\beta$ -lactamines (amoxicilline, ampicilline). Les leptospires sont sensibles à ces antibiotiques et aucun facteur de résistance n'a été pour le moment identifié. Les autres antibiotiques ne sont pas recommandés lors de leptospirose chez le Chien (Schuller *et al.*, 2015). L'auteur de ce manuscrit utilise le protocole suivant : association ampicilline-sulbactam (Unacim®) à la dose de 20 à 30 mg/kg par voie IV lente q6-8h pendant 7 jours (le temps de l'hospitalisation le plus souvent) avec un relai PO à l'aide de doxycycline à la dose de 10 mg/kg q24h pendant 14 jours.

(1) Dr Vét, MSc, PhD, IR-PH, Unité SIAMU (Soins intensifs, anesthésie, médecine d'urgence), VetAgro Sup, Campus vétérinaire, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Étoile, France.  
Courriel : anthony.barthelemy@vetagro-sup.fr

## LES TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES

### Soutien de la fonction rénale

La perfusion de solutés est nécessaire au bon rétablissement de la fonction rénale lors de la mise en évidence d'une azotémie. Pour monitorer au mieux cette fonction, la pose d'une sonde urinaire à demeure permettant de quantifier la diurèse est fortement recommandée. En effet, le rythme de perfusion sera adapté à celui de la diurèse de telle sorte que le rythme d'administration du soluté (utilisation d'un soluté cristalloïde isotonique tel que le Ringer lactate ou le NaCl 0,9%) soit supérieur à celui de la diurèse + 1 à 2 mL/kg/h. Lors d'oligo-anurie (diurèse < 1 mL/kg/h), il est discutable de mettre en place une perfusion de solutés en raison des risques importants de surcharge volumique. Un protocole de diurèse forcée peut être mis en place (furosémide 4 à 8 mg/kg IV et mannitol 0,5 à 1,5 g/kg sur 30 minutes) mais s'avère souvent inefficace. Le traitement de choix s'avère alors être l'épuration extrarénale. Les techniques d'épuration extrarénale ne doivent pas être considérées comme un traitement de dernière intention ou de dernière chance (Schuller *et al.*, 2015). Au contraire, réalisée rapidement, l'hémodialyse permet d'optimiser les chances de survie de l'animal. Les indications absolues conduisant à une prise en charge médicale immédiate par hémodialyse sont (Cowgill & Guillaumin, 2013) : l'oligo-anurie, l'hyperkaliémie, l'absence de diminution des paramètres rénaux après 12 à 24 heures de perfusion et la mise en évidence de signes (cliniques, radiographiques ou échographiques) de surcharge volumique. Il est fréquent, lors de leptospirose, d'être confronté simultanément à ces 4 indications (**figure 1**).

### Soutien de la fonction respiratoire

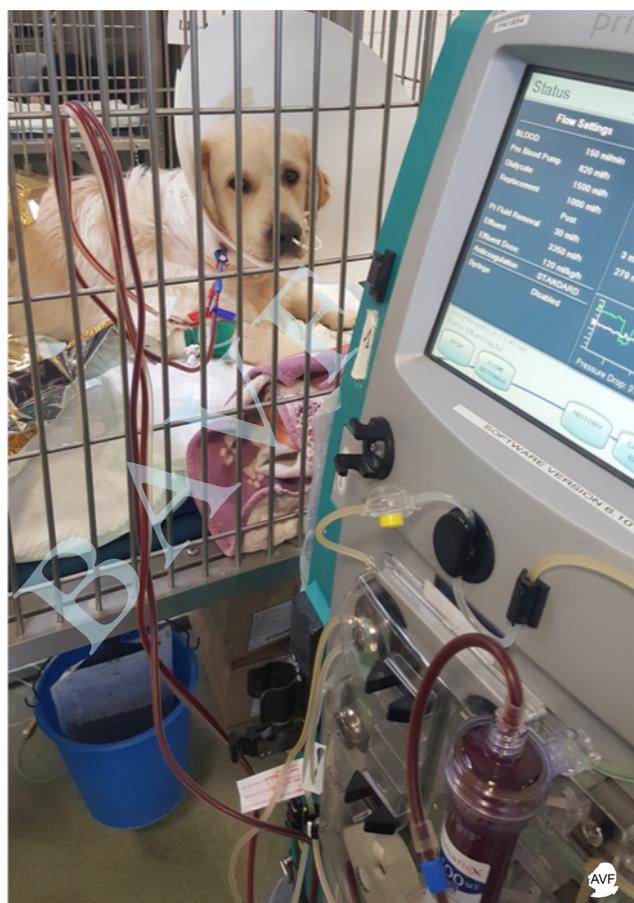
La prise en charge de la fonction respiratoire repose sur deux principes complémentaires : augmenter la fraction inspirée en O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub>) et diminuer la demande tissulaire en O<sub>2</sub>. L'oxygénothérapie doit être systématique au débit de 150 mL/kg/min chez un chien dyspnéique. Il est impératif d'augmenter significativement la FiO<sub>2</sub> qui n'est que de 21% dans l'air ambiant. L'oxygénothérapie va permettre de corriger l'hypoxémie en augmentant la quantité d'O<sub>2</sub> dans le sang, mais également l'hypoxie en augmentant l'apport d'O<sub>2</sub> aux tissus. Diminuer la demande tissulaire en O<sub>2</sub> chez un chien dyspnéique est également une nécessité. L'anxiété et la douleur vont aggraver la consommation tissulaire en O<sub>2</sub>. Le sédatif de choix chez un chien dyspnéique est sans aucun doute le butorphanol en raison de sa valence sédatrice ( $\kappa$ -agoniste), sa faible durée d'action (1 à 2 heures) et sa réversion aisée. Il s'utilise à la dose de 0,1 à 0,5 mg/kg par les voies IV ou SC q2h. Concernant la prise en charge médicale spécifique des hémorragies pulmonaires, aucune étude chez le Chien n'a permis d'identifier l'efficacité d'un traitement particulier. De rares études réalisées chez l'Homme souligneraient l'intérêt des traitements immunomodulateurs (Trivedi *et al.*, 2001).

### Soutien de la fonction hémostatique

Une étude prospective récente a souligné l'importante prévalence des déficits hémostatiques lors de leptospirose chez le Chien (Barthélemy *et al.*, 2017). Cependant, aucune recommandation consensuelle n'existe quant à la prise en charge médicale de ces déficits hémostatiques. L'auteur de ce manuscrit utilise l'acide tranexamique (Exacyl®) lors de la mise en évidence d'hémorragies à la dose de 10 mg/kg par voie IV lente q8h jusqu'à disparition de ces derniers. Lors de la présence d'une coagulopathie telle une coagulation intravasculaire disséminée, des produits sanguins peuvent être utilisés (plasma frais congelé ou sang total si présence d'une anémie concomitante) (Schuller *et al.*, 2015).

### Soutien de la fonction digestive et soutien nutritionnel

L'utilisation d'anti-émétiques, d'anti-acides et de protecteurs des muqueuses digestives sont recommandées lors de la présence de signes digestifs lors de leptospirose (Schuller *et al.*, 2015). Les anti-émétiques utilisables sont le citrate de maropitant (Cerenia®, 1 mg/kg IV lente q24h) et le métoclopramide (Emepid®, 0,3 à 0,5 mg/kg IV q8h ou 1 à 2 mg/kg/j en perfusion continue). La réalisation d'une échographie abdominale est conseillée avant l'administration de métoclopramide étant



**Figure 1** : Séance d'hémodiafiltration veino-veineuse intermittente chez un jeune Golden Retriever souffrant de leptospirose.

donné le risque d'intussusception associé à la leptospirose, notamment chez le jeune chien (Sonet *et al.*, 2017). Concernant les anti-acides, la préférence de l'auteur va pour les inhibiteurs de la pompe à protons (pantopazole, Inipomp®, 1 mg/kg IV lente q24h, oméprazole Mopral®) 0,7 à 1 mg/kg PO q12h). Le sucralfate peut enfin être utilisé comme protecteur des muqueuses digestives (0,25 g/kg PO q8h). Le soutien nutritionnel fait partie intégrante de la prise en charge médicale des chiens souffrant de leptospirose et ne doit pas être négligé. L'alimentation entérale doit être initiée le plus précocement possible au cours de l'hospitalisation, d'autant plus que la majorité des chiens sont anorexiques (Sonet *et al.*, 2017). L'alimentation entérale va permettre d'optimiser la perméabilité des parois digestives et d'éviter l'atrophie des villosités intestinales (réduisant ainsi le risque de dissémination bactérienne dans la circulation systémique). Si le chien reste anorexique les premières 24 heures d'hospitalisation, il est fortement recommandé de poser une sonde de réalimentation naso-oesophagienne ou naso-gastrique (Schuller *et al.*, 2015). Les besoins énergétiques de repos (BER,

exprimés en kcal/j) sont calculés comme suit :  $BER = 70 \times PV^{0.75}$ , formule dans laquelle PV représente le poids vif (exprimé en kg). L'alimentation est fractionnée en plusieurs repas (4 à 6 repas par jour). L'auteur préfère utiliser les sondes naso-gastriques car ces dernières permettent de quantifier le reflux gastrique avant chaque repas et ainsi guider l'utilisation de gastrokinétiques.

### Soutien de la fonction hépatobiliaire

L'atteinte hépatique lors de la leptospirose peut conduire à des signes d'insuffisance hépatique qui, bien que rapportés peu fréquemment, doivent être traités systématiquement (hypoglycémie, encéphalopathie hépatique, ...). L'utilisation des anti-oxydants n'a pas été évaluée lors de la leptospirose chez le chien. Une étude récente a identifié la vésicule biliaire comme un organe très fréquemment lésé lors de leptospirose (Sonet *et al.*, 2017). Des cholérétiques peuvent être utilisés lorsque la motilité des voies biliaires semble être réduite. Néanmoins, lors de mucoécèle biliaire, seule une prise en charge chirurgicale sera efficace.

## BIBLIOGRAPHIE

- Barthélemy A, Magnin M, Pouzot-Nevoret C, Bonnet-Garin JM, Hugonnard M, Goy-Thollot I. Hemorrhagic, hemostatic, and thromboelastometric disorders in 35 dogs with a clinical diagnosis of leptospirosis: a prospective study. *J Vet Intern Med.* 2017; 31: 69-80.
- Brett-Major DM & Coldren R. Antibiotics for leptospirosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2. 2012 ; CD008264.
- Cowgill LD & Guillaumin J. Extracorporeal renal replacement therapy and blood purification in critical care. *J Vet Emerg Crit Care* 2013; 23: 194-204.
- Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, et al. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *J Small Anim Pract.* 2015; 56: 159-179.
- Sonet J, Barthélemy A, Goy-Thollot I, Pouzot-Nevoret C. Prospective evaluation of abdominal ultrasonographic findings in 35 dogs with leptospirosis. *Vet Radiol Ultrasound.* 2017. doi: 10.1111/vru.12571.
- Trivedi SV, Chavda RK, Wadia PZ, Sheth V, Bhagade PN, Trivedi SP, et al. The role of glucocorticoid pulse therapy in pulmonary involvement in leptospirosis. *The Journal of the Association of Physicians of India.* 2001; 49: 901-903.
- WHO. Human leptospirosis : guidance for diagnosis, surveillance and control 2003. Disponible à : [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42667/1/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002.23.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42667/1/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf) (consulté le 10.11.2017).

# LES INFECTIONS LEPTOSPIROSIQUES DU CHEVAL : MYTHES ET RÉALITÉS

## LEPTOSPIROSIS INFECTIONS OF THE HORSE: MYTHS AND REALITIES

Par François VALON<sup>(1)</sup>, Jean-Luc CADORÉ<sup>(2)</sup>  
(Communication présentée le 18 Janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 20 Mai 2019)

### RÉSUMÉ

Il est établi que le pourcentage de chevaux ayant été infectés par des leptospires sur la base de la séro-prévalence est élevé. Les difficultés de dénombrement des formes cliniques des infections leptospirosiques reposent encore sur les difficultés de mise en évidence du pathogène. La pathogénie des infections leptospirosiques est de mieux en mieux connue. Les données cliniques obtenues lors d'infection expérimentale sont peu nombreuses. Les formes générales affectant le foie ou les reins sont rares. La relation entre l'infection leptospirosique et les uvéites récidivantes est décrite. Il est noté l'émergence de descriptions de formes rénales et aussi d'hémorragies pulmonaires chez le poulain et chez l'adulte ; chez la jument gestante d'atteinte du fœtus avec surtout des formes abortives et plus rarement des formes périnatales se traduisant par des affections chez le poulain. Il n'existe à ce jour aucune preuve de l'implication de l'infection leptospirosique dans le syndrome d'hyperthermie aiguë ou récurrent, et pas plus dans les situations de méforme et de contre-performance chez le cheval sportif. Enfin, il n'existe pas de vaccin spécifique pour le cheval en France.

**Mots-clés :** leptospirose, cheval, épidémiologie, expression clinique.

### ABSTRACT

*It is established that the percentage of horses infected with leptospires on the basis of sero-prevalence is high. Difficulties in the classification of clinical forms of leptospirosic infections have been and continue to be due to difficulties in the identification of the pathogen. The pathogenesis of leptospirosic infections is becoming better known. Clinical data obtained from experimental infections are not many. General forms affecting the liver kidneys are rare. The relationship between leptospirosic infection and recurrent uveitis is described. Descriptions of renal forms and also pulmonary haemorrhages have emerged in the foal but also in the adult, in the pregnant mare of fetal involvement with especially abortive forms and more rarely perinatal forms resulting in affections in the foal. To date, we have no evidence of the involvement of leptospirosic infection in acute or recurring hyperthermia syndrome, nor in situations of poor form, counter-performance in sports horses. There is no specific vaccine for horses in France.*

**Keywords:** leptospirosis, horse, epidemiology, clinical expression.

(1) Docteur Vétérinaire, Clinique vétérinaire du Parc de Brière 44117 Saint André des Eaux.  
Courriel : francois.valon@gmail.com

(2) Professeur en médecine interne, Université de Lyon, VetAgro Sup, Pôle équin, 1 avenue Bourgelat 69280 Marcy l'Étoile.  
Courriel : jean-luc.cadore@vetagro-sup.fr

La leptospirose maladie est rare chez le cheval à en juger par le peu d'observations publiées dans la littérature (Verma *et al.* 2013). Pour tenter de faire une synthèse pratique pour le vétérinaire de terrain, relative à ces infections dont la fréquence ne fait aucun doute sur notre territoire, nous répondrons à trois questions essentielles :

- quelle est l'épidémiologie de ces infections et ont-elles une implication dans l'épidémiologie des autres leptospiroses animales ou humaines ?
- ces infections ont-elles souvent une expression clinique et si oui sont-elles dues directement à la présence du pathogène ou d'autres mécanismes pathogéniques sont-ils incriminés ?
- comment diagnostiquer une infection leptospirosique, faut-il la traiter et comment s'en prémunir ?

## ÉPIDÉMIOLOGIE DES INFECTIONS LEPTOSPIROSQUES

Depuis le développement des différentes techniques sérologiques, il est bien établi que le pourcentage de chevaux ayant été infectés par des leptospires est élevé. La technique de micro-agglutination (MAT) fait référence et la qualité des résultats dépend de l'expertise du laboratoire. Le seuil de positivité est habituellement de 1/100, mais il serait impératif de toujours réaliser des examens appariés différés de deux à trois semaines pour observer une éventuelle conversion sérologique. La technique ELISA a également été développée, montrant une bonne sensibilité et spécificité. Des techniques particulières ont pu également être mises au point pour différencier les infectés des vaccinés (travaux réalisés aux USA où un vaccin est commercialisé pour le séro-groupe Pomona ne circulant plus en France, Nelineni & Timoney, 2016). La mise en évidence d'anticorps dirigés contre une protéine LuC s'avère particulièrement intéressante (Verma *et al.* 2012) ; d'autres auteurs ont utilisé les protéines recombinantes LipL21, Loa22, LipL32, LigACon48 (Ye *et al.* 2014). En France, les données du laboratoire de référence de VetAgro Sup (Pr Angeli Kodjo)

montrent que les chevaux analysés sur la période 2008-2016 étaient majoritairement exposés au séro-groupe Australis. Parmi 7534 sérums analysés, 5328 (70%) étaient positifs à un seuil  $\geq$  1/100. Pour 3846 tests (72% des tests positifs) la séro-réactivité était dirigée contre un unique séro-groupe permettant d'identifier le séro-groupe auquel a été exposé l'animal avec une probabilité optimale. La distribution des séro-groupes ainsi obtenue est reportée dans le **tableau 1**. Il existe cependant une grande variabilité des séro-

groupes circulants et des pathogènes en fonction des régions et/ou des continents. Concernant la population asine, peu de données sont disponibles mais il faut la considérer, a priori, comme aussi sensible que la population équine. Des travaux mettant en évidence par amplification génique des fragments d'acides nucléiques des leptospires dans les urines de chevaux plaident en faveur d'une infection possiblement persistante et par conséquent d'un rôle de réservoir et de probables excréteurs. Les chevaux peuvent être de potentiels agents de dissémination de leptospires, même si peu d'infections humaines ont pu être imputées à un contact direct avec leurs fluides biologiques (urine, sang, avortons et annexes fœtales). Ainsi un seul titre positif en anticorps ne doit en aucun cas autoriser l'affirmation diagnostique d'une leptospirose clinique mais seulement d'une infection passée ou en cours, en fonction du titre et de son évolution (Valon, 1998).

## EXPRESSIONS CLINIQUES DES INFECTIONS LEPTOSPIROSQUES

Toutes les difficultés du dénombrement des formes cliniques des infections leptospirosiques reposent encore sur les difficultés de mise en évidence du pathogène par culture, qui doit être considérée comme le diagnostic le plus fiable. Isolé au début du siècle dernier chez l'homme, ce spirochète est reconnu responsable en 1947 par Lubachenko et Novikova d'une maladie chez le cheval. Cette observation est relayée à la même période par Roberts, York et Robinson aux USA et Zaharija en Yougoslavie. Les lésions oculaires, déjà rapportées dès 1886 chez l'homme par Weil, sont suspectées par Rimpau en 1947 chez le cheval puis par Heusser en 1948 et Witmer et Roberts dans les années 50. Ils ont été suivis, en France, par les travaux de Kolochine-Erber, Rossi, Mailloux, Brion, Verge et Goret. En 1954, les auteurs argentins Vagni, Mascaro et Villegas décrivent des formes nerveuses et isolent l'agent pathogène dans le liquide cérébro-spinal (Tavier 1972; Fleury 1999). La pathogénie des infections leptospirosiques est de mieux en mieux connue (Adler & Moctezuma,

	TITRES	TOTAUX	IH	AUS	AUT	PAN	POM	PYR	GRI	SJ	CAN
2008-2016	>100	3846	731 (19%)	1991 (51%)	81 (2%)	74 (2%)	16	473 (12%)	194 (5%)	150 (4%)	136 (3,5%)
	>400	3187	497 (15%)	1795 (56%)	56 (2%)	56 (8%)	10	409 (12%)	133 (4%)	135 (4%)	96 (3%)
	>1600	707	44 (6%)	503 (71%)	5 (1%)	4	1	77 (10%)	30 (4%)	24 (3%)	19 (2,5%)
2016	>100	863	34 (4%)	576 (67%)	11 (1%)	16 (2%)	2	125 (14%)	64 (7%)	27 (3%)	8 (1%)
	>400	686	18 (2,5%)	492 (71%)	4	13 (2%)	1	97 (14%)	32 (5%)	23 (3%)	6
	>1600	115	1	98 (85%)	0	0	0	11 (9%)	3 (2%)	2 (2%)	0

**Tableau 1** : Nombre de test avec une séroréactivité dirigée vers un séro-groupe donné pour la période 2008-2016 et pour l'année 2016; seuls sont inclus les tests pour lesquels la séroréactivité était dirigée vers un unique séro-groupe (données du laboratoire de référence de VetAgro Sup, Pr Angeli Kodjo).

2010; Bernard, 1993; Evangelista & Coburn, 2010; Patra *et al.* 2015). Quelle que soit l'espèce, la voie de contamination est cutanée ou muqueuse à partir de matériel ou liquides biologiques contaminés (eaux souillées, urines, sécrétions génitales). Les souches pathogènes résistent aux premiers mécanismes de défense (neutrophiles, complément) et sont responsables d'une bactériémie hyperthermisante pouvant durer de deux à vingt jours. Si les lipopolysaccharides de la paroi de ces bactéries ne semblent pas à l'origine de cette hyperthermie ils sont responsables pour partie de la pathogénicité. Les réactions de l'hôte éliminent les leptospires du sang circulant. Le pathogène, non sans entraîner des lésions endothéliales et des dysfonctionnements de la coagulation, gagne les tissus cibles. On le retrouve, en particulier, dans les reins, le foie, l'œil, le système nerveux central et l'appareil reproducteur chez la femelle. Il peut entraîner l'apparition de symptômes aigus (déterminés par une vascularite) ou rentrer dans une phase inactive jusqu'à l'expression clinique ou non de symptômes comme c'est le cas lors d'avortement ou d'uvéite (**Figure 1**). On comprend que selon la phase de l'infection à laquelle le clinicien est confronté, les moyens diagnostiques à utiliser seront différents, les anticorps n'étant pas encore détectables lors de la phase dite silencieuse pendant

laquelle le pathogène n'est plus dans le sang. Les données cliniques obtenues lors d'infections expérimentales sont peu nombreuses dans une littérature antérieure aux années 70 et pas toujours accessible (Williams, 1971). Il a été observé essentiellement des signes oculaires d'uvéite antérieure et postérieure apparaissant plus de cinquante semaines après inoculation de *Leptospira Pomona* chez deux tiers des poneys infectés ayant montré une hyperthermie initiale dans les trois premiers jours ainsi qu'une hémoculture positive au quatrième jour et une séroconversion maximale trois semaines après. Dans une étude beaucoup plus récente, sur quatre chevaux infectés par *Leptospira Kennewicki* par voie oculaire et intrapéritonéale, une hyperthermie est également rapportée chez deux chevaux, ainsi que l'isolement de la bactérie dans le sang et les urines mais pas dans l'humeur aqueuse des deux chevaux fébriles, par ailleurs le titre en anticorps sériques étant significatif à trois semaines (Yan *et al.* 2010). Ces données confirment donc bien le fait que le cheval est une espèce sensible à l'infection leptospirosique mais qu'il n'exprime pas autant de signes cliniques que d'autres espèces comme le chien (Schuller S *et al.* 2015). Il est intéressant de reprendre les formes cliniques d'infection naturelle leptospirosique décrites au milieu du siècle dernier en précisant toutefois

