VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2019 - Thèse n° 095

EXPOSITION ET INFECTION PAR LES LEPTOSPIRES PATHOGENES EN ELEVAGES BOVINS : ETUDE DE TERRAIN DANS L'OUEST LYONNAIS, INDICATEURS DU RISQUE D'EXPOSITION ET ROLE DE LA FAUNE SAUVAGE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 28 novembre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

DELABORDE Hélène

VETAGRO SUP

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2019 - Thèse n° 095

EXPOSITION ET INFECTION PAR LES LEPTOSPIRES PATHOGENES EN ELEVAGES BOVINS : ETUDE DE TERRAIN DANS L'OUEST LYONNAIS, INDICATEURS DU RISQUE D'EXPOSITION ET ROLE DE LA FAUNE SAUVAGE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 28 novembre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

DELABORDE Hélène

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-09-2019)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

Remerciements au jury

A Monsieur le Professeur Pierre BRETON,
De l'université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,
Mes hommages respectueux.

A Madame le Docteur Florence AYRAL,
De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour votre disponibilité, vos conseils et pour m'avoir soutenue tout au long de ce travail,
Sincères remerciements.

A Madame le professeur Marie Anne ARCANGIOLI,
De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour avoir accepté d'être membre de ce jury de thèse,
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Julien CAPPELLE,
Pour l'encadrement, l'aide apportée et les conseils donnés,
Sincères remerciements.

Table des matières

Table des annexes 11

Table des figures 13

Table des tableaux 15

Liste des abréviations 17

Introduction 19

I. Synthèse bibliographie 21
A. Etiologie 21
1. Taxonomie 21
2. Morphologie, métabolisme et critères de résistance 22
3. Pathogénie 23
B. Symptômes 25
1. Chez les bovins 26
2. Chez l'homme 27
C. Traitement 27
1. Curatif 27
2. Préventif 28
D. Epidémiologie 29
1. Répartition géographique et dans le temps 29
2. Hôtes de persistance 30
3. Cycle épidémiologique 33
4. Facteurs de risques 34
E. Méthodes diagnostiques 35
1. Identification de l'agent 36
2. Les tests sérologiques 37

II. Matériel et méthode 41
A. Définition du statut des élevages 41
1. Echantillonnage 41
2. Définition des élevages exposés – non exposés 42
3. Définition des élevages infectés et non infectés 43
4. Identification du sérogroupe infectant le plus probable 44
B. Etude des indicateurs de risque selon une approche descriptive 45
1. Description des variables écologiques 45
2. Distribution spatiale du statut des élevages et des variables 46
C. Etude des indicateurs de risque selon une approche analytique 47
1. Description des variables 47
2. Analyses statistiques 48

III. Résultats 49
A. Statut des individus et des élevages 49
1. Elevages exposés et non exposés 49
2. Statut infectieux des élevages 52

B. Approche descriptive 52
1. Distribution spatiale des élevages 52
2. Distribution des variables environnementales 55
3. Statut infectieux des petits mammifères sauvages 57
C. Approche analytique 58
1. Boosted Regression Trees (BRT) 58
2. Analyse univariée 59
3. Analyse multivariée 62

IV. Discussion 65
A. Statut des bovins dans l'ouest lyonnais 65
1. Exposition des bovins 65
2. Distribution des sérogroupes 66
3. Infections des bovins 67
B. Distribution spatiale des élevages 68
C. Indicateurs de risque 68

Conclusion 73

Bibliographie 75

Annexes 85

Table des annexes

Annexe 1 : liste des variables zootechniques et environnementales relatives à l'élevage issues du questionnaire 85
Annexe 2 : questionnaire soumis aux éleveurs 88
Annexe 3 : résultats du MAT pour les 481 bovins 92
Annexe 4 : synthèse des réponses obtenues lors du questionnaire 113
Annexe 5 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 500 mètres 116
Annexe 6 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 1500 mètres 117
Annexe 7 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 2000 mètres 118
Annexe 8 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 3000 mètres 119

Table des figures

Figure 1 : leptospire vue au microscope électronique, Rob Weyant, Public Health Image Library (PHIL) 22
Figure 2 : prévalence du portage de leptospires pathogènes dans les reins (qPCR et/ou cultures) au sein d'espèces de la faune sauvage, hors Rattus sp., (étude FREDON, Vein et al. 2014 et Ayral et al. 2014) 31
Figure 3 : distribution des sérogroupes chez les bovins entre 2008 et 2011 (Ayral, 2014)..... 33
Figure 4 : distribution des sérogroupes chez les bovins entre 2012 et 2016 (Gazso, 2017) ... 33
Figure 5 : cycle épidémiologique de la leptospirose, réalisé par l'auteur 33
Figure 7b : distribution des titres du MAT pour chaque sérogroupe 50
Figure 7a : répartition des sérogroupes pour les 73 bovins séropositifs 50
Figure 8 : répartition des sérogroupes incriminés dans les 48 élevages étudiés 50
Figure 9 : distribution spatiale des élevages selon le statut de chaque élevage étudié..... 53
Figure 10 : distribution spatiale des élevages selon le sérogroupe incriminé dans chaque élevage étudié 54
Figure 11 : distribution spatiale des élevages selon le nombre d'individus séropositifs dans chaque élevage étudié..... 54
Figure 12 : synthèse des réponses au questionnaire selon l'exposition des élevages à la leptospirose..... 55
Figure 13 : répartition des élevages selon la localisation de leurs pâtures et leur exposition à la leptospirose 56
Figure 14 : distribution des élevages dont les pâtures sont localisées dans un rayon de 3 km et exemple d'une zone tampon de 1500 mètres 56
Figure 15 : distribution spatiale des captures d'animaux sauvages et des élevages selon le sérogroupe incriminé 57
Figure 16 : représentation graphique des 8 variables ayant le plus d'impact sur le statut en fonction de leur poids respectif 58
Figure 17 : représentation graphique des 8 variables ayant le plus d'impact sur le sérogroupe incriminé en fonction de leur poids respectif..... 59
Figure 18 : représentation graphique des odds-ratio selon une échelle logarithmique dans le cadre de l'analyse univariée de l'exposition aux leptospires pathogènes 59
Figure 19 : représentation graphique des odds-ratio selon une échelle logarithmique dans le cadre de l'analyse univariée de l'exposition aux leptospires pathogènes appartenant au sérogroupe Australis 62
Figure 20 : odds ratio des cinq variables sélectionnées après analyse multivariée 63
Figure 21 : odds ration des variables dans l'exposition au sérogroupe Australis 64

Table des tableaux

Tableau I : espèces de leptospires associées à un sérogroupe, d'après Levett (2001) 21
Tableau II : principales espèces de la faune sauvage réservoir pour des leptospires pathogènes et distribution du sérogroupe majoritaire identifié, d'après Vien et al, 2014 ; Ayral et al, 2016 ; projet Geduver, 2010 32
Tableau III : tests disponibles pour le diagnostic de la leptospirose et leur but (OIE, 2018)... 36
Tableau IV : prélèvements supplémentaires effectués dans les élevages E16 et E48..... 41
Tableau V : liste des sérovars utilisés pour le MAT au sein du laboratoire des leptospires, Marcy l'Etoile 42
Tableau VI : exemple de résultats obtenus par le MAT et détermination du sérogroupe incriminé pour un individu 44
Tableau VII : exemple de résultats obtenus par le MAT et détermination du sérogroupe incriminé à l'échelle de l'élevage 45
Tableau VIII : nombres d'individus infectés dans des pâtures autour des élevages E16 et E48 46
Tableau IX : résultats du MAT pour les 48 élevages 51
Tableau X : résultats supplémentaires dans les élevages E10, E16 et E48 52
Tableau XI : résultats du BRT pour les 8 variables ayant un poids supérieur à 1 58
Tableau XII : 8 variables ayant le plus d'impact sur le sérogroupe Australis après un BRT..... 59
Tableau XIII : résultats des analyses univariées et multivariées dans le cas de l'exposition aux leptospires pathogènes, quel que soit le sérogroupe incriminé..... 60
Tableau XIV : résultats des analyses univariées et multivariées dans le cas de l'exposition au sérogroupe Australis 61

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
AUS	Australis (sérogroupe)
BRT	Boosted regression trees
BVD	Diarrhée virale bovine
C4BP	Complement component 4 binding protein
CD4+	Cluster de différenciation 4
cf	*confer*
CLC	Corine Land Cover
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DGAl	Direction Générale de l'Alimentation
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EVAAS	Expertise Vétérinaire et Agronomique des animaux Sauvages
GRI	Grippotyphosa (sérogroupe)
i.e.	*Id est*
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
IGN	Institut national de l'information géographique et forestière
km	kilomètre
Len	Leptospiral endostatin-like
LPS	Lipopolysaccharide
MAT	Test de micro-agglutination (microscopic agglutination test)
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
ND	Non déterminé
OIE	World Organisation for Animal Health
OR	Odds-ratio
PCR	polymerase chain reaction
qPCR	PCR quantitative
SEJ	Sejroe (sérogroupe)
UCRA	Unité clinique rurale de l'Arbresle
UV	Ultraviolet
VNTR	Variable Number Tandem Repeat
WCS	Weak Calf Syndrom

Introduction

La leptospirose est une maladie zoonotique émergente et est considérée comme un problème de santé publique important aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés (Vijayachari, Sugunan, et Shriram 2008). Due à une bactérie de l'ordre des Spirochètes, elle affecte presque tous les mammifères à travers le monde, à l'exception des régions polaires.

Dans l'espèce bovine, elle entraîne d'importantes conséquences économiques du fait des pertes engendrées pour l'éleveur : infertilité, avortements, baisse de production. Les manifestations cliniques et l'intensité des symptômes sont variables mais les formes cliniques restent rares. Dans la majorité des cas, la maladie est peu spécifique, subclinique et évolue de façon chronique. Les vétérinaires manquent d'éléments propédeutiques pour établir un diagnostic ou une suspicion de leptospirose, ce qui en fait une maladie sous-estimée. La bactériémie est fugace et l'excrétion urinaire, bien que persistante, est intermittente limitant l'intérêt des méthodes de détection directe pour le diagnostic analytique. L'intérêt de la sérologie est également limité pour le diagnostic individuel, les formes chroniques étant fréquentes et associées à un faible taux d'anticorps. L'alternative recommandée pour le diagnostic des formes chroniques de leptospirose bovine est la recherche d'anticorps à l'échelle du troupeau. Cette approche nécessitant de multiplier les analyses sérologiques est coûteuse. Il existe donc un besoin sur le terrain de mettre en évidence des indicateurs d'exposition pour orienter le vétérinaire vers une suspicion de leptospirose et appuyer sa décision de mettre en œuvre un diagnostic de troupeau.

L'objectif de ce travail était d'étudier les principaux indicateurs du risque d'exposition des élevages bovins de l'UCRA (L'Arbresle, 69) aux leptospires pathogènes incluant le statut infectieux de la faune sauvage. Pour cela, un test de micro-agglutination (MAT) a été effectué sur 481 bovins dans 48 élevages et un questionnaire a été soumis aux éleveurs. Ces résultats ont permis la réalisation d'une étude d'épidémiologie descriptive et une étude cas-témoins.

Ce travail s'insère dans une étude plus large visant à établir des plans de surveillance d'agents zoonotiques émergents (*Projet du Pôle d'Expertise Vétérinaire et Agronomique des Animaux Sauvages (EVAAS) - Lot de travail 1.3. Plan de surveillance pour la détection précoce de risques d'émergence de maladies infectieuses à partir de réservoirs sauvages : application à la leptospirose des rongeurs*). Dans le cas de la surveillance des leptospires pathogènes, responsables d'infection chez des hôtes domestiques et sauvages, il était nécessaire (1) d'améliorer les capacités de diagnostic des vétérinaires de terrain et (2) d'avoir une meilleure compréhension de la part relative des leptospiroses d'animaux domestiques en lien avec la faune sauvage *versus* les animaux domestiques eux-mêmes. D'autres travaux de thèse d'exercice vétérinaire visant le statut infectieux de rongeurs en zones d'élevage ont été conduits simultanément et leurs résultats ont permis d'approfondir la question de l'exposition

des ruminants. Cette étude est mise en œuvre dans le cadre du Pôle EVAAS et principalement financée par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAl).

I. Synthèse bibliographie

A. Etiologie

1. Taxonomie

La leptospirose est due à une bactérie de l'ordre des *Spirochétales* et de la famille des *Leptospiraceae* et du genre *Leptospira*. Actuellement, deux classifications génomique et phénotypique cohabitent. Alors que la première est basée sur le séquençage ADN, la seconde repose sur la variabilité antigénique des différentes souches de leptospires.

De nombreuses souches ont été découvertes ces dernières années et les avancées de la génétique ont permis d'actualiser les connaissances sur les leptospires. Actuellement, 64 espèces génomiques sont reconnues et sont désormais classées en deux groupes : les espèces pathogènes (37 espèces) contenant toutes les espèces de leptospires responsables d'infections chez l'homme ou l'animal et les espèces saprophytes, au nombre de 27, qui incluent les espèces retrouvées dans l'environnement et pour lesquelles la virulence n'a pas encore été prouvée (Vincent et al. 2019).

La classification phénotypique repose quant à elle sur la détection des anticorps agglutinants induits par les antigènes des leptospires : plus de 300 sérovars ont ainsi été recensés. Parmi ces sérovars, certains possèdent des déterminants antigéniques communs, ce qui permet de les regrouper au sein de 25 sérogroupes.

Bien que sans correspondance avec la classification génomique, cette classification sérologique est toujours employée en clinique car elle apporte une information sur le sérogroupe impliqué dans la maladie qui peut être associé à une forme clinique particulière et un pronostic. L'approche sérologique est également utilisée en épidémiologie où l'information du sérogroupe donne une indication de la source bactérienne. Ces deux classifications ne se regroupent pas et ni le sérogroupe ni le sérovar ne peuvent prédire l'espèce à laquelle appartient la souche, comme le montre le tableau I ci-dessous.

Tableau I : espèces de leptospires associées à un sérogroupe, d'après Levett (2001)

Sérogroupes	***Espèces***
Australis	*L. interrogans, L. noguchii, L. borgpetersenii, L. kirschneri*
Autumnalis	*L. interrogans, L. noguchii, L.santarosai, L. borgpetersenii, L. kirschneri*
Canicola	*L. interrogans, L.inadai, L. kirschneri*
Grippotyphosa	*L. interrogans, L.santarosai, L.kirschneri*
Icterohaemorrhagiae	*L. interrogans, L.weilii, L.inadai, L.kirschneri*
Panama	*L. noguchii, L.inadai*
Pomona	*L. interrogans, L.noguchii, L. santarosai, L.kirschneri*
Pyrogenes	*L. interrogans, L.noguchii, L.weilii, L. santarosai, L. borgpetersenii*
Sejroe	*L. interrogans, L.weilii, L. santarosai, L. borgpetersenii, L.meyeri*

2. Morphologie, métabolisme et critères de résistance

Les leptospires sont des bactéries faisant entre 6 et 20 µm de longueur pour 0,1 µm de diamètre. De forme hélicoïdale, comme présentées en figure 1 ci-dessous, elles possèdent un organe locomoteur interne composé de deux flagelles périplasmiques aussi appelés endoflagelles qui lui confèrent une grande mobilité, notamment dans les milieux visqueux (Picardeau 2013).

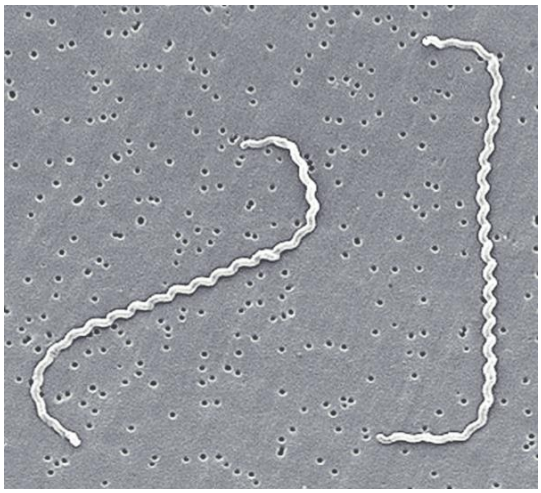


Figure 1 : leptospire vue au microscope électronique, Rob Weyant, Public Health Image Library (PHIL)

Ce sont des bactéries aérobies strictes, avec une température de croissance qui est optimale entre 28 et 30°C et un pH optimal compris entre 7,2 et 7,4. Elles sont à la fois catalase et oxydase positives. Elles se développent dans des milieux enrichis en vitamines et en sels d'ammonium. Les acides gras à longues chaînes sont les seules sources de carbone utilisables et sont métabolisés par β-oxydation (Levett 2001).

Les leptospires possèdent des caractères de résistance assez paradoxaux. Elles peuvent être détruites par la chaleur – dès 56°C, la dessication, le froid (néfaste à partir de 0°C et fatal à partir de -20°C) et les détergents. Le pH est également un facteur déterminant et elles tolèrent mieux un milieu alcalin qu'acide. Ainsi, leur survie est conditionnée par la température dans le milieu extérieur, l'humidité et le pH. Elles sont également très sensibles aux ultraviolets. Néanmoins, lorsque les conditions environnementales sont favorables, il est possible de retrouver des souches actives pendant plusieurs mois (Andre-Fontaine, Aviat, et Thorin 2015). Par exemple, un sol boueux ou de l'eau douce à pH neutre ou légèrement alcalin et à l'abri des UV est propice à la survie de la bactérie ce qui en fait un milieu particulièrement propices aux contaminations (Bourhy, Septfons, et Picardeau 2017).

3. Pathogénie

a) Mécanismes moléculaires

Les bases moléculaires de la pathogénie de la leptospirose sont encore peu comprises. Phylogénétiquement parlant, les leptospires sont éloignées des autres bactéries pathogènes et elles n'ont pas les facteurs de virulence classiques trouvés chez celles-ci. Les facteurs de virulence sont des protéines, des structures (le LPS par exemple) ou les propriétés phénotypiques (telle que la mobilité) qui sont requises pour provoquer la maladie ou qui interagissent avec les protéines de l'hôte (Murray 2015).

Les leptospires possèdent une grande mobilité qui leur permet de traverser les barrières cutanéo-muqueuses ou de pénétrer la peau lésée, mais aussi les matrices extra-cellulaires sans créer de dégâts et de réactions inflammatoires. Ces propriétés leur permettent d'échapper au système immunitaire non spécifique. Bien que ce ne soit pas des bactéries intracellulaires, elles possèdent également la capacité d'entrer dans les cellules hôtes et d'en ressortir, grâce à des capacités invasives et des propriétés d'adhésion aux membranes cellulaires corrélées à la virulence. Pendant la bactériémie, les leptospires pourraient ainsi adhérer aux cellules endothéliales des capillaires et pénétrer dans les tissus. Ces capacités invasives sont dues d'une part à la production de nombreuses protéases, telles que des hémolysines, des sphingomyélinases, des phospholipases et d'autre part en activant des plasminogènes - une enzyme protéolytique initiant la fibrinolyse – et des métalloprotéinases de l'hôte (Murray 2015 ; Stevenson et al. 2007).

Elles possèdent également des facteurs d'échappement à la réponse immunitaire ce qui leur permet de coloniser de manière chronique les reins. Les mécanismes précis permettant cette persistance rénale ne sont pas clairement élucidés mais quelques hypothèses prédominent. Il existerait une expression protéique différentielle et une régulation négative des antigènes spécifiques à *Leptospira* lors d'une infection chronique, ce qui faciliterait la colonisation rénale et la persistance de la leptospirurie malgré la présence d'une réponse humorale spécifique. En effet, les leptospires cultivées in vitro et in vivo ne présentent pas les mêmes pouvoirs antigéniques. Les anticorps présents dans le sérum de rats infectés chroniquement réagissent plus avec des antigènes obtenus à partir de cultures in vitro qu'avec ceux provenant d'urines de rat (Monahan, Callanan, et Nally 2008). De plus, bien que certains tubules rénaux colonisés par des leptospires soient entourés de lymphocytes et d'infiltrats inflammatoires, d'autres ne présentent aucune trace d'inflammation, ce qui pourrait indiquer que soit ces tubules étaient récemment colonisés, soit la bactérie échappe d'une façon ou une autre à la réponse immunitaire : ces leptospires ont un profil antigénique différent qui facilite l'échappement à la réponse immunitaire (Monahan, Callanan, et Nally 2009). L'échappement à la réponse immunitaire est aussi permis par l'absence d'activation du système du complément. Ce système fait partie de la réponse immunitaire innée et permet l'élimination des micro-organismes pathogènes via plusieurs voies et mécanismes de cascades. Il existe un

mécanisme d'autodéfense : les cellules de l'hôte peuvent se lier au facteur plasmatique H, ce qui permet de désactiver le système du complément pour éviter la destruction des cellules hôtes. Or, le génome des leptospires pathogènes code pour un groupe de protéines appelées Len (Leptospiral endostatin-like) dont certaines peuvent se lier à des protéines de régulation du système du complément dont par exemple le facteur H (Stevenson et al. 2007). Chez l'Homme, il a été démontré que les leptospires pathogènes peuvent aussi se lier à la protéine C4BP (complement component 4 binding protein), qui est également un inhibiteur du système du complément (Barbosa et al. 2009) et une prédisposition génétique à une infection aiguë par *Leptospira* a été associée à des différences alléliques qui altèrent le récepteur CMH. Les CMH II sont des molécules transmembranaires qui sont nécessaires pour la présentation des antigènes aux lymphocytes T CD4+ et sont normalement trouvées sur les cellules présentatrices d'antigènes (Barbosa et al. 2009). D'autres protéines produites pourraient également faciliter l'échappement à la réponse immunitaire en interférant avec l'activation du système du complément.

b) Contamination et dissémination

La transmission de la maladie peut se faire par contact direct avec des urines d'animaux excrétant les bactéries. Plus rarement, le sang peut aussi être une matière virulente mais la bactériémie étant de faible durée, son rôle épidémiologique reste anecdotique. Les fluides vaginaux des bovins peuvent contenir des bactéries (Loureiro et al. 2017) ainsi que le sperme des taureaux (Masri et al. 1997). Il pourrait donc également y avoir des risques de transmission vénérienne et transplacentaire (Ellis 2015 ; Loureiro et Lilenbaum 2020). Une étude en 2016 a démontré la présence possible de leptospires dans le lait et le tissu mammaire de rats (De Oliveira et al. 2016), mais cette voie n'est pas retenue comme mode de transmission, les bactéries étant vite détruites (Fratini et al. 2016). Néanmoins, la transmission est le plus souvent indirecte, par contact avec des eaux ou des sols eux-mêmes contaminés par les urines d'animaux infectés.

Quel que soit l'hôte, la bactérie pénètre dans l'organisme par le passage à travers les muqueuses ou la peau lésée. Après une période d'incubation variable entre 3 et 20 jours, une bactériémie s'ensuit. Durant cette période, les leptospires peuvent être isolées dans le sang et dans la plupart des organes du corps (dont le foie, la rate, les reins, le tractus génital, les yeux et le système nerveux central) où elles se répliquent, mais aussi dans le liquide céphalo-rachidien. Cette phase peut durer jusqu'à 7 jours. Après 10 à 15 jours, les anticorps circulants deviennent détectables. Leur niveau est maximal trois semaines plus tard et peut être maintenus jusqu'à six semaines supplémentaires selon les espèces, après quoi ce niveau décline. Cependant, les anticorps persistent à long terme. Chez beaucoup d'animaux, des titres faibles peuvent être détectables pendant plusieurs années après l'infection (Ellis 2015 ; Grooms 2006)

Après la leptospirémie, les bactéries se logent dans les tubules proximaux rénaux où elles se multiplient et sont excrétées dans les urines. La durée et l'intensité de cette excrétion urinaire sont variables selon l'espèce, l'animal et le sérovar infectant. Chez les bovins, une infection persistante des tractus génitaux mâle et femelle par le sérovar hardjo peut durer plus de 12 mois. Les pertes vaginales peuvent donc aussi être infectées et sources de contamination de l'environnement (Leonard et al. 1992 ; Loureiro et al. 2017). La pathogénie précise n'est pas clairement connue, mais il est supposé que la présence de leptospires dans l'utérus et les oviductes des vaches infectées pourrait interférer dans l'implantation de l'embryon et entraîner la baisse de fertilité constatée (Grooms 2006). Chez des chiennes infectées expérimentalement, les leptospires peuvent endommager l'endométrium et initier une réaction inflammatoire et une expression anormale des protéines de la matrice extracellulaire, ce qui mènerait à une interruption du développement embryonnaire (Wang et al. 2014). De plus, des études expérimentales sur des embryons bovins ont montré que les leptospires peuvent traverser la zone pellucide et envahir les cellules embryonnaires, ce qui abime les membranes cellulaires et le cytoplasme (Bielanski et Surujballi 1998). Deux hypothèses sont proposées pour expliquer les morts embryonnaires précoces et le repeat-breeding : (1) une inflammation de l'utérus qui empêche la survie de l'embryon ou son implantation et (2) une infection directe de l'embryon par les bactéries qui l'endommagent.

B. Symptômes

Tous les mammifères sont susceptibles d'être atteints. Les leptospires pathogènes se localisent principalement dans les tubules rénaux proximaux. Une distinction est couramment faite entre les hôtes de persistance *i.e.,* les populations animales pour lesquelles les leptospires colonisent le rein et sont excrétées dans l'urine sur des périodes prolongées assurant ainsi la persistance bactérienne dans une population et/ou un environnement donné à l'instar du rat surmulot (*Rattus norvegicus*) et, les hôtes accidentels qui après infection vont évoluer rapidement vers la guérison ou la mort à l'instar de l'Homme. Le rôle d'hôtes de persistance est généralement limité à un sérogroupe (Thiermann 1981). Certains sérovars ont en effet une spécificité d'hôte, mais celle-ci n'est pas exclusive (Ellis, 2015 ; Bourhy et al., 2017). Certaines espèces animales peuvent donc être hôtes de persistance pour un sérovar et hôtes accidentels pour d'autres sérovars. Par exemple, les rats surmulots sont des hôtes de persistance pour les leptospires du sérogroupe Icterohaemorrhagiae et des hôtes accidentels pour le sérogroupe Grippotyphosa (Thierman 1981). Souvent, les hôtes de persistance sont peu sensibles et l'infection est paucisymptomatique ou asymptomatique. A l'inverse les hôtes accidentels sont plus sensibles et l'infection peut être associée à des manifestations de sévérité variable allant de formes subcliniques à des formes aiguës engageant le pronostic vital.

