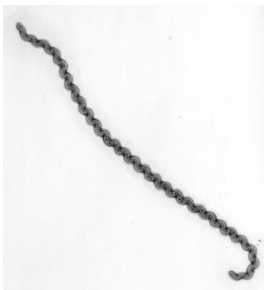


La leptospirose: les défis actuels d'une ancienne maladie

Paula Ristow
Unité de Biologie des Spirochètes, Institut Pasteur
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Académie Vétérinaire de France, 26 avril 2006



La leptospirose

Mésopotamie

« Quand la rivière porte des plantes jaunes, l'ictère apparaît au pays »

Hippocrate (Aphorismes, section IV, 400 a.C.)

« Quand l'ictère apparaît après la fièvre avant le 7ème jour c'est un mauvais symptôme... »

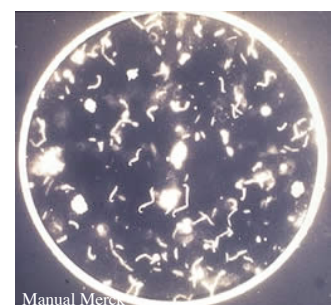
1886, Weil, Allemagne: "Concernant une maladie infectieuse caractéristique qui provoque splénomégalie, néphrite et ictère" - Maladie de Weil

Siècles XIX, XX- Chine: « *wei ni* » ictère de la culture de riz; Japon: fièvre automnal;
Europe, Australie: maladie des agriculteurs de cane, des éleveurs de porcs

1907, Stimson, USA: description des spirochètes dans le rein de patients avec « fièvre jaune ».
? *Spirochaeta interrogans*

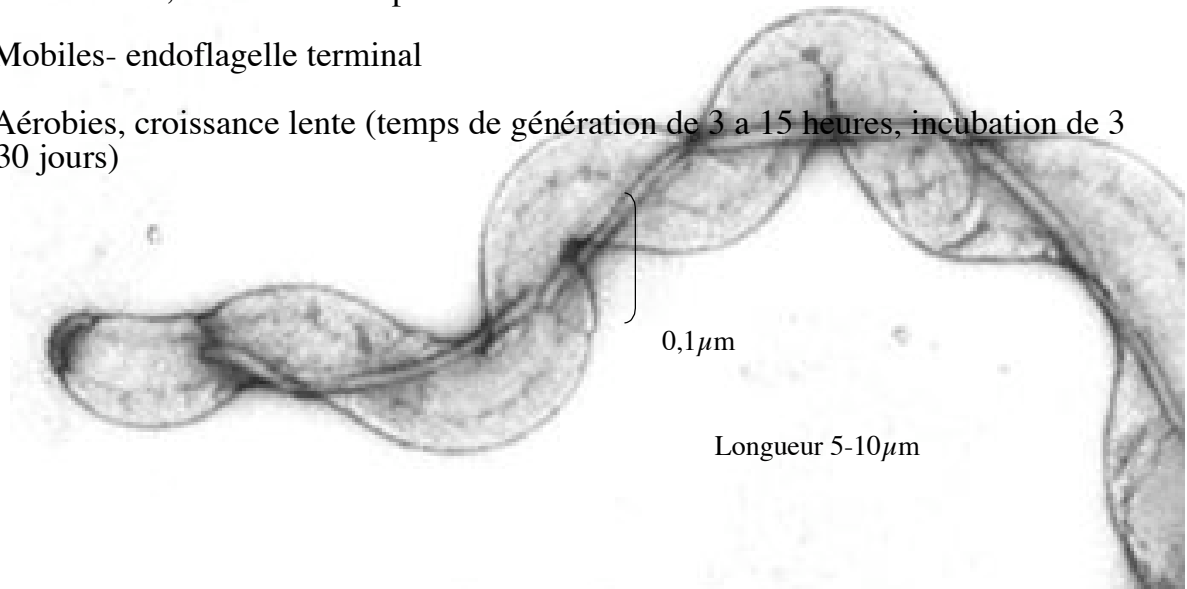
1915-17, Inada et colls., Japon: isolement, infection expérimentale chez le cobaye, rôle des rongeurs comme réservoirs
Spirochaeta icterohaemorrhagiae

1917- Martin et Petit, Institut Pasteur, France. Sérodiagnostic de la spirochètose icterohémorragique. Bull Mem Soc Med Hop Paris. 1918. ⇒
Microscopic Agglutination Test-MAT, diagnostic de référence jusqu'à aujourd'hui



Les leptospires

- Bactéries
- Ordre Spirochaetales (Grec *speira*- boucle, spire)
- Genre ***Leptospira*** (Grec *leptós*- fine, petite, délicate)
- Hélicoïdales, extrémités en spirale ou crochet
- Mobiles- endoflagelle terminal
- Aérobie, croissance lente (temps de génération de 3 à 15 heures, incubation de 3 à 30 jours)