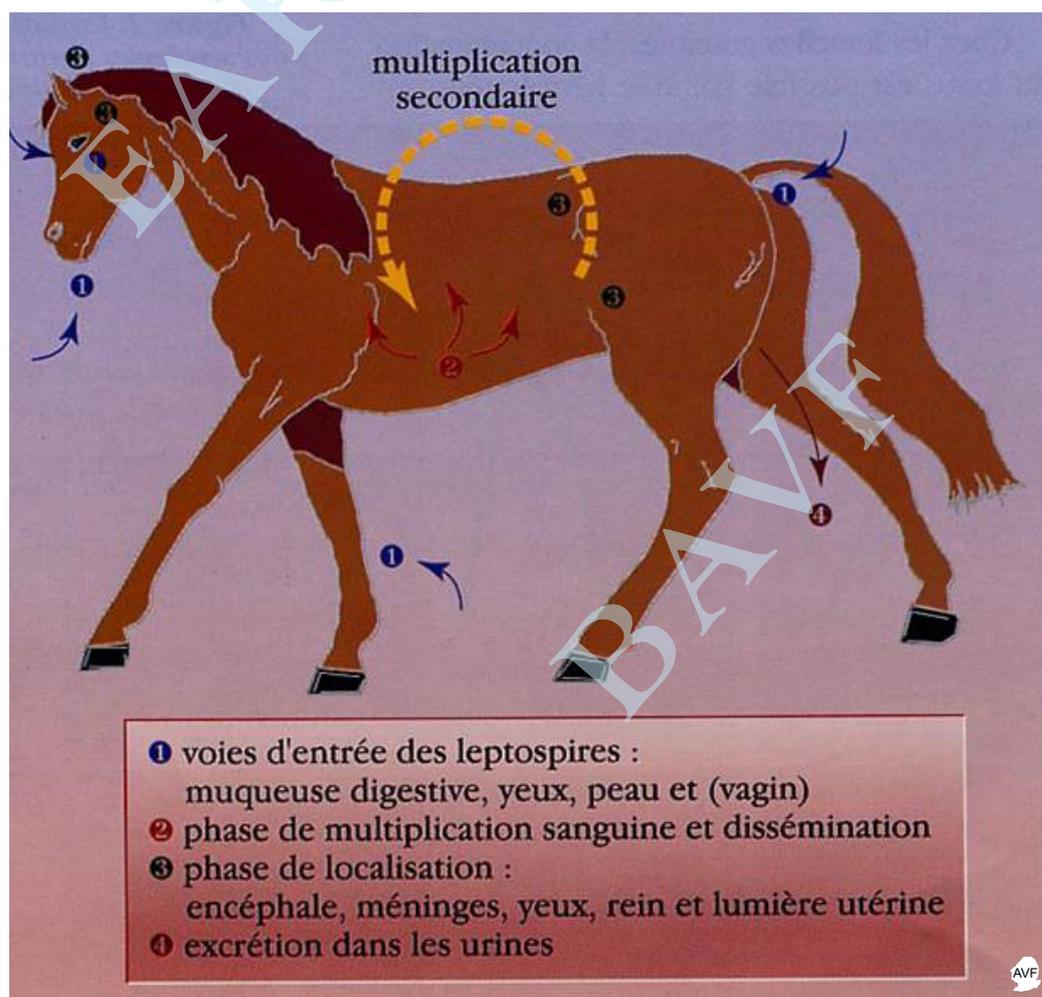


Figure 1 : Pathogénie des infections leptospirosiques (D'après Valon, 1998).

que leur confirmation a reposé sur des titres sérologiques, parfois sur des reproductions expérimentales sur animal de laboratoire, à partir de 170 cas (Rossi 1956). Un syndrome hémoglobinurique avec hyperthermie, ictère et anémie constitue une première forme rare (5 confirmations sérologiques sur 6 suspicions). Un syndrome hépato-méningé ressemblant à celui décrit autrefois chez l'homme demeure lui aussi rare (7 confirmations sérologiques sur 14 suspicions). Moins rarement, on a décrit une affection hépatique avec hyperthermie, ictère et azotémie (62 confirmations sérologiques sur 126 suspicions). Représentant la moitié des cas, un syndrome typhique avec anémie sans azotémie a été rapporté (88 confirmations sérologiques sur 169 suspicions). Parallèlement à ces descriptions, la relation entre l'infection leptospirosique et les uvéites récidivantes a été décrite et pour partie confirmée par reproduction expérimentale. Mais sa pathogénie n'a pas été déterminée de façon ni satisfaisante ni définitive ; les phénomènes immunopathologiques semblaient prédominant par production locale d'anticorps dans l'humeur aqueuse, le rôle direct du pathogène dans les tissus oculaires était discuté. Il faut attendre les années 80 pour voir des descriptions plus détaillées d'autres expressions cliniques avec toujours une dominante oculaire aux multiples facettes et l'identification des sérogroupes responsables probablement variables selon leur localisation géographique (Swann *et al.* 1981; Fontaine & Cadore, 1987; Bernard, 1993). Les années 90 voient l'émergence de descriptions de formes rénales chez le poulain mais aussi chez l'adulte se traduisant par une insuffisance rénale aiguë due à une néphrite tubulo-interstitielle (Bernard *et al.* 1993; Hogan *et al.* 1996). Les affections néonatales mais surtout les avortements occupent une place importante et non négligeable dans l'expression clinique parmi toutes les causes d'avortement tardif après le sixième mois de gestation chez la jument (3 à 13%) (Giles *et al.* 1993; Donahue, 2000; Laugier *et al.* 2011; Chaffaux *et al.* 2011; Hamond *et al.* 2015). Au début des années 2000, on a isolé le pathogène dans l'humeur aqueuse (Faber *et al.* 2000) et dans le corps vitré de chevaux ce qui a permis de mieux comprendre son rôle potentiel dans l'apparition de l'inflammation endo-oculaire potentiellement récidivante jusqu'alors fortement suspectée mais non démontrée avec des arguments sérologiques (Dwyer *et al.* 1995). Ce rôle avait, potentiellement, déjà été évoqué par les travaux de Parma (1985) portant sur la communauté antigénique entre certaines protéines du pathogène et celles de la cornée du cheval. Depuis, certaines techniques thérapeutiques (immunomodulateurs ou antibiotiques locaux et généraux pénétrant dans les structures oculaires, vitrectomie) semblent confirmer ces hypothèses lors d'uvéites récidivantes mais pas dans la totalité des cas, laissant penser que certaines relèvent d'autres mécanismes sans qu'aujourd'hui on en connaisse la réelle proportion (Spiess, 2010; Gilger, 2010). Des travaux plus récents montrent la présence possible de leptospires et d'anticorps spécifiques dans le corps vitré de chevaux présentant une uvéite récurrente (Dorrigo-Keiter *et al.* 2016). Enfin, très récemment, un cas de forme hémorragique pulmonaire a été rapporté chez un poulain de deux mois, semblable à ceux décrits en médecine humaine et canine (Broux *et al.* 2011). Ainsi, nous n'avons à ce jour aucune

preuve de l'existence d'autres formes cliniques, en particulier de l'implication de l'infection leptospirosique dans le syndrome d'hyperthermie aigu ou récurrent, ni dans toutes les situations de méforme, de contre-performance et de fatigue chez le cheval sportif. En théorie, les différents sérogroupes sont susceptibles de provoquer diverses formes d'affections, des manifestations cliniques les plus graves à l'infection asymptomatique ; certains sérogroupes présentent toutefois un pouvoir pathogène plus constant, par exemple *Icterohemorrhagiae*. On remarque pour des sérogroupes une certaine adaptation, c'est-à-dire une grande aptitude à se multiplier (grande réceptivité) mais un pouvoir pathogène peu important (faible sensibilité). Ainsi en Europe de l'Ouest et aux Etats-Unis, le séro groupe *Australis* présente cette adaptation chez le cheval

## DIAGNOSTIC, TRAITEMENT ET PRÉVENTION DES INFECTIONS LEPTOSPIROSIQUES

Les principales circonstances cliniques décrites précédemment constituent des indications d'évocation diagnostique d'une forme clinique de leptospirose. Dans toute la mesure du possible, un diagnostic hautement probable devrait reposer i) sur des signes cliniques habituellement décrits, ii) sur l'observation d'une conversion sérologique, iii) sur la mise en évidence par technique moléculaire du pathogène sur tout substrat biologique disponible, cible ou support des leptospires (Léon *et al.* 2006). Les particularités spécifiques de la reconnaissance de l'implication des leptospires dans la survenue des uvéites seront traitées par ailleurs. Concernant le traitement, les leptospires sont sensibles à de nombreux antibiotiques parmi lesquels le choix se porte en première intention sur les pénicillines ou les cyclines. En dehors des formes oculaires traitées à part, l'instauration d'un tel traitement sera envisagée sur la base d'un diagnostic sinon de certitude en tout cas pas un diagnostic refuge autorisé, bien souvent, par un seul titre en anticorps demandé à une période possiblement précoce de l'infection. Ainsi, seules les formes cliniques les plus caractéristiques méritent, si elles sont valablement identifiées, d'être traitées comme telles, en l'absence de réelles données sur le potentiel portage des chevaux après arrêt du traitement. La prophylaxie sanitaire repose sur des mesures défensives : gestion de populations réservoirs (par exemple la diminution de populations de rongeurs), diminution des interfaces favorables à la contamination (réduire l'accès aux mares, zones marécageuses...), traitement des dermates des membres et isolement des malades. Il convient lorsque le contexte épidémiologique le justifie de renforcer la vaccination des animaux au contact, animaux de compagnie et animaux de rente. Les mesures offensives ne sont pas imposées en la France (dépistage des porteurs et/ou traitement). Cependant ces mesures peuvent être obligatoires lors d'exportation. Le Manuel Terrestre de l'OIE indique un titre seuil de 1/100 pour définir un test positif dans le cadre des échanges internationaux et mentionne la possibilité d'utiliser un seuil inférieur pour attester d'une exposition antérieure aux leptospires. (OIE, 2018). Il n'existe pas de vaccin spécifique pour le cheval en France. L'utilisation hors

AMM de vaccins élaborés pour d'autres espèces, carnivores en France et bovins aux États-Unis, est réalisée par certains. Outre le problème évident de responsabilité professionnelle, le bilan de cette pratique est difficile à évaluer. On sait qu'il existe une séroconversion vis-à-vis des sérogroupes utilisés (*Canicola*, *Ictero-haemorrhagiae*, *Grippotyphosa*...) mais aussi que la protection croisée est limitée. Chez les bovins vaccinés, le portage chronique et les avortements ne sont pas supprimés. L'administration de vaccins chez des chevaux présentant une uvéite et un taux d'an-

ticorps important semble contre-indiquée. Un vaccin spécifique existe aux USA mais contre le sérovar Pomona, mais son emploi n'est pas justifié car celui-ci n'est pas retrouvé en France. Lors de conditions extrêmes (inondations des pâtures,...) dans des zones à risques et dans certain contextes épidémiologiques, l'administration d'une antibio-prévention est préconisée chez les femelles gestantes surtout lorsqu'une séroconversion est observée (**Figure 2**).



**Figure 2** : Risque épidémiologique accru : pâtures inondées (copyright F Valon).

## REMERCIEMENTS

Florence Ayrat (INRA, VetAgro Sup, USC 1233, Rongeurs sauvages, Risques Sanitaires et Gestion des populations, Marcy L'Étoile).

## BIBLIOGRAPHIE

- Adler B, Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol.* 2010; 140:287-96.
- Bernard WV. Leptospirosis. *Vet Clin North Amer Equine Pract.* 1993; 9:435-44.
- Bernard WV, Williams D, Tuttle PA, Pierce S. Hematuria and leptospiruria in a foal. *J Amer Vet Med Assoc.* 1993; 203:2768.
- Bernard W. Leptospirosis *Vet Clin North Am Equine Practice.* 1993; 9:435-44
- Broux B, Durie I, Torfs S, Wegge B, Ducatelle R, Deprez P. An unusual case of leptospirosis: acute respiratory distress and icterus in a two-month-old foal. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.* 2011; 80:55-60.
- Chaffaux S, Dugardin D, Pitel PH, Hendrikx P, Laugier C, Valon F. Premier bilan du réseau d'épidémiologie des avortements infectieux et contagieux chez les équidés. *Bull Acad Vet.* 2011; 164:119-26.
- Donahue M, Williams N. Emergent causes of placentitis and abortion. *Vet Clin North Am. Equine practice.* 2000;16:443-56.
- Dorriego-Keiter E, Toth J, Dikker L, Sielhorst J, Schusser G. Detection of *Leptospira* by culture of vitreous humor and detection of antibodies against *Leptospira* in vitreous humor and serum of 225 horses with equine recurrent uveitis. *Berl Munch Tierarz Wochenschr.* 2016; 129:209-15.
- Dwyer AE, Crockett RS, Kalsow CM. Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). *J Amer Vet Med Assoc.* 1995; 207:1327-31.
- Evangelista K, Coburn J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology,

- pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol.* 2010; 5:1413-25.
- Faber NA, Crawford M, Lefebvre RB, Buyukmihci NC, Madigan JE, Willits NH. Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:2731-3.
  - Fleury A. La leptospirose équine : revue bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort, 1960, 121 pages.
  - Fontaine M, Cadore JL. Actualités sur les leptospiroses équines. *Sci Vét Méd Comp.* 1987; 89:137-42.
  - Giles RC, Donahue JM, Hong CB, Tuttle PA, Petrites-Murphy MB, Poonacha KB *et al.* Causes of abortion, stillbirth and perinatal death in horses: 3527 cases (1986-1991). *J Amer Vet Med Assoc.* 1993; 201:11705.
  - Gilger BC. Equine recurrent uveitis: the viewpoint from the USA. *Equine Vet J.* 2010; 37:57-61.
  - Hamond C, Pestana C, Rocha-de-Souza C, Chuna L, Brandao M, Meideros M *et al.* Presence of leptospires on genital tract of mares with reproductive problems. *Vet Microbiol.* 2015; 179:264-9.
  - Hogan P, Bernard WV, Kazakevicius PA, Fitzgerald MR. Acute renal disease due to *Leptospira interrogans* in a weanling. *Equine Vet J.* 1996; 28:331-3.
  - Laugier C, Foucher N, Sevin C, Leon A, Tapprest J. A 24-year retrospective study of equine abortion in Normandy (France). *J Equine Vet Sc.* 2011; 31:116-23.
  - Léon A, Pronost S, Tapprest J, Foucher N, Blanchard B, André-Fontaine G *et al.* Identification of pathogenic *Leptospira* strains in tissues of premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. *J Vet Diagn Invest.* 2006; 18:218-21.
  - Nelineni S, Timoney J. Preliminary evaluation of a dual antigen ELISA to distinguish vaccinated from *Leptospira* infected horses. *Vet Rec.* 2016; 179:574-7.
  - OIE : Manuel terrestre. Disponible à [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.01.12\\_LEPTO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf) Consulté le 30.05.2019
  - Parma AE, Santisteban CG, Villalba JS, Bowden RA. Experimental demonstration of an antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. *Vet Immunol Immunopathol.* 1985; 10:215-24.
  - Patra K, Choudhury B, Matthias M, Baga S, Bandyopadhyay K, Vinetz J. Comparative analysis of lipopolysaccharides of pathogenic and intermediately pathogenic *Leptospira* species. *BMC Microbiol.* 2015; 15:244-54.
  - Rossi P, Kolochine-Erber B. Leptospiroses équines. *Rec Med Vet.* 1956; 132:21-35.
  - Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE *et al.* European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 2015; 56:159-179
  - Spiess BM. Equine recurrent uveitis: the european viewpoint. *Equine Vet J.* 2010; 37:50-6.
  - Swann RA, Williams ES, Taylor EG. Clinical and serological observations on horses with suspected leptospirosis. *Aust Vet J* 1981; 57:528-9.
  - Tavier J. Les leptospiroses équines. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 1973, 71 pages.
  - Valon F. Étude clinique, diagnostic et traitements des leptospiroses équines. *Prat Vét Equine* 1998; 120:215-25.
  - Verma A, Stevenson B, Adler B. Leptospirosis in horses. *Vet Microbiol* 2013; 167:61-6.
  - Verma A, Matsunaga J, Artiushin S, Pinne M, Houwers D, Haake D *et al.* Antibodies to a novel *Leptospira* protein, LtuC, in the eye fluids and sera of horses with *Leptospira*-associated uveitis. *Clin Vaccine Immunol.* 2012; 19:452-6.
  - Williams RD, Morter RL, Freeman MJ, Lavignette AM. Experimental chronic uveitis: Ophthalmic signs following equine leptospirosis. *Invest Ophthalmol.* 1971; 10 :948-54.
  - Yan W, Faisal SM, Divers T, Mc Donough SP, Akey B, Chang YF. Experimental *Leptospira interrogans* serovar kennewicki infection of horses. *J Vet Intern Med.* 2010; 24:912-7.
  - Ye C, Mc Donough P, Mc Donough S, Mohamed H, Divers T, Chang YF *et al.* Serodiagnostic of equine leptospirosis by enzyme-linked immunosorbent assay using four recombinant protein markers. *Clin Vaccine Immunol.* 2014; 21:478-83.

# LA LEPTOSPIROSE DANS LES UVÉITES RÉCIDIVANTES DU CHEVAL : MYTHE OU RÉALITÉ

## LEPTOSPIROSIS IN EQUINE RECURRENT UVEITIS : MYTH OR REALITY

Par Thomas LAUNOIS<sup>(1)</sup>

(Communication présentée le 18 Janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 20 Mai 2019)

### RÉSUMÉ

L'objectif est d'évaluer l'association entre les uvéites récurrentes chez le cheval et la leptospirose et quels sont ses traitements. Deux questions sont donc posées : d'une part qu'elle est l'incidence de la leptospirose et de ses différents sérogroupes dans les uvéites et d'autre part les protocoles de traitement des uvéites sont-ils différents si l'étiologie est leptospirosique ou liée à une autre affection ? On peut donc répondre que les leptospires présents dans certaines zones géographiques avec des conditions d'humidité particulières peuvent être un facteur de déclenchement d'uvéite par un mécanisme immunitaire plutôt que par une action pathogène directe de la bactérie. Les sérogroupes les plus souvent incriminés sont Pomona et Grippotyphosa. Les traitements sont fondamentalement immuno-modulateurs. Il semble que la vitrectomie ait une indication dans les uvéites leptospirosiques. Les bons pronostics des autres traitements chirurgicaux (implants de cyclosporine et injection microdosée de gentamicine) pratiqués indépendamment de l'étiologie de l'uvéite, relativisent l'intérêt de prendre le risque d'effectuer un prélèvement d'humeur aqueuse pour calculer la valeur C (Coefficient de Goldman-Witmer) et de réaliser d'une vitrectomie, technique invasive pouvant affecter le pronostic visuel.

**Mots-clés :** cheval, uvéite, leptospirose, traitement.

### ABSTRACT

*The objective of the study is to evaluate if leptospirosis is a potential cause of uveitis in horses. Two questions arise : To evaluate the prevalence of leptospirosis in ERU affected horses and secondly if *Leptospira spp* is detected, would it affect the treatment strategy?*

*We can answer that *Leptospira spp* are present in some geographic area with subsequent humidity and can be a potential cause of uveitis and may be driven by the host immune response rather than virulence of the organism. Serovars are Pomona and Grippotyphosa. Treatments target mainly the immune response. Vitrectomy seems to be the treatment of *Leptospira* induced uveitis. But the successful outcome of cyclosporine implants and low dose gentamycin intravitreal injection, make questionable the rationality of risking a sample of aqueous humor to calculate the C Value (Goldman-Witmer coefficient) and then doing a vitrectomy which can affect the visual outcome.*

**Key words :** horses, uveitis, *Leptospira*, treatment.

## INTRODUCTION

Le terme d'uvéite désigne les maladies inflammatoires de l'uvée de l'œil. L'uvée de l'œil étant l'ensemble des structures anatomiques avec une composante endothéliale (Iris, corps ciliaires, choroïde, endothélium cornéen). Lors d'uvéite le premier événement physiopathologique est représenté par la dégradation des

composantes vasculaires de la barrière hémato-oculaire entraînée par les cytokines pro-inflammatoires. Chez le cheval un certain nombre de bactéries comme *Salmonella*, *Streptococcus equi* var *equi*, *Borrelia burgdorferi* et *Rhodococcus equi*, sont connues pour être responsables d'uvéites. L'association uvéite récurrente et

(1) Docteur Vétérinaire, DECSV, DESV, DE. O, 3 chemin des Regains, 78460 Chevreuse.  
Courriel : Thomas.launois@orange.fr

leptospirose a été faite pour la première fois en Allemagne en 1947 et plusieurs rapports similaires issus de différentes parties du monde ont suivi cette première observation (Brooks, 2016). Il est admis que la pathogénie des uvéites récurrentes est à médiation immune et il est généralement accepté qu'une dérégulation immunitaire est responsable de ce phénomène. Cela explique la récurrence des uvéites, la réponse favorable à la corticothérapie et à d'autres immuno-modulateurs plus spécifiques et cela permet aussi de comprendre les résultats thérapeutiques imparfaits des traitements antibiotiques. L'objectif est donc d'évaluer l'association entre uvéite récurrente chez le cheval et la leptospirose et quels sont ses traitements. Deux questions sont donc posées : d'une part quelle est l'incidence de la leptospirose et des différents sérovars dans les uvéites et d'autre part les protocoles de traitement des uvéites sont-ils différents si l'étiologie est leptospirosique ou liée à une autre affection ?

## HISTORIQUE

La prévalence des uvéites varie en fonction des zones géographiques et du climat. Dans certaines zones inondables la prévalence pouvait être en France de 23 à 40 %, en Allemagne de 70 % alors que dans les zones plus sèches elle n'est que de 5 % (Tömördy, 2009). Eugène Nicolas, dans sa deuxième édition de 1928, écrit que les uvéites dites primitives affectent les chevaux de façon sporadique et quelques fois de façon enzootique. Déjà il précisait que la récurrence était une complication des uvéites en général quelle que soit leurs formes cliniques et leurs formes étiologiques. L'écurie devait être considérée comme infectée quand un animal atteint d'uvéite y était détecté, il préconisait de l'évacuer et de bien la désinfecter. Les animaux sains étaient séparés des animaux infectés. Pour préserver les animaux sains on conseillait la vaccination répétée tous les 8 jours, au moyen de vaccins staphylo-streptococciques et du sérum polyvalent qui contenait des anti-toxines colibacillaires, instillés ou injectés sous la conjonctive et en intraveineuse (Nicolas, 1928). En fonction des études les sérogroupes incriminés dans les uvéites sont différents : en Amérique du Nord et en Amérique du Sud le séro groupe Pomona est identifié (Dwyer *et al.* 1995; Faber *et al.* 1987; Sillerud *et al.* 1987) alors que dans d'autres études c'est le séro groupe Grippothyphosa qui prédomine (Brem *et al.* 1999; Wollande *et al.* 2001; Gerding & Gilger, 2016). Des publications plus rares font référence aux sérogroupes Autumnalis (Schwink, 1992), Icterohaemorrhagiae (Sillerud, 1987), Australis, Sejroe (Hartskeerl *et al.* 2004). Les chevaux s'infectent avec les leptospires principalement au contact de l'eau contaminée par l'urine d'animaux porteurs excréteurs (Malalana, 2019).

