



POINT SUR LA VACCINATION CONTRE LA LEPTOSPIROSE CANINE EN FRANCE

Stéphane BERTAGNOLI et Séverine BOULLIER

La leptospirose est une maladie consécutive à une infection par des bactéries du genre *Leptospira* (ordre des spirochètes). Ce sont des bactéries mobiles, gram négatives.

Les leptospires constituent une famille bactérienne très variée, d'un point de vue antigénique mais aussi au niveau de leur physiologie et de leur degré de virulence.

LES LEPTOSPIRES, DES BACTÉRIES TRÈS DIVERSES ET POLYMORPHES

CLASSIFICATION SÉROLOGIQUE

La classification des leptospires est complexe. Historiquement, elle est fondée sur la réponse humorale induite chez un individu infecté. Il s'agit d'une **classification sérologique**, dépendante des antigènes exprimés par les bactéries.

Selon cette classification, toutes les souches virulentes font partie de l'espèce *interrogans*, alors que les leptospires non pathogènes, saprophytes, appartiennent à l'espèce *biflexa*.

Au sein de chaque espèce de leptospire (*Leptospira interrogans* et *L. biflexa*), les bactéries sont classées en sérogroupes. Les sérogroupes sont définis par la nature des LPS (lipopolysaccharides) de surface exprimés et donc par les AC spécifiques produits. Il existe une vingtaine de sérogroupes différents au sein de l'espèce *Leptospira interrogans*. Chaque séro groupe est composé de sérovars. Ces sérovars sont définis par l'expression de structures carbohydrates particulières sur les LPS (Bharti *et al*, 2003) (cf. **fig. 1**). Il existe plus de 250 sérovars. Enfin, chaque sérovar comporte plusieurs souches.

Cette classification sérologique (associée à la réponse humorale induite) a un rôle majeur dans la compréhension de l'efficacité des vaccins et l'interprétation des résultats des tests diagnostiques.

CLASSIFICATION MOLÉCULAIRE

Depuis peu, avec l'utilisation des outils génomiques, une nouvelle classification moléculaire des leptospires est également utilisée. Cette classification n'est pas exactement similaire à la classification

sérologique, ce qui engendre parfois des difficultés de compréhension supplémentaires. Ainsi, avec la classification moléculaire, le séro groupe Grippotyphosa, anciennement classé dans l'espèce *interrogans*, appartient maintenant à l'espèce *kirschneri*.

Les leptospires pathogènes sont des bactéries extracellulaires qui ont évolué à partir des leptospires saprophytes en acquérant des gènes impliqués dans le pouvoir infectieux (adhésion et dissémination) et des gènes de virulence, dont des facteurs d'échappement à la réponse immunitaire (Picardeau M. 2017). Ces gènes, très nombreux, présentent une variabilité importante d'un sérovar à un autre et ils ont souvent des activités biologiques redondantes. L'importance relative de la réponse immunitaire contre ces facteurs est actuellement mal connue.

L'expression différente de ces gènes explique la répartition des sérovars dans des hôtes réservoirs précis. Ces réservoirs s'infectent, hébergent et excrètent les bactéries de façon chronique mais ne présentent pas de signes cliniques.

La répartition des sérovars dépend donc de la présence du réservoir dans l'environnement. La liste des principaux réservoirs pour les sérovars pathogènes chez le chien est présentée dans le **tableau 1**, page suivante.

NIVEAU DE PATHOGÉNICITÉ DIFFÉRENT

La très grande diversité des leptospires explique aussi des niveaux de pathogénicité différents en fonction des sérovars pour un hôte donné. Un sérovar n'aura pas forcément la même virulence chez deux espèces hôtes différentes.

Le principe de la détermination de l'expression des LPS, en plus d'être la base de la classification sérologique, est également utilisé pour le diagnostic et la détermination des souches infectantes.