1. Chez les bovins

Les signes cliniques et leur sévérité sont variables selon les sérovars infectants. Les bovins sont hôtes de persistance pour le sérovar hardjo qui entraînent peu de manifestations cliniques mais l'excrétion urinaire reste importante et peut perdurer plusieurs années (Ellis et al. 1986). Il existe cependant des exceptions sous certaines conditions, comme chez les individus naïfs, immuno-déprimés, en fin de gestation, prématurés ou avec une infection concomitante telle que le virus de la BVD. Parmi les signes cliniques décrits, une baisse de la fertilité et de la production laitière est courante. Les avortements et la naissance de « veaux mous » peuvent résulter d'une infection par Hardjo mais cela intervient généralement lorsque la vache est infectée pour la première fois lors de la gestation. Le syndrome du veau mou – aussi appelé « Weak Calf Syndrom » (WCS) – se manifeste par des veaux faibles à la naissance, avec un poids peu élevé, sans réflexe de succion et pouvant mourir rapidement. Ces avortements ont tendance à apparaître de façon sporadique, à l'inverse des sérovars pomona ou grippotyphosa qui créent plutôt des formes épizootiques lorsque ces souches infectent un troupeau (Grooms 2006).

Les formes aiguës sont peu communes. Les occurrences récemment rapportées chez des jeunes animaux dans la littérature ont été associées au sérogroupe Pomona au Brésil (Hamond et al. 2019) et aux sérogroupes Grippotyphosa et Australis en Belgique (Delooz et al. 2018). Les signes cliniques incluent pyrexie, anémie hémolytique, hémoglobinurie, ictère, méningite et mort. Chez les vaches en lactation, les infections incidentelles sont souvent associées à de petites quantités de sang dans le lait. La phase aiguë lors d'infections cliniques par le sérovar hardjo est la plupart du temps subclinique, à l'exception des vaches en lactation où il peut y avoir une baisse de la production laitière, allant jusqu'à une agalactie. Ce syndrome, appelé « milk-drop syndrom » est caractérisé par plusieurs signes : (1) une chute soudaine de la production laitière, (2) une mamelle flasque avec les quatre quartiers atteints, (3) l'hyperthermie est variable et peut ne pas être présente, (4) le lait est de couleur jaune, semblable au colostrum, avec des caillots, (5) le taux de cellules somatiques est important malgré l'absence des germes causant habituellement des mammites (Ellis 2015). La plupart des animaux retournent à une production normale en dix à quatorze jours avec ou sans traitement à l'exception de ceux en fin de gestation qui peuvent se tarir. La proportion d'individus affectés peut varier de 1 à 50 %, selon l'immunité du troupeau et les pratiques de gestion. Les formes épizootiques sont rares et les cas individuels passent souvent inaperçus sauf si la production laitière est enregistrée tous les jours lors de l'utilisation de robots de traite.

L'infection est le plus souvent associée à des signes cliniques frustes tels qu'une baisse de la fertilité et des morts embryonnaires précoces. La maladie évolue silencieusement et passe souvent inaperçue ou n'est pas diagnostiquée, ce qui compromet les performances reproductives et donc la productivité d'un élevage pendant plusieurs années (Loureiro et Lilenbaum 2020). Les infections asymptomatiques sont probablement fréquentes, comme le

suggère l'enquête à l'abattoir de Fang et al., 2015, sur 146 bovins sains. 73 % des bovins étaient séropositifs et 21 % des bovins avaient un portage rénal ou urinaire. Cette étude souligne également la forte disparité entre la séroprévalence et la prévalence réelle de l'infection. Sur le plan économique, l'infection par des leptospires pathogènes a donc de graves conséquences : l'infection persistante de l'appareil reproducteur entraîne une baisse de la fertilité, et donc une augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage (Guitian, Thurmond, et Hietala 1999 ; Dhaliwal et al. 1996). Cette baisse de la fertilité, associée à des avortements, des naissances prématurées, des veaux mous sont responsables d'importantes pertes économiques, notamment dans le cas d'infections chroniques de leptospirose bovine (Ellis 2015). Ces aspects cliniques indiquent que la leptospirose bovine est une maladie de l'appareil reproducteur, quelle que soit la souche infectante. Suite à la description de bovins positifs par PCR dans les sécrétions vaginales et négatifs dans les urines, Loureiro et Lilenbaum (2020) ont récemment suggéré la distinction de deux syndromes (1) le syndrome génital associé à un portage bactérien utérin et (2) le syndrome rénal associé à un portage rénal. La reconnaissance de ces deux entités pathologiques permettrait d'améliorer la détection des infections à l'avenir.

2. Chez l'homme

L'incubation dure en moyenne de 4 à 14 jours. La présentation clinique est très polymorphe, allant d'une forme fébrile anictérique à une défaillance multiviscérale potentiellement mortelle. Dans la forme modérée, la maladie se manifeste par un syndrome grippal avec fièvre élevée accompagnée de frissons, maux de têtes, douleurs musculaires et douleurs articulaires diffuses. Elle peut cependant évoluer vers des formes plus graves, avec des atteintes rénale, hépatique, cardiaque, pulmonaire ou méningée. Dans 20 % des cas, un syndrome hémorragique complique le tableau clinique. Des complications oculaires peuvent survenir tardivement, telles que des uvéites ou des kératites. Le diagnostic est souvent tardif au cours de l'infection : ce syndrome peut en effet être confondu avec d'autres maladies telles que la grippe ou dans les régions tropicales, la dengue, le paludisme ou le chikungunya. La convalescence est longue, mais généralement sans séquelles, après un traitement antibiotique (Adler et de la Peña Moctezuma 2010 ; Bourhy, Septfons, et Picardeau 2017).

C. Traitement

1. Curatif

Le traitement des leptospiroses aiguës dans les cas individuels ou collectifs repose sur l'usage des antibiotiques et d'un traitement symptomatique. La mise en place d'une fluidothérapie est presque toujours indiquée et des transfusions sanguines peuvent parfois être nécessaires. Dans le cas des formes chroniques, l'association pénicilline - streptomycine à la dose de 25 mg/kg est l'antibiotique le plus largement utilisé, mais son efficacité est maintenant contestée, notamment dans le cas de formes chroniques dues au sérogroupe Sejroe (Ellis 2015 ; Correia, Loureiro, et Lilenbaum 2018). L'oxytétracycline (20 mg/kg) et la

tilmicosine (10 mg/kg) ont aussi démontré leur efficacité et ont permis l'arrêt de l'excrétion urinaire (Alt, Zuerner, et Bolin 2001). Cependant, l'objectif dans la plupart de ces études est d'empêcher l'excrétion urinaire et l'efficacité de ces antibiotiques sur les autres organes, et en particulier sur le tractus génital, est inconnue. L'antibiothérapie doit cependant être réservée à des cas exceptionnels et correspondre aux bonnes pratiques de l'usage de l'antibiothérapie. Certaines molécules utilisées par voie parentérale n'atteignent pas les concentrations minimales inhibitrices dans l'utérus pour éliminer les leptospires (Correia, Loureiro, et Lilenbaum 2018). Ces doses trop faibles ont alors des effets néfastes, puisqu'elles peuvent être à l'origine d'antibiorésistance ou de la création de biofilms. Une étude montre que le stress induit par des doses trop faibles de doxycyline ou de tétracycline induit la formation de biofilm chez certaines souches de leptospires (Kumar et al. 2018). Une fois formés, la quantité d'antibiotiques nécessaires pour éliminer ces biofilms est bien plus élevée. Une solution serait alors d'administrer les antibiotiques directement dans l'utérus, mais cela n'a pas encore été étudié pour les leptospires.

Une étude récente a permis d'évaluer l'évolution de l'antibiorésistance des leptospires pathogènes (Liegeon, Delory, et Picardeau 2018). L'amoxicilline présentait la plus basse CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et son efficacité était indépendante de la taille de l'inoculum. Cela suggère que cet antibiotique serait le traitement de choix pour la leptospirose. A l'inverse, des inocula de fortes concentrations diminuaient de façon significative les effets des tétracyclines, enrofloxacines et streptomycines. Ces résultats corroborent ceux d'une autre étude qui a également montré une diminution de l'efficacité des pénicillines G, de la streptomycine et des tétracyclines sur des souches d'origine bovine (Correia, Loureiro, et Lilenbaum 2018)

2. Préventif

Les plans de prévention de la maladie doivent prendre en compte la localisation, le nombre d'animaux, les sérovars infectants, les hôtes de persistance présents dans l'environnement, les modes de transmission et les différents facteurs de risque. Les données de surveillance si elles existent et des études épidémiologiques permettent d'établir ces plans. La prévention sanitaire inclut le respect des mesures générales d'hygiène, la réduction des contacts avec la faune sauvage (*i.e*. la gestion des rongeurs commensaux), la réduction de facteurs de risque (*i.e.*, réduire l'accès aux cours d'eau naturels) et le dépistage des animaux introduits dans un cheptel. Toutefois, cette dernière option est limitée par la faible sensibilité du test de référence à l'échelle individuelle. La prévention médicale repose essentiellement sur l'usage de la vaccination (Ellis 2015). Généralement, le contrôle de la maladie repose donc sur trois axes : (1) l'antibiothérapie, (2) la vaccination et (3) le contrôle de l'environnement. Cependant, ces mesures sont plus difficiles à mettre en place dans le cas de leptospirose génitale chronique, avec des souches adaptées. Le bétail est le réservoir du sérogroupe Sejroe et il n'est pas possible de prévenir le contact de bovins à bovins et l'impact de l'environnement serait limité sur ces souches (Martins et Lilenbaum 2017 ; Mughini-Gras et al. 2014).

La vaccination est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées mais elle est dépendante des sérovars infectants. Le vaccin confère une protection contre les infections de souches de leptospires homologues et ne protège pas contre l'infection par des souches hétérologues (sérogroupes différents). L'efficacité du vaccin nécessite donc une bonne connaissance des souches circulantes dans les élevages. Aucun vaccin contre la leptospirose bovine ne possède d'autorisation de mise sur le marché (AMM) en France, mais il est possible d'obtenir un vaccin monovalent contre les infections par le sérovar hardjo via une autorisation temporaire d'utilisation (ATU). Il permet l'amélioration des performances du cheptel et une meilleure maîtrise de l'excrétion urinaire dans les troupeaux où la leptospirose est le seul facteur abortif (Lars et Gache 2018). En France, le sérogroupe prédominant responsable de leptospirose bovine, principalement des formes abortives, est Australis (Ayral et al. 2014). Le vaccin disponible en France n'est donc pas une mesure pertinente dans la majorité des cas. Plusieurs vaccins sont disponibles dans le monde, mais leur intérêt est parfois limité (Fávero et al. 2018).

D. Epidémiologie

1. Répartition géographique et dans le temps

Les conditions environnementales sont déterminantes dans la fréquence et l'importance des contamination des milieux, en favorisant la survie des leptospires dans l'environnement. En France métropolitaine, la saisonnalité de la maladie est marquée, avec une recrudescence de cas en août et en septembre (Institut Pasteur 2018). La chaleur plus élevée et l'exposition plus importante aux environnements humides (activités aquatiques, loisirs de plein air) pourraient expliquer en partie cette observation. Plus généralement dans le monde, en particulier dans les zones tropicales et subtropicales où la chaleur et l'humidité sont plus élevées avec des saisons de fortes pluies, l'incidence varie selon le niveau des précipitations (Desvars et al. 2011). Des résurgences et des épidémies sont de plus en plus régulièrement constatées après des épisodes d'inondations (Lau et al. 2010).

La leptospirose a été retrouvée dans presque toutes les régions du monde, à l'exception des régions polaires, et tous les mammifères sont susceptibles d'héberger des leptospires pathogènes au niveau des tubules rénaux proximaux. Cependant, les sérovars sont endémiques de certaines régions ou pays et leur prévalence varie d'un endroit à l'autre. De plus, chaque sérovar a tendance à être maintenu par des espèces spécifiques – domestiques ou sauvages – qui sont hôtes de maintenance de la souche (*Cf.* Partie I.2). En conséquence, dans chaque région, les animaux domestiques seront exposés à des sérovars qui sont portés et excrétés par les populations animales présentes dans son environnement. Pour les espèces de rente, en particulier les ruminants, l'importance des infections serait principalement déterminée par la fréquence et l'intensité des contacts intra et inter troupeaux et avec la faune sauvage. Elle dépend donc de la conduite et des modalités de gestion de l'élevage et

des facteurs environnementaux qui favorisent ou non la présence de la faune sauvage et la persistance des leptospires dans le milieu.

La leptospirose est un problème de santé publique majeur, en pleine émergence dans de nombreux pays, et en particulier dans les pays d'Amérique Latine ou du sud-est de l'Asie où les conditions climatiques sont favorables à la survie des bactéries dans l'environnement. Dans le monde, le nombre annuel de cas sévères a été estimé à plus d'un million (Costa et al. 2015), avec un taux de mortalité allant de 6 à 10 %. En France métropolitaine et depuis 2014, la leptospirose a atteint des incidences records de 1/100 000 cas humains, qui sont les plus fortes incidences relevées depuis qu'une surveillance est mise en place. Dans les régions tropicales (dont les départements et collectivités françaises), la population est plus largement exposée, avec par exemple un risque 80 fois supérieur à Mayotte (Institut Pasteur 2018 ; Bourhy, Septfons, et Picardeau 2017). Cette augmentation, retrouvée dans d'autres pays européens pourrait notamment être due au réchauffement climatique, à l'augmentation des comportements à risques comme les sports aquatiques et/ou à une utilisation accrue des tests de diagnostic. Seul le MAT permet d'identifier le sérogroupe infectant mais ce test est de moins en moins utilisé en médecine humaine au profit du test ELISA ou de la PCR ce qui entraîne une baisse d'informations sur les souches qui circulent. En 2017, 959 MAT ont été réalisés par le CNR : le sérogroupe Icterohaemorrhagiae prédomine (32 %), aucun sérogroupe n'a pu être identifié dans 28 % des cas à cause de réactions croisées ou de co-agglutinations et le sérogroupe Sejroe (16 %) semble être en augmentation par rapport aux autres années. Les sérogroupes Canicola, Grippotyphosa, Panama, Pomona et Australis représentent quant à eux moins de 10% des cas humains en 2017.

Une étude rétrospective cas-témoin réalisée entre 1999 et 2000 en France (Nardone 2002) a permis de dégager des facteurs de risque de la leptospirose chez 90 patients et 169 témoins. Les blessures, la pratique du canoë-kayak, le contact avec des rongeurs sauvages et le fait de résider à la campagne étaient associés indépendamment à la leptospirose ; mais l'importance de l'exposition « canoë-kayak » indique une évolution de l'épidémiologie de la leptospirose, qui est maintenant plus fréquemment associée à des activités de loisirs en plein air (pêche, rafting, canyoning, kayak) par contact avec les eaux douces souillées par les urines des animaux infectés qu'à des circonstances professionnelles. Par exemple, entre juin et septembre 2016, 14 cas groupés de leptospirose parmi des kayakistes en Ille et Vilaine sont survenus. En milieu professionnel, certaines catégories sont plus exposées (agriculteurs, éleveurs, égoutiers, pisciculteurs) en lien avec les activités à risque précédemment citées.

2. Hôtes de persistance

Beaucoup d'espèces animales peuvent être des hôtes de persistance. Parmi les espèces domestiques, les porcs, les chevaux, les chiens ou bien les petits ruminants peuvent être porteurs et excréteurs sains de leptospires pathogènes. Dans cette partie, seules les espèces

présentant un intérêt dans cette étude sont développées, *i.e.* les espèces sauvages principales ainsi que les bovins.

a) Faune sauvage

De nombreuses espèces animales peuvent servir de réservoir et entretenir les leptospires dans l'environnement. Les rats (*Rattus sp.*) sont bien connus pour être porteurs asymptomatiques de la leptospirose et notamment du sérogroupe Icterohaemorrhagiae (Thiermann 1981), responsable de près d'un tiers des cas de leptospirose humaine sur la période 2012 – 2015 (Institut Pasteur 2018). Une étude (projet GEDUVER conduit par l'Anses, DGAI, FNLON et FREDON, 2010) menée dans les régions Pays de la Loire, Normandie et Bretagne rapporte que 12% des ragondins (*Myocastor coypus*) et 33% des rats musqués (*Ondrata zibethicus*) ont un portage rénal de leptospires pathogènes. Ces chiffres sont confirmés par une autre étude (Vein et al. 2014). Entre 2012 et 2015, l'ADN de leptospires pathogènes est recherché dans les reins de 28 autres espèces (Ayral et al. 2016). Ces différents résultats sont regroupés dans la figure 2. Les hérissons (odds ratio de 66,8 [30,9 ; 144]) sont ainsi significativement plus à risque d'infection par des leptospires pathogènes que les ongulés, qui sont des hôtes de persistance. Ces trois espèces – hérissons, ragondis et rats musqués – jouent un rôle important dans la persistance bactérienne. En outre, les ragondins et les hérissons seraient majoritairement excréteurs de leptospires du sérogroupe Australis tandis que les rats musqués seraient plus probablement excréteurs de leptospires du sérogroupe Grippotyphosa. Ces résultats sont résumés dans le tableau II sur la page suivante.

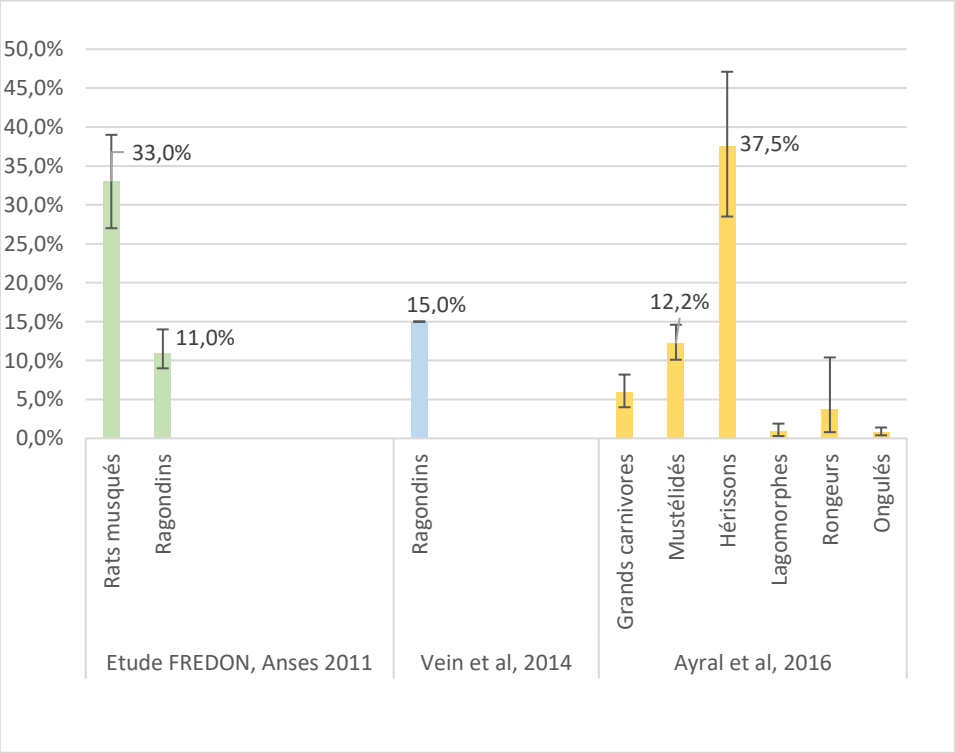


Figure 2 : prévalence du portage de leptospires pathogènes dans les reins (qPCR et/ou cultures) au sein d'espèces de la faune sauvage, hors Rattus sp., (étude FREDON, Vein et al. 2014 et Ayral et al. 2014)

Tableau II : principales espèces de la faune sauvage réservoir pour des leptospires pathogènes et distribution du sérogroupe majoritaire identifié, d'après Vien et al, 2014 ; Ayral et al, 2016 ; projet Geduver, 2010

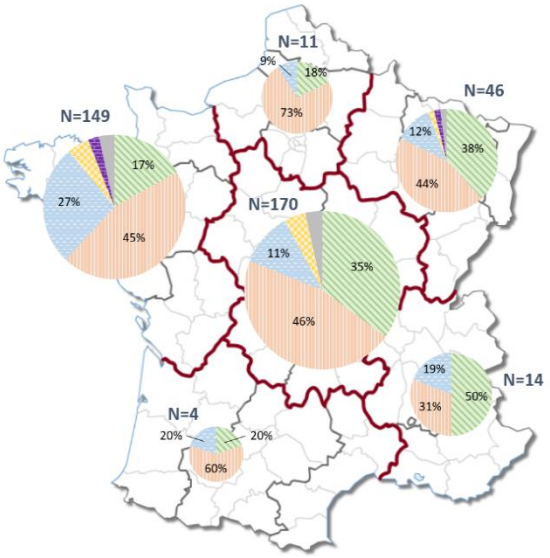
Espèces	Sérogroupe majoritaire	Distribution du sérogroupe majoritaire
Ragondins	Australis	82%[a]
Rats musqués	Grippotyphosa	61%[a]
Hérissons	Australis	80%*[b]

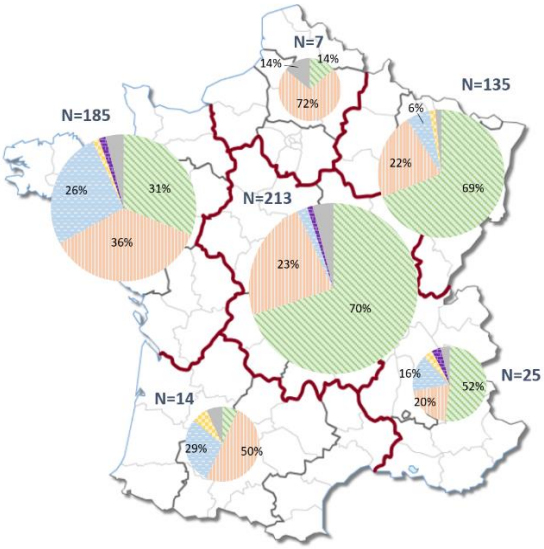
**Le portage est en fait quasi-exclusif, les 20% restant n'ayant pas pu être typés*
[a] Sérogroupe déduit à partir d'analyse sérologique (MAT)
[b] Sérogroupe apparenté déduit à partir des analyses ADN des leptospires retrouvées dans les reins

b) Bovins

Les ruminants, et en particulier les bovins, sont des hôtes de persistance du sérogroupe Sejroe. Les bactéries sont excrétées dans leurs urines, sans que des signes cliniques soient visibles par l'éleveur. Néanmoins, ils peuvent aussi être atteints par d'autres sérogroupes, où ils manifesteront des formes plutôt cliniques à subcliniques.

Aucune étude étudiant la séroprévalence de la leptospirose n'a été réalisée en France. Néanmoins, une étude descriptive réalisée en 2004 en France permet d'établir la présence d'agglutines contre le sérovar hardjo dans 41% des cheptels étudiés (Andre-Fontaine et al. 2010). Deux études (Ayral et al. 2014 ; Gazso 2017) décrivent entre 2008 et 2011 et entre 2012 et 2016 la distribution géographique des sérogroupes chez les bovins et leur répartition géographique, en se basant sur l'ensemble des résultats de MAT enregistrés au laboratoire des leptospires de Marcy l'Etoile (69) pendant ces périodes. En revanche, les tests de ces deux études sont réalisés sur des troupeaux présentant une suspicion clinique. Les résultats sont regroupés dans les figures 3 et 4 de la page suivante : les sérogroupes Australis et Sejroe sont les deux sérogroupes majoritaires quelle que soit la région d'élevage.





Sejroe Australis Grippotyphosa Autumnalis Icterohaemorrhagiae Mixte

Figure 3 : distribution des sérogroupes chez les bovins entre 2008 et 2011 (Ayral, 2014)

Figure 4 : distribution des sérogroupes chez les bovins entre 2012 et 2016 (Gazso, 2017)

3. Cycle épidémiologique

Le cycle épidémiologique est résumé dans la figure 5. Après contact avec des leptospires, celles-ci pénètrent dans l'organisme soit via une peau lésée, soit via des muqueuses (oculaires, buccales, nasales génitales). A partir du sang, les leptospires colonisent les reins et sont ensuite excrétées dans l'environnement par les urines, mais aussi transitoirement par les sécrétions vaginales chez les bovins (Loureiro et al. 2017). Les différents hôtes se contaminent ensuite via l'environnement ou directement via un autre hôte.