## LES UVÉITES D'ORIGINE LEPTOSPIROSIQUE ET PROBABLE PATHOGÉNIE

Pour un diagnostic d'uvéite récurrente d'origine leptospirosique il faut à la fois : calculer le Coefficient Goldmann-Witmer appelé C qui correspond au rapport du titre en anti corps du vitré ou

de l'humeur aqueuse sur le titre en anticorps du sérum dosé par micro agglutination (Micro Agglutination Titres : MAT) et identifier par PCR l'ADN des leptospires dans l'humeur aqueuse (Gilger, 2018). Le diagnostic de certitude est établi lorsque la valeur C est supérieure ou égale à 4 et que la PCR soit positive au niveau de l'humeur aqueuse ou du vitrée ou la sérologie supérieure à 400. Une fois que l'inflammation endo-oculaire est initiée, que ce soit par après une infection leptospirosique ou toute autre affection oculaire, l'œil perd son privilège de tolérance immunitaire. Dans cet environnement, les cellules de présentation des antigènes activées dans le tissu uvéal vont présenter les auto-antigènes au système immunitaire local activé. Dans ces conditions des réactions croisées entre les auto-antigènes et l'agent infectieux peuvent avoir lieu. L'uvéite se développe. Il est accepté assez unanimement que les fragments lipoprotéiques et l'ADN des leptospires aient une mimécrie antigénique et des réactions croisées avec les tissus oculaires comme la cornée, le cristallin et la rétine (Brem *et al.* 1999; Faber *et al.* 1987; Spiess, 2010; Verma *et al.* 2012). La présence de CMH (Complexe Majeur d'histocompatibilité) class II et d'IgG dans les cellules inflammatoires ou dans les cellules uvéales des yeux présentant une infection leptospirosique, confirme que les leptospires ont un rôle initiateur et catalyseur de la réaction immunitaire locale dans l'œil (Gilger & Hollingsworth, 2017). Cette pathogénie à médiation immune des leptospires dans les uvéites permet de comprendre, que ce soit lors d'infection expérimentale ou naturelle, pourquoi les uvéites se déclarent 12 à 24 mois après l'infection. Ce décalage entre l'infection et les signes uvéaux permet de comprendre pourquoi il est difficile d'établir un diagnostic d'infection leptospirosique dans le cas d'une uvéite chez un cheval. En 2017 une étude éalisée au Royaume Uni sur 30 yeux affectés par une uvéite et énucléés et 43 yeux de contrôle exempts d'uvéite prélevés sur des chevaux euthanasiés montre que la Valeur C n'a été supérieure à 4 que pour 6.7 % des chevaux affectés d'uvéite (Malalana *et al.* 2017). Les sérologies entre le groupe de contrôle et le groupe affecté d'uvéite n'étaient pas différents statistiquement (65,5 % et 41,9 % respectivement,  $p > 0,05$ ), les sérovars identifiés étaient Hardjo et Javanica. Plus récemment Sauvage et collaborateurs (2019) dans une étude comparable en Belgique montre une prévalence de la leptospirose de 30 % pour les chevaux affectés d'uvéite, alors que pour le groupe contrôle la prévalence de la leptospirose est nulle. Les résultats différents de ces deux études montrent bien l'importance de la répartition géographique et du biotope quant à la prévalence des leptospires infectant les chevaux. L'usage des tétracyclines a conforté les praticiens dans une éventuelle étiologie leptospirosique des uvéites. L'ensemble des propriétés pléiotropiques des tétracyclines ont longtemps entretenu la confusion. Le succès thérapeutique des tétracyclines dans les uvéites, chez des individus séropositifs à la leptospirose était compris pour son action anti-infectieuse, confortant l'hypothèse d'une infection bactérienne par les leptospires. Deux modes d'action principaux expliquent l'action thérapeutique des tétracyclines dans les uvéites. Tout d'abord une action immunosuppressive en favorisant la synthèse de la protéine Fas-L au niveau endothélial, les tétracyclines limitent

l'activation des lymphocytes T en diminuant l'expression d'IL-B1 (Brooks *et al.* 2017). D'autre part par une action anti-inflammatoire à doses sub-antibiotiques qui combinent des propriétés anti-protéolytiques par l'inactivation des métalloprotéinases, des propriétés locales apoptotiques en favorisant la synthèse des Fas-L, anti-angiogénique et anti-cytoproliférative par l'inhibition de TGF-B1 permettant l'expression de MMP9 (Brooks *et al.* 2017). On peut d'autant plus avancer l'hypothèse d'une action immuno-modulatrice et anti-inflammatoire des tétracyclines et non pas d'une action antibiotique intraoculaire, que la seule étude publiée concernant l'une d'entre elle, la doxycycline administrée per-os, montre que chez un cheval ne présentant pas d'uvéite les concentrations antibiotiques thérapeutiques intraoculaires ne sont pas atteintes (Gilmour *et al.* 2005). Malgré tout on doit rester prudent pour extrapoler ces résultats à l'œil inflammatoire. En octobre 2015 un vaccin contre *L. Pomona* a été autorisé et commercialisé aux USA. Le vaccin a une AMM pour la prévention des uvéites et des avortements à *Leptospirose*. La vaccination est conseillée pour les chevaux dans des zones à risque sans signe d'uvéite et avec des sérologies leptospirose négatives après pleine information du propriétaire des intérêts et des risques. A ce jour aucune étude ne permet de savoir si les chevaux vaccinés ont moins de risque de développer une uvéite. Sans traitement le pronostic des uvéites est sombre. Au-delà de déterminer si l'étiologie lors d'une uvéite récurrente est leptospirose ou non, une étude récente montre que des chevaux atteints d'uvéite et présentant des titres en anticorps supérieurs à 1/400 dans le sérum ou dans l'humeur aqueuse, ont un moins bon pronostic visuel à moyen terme (Gerding & Gilger, 2015).

## LES TRAITEMENTS CHIRURGICAUX DES UVÉITES ET LA LEPTOSPIROSE

Les implants de cyclosporine en région supra-choroïdienne qui ont pour but essentiel l'action immunosuppressive de la cyclosporine contre les lymphocytes T sont réputés permettre à 79.9 % des chevaux de conserver la vision à long terme avec une nette diminution des crises inflammatoires (0.05 crises d'uvéite par mois) (Gilger & Hollingsworth, 2017). Compte tenu du mode d'action de la cyclosporine, cette technique chirurgicale conforte

la thèse d'une pathophysiologie immunitaire et auto-immunitaire mais pas celle d'une étiologie infectieuse sensu stricto. La vitrectomie par la *pars-plana* semble plus indiquée pour les uvéites dites d'origine leptospirose. En effet dans la seule étude avec des contrôles 81 % des chevaux diagnostiqués présentant des leptospires intraoculaires n'ont pas récidivé après la chirurgie alors que chez ceux qui étaient négatifs 83 % ont récidivé (Tömördy, 2009). On distingue donc, pour cette intervention, les uvéites leptospirosiques des autres. Il est nécessaire de préciser que le BSS (Balance Salt Solution) d'irrigation est composé de 20 mg de gentamicine dans 250 ml de solution. On ne peut pas exclure que la vitrectomie complète son action physique par une action de la gentamicine, bien que la gentamicine ne soit pas réputée être active contre les leptospires à la différence de la streptomycine, antibiotique de la même famille (Verma *et al.* 2013). Une troisième technique a été développée : l'injection micro-dosée de 4 mg ou 6 mg en intra-vitréen de gentamicine. Elle est pratiquée sans tenir compte de l'étiologie des uvéites. Le pronostic à long terme est de 90 à 95 % (absence définitive de crise d'uvéite et préservation de la vision), alors que l'élimination de la gentamicine à cette concentration est uniquement via la chambre antérieure avec une demi vie de 30 heures (Launois *et al.* 2019 ; Fischer *et al.* 2019 ; Miglioli & Dorigo, 1989 ; Regnier, 2013). L'hypothèse étant une action non pas antibiotique mais une action endothéliale sur la barrière hémato-oculaire permettant à l'œil de retrouver son privilège immunitaire.

## CONCLUSIONS

On peut donc répondre qu'il y a une forte probabilité que la leptospirose dans des zones géographiques avec des conditions d'humidité particulières soit un facteur de déclenchement d'uvéite par un mécanisme de mimécrie antigénique. Le pronostic visuel est moins bon quand les titres sérologiques en anticorps sont supérieurs au 1/400. Quant aux traitements, compte tenu d'une pathophysiologie à médiation immune commune à toutes les uvéites, que le facteur déclenchant soit une leptospirose ou non, ils sont fondamentalement immuno-modulateurs qu'ils soient médicaux ou chirurgicaux et leur prescription est indépendante du diagnostic d'une étiologie leptospirose.

## BIBLIOGRAPHIE

- Brem S, Gerhards H, Meyer P, Kopp H: *Leptospira* isolated from the vitreous body of 32 horses with recurrent uveitis. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1999; 112:390-393.
- Brooks D. Les uvéites du cheval. Dans *Pratique Vétérinaire du cheval*. Numéro Spécial 2016. Volume 48. pp 116 - 130.
- Brooks DE, Matthews A, Clode AB. Diseases of the cornea. In Gilger BC (Ed) *Equine Ophthalmology*, Third Edition. Wiley Blackwell. 2017. pp: 252-368.
- Dwyer AE, Crockett RS, Kaslow CM. Association of leptospiral seroactivity and breed with uveitis and blindness in horses. 372 cases (1986-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1995; 207: 1327-1331.
- Faber NA, Crawford M, Lefebvre RB et al. Detection of *Leptospira spp.* in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis in two horses. *Equine Vet J* 1987; 112: 390-393.
- Fischer BM, McMullen RJ, Reese S, Brehm W. Intravitreal injection of low dose gentamicin for treatment of recurrent or persistent uveitis in horses : preliminary results. *BMC Veterinary Research* 2019; 15:29.
- Gerding JC, Gilger BC. *Leptospira* status and prognosis in horses with equine recurrent uveitis In: *Proceedings of International Equine Ophthalmology Consortium/Acrivet, Inc.* 2015, Symposium. Savannah, Georgia.
- Gerding JC, Gilger B.C. Prognosis and impact of equine recurrent uveitis. *Equine Vet J* 2016; 48: 290-298.
- Gilger BC. Association of acute leptospirosis with systemic disease and uveitis in horses. *Equine Vet. Educ.* 2018, 30: 137-138.
- Gilger BC, Hollingsworth SR. Diseases of the uvea, uveitis and recurrent uveitis. Gilger BC. (Ed). *Equine Ophthalmology*. Third Edition. Wiley Blackwell. 2017. pp : 369 - 415.
- Gilmour M A, Clarke CR, Macallister CG et al. Ocular penetration of oral doxycycline in the horse. *Vet Ophthalmol* 2005; 8: 331-335.
- Hartskeerl, RA, Goris MG, Brem S et al. Classification of *Leptospira* from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2004; 51: 110-115.
- Launois T, González Hilarion LM, Barbe F, Leurquin C, Bihin B, Hontoir F, Dugdale A, Vandeweerd JM. Use of intravitreal injection of gentamicin in 71 horses with equine recurrent uveitis. *Journal of Equine Veterinary Science* 2019; 77 : 93-97.
- Malalana F. Leptospirosis in horses : a European Perspective. *Equine Veterinary Journal*. 2019; 51: 285-286.
- Malalana F, Blundell RJ, Pinchebeck GL, McGowan MC. The role of *Leptospira spp* in horses affected with recurrent uveitis in the UK. *Equine Vet J* 2017;49:706-709.
- Miglioli PA, Dorigo MT. Antibiotics levels in aqueous and in vitreous humor after intraocular administration. *Chemotherapy*, 1989; 35, 406-409
- Nicolas E. Tractus uvéal : iris, corps ciliaire et choroïde. In E. Nicolas (Ed). *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*. Deuxième Edition. Vigot Frères, Editeurs. 1928. pp : 199 - 264.
- Regnier A. Clinical Pharmacology and therapeutics. Part 1: Drug Delivery and Pharmacokinetics. In: *Veterinary Ophthalmology*. Fifth Edition. Volume one. Wiley Blackwell, Ames, Iowa USA / Oxford, UK, 2013; pp. 351-380.
- Schwink KL. Equine Uveitis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1992; 8 : 557-574
- Sillerud CL, Bey RF, Ball M, Bistner SI. Serologic correlation of suspected *Leptospira interrogans* serovar Pomona induced uveitis in a group of horses. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191: 1576-1578.
- Spiess BM. Equine Recurrent uveitis: The European viewpoint. *Equine vet J* 2010 ; Suppl 37: 50-70.
- Tömördy E. Verlaufsstudie nach Vitrektomie bei equiner rezidivierender Uveitis. 2009, University of Zurich, <https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/27529/1/BS8.pdf>.
- Verma A, Artiushin S, Matsunaga J, Haake DA, Timoney JF, Lru A, Lru B. Novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated in equine recurrent uveitis. *Infect Immun* 2005; 73: 7259-7266.
- Verma A, Matsunaga J, Artiushin S, et al. Antibodies to a novel leptospiral protein in the eye fluids and sera of horses with leptospiral uveitis. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19 : 452 - 456.
- Verma A, Stevenson B, Adler B. Leptospirosis in Horses. *Veterinary Microbiology* 2013; 167: 61-66.
- Wollande B, Gerhards H, Brem S, Kopp H, Meyer P: Intra-ocular and serum titers to *Leptospira interrogans* from horses with recurrent uveitis. *J Am Vet Med Assoc*; 2001; 219: 795-800.

# LEPTOSPIRA, ÉLEVAGES ET ÉCOSYSTÈMES : CE QUE LES DONNÉES DE LABORATOIRE NOUS DISENT

## LEPTOSPIRA, HERDS AND ECOSYSTEMS: WHAT LABORATORY DATA TELL US?

Par Florence AYRAL<sup>(1)</sup>, Franck GAZSO<sup>(1)</sup>, Laurent CRESPIAN<sup>(2)</sup>, Julien CAPPELLE<sup>(2,4)</sup>, Angeli KODJO<sup>(3)</sup>  
(Communication présentée le 18 Janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 25 Mai 2019)

**Mots-clés : Leptospira, bovins, porcins, faune sauvage, épidémiologie.**

**Key words: Leptospira, cattle, swine, wildlife, epidemiology.**

L'infection par les leptospires pathogènes en élevage soulève deux questions d'actualité. La première est une question économique relative aux pertes de production qui doivent être réduites pour optimiser la marge financière des éleveurs. La seconde est une question de santé publique relative à la composante zoonotique des leptospires infectant les animaux de production et à l'enregistrement d'un nombre croissant de leptospiroses humaines en lien avec une exposition aux animaux de rente. Ces questions restent ouvertes aujourd'hui en France. Cependant l'analyse des données de laboratoire peut apporter des éléments pertinents pour mieux gérer les infections en élevage.

### SOUS-ESTIMATION DES CONSÉQUENCES ÉCONOMIQUES

L'infection par des leptospires pathogènes en élevage peut être acquise par l'introduction de bovins porteurs (la transmission est alors directe ou indirecte via les urines contaminées) ou par une exposition à un environnement contaminé par des urines de mammifères sauvages infectés (principalement des rongeurs et petits mammifères). Comme chez les autres espèces de mammifères -incluant l'Homme-, les conséquences de l'infection par les leptospires sont variables chez les animaux de rente c'est-à-dire soit absentes, soit associées à des manifestations cliniques modérées à sévères. Une particularité toutefois est l'importance relative des formes abortives et des troubles de la fertilité obser-

vés. Les pertes économiques sont dans ce cas directes (pertes de production) et indirectes (*i.e.*, décalage temporel des mises bas et conséquences sur la production). Ces dernières se répercutent sur plusieurs années, limitant leur prise en compte et entraînant leur sous-estimation (Ayrat 2013, Ayrat 2014). Le sous-diagnostic est également responsable de la sous-estimation des pertes économiques. Il est lié à la variabilité des formes cliniques qui limite la suspicion sur le terrain, combinée à un mésusage du test de référence (le test de micro agglutination ou MAT) pour la confirmation. Un écart est en effet noté entre les pratiques sur le terrain et les recommandations de l'Office International des Épizooties (OIE) qui préconisent un diagnostic de groupe (*i.e.*, prélèvements de sang et analyses sérologiques chez 10% des individus) ou un diagnostic individuel (*i.e.*, interprétation à partir de deux sérums prélevés pendant et après la phase aiguë de la maladie) réservé aux formes cliniques aiguës (Anonyme, 2018). Les modalités et caractéristiques du diagnostic individuel bovin sont indiquées dans la *figure 1*.

### ANALYSES DES DONNÉES DE LABORATOIRE POUR LA SURVEILLANCE DES SÉROGROUPES PRÉSENTS EN ÉLEVAGE

Les données du Laboratoire des Leptospires, laboratoire de référence pour le diagnostic vétérinaire reflètent une situation épidémiologique dans les élevages bovins et porcins ayant fait

(1) INRA, VetAgro Sup, USC 1233, Rongeurs sauvages, Risques Sanitaires et Gestion des populations, Marcy L'Étoile.

Courriel : florence.ayral@vetagro-sup.fr

(2) INRA, UMR INRA-VetAgro Sup Epidémiologie des maladies animales et zoonotiques, Marcy-L'Étoile.

(3) VetAgro Sup, Laboratoire des leptospires, Marcy L'Étoile.

(4) UMR ASTRE, CIRAD, INRA, Univ Montpellier, F-34398, Montpellier, France.



## Test de Micro Agglutination (MAT) Diagnostic individuel

### Formes cliniques aiguës :

MAT / sérum J0  
MAT / sérum J7-14  
↓  
Titre J7-14  $\geq$  4 x Titre J0

MAT / sérum J0  
↓  
Titre « très élevé »  
Évocateur de l'infection  
Absence de consensus

### Formes chroniques :

MAT / sérum J0  
↓  
Titre  $\geq$  1/100  
Se  $\leq$  50%  
Sp  $<$  90%

### Recommandations OIE, 2018



**Figure 1 :** Modalités et caractéristiques du diagnostic individuel chez les bovins par le test de Micro Agglutination et selon la forme clinique aiguë ou chronique de l'infection.

l'objet d'une suspicion clinique. Le traitement des résultats obtenus par le MAT a permis de décrire les sérogroupes les plus fréquemment imputés dans les élevages bovins et porcins suspects de leptospirose entre 2008 et 2016 en France. Les profils sérologiques suggèrent une exposition aux sérogroupes Australis, Sejroe ou Grippotyphosa dans plus de 90% des élevages bovins (n = 973) séropositifs (Ayrat *et al.* 2014 ; Gazso 2017) et une exposition aux sérogroupes Australis ou Icterohaemorrhagiae dans près de 90% des élevages porcins (n = 1123) séropositifs. Ces résultats renforcent la compréhension de l'épidémiologie des infections en élevage et certaines recommandations de gestion (par exemple développement de vaccins, gestion de la source de contamination) pour *in fine* réduire le nombre de cas chez les animaux de rente et l'Homme.

D'après une étude de séroprévalence effectuée en France en 2004, 34% des élevages bovins avaient été récemment exposés au séro groupe Sejroe (André-Fontaine *et al.* 2010). Les bovins constituent le principal réservoir de ce séro groupe pour leurs congénères. L'achat de bovins, dont le statut vis-à-vis de *Leptospira* est inconnu, est donc un facteur de risque majeur d'introduction de l'agent pathogène en élevage. Parmi les mammifères sauvages, le rôle du rat (*Rattus sp.*) dans la transmission bactérienne est largement décrit dans la littérature (Adler 2015). Cette population murine est l'hôte de persistance de souches bactériennes appa-

rentées au séro groupe Icterohaemorrhagiae (Ayrat *et al.* 2015). Si la prédominance du séro groupe Icterohaemorrhagiae chez les porcins suggère le rôle du rat dans leur contamination, il en va différemment pour les élevages bovins où les cas d'avortement associés à ce séro groupe sont minoritaires. La plupart des élevages étant exposés aux rats, il est possible que cette observation s'explique par une sensibilité moindre des bovins à l'infection par ce séro groupe. Le séro groupe Australis apparaît de manière prédominante parmi les cas bovins et porcins. La population source de ces cas n'est pas clarifiée à ce jour et pourrait être composée de multiples espèces. Vein *et al.* 2014 suggèrent le portage rénal prédominant de leptospires du séro groupe Australis chez le ragondin (*Myocastor coypu*). Ultérieurement les travaux d'Ayrat *et al.* 2016 basés sur des outils moléculaires performants ont identifié le portage quasi exclusif de souches apparentées au séro groupe Australis chez le hérisson (*Erinaceus europaeus*) et ont suggéré l'existence d'une communauté de persistance des leptospires parmi d'autres espèces sauvages. En effet, alors que certaines espèces portent spécifiquement une souche de leptospires (le rat et le hérisson) d'autres portent une multitude de souches et pourraient avoir un rôle de relais dans la transmission à l'interface faune sauvage - animaux domestiques. Le portage asymptomatique d'Australis par les porcs d'élevage a été suggéré (Adler, 2015) cependant aucune étude n'a été réalisée pour confirmer cette observation en France.

## LES ALTERNATIVES DE GESTION DE L'INFECTION EN ÉLEVAGE

Face à la multitude des sources de leptospires, l'option de choix est la vaccination dirigée contre les sérogroupes présents en élevage ; cependant un compromis doit être trouvé entre le nombre de valences contenues dans le vaccin et son efficacité. Un vaccin multivalent incluant des sérogroupes Australis et Icterohaemorrhagiae est disponible pour le porc et apparaît pertinent au regard des résultats de laboratoire. En revanche pour les bovins, le vaccin actuellement disponible sous autorisation temporaire d'utilisation induit une protection contre le seul sérotype Sejroe. Aucune alternative conférant une protection contre les sérogroupes Australis et Grippotyphosa n'est actuellement disponible en France malgré l'exposition de 43% et 17% des élevages étudiés aux sérogroupes Australis et Grippotyphosa respectivement (Aryal *et al.* 2014). Lorsque la source de leptospires est le bovin lui-même, le manque de sensibilité du MAT pour dépister les individus chroniquement infectés ne permet pas la mise en œuvre de mesures offensives satisfaisantes (élimination des individus infectés), la vaccination reste l'option de choix lorsque l'implication du sérotype Sejroe a été identifié avec un niveau de preuve satisfaisant. Une infection par le sérotype Sejroe en élevage peut être statuée à partir d'une PCR positive dans l'urine associée à un profil sérologique en faveur de Sejroe pour au moins un individu ou par l'observation pour un même individu, de deux MAT attestant d'une augmentation significative (supérieure ou égale à 4 dilutions) du titre dirigé contre un sérovar du sérotype Sejroe au cours du temps. Lorsque la source de l'infection est la faune sauvage (par exemple, *Leptospira* des sérogroupes Icterohaemorrhagiae et Australis), la prophylaxie sanitaire consiste à limiter ces populations. Dans l'attente d'une description plus précise de la communauté de persistance des leptospires dans la faune sauvage, il est préconisé de limiter les populations de rongeurs en particulier, les rats (*Rattus sp.*), les souris (*Mus musculus*), les mulots (*Apodemus sp.*) et campagnols (*Myodes sp.* et *Microtus sp.*), à proximité des élevages et des pâtures. Le développement de gènes de résistance aux anticoagulants dans certaines populations de rongeurs induit toutefois des échecs de gestion chimique

(Goulois *et al.* 2017). L'application de rodenticides implique également des effets écotoxiques qui doivent appeler à leur utilisation raisonnée. À proximité des cours d'eau, la réduction des populations de ragondins (*Myocastor coypu*) et de rats musqués (*Ondatra zibethicus*) devrait également être soutenue. Enfin, aucune mesure défensive (dépistage des porteurs) n'est imposée par la France vis-à-vis des animaux importés. Cependant ces mesures peuvent être obligatoires lors d'exportation par exemple vers les Pays-Bas. Le Manuel Terrestre de l'OIE indique un titre seuil de 1/100 pour définir un test positif dans le cadre des échanges internationaux et mentionne la possibilité d'utiliser un seuil inférieur pour attester d'une exposition antérieure aux leptospires (Anomyne, 2018).

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La sous-estimation de l'infection par les leptospires pathogènes en élevage est liée aux limites diagnostiques et à l'absence de mesures de lutte satisfaisantes qui démotivent les investigations, en particulier chez les ruminants. Cependant le suivi des recommandations de l'OIE pour le diagnostic permettrait une meilleure prise en compte des cas. En outre, l'analyse des résultats de laboratoire permet de décrire les sérogroupes principalement impliqués lors de suspicions cliniques et fournit une information pertinente pour orienter les recommandations vers la vaccination vs la gestion de populations réservoirs. Cependant, l'épidémiologie de l'infection par les leptospires chez les animaux de rente suit un modèle épidémiologique multi-hôte complexifié par l'intervention de nombreuses souches ayant une variabilité pathogénique et écologique. Les outils moléculaires actuels permettent désormais de discriminer finement les profils génétiques de ces souches et de les suivre au sein des populations, dans le temps et dans l'espace. Une approche par souche et intégrant l'ensemble des espèces hôtes d'un écosystème plutôt que la recherche des leptospires dans une population donnée fournira des connaissances plus précises pour une meilleure compréhension du mécanisme de persistance et de transmission des leptospires et, pour une meilleure prise en charge des populations infectées.