Les leptospires

1. Classification clinique

Pathogènes *Leptospira interrogans* Sensu Lato
Saprophytes *Leptospira biflexa* Sensu Lato

2. Classification sérologique (LPS)

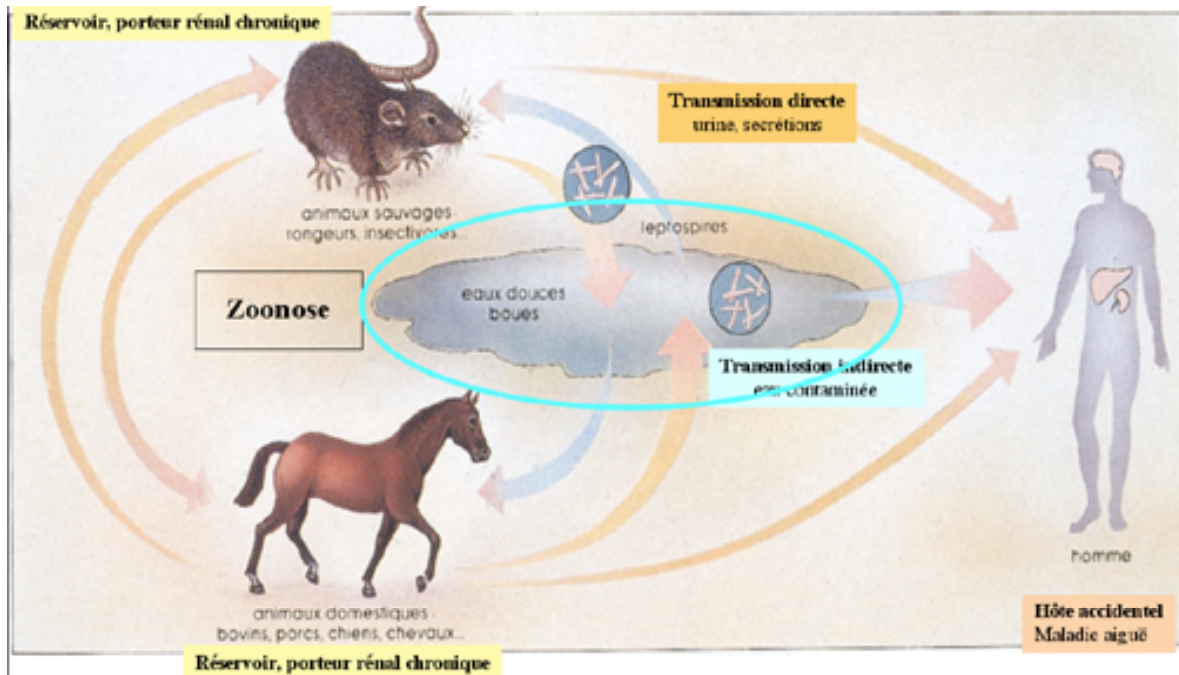
Plus de 250 sérovars groupés dans 25 sérogroupes

3. Classification en espèces génomiques: 17

Pathogènes: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*...
Intermédiaires
Saprophytes: *L. biflexa*



La leptospirose



Les leptospiroses animales: persistance



Porteur rénal

- *Rattus norvegicus* (Icterohaemorrhagiae): 36% (Lilenbaum et al., 1993)
- **Ragondins:** 49% de séroprévalence (Andre-Fontaine et al., 2002)
- **Bovins (Hardjo):** 57/ 200 reins + (Eis et al., 1981)



Lilenbaum, W. UFF, Brésil





PORTAGE RENAL

EXCRÉTION

Les leptospiroses animales

Ruminants (Hardjo), porcins (Pomona), chevaux (Brastislava): maladies chroniques reproductives

Chevaux: uvéite récurrente (Bratislava)



Chien: néphrite aiguë ou *Stuttgart disease* (Canicola) et hépatonéphrite suraiguë et aiguë (Icterohaemorrhagiae)



Leptospirose aiguë par Hardjo

Photos de Geneviève André-Fontaine,
École Nationale Vétérinaire de Nantes

Les leptospiroses animales

Résultats de prévalence des animaux suspects cliniques

Sérologie en France, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 2006.

	BOVINS* (BOV)	PORCS* (PC)	CHEVAUX (CV)	CHIENS** (CN)
Dilution seuil :	100	100	200	40
Nombre total d'animaux testés	1842*	2632	1883	707**
Nombre d'animaux positifs	241 (13,1%)	524 (19,9%)	670 (35,6%)	469 (66,3%)
Pourcentage				

Sérologie à Rio de Janeiro, Brésil.