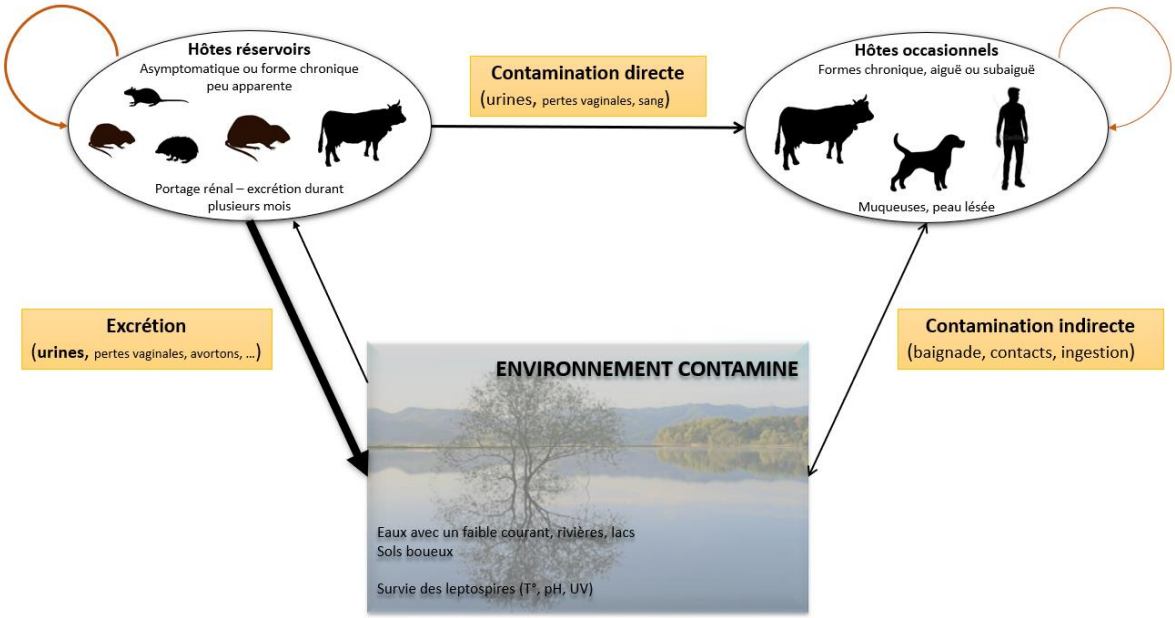


Figure 5 : cycle épidémiologique de la leptospirose, réalisé par l'auteur

4. Facteurs de risques

Les infections dans les troupeaux de bovins sont classées en deux catégories majeures. Dans la première catégorie, les infections sont dues à des souches pour lesquelles le bétail est hôte de persistance. Ce sont les souches apparentées au sérogroupe Sejroe. La seconde catégorie inclut les infections causées par des souches pour lesquelles le bétail est hôte accidentel. Ce sont des souches issues de populations sauvages ou d'autres espèces domestiques. Dans cette catégorie, la transmission est dépendante essentiellement de facteurs environnementaux et des pratiques de gestion permettant des contacts directs ou indirects des bovins avec ces espèces alors que dans la première le contact direct entre bovins a un rôle plus important (Ellis 1984). Les climats chauds et humides sont plus favorables à la seconde catégorie : les conditions climatiques sont optimales pour la survie des bactéries dans l'environnement. Une étude en 2008 (Lilenbaum et al. 2008) montre que le risque d'exposition est près de 3 fois plus élevé pour les animaux vivant en régions à climat tropical par rapport à ceux vivant en régions à climat tempéré. D'autres facteurs tels que des conditions sanitaires limitées, une mauvaise gestion ou une gestion insuffisante des rongeurs, des systèmes d'élevages mixtes sont autant de facteurs favorisant la contamination environnementale et l'exposition des troupeaux (Ellis 2015).

Les pratiques d'élevages ont un impact significatif sur la séroprévalence de la leptospirose mais aussi sur la distribution géographique des sérovars, alors qu'à l'inverse certains facteurs environnementaux tels que la localisation géographique et la topographie ne sont pas significatifs (Lilenbaum et Souza 2003 ; Lilenbaum et al. 2008). Ces deux études basées dans l'état de Rio de Janeiro au Brésil sur des chèvres et des bovins montrent que la supervision vétérinaire a également un impact significatif sur la prévalence. Même lorsque le vétérinaire n'est pas directement impliqué dans un programme de lutte contre la leptospirose, sa présence entraîne indirectement une amélioration des conditions sanitaires et des pratiques d'élevage, ce qui conduit à une diminution de l'incidence des maladies parasitaires et infectieuses, dont la leptospirose.

L'accès au pâturage, et d'autant plus si d'autres espèces y ont accès (porcins, chevaux, autres ruminants, espèces sauvages, chiens en libre accès), est un facteur de risque dans de nombreuses études (Topazio et al. 2015 ; Subharat et al. 2012 ; O' Doherty et al. 2014 ; Miyama et al. 2018 ; Lilenbaum et Souza 2003 ; Lilenbaum et al. 2008 ; Fávero et al. 2017 ; Alonso-Andicoberry et al. 2001 ; Campos et al. 2017). A l'inverse, l'absence de pâturage serait un facteur protecteur (Schoonman et Swai 2010). En effet, cette pratique favoriserait la contamination de l'environnement et augmenterait les probabilités d'infection, notamment si le troupeau peut être en contact avec d'autres espèces porteuses de leptospires pathogènes. Le pâturage est aussi en lien avec le type d'activité – laitier ou allaitant – des troupeaux et la pratique d'un système extensif (Alonso-Andicoberry et al. 2001). La taille du troupeau n'est pas significative, cependant dans certaines études (Miyama et al. 2018 ; O' Doherty et al. 2014 ; Campos et al. 2017) la taille est un facteur de risque significatif. Souvent

couplée à un système intensif (densité d'animaux plus élevée), elle favorise le contact entre les animaux et la probabilité d'une infection au sein du troupeau augmente (Alves et al. 2017 ; Miyama et al. 2018).

Les pratiques de gestion de la nourriture – et notamment leur conservation – semblent également impliquées dans l'exposition des bovins aux leptospires. L'accès à la nourriture par les rongeurs sauvages et les chiens est significativement associé à l'infection bovine (Higino et al. 2013 ; Fávero et al. 2017). L'ajout de concentré dans la ration est un facteur de risque (Topazio et al. 2015), sans doute en lien avec la proximité d'autres espèces qui sont attirées et qui peuvent contaminer cette nourriture alors que l'ensilage (Ben Messaoud 2017) semble diminuer ce risque. Bien que l'ensilage soit susceptible d'être contaminé par des espèces hôtes, son acidité pourrait être une limite à la survie bactérienne. De plus, l'acidification des urines pourrait être un facteur protecteur, en diminuant la transmission des bactéries (Leonard et al. 1992). L'origine de l'eau d'abreuvement pourrait également avoir un effet sur l'exposition des bovins (Campos et al. 2017 ; de Carvalho et al. 2014). Le risque d'exposition est près de 5 fois plus élevé lors d'accès des bovins à l'eau provenant de rivière *versus* du réseau (Fávero et al. 2017) ainsi que l'abreuvement par des bacs à eau (Ben Messaoud 2017).

Les pratiques liées au renouvellement du troupeau ont été décrites comme des facteurs de risque d'exposition. En effet, l'achat de bovins (van Schaik et al. 2002 ; Oliveira et al. 2010) et la pratique de la monte naturelle avec un taureau infecté augmenteraient le risque d'exposition (Ellis 1984 ; 1994). A l'inverse, l'insémination artificielle pourrait être un facteur protecteur (Ellis 2015).

E. Méthodes diagnostiques

Les signes cliniques frustes et non spécifiques limitent les possibilités de diagnostic par le vétérinaire sur le terrain. Le recours aux analyses de Laboratoire est nécessaire pour un diagnostic de certitude. Ces analyses se classent en deux groupes : les tests directs visant la mise en évidence de l'ADN de leptospires, les PCR ou des bactéries elles-mêmes, la culture microbiologique et les tests indirects où l'on détecte des anticorps dirigés contre les bactéries, la sérologie incluant l'ELISA et le MAT. Un résumé des tests couramment utilisés ainsi que leur but est disponible dans le tableau III.

Tableau III : tests disponibles pour le diagnostic de la leptospirose et leur but (OIE, 2018)

Méthode	But					
	Détection d'une population saine	Détecter un individu sain avant importations ou exportations	Contribution aux politiques d'éradication	Confirmation de cas cliniques	Prévalence – surveillance	Statut immunitaire d'un individu ou d'une population après vaccination
Identification de la bactérie						
Culture et identification	-	+++	-	+++	-	-
PCR	-	++	-	++	-	-
Détection de la réponse immunitaire						
MAT	-	+++	-	++	+++	-
ELISA	+++	-	+++	+++	++	+++

Légende :

+++ Méthode recommandée
++ Méthode convenant pour cette indication
- Non approprié pour cet objectif

1. Identification de l'agent

a) Cultures

Isoler et identifier des leptospires est la méthode la plus spécifique. Cependant, la sensibilité est faible car la croissance des leptospires demande un travail long et rigoureux et dépend de facteurs externes comme le niveau de contamination bactérienne. Les cultures doivent être incubées jusqu'à 16 semaines, et une étude (Ellis 1986) suggère qu'il faudrait les garder jusqu'à 26 semaines. Elles sont examinées au microscope à fond noir toutes les semaines. Le temps de pousse dépend aussi de la souche mise en culture. Par exemple, pomona et grippotyphosa sont deux sérovars qui peuvent donner des cultures positives après une dizaine de jours, contrairement à hardjo ou bratislava. De plus, si l'infection est ancienne, si l'animal a reçu des antibiotiques, ou si l'autolyse est avancée, il peut être difficile de détecter des organismes intacts. Les échantillons doivent donc être rapidement acheminés au laboratoire et, dans le cas de l'urine, à un pH convenable. Les contaminations peuvent être gérées par l'ajout de plusieurs agents sélectifs. Cependant, lorsque le nombre de leptospires viables dans l'échantillon est faible, l'utilisation de certains d'entre eux peut réduire les chances de les isoler. Enfin, certaines souches ne poussent pas dans ces milieux sélectifs contenant plusieurs antibiotiques (OIE 2018).

La culture est régulièrement utilisée pour le diagnostic de la leptospirose humaine et canine mais est rarement utilisée chez les bovins du fait de son coût et de sa faible sensibilité. La présence de bactéries dans le tractus génital, les reins ou l'urine doit être interprétée en considération des signes cliniques. Le prélèvement d'urine après administration de

diurétiques augmente les chances de détecter des leptospires (Nervig et Garrett 1979). Ne pas détecter de leptospires dans les urines n'élimine cependant pas la possibilité que l'animal soit un porteur rénal chronique : l'excrétion peut ne pas être suffisante pour qu'elles soient détectables au moment de l'analyse. Pour un individu, on considère que des tests négatifs sur des urines prélevées sur trois semaines consécutives prouvent que l'animal n'excrète pas de leptospires dans ses urines (OIE 2018).

Pour les fœtus, la présence de leptospires dans les fluides corporels ou les organes internes (reins, foie, poumons, encéphale) est diagnostique d'une forme chronique de leptospirose chez la mère et d'une infection active chez le fœtus.

b) Techniques de coloration immunochimique

Bien que la technique de coloration immunohistochimique ne soit pas accessible en routine, lorsque les conditions de mise en culture ne sont pas remplies, notamment si l'autolyse est trop avancée, les techniques d'immunohistochimie sont particulièrement utiles pour identifier des antigènes résiduels de leptospires. Néanmoins, elles dépendent du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon et ne permettent pas de détecter des porteurs chroniques. De plus, les leptospires ne prennent pas de manière satisfaisante les colorations à l'aniline et les techniques de coloration à l'argent manquent de sensibilité et de spécificité, bien qu'elles soient utiles en complément des diagnostics histopathologiques (OIE 2018).

c) Méthode de détection des acides nucléiques

La PCR est utilisée pour détecter les leptospires dans les prélèvements car elle peut donner le diagnostic d'une infection en cours et ce diagnostic peut être plus précoce que la sérologie. La PCR en temps réel est plus rapide que les PCR classiques et moins sensible à la contamination (Picardeau 2013). Ces méthodes ne permettent pas d'identifier le sérovar infectant mais des méthodes complémentaires permettent d'identifier l'espèce par séquençage des amplifiats. L'identification de l'espèce n'est toutefois pas réalisée en routine. La présence d'inhibiteurs de l'amplification dans les échantillons peut donner des faux négatifs, particulièrement dans les échantillons qui peuvent être contaminés par des fèces ou de l'autolyse. Les contrôles qualités pour les PCR demandent une attention particulière pour Interpréter et valider les résultats. Dans ce but, des échantillons témoins appropriés doivent être utilisés.

2. Les tests sérologiques

Les tests sérologiques sont les tests les plus fréquemment utilisés pour confirmer un diagnostic clinique, pour déterminer la séroprévalence au sein d'un troupeau et pour conduire des études épidémiologiques. Comme vu précédemment, les anticorps peuvent persister plusieurs mois après l'épisode clinique. Cependant, les niveaux d'anticorps peuvent être en-deçà du seuil de détection lorsque l'animal a une forme chronique de leptospirose. Pour

surmonter ce problème, il faudrait des méthodes plus sensibles pour détecter les organismes dans les urines ou dans le tractus génital des porteurs chroniques. Deux tests sont utilisés en médecine vétérinaire : le MAT (microscopic agglutination test) et l'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

a) MAT

Le MAT est le test sérologique le plus communément utilisé et est le test de référence en médecine humaine et animale. C'est un test indirect qui permet d'évaluer la réponse sérologique et qui repose sur l'utilisation de souches de leptospires pathogènes de référence entretenues dans le laboratoire. Le sérum est mis en contact avec des suspensions de bactéries vivantes, chaque suspension correspondant à un sérovar donné. Après incubation, les mélanges sérum/leptospires sont examinés au microscope à fond noir pour évaluer leur degré d'agglutination. Il y a autant de mélanges que de sérovars testés. Le titre donné en résultat correspond à la dilution la plus forte qui permet d'observer 50 % d'agglutination. Pour une meilleure sensibilité, les antigènes utilisés doivent être représentatifs des souches qui circulent dans la région et de celles qui sont connues pour être fréquemment retrouvées dans l'espèce testée. La sensibilité peut également être augmentée en utilisant des souches venant d'isolats locaux plutôt que des souches de référence, cependant celles-ci permettent de faciliter l'interprétation des résultats entre laboratoires. La spécificité est bonne et il n'y a généralement pas de réactions croisées avec d'autres bactéries. Cependant, les séro-réactions croisées sont fréquentes entre les sérovars et dans une moindre mesure entre les sérogroupes (Kusum et al. 2005). Ainsi, la sérologie ne peut pas être utilisée pour identifier avec certitude le sérovar infectant et selon des critères d'interprétation décrits par Chappel *et al* en 2004, le MAT peut fournir une indication du sérogroupe. Par ailleurs, des vaccins sont aujourd'hui disponibles pour l'Homme, les chiens et les bovins en France. Les animaux vaccinés contre la leptospirose ont des anticorps contre les sérovars des sérogroupes présents dans le vaccin : il est particulièrement important de prendre en compte l'historique vaccinal d'un animal avant d'interpréter les résultats sérologiques (OIE, 2018).

Pour le diagnostic de la leptospirose bovine, il n'y a pas de consensus sur le titre seuil de positivité. Un titre de 1 : 100 est couramment utilisé pour définir un résultat positif. Toutefois, au niveau individuel, ce seuil ne discrimine pas des individus infectés chroniques des individus anciennement infectés. De plus, ce titre est défini après observation au microscope à fond noir. Le résultat donné est donc subjectif et dépendant de l'opérateur, ce qui peut entrainer des variations dans les résultats selon l'opérateur (Levett 2001 ; OIE 2018).

Chez les bovins, le diagnostic de certitude peut se faire au niveau individuel uniquement lors de formes aiguës de la maladie et à partir des résultats de deux sérologies à 7 jours d'intervalle indiquant une augmentation du titre d'au moins 4 dilutions. Son intérêt est en revanche limité dans le cas d'une infection chronique, à la fois en cas d'avortement (Ellis et al. 1982) et de portage rénal ou génital (Ellis 1986) où les titres observés sont faibles et peu

fluctuant au cours du temps. Une étude a montré en 1986 (Ellis 1986) que lorsque qu'un titre de 1 : 100 est pris comme seuil significatif, la sensibilité du test n'est que de 41 %, et même lorsque ce seuil est abaissé au titre de 1 : 10, la sensibilité monte seulement à 67 %. Il est également important de prendre en compte le sérovar infectant et les manifestations cliniques de l'animal. Par exemple, dans le cas d'avortements induits par le sérovar pomona, un titre élevé y est généralement associé car cela se produit peu de temps après l'infection. A l'inverse, les avortements dus au sérovar hardjo prennent une forme chronique et la réponse sérologique au moment où la vache avorte est variable, celle-ci pouvant être séronégative (OIE 2018).

Le MAT est indiqué pour déterminer le statut des troupeaux. Cole, Ellinghausen, et Rubin (1979) suggèrent que les échantillons doivent être pris sur au moins 10 animaux ou 10 % du troupeau pour les troupeaux supérieurs à 100 têtes. Hathaway, Little, et Pritchard (1986) précisent qu'un échantillon de 10 vaches permet de confirmer ou d'infirmer la présence de l'infection au sein du troupeau, mais il faut augmenter la taille de l'échantillonnage pour obtenir plus d'informations.

b) ELISA

De nombreux tests ELISA ont été développés et sont utilisés pour détecter des infections récentes ou, pour les bovins, établir des plans de santé pour surveiller les taux d'infections au sérovar hardjo (OIE 2018). La spécificité du test dépend des antigènes utilisés. Les préparations à base de protéines recombinantes de la membrane externe sont fortement réactives pour toutes les leptospires pathogènes et n'ont donc pas d'intérêt dans les études épidémiologiques car les résultats ne donnent pas d'indication sur le sérogroupe impliqué. Ce n'est cependant pas le cas lorsque les antigènes basés sur le LPS sont utilisés. Ceux-ci ont été développés pour être utilisables sur le lait (individuellement ou sur lait de tank) pour la détection des anticorps contre hardjo et ont été efficaces dans le cadre de programme de contrôle ou d'éradication (Pritchard 2001). De plus, les animaux qui ont été vaccinés contre le sérovar d'intérêt peuvent être positifs à certains ELISA et compliquer l'interprétation des résultats. La validation de ces tests est également une contrainte majeure. Dans la grande majorité des cas, les tests sont validés en utilisant le MAT comme référence (avec un titre seuil de 1 : 100 ou supérieur), ce qui est imparfait, celui-ci ayant une sensibilité inférieure à 50 % dans le cas d'infections chroniques par le sérovar hardjo (Ellis 1986).

Au vu des connaissances exposées ci-dessus, il paraît donc opportun de dégager des indicateurs de risque afin d'établir des critères objectifs pouvant aider le praticien vétérinaire à suspecter une infection par des leptospires en élevage bovin, celles-ci pouvant être cause de problèmes reproducteurs – et donc économiques – chroniques. Dans ce but, une étude ciblant leur distribution et leur prévalence dans les élevages bovins est réalisée, en s'appuyant sur les tests laboratoires et une étude cas-témoin.

II. Matériel et méthode

A. Définition du statut des élevages

1. Echantillonnage

Un échantillonnage de convenance a été réalisé en s'appuyant sur la surveillance programmée de dangers sanitaires réglementés en élevage. De cette façon, il était possible de prélever le sang de bovins de plus de 24 mois dans tous les élevages allaitants d'un secteur donné. En l'occurrence, des bovins issus des 48 élevages de l'ouest lyonnais ayant pour vétérinaires sanitaires les praticiens de l'unité clinique rurale de l'Arbresle (UCRA), Rhône, France, ont été prélevés. Un code est attribué à chacun de ces élevages, allant de E01 à E48. L'unité épidémiologique est l'élevage. Pour chacun de ces 48 élevages, le but est de déterminer dans un premier temps le statut sérologique vis-à-vis de la leptospirose selon les recommandations de l'OIE (OIE 2018).

Au moins dix bovins sélectionnés au hasard dans chaque élevage et parmi les bovins soumis à la surveillance programmée (> 24 mois) ont fait l'objet d'une prise de sang à la veine caudale sur tube sec. Lorsque l'effectif des bovins présents était inférieur à 10, la totalité des individus était prélevée.

Afin de déterminer le statut infectieux par des méthodes de détection directe de leptospires, des élevages ont été ciblés selon les critères suivants :

- Au moins deux bovins allaitants séropositifs,
- Disposer de bovins allaitants manipulables ou de bovins laitiers séropositifs pour réaliser des prélèvements urinaires,
- Obtenir le consentement éclairé de l'éleveur.

Trois élevages ainsi sélectionnés (E10, E16 et E48) ont fait l'objet de prélèvements complémentaires dans ce cadre, lors de des étés 2018 et 2019 (tableau IV).

Tableau IV : prélèvements supplémentaires effectués dans les élevages E16 et E48

Elevage	*Date*	*Prélèvement*	*Nombre*	*Test*
E10	Mai 2018	Urine	6	PCR
E16	Juin 2018	Prise de sang (tube sec)	10	MAT
	Octobre 2018	Prise de sang (tube sec)	10	MAT
		Urine	14	PCR
	Juillet 2019	Urine	23	qPCR / cultures
E48	Juin 2018	Urine	16	PCR
	Juillet 2018	Urine	3	PCR
	Novembre 2018	Urine	2	PCR

2. Définition des élevages exposés – non exposés

Chaque tube de sang est transféré au laboratoire des leptospires à Marcy l'Etoile (69, France), où un test de micro-agglutination (MAT) est effectué. Le principe du MAT repose sur l'observation microscopique d'une agglutination de plus de 50 % de leptospires d'un sérovar donné avec les anticorps contenus dans le sérum de l'individu testé. Le MAT est le test de référence pour le diagnostic de la leptospirose humaine et animale. Le test étant semi quantitatif (sérum testé à plusieurs dilutions), il rend compte d'un niveau de concentration d'anticorps qui peut être suggestif d'une infection passée ou en cours. Enfin, le MAT est répété avec plusieurs souches de référence afin de tester la présence d'anticorps spécifiques d'un sérogroupe ou sérovar donné. Le Laboratoire des Leptospires met en œuvre le MAT selon les normes de l'OIE (OIE 2018 ; Hathaway et al. 1986).

Des souches de 23 sérovars différents et répartis en 13 sérogroupes sont cultivées et utilisées pour ce test. Toutes ces souches sont des souches de référence ou des isolats sauvages obtenus à partir de prélèvements pathologiques. Ces sérovars et leur sérogroupe correspondant sont regroupés dans le tableau V.

Tableau IV : liste des sérovars utilisés pour le MAT au sein du laboratoire des leptospires, Marcy l'Etoile

Sérogroupes	**Sérovars**
Australis	Australis Bratislava Munchen
Autumnalis	Autumnalis Bim
Ballum	Castellonis
Bataviae	Bataviae
Canicola	Canicola
Grippotyphosa	Grippotyphosa Vanderhoedoni
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae Copenhagueni
Javanica	Javanica
Panama	Panama Mangus
Pomona	Pomona Mozdok
Pyrogenes	Pyrogenes
Sejroe	Sejroe Saxkoebing Hardjo Wolffi
Tarassovi	Tarassovi

L'interprétation du MAT est limitée par les réactions croisées fréquentes entre les sérovars d'un même sérogroupe, mais aussi parfois entre sérogroupes lorsque l'infection est récente (Levett 2001). C'est en partie dû au fait que ce test détecte à la fois les IgM et les IgG, les IgM n'étant pas spécifiques du sérogroupe (Adler et Faine 1978). Afin de limiter ces réactions croisées au sein des sérogroupes, les résultats sont interprétés à l'échelle des sérogroupes en associant au sérogroupe le titre observé le plus haut parmi tous ses sérovars.

Un élevage était séropositif lorsqu'au moins un individu avait un résultat MAT positif. Un résultat MAT était considéré positif lorsqu'au moins un sérovar avait un titre supérieur ou égal à 1 : 100. Il n'y a actuellement pas de consensus sur le seuil de positivité du MAT chez les bovins cependant l'utilisation de ce seuil est recommandé par l'OIE (OIE 2018).

La séroprévalence était calculée pour l'ensemble des individus testés, en faisant le ratio entre le nombre de bovins séropositifs et le nombre total de bovins prélevés, soit 481. L'intervalle de confiance à 95 % a été calculé en utilisant le logiciel R et la commande « binom.test(x,n, alternative = « two.sided », conf.level=0 .95)$conf.int », où x représente le nombre de cas positifs et n l'échantillonnage total. La même méthode était appliquée pour déterminer la séroprévalence et l'intervalle de confiance à 95 % associé à l'échelle du troupeau.

3. Définition des élevages infectés et non infectés

Dans les trois élevages E10, E16 et E48, une recherche de leptospires pathogènes par des méthodes de détection directe a été mise en œuvre (PCR point final, PCR en temps réel et culture bactérienne). Dans ce but, des prélèvements d'urine ont été effectués par sondage urinaire ou miction spontanée et envoyés au laboratoire des leptospires de Marcy l'Etoile (69, France) durant l'été et l'automne 2018.

a) PCR point final

Une PCR de détection de l'ADN de leptospires est réalisée, selon le protocole d'amplification du locus 16S de l'ADN ribosomal décrit dans une étude précédente (Merien et al. 1992). Cependant, cette séquence est commune aux espèces de leptospires pathogènes et non pathogènes. C'est pourquoi l'amplification du locus secY (Ahmed et al. 2006), spécifique des leptospires pathogènes, est ajoutée. Chaque échantillon est testé en condition pur et dilué au dixième.

b) PCR temps réel

D'après l'expérience du Laboratoire des Leptospires, l'excrétion des bactéries étant faible et intermittente, et l'ADN étant rapidement dégradé dans les urines, une PCR quantitative spécifique des leptospires pathogènes (VetMAX™ PathoLept™ Kit ; TaqVet PathoLept, LSI, France) a été indiquée et utilisée en juillet 2019 dans l'élevage E16. Afin d'optimiser la

sensibilité de détection urinaire en élevage (probabilité ≥ 95 % de détecter un élevage infecté, calcul réalisé à partir des données d'Otaka et al. 2012), un effectif de 30 individus prélevés était ciblé. Les échantillons étaient acheminés au laboratoire dans les quatre heures et pris en charge immédiatement (extraction de l'ADN) afin d'optimiser la détection d'ADN.

c) Cultures

Dès la prise en charge au Laboratoire, les échantillons sont également mis en culture aux dilutions suivantes : 1/10, 1/100 et 1/500 sur un milieu sélectif STAFF (Loureiro et al. 2015). Le temps requis pour détecter des cultures positives varie selon le sérovar et le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon et reste relativement long. Les cultures sont donc incubées pendant au moins 8 semaines à 37°C. Chaque semaine, les cultures sont examinées au microscope à fond noir à la recherche de leptospires, dans le respect des recommandations de l'OIE (OIE 2018).