Le test sérologique de référence est le MAT (pour micro-agglutination test). Ce test permet de déterminer un taux d'AC agglutinant

Figure 1 : Représentation schématique de la paroi des Leptospires et reconnaissance des LPS par les AC

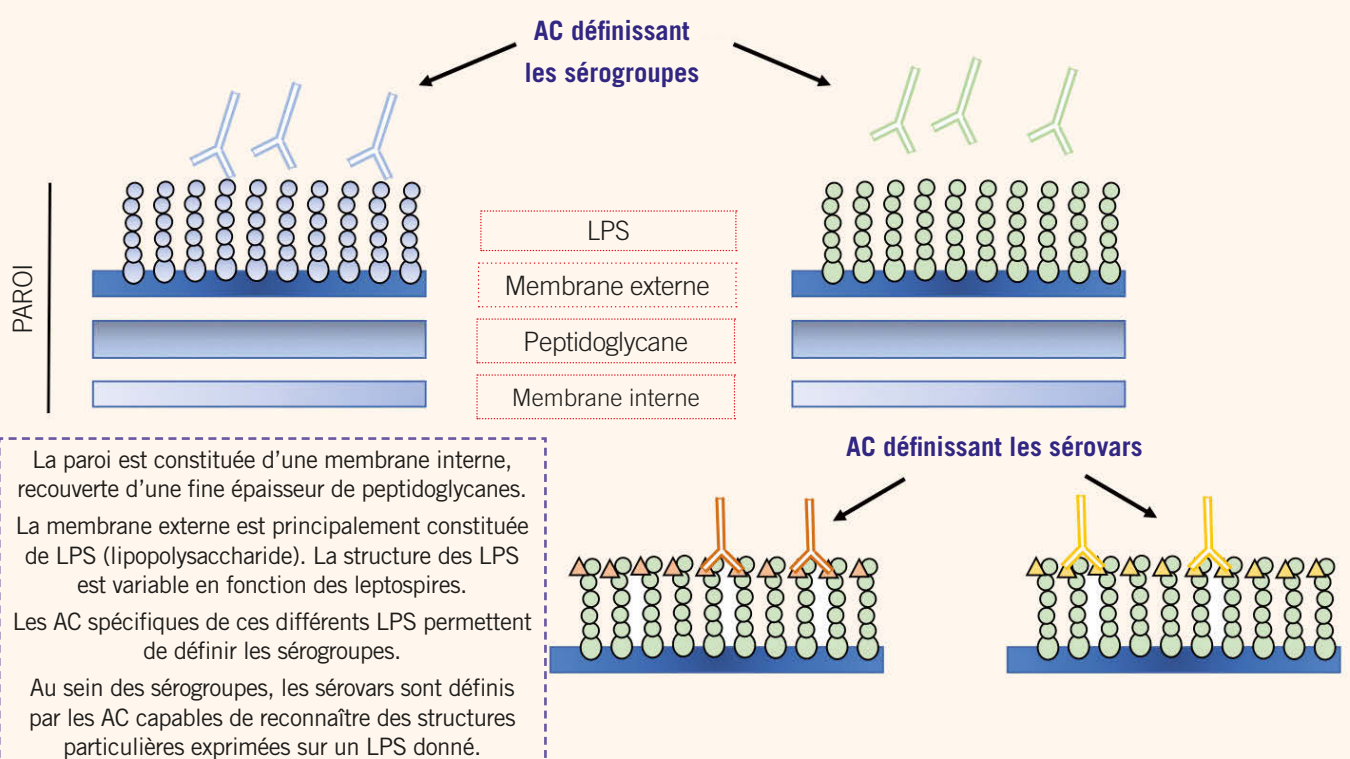




TABLEAU 1 : Répartition des principaux sérogroupes selon les espèces réservoirs (d'après Aviat F. 2009, Ayrat F et al, 2014, Ayrat T et al, 2016)

SÉROGROUPES SELON LES ESPÈCES RÉSERVOIRS	
RÉSERVOIR HÔTE	SÉROGROUPES
Chien	Canicola
Rat	Icterohaemorrhagiae
Bovins	Australis, Serjoe, grippothyphosa
Chevaux	Pomona
Ovins	Hardjo
Hérissons	Australis
Rats musqués	Icterohaemorrhagiae, Serjoe

Références :

Aviat F, B. Blanchard, V. Michel, B. Blanchet, C. Branger, J. Hars, F. Mansotte, L. Brasme, C. De Champs, P. Bolut, P. Mondot, J. Faliu, S. Rochereau, A. Kodjo, G. André-Fontaine. *Leptospira* exposure in the human environment in France: A survey in feral rodents and in fresh water. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 32 (2009) 463–476