Espèce	Séroprévalence	Référence
Chiens	66,2%	Lilenbaum et al., 2002
Bovins	46,9%	Lilenbaum et Souza, 2003
Porcs	66,1%	Ramos, Souza et Lilenbaum, 2006
Chèvres	11,1%	Lilenbaum et al., 2007

La leptospirose bovine

Résultats sérologiques obtenus chez les bovins (241 positifs sur 1.842) diagnostiqués en 2006 à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

Sérogroupe (sérovars)	Total des réponses positives par sérogroupe*	% d'animaux positifs à un sérogroupe donné rapporté au nombre de bovins positifs (241)	Nombre d'animaux positifs dans chaque sérogroupe aux titres de :
Icterohaemorrhagiae	111	46,1	[100-800[106 ≥800 5
Grippotyphosa	33	13,7	[100-800[31 ≥800 2
Sejroë Hardjo & Saxkoebing	41	17,1	[100-800[36 ≥800 5
Australis	74	30,7	[100-800[67 ≥800 7
Autumnalis	27	11,2	[100-800[26 ≥800 1

France: bovins ne sont pas vaccinés

Séroprévalence de la leptospirose bovine au Brésil.

Localité	Séroprévalence	Sérovar Prédominant	Référence
Parana	13,25%	Icterohaemorrhagiae	Robrigues et al., 1999
Sao Paulo	22,5%	Hardjo	Langoni et al., 1999
Goiania	81,9%	Hardjo	Juliano et al., 2000
Pernambuco	47,6%	Wolffi	Oliveira et al., 2001
Rio de Janeiro	46,9%	Hardjo	Lilenbaum et Souza, 2003

PERTES ÉCONOMIQUES! Avortements, mort-nés, infertilité, ↓ production (*leptospiral milk drop*)

La leptospirose canine

Résultats sérologiques obtenus chez les chiens diagnostiqués en 2006
à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

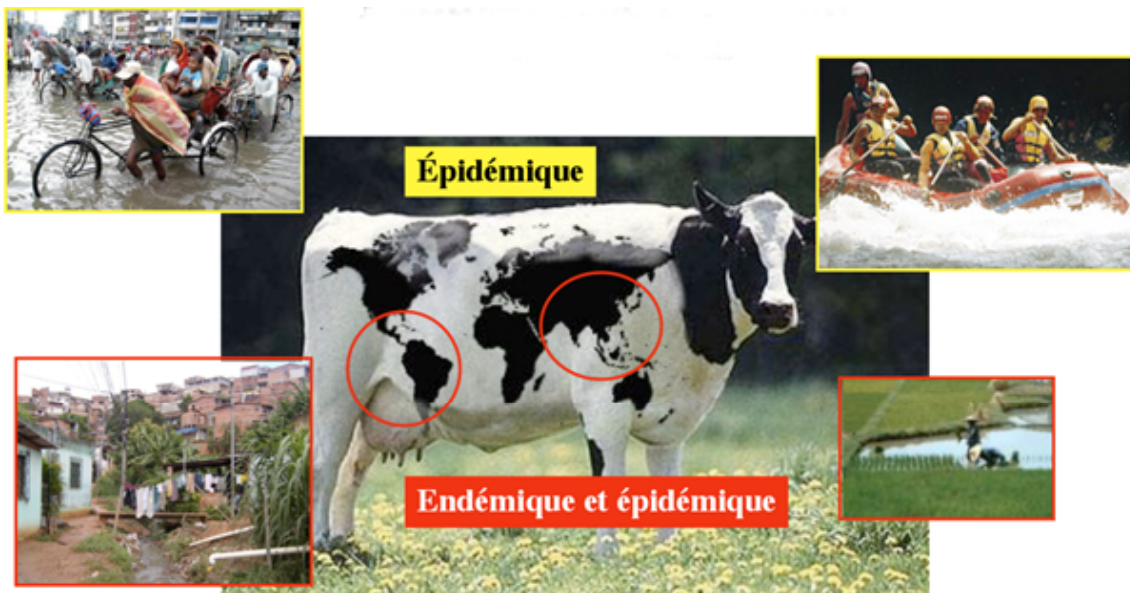
Sérogroupe	Total des réponses positives par sérogroupe	% d'animaux positifs à un sérogroupe donné rapporté au nombre de chiens positifs (469)	Nombre de réactions positives pour chaque sérogroupe aux titres de :	
Icterohaemorrhagiae	366	78,1	[40-320[>=320	279 87
Canicola	304	64,8	[40-320[>=320	234 70
Grippotyphosa	47	10,1	[40-320[>=320	39 8
Sejroë	81	17,3	[40-320[>=320	79 2
Australis	126	26,9	[40-320[>=320	70 56
Autumnalis	276	16,2	[40-320[>=320	264 12

Chronic hepatitis associated with leptospiral infection in vaccinated beagles.
Adamus et al., 1997. J Comp Pathol.