4. Identification du sérogroupe infectant le plus probable

La détermination du sérogroupe le plus probable auquel un individu a été exposé, appelé ici « sérogroupe incriminé » est établi en prenant le sérogroupe associé à un titre au moins deux fois supérieur aux sérovars des autres sérogroupes (Chappel et al. 2004). Pour limiter les erreurs d'interprétation dues aux séro-réactions croisées régulièrement observées, lorsque plus de deux sérogroupes sont associés à des titres égaux ou équivalent (moins de 2 dilutions d'écart), aucun sérogroupe incriminé n'était déterminé. Dans l'exemple suivant (tableau VI), le prélèvement 86517 est séropositif pour Australis et Sejroe. Le titre le plus haut est considéré (200) et le sérogroupe incriminé est Sejroe. Le prélèvement 87564 a quant à lui réagit à plus de deux sérogroupes avec des titres égaux. Aucun sérogroupe n'est donc incriminé.

Tableau V : exemple de résultats obtenus par le MAT et détermination du sérogroupe incriminé pour un individu

Prélèvement	Code élevage	Australis	Canicola	Icterohae-morrhagiae	Pyrogenes	Sejroe	Sérogroupe incriminé	Titre retenu
86517	E02	100	0	0	0	200	SEJ	200
87564	E26	100	100	100	100	0	//	100

Le sérogroupe dominant à l'échelle de l'élevage est ensuite défini en attribuant à l'élevage le sérogroupe identifié pour la majorité des individus séropositifs et à titres équivalents. Dans l'exemple donné par le tableau VII, le sérogroupe incriminé pour l'élevage E02 est Sejroe.

Tableau VI : exemple de résultats obtenus par le MAT et détermination du sérogroupe incriminé à l'échelle de l'élevage

Prélèvement	Code élevage	Australis	Panama	Sejroe	Sérogroupe incriminé	
					Individu	Elevage
86508	E02	0	0	0		SEJ
86509	E02	0	0	0		
86510	E02	0	0	400	SEJ	
86511	E02	0	0	200	SEJ	
86512	E02	0	0	0		
86513	E02	0	0	0		
86514	E02	200	0	0	AUS	
86515	E02	0	0	0		
86516	E02	0	0	0		
86517	E02	100	0	200	SEJ	

SEJ : sérogroupe Sejroe
AUS : sérogroupe Australis
ND : sérogroupe non déterminé

B. Etude des indicateurs de risque selon une approche descriptive

1. Description des variables écologiques

a) Occupations des sols

Corine Land Cover (CLC) est un inventaire biophysique de l'occupation des sols, produit par le Service de la donnée et des études statistiques du ministère chargé de l'écologie avec l'Institut national de l'information géographique et forestière (IGN). Cette base de données permet de différencier 5 grands types d'occupation du territoire : (1) les territoires artificialisés, (2) les territoires agricoles, (3) les forêts et milieux semi-naturels, (4) les zones humides et (5) les surfaces en eau. Ces variables écologiques sont utilisées pour mettre en évidence des liens entre le statut des élevages et la proportion de chacun de ces types d'occupation aux alentours.

b) Statut infectieux des petits mammifères et rongeurs sauvages (mise à profit des résultats de l'étude menée par Rebecca HER 2018-19)

Dans une étude conjointe réalisée par Rébecca Her pour sa thèse d'exercice vétérinaire, dont les résultats ne sont à ce jour pas encore publiés, le statut infectieux d'animaux sauvages a été déterminé. Quatre sessions de capture de deux semaines ont été organisées entre mai 2018 et mai 2019 sur différentes pâtures des élevages E16 et E48. Ces captures ont permis d'échantillonner des petits mammifères sauvages présents sur les pâtures utilisées par les vaches. Des ragondins, rats musqués et fouines ont été également récupérés *via* le réseau de piégeurs de la fédération de chasse du département du Rhône. A chaque fois, les coordonnées géographiques du lieu de capture ont été notées.

Le statut infectieux des individus a été obtenu selon le résultat d'une PCR point final appliquée sur le tissu rénal, le tissu pulmonaire et éventuellement les urines. L'individu était infecté lorsque la PCR était positive sur au moins une des 3 matrices. La proportion d'individus infectés par pâture est indiquée dans le tableau VIII. Lors de résultat positif, le typage moléculaire de la souche infectante (séquençage du gène 16S et Variable Number Tandem Repeat, VNTR) était réalisé. Les données de typage pourront être utilisées pour mettre en perspectives les profils génétiques des leptospires éventuellement détectées pour les bovins.

Tableau VII : nombres d'individus infectés dans des pâtures autour des élevages E16 et E48

Elevages	*Numéro de la pâture*	*Nombres d'animaux capturés*	*Résultats PCR*		*Proportion d'animaux infectés*
			+	-	
E48	1	14	3	11	21%
	2	10	4	6	40%
	3	15	3	12	20%
	4	2	0	2	0%
E16	1*	49	7	42	13%
	2	5	2	3	40%
	3	13	1	12	8%

**Cette pâture a fait l'objet de 2 suivis, dont les résultats sont additionnés.*

Une analyse descriptive des distributions des animaux sauvages infectés et des élevages exposés a été réalisée via une cartographie effectuée grâce au logiciel QGIS (Equipe de développement de QGIS, 2019), tout comme l'ensemble des représentations et analyses spatiales réalisées par la suite. Pour se faire, les résultats issus des captures sur chaque pâture et du réseau de la fédération de chasse ont été groupés. Les coordonnées GPS du lieu de capture ont permis de placer les individus étudiés sur une carte avec les élevages. Lorsque plusieurs individus correspondaient à un même point géographique, un seul point a été disposé sur la carte, sans tenir compte de l'effectif.

2. Distribution spatiale du statut des élevages et des variables

La distribution spatiale des élevages a été cartographiée à partir des coordonnées géographiques des 48 élevages correspondant à l'adresse indiquée par l'éleveur pendant le questionnaire (*Cf infra*) ou aux indications de l'équipe vétérinaire de l'UCRA. Les shapefiles utilisés pour le fond de carte sont (1) la base de données Corine Land Cover (CLC, 2012) et (2) le découpage administratif communal (© les contributeurs d'OpenStreetMap sous licence ODbL). Pour cette carte, le système de projection Lambert 93 a été utilisé pour l'ensemble des couches.

C. Etude des indicateurs de risque selon une approche analytique

1. Description des variables

a) Variables environnementales et extraction des données

Une approche spatiale a permis d'extraire des variables relatives à l'occupation des sols autour des élevages afin de tester leur intérêt comme indicateurs de risques d'exposition aux leptospires. Dans un premier temps, le questionnaire a permis de déterminer les élevages dont les pâtures sont situées à moins de 3 km à vol d'oiseau de la stabulation et uniquement ceux-ci ont été inclus pour les analyses environnementales. Les coordonnées de la stabulation ont permis de placer le point élevage sur la carte. Des shapefiles CLC (Corine Land Cover, 2012) et BD TOPO® (2018) - représentant le réseau hydrographique – ont été utilisés. Cette carte utilisait également le système de projection RGF Lambert 93, qui a pour unité le mètre.

Dans un second temps, autour des points élevages, 4 zones tampons fixes ont été créées, de rayons 500, 1500, 2000 et 3000 mètres. L'outil « Intersection » et la fonction mathématique « $area » ont été utilisés pour découper ces zones avec la couche vecteur de CLC et ainsi obtenir la surface en mètres carrés de chaque type d'utilisation des sols à l'intérieur de chacune des zones. Une autre variable a été ensuite créée en calculant la longueur de tous les cours d'eau au sein de chaque zone, via l'outil « somme des longueurs des lignes ». Enfin, ces résultats ont été exportés dans une table de données sur Excel (Microsoft® Excel® pour Office 365).

b) Variables zootechniques et environnementales relatives à l'élevage (disponible dans l'annexe 1)

c) Collecte des données à partir d'un questionnaire téléphonique

Dans le but de déterminer des indicateurs de risques favorisant ou non l'exposition des troupeaux à la leptospirose, un questionnaire destiné aux éleveurs a été élaboré à partir de celui conçu par Khaoula Ben Messaoud dans ces travaux de Master (Ben Messaoud 2017). Des indicateurs ont été supprimés (par exemple, enregistrement d'avortement ou nombre de visites vétérinaires mensuelles) sur la base de l'analyse *a posteriori* du questionnaire Ben Messaoud, 2017. D'autres ont été ajoutés à partir de la littérature (voir partie I).

L'ensemble des questions est disponible en annexe 2. Ce questionnaire a été soumis aux éleveurs au mois de juin 2019 pendant des entretiens téléphoniques, d'une durée moyenne de 10 à 12 minutes. Il comporte 31 questions réparties en quatre parties, nommées indentification, fonctionnement global, alimentation et abreuvement et rongeurs. Il a permis d'extraire 39 variables, dont la liste et la définition sont données en annexe 1. La totalité des réponses ont été collectées dans un tableur Excel (Microsoft® Excel® pour Office 365).

2. Analyses statistiques

L'ensemble des données environnementales et zootechniques extraites ont été analysées via le logiciel R (R Core Team, 2019). Des Boosted Regression Trees (BRT) ont été utilisés (Elith, Leathwick, et Hastie 2008) pour déterminer les variables ayant le plus de poids dans le statut « élevage exposé ». Cette méthodologie a été appliquée en deux temps : (1) analyse de l'importance des variables selon le statut séropositif ou séronégatif et (2) analyse selon si l'élevage est infecté par le sérogroupe Australis par rapport aux élevages séronégatifs, infectés par le sérogroupes Sejroe ou par un sérogroupe non déterminé.

Dans chacun des cas décrits précédemment, les variables ayant un poids supérieur à un 1 ont été incluses dans un modèle de régression logistique univarié afin de quantifier leur capacité à prédire le statut d'exposition des élevages. Les variables pour lesquelles l'odds ratio était associé à une p-value inférieure à 0,2 ont été incorporées dans un modèle de régression logistique multivariée en utilisant la fonction « glm » du logiciel R et soumises à la fonction « stepAIC » afin de définir la combinaison de variables la plus pertinente pour prédire le statut d'exposition des élevages.

III. Résultats

A. Statut des individus et des élevages

1. Elevages exposés et non exposés

a) A l'échelle individuelle

Les résultats du MAT et le sérogroupe incriminé pour chaque individu ont été consignés dans un fichier Excel (Excel Microsoft), disponible en annexe 3. Un total de 481 bovins a été échantillonné pour définir le statut sérologique des 48 élevages étudiés. 10 bovins ont été prélevés dans chaque élevage, à l'exception des élevages E10, E27, E28, E41, E43, E45 et E48 où respectivement 6, 11, 11, 16, 11, 4 et 12 bovins ont été échantillonnés. Parmi ces 481 bovins, 73 étaient séropositifs pour au moins un des 23 sérovars testés, ce qui correspond à une séroprévalence de 15 % ($IC_{95\%}$ [12 % ; 19 %]) des individus. Aucune séroréaction n'a eu lieu pour les sérogroupes Tarassovi, Pomona, Bataviae et Ballum. Le sérogroupe prédominant a été déterminé pour 72 bovins. Le bovin 87564 (E26) a réagi pour les sérogroupes Australis, Canicola, Icterohaemorrhagiae et Pyrogenes avec des titres égaux : aucun sérogroupe n'est déterminé comme expliqué dans la partie Méthode.

Face au nombre beaucoup plus important de réactions aux sérogroupes Sejroe (n = 21) et Australis (n = 47) par rapport aux autres (n = 4), seuls ces deux sérogroupes ont été considérés pour la suite des analyses. En conséquence, les bovins 87421 (E23), 87604 (E27) et 88818 (E46) qui ont réagi avec des titres égaux pour deux sérogroupes, précisément, Australis (titres 1 : 200 ; 1 : 100 et 1 : 100) et respectivement Panama (titre 1 : 200), Pyrogenes (1 : 100) et Panama (1 : 100), ont été associés à une exposition au sérogroupe Australis. Panama et Pyrogènes étant peu rapportés en France, il s'agissait plus probablement de réaction croisée.

La répartition des sérogroupes et la distribution des titres sont représentées dans les figures 7a et 7b : les bovins étaient exposés principalement aux sérogroupes Australis et Sejroe. Un bovin était exposé au sérogroupe Grippotyphosa. Quel que soit le sérogroupe incriminé, les titres associés étaient majoritairement de 1/100 ou 1/200.

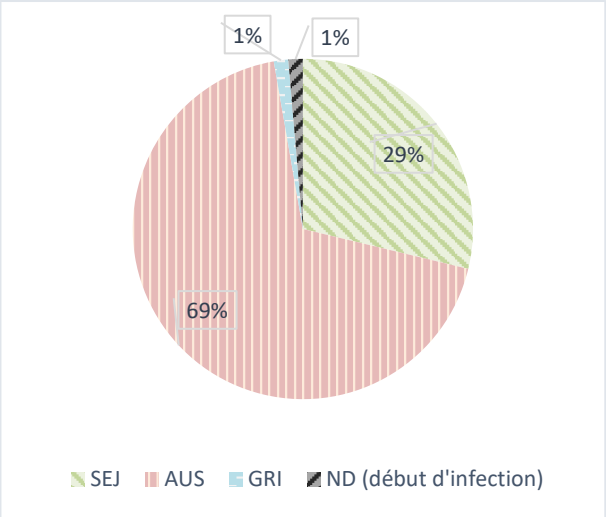


Figure 7a : répartition des sérogroupes pour les 73 bovins séropositifs

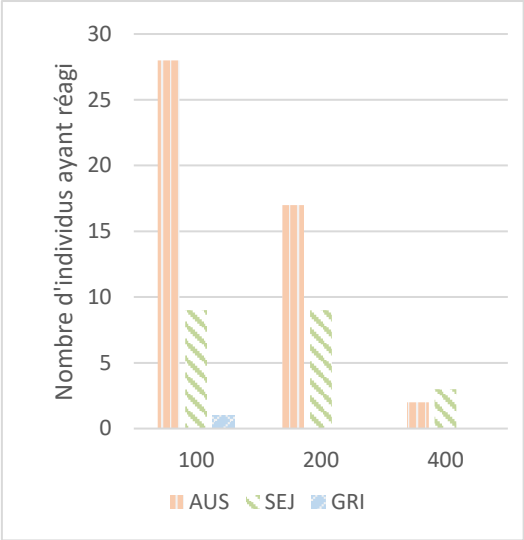


Figure 7b : distribution des titres du MAT pour chaque sérogroupe

b) A l'échelle du troupeau

Le tableau IX de la page suivante présente les résultats obtenus pour l'ensemble des 48 élevages.

Au total, 27 élevages étaient séropositifs, soit une exposition aux leptospires pathogènes de 56 % ($IC_{95\%}$ [41 % ; 70 %]) des troupeaux. La répartition des sérogroupes est représentée dans la figure 8, ci-dessous. Le sérogroupe incriminé a été Australis pour 19 élevages, Sejroe pour 4 et il n'a pas pu être déterminé pour 4 d'entre eux.

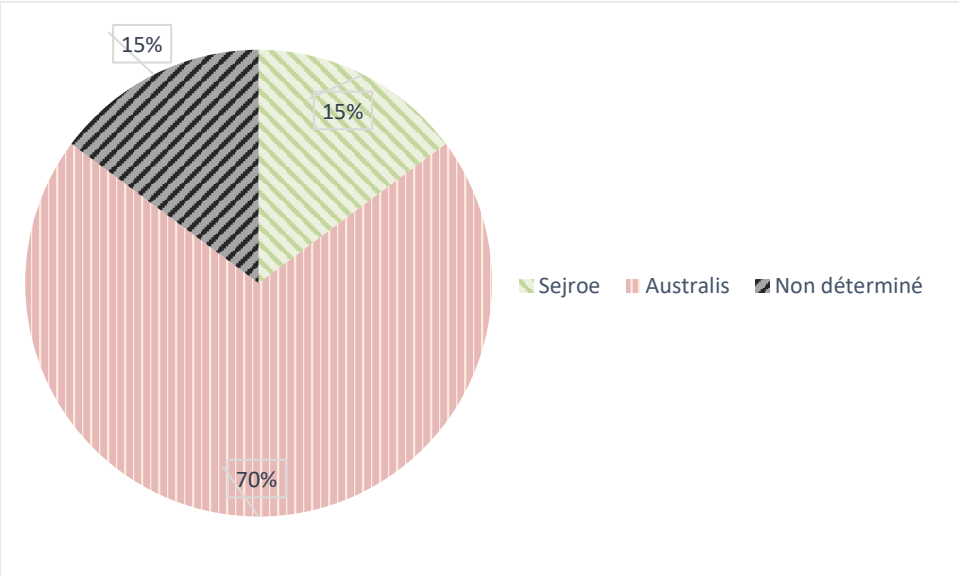


Figure 8 : répartition des sérogroupes incriminés dans les 48 élevages étudiés

Tableau VIII : résultats du MAT pour les 48 élevages

Code élevage	Nombre de prélèvements	Statut	Nombre de bovins séropositifs	Sérogroupe incriminé
E01	10	0	0	
E02	10	1	4	SEJ
E03	10	1	3	ND
E04	10	1	3	AUS
E05	10	1	2	AUS
E06	10	0	0	
E07	10	1	3	SEJ
E08	10	0	0	
E09	10	1	2	AUS
E10	6	1	5	AUS
E11	10	1	1	AUS
E12	10	0	0	
E13	10	1	2	AUS
E14	10	1	4	SEJ
E15	10	0	0	
E16	10	1	2	ND
E17	10	0	0	
E18	10	0	0	
E19	10	1	4	SEJ
E20	10	0	0	
E21	10	0	0	
E22	10	0	0	
E23	10	1	6	AUS
E24	10	0	0	
E25	10	0	0	
E26	10	1	1	ND
E27	11	1	2	AUS
E28	11	0	0	
E29	10	0	0	
E30	10	0	0	
E31	10	1	2	AUS
E32	10	0	0	
E33	10	1	2	AUS
E34	10	1	2	AUS
E35	10	1	2	ND
E36	10	0	0	
E37	10	1	6	AUS
E38	10	0	0	
E39	10	1	2	AUS
E40	10	1	2	AUS
E41	16	1	2	AUS
E42	10	0	0	
E43	11	0	0	
E44	10	0	0	
E45	4	1	1	AUS
E46	10	1	3	AUS
E47	10	1	3	AUS
E48	12	1	2	AUS

ND : sérogroupe non déterminé
Les cases grisées représentent les élevages séropositifs (statut 1)

2. Statut infectieux des élevages

Les résultats des examens complémentaires réalisés dans les élevages E10, E16 et E48 sont synthétisés dans le tableau X ci-dessous.

Tableau IX : résultats supplémentaires dans les élevages E10, E16 et E48

Elevage	*PCR*			*qPCR*			*MAT*			*Cultures*		
	+	-	*Total*	+	-	*Total*	+	-	*Total*	+	-	*Total*
E10	0	6	*6*									
E16	4	17	*21*									
E48	9	5	*14*	0	24	*24*	1	19	*20*	0	24	*24*

Les PCR réalisées dans les élevages E16 et E48 étaient faiblement positives. De plus, parmi les 9 résultats positifs obtenus dans l'élevage E48, seule la PCR 16S, non spécifique des leptospires pathogènes, était positive. Cependant, les séquences obtenues n'ont pas permis de conclure sur l'espèce infectante : la faible concentration en ADN peut être une des causes de cet échec.

Les urines de 24 bovins ont été collectées dans l'élevage E48 pour leur analyse par PCR en temps réel et culture microbiologique. Tous les échantillons étaient négatifs par la PCR temps réel et la culture.

Au final, l'ensemble des méthodes de détection directe appliquées n'a pas permis de mettre en évidence la présence de leptospires ou de ses acides nucléiques.

B. Approche descriptive

1. Distribution spatiale des élevages

Les figures 9, 10 et 11 sur les pages suivantes représentent la distribution spatiale des élevages selon leur statut sérologique, le sérogroupe incriminé et le nombre d'individus séropositifs respectivement. La proportion d'élevage séropositif est plus importante dans la moitié est de la zone d'étude.

La distribution des élevages exposés à Australis ne suit pas de patron spatial particulier. En revanche, parmi les 4 élevages exposés au sérogroupe Sejroe, deux sont particulièrement proches. Il s'agit des élevages E02 et E07, deux élevages de limousines voisins, de part et d'autre d'une route. De plus, dans chacun de ces élevages, un bovin a réagi avec un titre de 1 : 400, ce qui serait en faveur d'une infection en cours. A l'inverse, un autre élevage (E09) a proximité (environ 1 km à vol d'oiseau sur le même plateau), a été exposé au sérogroupe Australis avec un titre associé de 1 : 400 pour un bovin.

La distribution des proportions de bovins exposés ne suit pas de patron spécifique d'après la figure 11.

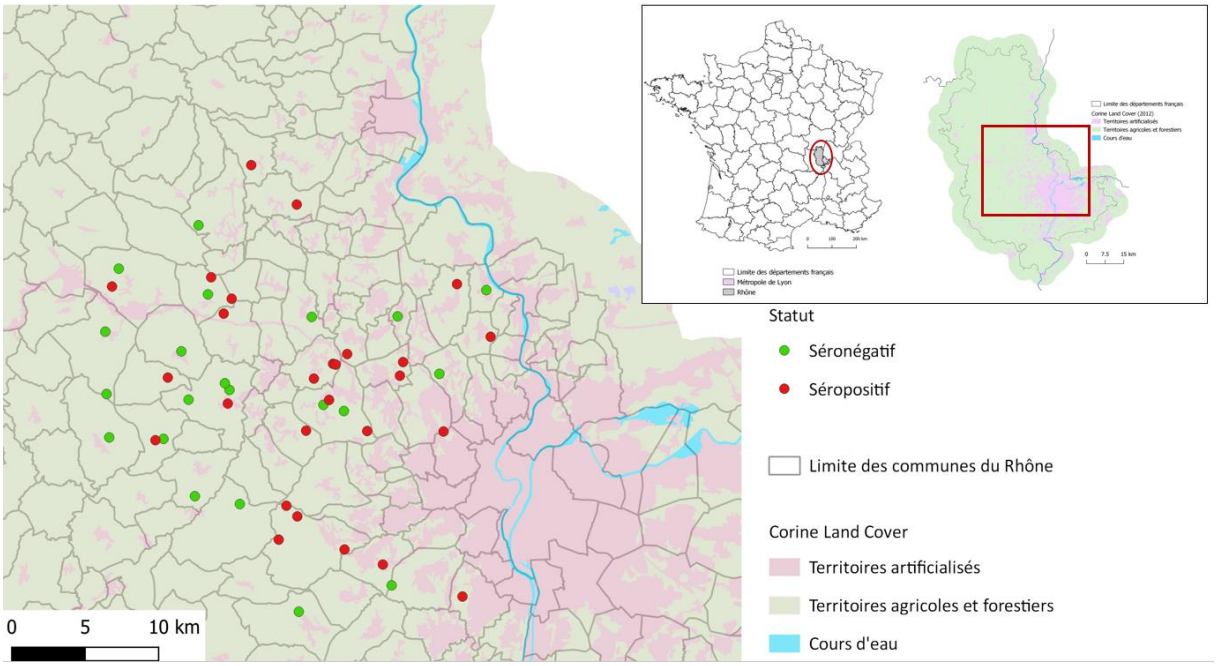


Figure 9 : distribution spatiale des élevages selon le statut de chaque élevage étudié

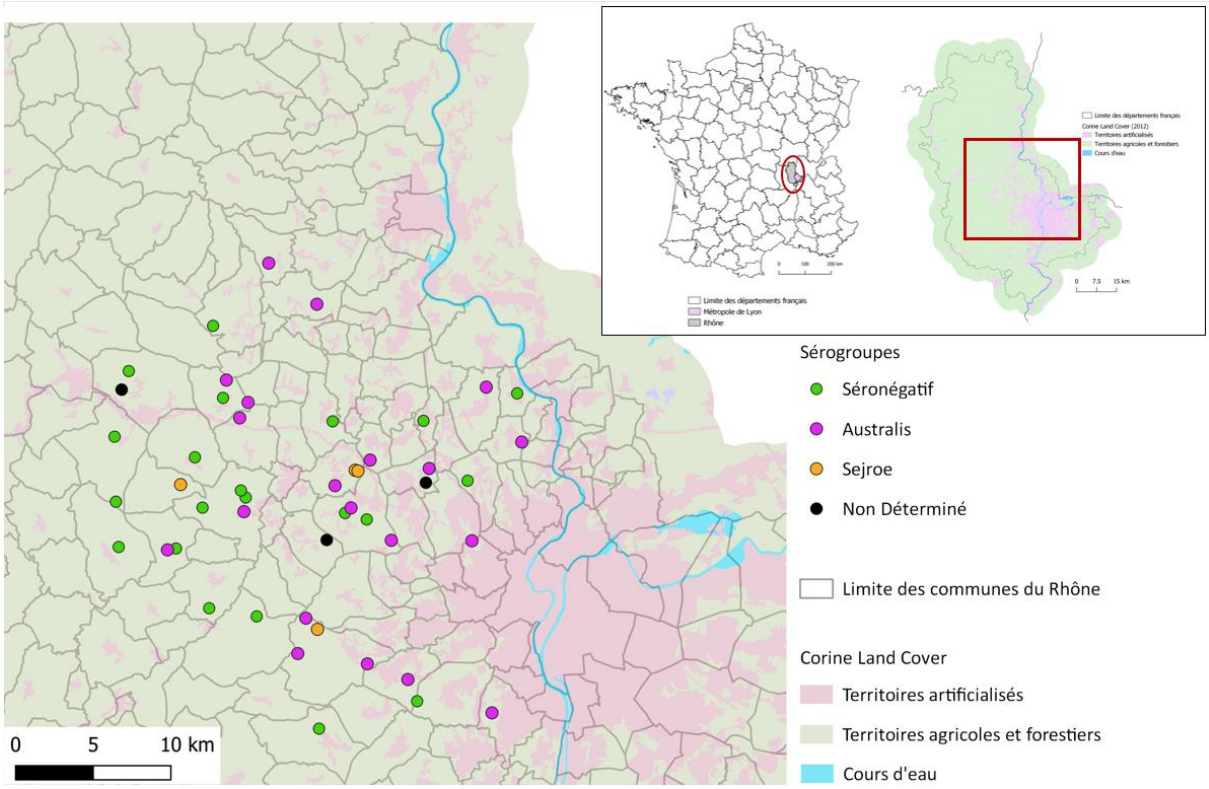


Figure 10 : distribution spatiale des élevages selon le sérogroupe incriminé dans chaque élevage étudié