Ayrat F, Bicout D J, Pereira H, Artois M and Kodjo A. Short Report: Distribution of *Leptospira* Serogroups in Cattle Herds and Dogs in France. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 91(4), 2014, pp. 756–759

Ayrat F, Djelouadji Z, Raton V, Zilber AL, Gasqui P, Faure E, Baurier F, Vourc'h G, Kodjo A, Combes B. Hedgehogs and Mustelid Species: Major Carriers of Pathogenic *Leptospira*, a Survey in 28 Animal Species in France (2012/2015). *PLOS ONE*. DOI:10.1371/journal.pone.0162549 Sept 28, 2016.

Il est donc nécessaire de réaliser deux injections en primo-vaccination, à trois-quatre semaines d'intervalle, quel que soit l'âge de l'animal (à partir du moment où son système immunitaire est suffisamment mature pour répondre). La durée d'immunité induite est courte et il faut donc réaliser des rappels vaccinaux tous les ans (Schuller S 2015) (cf. fig. 2).

EFFICACITÉ ET SPÉCIFICITÉ

Les antigènes immunodominants présents dans les vaccins (les plus reconnus par le système immunitaire) sont les composants de la paroi bactérienne, et en particulier les LPS (cf. fig. 1). La réponse induite est une réponse humorale polyclonale mais le support de la réponse protectrice est encore mal connu.

Des études chez la souris ont montré que la production d'IgM spécifiques du LPS permet l'élimination rapide des bactéries présentes dans le sang (Chassin C 2009). Cependant, il n'existe pas de lien entre le taux d'AC vaccinaux et le niveau de protection (Wilson et al 2013, André-Fontaine G 2003).

Les LPS, qui définissent les sérogroupes, n'induisent pas de reconnaissance croisée entre les différents sérogroupes. Par ailleurs, plusieurs études suggèrent que l'abondance du LPS à la surface des bactéries, et donc dans les vaccins, masque les autres Ags au système immunitaire (Srikram A 2011). Il n'y a pas de données qui montrent que les vaccins induisent une réponse immunitaire forte contre des facteurs de virulence ou des protéines conservées entre les différents sérovars.

Ainsi, un chien vacciné contre un sérovar sera uniquement protégé contre les sérovars appartenant au même séro groupe.

- Les vaccins disponibles actuellement en Europe sont les suivants :
- vaccins bivalents (L2) : sérogroupes *Canicola* et *Icterohaemorrhagiae*,
 - vaccins trivalents (L3) : sérogroupes *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae* et *Grippytyphosa*,
 - vaccins quadrivalents (L4) : sérogroupes *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Grippytyphosa* et *Australis*.