Le vaccin (Icterohaemorrhagiae + Canicola) est routine, mas n'empêche pas l'infection

Leptospirose Humaine

Water-born zoonosis

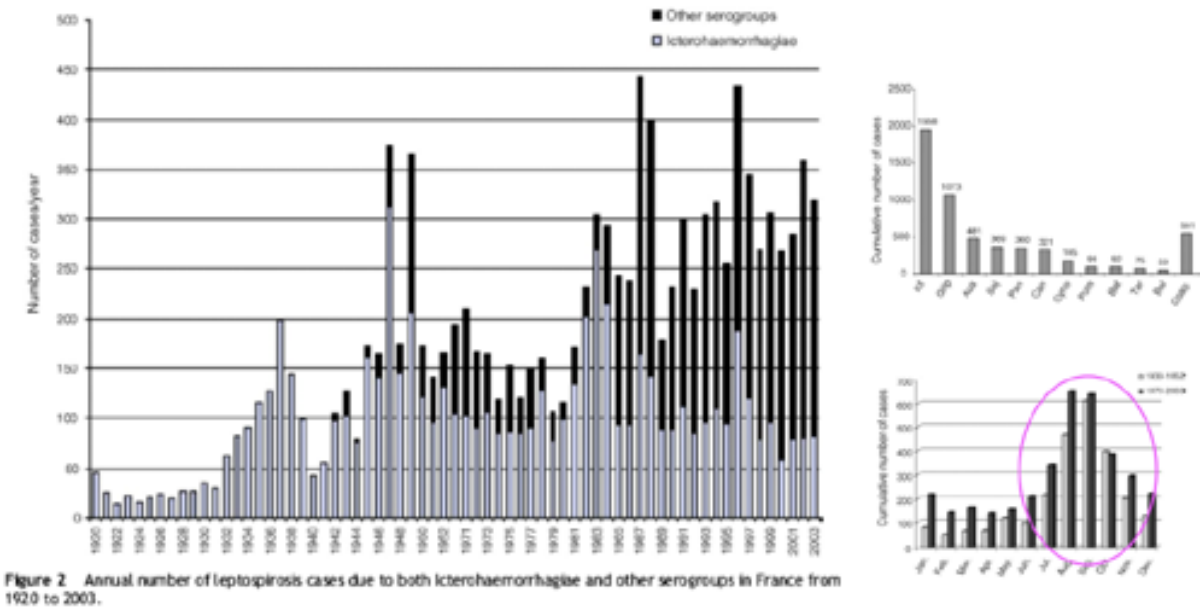


Distribution cosmopolite, plus de 500.000 cas/ an au monde
OMS: Climat tropique humide 10 ou plus cas pour 100.000 habitants/ an
Flambées épidémiques 100/ 100.000 habitants/ an
Taux mortalité de 5 a 25%

Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003

CNR des Leptospires,
Institut Pasteur

Guy Baranton, Danièle Postic* International Journal of Infectious Diseases (2006) 10, 162–170



2006: 192 cas (Rapport Annuel d’Activité du CNR de Leptospirose, 2006)

Leptospirose humaine

Problème de Santé Publique Global

- ➡ **Nicaragua, 1995**
2.259 patients, 15 décès, Fièvre hémorragique, hémorragie pulmonaire. Sérovars Canicola, Icterohaemorrhagiae, Ballum...
- ➡ **Triathlon Lake Springfield, Illinois, USA, 1998**
98/ 834 malades, sérovars Grippothyphosa et autres
- ➡ **Eco-challenge Borneo, Malaisie, 2000**
80/189 malades, sérogruppe Australis
- ➡ **Orissa, Inde, 2002**
143 malades, 11 décès. Fièvre, ictère, insuffisance respiratoire. Sérovars Canicola, Pomona, Hebdomadis



THE ASSOCIATED PRESS
Participants in the Iron Horse Triathlon begin the swimming portion of the event in Lake Springfield in this June 21 photo.

Symptom	% (n=189)
Chills	50
Muscle aches	50
Fever	49
Headache	47
Diarrhea	33
Joint aches	30
Calf/leg pain	30
Red eyes	22

Sejvar et al., 2003. Emerg. Inf. Dis.