## BIBLIOGRAPHIE :

- Adler B. *Leptospira* and Leptospirosis, 3rd ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag ; 2015, pp. 99-125
- André-Fontaine G, Nicholas D, Scalzo B, Keïta A, Nanjiani I. Prévalence sérologique de la leptospirose à *Leptospira* sérovar hardjo chez les bovins femelles adultes en France en 2004. Bulletin des GTV 2010 ; 55 : 67-74
- Anonyme. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres 2018 de l'Office International des Épizooties. Chapitre 3.1.12 Leptospirose (version adoptée en 2014), p509. Disponible à [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/3.01.12\\_LEPTO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf) Consulté le 30.05.2019.
- Ayral F. La leptospirose bovine dans les cheptels en France, impact économique de l'infection. Bulletin des GTV 2013 ; 69: 61-67
- Ayral F. La leptospirose dans les cheptels bovins laitiers en France, établir un programme de lutte. Bulletin des GTV 2014 ; 73: 111-119
- Ayral F, Bicout D, Pereira H, Artois M, Kodjo A. Distribution of *Leptospira* serogroups in cattle herds and dogs in France. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2014, 91: 756-759.
- Ayral F, Zilber A-L, Bicout DJ, Kodjo A, Artois M, Djelouadji Z. Distribution of *Leptospira interrogans* by Multispacer Sequence Typing in urban Norway rats (*Rattus norvegicus*): a survey in France in 2011-2013. PLoS ONE 2015;10 : e0139604.
- Ayral F, Djelouadji Z, Raton V, Zilber A-L, Gasqui P, Faure E, *et al.* Hedgehogs and mustelid species: major carriers of pathogenic *Leptospira*, a survey in 28 animal species in France (2012-15). PLoS ONE 2016; 11: e0162549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162549>
- Gazo F. Distribution des sérogroupe de *Leptospira* chez les bovins en France métropolitaine. Rapport de master Physiopathologie des maladies transmissibles, 2017, Université Lyon 1.
- Goulois J, Lambert V, Legros L, Benoit E, Lattard V. Adaptive evolution of the Vkorc1 gene in *Mus musculus domesticus* is influenced by the selective pressure of anticoagulant rodenticides. Ecol Evol 2017 ; 7 : 2767-2776
- Vein J, Leblond A, Belli P, Kodjo A, Berny P. The role of the coypu (*Myocastor coypus*), an invasive aquatic rodent species, in the epidemiological cycle of leptospirosis: a study in two wetlands in the East of France. Eur J Wildl Res 2014; 60: 125-133.

# LA BORRÉLIOSE DE LYME : ÉPIDÉMIOLOGIE, PATHOGÈNES IMPLIQUÉS ET DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

## LYME BORRELIOSIS : EPIDEMIOLOGY, BACTERIAL AGENTS AND BIOLOGICAL DIAGNOSIS

Par Benoît JAULHAC<sup>(1\*)</sup>, Pierre BOYER<sup>(1)</sup>, Antoine GRILLON<sup>(1)</sup>, Sylvie de MARTINO<sup>(1)</sup>  
(Communication présentée le 18 Janvier 2018,  
Manuscrit accepté le 12 Novembre 2018)

### RÉSUMÉ

La borréliose de Lyme est une pathologie infectieuse liée à des bactéries du genre *Borrelia*, récemment séparé taxonomiquement des *Borrelia*. Son diagnostic associe des critères épidémiologiques, anamnestiques, cliniques et biologiques compatibles avec une borréliose de Lyme. La manifestation clinique la plus fréquente est l'érythème migrant. Les pathogènes peuvent ensuite disséminer vers les différents tissus et organes, incluant principalement le système nerveux, les articulations, et la peau. Les tests biologiques, principalement basés sur la sérologie, sont essentiels au diagnostic de la maladie, à l'exception de l'érythème migrant dont le diagnostic reste exclusivement clinique. La recherche directe de *Borrelia* ou de *Borrelia* par culture ou par PCR reste l'apanage de laboratoires spécialisés, mais représente une aide précieuse pour le diagnostic des formes atypiques de la maladie ou lorsque les données cliniques n'ont pas permis d'établir de façon certaine le diagnostic étiologique.

**Mots-clés :** Borréliose de Lyme, *Borrelia*, *Borrelia*, microscopie, culture, PCR, sérologie.

### ABSTRACT

*Lyme borreliosis is caused by spirochaetes transmitted by ticks. The most common clinical manifestation is erythema migrans. The infecting pathogens can then spread to other tissues and organs, mainly the nervous system, the joints and the skin. Laboratory evidence of infection, mainly serology, is essential for the diagnosis of Lyme borreliosis, except in the case of typical erythema migrans.*

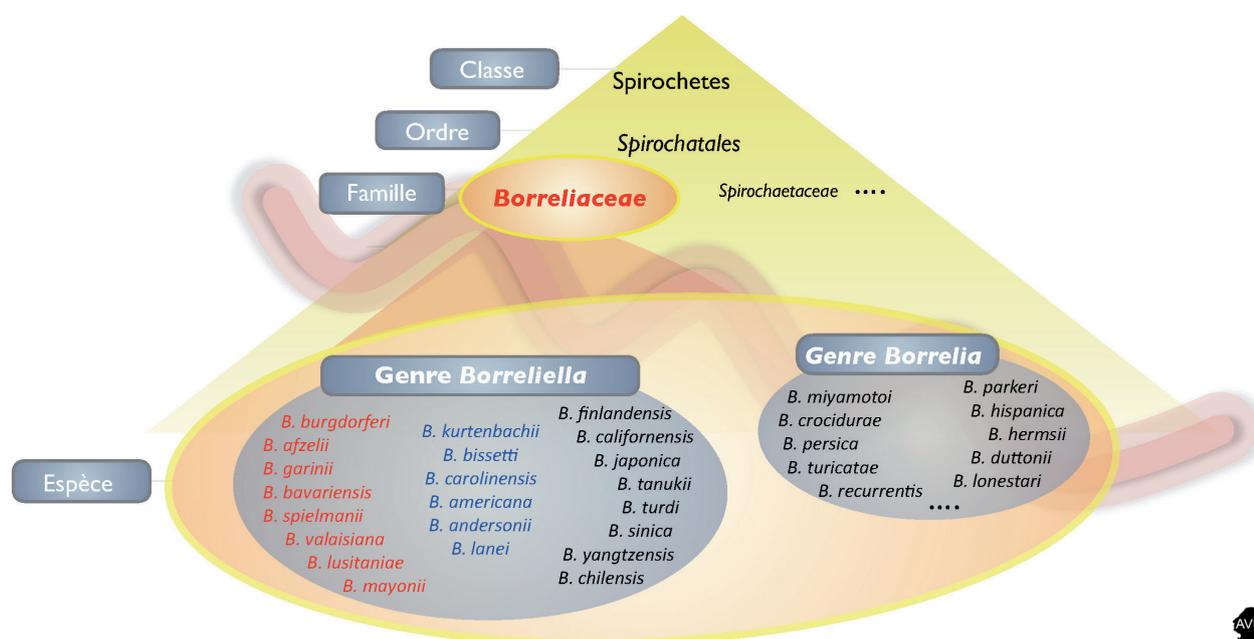
**Key words:** Lyme borreliosis, *Borrelia*, *Borrelia*, microscopy, culture, PCR, serology.

### INTRODUCTION

La borréliose de Lyme est la zoonose la plus fréquente de l'Hémisphère Nord (Medlock *et al.* 2013). Elle est due à des bactéries de la famille des *Borreliaceae* dont la taxonomie a été récemment remaniée (**figure 1**). Les agents de la borréliose de Lyme sont transmis à l'Homme par piqûre de tique du genre *Ixodes*, principalement *Ixodes ricinus* en Europe occidentale. Aucun autre arthropode qu'*Ixodes* n'a, ce jour, été montré compétent pour transmettre ces bactéries à l'Homme. Bien que de l'ADN

de *Borrelia* ait été détecté chez d'autres espèces d'arthropodes, par exemple chez des moustiques, cela ne constitue pas une preuve de compétence vectorielle (Melaun *et al.* 2016). Alors que les premiers aspects dermatologiques et neurologiques de la maladie ont été décrits au début du XXe siècle en Europe, les diverses manifestations cliniques de la maladie n'ont été regroupées dans le cadre nosologique de la borréliose de Lyme que dans les années quatre-vingt, après la découverte de l'agent

(1) Centre National de Référence des *Borrelia* et EA 7290, Université de Strasbourg, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg et CHRU Strasbourg, F-67000, Strasbourg, France.  
\* Auteur correspondant : jaulhac@unistra.fr



**Figure 1** : Schéma de la position taxonomique de la famille des Borreliaceae. En rouge les espèces du genre *Borreliella* rencontrées en pathologie, en bleu celles mise en évidence par PCR seulement et en noir celle n'ayant jamais été mise en évidence chez l'homme. Schéma modifié d'après Schramm, 2013.

étiologique, dont l'espèce type, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*/*Borreliella burgdorferi* (voir ci-dessous). Suite à un remaniement taxonomique récent, deux genres bactériens sont maintenant distingués : les genres *Borrelia* et *Borreliella* (Oren & Garrity, 2015). Le genre *Borrelia* comprend dorénavant exclusivement les espèces de *Borrelia* agents de fièvres récurrentes, responsables de syndromes fébriles avec des récurrences survenant après piqûre de tiques ou de poux. Parmi ces espèces, un intérêt récent est porté à l'espèce *Borrelia miyamotoi*, présente en Europe et pouvant donner soit des fièvres élevées potentiellement récurrentes, soit sur terrain profondément immunodéprimé des tableaux de méningo-encéphalites (Platonov *et al.* 2011 ; Hovius *et al.* 2013). Le nouveau genre *Borreliella* comprend les espèces responsables de la borréliose de Lyme (correspondant à l'ancien complexe d'espèces *B. burgdorferi sensu lato*). *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. spielmanii*, *B. burgdorferi*, *B. bavariensis* sont les principales espèces isolées chez l'Homme (Stanek & Reiter, 2011; Girard *et al.* 2011). *B. valaisiana*, *B. bissetti*, *B. americana* et *B. andersonii* n'ont été à ce jour détectées chez l'Homme que par réaction de polymérisation en chaîne ou PCR (*polymerase chain reaction*). Parmi les agents de la borréliose de Lyme, une nouvelle espèce, *B. mayonii* isolée en 2016 aux USA chez l'Homme et chez *Ixodes scapularis*, est susceptible de donner une fièvre plus élevée que celle constatée dans la borréliose de Lyme ; aucun cas n'a été détecté à ce jour en France ni en Europe (Pritt *et al.* 2016 ; Boyer *et al.* 2017). Ces bactéries sont dites à Gram négatif, car elles possèdent une membrane externe. Cependant elles ne sont visualisées ni en microscopie optique standard ni par coloration de Gram, elles sont, par contre, reconnaissables en microscopie optique à fond noir ou à contraste de phase par leur mobilité caractéristique et leur

forme spiralée. Après une piqûre de tique infectée suffisamment longue pour transmettre *Borreliella* (17 à 24 h), la maladie évolue en deux phases, locale et disséminée. La phase locale correspond à l'apparition d'un érythème migrant (EM) qui représente 70 à 85 % des manifestations cliniques de la borréliose de Lyme (Strle *et al.* 2009). Puis, en l'absence de traitement, peut succéder, dans 10 % à 20 % des cas, une phase disséminée qui correspond à la propagation du pathogène vers les organes cibles profonds (système nerveux central et périphérique, articulations notamment) et la peau à distance du point de piqûre. À la différence de ce qui est observé dans les fièvres récurrentes, la bactériémie dans la borréliose de Lyme est modérée, de courte durée et n'intervient qu'au début de la dissémination. La recherche de la bactérie dans le sang quand le patient est apyrétique ou souffrant de signes locaux n'a donc pas d'intérêt dans la borréliose de Lyme. Il a été montré que les rares données par microscopie allant dans ce sens correspondaient à des artefacts et non à des spirochètes. Le type et la fréquence des manifestations cliniques de la maladie ne sont pas les mêmes en Europe et aux États-Unis. Ces disparités sont en partie liées à une distribution géographique différente des espèces pathogènes de *Borreliella* entre États-Unis et Europe et à l'existence d'un organotropisme relatif lié à l'espèce en cause. En effet, les manifestations cliniques de la borréliose de Lyme observées aux États-Unis sont presque exclusivement attribuées à *B. burgdorferi*. De façon schématique, *B. burgdorferi* est plus souvent associé aux manifestations articulaires, *B. garinii* et *B. bavariensis* aux manifestations neurologiques et *B. afzelii* aux manifestations cutanées disséminées, lymphocytome et acrodermatite chronique atrophiante (ACA) (Strle & Stanek, 2009). En dehors de l'érythème migrant, les autres manifestations cliniques

de la maladie ne sont pas pathognomoniques de la borréliose de Lyme. C'est pourquoi, à l'exception de l'EM typique, la positivité d'un test biologique est requise pour confirmer le diagnostic de borréliose de Lyme dans les recommandations diagnostiques de tous les pays européens.

## DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA BORRÉLIOSE DE LYME

### Les techniques existantes pour un diagnostic biologique direct

La recherche directe des *Borrelia* est réalisable par culture ou biologie moléculaire sur biopsie (de peau ou synoviale) ou sur liquide (liquide articulaire, LCR).

**La culture in vitro** des *Borrelia* utilise des milieux liquides spécifiques : BSK-II, BSK-H et MKP, incubés à une température spécifique (32 à 34 °C). Leur temps de génération est très long d'où un délai de positivité des cultures en général supérieur à 15 jours, voire plusieurs semaines. La croissance de *Borrelia* ne troublant pas le milieu liquide, les cultures doivent être systématiquement vérifiées une fois par semaine au microscope à fond noir pendant 8 semaines avant de conclure à un résultat négatif (Strle & Stanek, 2009).

Ces contraintes techniques aboutissent, dans le cas d'une utilisation sur échantillons humains, à un usage limité à quelques laboratoires spécialisés. Si les performances de la culture sont bonnes à partir de prélèvements d'EM, cette méthode manque nettement de sensibilité (de 10 % à <1 %) lorsqu'elle est appliquée à d'autres échantillons (LCR, liquide articulaire). Le CNR français est, avec le CNR allemand et un laboratoire de référence slovène, l'un des rares laboratoires européens ayant isolé un nombre conséquent souches humaines.

**La recherche directe de *Borrelia* par amplification génique in vitro (PCR)** présente l'avantage de s'affranchir de contraintes liées à la culture, et permet d'identifier les différentes espèces. Les cibles génomiques utilisées sont variées de même que les protocoles PCR, aboutissant à des performances disparates, tant en termes de sensibilité que de spécificité ou de spectre de détection d'où l'importance pour les laboratoires utilisant cette méthode à but diagnostique de participer à des contrôles de qualité externes (Faller *et al.* 2015; Dessau *et al.* 2017). À l'heure actuelle, plusieurs coffrets PCR commerciaux sont disponibles, mais leurs performances sont mal connues. La PCR *Borrelia* n'est actuellement pas inscrite à la NABM. En termes de performance, la sensibilité de la PCR est similaire à celle de la culture pour l'EM, mais s'avère nettement supérieure à celle de la culture dans les manifestations disséminées (articulaires notamment) et tardives cutanées de la maladie (Strle & Stanek, 2009). Il est néanmoins important de garder à l'esprit qu'un résultat de PCR négatif ne permet pas d'éliminer le diagnostic. L'utilisation de la PCR *Borrelia* pour confirmer un diagnostic en présence d'une sérologie négative n'est pas recommandée, hormis certaines

situations particulières comme les lésions cutanées précoces atypiques et les neuroborrélioses débutantes (Aguero-Rosenfeld *et al.* 2005). À l'instar de la culture, la recherche directe des *Borrelia* par PCR reste donc actuellement l'apanage de laboratoires spécialisés.

**L'examen microscopique au fond noir ou en contraste de phase** possède une sensibilité est très faible, voire nulle, en raison d'une charge bactérienne réduite dans les tissus ou les liquides de ponction. De plus, la spécificité de l'examen direct est modérée, des artefacts pouvant en effet être responsables d'interprétations faussement positives, y compris par un observateur entraîné. Le récent engouement, pour la microscopie à fond noir pour la détection de *Borrelia* et/ou de *Babesia* (Laane & Mysterud, 2013) est lié à une publication sans validation de la méthode. Ainsi, lors d'une étude à l'aveugle, 85 % des échantillons sanguins de sujets contrôles indemnes étaient détectés positifs versus 66 % de ceux des sujets atteints de borréliose de Lyme. Pour toutes ces raisons, l'examen direct n'est pas recommandé pour le diagnostic de la borréliose de Lyme et doit être limité au diagnostic des *Borrelia* agents fièvres récurrentes, où la charge bactérienne sanguine est nettement plus élevée (Aase *et al.* 2016).

### Les outils du diagnostic biologique indirect

La sérologie est la technologie actuellement majoritairement retenue pour étayer le diagnostic biologique des formes disséminées et tardives de la borréliose de Lyme. La sérologie met en évidence la présence d'anticorps spécifiques de l'hôte dirigés contre des antigènes de *Borrelia* dans le sang et/ou dans le LCR. Les techniques permettant la détection séparée des IgG et des IgM présentent une meilleure spécificité et une interprétation plus aisée des résultats, car l'apparition des IgM précède celle de IgG de plusieurs semaines (Dessau *et al.* 2017).

**Les tests sérologiques de 1<sup>ère</sup> intention** sont actuellement majoritairement des tests ELISA. Les préparations antigéniques utilisées dans ces tests correspondent soit à des antigènes natifs, soit à des antigènes purifiés et/ou recombinants, soit à une association des deux. Ces tests ELISA sont majoritairement basés sur une ou plusieurs des 3 espèces de *Borrelia* majoritaires en France et en Europe. Comme pour toute autre sérologie infectieuse, des faux positifs peuvent être dus à des réactions croisées lors d'autres pathologies infectieuses ou de pathologies dysimmunitaires. Les limites pratiques et les performances des tests ELISA sont détaillées par stade de la maladie au chapitre ci-dessous.

**Tests de confirmation** : il est donc nécessaire, devant une sérologie positive ou douteuse en ELISA, de confirmer la spécificité des anticorps par immuno-empreinte réalisés sur le sérum (et/ou LCR) (Stanek *et al.* 2009; Dessau *et al.* 2017). Les immuno-empreintes basées sur des antigènes recombinants de *Borrelia* permettent une lecture plus aisée que les tests natifs. Chaque fabricant commercialise actuellement un mélange qui lui est spécifique, assorti de critères qui lui sont propres. L'ANSM a fait récemment préciser les données des notices des fabricants de

réactifs et a mis en ligne ces données actualisées. Parallèlement, le CNR des *Borrelia-Borrelia* a évalué les performances techniques des trousse de sérologie *Borrelia* par immuno-empreinte. Les performances en termes de sensibilité aux différents stades de la maladie, de spécificité et de fréquence des réactions croisées figurent sur son site internet ([www.chru-strasbourg.fr/Les-centres-de-referance/Borrelia](http://www.chru-strasbourg.fr/Les-centres-de-referance/Borrelia)).

### Indications, interprétation et limites des tests sérologiques

**La sérologie de Lyme** doit toujours s'interpréter en fonction du stade clinique de la maladie et jamais isolément :

**En cas de piqure de tique isolée**, aucun test biologique n'est justifié. La surveillance clinique simple de la zone piquée pendant un mois à la recherche du développement ultérieur de signes cliniques est suffisante.

**Au stade d'érythème migrant**, la sérologie n'est pas indiquée, car elle est négative dans 50 % des cas en Europe (Strle & Stanek, 2009). En effet, comme toute infection localisée, l'EM, qui représente 70 à 85 % des formes cliniques de borréliose de Lyme, ne déclenche qu'une faible réponse du système immunitaire. La sérologie risque de plus, en cas de négativité, de faire rejeter à tort le diagnostic. Lorsque les manifestations cutanées sont atypiques, la réalisation d'une biopsie cutanée peu aider au diagnostic. La biopsie est possible, par une *punch-biopsy* de 3 à 4 mm réalisée sur le pourtour de la lésion. La sensibilité de la culture et de la PCR sont équivalentes, de l'ordre de 50 % en Europe (Strle & Stanek, 2009; Dessau et al. 2017).

**En cas de manifestations disséminées**, le diagnostic repose sur la confrontation de données anamnestiques, cliniques et biologiques. À la phase disséminée de la maladie, la sérologie est presque toujours positive. Elle est par contre d'interprétation délicate, la question principale étant de rattacher ou non une sérologie positive à une borréliose de Lyme évolutive. La présence d'anticorps anti-*Borrelia* chez des sujets exposés à des piqures de tiques répétées peut en effet résulter d'une inoculation antérieure de *Borrelia* passée inaperçue, comme en témoigne la séroprévalence élevée d'anticorps anti-*Borrelia* chez les sujets sains dans les régions endémiques pour cette zoonose (Rigaud et al. 2016). En effet, une infection par *Borrelia* génère le plus souvent la production d'anticorps sans développement d'une infection clinique et les tests sérologiques ne permettent pas actuellement de faire la distinction entre une infection active et une cicatrice sérologique (Dessau et al. 2017). Lorsque le test ELISA est négatif, l'immuno-empreinte n'a pas d'utilité (Dessau et al. 2017). Ainsi, une méta-analyse récente de la littérature sur les tests ELISA et immuno-empreintes, a montré que la sensibilité des tests par immuno-empreinte n'était pas meilleure que celle des tests ELISA (Leefflang et al. 2016).

**Le diagnostic biologique des manifestations neurologiques** de la borréliose de Lyme repose sur l'analyse conjointe du sang et du LCR (Ogrinc et al., 2016). Celui-ci montre en général une hyperprotéinorachie modérée, associée à une réaction cellulaire

de type lymphoplasmocytaire. Cette inflammation, présente dans plus de 93 % des méningoradiculites peut être modérée au début des neuroborrélioses aiguës et dans les paralysies faciales isolées (Ogrinc et al. 2016). La sérologie de Lyme est positive dans le sérum à la phase aiguë dans 72 à 93 % des cas. Cette sensibilité s'est améliorée avec les tests commercialisés depuis les années 2000 et le taux de positivité dans le LCR est supérieur à 90 % (Leefflang et al. 2016; Ogrinc et al. 2016). La recherche d'une synthèse intrathécale d'anticorps spécifiques est nécessaire pour confirmer le diagnostic de neuroborréliose. Elle repose sur la comparaison des taux d'anticorps spécifiques entre LCR et sérum prélevés le même jour, de préférence rapportée à l'index d'immunoglobulines totales ou d'albumine dans ce LCR et ce sérum (Blanc et al. 2007; Dessau et al. 2017). En cas de doute diagnostique, la réalisation d'une PCR peut se discuter, mais uniquement dans les 2 premières semaines de la maladie (malgré sa sensibilité < 30 %), car un résultat positif permet de rattacher valablement les manifestations neurologiques observées à une borréliose de Lyme.