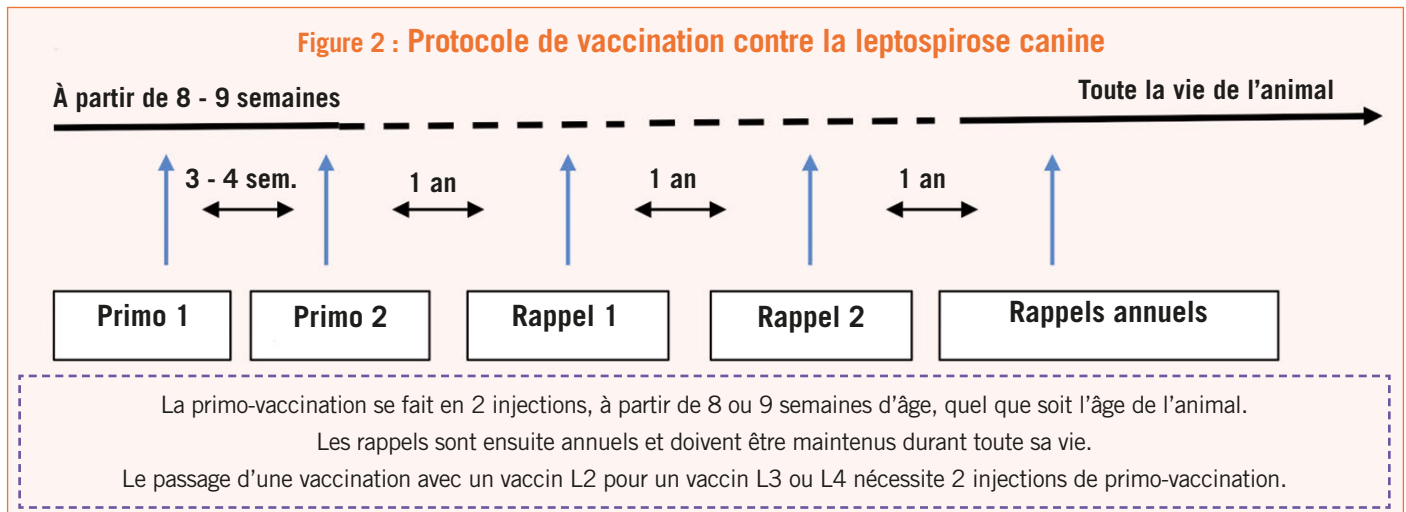
De nombreuses études d'efficacité des vaccins ont été réalisées. Elles montrent toutes que les animaux correctement vaccinés contre un sérovar donné (en respectant le protocole recommandé) sont généralement protégés contre les signes cliniques induits par ce sérovar. En revanche, la protection contre l'infection et l'excrétion urinaire n'est pas systématique. Dans certains cas, les chiens peuvent présenter une bactériémie ou excréter des bactéries dans leurs urines (Minke JM 2009, Klaasen HLBM 2014, Wilson S 2013, André-Fontaine G 2011).

spécifiques d'un sérovar donné. En théorie, une augmentation significative du taux d'AC, ou un taux élevé, contre un sérovar donné signifie que le chien est infecté par ce sérovar. Il faut cependant rester prudent sur l'utilisation de ce test pour déterminer avec certitude le sérovar infectant. En effet, la spécificité du MAT n'est pas bonne et il existe des risques importants de réactions croisées (voir le chapitre suivant).

POINT SUR LES VACCINS EXISTANTS

Tous les vaccins disponibles ont une composition et un mode d'action similaires. Ce sont des vaccins préparés à partir des bactéries entières inactivées, les bactérines. Pour améliorer l'immunogénicité des vaccins, certains sont adjuvés. De façon générale, les vaccins inactivés sont peu immunogènes.

Figure 2 : Protocole de vaccination contre la leptospirose canine



SUIVI DE PHARMACOVIGILANCE

Comme pour tous les médicaments vétérinaires, les vaccins contre la leptospirose font l'objet d'un suivi de pharmacovigilance post-AMM. Ce suivi inclut les déclarations d'effets indésirables graves et également les déclarations de défaut d'efficacité.

Les vaccins bivalents sont commercialisés depuis de nombreuses années et il existe donc de nombreuses données de pharmacovigilance.

Ce sont des vaccins globalement bien tolérés. Une étude anglaise (Robbins H 2017) réalisée à partir des données de l'unité de pharmacovigilance du Royaume uni a montré que le taux d'effets indésirables est de 0,015 % pour les vaccins bivalents.

Il existe, en particulier sur certains forums de vaccination, une certaine inquiétude sur l'innocuité des vaccins multivalents (L3 et L4). Ce sont des vaccins dont la commercialisation est relativement récente en Europe et il existe pour l'instant peu de données publiées de pharmacovigilance. La seule étude disponible est l'étude anglaise citée précédemment (Robbins H 2017). Elle indique que le taux de déclaration d'effets indésirables pour les vaccins L4 est de 0,069 %, soit un taux de déclaration quatre fois supérieur à celui des vaccins L2 (comprenant les défauts d'efficacité). Il faut également noter que le rapport annuel 2017 de pharmacovigilance vétérinaire de l'agence européenne du médicament (EMA) demande des études complémentaires sur les mécanismes possibles associés aux effets indésirables des vaccins L4 (Veterinary pharmacovigilance 2017).