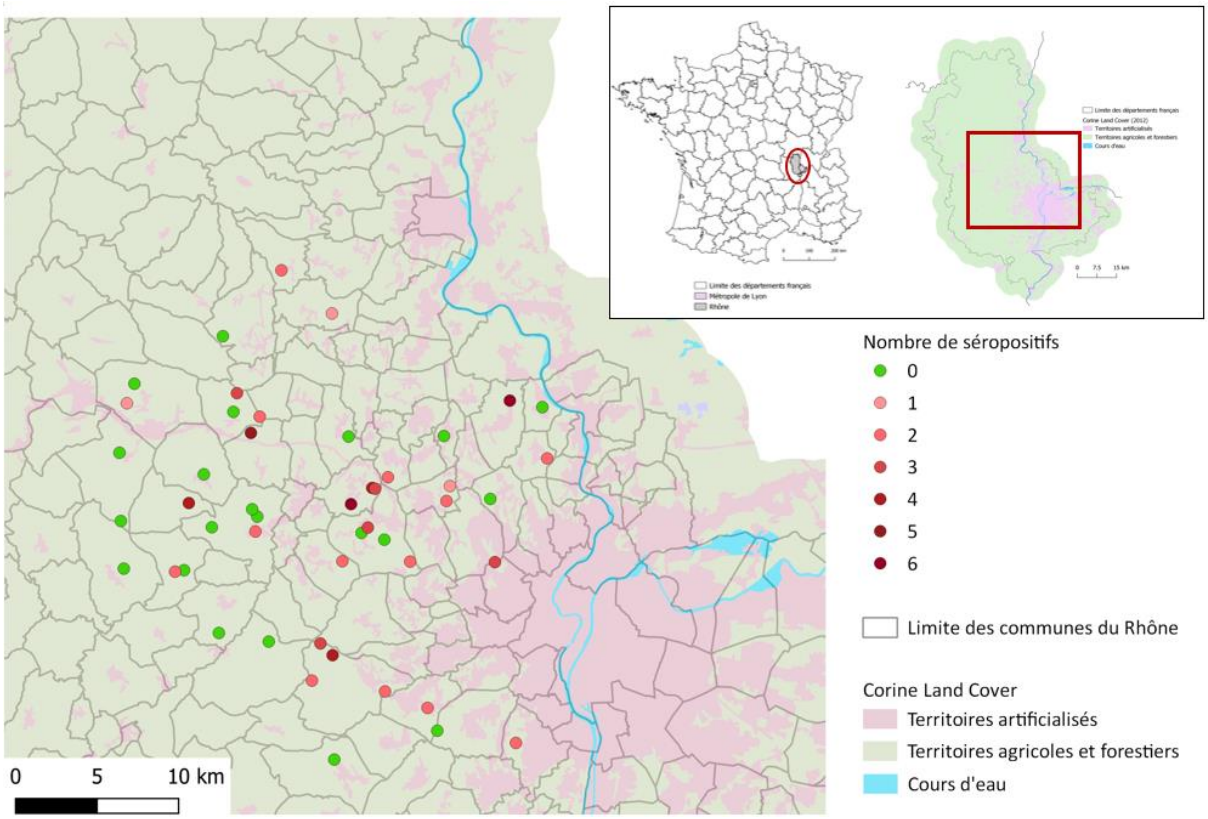


Figure 11 : distribution spatiale des élevages selon le nombre d'individus séropositifs dans chaque élevage étudié

2. Distribution des variables environnementales

a) Résultats issus du questionnaire

Les entretiens téléphoniques ont permis d'obtenir 34 réponses au questionnaire, soit un taux de réponse de 71%. Les réponses sont triées selon les variables définies dans la partie II. 3. 1., et sont disponibles sous forme de tableur en annexe 4. Le résumé des répondants en fonction de leur statut exposé ou non exposé et le sérogroupe incriminé est disponible ci-dessous en figure 12.

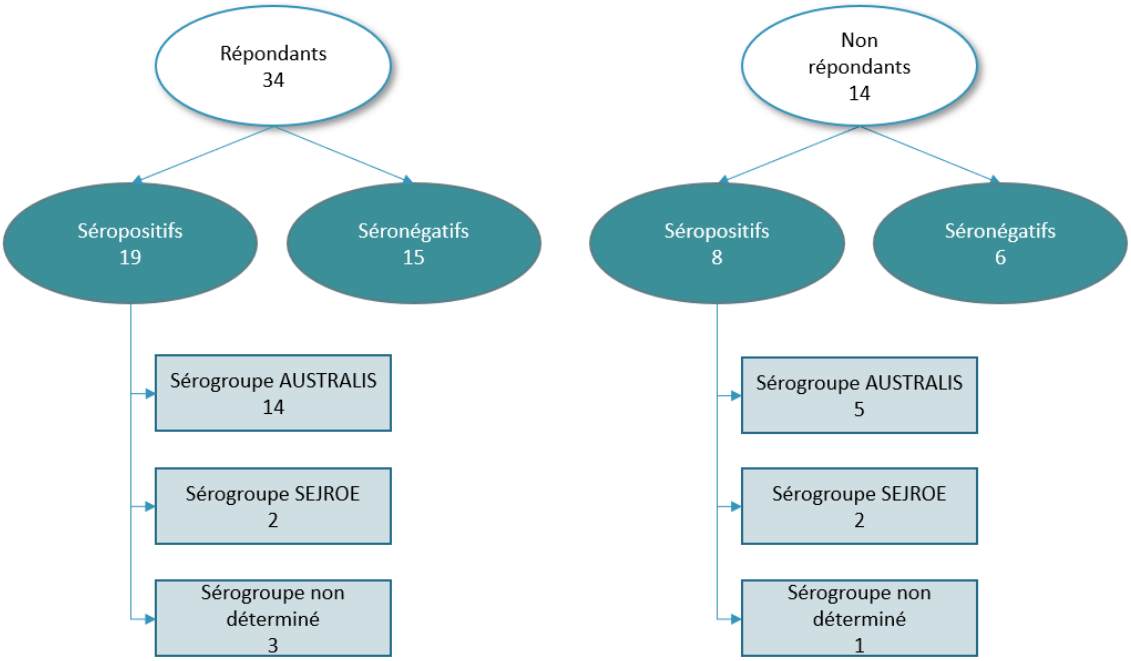


Figure 12 : synthèse des réponses au questionnaire selon l'exposition des élevages à la leptospirose

b) Extraction des données environnementales

Le questionnaire soumis aux éleveurs permet d'obtenir 21 élevages où les pâtures sont regroupées dans un rayon maximal de 3 km autour de la stabulation. La figure 13 sur la page suivante recense ces élevages et leur statut vis-à-vis de l'exposition à la leptospirose.

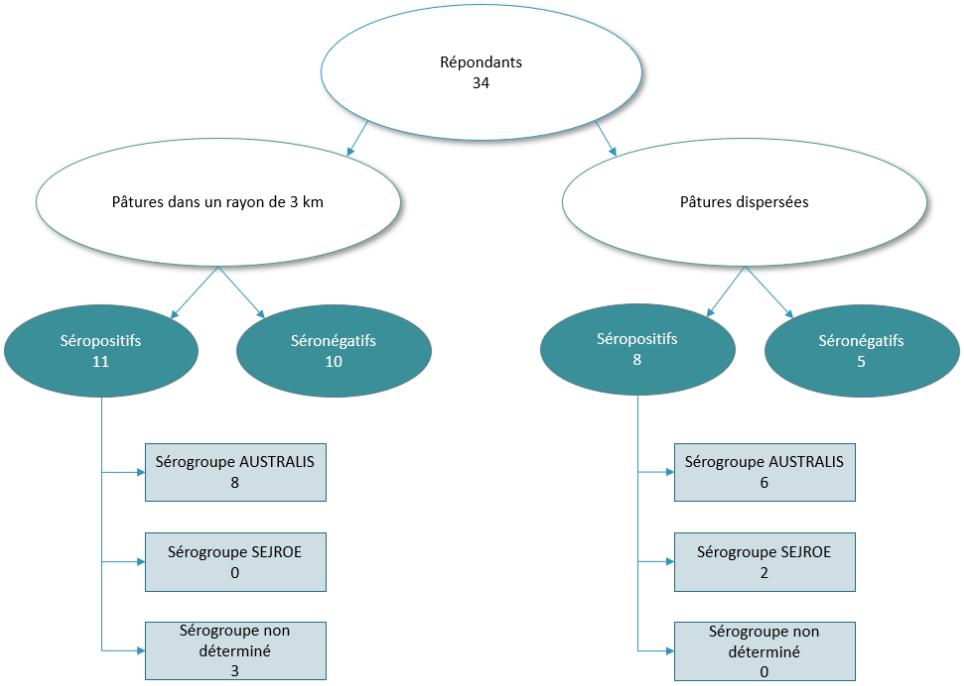


Figure 13 : répartition des élevages selon la localisation de leurs pâtures et leur exposition à la leptospirose

La figure 14 permet de visualiser la carte obtenue lorsque ces élevages sont placés sur le fond de carte, avec un exemple de zone tampon à 1500 mètres. Les surfaces et les longueurs obtenues après traitement des données pour chaque zone tampon sont disponibles dans les annexes 5, 6, 7 et 8.

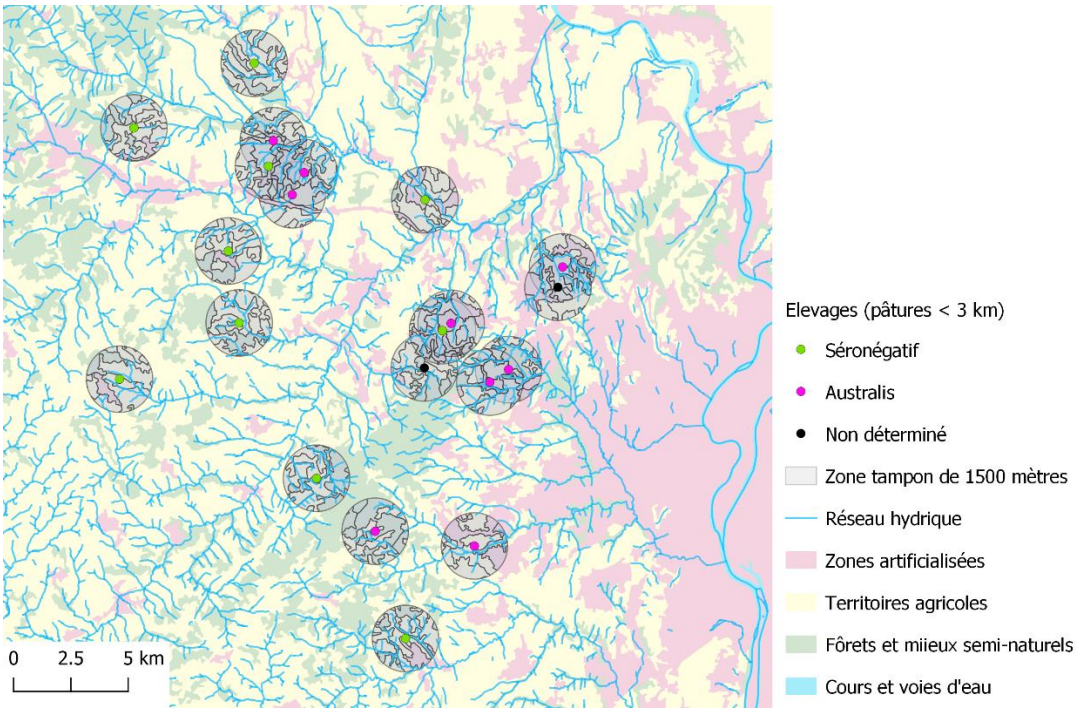


Figure 14 : distribution des élevages dont les pâtures sont localisées dans un rayon de 3km et exemple d'une zone tampon de 1500 mètres

3. Statut infectieux des petits mammifères sauvages

D'après les résultats de l'étude de Rebecca Her, 7 pâtures ont fait l'objet d'un ou deux suivi(s) longitudinal(aux). Les distributions spatiales des sérogroupes pour les animaux sauvages étudiés ainsi que pour les élevages sont indiquées dans la figure 15.

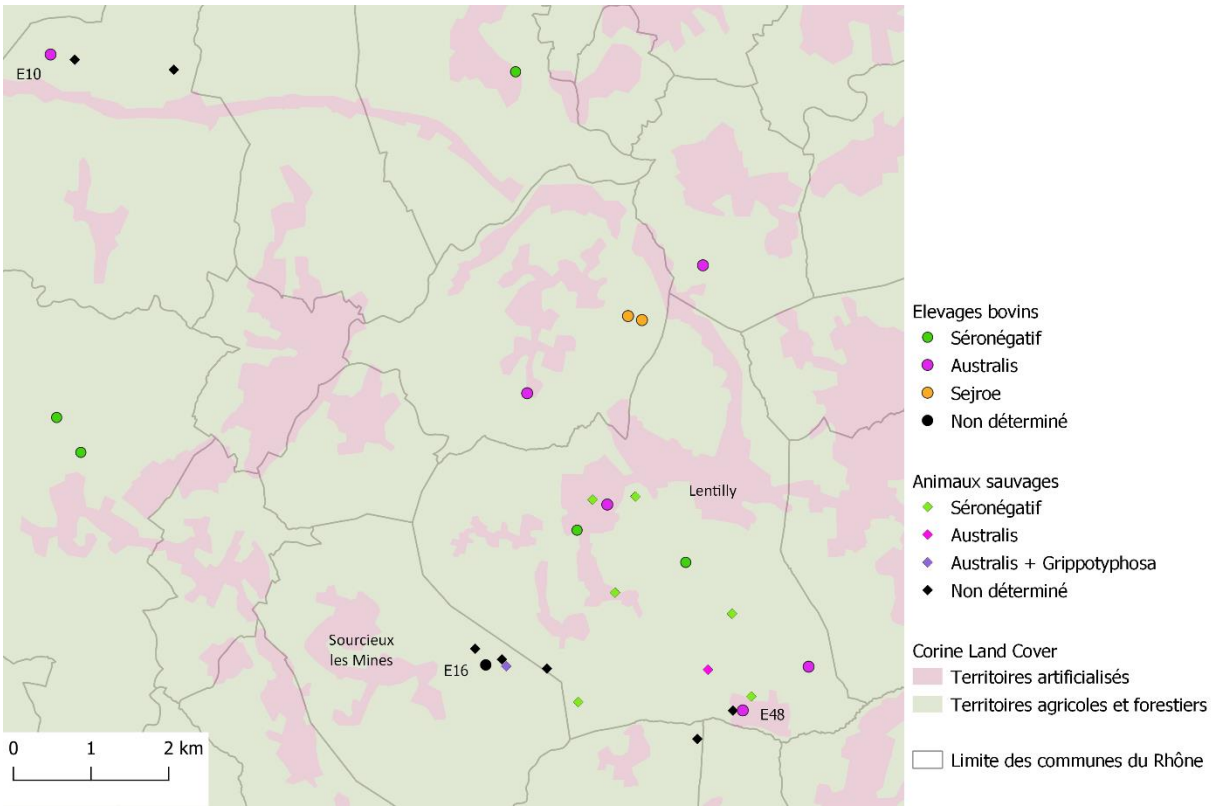


Figure 15 : distribution spatiale des captures d'animaux sauvages et des élevages selon le sérogroupe incriminé

La majorité des sessions n'ont pas permis d'identifier le sérogroupe. Néanmoins, à proximité de l'élevage E48 les animaux sauvages ont été associés au sérogroupe Australis, qui a été le seul sérogroupe retrouvé dans cet élevage. Dans l'élevage E10, 4 animaux sur 6 ont été exposés au sérogroupe Australis et 1 au sérogroupe Sejroe mais le sérogroupe n'a pu être déterminé pour les animaux sauvages trouvés à proximité. Enfin, à proximité de l'élevage E16, les animaux sauvages sont associés aux sérogroupes Australis et Grippotyphosa. Les résultats du MAT ont montré une séropositivité pour deux individus, l'un pour le sérogroupe Australis et l'autre pour Sejroe.

C. Approche analytique

1. Boosted Regression Trees (BRT)

a) Niveau d'association des variables avec le statut de l'élevage

Après analyse, 8 variables parmi les 39 issues du questionnaire ont un poids supérieur à 1 et sont reportées dans le tableau XI et la figure 16 ci-dessous, avec leur poids respectif. Ces 8 variables sont :

- La présence de zones humides au sein des pâtures (Oui/Non)
- La race principale de l'élevage
- L'eau utilisée pour l'abreuvement au pré est commune à d'autres élevages en amont (Oui/Non)
- Le type d'abreuvement au pré (Eau libre en surface, de type ruisseau, marres ou bien eau de source captée/eau du réseau)
- Le surplus est retiré dans les 48h après distribution (Oui/Non)
- Des contacts sont possibles avec d'autres espèces animales domestiques (Oui/Non)
- Les concentrés sont stockés de façon hermétique sans contact possible avec les rongeurs (Oui/Non)
- Le temps passé dans le bâtiment en mois sur l'année

Tableau X : résultats du BRT pour les 8 variables ayant un poids supérieur à 1

Variable	*Poids (%)*
zones_humides	42
race	28
voisins_eau	9
eau_pre	7
autres_esp	4
surplus_retire48h	4
stock_hermetique	3
batiment	1

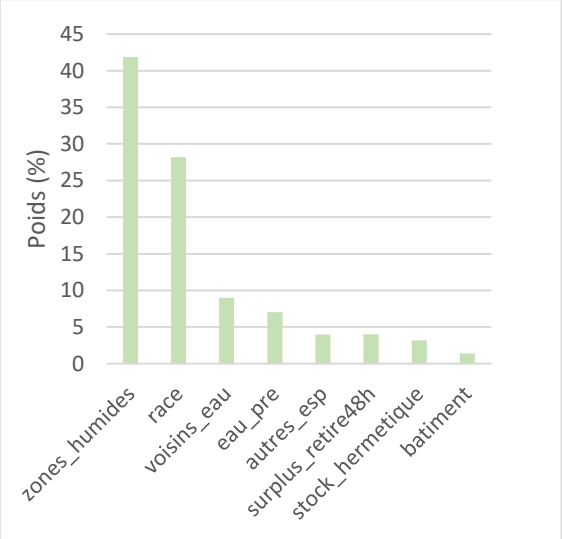


Figure 16 : représentation graphique des 8 variables ayant le plus d'impact sur le statut en fonction de leur poids respectif

b) Niveau d'association des variables avec l'exposition au sérogroupe Australis

Lorsque le BRT est appliqué au sérogroupe incriminé, 8 variables ont un poids supérieur à 1 et sont reportées dans le tableau XII. Ces variables sont identiques à celles obtenues dans l'analyse précédente cependant les poids attribués sont différents (figure 17).

Tableau XI : 8 variables ayant le plus d'impact sur le sérogroupe Australis après un BRT

Variable	*Poids (%)*
race	31
voisins_eau	21
surplus_retire48h	19
surplus_repousse	15
batiment	6
autres_esp	3
zones_humides	3
stock_hermetique	1

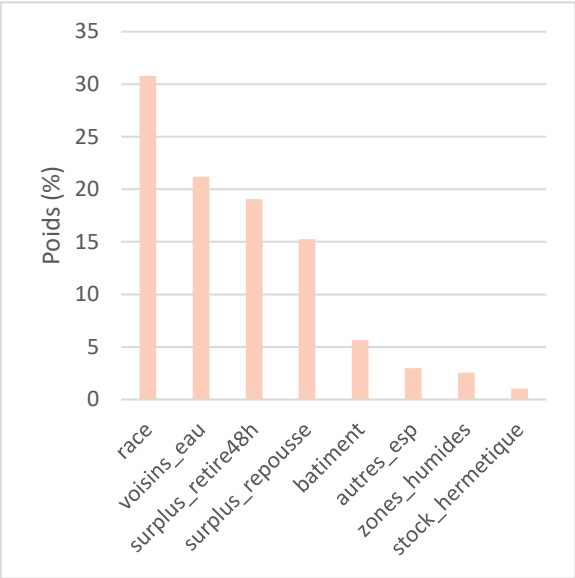


Figure 17 : représentation graphique des 8 variables ayant le plus d'impact sur le sérogroupe incriminé en fonction de leur poids respectif

2. Analyse univariée

a) Niveau d'association des variables avec le statut de l'élevage

Les résultats de cette analyse sont disponibles dans le tableau XIII et les odds-ratio avec leur intervalle de confiance sont représentés dans la figure 18 ci-dessous. Cette première analyse permet de montrer que le risque d'exposition avait tendance à être plus important lorsque les variables « voisins_eau », « stock_hermetique » étaient présentes. A l'inverse, ce risque était significativement moins important lorsque la variable « zones_humides » était présente.

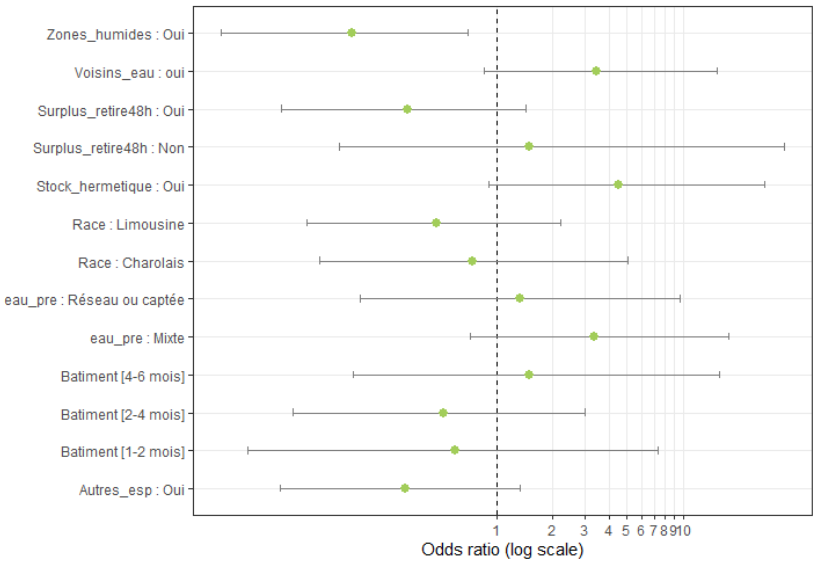


Figure 18 : représentation graphique des odds-ratio selon une échelle logarithmique dans le cadre de l'analyse univariée de l'exposition aux leptospires pathogènes

Tableau XII : résultats des analyses univariées et multivariées dans le cas de l'exposition aux leptospires pathogènes, quel que soit le sérogroupe incriminé

Variables		Odd-ratio	Intervalle de confiance		p-value
		Analyse univariée			
race	Autres				
	Charolais	0.740741	0.112846	5.0547	0.7510
	Limousine	0.476190	0.096047	2.1938	0.3463
batiment	[0 – 1 mois]				
	[1 – 2 mois]	0.600000	0.046641	7.3344	0.6800
	[2 – 4 mois]	0.525000	0.081714	2.9623	0.4716
	[4 – 6 mois]	1.500000	0.170188	15.5597	0.7150
autres_esp	Non				
	Oui	0.327273	0.069596	1.3420	0.1327
voisins_eau	Non				
	Oui	3.42857	0.85859	15.2492	0.0894
stock_hermetique	Non				
	Oui	4.50000	0.91420	27.3876	0.07675
Surplus_retire48h	Non concerné				
	Non	1.500000	0.144309	34.7478	0.7510
	Oui	0.333333	0.070109	1.4307	0.1484
eau_pre	Libre				
	Réseau/captée*	1.33333	0.18634	9.6772	0.7689
	Mixte	3.33333	0.72384	17.5248	0.1328
zones_humides	Non				
	Oui	0.167832	0.033714	0.7044	0.01957
		Analyse multivariée			
autres_esp	Non				
	Oui	0.8406750	0.0896573	8.4379	0.8764
voisins_eau	Non				
	Oui	4.8450534	0.4206744	126.2310	0.2405
stock_hermetique	Non				
	Oui	3.6725097	0.4638523	39.1399	0.2324
eau_pre	Libre				
	Réseau/captée*	2.3274220	0.1023183	64.8957	0.5935
	Mixte	5.5235764	0.6376920	73.5787	0.1414
zones_humides	Non				
	Oui	0.1446375	0.0060119	1.4140	0.1321

**Les modalités « réseau » ou « captée » ont été regroupées : ce sont les deux catégories où l'eau n'est en théorie en contact avec la faune sauvage que lorsque qu'elle est déversée dans l'abreuvoir.*

b) Niveau d'association des variables avec l'exposition au sérogroupe Australis

Comme précédent, les résultats de l'analyse univariée dans le cadre de l'exposition aux leptospires du sérogroupe Australis sont présentés sous forme numérique dans le tableau XIV et sous forme graphique dans la figure 19 ci-après.