**Dans l'arthrite de Lyme**, la séropositivité est  $\geq 95$  % (IC : 89-98 %) avec des taux élevés d'anticorps habituellement et un résultat sérologique négatif doit faire rediscuter le diagnostic (Leefflang et al. 2016). L'expérience du CNR sur la période 2010-2016 montre que la sérologie, réalisée indépendamment de la PCR, n'est jamais négative en cas d'arthrite de la Lyme avérée (Grillon et al. 2018). L'analyse du liquide articulaire confirme le caractère inflammatoire de l'épanchement et l'examen bactériologique standard permet d'éliminer une arthrite septique. La recherche directe par réaction de PCR dans le liquide articulaire et/ou sur biopsie synoviale est possible en cas de doute diagnostique (Strle & Stanek, 2009).

**Dans l'acrodermatite chronique atrophiante**, la séropositivité est  $\geq 99$  % (IC : 82-99 %) avec des taux d'anticorps habituellement élevés; un résultat sérologique négatif doit faire rediscuter le diagnostic (Leefflang et al. 2016).

Il est à noter que même après une antibiothérapie efficace et adaptée, les anticorps anti-*Borrelia* (IgM compris) peuvent persister pendant des mois, voire des années après la guérison. La sérologie n'est donc d'aucune utilité pour le suivi des patients traités, et la présence d'IgM n'est pas synonyme d'une infection active à *Borrelia* (Lenormand et al. 2016).

## CONCLUSIONS

Les résultats de sérologie *Borrelia* doivent toujours être interprétés par rapport au contexte clinique. Une sérologie positive ne pose pas le diagnostic à elle seule. Par ailleurs, la sérologie ne doit pas être prescrite au stade d'érythème migrant. Les cas de formes disséminées (neurologiques ou articulaires notamment) évoluant depuis plusieurs mois et séronégatives sont exceptionnels et doivent faire l'objet d'une discussion clinico-biologique. Il est donc important, devant des signes cliniques persistant depuis plusieurs mois avec une sérologie bien conduite et négative, de rechercher d'autres hypothèses étiologiques qu'une infection à

*Borrelia*. En effet, l'association d'une clinique non spécifique avec des éléments biologiques parfois complexes peut parfois donner lieu à des interprétations disparates voire des diagnostics erronés chez des patients en grande souffrance présentant des

symptomatologies complexes inexplicées. En cas de manifestation cutanée ou articulaire atypique séropositive, une recherche complémentaire par PCR sur prélèvement cutané ou articulaire peut être utile.

## DÉCLARATION PUBLIQUE D'INTÉRÊTS :

Siemens, Virbac, Bayer. Selon l'analyse de l'ANSM, de Santé Publique France et de l'HAS, cette DPI 2017 ne donne pas lieu à un conflit d'intérêts.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aase A, Ondrej H, Øjvind Ø, *et al.* Validate or falsify: lessons learned from a microscopy method claimed to be useful for detecting *Borrelia* and *Babesia* organisms in human blood. *Infect Dis.* 2016; 48:411-419.
- Agüero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, Wormser GP. Diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18:484-509.
- Blanc F, Jaulhac B, Fleury M, de Seze J, de Martino SJ, Remy V, *et al.* [Relevance of the antibody index to diagnose Lyme neuroborreliosis among seropositive patients.](#) *Neurology.* 2007; 69:953-958.
- Boyer PH, De Martino SJ, Hansmann Y, Zilliox L, Boulanger N, Jaulhac B. No evidence of *Borrelia mayonii* in an endemic area for Lyme borreliosis in France. *Parasit Vectors.* 2017; 10:282.
- Dessau RB, van Dam AP, Fingerle V, Gray J, Hovius J, Hunfeld KP, *et al.* To test or not to test? Laboratory support for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 17 :30488-30493.
- Faller M, Hiergeist A, Reischl U, Margos G, Hizo-Teufel C, Koloczek J *et al.* EU-wide external quality assessment study on the sensitivity and specificity of different amplification protocol for detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. 14th International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-borne disease. Vienna, 27-30 September 2015.
- Grillon A, Scherlinger M, Boyer PH, De Martino S, Perdriger A, Blasquez A *et al.* [Characteristics and clinical outcomes after treatment of a national cohort of PCR-positive Lyme arthritis.](#) *Semin Arthritis Rheum.* 2018 Sep 28. pii: S0049-0172(18)30424-4. doi: 10.1016/j.semarthrit.2018.09.007.
- Hovius JW, de Wever B, Sohne M, Brouwer MC, Coumou J, Wagemakers A, *et al.* A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe. *Lancet.* 2013; 382:658.
- Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2001; 33:780-785.
- Laane MM, Mysterud I. A simple method for the detection of live *Borrelia* spirochaetes in human blood using classical microscopy techniques. *Biol and Biomed Reports.* 2013; 3:15-28.
- Leeftang MM, Ang CW, Berkhout J, Bijlmer HA, Van Bortel W, Brandenburg AH, *et al.* The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2016;16:1468-1474.
- Lenormand C, Jaulhac B, Debarbieux S, Dupin N, Granel-Brocard F, Adamski H, *et al.* [Expanding the clinicopathological spectrum of late cutaneous Lyme borreliosis \(acrodermatitis chronica atrophicans \[ACA\]\): A prospective study of 20 culture- and/or polymerase chain reaction \(PCR\)-documented cases.](#) *J Am Acad Dermatol.* 2016; 74:685-92.
- Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Peña A, George JC, *et al.* Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit Vectors.* 2013;6:1.
- Melaun C, Zotzmann S, Santaella VG, Werblow A, Zumkowski-Xylander H, Kraiczy, *et al.* Occurrence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in different genera of mosquitoes (Culicidae) in Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7:256-263.
- Ogrinc K, Lusa L, Lotri -Furlan S, Bogovi P, Stupica D, Cerar T, *et al.* Course and Outcome of Early European Lyme Neuroborreliosis (Bannwarth Syndrome): Clinical and Laboratory Findings. *Clin Infect Dis.* 2016; 63:346-353.
- Oren A, Garrity GM. List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2015; 65:1105-1111.
- Platonov AE, Karan LS, Kolyasnikova NM, Makhneva NA, Toporkova MG, *et al.* Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17:1816-1823.
- Pritt BS, Mead PS, Johnson DK, Neitzel DF, Respicio-Kingry LB, Davis JP, *et al.* Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetemia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:556-564.
- Rigaud E, Jaulhac B, Garcia-Bonnet N, Hunfeld KP, Féménia F, Huet D, *et al.* Seroprevalence of seven pathogens transmitted by the *Ixodes ricinus* tick in forestry workers in France. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22:735.e1-9.
- Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, *et al.* Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17:69-79.
- Stanek G, Reiter M. The expanding Lyme *Borrelia* complex—clinical significance of genomic species ? *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:487-93.
- Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. *In: Lipsker D, Jaulhac B. Curr Probl Dermatol.* Basel:Karger; 2009.p. 51-110.

# LA MALADIE DE LYME CHEZ L'HOMME : QUID EN 2018 ?

## LYME DISEASE IN MAN: QUID IN 2018?

Par François BRICAIRE<sup>(1)</sup>

(Communication présentée le 18 Janvier 2018,  
manuscrit accepté le 12 Novembre 2018)

### RÉSUMÉ

La maladie de Lyme connue depuis déjà longtemps, a pris récemment un regain d'intérêt dans les pays développés où au-delà de la forme classique de la maladie est venue s'adjoindre la notion de « Lyme chronique », entité non scientifiquement démontrée, mais revendiquée par des groupes et associations de malades, relayée par des forums de discussion, persuadés que leurs maux multiples et parfaitement subjectifs peuvent être expliqués par cette infection. Or la maladie de Lyme est une infection bien définie, épidémiologiquement, microbiologiquement et cliniquement. Les règles de diagnostic y compris biologique et de traitement sont scientifiquement établies comme pour toute pathologie infectieuse. Vouloir l'élargir à tous les troubles inexpliqués pour aboutir à des prises en charges non validées tient de l'empirisme pour ne pas dire de l'escroquerie.

**Mots-clés :** Lyme, *Borrelia*, tique, sérologie.

### ABSTRACT

*Lyme disease, already known for a long time, took recently a renewed interest in developed countries where, beyond the classic form of the disease, emerged the chronic Lyme disease entity, not scientifically proven, but claimed by groups and associations of sick people, relieved by web pages, convinced that their multiple and perfectly subjective symptoms could be explained by this infection. Yet, Lyme disease is a very precise infection, epidemiologically, microbiologically and clinically. As for any other infectious diseases, the diagnosis (clinical and biological) and treatment are scientifically defined. Widening this diagnosis to all unexplained disorders to end in not validated managements is mere empiricism, and not to say fraud or charlatanism.*

**Key words :** Lyme, *Borrelia*, tick, serology.

Maladie infectieuse d'origine animale, transmise par les tiques, connue depuis de nombreuses années, la maladie de Lyme connaît actuellement un regain d'intérêt en raison certes d'une augmentation de fréquence, mais surtout d'un emballement médiatique entretenu par les réseaux sociaux et diverses associations, créant le trouble et la confusion pour une infection dont les caractéristiques cliniques, biologiques et thérapeutiques sont pourtant bien déterminées.

### UNE MALADIE INFECTIEUSE PRÉCISE

La maladie de Lyme répond à des critères diagnostics précis (SPILF, 2006 ; Schramm *et al.* 2013 ; Haut Conseil de la Santé

Publique, 2014 ; Hansmann *et al.* 2016). Provoquée par des bactéries du genre *Borrelia* sensu-stricto, principalement *Borrelia burgdorferi* mais aussi *afzeli* et d'autres, la maladie de Lyme est transmise par des morsures de tiques impliquant un contact suffisant de plusieurs heures pour que la tique ait le temps de faire son repas sanguin (Burgdorfer *et al.* 1982). Ces éléments sont essentiels et justifient que toute suspicion de maladie de Lyme fasse rechercher par l'anamnèse, la notion d'activités dans des zones géographiques où le risque de contact avec les tiques existe et la notion d'une morsure de tique. Cette donnée est souvent retrouvée même si elle peut rester méconnue ou imprécise. Après quelques jours apparaît l'érythème migrant, expression principale de la phase primaire de la maladie (Steere

(1) PUPH, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales ; Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris.  
Mail : francois.bricaire@aphp.fr

et al. 1978). Il se situe habituellement à l'endroit où la tique a mordu, et se présente sous la forme d'une lésion érythémateuse, ovale, progressivement croissante et caractérisée par un centre plus clair et un pourtour plus érythémateux. Cette lésion est non prurigineuse, non douloureuse, et est à distinguer d'une réaction précoce inflammatoire faisant immédiatement suite à la morsure de tique. Cette réaction inflammatoire n'est que l'expression de la morsure et nullement d'une contamination par des *Borrelia*. Certaines localisations sont parfois difficiles à repérer car non visibles pour le sujet mordu lorsqu'elles siègent dans des zones pileuses ou plus spécifiquement, dans le cuir chevelu où l'érythème migrant passe souvent inaperçu. Une fièvre modérée est parfois observée. A cette phase, la seule constatation d'un érythème migrant suffit à porter le diagnostic de maladie de Lyme sans nécessité d'examen biologiques notamment sérologique. Le traitement est justifié et permet une régression et une guérison complète de la lésion primaire. En l'absence de traitement, peuvent apparaître des signes cliniques permettant de définir la phase secondaire de la maladie. Ils apparaissent plusieurs jours à plusieurs semaines après l'érythème migrant et touchent plusieurs organes ou appareils. Les manifestations cutanées sont polymorphes avec des éléments de localisations diverses, de taille variable, ressemblant à l'érythème migrant initial. Il peut aussi s'agir de lésions de type lymphocytomes cutanés bénins, siégeant surtout sur le lobe de l'oreille et très évocatrices ou encore de lésions dans la région du mamelon. Les complications neurologiques sont diverses avec des atteintes périphériques notamment des paires crâniennes ; une paralysie faciale est particulièrement évocatrice. Ce sont aussi des déficits moteurs, des atteintes neuropathiques des membres ou en ceinture au niveau du tronc, des atteintes méningées ou parfois des signes encéphaliques. Ces formes neurologiques de la maladie de Lyme, volontiers observées en Europe, se traduisent objectivement par des anomalies à l'examen neurologique. La ponction lombaire confirme les atteintes méningées avec une réaction lymphocytaire à liquide clair et une discrète hyper-albuminorachie. Les manifestations articulaires sont variées avec des signes d'arthrites, touchant essentiellement les grosses articulations, le genou principalement. Les manifestations articulaires aiguës sont plus volontiers observées dans les formes américaines. Les complications cardiaques se manifestent essentiellement par des signes de myocardite aiguë avec des anomalies à l'électrocardiogramme telles que bloc auriculo-ventriculaire et troubles de la repolarisation. D'autres manifestations sont plus rares : ophtalmologiques (iridocyclite, conjonctivite, uvéite...). Ces complications vont pouvoir évoluer, en l'absence de diagnostic et de traitement, sur plusieurs semaines à mois. Traitées, elles régressent, dans des délais variables, d'autant plus rapides que le traitement spécifique aura été prescrit tôt. La phase tertiaire ou tardive apparaît jusqu'à des années plus tard et ce en l'absence de tout traitement des phases primaires ou secondaires. Les manifestations sont ici encore, soit dermatologiques avec l'apparition d'une dermatite chronique atrophiante siégeant aux membres inférieurs et assez caractéristiques de la maladie, soit articulaires avec des douleurs et des gonflements (principa-

lement des genoux), soit, enfin, neurologiques avec des troubles encéphaliques ou encéphalomyélitiques. A ce stade l'évolution vers la guérison sous l'effet des traitements antibiotiques est plus aléatoire et les phénomènes immuns prennent une place sans doute plus importante que celle directement due à l'agent infectieux.

Le diagnostic biologique repose sur la sérologie. L'isolement direct du germe est des plus difficile et incertain, le nombre de germes présents étant faibles. La PCR n'est pas au point. La sérologie en ELISA est sensible mais de spécificité limitée. Avec la mise en évidence d'IgG et/ou d'IgM elle permet le diagnostic dès la fin de la phase primaire. Au début, au stade d'érythème migrant, elle est inutile car encore souvent négative. Grâce aux techniques d'immunoempreintes (western blot) plus spécifiques, il est possible de confirmer si nécessaire le diagnostic. Tous les autres tests proposés, souvent à tort, notamment en Allemagne ou dans laboratoires vétérinaires, ne sont pas validés, incertains dans les résultats, inutiles et doivent donc être absolument pros crits. Les doutes souvent émis par des associations de malades, ne sont que l'expression des limites tout à fait habituelles, et non spécifiques à la maladie de Lyme, des tests sérologiques pour le diagnostic des maladies infectieuses. La sérologie est donc un test diagnostic de référence, validé par des organismes internationaux tels que le centre référent français sur les borrelioses de Strasbourg et les autorités de santé habilitées en Allemagne. La sérologie est d'autant plus valide que l'on évolue vers les phases secondaires, puis éventuellement tertiaires de la maladie (Hansmann et al. 2016).

## DES FACTEURS DE CONFUSION !

Plusieurs éléments concourent sans doute à faire de la Maladie de Lyme, une infection pouvant prêter à des discussions, voire aboutir à des confusions ou des malentendus (Hubalek & Halouzka 1997). D'un point de vue épidémiologique, on note une extension des zones géographiques où prolifèrent les tiques en relation avec une augmentation des réservoirs animaux (ongulés sauvages) dans des régions boisées qui s'accroissent. Ils en résultent très certainement une augmentation du nombre de cas de maladies de Lyme, favorisés par le développement des habitudes saines et justifiées de promenades en forêt (Hubalek & Halouzka 1997 ; Gern et al. 1998). Des complexités d'ordre microbiologiques sont certaines car il n'existe pas seulement une *Borrelia* mais des *Borrelia* et il n'est pas forcément exclu que d'autres agents infectieux proches puissent également avoir une part de responsabilité dans cette infection. De plus, la bactérie pourrait adopter une morphologie kystique lui permettant sans doute d'échapper ou au moins partiellement au système immunitaire. Les manifestations polymorphes de cette maladie compliquent et rendent difficiles le diagnostic (Pachner, 1989). Si l'entité maladie de Lyme a été reconnue aux USA il n'y a que quelques dizaines d'années, plusieurs tableaux cliniques, neurologiques ou dermatologiques étaient déjà connus de longue date en Europe sous des noms variés. De plus un parallélisme

entre syphilis et Lyme, toutes deux dues à des spirochètes, toutes deux évoluant avec des phases successives, toutes deux polymorphes dans leur expression, n'a fait qu'ajouter à la confusion, en oubliant de dire qu'aujourd'hui grâce au traitement antibiotique, la syphilis guérit sans difficulté. S'ajoutent les limites dans la sérologie, avec des réactions croisées avec d'autres agents infectieux dont la syphilis, qui contribuent à jeter le doute sur la validité de cet examen. Enfin la faible efficacité thérapeutique observée dans les phases tardives de la maladie, montre bien que le processus immunologique l'emporte sur la responsabilité de l'agent infectieux lui-même (Klempner *et al.* 2013). Tout ceci pousse certains à avancer que la maladie est sous diagnostiquée et aboutit à ce que cette infection aux accents écologiques, devienne de plus en plus à la mode, médiatisée, amplifiée par les réseaux sociaux et, de ce fait, puisse devenir le refuge de toutes les revendications de sujets ne trouvant pas d'explication satisfaisantes à leurs diverses plaintes (Maruchitch, 2014).

## LA MALADIE DE LYME CHRONIQUE EXISTE-T-ELLE ?

Depuis quelques années, et à partir des données cliniques parfois déjà moins précises de la phase tardive du Lyme, beaucoup veulent attribuer aux *Borrelia* et donc à la maladie de Lyme, une symptomatologie clinique mal définie. Effectivement les formes tardives existent avec des symptômes neurologiques, articulaires dont plusieurs éléments sont objectifs et sont confirmés grâce à l'anamnèse et la sérologie. Un doute existerait-il qu'un traitement devrait être proposé pour permettre une amélioration souvent lente et éventuellement partielle. Mais, d'ici à attribuer à la maladie de Lyme, des manifestations cliniques dont le polymorphisme dépasse l'entendement d'une saine clinique, dont la présentation est purement subjective et sans aucune manifestation objective (Cerar *et al.* 2010), est un pas que des sites incompetents prétendent défendre, soutenus par des associations de malades qui se persuadent de la validité de telles assertions. Lorsque celles-ci sont relayées par des médecins, certains universitaires et d'autres médecins autoproclamés « Lyme doctors », défendant des intérêts qui ne sont pas purement médicaux,

n'apportant aucune preuve scientifique à leurs assertions parfaitement empiriques, il convient de réagir. Car au-delà des contre-vérités, des leurres, des faux espoirs fournis à des sujets qui souffrent, nait un problème de santé publique avec le risque de méconnaître d'autres diagnostics et d'entraîner ces patients vers des thérapeutiques inconsidérées, inefficaces, inutiles voire dangereuses. Si l'on en reste aux huiles essentielles, c'est dommage mais encore pas trop dramatique. Lorsque l'on associe pour des mois plusieurs antibiotiques avec des antifongiques, des antiparasitaires, des anti-inflammatoires ou des immuno-modulateurs, on ne peut être que sidérés pour ne pas dite scandalisés. Et même si certains patients disent aller mieux, c'est en général de façon très temporaire, oubliant l'existence bien connue de l'effet placebo. Cette attitude ne repose sur aucune donnée scientifique sérieuse, défie les règles de traitement des maladies infectieuses et devient par ailleurs onéreuse pour la société en examens inutiles et en traitements lourds. Bien qu'une sérologie positive ne soit que l'expression d'un contact à un moment quelconque de son existence avec un agent infectieux et en aucune façon la preuve d'une infection évolutive, il est envisageable de prescrire un traitement antibiotique en présence d'une symptomatologie mal définie. Mais, si on ajoute qu'actuellement même avec une sérologie négative, des patients eux-mêmes sont persuadés d'être atteints de maladie de Lyme, on mesure le dérapage grave que l'on risque, confinant à l'escroquerie. Il importe donc que la science reprenne le dessus, que des travaux de recherche sérieux soient poursuivis pour que l'on apporte des réponses à des questions légitimes, comme l'existence et l'éventuelle responsabilité de co-infections transmises par des tiques, ou peut-être par d'autres vecteurs, la validité d'autres schémas thérapeutiques anti-infectieux, les limites de la maladie. Il importe pour conclure de cesser de considérer la maladie de Lyme chronique comme une entité clinique existante et démontrée. La maladie de Lyme obéit aux règles de diagnostic et de traitement de toute maladie infectieuse, d'autant plus aisément que les *Borrelia* sont des bactéries parfaitement sensibles aux antibiotiques. Il faut faire cesser les affirmations empiriques qui nuisent à des malades dont les plaintes parfaitement justifiées ne trouveront sûrement pas la réponse dans le fait de leur dire qu'ils ont une maladie de Lyme.

L'auteur ne déclare aucun conflit d'intérêt en ce qui concerne la maladie de Lyme.

## BIBLIOGRAPHIE

- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme disease—a tick-borne spirochetosis? *Science* 1982;216:1317-9.
- Cerar T, Ruzi -Sablji E, Wormser GP, Strle F. Subjective symptoms after treatment of early Lyme disease. *Am J Med.* 2010;123:79-86.
- Gern L, Estrada-Peña A, Frandsen F, Gray JS, Jaenson TG, Jongejan F *et al.* European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Zentralbl Bakteriologie.* 1998;287:196-204.
- Haut Conseil de la Santé Publique. Commission Spécialisée Maladies Transmissibles. La borréliose de Lyme. Rapport du groupe de travail. 2014 [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/hcspr20140328\\_borreliose Lyme.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/hcspr20140328_borreliose Lyme.pdf)
- Hansmann Y, Chirouze C, Tattevin P, Alfandari S, Caumes E, Christmann D *et al.* Position de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française à propos de la Maladie de Lyme. *Med Mal Infect.* 2016; 46 : 343-345. Disponible sur <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2016.08.001> (consulté le 15.11.2018).
- Hubalek Z & Halouzka J. Distribution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* genomic groups in Europe, a review. *Eur J Epidemiol.* 1998;13:951-957.
- Klemperer MS, Baker PJ, Shapiro ED, Marques A, Dattwyler RJ, Halperin JJ *et al.* Treatment trials for post-Lyme disease symptoms revisited. *Am J Med.* 2013, 126, 665-9.
- Maruchitch R.: Maladie de Lyme: un fléau sous-estimé. *Le Monde*, 8 décembre 2014. Disponible à : url : [https://www.lemonde.fr/sciences/article/2014/12/08/maladie-de-lyme-un-fleau-sous-estime\\_4536763\\_1650684.html?xtmc=maladie\\_de\\_lyme\\_un\\_fleau\\_sous\\_estime&xtcr=1](https://www.lemonde.fr/sciences/article/2014/12/08/maladie-de-lyme-un-fleau-sous-estime_4536763_1650684.html?xtmc=maladie_de_lyme_un_fleau_sous_estime&xtcr=1). (consulté le 15.11.2018).
- Pachner AR. Neurologic manifestations of Lyme disease, the new “great imitator” *Rev Infect Dis.* 1989;11(suppl.6):S1482-S1486.
- Schramm F, Grillon A, De Martino S, Jaulhac B. La borréliose de Lyme. *Revue Francophone des Laboratoires* 2013 ;457 :35-49.
- SPILE, Société de Pathologie infectieuse de langue française. 16ème Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Borréliose de Lyme : démarches diagnostiques, thérapeutiques et préventives. 2006. Disponible à : [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/2006-lyme-long\\_2.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/2006-lyme-long_2.pdf) (consulté le 15.11.2018)
- Steere AC, Broderick TF, Malawista SE. *Erythema chronicum migrans* and Lyme arthritis: epidemiologic evidence for a tick vector. *Am J Epidemiol.* 1978;108:312-21.