CIRCULATION ACTUELLE DES SÉROVARS

L'offre vaccinale contre la leptospirose canine s'est récemment enrichie en Europe, comme elle l'avait précédemment été en Amérique du Nord. Cela fait suite à l'observation quasi générale de recrudescence de cas cliniques de leptospirose canine (et parfois humaine), liée à une évolution épidémiologique caractérisée par l'émergence de sérovars appartenant à des sérogroupe jusqu'ici minoritaires. En fonction des sérovars circulant et de leur pouvoir pathogène pour le chien, les vaccins sont constitués d'associations d'antigènes issus de sérovars d'intérêt dans une zone géographique donnée : la composition antigénique sera ainsi différente entre les vaccins commercialisés en Amérique du Nord et en Europe.

PRINCIPAUX SEROVARS EUROPÉENS

Une synthèse bibliographique très intéressante (W.A Ellis, 2010) fondée sur diverses études publiées ces trente dernières années, fait le point sur les principaux sérovars européens susceptibles d'infecter le chien. De plus, elle tente de dégager leur importance relative en terme de clinique, et discute ainsi de la pertinence du choix vaccinal selon les pays concernés.

Il s'avère que les principaux sérogroupe d'intérêt sont en Europe Australis, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, et Sejroe (Pomona étant également cité, car important en Amérique du nord, mais beaucoup plus rare en Europe). L'importance relative de chacun peut varier d'un pays à l'autre, selon la répartition et la dynamique des espèces reconnues comme réservoir. Ainsi, les souches des groupes Grippotyphosa et Sejroe

ne semblent pas présentes sur tout le continent, contrairement à celles appartenant aux groupes Icterohaemorrhagiae et Australis (particulièrement cité), alors que Canicola est en régression partout.

Il faut préciser qu'il est difficile de comparer les résultats obtenus par les différentes études menées sur la leptospirose canine, pour au moins deux raisons : la mise en œuvre du test diagnostique et la population ciblée.

Concernant le premier point, c'est le test de référence (MAT), selon les recommandations de l'OIE, qui est la plupart du temps employé, mais le panel de souches utilisées comme antigène n'est pas homogène (plus ou moins de sérovars testés selon les cas ; nature des souches variable). Surtout, on constate qu'aucun seuil de positivité n'étant clairement défini, les titres minimaux pris en compte par les laboratoires varient du 1/10 au 1/800, et ceci selon les objectifs des travaux. En effet, la recherche de forts titres en anticorps (supérieurs au 1/400 ou 1/800) permet le plus souvent d'identifier le séovar responsable d'une infection récente et à l'origine de signes cliniques, tout en limitant le biais des réactions croisées, mais n'est pas adaptée à l'étude de l'exposition globale de populations animales. A l'inverse, la mesure de faibles titres en anticorps (inférieurs généralement à 1/400), tout en étant plus appropriée à des études de prévalence et de présence d'un séovar donné, doit tenir compte des réactions croisées, des infections asymptomatiques et des séropositivités post-vaccinales (pour les sérovars constituant les vaccins).

La population ciblée est bien sûr un élément déterminant dans l'interprétation des résultats publiés : selon les études, le recrutement concernait soit des animaux suspectés d'être affectés de leptospirose (signes cliniques et biologiques évocateurs), soit des chiens non suspects (consultation de routine ou autres pathologies sans lien), et dans certains cas une cohorte de chaque. De même, les animaux pouvaient être vaccinés ou non (parfois le statut était inconnu), et selon les situations traités ou non à part en fonction de ce critère.

Depuis 2010, de nouvelles études ont été menées en Europe et confirment les tendances jusqu'ici trouvées tout en complétant certaines données.

EMERGENCE DU SÉROGROUPE AUSTRALIS

Ainsi, deux enquêtes sérologiques françaises récentes ont été publiées en 2013 et 2014.

La première s'est intéressée à des échantillons sanguins traités à VetAgroSup (Lyon), et cherchait à estimer la prévalence des sérovars *L. grippotyphosa*, *L. bratislava* (serogroupe Australis), *L. pomona* et *L. mozdok* (serogroupe Pomona) (C. Renaud et al, 2013). Deux populations ont été sondées : des chiens suspects cliniques de leptospirose (n = 302) et d'autres (n = 215) non suspects. A un seuil de MAT supérieur à 1/10, 22 % des animaux étaient positifs pour *L. bratislava* (22 % pour les chiens suspects, 16 % pour les autres), et 7,3 % pour *L. grippotyphosa* (10 % et 3,7 % respectivement) (à noter que le séogroupe pomona était quasi absent).