Tableau XIII : résultats des analyses univariées et multivariées dans le cas de l'exposition au sérogroupe Australis

Variables		Odd-ratio	Intervalle de confiance		p-value
Analyse univariée					
race	Autres				
	Charolais	0.750000	0.110889	4.6929	0.7576
	Limousine	0.444444	0.085127	2.0933	0.3133
batiment	[0 – 1 mois]				
	[1 – 2 mois]	1.000000	0.081917	12.2075	1.0000
	[2 – 4 mois]	0.363636	0.055770	2.1889	0.2700
	[4 – 6 mois]	1.333333	0.170556	11.0718	0.7822
autres_esp	Non				
	Oui	0.321429	0.072773	1.3043	0.1189
voisins_eau	Non				
	Oui	4.64286	1.11791	22.5193	0.04195
stock_hermetique	Non				
	Oui	2.75000	0.56473	14.8763	0.21796
Surplus_retire48h	Non concerné				
	Non	0.666667	0.064213	6.8404	0.71982
	Oui	0.166667	0.028048	0.7866	0.03155
eau_pre	Libre				
	Réseau/captée*	1.33333	0.18634	9.6772	0.7689
	Mixte	0.74074	0.15564	3.4076	0.6991
zones_humides	Non				
	Oui	0.370370	0.084663	1.4782	0.1682
Analyse multivariée					
autres_esp	Non				
	Oui	0.63771754	0.06949621	5.5093	0.67608
voisins_eau	Non				
	Oui	2.19189980	0.15970990	37.0469	0.55456
stock_hermetique	Non				
	Oui	3.55041873	0.42324425	40.0164	0.25762
Surplus_retire48h	Non concerné				
	Non	0.92850009	0.01916993	37.5886	0.96639
	Oui	0.03638394	0.00077695	0.4752	0.03191
zones_humides	Non				
	Oui	1.70137201	0.08652145	63.5359	0.73557

**Les modalités « réseau » ou « captée » ont été regroupées : ce sont les deux catégories où l'eau n'est en théorie en contact avec la faune sauvage que lorsque qu'elle est déversée dans l'abreuvoir.*

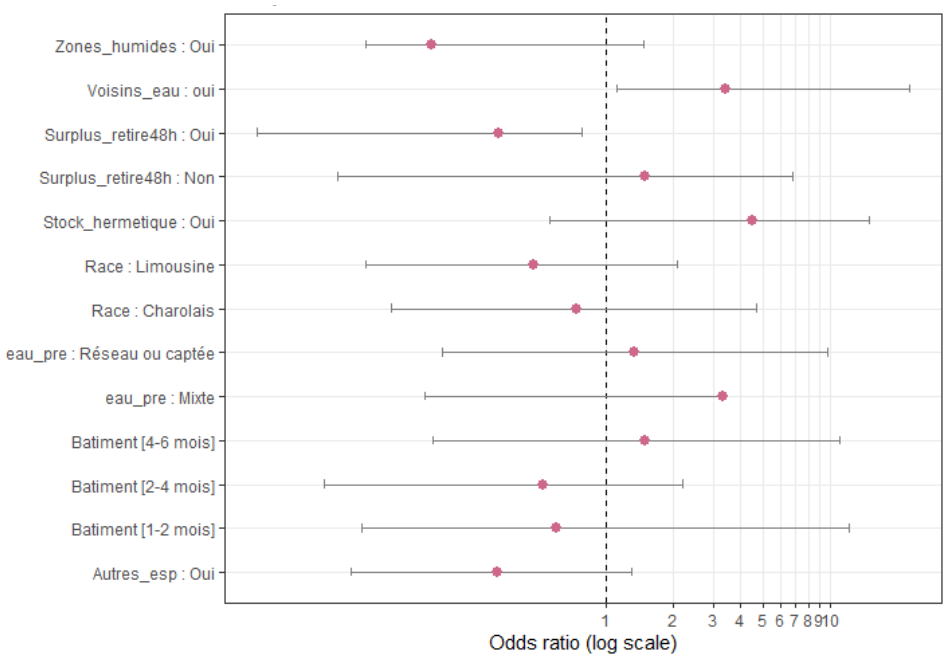


Figure 19 : représentation graphique des odds-ratio selon une échelle logarithmique dans le cadre de l'analyse univariée de l'exposition aux leptospires pathogènes appartenant au sérogroupe Australis

Dans le cas du sérogroupe Australis, le risque d'exposition était significativement plus important lorsque la variable « voisins_eau » était présente et moins important lorsque la variable « surplus_retire48h » était présente.

3. Analyse multivariée

a) Niveau d'association des variables avec le statut de l'élevage

L'analyse multivariée est réalisée sur les cinq variables qui présentent une p-value inférieure à 0,2 : « zones_humides », « voisins_eau », « stock_hermetique », « eau_pre » et « autres_esp ». Les odds ratio ainsi que leur intervalle de confiance à 95 % sont représentés dans la figure 20 et les résultats sont donnés dans le tableau XIII présenté plus haut, conjointement avec les résultats de l'analyse univarié.

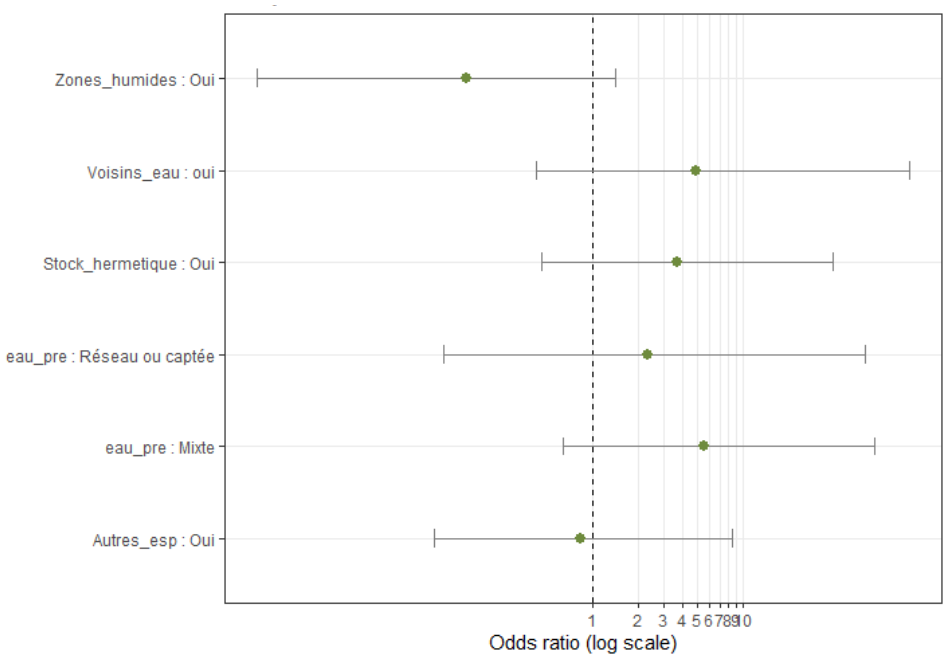


Figure 20 : odds ratio des cinq variables sélectionnées après analyse multivariée

D'après l'analyse multivariée, le risque d'exposition des élevages n'était pas significativement associé aux variables incluses dans le modèle. Toutefois, le risque d'exposition des élevages avait tendance à être moins élevé lorsque les zones humides étaient plus importantes et le risque avait tendance à être plus élevé lors d'abreuvement mixte avec l'eau du réseau et l'eau de ruisseau, d'accès à des zones d'abreuvement partagées et lors de recours à un stockage hermétique des aliments.

L'application de la fonction stepAIC permet quant à elle de montrer que la combinaison de variables « zones_humides » et « eau_voisins » permet d'expliquer au mieux le modèle, et donc le statut vis-à-vis de la leptospirose.

b) Niveau d'association des variables avec l'exposition au sérogroupe Australis

Pour dégager des indicateurs de risque concernant l'exposition au sérogroupe Australis, 5 variables sont également soumises à l'analyse multivariée : « zones_humides », « voisins_eau », « stock_hermetique », « eau_pre », et « autres_esp ». Leurs odds ratio respectifs associés à leur intervalle de confiance sont représentés dans la figure 21.

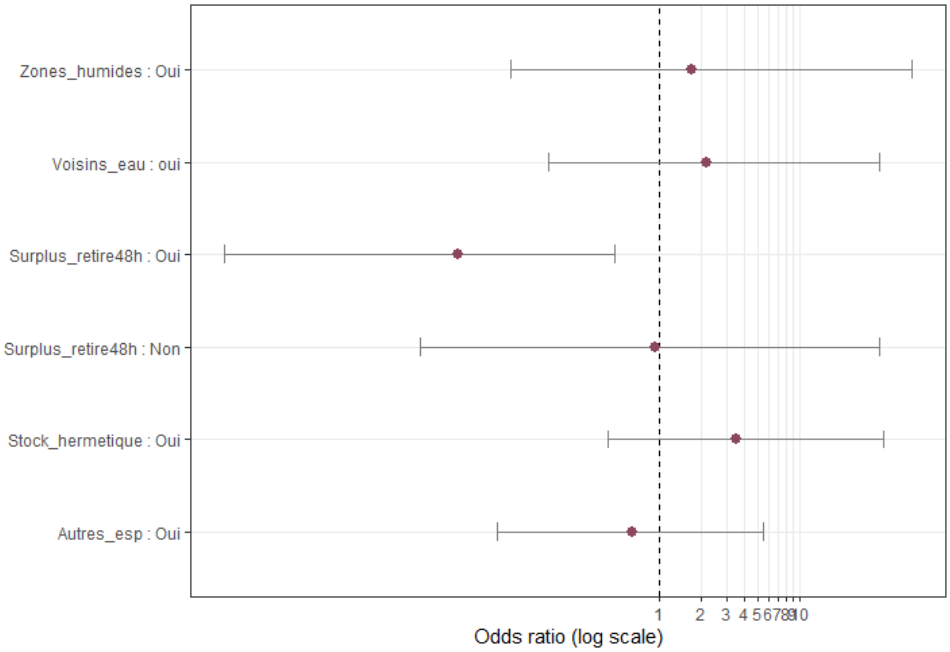


Figure 21 : odds ration des variables dans l'exposition au sérogroupe Australis

D'après l'analyse multivariée, le risque d'exposition des élevages était significativement plus important lorsque la pratique de retirer le surplus en moins de deux jours était présente. Les autres variables incluses dans le modèle ne sont pas significativement associées au statut d'exposition des élevages. D'après la fonction stepAIC, la variable seule « surplus_retire » permet de prédire au mieux l'exposition au sérogroupe Australis.

IV. Discussion

Cette étude a permis de mettre en évidence une séroprévalence de près de 56 %, avec une prédominance du sérogroupe Australis. La distribution spatiale des élevages montre une répartition hétérogène des élevages séropositifs sur la zone étudiée, avec une prédominance dans la partie est, plus proche de l'agglomération lyonnaise. L'analyse statistique permet de mettre en évidence des variables pouvant avoir un intérêt comme indicateur de risque de la leptospirose, telles que la présence de zones humides, l'utilisation de ruisseau commun à plusieurs élevages comme source d'abreuvement et la gestion des surplus de nourriture lors de la distribution. Tous ces points sont détaillés ci-dessous.

A. Statut des bovins dans l'ouest lyonnais

1. Exposition des bovins

De nombreuses études sérologiques existent à travers le monde. Les séroprévalences varient selon la région étudiée et la méthodologie : nombres d'individus et d'élevages, sélection ou non des individus, présence ou absence de signes cliniques, test diagnostique, *etc*. Elle peut atteindre jusqu'à 75 % (Salgado et al. 2014) au Chili en utilisant le MAT et 86 % pour le seul sérovar hardjo en Irlande, en utilisant un kit ELISA sur du lait de tank (O' Doherty et al. 2014). Parmi elles, l'étude d'Alonso-Andicoberry et *al*. en Espagne (2001) a une méthodologie similaire à celle que nous avons développée et rapporte une séroprévalence de 43 % des troupeaux et de 8 % des individus. Ces résultats sont proches de ceux obtenus dans cette étude où 56 % des troupeaux et 15 % des individus présentent une séro-réaction lors du MAT. La seule étude réalisée en France permettant d'avoir une estimation de la séroprévalence de la leptospirose bovine porte uniquement sur le sérovar hardjo (Andre-Fontaine et al. 2010). Au cours de cette étude, 41 % des troupeaux étudiés étaient séropositifs. L'infection par les leptospires pathogènes est donc fréquente en élevages avec plus de la moitié d'entre eux qui a été exposée récemment.

La littérature décrit plusieurs valeurs pour la sensibilité du MAT, qui peut aller de 40 % à 90 % selon le moment de l'infection, le titre seuil, les souches de leptospires utilisées et le laboratoire. Par exemple, plus le titre seuil est haut, plus la sensibilité diminuera. La spécificité varie elle aussi de 86 % à 100 % selon les études et dans le cadre d'un diagnostic à l'échelle du troupeau (Otaka et al. 2012; Hernández-Rodríguez et al. 2011). Le MAT est donc un outil adapté pour évaluer la présence de l'infection au sein d'un troupeau. En revanche, elle ne permet pas de détecter les porteurs individuels : dans une étude de 2012, Otaka et al. montrent que la moitié des vaches excrétant des leptospires dans leurs urines étaient séronégatives. En 2003, une étude a montré que dans le cadre de la prédiction du sérovar infectant, la sensibilité du MAT était de 46 % et la spécificité pour les sérogroupes étaient de 65 % (Levett 2003). Les analyses sérologiques sont donc peu informatives concernant le sérovar infectant à une échelle individuelle. En revanche, elles permettent d'avoir une idée

générale des sérogroupes qui circulent, d'autant plus lorsqu'elles sont réalisées à partir de larges populations. Dans le cas de cette étude, les résultats obtenus – les sérogroupes Australis et Sejroe sont les sérogroupes incriminés pour tous les troupeaux – indiquent que ces deux sérogroupes sont ceux qui circulent le plus au sein des troupeaux de l'ouest lyonnais.

2. Distribution des sérogroupes

Parmi les élevages étudiés, Australis est le sérogroupe majoritairement retrouvé dans cette étude. Cependant, quelles que soient les pratiques de gestion des troupeaux, les leptospires du sérogroupe Sejroe restent prédominantes dans la majorité des études sérologiques à travers le monde (Nally et al. 2018 ; Ellis 2015 ; Fávero et al. 2017). Lorsque l'on s'intéresse uniquement à la prévalence du sérogroupe Sejroe, 23 % des élevages de cette étude ont présenté au moins un bovin ayant séro-réagi, ce qui représente 4 % (21/481 individus) des bovins ayant été échantillonnés. Parmi ces 21 bovins, 18 n'ont réagi que pour le sérogroupe Sejroe et les trois autres présentaient également une réaction pour le sérogroupe Australis, mais à un titre inférieur. Ainsi, tous les bovins ayant présenté une séro-réaction à Sejroe ont le sérogroupe Sejroe incriminé. Ces résultats sont souvent observés par le laboratoire des leptospires qui observe régulièrement peu de réactions croisées lorsque le sérogroupe Sejroe est incriminé. Les résultats incluant une séro-réaction dirigée à la fois contre Australis et Sejroe seraient plutôt en faveur d'une exposition à Australis. Ces données ont donc tendance à appuyer la faible prévalence obtenue pour ce sérogroupe puisque la séroprévalence pour le sérogroupe Sejroe serait alors surestimée dans notre étude. Les résultats sont non seulement inférieurs à l'étude d'Andre-Fontaine en 2010, mais aussi à celles réalisées entre 2008 et 2016 et déjà citées dans la partie I (Ayral et al. 2014 ; Gazso 2017). Or, ces études portaient sur des animaux ou des troupeaux présentant une suspicion clinique de leptospirose, ce qui laissait supposer une atteinte par des souches appartenant à des sérogroupes pour lesquels les bovins sont des hôtes accidentels. Il est donc étonnant d'obtenir une prévalence du sérogroupe Australis supérieure à ce qui avait été obtenu dans ces deux études.

Il faut cependant prendre en compte le fait que la présence du sérogroupe Sejroe est très probablement sous-estimée lors de l'utilisation du MAT. Les souches appartenant à ce sérogroupe sont adaptées aux bovins, le taux d'anticorps est souvent faible et donc sous les seuils de détection des tests diagnostiques. Dans cette étude, le seuil utilisé pour le MAT est celui recommandé par l'OIE, mais cela reste un seuil arbitraire et nombre de bovins peuvent être de faux négatifs. Il a été démontré plusieurs fois que les bovins pouvaient être infectés ou porteur génital ou rénal et présenter en même temps des titres bas qui ne sont pas détectés par le MAT (OIE 2018 ; Libonati, Pinto, et Lilenbaum 2017; Ellis et al. 1986).

A l'inverse, Australis est considéré chez les bovins comme un sérogroupe accidentel, identifié dans les formes abortives (Ellis 2015; Delooz et al. 2018). A la vue de ces connaissances, une prédominance du sérogroupe Sejroe dans le cadre de cette étude était

attendue puisqu'elle est réalisée à partir de troupeaux apparemment sains ou sans signes cliniques particuliers évocateurs de la leptospirose. Pour autant, Australis est largement majoritaire dans notre étude, ce qui rejoint les résultats obtenus en Espagne (Alonso-Andicoberry et al. 2001). La grande prévalence de ce sérogroupe peut s'expliquer par la large distribution de leurs hôtes de persistance parmi la faune sauvage. Les aspects environnementaux, les pratiques de renouvellement, le contact avec la faune sauvage ou avec d'autres espèces domestiques sont autant de paramètres qui favorisent la persistance et la transmission de la leptospirose entre les différents hôtes domestiques et sauvages, ce qui a pour conséquence un plus haut taux d'infection parmi le bétail avec d'autres souches que celles du sérogroupe Sejroe. Localement, le sérogroupe Australis circulerait donc davantage parmi les bovins. La faune sauvage jouerait alors un rôle important de source d'infection, puisqu'elle est responsable de son maintien et de sa dissémination dans l'environnement avant que les bovins ne s'infectent de façon accidentelle. Dans le questionnaire soumis aux éleveurs, il a été demandé s'ils avaient vu des ragondins, des hérissons, des rats musqués et/ou des campagnols sur leur exploitation et leur sentiment sur l'évolution de leur population. Il semble que globalement elle soit en augmentation depuis les dernières années pour les ragondins et les campagnols, bien que les sécheresses de ces deux dernières années les aient rendus moins visibles. Les ragondins étant porteurs du sérogroupe Australis dans la majorité des cas, ils pourraient être une des causes de la forte séroprévalence à ce sérogroupe. Les populations de hérissons et de rats musqués seraient quant à elles en baisse et moins impliquées dans la contamination des milieux. Les résultats obtenus lors des méthodes de diagnostic direct réalisées sur quelques prélèvements ne permettent pas de préciser cette hypothèse. En effet, il n'a pas été possible de typer l'ADN de leptospire détecté chez les ragondins.

Des taux sérologiques plus élevés pour le sérogroupe Australis étaient de plus attendus, alors que la plupart des individus avaient des titres à 1 : 100 (*cf* figure 7). Cela peut être simplement due au fait que ce sont des témoins d'infections passées ou d'exposition à de faibles doses infectieuses. Néanmoins, cela pourrait aussi s'expliquer par le fait qu''il existerait une ou plusieurs souches apparentées au sérogroupe Australis adaptées à l'espèce bovine, comme cela a été suggéré chez le porc (Ellis 2015). D'autres études de ce type en France permettraient d'étayer cette hypothèse.

3. Infections des bovins

Aucune des méthodes de diagnostic direct n'a permis d'obtenir de résultats concluant sur l'infection des bovins. En effet, peu de PCR sont revenues positives et parmi celles-ci, aucune n'a pu aboutir à un typage et conclure sur la ou les espèce(s) infectante(s). Il n'est pas possible de différencier une absence d'infection d'une excrétion à de faibles charges bactériennes, avec une quantité d'ADN dans les urines à la marge des seuils de détection de la PCR secY. Les cultures ont quant à elles été faites sur des prélèvements urinaires par miction spontanée par convenance. Les prélèvements urinaires par sondage sont, en effet, techniques et demandent

une contention chronophage pour l'éleveur qui nous a contraint à écarter cette option. Bien qu'ils aient été acheminés rapidement au laboratoire pour analyse, les contaminations ont été élevées et aucun résultat n'a pu être obtenu par cette méthode. Cela n'est pas surprenant compte tenu du fait que la culture des leptospires est délicate et les contaminations fréquentes, malgré les précautions prises (OIE 2018). Ces résultats ne permettent donc pas de conclure quant à l'absence d'infection en cours chez les bovins.

Chez les bovins, la majorité des signes cliniques sont liés aux performances reproductives quelle que soit la souche impliquée, ce qui fait de la leptospirose une maladie de l'appareil reproducteur. Paradoxalement, les études sur la maladie et la détection des individus infectés se concentrent sur la recherche des individus présentant un portage rénal par des tests diagnostiques sur les urines. La détection des porteurs au niveau de l'appareil génital reste couramment négligée. Or, dans le but de déterminer la souche infectante, des prélèvements vaginaux, près du col utérin, à l'aide de brosses stériles pour prélèvements cytologiques auraient peut-être favorisés la détection de leptospires (Loureiro et Lilenbaum 2020).

B. Distribution spatiale des élevages

La distribution spatiale des élevages selon leur statut, présentée en figure 10 dans la partie III.B.1, permet d'observer que la proportion d'individus séropositifs sur la partie est de la carte est supérieure à celle située à l'ouest. Au regard de la distribution de l'occupation des sols et de la distribution des cours d'eau, aucun patron spatial particulier n'a pu être dégagé si ce n'est la densité de l'urbanisation, bien que ce paramètre n'ait pas pu être objectivé. Cependant, la région d'étude est limitée et l'occupation des sols est peu contrastée. Des variables écologiques à une échelle plus fine seraient probablement plus adaptées pour répondre à la question posée, mais ces données ne sont actuellement pas disponibles.

C. Indicateurs de risque

Le but premier de l'étude était de déterminer d'une part des indicateurs de risque face à l'exposition des bovins aux leptospires pathogènes, mais aussi de discriminer ces indicateurs selon si l'exposition est majoritaire au sérogroupe Sejroe ou au sérogroupe Australis. En effet, ces deux sérogroupes ne suivent pas tout à fait le même schéma épidémiologique. Alors que le sérogroupe Sejroe est une souche adaptée aux bovins qui a plutôt tendance à être transmise de bovins à bovins, le sérogroupe Australis suit plutôt un modèle environnemental, où la faune sauvage joue un rôle clé dans la persitance de ces souches. Néanmoins, le faible nombre d'élevages inclus dans l'étude (48) et *a fortiori* le nombre de réponses au questionnaire (37) limite la puissance des tests statistiques. De plus, bien que plusieurs bovins aient réagi pour le sérogroupe Sejroe, la majorité des élevages a pour sérogroupe incriminé Australis. Seul quatre sont positifs pour Sejroe et deux ont répondu au questionnaire. Ces résultats ne permettent

pas de discriminer des indicateurs de risque pour Sejroe et seules les analyses statistiques ont pu être effectuées pour le sérogroupe Australis. Cette faible différence implique également que la majorité des élevages séropositifs le sont pour le sérogroupe Australis, ce qui diminue la discrimination entre les différents sérogroupes pour dégager des indicateurs de risque.

La méthode des boosted regression trees permet d'attribuer à chaque variable testée un poids, qui reflète la capacité de chacune d'entre elles à discriminer les élevages séropositifs des élevages séronégatifs. Elle permet ainsi de mettre en évidence celles qui semblent le plus influer sur le statut séropositif ou séronégatif d'un élevage. D'après les résultats de l'analyse univariée, les variables pouvant avoir un intérêt comme indicateur de risque dans l'exposition à des leptospires pathogènes sont (1) la présence de zones humides sur les pâtures, (2) l'utilisation de cours d'eau passant en amont dans d'autres élevages et (3) le recours à un stockage hermétique des concentrés. Dans le cas de l'exposition au sérogroupe Australis, les deux variables pouvant être intéressantes sont à nouveau l'utilisation de cours d'eau commun(s) à plusieurs élevages et le non retrait des surplus de nourriture après distribution. Après l'analyse multivariée, aucune des variables ne ressort significativement avec un effet marqué sur l'exposition aux leptospires. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour l'expliquer. Il peut n'y avoir aucun ou peu d'effet de ces variables zootechniques sur la maladie, ce qui reste peu probable compte tenu des connaissances sur les modes de transmission. Une autre hypothèse est que les données extraites ne permettent pas de mettre en évidence les effets existants, ce qui peut s'expliquer par une combinaison de plusieurs facteurs. Les données sont insuffisantes ou pas assez précises : la résolution spatiale peut être inadaptée ou les variables retenues ne sont pas suffisamment de bons indicateurs des véritables facteurs de risques.

Les élevages sont tous situés dans une même zone géographique plutôt restreinte, le mode de fonctionnement global et les pratiques sont souvent similaires. Les conditions climatiques, et plus particulièrement la pluviométrie, ne sont pas pertinentes sur une étendue aussi limitée, bien que leurs effets sur l'incidence de la maladie ont été rapportés (Desvars et al. 2011 ; Boqvist et al. 2012). Les zones inondables sont particulièrement propices et il est important de faire plus particulièrement attention un mois après ces épisodes climatiques, la prévalence de la leptospirose pouvant augmenter fortement (Ijaz et al. 2018 ; Chadsuthi et al. 2018).

La présence de zones humides était un indicateur attendu de risque d'exposition augmenté car favorisant la persistance des souches dans l'environnement. Or, d'après mos résultats, elle indique un risque diminué. Néanmoins, cette variable a été extraite du questionnaire posé aux éleveurs, ce qui induit des biais de sélection et d'information. La réponse à cette question est en effet dichotomique et repose sur un avis subjectif, qui ne tient pas compte de la présence d'eau au mètre carré ou de la nature des sols qui peut plus ou moins retenir l'humidité. Selon les éleveurs, la perception de la présence d'eau n'est pas la même. De plus, la région géographique était relativement limitée et est probablement assez

homogène pour les milieux humides. Il est possible que l'exposition soit favorisée par d'autres critères relatifs à l'humidité.

Les sources d'abreuvement ont été régulièrement considérées comme des facteurs de risque dans des études préalables (*cf.* partie I.D.4.). Afin d'étudier ces paramètres, plusieurs variables ont été définies pour établir les modalités d'abreuvement dans la stabulation et au pré. Les deux variables « eau_pre » et « voisins_eau » sont ressorties au cours des analyses univariées, ce qui suggérerait une tendance. Cela peut être lié à la contamination possible de l'eau par d'autres animaux (Barbagelata et al. 2013) et à la survie des bactéries dans ce milieu (Andre-Fontaine, Aviat et Thorin 2015). Néanmoins, la variable « eau_pre » suggérerait une augmentation du risque d'exposition lors de l'utilisation de l'eau du réseau ou d'eaux captées ou d'utilisation à la fois de l'eau du réseau et d'eaux de surface issues de ruisseaux ou rivières par rapport à cette dernière utilisation seule, ce qui paraît contre-intuitif. A l'inverse, l'utilisation pour l'abreuvement de cours d'eau commun à plusieurs élevages aurait tendance à augmenter le risque d'être exposé aux leptospires. Ces variables présentent également des biais importants. Les questionnaires ont été soumis aux éleveurs lors d'un court entretien téléphonique, il n'y avait donc que peu de temps de réflexion et aucun critère objectif. Cette variable permet tout de même de faire un lien avec l'exposition aux leptospires puisque la réponse « oui » à cette question augmente la probabilité que les vaches puissent se contaminer, d'une part parce qu'il peut y avoir des contacts indirects avec les vaches d'autres élevages, mais aussi parce que cela augmente la probabilité d'une contamination par la faune sauvage.