Prophylaxie

- ➔ Diagnostic: MAT - microagglutination avec bactéries vivantes (problèmes...)
 - ➔ Culture en milieu riche, PCR du sang
- ➔ Traitement: prophylactique ou curatif (pénicilline, doxycycline...)
- ➔ Vaccination: bactérie entière inactivé- souche spécifique

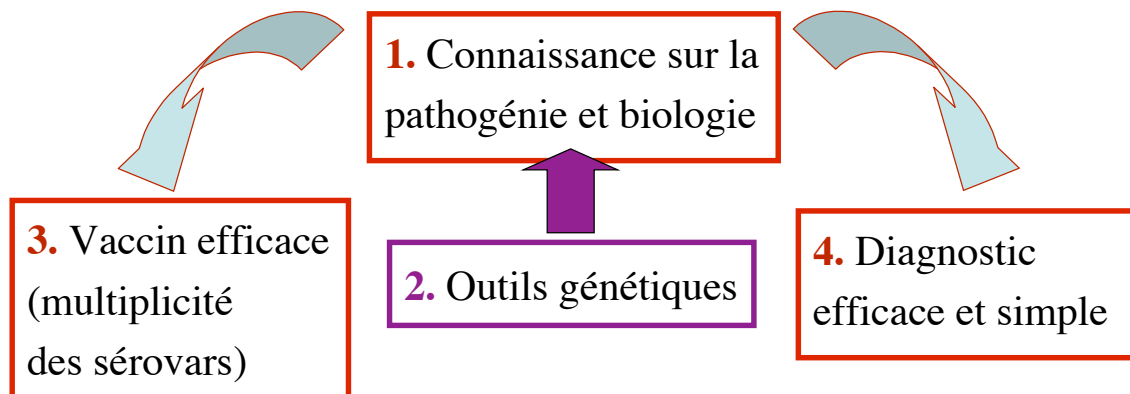
Animaux	Humains
Optionnel Monovalents ou Polyvalents	Restreint aux activités de risque France (monovalent) Cuba, Chine, Japon (polyvalent)

- Réponse immune de courte durée
- Réponse immune pas toujours protectrice
- Spécificité de souche

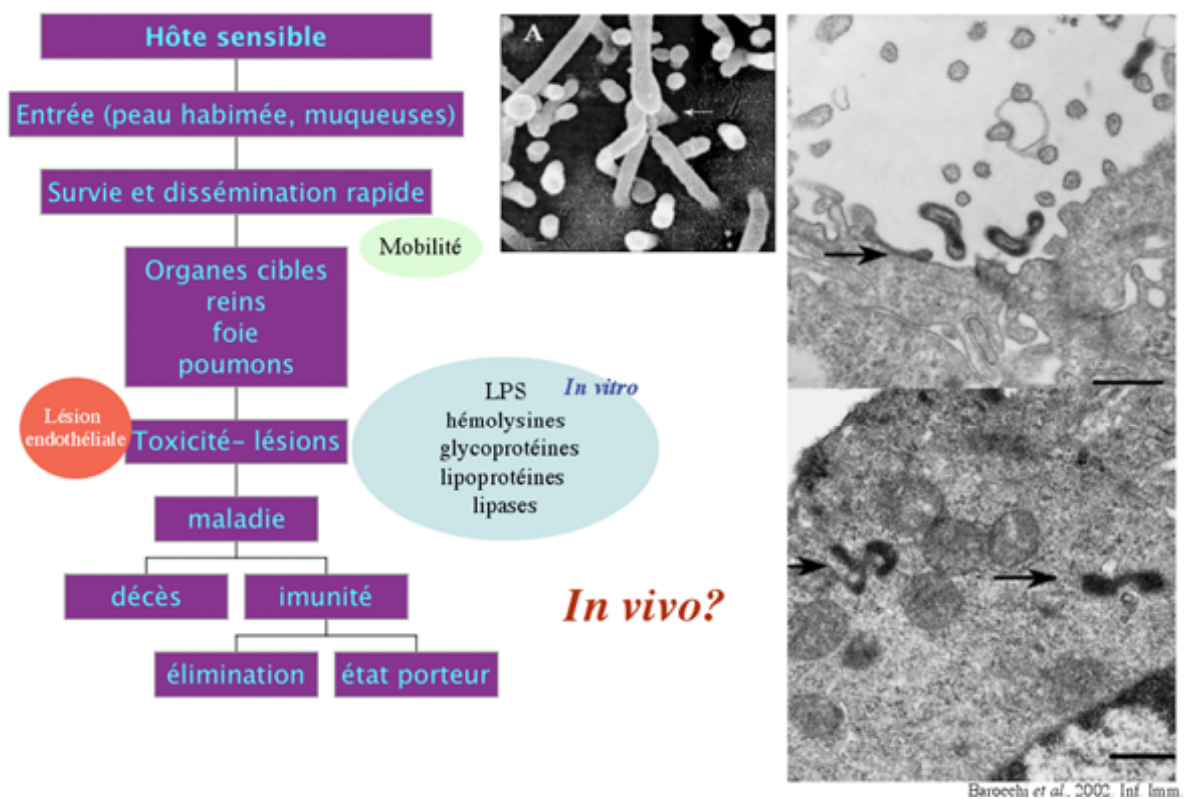
- Antigènes conservés
- Protection de longue durée
- Contre un large spectre des leptospires