La seconde enquête a concerné des bovins et des chiens suspects cliniques, pour lesquels les sérums ont été prélevés entre 2008 et 2011 sur tout le territoire national (découpé en six zones géographiques) (FC Ayrat et al, 2014). Les sérums canins ont été testés contre dix sérogroupe et seuls ceux dont au moins une réaction MAT était supérieure ou égale à 1/640 pour un séovar non vaccinal ont été inclus (tout en excluant ceux fortement po-



sitifs pour *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola*). Il s'avère que sur un effectif total de 232 chiens, *Australis* était prédominant dans toutes les régions (63 % de positivité totale), *Grippytyphosa* (9 % de positivité totale) n'était pas présent dans deux régions (Sud-Est et Est de la France, sachant que l'effectif était très faible à l'Est), et *Sejroe* (6 % de positivité totale) absent dans l'Est.

Ainsi, les isolats du séro-groupe *Australis* sont fréquemment identifiés dans les populations canines, particulièrement lors de leptospirose, et ceci dans toutes les régions de France, dominant en fréquence et en distribution les souches des autres séro-groupes de leptospires non vaccinaux.

L'importance relative du séro-groupe *Australis* est souvent confirmée par d'autres études européennes récentes. A partir d'un échantillon de 326 chiens suspects cliniques de leptospirose entre 2006 et 2011 à Berlin (dont 80 % étaient vaccinés), les résultats de MAT à haut titre révèlent une plus forte séroprévalence des membres du séro-groupe *Australis*, comparée aux autres souches de séro-groupes non vaccinaux, que ce soit lors de réponses positives uniques ou mixtes (*Australis/Grippytyphosa*, *Australis/Pomona*, *Australis/Grippytyphosa/Pomona*) (A. Mayer-Scholl *et al*, 2013). Une enquête d'ampleur nationale multi-espèces menée entre 2010 et 2011 en Italie (avec 3028 chiens suspects cliniques) a révélé qu'à un seuil de MAT de 1/400, le séro-groupe *Australis* représente plus de la moitié des animaux positifs (soit 83 sur 144) (S. Tagliabue *et al*, 2016).

Enfin, une très récente étude nationale Suisse (avril-décembre 2015) s'intéressant à une population de chiens (377 au total) non suspects cliniques (et préférentiellement non vaccinés lors des seize semaines avant l'échantillonnage), a montré qu'au seuil de 1/100, les sérovirs du groupe *Australis* dominent largement tous les autres (24 % des séropositifs totaux en réaction simple, contre moins de 10 % pour chacun des autres séro-groupes) (A. Delaude *et al*, 2017).

Ainsi on peut sans ambiguïté considérer que les souches de type *Australis* sont largement représentées en Europe de l'Ouest, circulent régulièrement dans les populations canines et sont impliquées dans le développement de la leptospirose.

QUELS VACCINS UTILISER DANS QUELLES SITUATIONS ?

Compte tenu de l'ensemble de ces données, les vétérinaires doivent donc se demander quand et pour quel animal utiliser les différents vaccins disponibles contre la leptospirose.

Le premier point est que, en considérant les données d'épidémiologie et de physiopathologie, il est nécessaire de garder les valences *Canicola* et *Icterohaemorrhagiae* dans les vaccins. En effet, ces deux sérovirs restent très pathogènes chez le chien. De plus, leurs réservoirs (chien pour *Canicola* et petits rongeurs, en particulier *rattus norvegicus*, pour *Icterohaemorrhagiae*) impliquent un risque de contamination élevé pour tous les chiens quel que soit leur mode de vie.

Les études épidémiologiques récentes montrent que le séro-groupe *Australis* est maintenant présent de façon homogène dans presque toute l'Europe, dans des populations canines asymptomatiques ou atteintes de leptospirose. L'utilisation du séro-groupe *Australis* paraît donc justifié.

A l'heure actuelle, il n'existe aucune démonstration scientifique ou épidémiologique de l'intérêt d'inclure le séro-groupe *Grippytyphosa* dans des vaccins destinés au marché européen (L3).