L'alimentation et plus particulièrement sa gestion sont des paramètres souvent cités ou pris en compte dans les facteurs de risque (cf partie I.D.4.). Les phases « critiques » pouvant être propices à la contamination des aliments sont la conservation et la distribution aux vaches. La variable « surplus_retire » permet notamment de donner une estimation de la gestion des aliments dans l'élevage lors de la distribution des aliments. Laisser les surplus dans les auges ou les couloirs d'alimentation augmente la probabilité que les rongeurs sauvages pouvant être porteurs du sérogroupe Australis puissent contaminer la nourriture via leurs urines, ce qui induit de risque de contamination pour la vache lors de l'ingestion, par contact avec les muqueuses buccales ou des plaies. Ainsi, retirer et nettoyer une fois par jour les zones de distribution de l'alimentation diminuerait par trois le risque d'exposition au sérogroupe Australis. Il existe néanmoins des biais de sélection et d'information, puisque la gestion des surplus concerne principalement les éleveurs donnant une ration alimentaire avec des concentrés ou de l'ensilage, la période où les bovins sont dans un bâtiment et la majorité des éleveurs se sentent non concernés par cette variable car ils ne donnent que du foin ou n'ont pas de refus. Un échantillonnage incluant des modes diversifiés d'alimentation avec une analyse plus fine des conditions d'alimentation et des pratiques en élevage permettraient de limiter ces biais et de confirmer ce résultat. D'une manière générale, les biais d'information sont attendus lors de la collecte de données à partir de questionnaires et une collecte de

données à partir de visites d'élevage et des catégorisations objectives seraient plus pertinentes dans ce cas.

Conclusion

La leptospirose affecte tous les mammifères dont l'Homme et est de plus en plus souvent diagnostiquée. Sur le plan épidémiologique, les bovins peuvent être à la fois des hôtes de persistance pour les souches du sérogroupe Sejroe et des hôtes accidentels lors d'infection par les autres sérogroupes. La maladie se manifeste dans cette espèce essentiellement par des troubles reproducteurs, allant de l'avortement en cas d'infections accidentelles à des baisses de fertilité lorsqu'elle revêt une forme chronique qui est difficilement diagnosticable. Les conséquences cliniques et subcliniques de ces infections causent des pertes économiques importantes pour les éleveurs. Dans cette étude, l'objectif était d'étudier l'exposition aux leptospires pathogènes parmi des troupeaux de l'ouest lyonnais afin de dégager d'une part des indicateurs de risque pour aiguiller les praticiens vétérinaires et d'autre part le rôle de la faune sauvage dans l'exposition des troupeaux.

Une sérologie par le test de micro-agglutination (test de référence) a été réalisée sur 481 bovins parmi 48 troupeaux asymptomatiques : 56% des troupeaux ont présenté au moins un bovin séropositif. Dans 70% des cas, le principal sérogroupe incriminé a été Australis, ce qui suggèrerait soit une exposition fréquente à ce sérogroupe porté en majorité par la faune sauvage, soit une souche appartenant à ce sérogroupe qui serait suffisamment adaptée aux bovins pour ne pas entrainer de troubles reproducteurs. Des analyses directes n'ont cependant pas permis de préciser les souches circulantes. Des analyses descriptives et statistiques n'ont pas mis en évidence des indicateurs de risque spatiaux ou zootechniques mais suggèrent néanmoins quelques pistes qui pourraient être améliorées par des analyses à plus grande échelle, de façon à augmenter la puissance des tests statistiques effectués.

Bibliographie

Adler, B. et S. Faine. 1978. « The Antibodies Involved in the Human Immune Response to Leptospiral Infection ». *Journal of Medical Microbiology* 11 (4): 387-400. https://doi.org/10.1099/00222615-11-4-387.

Adler, B. et A. de la Peña Moctezuma. 2010. « Leptospira and Leptospirosis ». *Veterinary Microbiology* 140 (3-4): 287-96. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.012.

Ahmed, N., S. Manjulata Devi, M. de los Á Valverde, P. Vijayachari, R. Machang'u, W. Ellis, et R. Hartskeerl. 2006. « Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic Leptospira species ». *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 5 (1): 28. https://doi.org/10.1186/1476-0711-5-28.

Alonso-Andicoberry, C., F.J. García-Peña, J. Pereira-Bueno, E. Costas, et L.M. Ortega-Mora. 2001. « Herd-Level Risk Factors Associated with Leptospira Spp. Seroprevalence in Dairy and Beef Cattle in Spain ». *Preventive Veterinary Medicine* 52 (2): 109-17. https://doi.org/10.1016/S0167-5877(01)00249-5.

Alt, D., R. Zuerner et C. Bolin. 2001. « Evaluation of antibiotics for treatment of cattle infected with Leptospira borgpetersenii serovar hardjo ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219 (5): 636-39. https://doi.org/10.2460/javma.2001.219.636.

Alves J., G. de Souza Lima, J. Dêvede da Silva, D. Figueiredo da Costa, F. dos Santos, S. Higino, S. Santos de Azevedo, et C. Alves. 2017. « Epidemiological Characterization and Risk Factors Associated with Leptospirosis and Brucellosis in Small Ruminants Sold at Animal Fair in the Sertão Region of Pernambuco State, a Semiarid Region of Northeastern Brazil ». *Semina: Ciências Agrárias* 38 (4): 1933. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p1933.

Andre-Fontaine, G., F. Aviat, et C. Thorin. 2015. « Waterborne Leptospirosis: Survival and Preservation of the Virulence of Pathogenic Leptospira Spp. in Fresh Water ». *Current Microbiology* 71 (1): 136-42. https://doi.org/10.1007/s00284-015-0836-4.

Andre-Fontaine, G., D. Nicholas, B. Scalzo, A. Keïta, et I. Nanjiani. 2010. « Prévalence sérologique de la leptospirose à Leptospira sérovar hardjo chez les bovins femelles adultes en France en 2004 ». *Bulletin des GTV*, n° 55: 67-74.

Ayral, F., D. Bicout, H. Pereira, M. Artois, et A. Kodjo. 2014. « Distribution of Leptospira Serogroups in Cattle Herds and Dogs in France ». *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 91 (4): 756-59. https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0416.

Ayral, F., Z. Djelouadji, V. Raton, AL. Zilber, P. Gasqui, E. Faure, F. Baurier, G. Vourc'h, A. Kodjo, et B. Combes. 2016. « Hedgehogs and Mustelid Species: Major Carriers of Pathogenic Leptospira, a Survey in 28 Animal Species in France (20122015) ». *PloS One* 11 (9): e0162549. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162549.

Barbagelata, S., B. Fernández, S. Grune Loffler, V. Marcos, D. Pérez, J. Melillo, C. Serragatta, et M. Arestegui. 2013. « Isolation of Leptospira borgpetersenii in water sources in Argentina ». *Revista Cubana de Medicina Tropical* 65 (avril): 177-84.

Barbosa, A. S., P. Abreu, S. Vasconcellos, Z. Morais, A. Goncales, A. Silva, M. Daha, et L. Isaac. 2009. « Immune Evasion of Leptospira Species by Acquisition of Human Complement Regulator C4BP ». *Infection and Immunity* 77 (3): 1137-43. https://doi.org/10.1128/IAI.01310-08.

Ben Messaoud, K.. 2017. « Leptospirose bovine en France métropolitaine : Séroprévalence et Facteurs de risques », Rapport de master Physiopathologie des maladies transmissibles : université Lyon 1, 43.

Bielanski, A., et O. Surujballi. 1998. « Leptospira borgpetersenii serovar hardjo type hardjobovis in bovine embryos fertilized in vitro. » *Canadian Journal of Veterinary Research* 62 (3): 234-36.

Boqvist, S., L. Eliasson-Selling, K. Bergström, et U. Magnusson. 2012. « The Association between Rainfall and Seropositivity to Leptospira in Outdoor Reared Pigs ». *The Veterinary Journal* 193 (1): 135-39. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.11.013.

Bourhy, P., A. Septfons, et M. Picardeau. 2017. « Diagnostic, surveillance et épidémiologie de la leptospirose en France » Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire: 7. https://doi.org/(8-9):131-7.

Campos, Â., D. Higino Miranda, H. Soares Rodrigues, M. da Silva Carneiro Lustosa, G. Chaves Martins, A. Bezerra Barradas Mineiro, V. Castro, S. Santos Azevedo, et S. Medeiros de Sousa Silva. 2017. « Seroprevalence and Risk Factors for Leptospirosis in Cattle, Sheep, and Goats at Consorted Rearing from the State of Piauí, Northeastern Brazil ». *Tropical Animal Health and Production* 49 (5): 899-907. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1255-2.

Carvalho, S. de, A. Mineiro, V. Castro, M. Genovez, S. Azevedo, et F. Costa. 2014. « Leptospirosis Seroprevalence and Risk Factors for Sheep in Maranhão State, Brazil ». *Tropical Animal Health and Production* 46 (2): 491-94. https://doi.org/10.1007/s11250-013-0505-1.

Chadsuthi, S., K. Chalvet-Monfray, A. Wiratsudakul, D. Suwancharoen, et J. Cappelle. 2018. « A Remotely Sensed Flooding Indicator Associated with Cattle and Buffalo Leptospirosis

Cases in Thailand 2011–2013 ». *BMC Infectious Diseases* 18 (1). https://doi.org/10.1186/s12879-018-3537-3.

Chappel, R., M. Goris, M. Palmer, et R. A. Hartskeerl. 2004. « Impact of Proficiency Testing on Results of the Microscopic Agglutination Test for Diagnosis of Leptospirosis ». *Journal of Clinical Microbiology* 42 (12): 5484-88. https://doi.org/10.1128/JCM.42.12.5484-5488.2004.

Cole, J. R., H. C. Ellinghausen, et H. L. Rubin. 1979. « Laboratory Diagnosis of Leptospirosis of Domestic Animals ». *Proceedings, Annual Meeting of the United States Animal Health Association*, nº 83: 189-95.

Correia, L., A. P. Loureiro, et W. Lilenbaum. 2018. « Reduced susceptibility in leptospiral strains of bovine origin might impair antibiotic therapy ». *Epidemiology and Infection* 147 (septembre). https://doi.org/10.1017/S0950268818002510.

Costa, F., J. Hagan, J. Calcagno, M. Kane, P. Torgerson, M. Martinez-Silveira, C. Stein, B. Abela-Ridder, et A. Ko. 2015. « Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (9). https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898.

Oliveira, F., S. Azevedo, S. Pinheiro, C. Batista, Z. Moraes, G. Souza, A. Goncales, et S. Vasconcellos. 2010. « Risk factors associated with leptospirosis in cows in the state of Bahia, Northeastern Brazil ». *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30 (mai): 398-402. https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000500004.

De Oliveira, D., C. P. Figueira, L. Zhan, A. C. Pertile, G. G. Pedra, I. M. Gusmão, E. A. Wunder, et al. 2016. « *Leptospira* in Breast Tissue and Milk of Urban Norway Rats (*Rattus Norvegicus*) ». *Epidemiology and Infection* 144 (11): 2420-29. https://doi.org/10.1017/S0950268816000637.

Delooz, L., G. Czaplicki, F. Gregoire, F. Dal Pozzo, F. Pez, A. Kodjo, et C. Saegerman. 2018. « Serogroups and Genotypes of Leptospira Spp. Strains from Bovine Aborted Foetuses ». *Transboundary and Emerging Diseases* 65 (1): 158-65. https://doi.org/10.1111/tbed.12643.

Desvars, A., S. Jégo, F. Chiroleu, P. Bourhy, E. Cardinale, et A. Michault. 2011. « Seasonality of Human Leptospirosis in Reunion Island (Indian Ocean) and Its Association with Meteorological Data ». *PLOS ONE* 6 (5): e20377. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020377.

Dhaliwal, G. S., R. Murray, H. Dobson, J. Montgomery, et W. Ellis. 1996. « Reduced Conception Rates in Dairy Cattle Associated with Serological Evidence of Leptospira Interrogans

Serovar Hardjo Infection ». *Veterinary Record* 139 (5): 110-14. https://doi.org/10.1136/vr.139.5.110.

Elith, J., J. R. Leathwick, et T. Hastie. 2008. « A Working Guide to Boosted Regression Trees ». *Journal of Animal Ecology* 77 (4): 802-13. https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01390.x.

Ellis, W. 1984. « Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, pathogenesis and control ». *Preventive Veterinary Medicine* 2 (1): 411-21. https://doi.org/10.1016/0167-5877(84)90085-0.

Ellis, W. 1986. « The diagnosis of leptospirosis in farm animals ». In *The present state of Leptospirosis diagnosis and control*, Springer, 11-31. Current topics in Veterinary Medicine. Netherlands: Ellis, W.A., Little, T.W.A (Eds.).

Ellis, W. 1994. « Leptospirosis as a Cause of Reproductive Failure ». *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 10 (3): 463-78.

Ellis, W 2015. « Animal Leptospirosis ». *Current Topics in Microbiology and Immunology* 387: 99-137. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6.

Ellis, W., J. J. O'Brien, S. D. Neill, et J. Hanna. 1982. « Bovine Leptospirosis: Serological Findings in Aborting Cows ». *The Veterinary Record* 110 (8): 178-80. https://doi.org/10.1136/vr.110.8.178.

Ellis, W., J. G. Songer, J. Montgomery, et J. A. Cassells. 1986. « Prevalence of Leptospira Interrogans Serovar Hardjo in the Genital and Urinary Tracts of Non-Pregnant Cattle ». *The Veterinary Record* 118 (1): 11-13. https://doi.org/10.1136/vr.118.1.11.

Fang, F., J. M. Collins-Emerson, A. Cullum, C. Heuer, P. R. Wilson, et J. Benschop. 2015. « Shedding and Seroprevalence of Pathogenic *Leptospira* Spp. in Sheep and Cattle at a New Zealand Abattoir ». *Zoonoses and Public Health* 62 (4): 258-68. https://doi.org/10.1111/zph.12146.

Fávero, J., H. de Araújo, W. Lilenbaum, G. Machado, A. Tonin, M. Baldissera, L. Stefani, et A. Da Silva. 2017. « Bovine Leptospirosis: Prevalence, Associated Risk Factors for Infection and Their Cause-Effect Relation ». *Microbial Pathogenesis* 107 (juin): 149-54. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.032.

Fávero, J., A. Fritzen, L. Lovato, P. Martins, M. Baldissera, L. Stefani, et A. Da Silva. 2018. « Immune Response of a Commercial Vaccine against Leptospira Interrogans : Antibodies and Cytokine Levels ». *Microbial Pathogenesis* 114 (janvier): 46-49. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.042.

Fratini, F., B. Turchi, M. Ferrone, A. Galiero, R. Nuvoloni, B.Torracca, et D. Cerri. 2016. « Is Leptospira Able to Survive in Raw Milk? Study on the Inactivation at Different Storage Times and Temperatures ». *Folia Microbiologica* 61 (5): 413-16. https://doi.org/10.1007/s12223-016-0452-0.

Gazso, F. 2017. « Distribution des sérogoupes de Leptospira chez les bovins en France métropolitaine. » Rapport de master Physiopathologie des maladies transmissibles. Université Lyon 1.

Grooms, D. 2006. « Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis ». *Theriogenology*, Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology 2006, 66 (3): 624-28. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.016.

Guitian, J., M. C. Thurmond, et S. K. Hietala. 1999. « Infertility and Abortion among First-Lactation Dairy Cows Seropositive or Seronegative for Leptospira Interrogans Serovar Hardjo ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215 (4): 515-18.

Hamond, C., C. Silveira, F. Buroni, A. Suanes, C. Nieves, X. Salaberry, V. Aráoz, et al. 2019. « Leptospira Interrogans Serogroup Pomona Serovar Kennewicki Infection in Two Sheep Flocks with Acute Leptospirosis in Uruguay ». *Transboundary and Emerging Diseases* 66 (3): 1186-94. https://doi.org/10.1111/tbed.13133.

Hathaway, S. C., T. W. Little, et D. G. Pritchard. 1986. « Problems Associated with the Serological Diagnosis of Leptospira Interrogans Serovar Hardjo Infection in Bovine Populations ». *Veterinary Record* 119 (4): 84-86. https://doi.org/10.1136/vr.119.4.84.

Hernández-Rodríguez, P., C. Díaz, E. Dalmau, et G. Quintero. 2011. « A Comparison between Polymerase Chain Reaction (PCR) and Traditional Techniques for the Diagnosis of Leptospirosis in Bovines ». *Journal of Microbiological Methods* 84 (1): 1-7. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.10.021.

Higino, S., F. Santos, D. Costa, C. Santos, M. Silva, C. Alves, et S. Azevedo. 2013. « Flock-Level Risk Factors Associated with Leptospirosis in Dairy Goats in a Semiarid Region of Northeastern Brazil ». *Preventive Veterinary Medicine* 109 (1-2): 158-61. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.005.

Ijaz, M., S. Abbas, S. Farooqi, A. Aqib, G. Anwar, A. Rehman, M. Ali, K. Mehmood, et A. Khan. 2018. « Sero-Epidemiology and Hemato-Biochemical Study of Bovine Leptospirosis in Flood Affected Zone of Pakistan ». *Acta Tropica* 177 (janvier): 51-57. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.032.

Institut Pasteur. 2018. « Rapport d'activité annuel 2017 du CNR de la Leptospirose ». https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/leptospirose/rapports-d-activite. [Consulté le 2 septembre 2019]

Kusum, M., N. Boonsarthorn, M. Biaklang, U. Sina, P. Sawanpanyalert, et P. Naigowit. 2005. « Comparison of Leptospiral Serovars Identification by Serology and Cultivation in Northeastern Region, Thailand » 88: 5.

Lars, F., et K. Gache. 2018. « La leptospirose abortive chez les bovins ». http://idele.fr/no_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/la-leptospirose-abortive-chez-les-bovins.html. [Consulté le 06/09/2019]

Lau, C., L. Smythe, S. Craig, et P. Weinstein. 2010. « Climate Change, Flooding, Urbanisation and Leptospirosis: Fuelling the Fire? » *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104 (10): 631-38. https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2010.07.002.

Leonard, F. C., P. J. Quinn, W. Ellis, et K. O'Farrell. 1992. « Duration of Urinary Excretion of Leptospires by Cattle Naturally or Experimentally Infected with Leptospira Interrogans Serovar Hardjo ». *Veterinary Record* 131 (19): 435-39. https://doi.org/10.1136/vr.131.19.435.

Levett, P.. 2001. « Leptospirosis ». *Clinical Microbiology Reviews* 14 (2): 296-326. https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.296-326.2001.

Levett, P.. 2003. « Usefulness of Serologic Analysis as a Predictor of the Infecting Serovar in Patients with Severe Leptospirosis ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 36 (4): 447-52. https://doi.org/10.1086/346208.

Libonati, H., P. Pinto, et W. Lilenbaum. 2017. « Seronegativity of Bovines Face to Their Own Recovered Leptospiral Isolates ». *Microbial Pathogenesis* 108 (juillet): 101-3. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.05.001.

Liegeon, G., T. Delory, et M. Picardeau. 2018. « Antibiotic Susceptibilities of Livestock Isolates of Leptospira ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 51 (5): 693-99. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.12.024.

Lilenbaum, W., et G.N. Souza. 2003. « Factors Associated with Bovine Leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil ». *Research in Veterinary Science* 75 (3): 249-51. https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00114-0.

Lilenbaum, W., R. Varges, L. Medeiros, A. G. Cordeiro, A. Cavalcanti, G. Souza, L. Richtzenhain, et S. Vasconcellos. 2008. « Risk Factors Associated with Leptospirosis in Dairy Goats

under Tropical Conditions in Brazil ». *Research in Veterinary Science* 84 (1): 14-17. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.03.011.

Loureiro, A. P., G. Martins, P. Pinto, L. Narduche, R. C. Teixeira, et W. Lilenbaum. 2015. « Usage of a Selective Media (EMJH-STAFF) in Primary Culturing of Pathogenic Leptospires from Bovine Clinical Samples ». *Letters in Applied Microbiology* 61 (6): 603-6. https://doi.org/10.1111/lam.12501.

Loureiro, A. P., et W. Lilenbaum. 2020. « Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease ». *Theriogenology* 141 (janvier): 41-47. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.011.

Loureiro, A.P., C. Pestana, M.A. Medeiros, et W. Lilenbaum. 2017. « High Frequency of Leptospiral Vaginal Carriers among Slaughtered Cows ». *Animal Reproduction Science* 178 (mars): 50-54. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.01.008.

Martins, G., et W. Lilenbaum. 2017. « Control of Bovine Leptospirosis: Aspects for Consideration in a Tropical Environment ». *Research in Veterinary Science* 112 (juin): 156-60. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.03.021.

Masri, S. A., P. T. Nguyen, S. P. Gale, C. J. Howard, et S. C. Jung. 1997. « A polymerase chain reaction assay for the detection of Leptospira spp. in bovine semen. » *Canadian Journal of Veterinary Research* 61 (1): 15-20.

Merien, F., P. Amouriaux, P. Perolat, G. Baranton, et I. Saint Girons. 1992. « Polymerase Chain Reaction for Detection of Leptospira Spp. in Clinical Samples ». *J. CLIN. MICROBIOL.* 30: 6.

Miller, M. D., K. M. Annis, M. R. Lappin, et K. F. Lunn. 2011. « Variability in Results of the Microscopic Agglutination Test in Dogs with Clinical Leptospirosis and Dogs Vaccinated against Leptospirosis ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25 (3): 426-32. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0704.x.

Miyama, T., E. Watanabe, Y. Ogata, Y. Urushiyama, N. Kawahara, et K. Makita. 2018. « Herd-Level Risk Factors Associated with Leptospira Hardjo Infection in Dairy Herds in the Southern Tohoku, Japan ». *Preventive Veterinary Medicine* 149 (janvier): 15-20. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.11.008.

Monahan, A. M., J. J. Callanan, et J. E. Nally. 2009. « Review Paper: Host-Pathogen Interactions in the Kidney during Chronic Leptospirosis ». *Veterinary Pathology* 46 (5): 792-99. https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0265-N-REV.

Monahan, A., J. Callanan, et J. Nally. 2008. « Proteomic Analysis of Leptospira Interrogans Shed in Urine of Chronically Infected Hosts ». *Infection and Immunity* 76 (11): 4952-58. https://doi.org/10.1128/IAI.00511-08.

Mughini-Gras, L., L. Bonfanti, A. Natale, A. Comin, A. Ferronato, E. La Greca, T. Patregnani, L. Lucchese, et S. Marangon. 2014. « Application of an Integrated Outbreak Management Plan for the Control of Leptospirosis in Dairy Cattle Herds ». *Epidemiology and Infection* 142 (6): 1172-81. https://doi.org/10.1017/S0950268813001817.

Murray, G. 2015. « The Molecular Basis of Leptospiral Pathogenesis ». *Current Topics in Microbiology and Immunology* 387: 139-85. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_7.

Nally, J., R. Hornsby, D. Alt, D. Bayles, J. Wilson-Welder, D. Palmquist, et N. Bauer. 2018. « Isolation and Characterization of Pathogenic Leptospires Associated with Cattle ». *Veterinary Microbiology* 218 (mai): 25-30. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.03.023.

Nardone, A., C. Campèse et I. Capek. 2002. « Les facteurs de risques de leptospirose en France métropolitaine : une étude cas-témoin, juillet 1999 - janvier 2000 », rapport effectué à la demande de l'institut de veille sanitaire, 54. https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/187715/2323458 [Consulté le 2 septembre 2019]

Nervig, R. M., et L. A. Garrett. 1979. « Use of Furosemide to Obtain Bovine Urine Samples for Leptospiral Isolation ». *American Journal of Veterinary Research* 40 (8): 1197-1200.

O' Doherty, E., D. P. Berry, L. O' Grady, et R. Sayers. 2014. « Management Practices as Risk Factors for the Presence of Bulk Milk Antibodies to Salmonella, Neospora Caninum and Leptospira Interrogans Serovar Hardjo in Irish Dairy Herds ». *Animal: An International Journal of Animal Bioscience* 8 (6): 1010-19. https://doi.org/10.1017/S175173111400055X.

OIE. 2018. « Chapitre 3.1.12 Leptospirose (version adoptée en 2014) ». In *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*, 509. OIE. http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_stan-dards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf.

Otaka, D. Y., G. Martins, C. Hamond, B. Penna, M. A. Medeiros, et W. Lilenbaum. 2012. « Serology and PCR for Bovine Leptospirosis: Herd and Individual Approaches: Table 1 ». *Veterinary Record* 170 (13): 338.2-338. https://doi.org/10.1136/vr.100490.

Picardeau, M. 2013. « Diagnosis and Epidemiology of Leptospirosis ». *Médecine et Maladies Infectieuses* 43 (1): 1-9. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2012.11.005.

Pritchard, G. 2001. « Milk Antibody Testing in Cattle ». *In Practice* 23 (9): 542-49. https://doi.org/10.1136/inpract.23.9.542.

Salgado, M., B. Otto, E. Sandoval, G. Reinhardt, et S. Boqvist. 2014. « A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for Leptospiraspp. serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile ». *BMC Veterinary Research* 10 (1): 126. https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-126.

Schaik, G van, Y. H Schukken, M Nielen, A. A Dijkhuizen, H. W Barkema, et G. Benedictus. 2002. « Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study ». *Preventive Veterinary Medicine* 54 (3): 279-89. https://doi.org/10.1016/S0167-5877(02)00004-1.

Schoonman, L., et E. Swai. 2010. « Herd- and Animal-Level Risk Factors for Bovine Leptospirosis in Tanga Region of Tanzania ». *Tropical Animal Health and Production* 42 (7): 1565-72. https://doi.org/10.1007/s11250-010-9607-1.