# LA MALADIE DE LYME CHEZ LE CHIEN

## LYME BORRELIOSIS IN DOGS

Par Henri-Jean BOULOUIS<sup>(1)</sup> et Luc CHABANNE<sup>(2)</sup>

Communication présentée le 18 janvier 2018,

Manuscrit acceptée le 20 mars 2019

### RÉSUMÉ

La maladie de Lyme est caractérisée chez le Chien par une arthrite induisant une boiterie, de l'anorexie, de la fièvre, une léthargie, une adénomégalie et parfois une glomérulonéphrite fatale. En absence de mise en évidence de *Borrelia* dans les prélèvements, le diagnostic repose essentiellement sur un faisceau d'arguments épidémiologique, clinique, sérologique et thérapeutique, après exclusion des autres causes aboutissant au même tableau clinique. La thérapeutique s'appuie sur une antibiothérapie principalement à base de doxycycline. La prévention passe par l'utilisation d'acaricides contre *Ixodes* spp., vecteurs des *Borrelia* et éventuellement l'administration d'un vaccin.

**Mots-clés :** *Borrelia* spp., chien, maladie de Lyme, borreliose.

### ABSTRACT

*Lyme disease is characterized in dogs by fever, arthritis that induces lameness, anorexia, lethargy, adenomegaly and sometimes fatal glomerulonephritis. In the absence of direct evidence of Borrelia in the samples, the diagnosis is mainly based on a bundle of epidemiological, clinical, serological and therapeutic arguments, after exclusion of the other causes leading to the same symptoms. Therapy is based on antibiotic like doxycycline. Acaricides against Ixodes spp., vectors of Borrelia, are the main tool for prevention. Vaccines are also possibly available.*

**Key words:** *Borrelia* spp., dog, Lyme borreliosis.

## INTRODUCTION

La borreliose de Lyme est décrite chez le Chien depuis 1984 (Lissman *et al.* 1984) après la mise en évidence de la bactérie responsable de pathologie chez des habitants du comté de Lyme (Connecticut, USA) par Willi Burgdorfer dans des tiques en 1982 (Burgdorfer *et al.* 1982). Depuis cette date, plusieurs espèces de *Borrelia*, identifiées sous le terme de *Borelia burgdorferi* sensu lato, ont été décrites en Europe et associées à cette maladie dont l'agent est transmis par les tiques dures du genre *Ixodes*. Les symptômes, souvent associés aux animaux déclarés malades de Lyme sur la foi d'un diagnostic essentiellement fondé sur des techniques sérologiques dont on connaît maintenant la médiocre valeur prédictive positive, ont abouti à la caractérisation d'un tableau clinique de la maladie chez le Chien qui a évolué au fur et à mesure de l'amélioration des méthodes de diagnostic. Cet article a pour objectif de préciser les connaissances actuelles sur la borreliose de Lyme chez le Chien.

## ÉTIOLOGIE

Le genre *Borrelia* appartient à l'ordre des Spirochètales et à la famille des *Borreliaceae*. Les *Borrelia* sont des bacilles Gram négatif, fins et spiralés dont la culture, difficile, nécessite des milieux particuliers et reste lente. Les espèces responsables de la borreliose de Lyme ont été récemment regroupées dans le nouveau genre *Borrelia* qui ne contient que les agents de la borreliose de Lyme (Adeolu *et al.* 2014). Parmi les espèces responsables de maladie de Lyme, se trouve *B. burgdorferi* au sens strict (ss) seule espèce responsable des borrelioses de Lyme sur le continent américain. Cette espèce est aussi impliquée, avec d'autres appartenant au complexe *B. burgdorferi* au sens large, telles *B. afzelii* et *B. garinii*, dans les borrelioses de Lyme humaines décrites en Europe et en Asie. Chez le Chien, les espèces responsables de borrelioses de Lyme sont assez mal cernées. Mise à part *B. burgdorferi*, il existe peu de rapport de cas cliniques associés à d'autres espèces. Cependant, aux Pays-Bas et au Japon, des cas de borreliose de

(1) Professeur, Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du général de Gaulle 94704 Maisons Alfort Cedex.

Courriel : henri-jean.boulouis@vet-alfort.fr

(2) Professeur, VetAgroSup, Campus de Lyon, 1 Avenue Bourgelat, 69280 Marcy-l'Étoile.

Lyme canine ont été associés à *B. garinii* ou *B. afzelii* sur des critères épidémiologique, moléculaire ou sérologique (Hovius *et al.* 1999 ; Inokuma *et al.* 2013 ; Uesaka *et al.* 2016).

## ASPECTS CLINIQUES

Les notions cliniques associées à la borréliose de Lyme chez le Chien sont issues d'infections expérimentales et d'enquêtes cliniques.

### Infections expérimentales

Lors d'infections expérimentales, des symptômes ne sont obtenus qu'à la suite d'infection *via* des tiques infectées récoltées dans la nature. L'inoculation directe de *B. burgdorferi* n'induit aucun symptôme chez le chien. Ces conditions, nécessaires pour obtenir un tableau clinique, expliquent sans doute les résultats plus ou moins concordants obtenus lors des différentes études publiées. Les symptômes obtenus sont essentiellement généraux et articulaires (Straubinger *et al.*, 2000). Après infection expérimentale de chiens avec *B. burgdorferi*, les symptômes, qui apparaissent 2 à 5 mois après l'exposition aux tiques, sont caractérisés par : une boiterie d'intensité maximale durant 2 jours qui disparaît le 4<sup>ème</sup> jour. Cette arthrite aiguë s'accompagne d'un léger œdème régional, parfois chaud, d'une hyperthermie (39,5°C-40°C) pendant les deux premiers jours et d'une hypertrophie des nœuds lymphatiques de proximité. Les animaux répugnent à bouger et maintiennent leur patte atteinte levée. Après rémission spontanée, une à deux rechutes sont constatées de deux à quatre semaines d'intervalle. Cette boiterie récurrente concerne la même articulation et/ou d'autres articulations. Six à huit semaines après le début des premiers symptômes, la rémission est complète (après 18 mois d'observation). L'âge des chiens joue un rôle important dans l'apparition des symptômes. Parmi les animaux qui séroconvertissent, 80% sont des chiots de 6 semaines, 25% des chiots de 12 semaines et aucun des chiens de 6 mois ou plus ne présentent une boiterie (Appel *et al.* 1993). Dans un schéma expérimental voisin, Straubinger *et al.* (1997a) définit deux groupes de chiens en fonction de leur réponse à l'infection. Seulement 13 sur 20 chiots de six semaines, infectés par des tiques, développent une boiterie 2 mois après le contact infectant, avec une hyperthermie d'une journée pour une majorité d'entre eux. Il s'agit de mono ou d'oligoarthrite avec douleur à la manipulation. Les articulations touchées sont la plupart du temps proches du site d'infestation, soulignant la dissémination de *Borrelia* à partir du point de piqûre. Une autre infection expérimentale par les mêmes auteurs (Straubinger *et al.* 1997b) aboutit à des résultats voisins : seul un chiot sur 6 présente une boiterie et quelques-uns une légère hyperthermie. Tous les chiots infectés présentent des *Borrelia* dans les biopsies de peau effectuées. Et 4 sur 6 des lésions des articulations (mono ou polyarthrites modérées à sévères). L'utilisation de corticoïdes lors de l'infection chez des chiens de 6 mois induit pour une partie des animaux une arthrite chronique non suppurée (Chang *et al.* 2001). La neuroborréliose, décrite chez l'homme,

ne semble pas s'exprimer cliniquement chez le chien infecté expérimentalement, même si des modifications neuro-histologiques sont décrites : inflammation du plexus choroïde (Krimer *et al.* 2011), neurite et encéphalite (Chang *et al.* 2000). Elles peuvent cependant être absentes (Appel *et al.* 1993). Le LCR, dont les constantes restent dans les normes physiologiques, ne contient ni anticorps ni génome de *Borrelia* (Straubinger *et al.* 1998 ; Krimer *et al.* 2011). Enfin, Gustafson *et al.* (1993) ont pu démontrer le passage transplacentaire de *B. burgdorferi* sans conséquences cliniques.

### Infections naturelles

Le tableau clinique lié aux infections naturelles du Chien par *B. burgdorferi* est plus difficile à établir dans la mesure où il n'y a pas de lien entre la séropositivité et la clinique (5% des chiens séropositifs développent des symptômes (Greene *et al.* 2006)) et que la démonstration de la présence de la bactérie dans les lésions est très rarement possible ou effectuée. Par ailleurs, le moment de l'inoculation par la tique est en général difficile à déterminer. Enfin, des co-infections (en particulier par *Anaplasma phagocytophilum*) peuvent compliquer le tableau clinique (Jäderlund *et al.* 2009). Cependant, le tableau clinique de chiens positif en PCR associe une fièvre, de l'apathie, de l'anorexie et des boiteries (Hovius *et al.*, 1999). Néanmoins, des preuves sérologiques et épidémiologiques assoient la réalité des borrélioses de Lyme chez le Chien, en particulier dans ses localisations articulaires et rénales (Kornblatt *et al.* 1985). Classiquement, dans les jours ou les semaines qui suivent l'infection, le chien présente une hyperthermie, une adénopathie et une boiterie. La boiterie est le symptôme le plus caractéristique. Elle résulte d'arthrites localisées aux articulations du carpe, tarse, phalanges, épaule, coude ou grasset. Cette atteinte articulaire est décrite comme oligo-articulaire, migratoire et intermittente (Littman *et al.* 2006). Une lésion inflammatoire au point de piqûre peut persister quelques jours après détachement de la tique, mais l'érythème migrant, pathognomonique chez l'Homme, n'est pas décrit chez le chien (Krupka & Straubinger, 2010). Une glomérulonéphrite membranoproliférative se déclare chez certains chiens séropositifs. Cette néphrite de Lyme est concomitante ou suit une boiterie dans moins d'un tiers des cas. Une prédisposition de certaines races de chiens (Labrador et Golden retrievers, Shetland) est signalée. Les symptômes sont ceux d'une néphropathie sévère aiguë et évolutive, avec thrombo-embolie ou hypertension, œdème ou signes d'insuffisance rénale (vomissements, anorexie...). La protéinurie peut être inconstante. Une urémie accompagne les symptômes (Dambach *et al.* 1997).

Chez les retrievers, la glomérulonéphrite atteint moins de 2% des chiens séropositifs. L'évolution est fatale dans tous les cas décrits, en 8 semaines après le début de l'apparition des symptômes. L'association avec la borréliose de Lyme ne repose en général que sur la sérologie et des traces de *Borrelia* n'ont été que rarement retrouvées dans les reins (Hutton *et al.* 2006 ; Chou *et al.*, 2006). Elle serait donc plutôt liée à des dépôts de complexes immuns qu'à l'action directe de *Borrelia* dans les reins (Dambach

et al., 1997 ; Littman et al. 2013). Un cas clinique de myocardite et d'arythmie cardiaque a été associé à une borréliose de Lyme, mais uniquement sur des critères sérologiques. (Levy et al. 1988). Enfin plusieurs cas cliniques ont été décrits dans lesquels prédominent des symptômes neurologiques tels qu'astase, convulsion et hyper-réflexie associés à l'infection par *B. burgdorferi* sans que le lien causal n'ait été formellement apporté (Azuma et al. 1993) ou astase et hyperthermie avec PCR positive sur le sang pour *B. garinii* (Inokuma et al. 2013).

## DÉPISTAGE/DIAGNOSTIC

### Éléments non spécifiques

Dans tous les cas décrits (lors d'infections expérimentales principalement) les paramètres biologiques sont rarement modifiés. L'hémogramme ne présente aucune modification majeure lors d'infection expérimentale (Appel et al. 1993). Cependant, Inokuma et al. (2013) signalent une leucocytose et une augmentation de la protéine C réactive puis de la protéine-kinase C dans les deux cas suspects d'infection par *B. garinii*. Le liquide synovial prélevé sur articulation atteinte présente de façon non systématique des signes d'inflammation : fibrine associée à des granulocytes neutrophiles (en moyenne 70% des leucocytes), des lymphocytes et des plasmocytes (Appel et al. 1993 ; Chang et al. 2000 ; Susta et al. 2012). Le liquide céphalorachidien ne présente aucune modification (Krimer et al. 2011).

### Diagnostic spécifique

Le diagnostic spécifique de borréliose de Lyme chez le Chien se heurte à différents obstacles techniques. La mise en évidence directe du germe, preuve incontestable de l'implication de *Borrelia* dans la genèse du tableau clinique, est rarement mise en œuvre. Elle n'a que très rarement aboutit chez le chien (Speck et al., 2006). Les techniques sérologiques, faciles d'accès, ne constituent pas à elles seules un outil fiable de diagnostic. Seuls 5% des chiens séropositifs développent des signes cliniques évocateurs de maladie de Lyme. Ce pourcentage est retrouvé chez les chiens séronégatifs. (Levy et al. 1992). La PCR peut s'avérer positive sur le sang de chiens suspects comme sur le sang de chiens non suspects de maladie de Lyme (Maia et al. 2015). Compte tenu de ces restrictions, le diagnostic de borréliose de Lyme chez le Chien s'appuie sur une convergence de faits et reste fragile (Littman et al. 2006 ; Speck et al., 2007).

### Mise en évidence directe

La mise en évidence directe se heurte au faible nombre de bactérie présentes dans les prélèvements. La visualisation microscopique de *Spirochaetes* dans les prélèvements (peau, LCR, liquide synovial, ...) est possible mais ne repose pas sur des colorations classiques. Les colorations argentiques ou le recours à un microscope à fond noir sont rarement mobilisés en clinique vétérinaire (Littman et al. 2006). La culture de *Borrelia* à partir de prélèvements tels que la peau, le liquide synovial ou le LCR

est possible. Cependant, elle est fastidieuse, nécessite des milieux particuliers et le résultat est tardif (Burgdorfer et al., 1982). Chez le chien, la culture n'est que rarement pratiquée et ne donne pas de résultat exploitable (Speck et al., 2006). La PCR se pratique à partir de biopsie de peau (si l'on peut localiser une lésion cutanée ou le site de piqûre de la tique inoculatrice), d'autres tissus (tissu conjonctif, fascia, capsule articulaire, nœud lymphatique, muscle) et de liquides biologiques (LCR, liquide synovial, sang, urine) chez le chien et l'homme. La borréliémie est fluctuante au cours du temps. Cette particularité impose plusieurs prélèvements, nécessaires pour que l'analyse ait des chances d'être positive chez un animal atteint.

### Mise en évidence indirecte

La sérologie reste la méthode de diagnostic la plus employée. Différentes techniques sont utilisables dont l'immuno-fluorescence indirecte (IFI) et des tests immuno-enzymatiques. L'IFI emploie des corps bactériens complets et souffre sans aucun doute d'une faible spécificité et de nombreux faux positifs. Les tests immuno-enzymatiques ont été développés ces dernières années et sont déclinés sous forme ELISA, immuno-chromatographie –les plus employées– ou Western-Blot (Wagner et al., 2012). Ces techniques sont plus sensibles et plus spécifiques que l'IFI, en particulier du fait de l'emploi de l'antigène C6 recombinant, peptide dérivé de l'antigène VlsE de *Borrelia*, et ne détectant pas les anticorps vaccinaux (Pantchev et al. 2015). En absence de mise en évidence directe, le diagnostic de borréliose de Lyme chez le chien repose donc sur l'association de différents arguments (**Tableau 1**).

Epidémiologie	Sortie en région endémique en saison favorable à l'activité des tiques vectrices. Présence de tiques ou signes de piqûre récente
Clinique	Fièvre Apathie Anorexie Boiterie Polyarthrite Insuffisance rénale
Laboratoire	Élimination des autres étiologies aboutissant à un tableau clinique similaire
Thérapeutique	Amélioration de l'état clinique à la suite de l'instauration d'une thérapeutique antibiotique adaptée.

**Tableau 1 :** Arguments épidémiologiques, cliniques, de laboratoire et thérapeutiques qui associés à une sérologie positive permettent de poser le diagnostic de borréliose de Lyme chez le chien.

## THÉRAPEUTIQUE

L'antibiothérapie accélère la résolution des symptômes et limite leur récurrence. Le traitement habituellement recommandé s'appuie sur la doxycycline (10–20 mg/kg/j), antibiotique le plus fréquemment utilisé, ou l'azithromycine (25 mg/kg/j) qui n'a pas d'AMM chez le chien. Le résultat sur des chiens infectés

expérimentalement est équivalent pour les deux antibiotiques (Straubinger *et al.*, 2000). La durée recommandée est d'un mois (Littman *et al.* 2006). La réponse au traitement est obtenue en un à deux jours. Cependant, seuls 85% des chiens infectés expérimentalement et traités selon ce protocole guérissent de l'infection. Un suivi sérologique peut être intéressant pour confirmer l'élimination du germe (IRIS *et al.*, 2013 ; Pantchev *et al.* 2015). Ce traitement anti-infectieux n'exclue pas d'autres approches thérapeutiques, en particulier lors de néphrite de Lyme si des biopsies rénales confirment le processus immunopathologique (IRIS *et al.*, 2013).

## PRÉVENTION

En attendant la création d'un vaccin contre les tiques et les agents qu'elles transmettent, la prévention de la maladie de Lyme chez le Chien s'appuie sur l'élimination des tiques avant transmission de *Borrelia* et sur des traitements acaricides. Il existe des vaccins

contre la maladie de Lyme chez le chien. En France, sont disponibles deux vaccins : vaccin inactivé contre *B. burgdorferi* au sens strict (ss), ou vaccin inactivé contre OspA de *B. burgdorferi* ss, *B. garinii* et *B. afzelii*.

## CONCLUSION

Longtemps considéré comme un modèle de borréliose de Lyme humaine, la maladie de Lyme du chien s'en détache essentiellement par une pauvreté des atteintes cliniques comparée aux tableaux cliniques humains, et des atteintes rénales, non décrites chez l'Homme à ce jour. Le diagnostic se heurte aux mêmes contraintes et incertitudes que pour la borréliose de Lyme de l'homme, avec des restrictions supplémentaires quant aux outils dont disposent les vétérinaires. Le diagnostic de certitude s'appuie sur l'exclusion des autres causes induisant un tableau clinique voisin et différents arguments dont la sérologie n'est qu'un des paramètres.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adeolu M, Gupta RS. A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera: the emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014; 105: 1049-72.
- Appel MJ, Allan S, Jacobson RH, Lauderdale TL, Chang YF, Shin SJ *et al.* Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection. *J Infect Dis*. 1993; 167: 651-64.
- Azuma Y, Kawamura K, Isogai H, Isogai E. Neurologic abnormalities in two dogs suspected Lyme disease. *Microbiol Immunol*. 1993; 37: 325-9.
- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme disease—a tick-borne spirochetosis? *Science* 1982; 216 :1317-9.
- Chang YF, Novosel V, Chang CF, Summers BA, Ma DP, Chiang YW *et al.* Experimental induction of chronic borreliosis in adult dogs exposed to *Borrelia burgdorferi*-infected ticks and treated with dexamethasone. *Am J Vet Res*. 2001; 62: 1104-12.
- Chou J, Wünschmann A, Hodzic E, Borjesson DL. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in tissues from dogs with presumptive Lyme borreliosis. *J Am Vet Med Assoc*. 2006; 229: 1260-5.
- Dambach DM, Smith CA, Lewis RM, Van Winkle TJ. Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of a distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection: 49 cases (1987-1992). *Vet Pathol*. 1997; 34: 85-96.
- Greene CE, Straubinger RK. Borreliosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. 3rd edition. Greene CE, editor. Philadelphia: WB Saunders Elsevier; 2006, pp. 417-35.
- Gustafson JM, Burgess EC, Wachal MD, Steinberg H. Intrauterine transmission of *Borrelia burgdorferi* in dogs. *Am J Vet Res*. 1993; 54 :882-90.
- Hovius KE, Stark LA, Bleumink-Pluym NM, van de Pol I, Verbeek-de Kruijff N, Rijpkema SG *et al.* Presence and distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in internal organs and skin of naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs, as detected by polymerase chain reaction. *Vet Q*. 1999; 21 :54-8.
- Hutton TA, Goldstein RE, Njaa BL, Atwater DZ, Chang YF, Simpson KW. Search for *Borrelia burgdorferi* in kidneys of dogs with suspected "Lyme nephritis". *J Vet Intern Med*. 2008; 22: 860-5.
- Inokuma H, Maetani S, Fujitsuka J, Takano A, Sato K, Fukui T *et al.* Astasia and pyrexia related to *Borrelia garinii* infection in two dogs in Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci*. 2013; 75: 975-8.
- IRIS Glomerular Disease Study Group, Goldstein RE, Brovida C, Fernández-Del Palacio MJ, Littman MP, Polzin DJ *et al.* Consensus recommendations for treatment for dogs with serology positive glomerular disease. *J Vet Intern Med*. 2013; 27 Suppl 1: S60-6. Erratum in: *J Vet Intern Med*. 2016; 30: 1554.
- Jäderlund KH, Bergström K, Egenvall A, Hedhammar A. Cerebrospinal fluid PCR and antibody concentrations against *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in dogs with neurological signs. *J Vet Intern Med*. 2009; 23: 669-72.
- Kornblatt AN, Urband PH, Steere AC. Arthritis caused by *Borrelia burgdorferi* in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1985; 186: 960-4.
- Krimer PM, Miller AD, Li Q, Grosenbaugh DA, Susta L, Schatzberg SJ. Molecular and pathological investigations of the central nervous system in *Borrelia burgdorferi*-infected dogs. *J Vet Diagn Invest*. 2011; 23: 757-63.
- Krupka I, Straubinger RK. Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010; 40: 1103-19.
- Levy SA, Duray PH. Complete heart block in a dog seropositive for *Borrelia burgdorferi*. Similarity to human Lyme carditis. *J Vet Intern Med*. 1988; 2: 138-44.
- Levy SA, Magnarelli LA. Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. *J Am Vet Med Assoc*. 1992; 200: 344-7.
- Lissman BA, Bosler EM, Camay H, *et al.* Spirochete-associated arthritis (Lyme disease) in a dog. *JAVMA*. 1984; 185: 219-220.
- Littman MP. Canine borreliosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2003; 33: 827-62.
- Littman MP, Goldstein RE, Labato MA, Lappin MR, Moore GE. ACVIM small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. *J Vet Intern Med*. 2006; 20: 422-34.
- Littman MP. Lyme nephritis. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2013; 23: 163-73.
- Maia C, Almeida B, Coimbra M, Fernandes MC, Cristóvão JM, Ramos C *et al.* Bacterial and protozoal agents of canine vector-borne diseases in the blood of domestic and stray

- dogs from southern Portugal. *Parasit Vectors*. 2015; 8: 138.
- Pantchev N, Pluta S, Huisinga E, Nather S, Scheufelen M, Vrhovec MG *et al*. Tick-borne Diseases (Borreliosis, Anaplasmosis, Babesiosis) in German and Austrian Dogs: Status quo and Review of Distribution, Transmission, Clinical Findings, Diagnostics and Prophylaxis. *Parasitol Res*. 2015; 114 Suppl 1: S19-54.
  - Speck S, Reiner B, Streich WJ, Reusch C, Wittenbrink MM. Canine borreliosis: a laboratory diagnostic trial. *Vet Microbiol*. 2007; 120: 132-41.
  - Straubinger RK, Straubinger AF, Härter L, Jacobson RH, Chang YF, Summers BA *et al*. *Borrelia burgdorferi* migrates into joint capsules and causes an up-regulation of interleukin-8 in synovial membranes of dogs experimentally infected with ticks. *Infect Immun*. 1997a; 65: 1273-85.
  - Straubinger RK, Summers BA, Chang YF, Appel MJ. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. *J Clin Microbiol*. 1997b; 35: 111-6.
  - Straubinger RK, Straubinger AF, Summers BA, Jacobson RH, Erb HN. Clinical manifestations, pathogenesis, and effect of antibiotic treatment on Lyme borreliosis in dogs. *Wien Klin Wochenschr*. 1998; 110: 874-81.
  - Straubinger RK, Straubinger AF, Summers BA, Jacobson RH. Status of *Borrelia burgdorferi* infection after antibiotic treatment and the effects of corticosteroids: An experimental study. *J Infect Dis*. 2000; 181: 1069-81.
  - Susta L, Uhl EW, Grosenbaugh DA, Krimer PM. Synovial lesions in experimental canine Lyme borreliosis. *Vet Pathol*. 2012; 49: 453-61.
  - Uesaka K, Maezawa M, Inokuma H. Serological survey of *Borrelia* infection of dogs in Sapporo, Japan, where *Borrelia garinii* infection was previously detected. *J Vet Med Sci*. 2016; 78: 463-5.
  - Wagner B, Freer H, Rollins A, Garcia-Tapia D, Erb HN, Earnhart C, *et al*. Antibodies to *Borrelia burgdorferi* OspA, OspC, OspF, and C6 antigens as markers for early and late infection in dogs. *Clin Vaccine Immunol*. 2012; 19: 527-35.