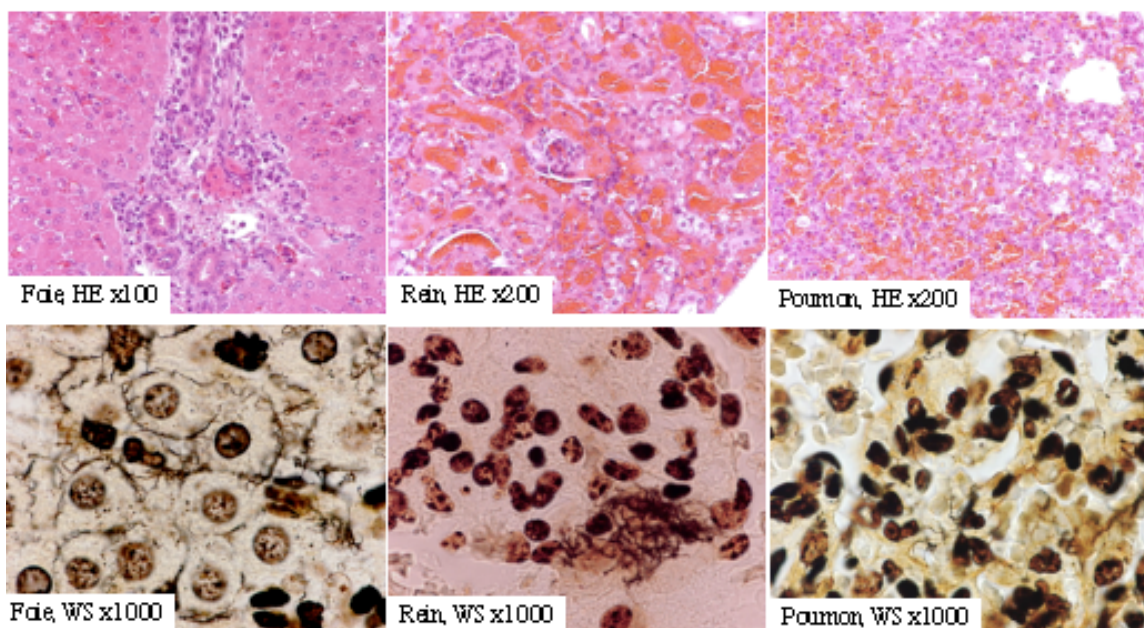
LEPTOSPIROSE: QUELS SONT LES DÉFIS ACTUELS?



1. Connaissance sur la pathogénie et biologie- État de lieu de la pathogénie



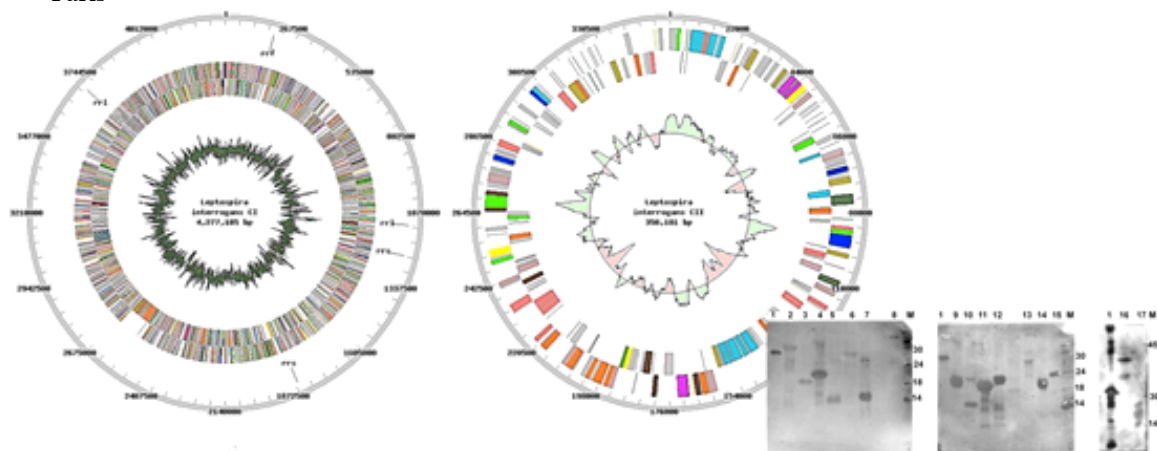
1. Connaissance sur la pathogénie et biologie- État de lieu de la pathogénie Modèle Animal Cobaye