En attendant les résultats des études de pharmacovigilance, il est donc opportun de considérer l'intérêt d'une vaccination avec un vaccin L4 *versus* L2. Le choix devra se faire en évaluant la balance bénéfique/risque pour chaque animal, en prenant en compte son mode et son lieu de vie.

Le vétérinaire pourra également tenir compte des cas de leptospirose diagnostiqués sur les chiens non vaccinés et vaccinés de sa clientèle. L'idéal pour adapter au mieux le protocole vaccinal serait de pouvoir déterminer les sérovirs responsables.

Enfin, il est important de garder en mémoire que la protection offerte par les vaccins L4 n'est pas universelle et qu'un chien correctement vacciné peut développer une leptospirose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

André-Fontaine G, C. Branger, A. W. Gray, H. L. B. M. Klaasen. Comparison of the efficacy of three commercial bacterins in preventing canine leptospirosis. *Vet Record*, 2003, 153, 165-169.

Ayral FC, Bicout DJ, Pereira H, Artois M, Kodjo A. Distribution of *Leptospira* serogroups in cattle herds and dogs in France. *Am J Trop Med Hyg.* 2014 Oct;91(4):756-9.

Bharti AR *et al*. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet infect dis* 3 757-771 2003.

Chassin C *et al*. TLR4 and TLR2 mediated B cell responses control the clearance of the bacterial pathogen, *Leptospira interrogans* (*J Immunol* 183, 2669-2677 2009.

Delaude A, Rodriguez-Campos S, Dreyfus A, Counotte MJ, Francey T, Schweighauser A, Lettry S, Schuller S. Canine leptospirosis in Switzerland-A prospective cross-sectional study examining seroprevalence, risk factors and urinary shedding of pathogenic leptospires. *Prev Vet Med.* 2017 Jun 1;141:48-60.

Ellis WA. Control of canine leptospirosis in Europe: time for a change? *Vet Rec* 2010 Oct 16;167(16):602-5.

Klaasen HLBM, M. van der Veen, D. Sutton, M.J.C.H. Molkenboer. A new tetravalent canine leptospirosis vaccine provides at least 12 months immunity against infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 158 (2014) 26-29.

Mayer-Scholl A, Luge E, Draeger A, Nöckler K, Kohn B. Distribution of *Leptospira* serogroups in dogs from Berlin, Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013 Mar;13(3):200-2.

Minke JM, R. Bey, J.P. Tronel, S. Latour, G. Colombet, J. Yvorel, C. Cariou, A.L. Guiot, V. Cozette and P.M. Guigal. Onset and duration of protective immunity against

clinical disease and renal carriage in dogs provided by a bi-valent inactivated leptospirosis vaccine. *Veterinary Microbiology* 137 (2009) 137-145

Picardeau M. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis : still terra incognita? *Nature reviews microbiology* 15 May 2017. 297-307

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

Robbins H, Adverse events in dogs given *Leptospira* vaccine. *Vet record*, 2017, March 257.

Srikram A *et al*. Criss protective immunity against leptospirosis elicited by a live attenuated lipopolysaccharide mutant. *J inf Dis.* 203 870-879 2011.

Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally J.E. and Sykes J. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. 2015. *J Small Animal Practice.* 56, p159-177.

Tagliabue S, Figarolli BM, D'Incau M, Foschi G, Gennero MS, Giordani R, Giordani R, Natale A, Papa P, Ponti N, Scaltrito D, Spadari L, Vesco G, Ruocco L. Serological surveillance of *Leptospira* in Italy: two year national data (2010-2011). *Vet Ital.* 2016 Jun 30;52(2):129-38.

Veterinary pharmacovigilance 2017. Public bulletin. European medicines agency. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000190.jsp&mid=WCOb01ac0580b2d85a

Wilson S, Stirling C, Thomas A, Vickie King, Edita Plevová, Ludmila Chromá, Elisabeth Siedek, Joanna Illambas, Jeremy Salt, Gordon Sture. Duration of immunity of a multivalent vaccine against four *Leptospira* serovars (Vaccine 2013 31 3126-3130)