EARLY-  
BAVE

# LA MALADIE DE LYME CHEZ LE CHEVAL : UN DÉFI CLINIQUE ET DIAGNOSTIQUE

## LYME DISEASE IN HORSES : CLINICAL AND DIAGNOSIS CHALLENGES

Par Marie-Capucine DUPUIS-TRICAUD<sup>(1)</sup> et Marianne DEPECKER<sup>(2)</sup>

(Communication présentée le 18 janvier 2018,

Manuscrit accepté le 8 mai 2019)

### RÉSUMÉ

La maladie de Lyme, infection causée par des bactéries spirochètes du genre *Borrelia*, reste une maladie controversée chez le cheval. De nombreux signes cliniques non spécifiques ont été attribués à cette maladie sur le terrain (fatigue, boiteries, troubles du comportement, hyperesthésie, fonte musculaire, fièvre isolée...) alors qu'ils n'ont jamais été reproduits lors d'infections expérimentales. La symptomatologie exacte lors d'infection naturelle reste très peu documentée, les rares cas publiés dans la littérature correspondent à des tableaux cliniques peu fréquents et probablement sous-diagnostiqués (uvéïte, neuroborréliose et atteinte cutanée de type « pseudo-lymphome »). Les tests sérologiques restent les examens complémentaires les plus utilisés, la PCR sur le sang étant presque systématiquement négative. Néanmoins, les résultats sérologiques doivent être interprétés avec précaution : un résultat positif traduit une exposition au pathogène, ce qui ne veut pas dire que le cheval souffre de maladie de Lyme (la plupart des infections étant asymptomatiques). D'autre part, un résultat négatif ne permet pas d'exclure totalement l'hypothèse (du fait de la cinétique particulière des anticorps et de la variabilité des réponses immunitaires). Actuellement, le traitement se justifie sur des chevaux sérologiquement positifs présentant des signes cliniques pour lesquels les autres causes potentielles ont été exclues. Il n'existe pas de consensus sur le choix du protocole mais les tétracyclines sur plusieurs semaines restent les plus utilisées. Enfin, il est reconnu qu'une réponse positive au traitement ne peut être utilisée comme critère diagnostique.

**Mots-clés:** Maladie de Lyme, cheval, *Borrelia*.

### ABSTRACT

*Lyme disease, caused by the bacterial spirochete Borrelia, is still controversial in horses. Many non specific clinical signs have been attributed to this disease (fatigue, lameness, behavioral changes, hyperesthesia, muscle tenderness, fever...) but they have never been reproduced experimentally. The exact symptomatology during natural infection is poorly documented, only few clinical cases of three rare syndromes have been reported (uveitis, neuroborreliosis and Borrelia-associated cutaneous pseudolymphoma). Serological testing are commonly used, as PCR on blood are almost always negative. However, serological results should be interpreted with caution: a positive serology means exposure to the Borrelia organism but not that the horse suffers from Lyme disease (as many infections are asymptomatic). Besides, a negative serology does not rule out the hypothesis (because of antibodies kinetic and immune response variability). Nowadays, treatment is recommended only in horses with a positive serology and clinical signs compatible with Lyme disease, after exclusion of other causes. The ideal protocol is unknown but tetracyclines during several weeks are most commonly used. Last, it is well recognized that a positive response to treatment cannot be used as a diagnostic aid.*

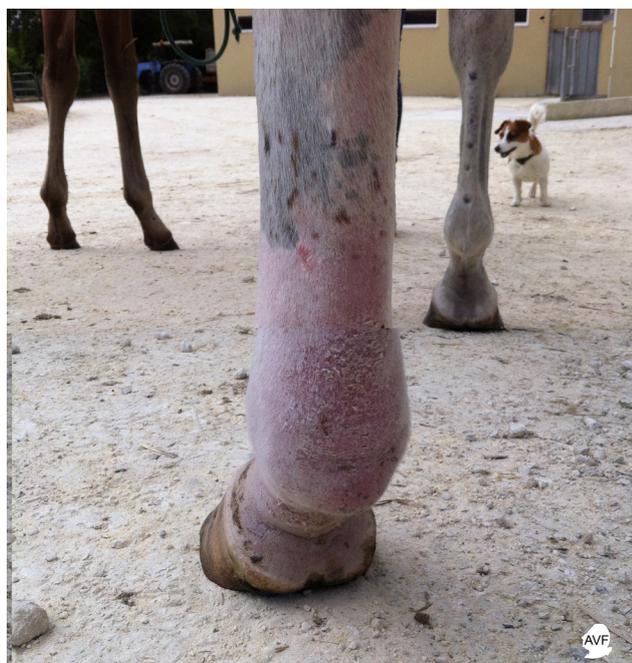
**Key words:** Lyme disease, horse, *Borrelia*.

(1) DMV, PhD ; Laboratoire VETODIAG, Analyses Vétérinaires, 6 route du Robillard, Berville, 14170 L'Oudon.  
Courriel : mctricaud@vetodiag.fr

(2) DMV, PhD, DiplECEIM. Clinique Equine de Conques. 3, Château de Conques, 33420 Saint-Aubin de Branne.  
Courriel : mdepecker@cliniquedeconques.com

## INTRODUCTION

La maladie de Lyme est une infection liée à des bactéries du genre *Borrelia*, un ensemble de bactéries spirochètes gram négative de répartition mondiale. *Borrelia burgdorferi sensu stricto* est l'agent causal initialement décrit en Amérique du Nord, mais d'autres sous-espèces telles que *Borrelia garinii* ou *afzelii* sont aussi retrouvées en Europe et en Asie (Hovius 2007). En Europe, la bactérie est transmise par les tiques du genre *Ixodes ricinus*, qui se nourrissent sur de nombreuses espèces de mammifères, d'oiseaux et de reptiles. Les réservoirs sont principalement constitués par des petits rongeurs, sur lesquels se nourrissent les larves et les nymphes. Les tiques adultes se nourrissent par morsure sur les plus grands animaux, incluant les hommes, les chevaux, les chiens ou encore les bovins. L'infection chez les chevaux se produit majoritairement par la femelle adulte au début du printemps ou à la fin de l'automne (Butler 2016). La tique doit être attachée au minimum 24h pour pouvoir entraîner une infection chez les mammifères (Thanassi 2000). Plusieurs études visant à déterminer la séoprévalence de *Borrelia burgdorferi* sur des chevaux sains ont été réalisées. Celle-ci varie selon la zone géographique concernée et la méthode sérologique utilisée, et peut être élevée dans certaines régions du monde. Elle atteint ainsi 33 à 50% dans le nord-est des USA (Funk 2016, Magnarelli 2000), 33% en Virginie (Funk 2016). En Europe, elle est de 12 à 48% en France (Maurizi 2010), 24% en Italie (Ebani 2012), 29% au Danemark (Hansen 2010), ou encore 26% en Pologne (Stefancikova 2008). L'exposition à *Borrelia burgdorferi* est donc élevée, en lien direct avec la répartition des *Ixodes* dont le territoire ne cesse d'augmenter (Divers 2018). La symptomatologie exacte lors d'affection clinique reste toutefois peu documentée.



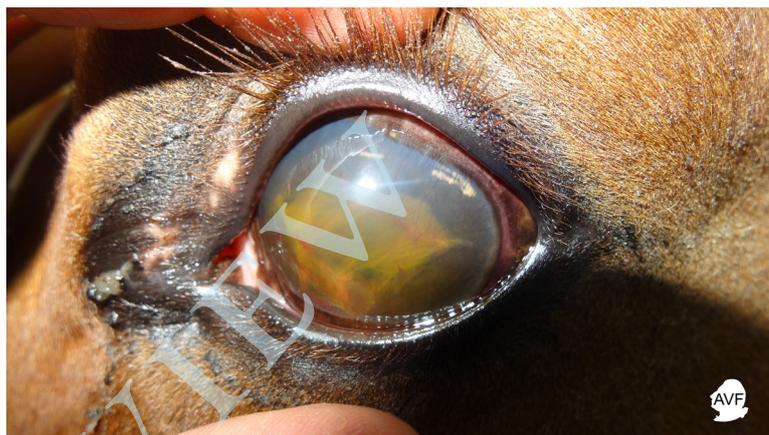
**Figure 1** : Pododermatite probablement associée à une forme cutanée de maladie de Lyme (histologie, sérologie et réponse au traitement compatibles avec une infection borrelienne) (Marianne Depecker-Didier Pin).

Le manque de données scientifiques relatives à l'interprétation des tests sérologiques, à la confirmation du diagnostic ante et post-mortem, et au traitement antibiotique en font aujourd'hui une maladie largement controversée.

## SIGNES CLINIQUES

De nombreux signes cliniques ont été attribués à la maladie de Lyme, tels qu'une fièvre légère, de l'abattement, une raideur généralisée, des boiteries intermittentes localisées sur un ou plusieurs membres, des distensions synoviales, des troubles du comportement, une fonte musculaire ou encore de l'hyperesthésie (Magnarelli 2000). Les études rétrospectives ayant mis en relation les chevaux séropositifs et la présence de ces signes cliniques n'ont pas démontré de corrélation significative (Egenvall 2001, Divers 2016). En revanche, il existe peu de doute sur le fait que la plupart des chevaux infectés ne présentent pas de manifestation clinique (Bartol 2013, Divers 2016). Expérimentalement, l'infection de poneys par *B. burgdorferi* a entraîné une réaction cutanée et musculaire au site de morsure de la tique, ou encore une atteinte des nerfs périphériques et peri-synoviaux. Aucun signe d'atteinte générale n'a été mis en évidence. Histologiquement, les lésions étaient caractérisées par des agrégats lymphohistiocytaires perivasculaires et peri-nerveux dans le derme superficiel et profond. La bactérie était retrouvée par PCR jusqu'à 9 mois après l'infection dans la peau et les fascias en périphérie du site de morsure, et dans les membranes synoviales (Chang 2000a). La prédilection anatomique aux infections persistantes dans les fascias musculaires et les membranes synoviales pourrait ainsi expliquer les raideurs, boiteries multiples, ou encore l'hyperesthésie rencontrée chez de nombreux chevaux naturellement infectés et suspects de maladie de Lyme. Ces différents symptômes nécessitent toutefois des investigations expérimentales et épidémiologiques supplémentaires afin d'en confirmer l'étiologie. Les affections correctement documentées attribuées aux infections naturelles à *B. burgdorferi* sont une uvéite, une neuroborréliose, ou une atteinte cutanée de type « pseudolymphome » (James 2010, Imai 2011, Priest 2012, Sears 2012, Divers 2016). L'érythème *migrans* caractéristique observé chez les humains lors d'infection aiguë n'est pas décrit chez les chevaux, ce qui rend le diagnostic précoce difficile. Une atteinte cutanée caractérisée par de multiples papules en regard du site de morsure de la tique a toutefois été rapportée, similaire au « lymphocytome borrelion » décrit en médecine humaine dans le stade secondaire (Sears 2012). Les formes cutanées locales sont probablement sous-diagnostiquées chez le cheval (**figure 1**). Les cas de neuroborréliose font état d'une raideur de l'encolure d'apparition aiguë ou subaiguë, d'une amyotrophie cervicale, glutéale et de la ligne du dos, d'une hyperesthésie, d'une ataxie spinale, ou de façon moins fréquente d'une atteinte nerveuse périphérique avec une diminution du tonus anal et de la queue. Une atteinte des

nerfs crâniens avec de la dysphagie a également été décrite (Johnstone 2016). Enfin, plusieurs cas d'uvéïte (**figure 2**) à *Borrelia burgdorferi* ont été rapportés, soit isolés, ou de façon plus fréquente associés à des troubles neurologiques (Hahn 1996, Imai 2011, Priest 2012, Chang 2005, Johnstone 2016). Les cas d'uvéïte et de neuroborreliose sont associés à un mauvais pronostic, lié en partie à la mise en place tardive du diagnostic et du traitement. La confirmation étiologique de ces cas a reposé sur la mise en évidence directe (PCR) ou indirecte (anticorps) du pathogène dans le vitré, la peau, ou le LCR, dans certains cas associés à la présence de lésions histo/cytologiques caractéristiques. La fièvre est absente dans la plupart des cas confirmés de maladie de Lyme, quelle que soit la symptomatologie associée (Divers 2016).



**Figure 2 :** Les uvéïtes sont une des formes reconnues de maladie de Lyme (M. Depecker).

## LE DIAGNOSTIC DE LA MALADIE DE LYME

### Examens de laboratoire

Différentes techniques de laboratoire ont été développées pour le diagnostic spécifique. Il existe des tests directs, dont le principe est de mettre en évidence la bactérie elle-même ou certains de ses composants (acides nucléiques ou protéines), et des tests indirects, basés sur la détection des anticorps anti-*Borrelia*. Ces tests sont parfois réalisés dans le cadre de bilans de fièvres isolées dits « piro-like », qui concernent également d'autres agents pathogènes, essentiellement : *Babesia caballi* et *Theileria equi*, *Anaplasma phagocytophilum*, et de façon plus anecdotique *Leptospira interrogans*. A noter qu'une co-infection des tiques par *Borrelia* et *A. phagocytophilum* est fréquente dans les zones endémiques (Egenvall 2001).

### Tests directs

La culture de la bactérie étant très difficile (non réalisée comme test diagnostic de routine), la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) est la technique directe la plus utilisée : elle permet d'amplifier spécifiquement l'ADN de la bactérie. De plus, la PCR en temps réel permet de suivre l'amplification grâce à l'émission de fluorescence et d'avoir ainsi une estimation de la charge bactérienne. La sensibilité et la spécificité de la PCR n'est actuellement pas connue et la technique peut varier d'un laboratoire à l'autre, en fonction des amorces utilisées (Divers 2006). Chez le cheval, la PCR est très rarement positive dans le sang. Par contre, elle peut être intéressante sur certains tissus, tels que le liquide ou la membrane synoviale, la peau et les nœuds lymphatiques loco-régionaux du site de morsure, les muscles, les liquides oculaires (notamment le vitré), le liquide céphalorachidien et les tissus nerveux (Chang 2000a, Divers 2006, Passamonti 2015, Priest 2012). A noter qu'un résultat positif en PCR indique la présence d'ADN bactérien mais

pas forcément la présence de bactéries vivantes. Néanmoins, en présence de signes cliniques évocateurs et après exclusion d'autres causes, une PCR positive est en faveur d'une infection (Divers 2006). Ce cas de figure reste cependant rare en pratique.

### Tests sérologiques

Les tests sérologiques, basés sur la détection des anticorps anti-*Borrelia*, sont les plus couramment réalisés. Il en existe différents types, chacun présentant des avantages et des inconvénients (**tableau 1**). Dans tous les cas, un résultat positif indique que l'animal a été exposé à la bactérie mais pas forcément qu'il souffre de la maladie de Lyme (Bartol 2013). Quelle que soit la méthode sérologique, il n'y a aujourd'hui pas de corrélation connue entre le titre en anticorps et le risque de développer la maladie. Ainsi, dans les régions endémiques, le dépistage sérologique sur des chevaux sains n'est pas recommandé (Divers 2016). D'autre part, il reste délicat d'interpréter un résultat sérologique chroniquement positif. Plusieurs explications ont été avancées : une infection chronique, une réinfection (ou nouvelle exposition), ou une réponse immunitaire persistante, même en l'absence d'infection.

Sur des chevaux présentant des signes compatibles avec la maladie de Lyme, il faut garder à l'esprit que des faux négatifs sont également possibles, et qu'un résultat négatif ne permet donc pas d'exclure l'hypothèse de maladie de Lyme : lors d'une infection récente (il faut minimum 3 semaines voire 5 à 6 semaines pour pouvoir détecter des anticorps) (Chang 2000a, Wagner 2011a), lors d'une réponse immunitaire insuffisante ou d'une réaction locale (par exemple lors de formes nerveuses ou oculaires).

### Méthodes immuno-enzymatiques ELISA

La méthode immuno-enzymatique ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) est la plus utilisée en première intention. Il s'agit d'une technique très sensible qui permet la détection et la quantification d'anticorps anti-*Borrelia* (*sensus lato*) présents

Test	Prélèvement	Anticorps ciblés	Résultat	Points positifs	Points négatifs
ELISA, IFI	Sérum, LCR, LS	Lysat cellulaire total de culture de <i>Bb</i>	Quantitatif : titre en Ac Résultat positif doit être confirmé par WB	Grand nombre d'Ac identifiés Taux croissants compatibles avec infection active	Confirmation nécessaire par WB Réaction croisée avec Ag autres Spirochètes, <i>Borrelia</i> , flagellées Pas de différenciation du statut infectieux ou vaccinal
Western Blot	Sérum, LCR, LS	Lysat cellulaire total de culture de <i>Bb</i> Ag séparés par poids moléculaire	Qualitatif Empreintes de bandes protéiques (interprétation visuelle)	Grand nombre d'Ac identifiés Différenciation statut infectieux ou vaccinal	Interprétation subjective, méthode laborieuse Non quantitatif
Multiplex	Sérum, LCR	Trois Ag recombinants : OspA, OspC, OspF	Quantitatif Ac anti-OspA : vaccination et/ou infection Ac anti-OspC : infection récente Ac anti-OspF : infection chronique	Détection de faibles niveaux d'Ac Différenciation statut infectieux ou vaccinal Quantitative Augmentation des Ac compatible avec infection active	Faux négatifs possibles (variations génétiques OspC) Non disponible en France Cinétiques d'Ac non confirmées par étude expérimentale Linéarité dilutionnelle non reportée
SNAP test C6	Sérum, plasma, sang total	Peptide synthétique C6 analogue à un Ag spécifique de <i>Bb</i> (IR6)	Qualitatif : interprétation de couleur Résultat positif indique infection (pas vaccination)	Peu onéreux, facilement réalisable en clinique Résultat rapide Bon agrément avec Multiplex OspF et WB Non affecté par vaccination	Test uniquement validé chez le chien Interprétation subjective Non quantitatif Faux positifs possibles : Résultat positif doit être confirmé par WB

**Tableau 1** : Tests sérologiques d'exposition à *Borrelia burgdorferi* chez les chevaux (D'après Divers, 2018). Ac : anticorps ; Ag : antigène ; Bb : *Borrelia burgdorferi* ; LCR : liquide céphalo-rachidien ; LS : liquide synovial.

dans le sérum du cheval (Dzierzecka 2002a). Schématiquement, des extraits d'antigènes de *Borrelia* sont fixés au fond des puits. Le sérum à tester est mis au contact des antigènes. Après lavage, la liaison antigène-anticorps est mise en évidence grâce à l'utilisation d'anticorps anti-IgG équin couplés à une enzyme. Une solution de révélation contenant le substrat pour l'enzyme est alors ajoutée : une coloration apparaît, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'anticorps.

Les avantages de la technique ELISA sont multiples : grande sensibilité, procédure automatisée, résultats quantitatifs. Par contre, il est reconnu que l'ELISA manque de spécificité : des réactions croisées sont possibles, notamment avec des anticorps dirigés contre d'autres spirochètes. Un test de confirmation est donc conseillé lors de résultat positif : le Western Blot ou immunoblot (Divers 2016). D'autre part, la détection des anticorps par l'ELISA peut être tardive : seulement 5 à 6 semaines après l'infection (Chang 2000a). Les taux d'anticorps augmentent ensuite jusque 3 à 4 mois après infection et restent détectables pendant plusieurs mois (12 voire 18 mois), même lors de la mise en place d'un traitement. En effet, alors que dans le cadre d'une infection expérimentale, les auteurs ont observé qu'un traitement antibiotique entraînait une forte chute des anticorps (Chang 2005), le déclin reste très faible lors d'une infection naturelle, semblable à celui que l'on peut observer chez des animaux non traités (Divers et al., 2006).

### Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte est une technique relativement similaire à l'ELISA, si ce n'est que la détection de la liaison antigène-anticorps est réalisée grâce à un anticorps anti-IgG équin couplé à un fluorophore. L'intensité lumineuse est proportionnelle à la quantité d'anticorps. Cette technique reste opérateur-dépendant et est encore moins spécifique que l'ELISA (risque accru de faux positifs (Dzierzecka 2002a)).

### Western-blot

Le principe du Western-blot est de soumettre un mélange protéique à une électrophorèse sur gel. On obtient ainsi des bandes de protéines séparées selon leur poids moléculaire, qui sont ensuite transférées sur une membrane. La lecture du nombre de bandes ayant réagi avec le sérum à tester ainsi que de leur intensité est réalisée manuellement ou grâce à un scanner. Ceci permet d'identifier simultanément plusieurs types d'anticorps dirigés contre les antigènes de *Borrelia* présents sur la membrane. Les blots ne donnent qu'une information qualitative (présence ou non d'anticorps anti-*Borrelia*) et sont assez lourds à mettre en œuvre. Leur interprétation peut être subjective. Néanmoins, ils sont plus spécifiques que l'ELISA, c'est pourquoi on les utilise comme test de confirmation (Dzierzecka 2002b). D'autre part, ils pourraient également permettre de préciser si l'infection est récente ou chronique. En effet, plusieurs études chez l'homme,

le chien et le cheval, ont montré que l'expression des antigènes de *Borrelia* était variable en fonction de son environnement (Wagner 2011a, 2012, 2013). Lorsque la bactérie passe de la tique à son nouvel hôte, elle exprime d'abord certaines protéines de surface, comme par exemple OspC (*Outer Surface Protein C*). Plus tard, d'autres protéines vont être exprimées, comme OspF, C6 ou p100. Ainsi, la cinétique des anticorps est également variable en fonction du type d'antigène reconnu. Par exemple, les anticorps anti-OspC seraient détectables relativement précocement (dès 3 semaines) mais ils disparaîtraient en quelques semaines (indétectables après 4 à 5 mois). Au contraire, les anticorps anti-p100, C6 ou OspF, seraient détectables plus tardivement (après 5 à 8 semaines) et persisteraient des mois voire des années (Wagner 2012).

#### Test d'orientation diagnostique SNAP test C6

Ce test réalisable au chevet du patient est commercialisé pour le diagnostic sérologique de la maladie de Lyme, chez le chien. Bien que validé uniquement chez le chien, il a été parfois utilisé chez le cheval et présenterait une bonne spécificité mais une sensibilité faible (63% lors d'une infection expérimentale de poney (Johnson 2008)). Un test de confirmation est conseillé lors de résultat positif (Bartol 2013), car des faux positifs sont néanmoins possibles (Wagner 2013).