Récentes avancées de la recherche

2. Outils génétiques- Séquençage des génomes

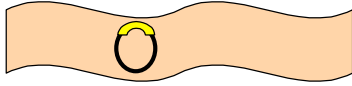
- *L. interrogans* *Icterohaemorrhagiae* serovars Lai (Ren et al., 2003) et Copenhageni (Nascimento et al., 2004)
- *L. borgpetersenii* serovar *Hardjo* (Bulach et al., 2006): génome réduit, évolution pour un pathogène obligatoire?
- *L. biflexa*: Unité Postulante de Biologie des Spirochètes et Plate-forme Génomique Institut Pasteur, Paris



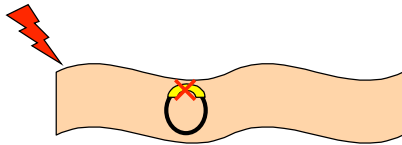
Génomique comparative:

- Protéines comme potentiels candidats vaccins (Gamberini et al., 2005)
- Transport et régulation du Fer (Louvel et al., 2006)
- « Lai genomic island I ». Plasmide 54Kb, développement des outils génétiques (Bourhy et al., 2006)

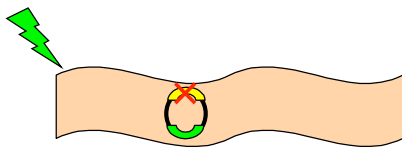
2. Outils génétiques- Développement des outils pour *Leptospira* Mutagenèse ciblée et mutagenèse aléatoire