#### Test Multiplex Assay

Ce test, développé par l'université de Cornell (2017) et commercialisé pour l'instant aux États Unis uniquement, permet de détecter simultanément des anticorps dirigés contre trois protéines de surface de *Borrelia* (OspA, OspC et OspF), grâce à des anti-anticorps équinés couplés à un conjugué fluorescent. La lecture est réalisée par un automate qui mesure l'intensité de la fluorescence pour les trois antigènes. Ce test aurait plusieurs avantages : quantitatif (avec un intervalle plus large que l'ELISA), il permettrait de détecter plus précocement une infection (dès 3 semaines), de différencier les chevaux vaccinés des chevaux naturellement infectés, et de préciser le stade de la maladie. En effet, une réaction positive pour OspA est typiquement observée chez des chevaux vaccinés, alors que les anticorps anti-OspA sont généralement non détectables lors d'une infection naturelle (ou alors à faible intensité et de façon transitoire pendant les 3 semaines suivant l'infection (Wagner 2012)). À noter que quelques chevaux non vaccinés présentent des taux élevés d'anticorps anti-OspA, sans que cette observation ne soit toujours expliquée (ceci a été rapporté dans un cas d'uvéïte à *Borrelia* (Priest 2012)). OspC serait un indicateur d'une infection récente alors qu'OspF marquerait une infection plus tardive (Wagner 2013). Sa grande précision permettrait de l'utiliser en suivi de traitement, contrairement aux autres tests sérologiques : à intervalle de 3 mois pour une infection chronique (OspC-/OspF+) ou de 6 semaines pour une infection aiguë (OspC+/OspF-). Une diminution de 50% du taux d'anticorps serait un indicateur de l'efficacité du traitement. Enfin, ce test permettrait de détecter et de quantifier des taux d'anticorps très faibles, notamment dans le liquide céphalorachidien, ce qui peut être intéressant pour le

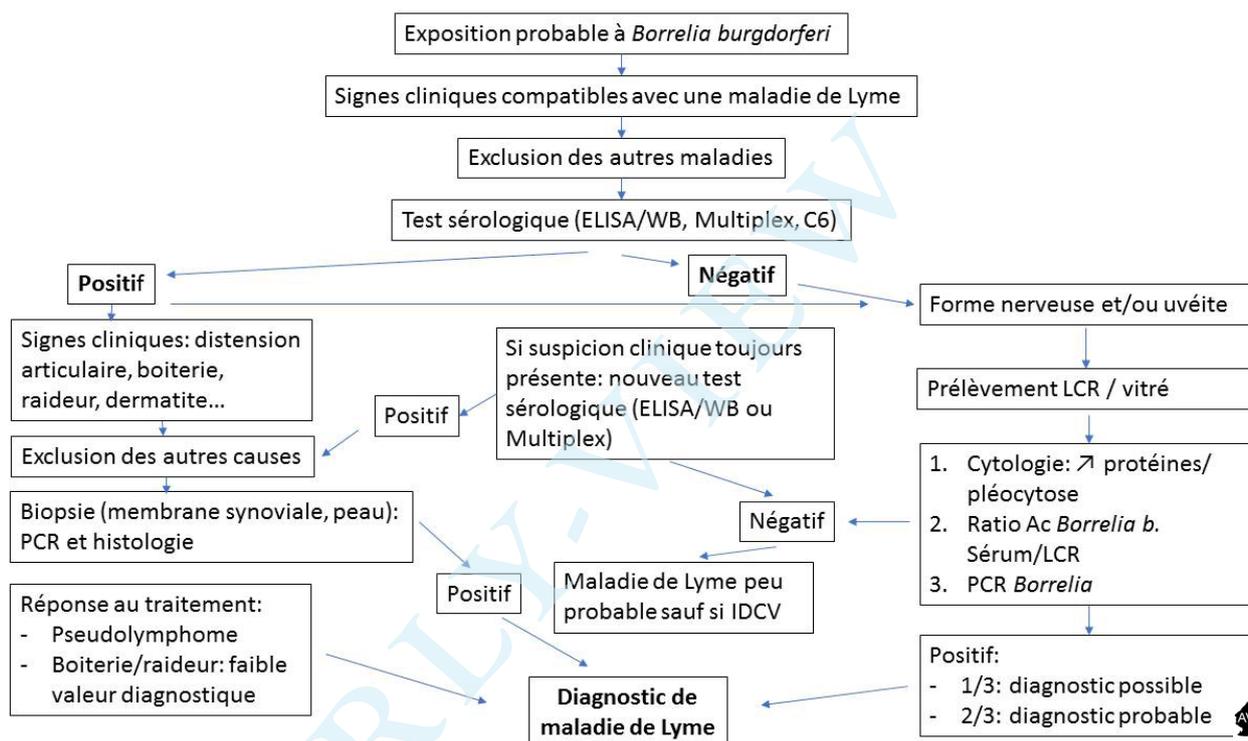
diagnostic de neuroborréliose (comparaison des taux d'anticorps dans le sérum et le LCR (Wagner 2011b)).

#### Autres examens de laboratoire

Dans certains cas précis, d'autres examens de laboratoire peuvent être réalisés en complément, notamment des analyses cytologiques et histologiques. Lors de neuroborréliose, l'analyse cytologique du LCR peut révéler une pléocytose lymphocytaire ou neutrophilique et une élévation du taux de protéines, mais ce n'est pas systématique (Johnstone 2016). La détection des antigènes dans le LCR est rare. Certains auteurs ont proposé de mesurer le ratio du taux d'anticorps dans le LCR comparé à celui dans le sang, mais le résultat n'est pas toujours fiable et il ne doit pas être considéré comme le gold standard pour le diagnostic (Divers 2016). En définitive, l'histologie reste l'examen complémentaire le plus sensible et spécifique mais il ne peut être réalisé qu'en post mortem (Imai 2011, Johnstone 2016). Les lésions sont typiques et semblables à celles observées chez l'homme : infiltrations inflammatoires mixtes, multifocales, sans atypie cellulaire, leptoméningite, radiculite, névrite, périvasculite et sclérose vasculaire. Des colorations spéciales, une immunohistochimie ou de l'hybridation *in situ* peuvent être réalisées en complément mais leur sensibilité est faible. Lors d'uvéïte, une cytologie des liquides oculaires peut s'avérer intéressante, en particulier du corps vitré. En effet, en plus des cellules inflammatoires, des bactéries spirochètes peuvent être observées. C'est ce qui a été rapporté sur deux cas d'uvéïtes, confirmés par PCR, pour lesquels les auteurs ont vu les bactéries dans le vitré et non dans l'humeur aqueuse (Priest 2012). Celles-ci étaient également visibles, mais de façon moins évidente, sur des coupes histologiques en coloration de Steiner modifiée sur un cas, mais pas sur l'autre. En complément d'un examen histologique classique, des marquages par immunohistochimie ou hybridation *in situ* sont possibles mais restent peu sensibles. À noter que des anticorps anti-*Borrelia* peuvent parfois être détectés sur les liquides oculaires, même lors de sérologie négative dans le sang.

#### En conclusion

De nombreux examens complémentaires sont réalisables lors de suspicion de maladie de Lyme chez le cheval. À l'heure actuelle, une sérologie ELISA confirmée par un Western Blot, ou un Multiplex Assay (si disponible) sont recommandés, mais il n'existe pas de gold standard et l'interprétation des résultats doit toujours être menée avec précaution. Il est désormais admis que la valeur prédictive positive des tests sérologiques est faible : un résultat sérologique positif ne permet pas de confirmer qu'un cheval présentant des signes cliniques compatibles avec une maladie de Lyme est atteint de cette maladie, ni qu'il est à risque de développer des signes cliniques dans le futur (Divers 2018). Des suivis sérologiques pendant plusieurs mois sur des chevaux a priori sains et non traités ont bien montré que les taux d'anticorps restaient stables, sans que des signes cliniques soient rapportés (Divers 2006, Funk 2016). Il n'est donc pas recommandé de réaliser des tests sérologiques sur des chevaux sains en zone endé-



**Figure 3 :** Diagramme décisionnel du diagnostic ante-mortem de maladie de Lyme chez le cheval. D'après Divers, 2018. IDCV : Immuno-déficiences Communes Variables.

mique (Divers 2018). Les examens de laboratoire ne restent qu'un maillon de la chaîne dans le diagnostic de la maladie de Lyme (figure 3).

### Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel est très large compte tenu des nombreux signes cliniques décrits, des différentes sous-espèces de *Borrelia* impliquées, et des co-infections possibles. Il inclut les affections ostéo-articulaires, la myopathie de stockage en polysaccharides (PSSM), les autres myopathies et polysynovites chroniques. La fièvre et l'œdème des membres caractéristique du « syndrome piro-like » sont plus souvent le reflet d'une coinfection par *Anaplasma phagocytophilum* (Persing 1997, Chang 2000b, Engvall 2002) ou par *Theileria equi* (Basile 2015) que l'expression d'une maladie de Lyme. Compte tenu du nombre d'affections partageant les mêmes signes cliniques, le diagnostic de la maladie de Lyme est difficile, et la probabilité qu'elle soit sur-diagnostiquée dans les zones endémiques est élevée. La priorité est donc, avant d'établir un diagnostic de maladie de Lyme, d'exclure les autres affections pouvant entraîner des signes cliniques similaires (Divers 2018).

### TRAITEMENT

Le traitement des chevaux asymptomatiques n'est actuellement pas recommandé, pour des raisons économiques (dépense non justifiée), sanitaires (utilisation inappropriée d'antibiotiques), et médicales (augmentation des risques d'effets secondaires). Le test sérologique étant associé à une valeur prédictive positive faible

quant à l'apparition des signes cliniques de maladie de Lyme, il ne peut être utilisé comme justification seule de traitement (Divers 2012, Funk 2016). Les chevaux présentant des signes cliniques compatibles avec une maladie de Lyme, pour lesquels les autres affections potentielles ont été exclues, sont les seuls candidats avec une sérologie positive (ELISA confirmée par WB ou Multiplex Assay) pour lesquels le traitement est justifié. Les recommandations de traitement ont été basées sur :

- des études de susceptibilité in vitro à *B. burgdorferi*,
- l'extrapolation des recommandations thérapeutiques en médecine humaine,
- les organes atteints,
- les données pharmacocinétiques des antibiotiques disponibles, l'innocuité et le coût chez les chevaux,
- les études expérimentales.

Il n'existe pas de consensus sur la molécule de choix. D'après l'ensemble de ces critères, les antibiotiques actuellement recommandés sont les suivants :

- oxytétracycline 6.6 mg/kg IV q24h (Dowling 2000)
- doxycycline 10 mg/kg po q12h (Bryant 2000)
- minocycline 4 mg/kg po q12h (Schnabel 2012)
- ceftiofur : 2.2 mg/kg IV/IM q12h (Chang 2005, Caol 2017)

Les tétracyclines sont les molécules les plus utilisées actuellement. Elles ont une activité anti-inflammatoire synoviale par inhibition des MMP (Matrix Metallo Proteinase), ce qui explique la réponse favorable chez un grand nombre de chevaux présentant des boi-

teries d'origine articulaire, qu'elles soient liées à une borreliose ou non. Le traitement le plus fréquemment décrit en pratique clinique est la doxycycline ou la minocycline (aux USA) par voie orale, pendant 4 semaines ou plus (Divers 2012). Il est important de préciser que ces deux molécules ont une biodisponibilité orale bien moins importante chez les chevaux que chez les humains (20-30% vs 95-100%), et donc atteignent un pic plasmatique moins élevé (< 0,75 µg/ml vs 2,3-7,5 µg/ml) (Schnabel 2012). De plus, l'activité dans le liquide synovial, l'humeur aqueuse ou le système nerveux central est réduite (fréquemment inférieure à la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) de 0,12-0,8 µg/ml pour *Borrelia burgdorferi*), surtout pour la doxycycline, ce qui limite leur efficacité dans les cas d'atteinte articulaire, d'uvéite ou de neuroborreliose. L'oxytetracycline a une meilleure biodisponibilité (Gardner *et al.*, 2000), et atteint des pics plasmatiques bien supérieurs à sa MIC90 (0.25-0.80 µg/ml pour *Borrelia burgdorferi*), mais son administration intraveineuse prolongée est associée à un risque non négligeable d'insuffisance rénale et de thrombophlébite (de Castillo 2013). En pratique équine, le traitement le plus utilisé consiste donc en l'administration d'oxytetracycline par voie intra-veineuse pendant 5 à 7 jours, suivie par un relai à la doxycycline par voie orale pendant 3 à 4 semaines. L'utilisation de formes orales moins biodisponibles que les formes parentérales, et la mise en place souvent tardive du traitement par rapport à la prise en charge plus précoce des cas en médecine humaine, pourrait expliquer l'absence de réponse au traitement dans certains cas de maladie de Lyme chez le cheval (notamment lors de formes nerveuses), et l'absence de consensus sur la durée du traitement à réaliser (Divers 2018). Bien qu'une diminution significative du taux d'anticorps suite au traitement médical indique une élimination de la bactérie de l'organisme, la sérologie quantitative ne doit en aucun cas être considérée comme un élément nécessaire et suffisant pour la mise en place et la durée du traitement chez les chevaux (Divers 2016). Les céphalosporines (appartenant à la classe des  $\beta$ -lactamines) sont des molécules couramment utilisées en médecine humaine pour le traitement de la maladie de Lyme, et de plus en plus étudiées chez les chevaux. L'utilisation de ceftiofur en IM pendant 28 jours a permis d'éliminer *Borrelia burgdorferi* chez deux poneys sur quatre infectés expérimentalement (Chang 2005). Le ceftiofur sodique en IV est associé à une CMI in vitro de 0,08 µg/

ml (Caol 2017), et un pic plasmatique supérieur à la CMI, mais la concentration dans les autres tissus est encore inconnue à ce jour. L'utilisation du ceftiofur est règlementée en France, afin de limiter l'apparition d'antibiorésistance, et il ne peut être prescrit en première intention, en l'absence de preuves définitives, que lorsque le faisceau de présomption est concordant et suffisant. Une étude portant sur l'utilisation de ceftriaxone sur des chevaux expérimentalement infectés a montré des réactions anaphylactoides (urticaire, dyspnée, tachycardie, œdème) suivies de signes de coliques dans deux cas (Basile 2015). Cette molécule n'est donc pas recommandée à l'heure actuelle.

## CONCLUSION

Aujourd'hui, la maladie de Lyme chez le cheval représente un défi diagnostique : il n'existe pratiquement pas de test biologique permettant de confirmer le statut infectieux de l'animal, la réponse au traitement ne peut être utilisée comme critère diagnostique, et les signes cliniques les plus fréquemment traités (boiteries, raideur, hyperesthésie, léthargie) n'ont jamais été reproduits expérimentalement. Ainsi, de nombreux chevaux reçoivent une antibiothérapie prolongée, sans indication évidente de l'origine de l'affection. À l'inverse, les formes localisées de maladie de Lyme (nerveuses, oculaires, cutanées) sont très probablement sous-diagnostiquées.

Il y a donc un réel besoin :

- d'études épidémiologiques supplémentaires, afin de déterminer la morbidité chez les chevaux infectés et d'identifier l'étendue des signes cliniques spécifiques
- d'un modèle expérimental avec signes cliniques pour déterminer les protocoles diagnostiques et thérapeutiques
- de tests de détection sensibles et spécifiques d'antigènes au sein des tissus pour mieux documenter la maladie
- d'investigations sur les autres organismes *Borrelia spp* présents en Europe.

Les vaccins n'étant pas disponibles en Europe, seules des mesures de contrôle des tiques permettent actuellement de prévenir efficacement l'infection des chevaux.

## BIBLIOGRAPHIE

- Bartol J. Is Lyme disease overdiagnosed in horses? *Equine Vet J* 2013; 45:529-530.
- Basile RC, Rivera GG, Del Rio LA *et al.* Anaphylactoid reaction caused by sodium ceftriaxone in two horses experimentally infected by *Borrelia burgdorferi*. *BMC Vet Res* 2015 ; 11: 197.
- Bryant JE, Brown MP, Gronwall RR, Merritt KA. Study of intragastric administration of doxycycline: pharmacokinetics including body fluid, endometrial and minimum inhibitory concentrations. *Equine Vet J* 2000;32:233-8.
- Butler AD, Sedghi T, Petrini JR, Ahmadi R. Tick-borne disease preventive practices and perceptions in an endemic area. *Ticks Tick Borne Dis* 2016; 7:331-337.
- Chang YF, Novosol V, McDonough SP, *et al.* Experimental infection of ponies with *Borrelia burgdorferi* by exposure to Ixodid ticks. *Vet Pathol* 2000a; 37: 68-76.
- Chang YF, McDonough SP, Chang CF *et al.* Human granulocytic ehrlichiosis agent infection in a pony vaccinated with a *Borrelia burgdorferi* recombinant OspA vaccine and challenged by exposure to naturally infected ticks. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2000b ; 7 : 68-71.
- Chang, Y.F., Ku, Y.W., Chang, C.F. *et al.* Antibiotic treatment of experimentally *Borrelia burgdorferi*-infected ponies. *Vet Microbiol* 2005; 107:285-294.
- Caol S, Divers T, Crisman M and Chang YF. In vitro susceptibility of *Borrelia burgdorferi* isolates to three antibiotics commonly used for treating Lyme disease. *BMC Vet Res* 2017 ; 13 : 293.
- Cornell University Animal Health Diagnostic Center. (Jan 2017). Lyme disease multiplex testing for horses. Disponible à : <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/testing/protocols/lyme-multiplex-horses> Consulté le 09.05.2019
- de Castillo JFE. Tetracyclines. In: *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*, 5th ed. Giguère S, Prescott JF, Dowling PM, editors. Hoboken: John Wiley Blackwell; 2013, p 262.
- Divers TJ. Lyme disease. In: *Equine Infectious Diseases*. Sellon DC & Long MT, editors. W.B. Philadelphia: Saunders; 2006, pp 310-312.
- Divers TJ, Grice AL, Mohammed HO *et al.* Changes in *Borrelia burgdorferi* ELISA antibody over time in both antibiotic treated and untreated horses. *Acta Vet Hung* 2012; 60:421-429
- Divers TJ. *Borrelia burgdorferi* Infection in the Horse: What Do We Actually Know? *Proceeding of the ACVIM Forum*, 2016, Denver, Colorado June 8-11.
- Divers TJ, Gardner RB, Madigan JE, Witonsky SG, Bertone JJ, Swinebroad EL *et al.* *Borrelia burgdorferi* Infection and Lyme Disease in North American Horses: A Consensus Statement. *J Vet Intern Med* 2018;32:617-632
- Dzierzecka M, Kita J. The use of chosen serological diagnostic methods in Lyme disease in horses. Part I. Indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J Vet Sci* 2002a; 2:71-77.
- Dzierzecka M, Kita J. The use of chosen serological diagnostic methods in Lyme disease in horses. Part II. Western Blot. *J Vet Sci* 2002b; 2:79-84.
- Ebani VV, Bertelloni F, Pinzauti P, *et al.* Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. *Ann Agric Environ Med* 2012;19:237-240.
- Egenvall A, Franzén P, Gunnarsson A, *et al.* Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* sensu lato and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick- exposure factors in Swedish horses. *Prev Vet Med* 2001; 49:191-208.
- Engvall EO and Egenvall A. Granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses. *Int. J. Med. Microbiol.* 2002 ; 291 : 100-103.
- Funk RA, Pleasant RS, Witonsky SG, *et al.* Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in horses presented for coggins testing in Southwest Virginia and change in positive test results approximately one year later. *J Vet Intern Med* 2016; 30:1300-1304.
- Gardner Dowling, Russell. Pharmacokinetics of a long-acting oxytetracycline polyethylene glycol formulation in horses. *J Vet Pharmacol Ther*, 2000; 23:107-110.
- Hahn CN, Mayhew IG, Whitwell KE, *et al.* A possible case of Lyme borreliosis in a horse in the UK. *Equine Vet J* 1996; 28:84-88.
- Hansen M, Christoffersen M, Thuesen LR, Petersen MR, Bojesen AM. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. *Acta Vet Scand* 2010 ; 52:3
- Hovius J, van Dam A, Fikrig E. Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis. *Trends Parasitol* 2007; 23: 434-438.
- Imai DM, Barr BC, Daft B *et al.* Lyme neuroborreliosis in two horses. *Vet Pathol* 2011; 48: 1151-1157.
- James FM, Engiles JB, Beech J. Meningitis, cranial neuritis, and radiculoneuritis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. *J Am Vet Med Ass* 2010 ; 237: 1180-1185.
- Johnson AL, Divers TJ, Chang YF. Validation of an in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay kit for diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infection in horses. *J Vet Diag Invest* 2008 ; 20 : 321-324.
- Johnstone LK, Engiles JB, Aceto H *et al.* Retrospective Evaluation of Horses Diagnosed with Neuroborreliosis on Postmortem Examination: 16 Cases (2004-2015). *J Vet Intern Med* 2016; 30 : 1305-1312.
- Magnarelli LA, Ijdo JW, van An del AE *et al.* Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. *J Am Vet Med Ass* 2000; 217: 1045-1050.
- Maurizi L, Marie JL, Aoun O, *et al.* Seroprevalence survey of equine Lyme borreliosis in France and Sub-Saharan Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010;10:535-537.
- Passamonti F, Veronesi F, Cappelli K, *et al.* Polysynovitis in a horse due to *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection-case study. *Ann Agric Environ Med* 2015; 22 : 247-250.
- Persing DH. The cold zone: a curious convergence of tick-transmitted diseases. *Clin Infect Dis* 1997 ; 25 :S35-S42.
- Priest HL, Irby NL, Schlafer DH, *et al.* Diagnosis of *Borrelia*-associated uveitis in two horses. *Vet Ophthalmol* 2012; 15:398-405.
- Schnabel LV, Papich MG, Divers TJ *et al.* Pharmacokinetics and distribution of minocycline in mature horses after oral administration of multiple doses and comparison with minimum inhibitory concentrations. *Equine Vet J*. 2012;44:453-8.
- Sears KP, Divers TJ, Neff RT *et al.* A case of *Borrelia*-associated cutaneous pseudolymphoma in a horse. *Vet Dermatol* 2012 ; 23 : 153-156.
- Stefanicková A, Adaszek L, Pet'ko B *et al.* Serological evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Ann Agric Environ Med* 2008 ; 15 : 37-43.
- Thanassi WT, Schoen RT. The Lyme disease vaccine: conception, development, and implementation. *Ann Int Med* 2000 ; 132: 661-667.
- Wagner B, Freer H, Rollins A, *et al.* Development of a multiplex assay for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in horses and its validation using Bayesian and conventional statistical methods. *Vet Immunol Immunopathol* 2011a; 144: 374-381.
- Wagner B, Glaser A, Bartol J, *et al.* A new sensitive Lyme multiplex assay to confirm neuroborreliosis in horses - a case report. *Proceeding of the AAEP's 57th Annual Convention*, Nov. 18-22, 2011b San Antonio, Texas.
- Wagner B, Freer H, Rollins A, *et al.* Antibodies to *Borrelia burgdorferi* OspA, OspC, OspF and C6 antigens as markers for early and late infection in dogs. *Clin Vacc Immunol* 2012;
- Wagner B, Goodman LB, Rollins A, Freer HS. Antibodies to OspC, OspF and C6 antigens as indicators for infection with *Borrelia burgdorferi* in horses. *Equine Vet J* 2013; 45: 533-537.