Bactérie sauvage

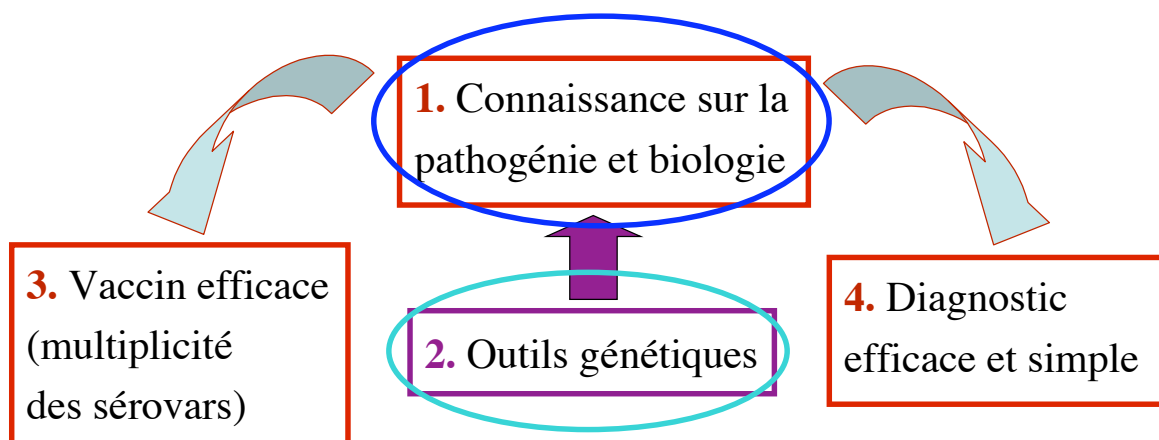


Inactivation $\Rightarrow$ Phénotype? **Virulence?**



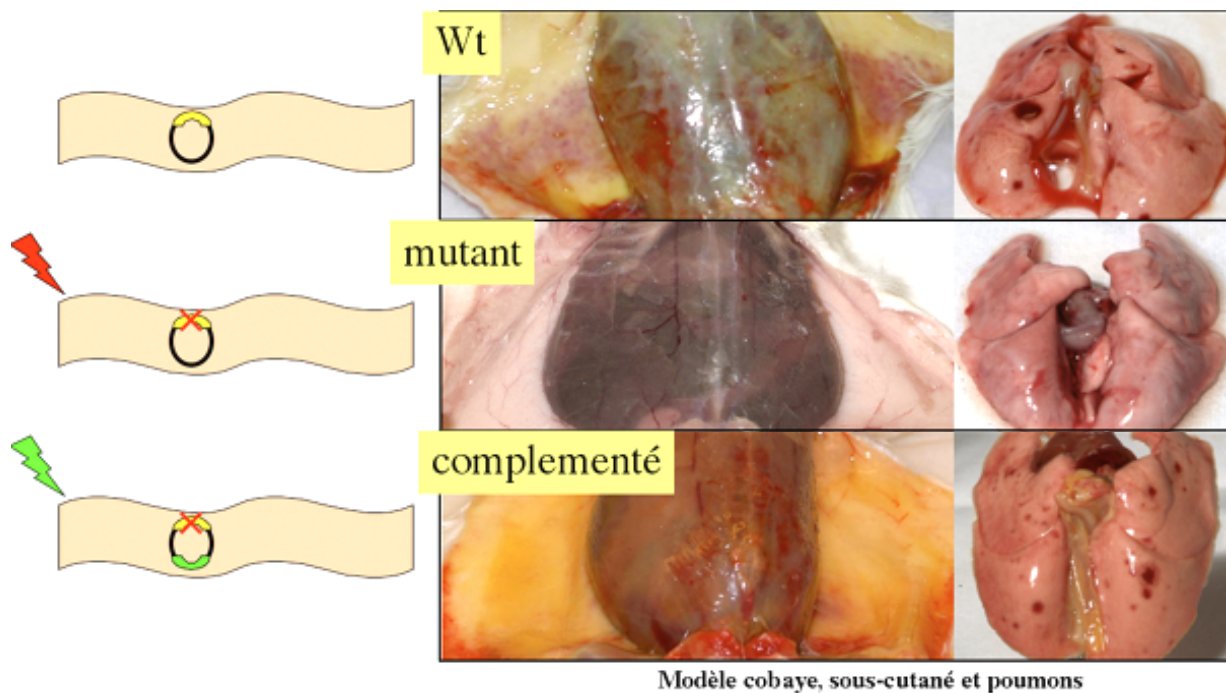
Complémentation $\Rightarrow$ Phénotype restauré

**Identification de facteurs de virulence, candidats vaccins,
molécules d'intérêt diagnostic**



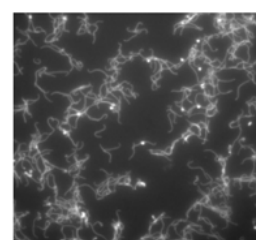
Identification d'une protéine OmpA dans *L. interrogans*

Le premier facteur de virulence des leptospires

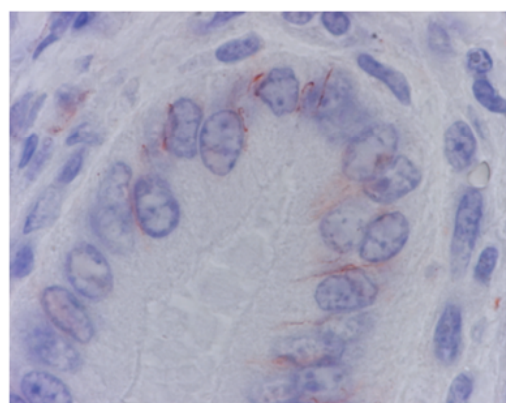


La protéine OmpA de *L. interrogans*

- Lipoprotéine, exprimée dans la membrane externe
- Exprimée *in vivo* dans les organes des cobayes
- Reconnue par le sérum humain (maladie aigue et chronique)
- Possible candidat vaccin multivalent et nouvelles approches diagnostics
- Protéines OmpA chez d'autres bactéries sont impliquées dans des processus pathologiques: invasion, adhésion, formation de biofilm
- Études de sa fonction et possibles applications
- Études de la structure



Immunofluorescence



Ducts biliaires, foie, cobayes. Immunohistochimie x1000

Récentes avancées de la recherche

- Autres thématiques du Laboratoire:
 - Formation de biofilm chez *Leptospira*
Paula Ristow et Mathieu Picardeau
 - Banque de mutants chez les leptospires pathogènes
Pascale Bourhy, Viviane Morel, Claudia Bourguignon et Mathieu Picardeau
 - Nouveaux outils génétiques
Claudia Bourguignon et Mathieu Picardeau
 - Systèmes d'acquisition de métaux
Hélène Louvel et Mathieu Picardeau
 - Nouveau modèle animal- souris *knockout* TLR 2 et 4
Catherine Werts, Pascale Bourhy et Mathieu Picardeau



INSTITUT PASTEUR

Groupe de Recherche des Leptospires

Unité Postulante de Biologie des Spirochètes, Institut Pasteur, Paris



Viviane Morel

Hélène Louvel

Claudia Bourguignon

- Centre National de Référence (CNR) des Leptospires- Centre Collaborateur de l'OMS, Institut Pasteur, Paris
- Leila de Souza Fonseca et Walter Lilenbaum, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brésil
- Albert Ko, Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, FIOCRUZ, Salvador, Brésil

Capes, Brésil; Grant Institut Pasteur, France- FIOCRUZ, Brésil; Grant Pasteur-Weizmann



Rio de Janeiro, 2004.

Rôle fondamental du vétérinaire dans la recherche, épidémiologie et contrôle des zoonoses.