Stevenson, B., H. Choy, M. Pinne, M. Rotondi, M. Clarke Miller, E. DeMoll, P. Kraiczy, A. Cooley, T. Creamer, M. Suchard, C. Brissette, A. Verma, D. Haake. 2007. « Leptospira Interrogans Endostatin-Like Outer Membrane Proteins Bind Host Fibronectin, Laminin and Regulators of Complement ». *PLOS ONE* 2 (11): e1188. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001188.

Subharat, S., P. R. Wilson, C. Heuer, et J. M. Collins-Emerson. 2012. « Longitudinal serological survey and herd-level risk factors for Leptospira spp. serovars Hardjo-bovis and Pomona on deer farms with sheep and/or beef cattle ». *New Zealand Veterinary Journal* 60 (4): 215-22. https://doi.org/10.1080/00480169.2012.663323.

Thiermann, A. B. 1981. « The Norway Rat as a Selective Chronic Carrier of Leptospira Icterohaemorrhagiae ». *Journal of Wildlife Diseases* 17 (1): 39-43.

Topazio, J., A. Tonin, G. Machado, J. Noll, A. Ribeiro, A. Moura, G. Carmo, H. Grosskopf, J. Martins, M. Badke, L. Stefani, L. Lopes, A. Da Silva. 2015. « Antibodies to Leptospira Interrogans in Goats and Risk Factors of the Disease in Santa Catarina (West Side), Brazil ». *Research in Veterinary Science* 99 (avril): 53-57. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.01.014.

Vein, J., A. Leblond, P. Belli, A. Kodjo, et P. Berny. 2014. « 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 ». *European Journal of Wildlife Research* 60 (1): 125-33. https://doi.org/10.1007/s10344-013-0758-z.

Vijayachari, P., A. P. Sugunan, et A. N. Shriram. 2008. « Leptospirosis: An Emerging Global Public Health Problem ». *Journal of Biosciences* 33 (4): 557-69. https://doi.org/10.1007/s12038-008-0074-z.

Vincent, A., O. Schiettekatte, C. Goarant, V. Kumari Neela, E. Bernet, R. Thibeaux, N. Ismail, M Khairul Nizam Mohd Khalid, F. Amran, T. Masuzawa, R. Nakao, A. Korba, P. Bourhy, F. Veyrier, M. Picardeau. 2019. « Revisiting the Taxonomy and Evolution of Pathogenicity of the Genus Leptospira through the Prism of Genomics ». *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13 (5): e0007270. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007270.

Vinod K., C. Lall, R. Vimal Raj, K. Vedhagiri, I. Pulikkottil Sunish, et P. Vijayachari. 2018. « Can Subminimal Inhibitory Concentrations of Antibiotics Induce the Formation of Biofilm in Leptospira? » *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* 24 (7): 1040-42. https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0409.

Wang, W., X. Gao, M. Guo, W. Zhang, X. Song, T. Wang, Z. Zhang, H. Jiang, Y. Cao, et N. Zhang. 2014. « Leptospira interrogans induces uterine inflammatory responses and abnormal expression of extracellular matrix proteins in dogs ». *Microbial Pathogenesis* 75 (octobre): 1-6. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2014.07.011.

Annexes

Annexe 1 : liste des variables zootechniques et environnementales relatives à l'élevage issues du questionnaire

Nom de la variable	Signification	Catégories
connaissance	Connaissance de la leptospirose par l'éleveur	Oui Non
patures	Localisation des pâtures par rapport à la stabulation	Dans un rayon de 3km A plus de 3km
type	Elevage allaitant ou mixte allaitant/laitier	Allaitant Mixte
race	Race principale de l'élevage	Charolais Limousine Autres
nb_adultes	Nombre de femelles de plus de 24 mois	[10-29] [30-49] [>50]
batiment	Temps moyen en mois passé dans le bâtiment sur une année	[0-1 mois]]1-2 mois]]2-4 mois]]4-6 mois]
achats	Achats de femelles bovins pour renouveler le troupeau	Oui Non
IA	Pratique de l'insémination artificielle	Oui Non
prop_IA	Proportion d'insémination artificielle sur les femelles mises à la reproduction	Jamais Moins de la moitié Plus de la moitié Systématiquement
autres_esp	Présence d'autres espèces sur l'exploitation	Oui Non
chevaux	Présence de chevaux sur l'exploitation	Oui Non
chiens	Présence de chiens sur l'exploitation	Oui Non
pc_petits_ru	Présence de porcins ou de petits ruminants sur l'exploitatoin	Oui Non
autres_especes_patures	Co-pâturage possible entre les bovins et d'autres espèces	Oui Non
voisins_patures	Contacts possibles sur les pâtures avec des élevages voisins	Oui Non
voisins_eau	Cours d'eau sur les pâtures en commun avec d'autres élevages en amont	Oui Non
voisins_materiel	Contacts possibles avec d'autres élevages via du matériel agricole (bétaillère, couloir, …)	Oui Non

Nom de la variable	Signification	Catégories
ensilage	Ensilage dans la ration alimentaire	Oui Non
front_attaq3j	Front d'attaque laissé plus de 3 jours	Non concerné Oui Non
concentres	Concentrés dans la ration alimentaire	Oui Non
stock_hermetique	Stockage des concentrés dans un contenant hermétique (pas de contact avec des rongeurs)	Non concerné Oui Non
Surplus_repousse	Repousse des surplus alimentaires	Non concerné Oui Non
Surplus_retire48h	Retrait des surplus alimentaires et nettoyage de la zone d'alimentation après 48h	Non concerné Oui Non
eau_stab	Nature de l'eau donnée dans la stabulation : eau du réseau ou eau de source	Eau du réseau Eau de source Mixte eau du réseau / eau de source Non concerné (pas de stabulation)
distribution	Mode de distribution de l'eau : abreuvoir ou buvette	Abreuvoir/Bac Buvette Non concerné
eau_pre	Nature de l'eau donnée dans les pâtures	Eau libre en surface Eau de source captée Eau du réseau Mixte
zones_humides	Présence de zones humides dans les pâtures	Oui Non
eau_stag	Présence d'eaux stagnantes après des épisodes pluvieux sur l'exploitation ou les pâtures	Oui Non
nb_rats	Nombre moyen de rats ou souris vus en un an	Aucun Autour d’une dizaine Autour d’une cinquantaine Autour d’une centaine ou plus
chats	Présence de chats sur l'exploitation	Oui Non
raticide	Utilisation de raticide dans le cadre de la lutte contre les rongeurs sauvages	Oui Non
pièges	Utilisation de pièges dans le cadre de la lutte contre les rongeurs sauvages	Oui Non
rongeurs_aliments	Présence de traces de rongeurs dans ou près des aliments destinés aux bovins	Oui Non
pres_nuisible	Présence de nuisibles dans les pâtures	Oui Non

Nom de la variable	Signification	Catégories
ragondins	Présence de ragondins dans ou à proximité de l'exploitation et des pâtures	Oui Non
rats_musqués	Présence de rats musqués dans ou à proximité de l'exploitation et des pâtures	Oui Non
hérissons	Présence de hérissons dans ou à proximité de l'exploitation et des pâtures	Oui Non
campagnols	Présence de campagnols dans ou à proximité de l'exploitation et des pâtures	Oui Non
chgmt_prolif	Ressenti de l'éleveur sur l'évolution des populations de ragondins/campagnols	En augmentation En diminution Stable Ne se prononce pas

Annexe 2 : questionnaire soumis aux éleveurs

QUESTIONNAIRE

- Nom :
- Code élevage :
- Adresse de l'exploitation (idéalement de la stabulation) :
- Situation des pâtures par rapport à la stabulation :
- Type d'environnement autour des pâtures (forêts, autres pâtures ou agglomération…)

Fonctionnement de l'élevage

- De quel type est l'élevage :
    - Allaitant
    - Mixte
- Race principale du troupeau
- Durant l'année 2017 (campagne de prophylaxie 2017-2018), combien de bovins allaitants (adultes de plus de 24 mois) étaient présents sur l'exploitation ?
- Combien de temps les animaux passent dans le bâtiment sur l'année ?
- Sur quelle surface ?
- Quelles sont les pratiques de renouvellement du troupeau :
    - Achats :
        - Combien en moyenne chaque année ?
        - Est-ce variable d'une année à l'autre ? si oui, combien en 2017
    - BV nés sur la ferme?
        - Combien en moyenne chaque année ?
        - Est-ce variable d'une année à l'autre ? si oui, combien en 2017
- Pratique de reproduction :
    - Faites-vous des IA
        - Oui, systématiquement
        - Oui, pour une grande partie du troupeau (plus de la moitié)
        - Oui, pour une partie du troupeau (moins de la moitié)
        - Jamais
    - Est-ce variable d'une année à l'autre ?
        - si oui, quelle était la proportion du recours à l'IA en 2017 ?
    - Avez-vous de la monte naturelle ?
        - Oui systématiquement
        - Oui, pour une grande partie du troupeau (plus de la moitié)
        - Oui, pour une partie du troupeau (moins de la moitié)
        - Jamais
    - Est-ce variable d'une année à l'autre ? si oui, quelle était la proportion du recours à la MN en 2017 ?
- Avez-vous d'autres espèces présentes sur l'exploitation ?
    - Ovins
    - Caprins
    - Porcins

        - Chevaux
        - Chiens
        - Autres : …
        - Non
- Si oui, des contacts sont-ils possibles ?
    - Co-pâturage ?
        - Oui
            - Espèces : ….
        - Non
    - Rotation des pâtures
        - Oui
            - Espèces :….
        - Non
    - Bâtiment en commun
        - Oui
            - Si oui, quelle est la nature de ces contacts :
                - Via le matériel
                - Contact direct
                - Aucun contact
        - Non
- Les bovins peuvent-ils être en contact avec des élevages voisins (pâtures voisines, source d'eau commune, etc) ?
    - Pâtures mitoyennes :
        - Oui
            - Si oui, combien de mois par an ?
        - Non
    - Sources d'eau communes
        - Oui
            - Si oui, de quel type ?
                - Rivière
                - Bac commun
                - Marre
        - Non
    - Prêt de matériel en contact avec les vaches (bétaillère par exemple)
        - Oui
        - Non

Alimentation et abreuvement

- Quel type d'alimentation donnez-vous à vos bovins ?
    - Foin
    - Ensilage
        - Si oui, combien de temps le front d'attaque reste-t-il en place avant d'être consommé ?
    - Enrubannage
    - Concentrés
        - Si oui, sont-il stockés dans un local accessible aux rongeurs/chiens/chats ?
    - Autres
- Si la ration n'est pas entièrement consommée après distribution, le surplus est-il repoussé ?

    - Oui
        - Si oui, à quelle fréquence par jour ?
    - Non
- Si la ration n'est pas entièrement consommée après distribution, le surplus est-il retiré ?
    - Si oui, après combien de temps ?
    -
- D'où provient l'eau que vous donnez à vos bovins en stabulation ?
    - Eau de ville
    - Eau de pluie /Eau de source
        - SI oui, le réservoir est-il ouvert ou fermé (accès possible par des rongeurs ?)?
    - Mixte
- Comment est-elle distribuée ?
    - Buvette
    - Bac / Abreuvoir
- Comment s'abreuvent vos bovins au pré ?
    - Bac à eau
        - Si oui, d'où vient l'eau ?
            - Réseau
            - Rivière/ruisseau
            - Puit
    - Etang / Marre / Trous d'eau
    - Ruisseau / rivière
- Vos pâtures comportent-elles des zones humides ou marécageuses
    - Oui
    - Non
- Avez-vous en général de l'eau stagnante durant plusieurs jours au niveau de la ferme lorsqu'il pleut ?
    - Oui
    - Non

Rongeurs

- En moyenne, combien de rats/souris avez-vous vu sur l'exploitation en 2017 ?
- Avez-vous pris des mesures contre les rongeurs ?
    - Raticide
        - Si oui, quelle est la fréquence de distribution des appâts ?
    - Pièges
    - Chat
    - Rien
- Avez-vous changé de pratique ces dernières années ?
- Avez-vous constaté la présence de rongeurs dans les aliments (sacs déchirés, déjections à proximité des lieux de stockage ?) ?
    - Oui
    - Non
- Avez-vous déjà constaté la présence de ragondins, rats musqués ou autres rongeurs sauvages sur l'exploitation / dans les pâtures ?
    - Oui
    - Non
- Si oui :

    - Ragondins
    - Rats musqués
    - Hérissons
    - Campagnols
- Avez-vous constaté un changement de la prolifération de ces espèces ces dernières années ?

Annexe 3 : résultats du MAT pour les 481 bovins

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E01	86498	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86499	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86501	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86502	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86503	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86504	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86505	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86506	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E01	86507	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86508	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86509	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86510	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	SEJ	400
E02	86511	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E02	86512	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86513	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86514	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E02	86515	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86516	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E02	86517	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E03	86518	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E03	86519	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E03	86520	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E03	86521	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E03	86522	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E03	86523	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E03	86524	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E03	86525	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E03	86526	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E03	86527	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86621	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86622	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86623	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E04	86624	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86625	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86626	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86627	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E04	86628	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E04	86629	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E04	86630	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86631	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86632	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86633	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86634	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86635	200	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	AUS	200
E05	86636	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86637	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86638	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E05	86639	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E05	86640	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E06	86641	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86642	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86643	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86644	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86645	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86646	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86647	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86648	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86649	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E06	86650	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86651	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86652	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E07	86653	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86654	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86655	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	SEJ	400
E07	86656	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E07	86657	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86658	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86659	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E07	86660	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86661	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86662	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86663	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86664	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86665	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E08	86666	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86667	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86668	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86669	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E08	86670	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86671	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86672	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86673	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86674	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E09	86675	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	400
E09	86676	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86677	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86678	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86679	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E09	86680	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E10	86813	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E10	86814	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E10	86815	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E10	86816	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E10	86817	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E10	86818	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86819	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86820	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86821	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E11	86822	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E11	86823	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86824	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86825	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86826	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86827	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E11	86828	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86845	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86846	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86847	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86848	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86849	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86850	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86851	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86852	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86853	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E12	86854	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86855	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86856	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86857	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86858	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E13	86859	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86860	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86861	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86862	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E13	86863	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E13	86864	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E14	86865	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E14	86866	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E14	86867	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E14	86868	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E14	86869	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E14	86870	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E14	86871	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E14	86872	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E14	86873	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E14	86874	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E15	86996	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	86997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	86998	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	86999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	87000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	87001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	87002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	87003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	87004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E15	87005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87006	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87008	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87009	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E16	87010	200	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	AUS	200
E16	87011	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E16	87012	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87014	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E16	87015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87065	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87066	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87067	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87068	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87069	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87070	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87071	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87072	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87073	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E17	87074	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87075	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87076	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87077	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87078	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87079	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87080	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87081	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87082	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E18	87083	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E18	87084	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E19	87085	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	0	SEJ	400
E19	87086	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E19	87087	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E19	87088	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E19	87089	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E19	87090	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E19	87091	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E19	87092	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E19	87093	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E19	87094	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87096	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87097	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87098	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87099	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E20	87104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87392	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87393	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87394	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87395	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E21	87396	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87397	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87398	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87399	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E21	87401	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87402	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87403	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87404	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87406	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87407	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87408	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87409	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E22	87411	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E23	87412	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E23	87413	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E23	87414	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E23	87415	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E23	87416	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E23	87417	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E23	87418	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E23	87419	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E23	87420	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E23	87421	200	0	0	0	0	0	0	200	0	0	0	0	AUS + PAN	200
E24	87422	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87423	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87424	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87425	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87426	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87427	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87428	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87429	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87430	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E24	87431	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87551	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87552	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87553	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87554	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87555	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87556	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87557	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87558	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87559	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E25	87560	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87561	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87562	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87563	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87564	100	0	0	0	100	0	100	0	0	100	0	0	//	100

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E26	87565	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87566	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87567	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87569	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E26	87570	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87595	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87596	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87597	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87598	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87599	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87601	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87602	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87603	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E27	87604	100	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	AUS + PYR	100
E27	87605	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E28	87606	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87607	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87608	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87609	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87610	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87611	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87612	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87613	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E28	87614	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87615	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E28	87616	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87617	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87618	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87619	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87620	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87621	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87622	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87623	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87624	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87625	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E29	87626	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87627	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87628	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87629	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87630	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87631	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87632	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87633	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87634	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87635	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E30	87636	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87748	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E31	87749	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E31	87750	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87751	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87752	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E31	87753	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87754	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87755	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87756	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E31	87757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87758	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87759	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87760	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87761	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87762	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87763	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87764	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87765	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87766	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E32	87767	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87824	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87825	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87826	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87827	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87828	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87829	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E33	87830	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E33	87831	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E33	87832	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E33	87833	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87834	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87835	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87836	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87837	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87838	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87839	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E34	87840	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87841	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E34	87842	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E34	87843	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87886	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87887	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87888	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E35	87889	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87890	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87891	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87892	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87893	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87894	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E35	87895	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E36	87898	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87899	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E36	87900	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87901	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87902	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87903	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87904	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87905	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87906	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E36	87907	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E37	87908	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E37	87909	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E37	87910	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	SEJ	100
E37	87911	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E37	87912	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E37	87913	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E37	87914	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E37	87915	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E37	87916	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	SEJ	200
E37	87917	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E38	88015	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88016	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88017	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88018	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88019	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88020	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88021	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E38	88022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88023	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E38	88024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88025	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E39	88026	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88027	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88028	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88029	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88030	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88031	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88032	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E39	88033	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E39	88034	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88210	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E40	88211	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88212	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E40	88213	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88214	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88215	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88216	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88217	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88218	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E40	88219	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88221	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E41	88222	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88223	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88224	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88225	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88226	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88227	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88228	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E41	88229	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88230	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88231	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88232	200	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E41	88233	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88234	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E41	88235	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88236	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88237	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88238	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88239	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88241	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88242	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88243	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88244	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E42	88245	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88390	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E43	88391	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88392	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88393	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88394	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88395	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88396	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88397	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88398	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88399	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E43	88400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88401	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88402	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88403	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88404	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88406	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88407	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88408	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88409	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E44	88410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E45	88697	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E45	88698	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E45	88699	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E45	88700	200	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	AUS	200
E46	88814	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E46	88815	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E46	88816	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E46	88817	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E46	88818	100	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	AUS + PAN	100
E46	88819	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E46	88820	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E46	88821	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	200
E46	88822	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E46	88823	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88824	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	GRI	100
E47	88825	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88826	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88827	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E47	88828	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88829	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88830	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88831	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	400
E47	88832	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E47	88833	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89842	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89843	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89844	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89845	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89846	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89847	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

Code élevage	Prélèvement	Australis	Autumnalis	Ballum	Bataviae	Canicola	Grippotyphosa	Ictero-haemorrhagiae	Panama	Pomona	Pyrogenes	Sejroe	Tarassovi	Sérogroupe incriminé	Titre associé
E48	89848	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89849	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89850	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89851	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
E48	89852	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	AUS	100
E48	89853	200	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	AUS	200

Annexe 4 : synthèse des réponses obtenues lors du questionnaire

Nom de la variable	Catégories	Nombre de réponses
connaissance	Oui	13
	Non	21
patures	Dans un rayon de 3km	21
	A plus de 3km	13
type	Allaitant	29
	Mixte	5
race	Charolais	7
	Limousine	13
	Autres	14
nb_adultes	[10-29]	18
	[30-49]	12
	[>50]	4
batiment	[0-1 mois]	8
	]1-2 mois]	4
	]2-4 mois]	15
	]4-6 mois]	7
achats	Oui	8
	Non	26
IA	Oui	15
	Non	19
prop_IA	Jamais	19
	Moins de la moitié	7
	Plus de la moitié	2
	Systématiquement	6
autres_esp	Oui	20
	Non	14
chevaux	Oui	7
	Non	27
chiens	Oui	13
	Non	21
pc_petits_ru	Oui	6
	Non	28
autres_especes_ patures	Oui	3
	Non	31
voisins_patures	Oui	21
	Non	13
voisins_eau	Oui	17
	Non	17
voisins_materiel	Oui	9
	Non	25
ensilage	Oui	6
	Non	28
front_attaq3j	Non concerné	27
	Oui	4
	Non	3

Nom de la variable	Catégories	Nombre de réponses
concentres	Oui	28
	Non	6
stock_hermetique	Non concerné	6
	Oui	12
	Non	16
Surplus_repousse	Non concerné	14
	Oui	14
	Non	6
Surplus_retire48h	Non concerné	15
	Oui	15
	Non	4
eau_stab	Eau du réseau	9
	Eau de source	18
	Mixte eau du réseau / eau de source	6
	Non concerné (pas de stabulation)	1
distribution	Abreuvoir/Bac	27
	Buvette	6
	Non concerné	1
eau_pre	Eau libre en surface	14
	Eau de source captée	5
	Eau du réseau	1
	Mixte	14
zones_humides	Oui	17
	Non	17
eau_stag	Oui	5
	Non	29
nb_rats	Aucun	5
	Autour d'une dizaine	21
	Autour d'une cinquantaine	7
	Autour d'une centaine ou plus	1
chats	Oui	32
	Non	2
raticide	Oui	25
	Non	9
pièges	Oui	7
	Non	27
rongeurs_aliments	Oui	14
	Non	20
pres_nuisible	Oui	22
	Non	12
ragondins	Oui	20
	Non	14
rats_musqués	Oui	4
	Non	30
hérissons	Oui	9
	Non	25
campagnols	Oui	10
	Non	24

Nom de la variable	Catégories	Nombre de réponses
chgmt_prolif	En augmentation	10
	En diminution	7
	Stable	12
	Ne se prononce pas	5

Annexe 5 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 500 mètres

Code élevage	Statut	Sérogroupe	Longueur totale des cours d'eau (m)	Surface en zone artificialisée (m²)	Surface en zone agricole (m²)	Surface en forêts et milieux semi-naturels (m²)
E03	1	ND	1410	0	489281	296086
E05	1	AUS	1214	0	414262	371103
E06	0		1350	280825	504542	0
E10	1	AUS	628	54384	730982	0
E11	1	AUS	2132	40524	646814	98027
E12	0		1932	0	785367	0
E15	0		1206	211323	567734	6308
E16	1	ND	1476	0	437166	348200
E17	0		2232	0	724566	60800
E18	0		1412	0	735039	50326
E24	0		91	0	623526	161839
E27	1	AUS	2464	0	705922	79444
E28	0		1433	0	709669	75697
E32	0		1449	130458	651073	3834
E35	1	ND	315	180500	573095	31771
E40	1	AUS	1559	3999	667126	114240
E41	1	AUS	1756	0	418295	367071
E42	0		1404	400306	385060	0
E44	0		701	215748	568868	750
E47	1	AUS	948	525115	260251	0
E48	1	AUS	902	473521	311844	0

Annexe 6 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 1500 mètres

Code élevage	Statut	Sérogroupe	Longueur totale des cours d'eau (m)	Surface en zone artificialisée (m²)	Surface en zone agricole (m²)	Surface en forêts et milieux semi-naturels (m²)
E03	1	ND	12745	184722	5263852	1619720
E05	1	AUS	7294	0	2634271	4434020
E06	0		8204	1817984	4759645	490662
E10	1	AUS	10639	825837	6182105	60349
E11	1	AUS	13883	1817519	3863722	1387051
E12	0		8723	613557	5548310	906426
E15	0		11733	668371	5863370	536550
E16	1	ND	10667	623075	4223809	2221407
E17	0		10989	0	5545224	1523068
E18	0		16994	0	4432678	2635614
E24	0		6860	522696	5045318	1500279
E27	1	AUS	14786	161571	5870312	1036408
E28	0		10466	122354	5984069	961870
E32	0		13448	826417	5007925	1233951
E35	1	ND	13338	1830221	4263920	974153
E40	1	AUS	7885	2201421	4460429	406444
E41	1	AUS	19943	931734	3648486	2488073
E42	0		11339	1876537	4609903	581854
E44	0		7496	422164	5546578	1099550
E47	1	AUS	10950	2148722	4470576	448994
E48	1	AUS	10525	1175923	5646820	245550

Annexe 7 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 2000 mètres

Code élevage	Statut	Sérogroupe	Longueur totale des cours d'eau (m)	Surface en zone artificialisée (m²)	Surface en zone agricole (m²)	Surface en forêts et milieux semi-naturels (m²)
E03	1	ND	23638	627565	8987227	2745885
E05	1	AUS	13243	0	5075982	7284700
E06	0		16228	2869746	8619164	871768
E10	1	AUS	19240	1453836	10169528	737314
E11	1	AUS	23205	3205891	6569505	2585285
E12	0		14785	613557	9993518	1753605
E15	0		21389	1306214	9870219	1184246
E16	1	ND	18958	1549085	6969108	3842488
E17	0		16203	0	9893781	2466898
E18	0		26868	0	7179132	5181549
E24	0		15252	751787	8665384	2943507
E27	1	AUS	28703	865123	9975352	1520203
E28	0		15974	482336	10060705	1817639
E32	0		22749	1197769	8334744	2828168
E35	1	ND	20345	4133555	6322435	1904690
E40	1	AUS	15675	3949402	7671997	739282
E41	1	AUS	30455	2410187	6577693	3372799
E42	0		17537	2513804	8772377	1074500
E44	0		18209	422164	10089768	1848747
E47	1	AUS	18437	3064200	8379298	917181
E48	1	AUS	17458	1736090	9534279	1090312

Annexe 8 : surface des utilisations du sol et longueur des cours d'eau obtenues pour chaque zone tampon d'un rayon de 3000 mètres

Code élevage	Statut	Sérogroupe	Longueur totale des cours d'eau (m)	Surface en zone artificialisée (m²)	Surface en zone agricole (m²)	Surface en forêts et milieux semi-naturels (m²)
E03	1	ND	49425	1979266	21869984	4423923
E05	1	AUS	36289	149907	12445572	15677692
E06	0		32321	5706919	20846524	1719730
E10	1	AUS	52870	2352750	23727784	2192638
E11	1	AUS	45994	9152971	14623104	4497096
E12	0		32220	613557	22857395	4802219
E15	0		50074	2076157	22720324	3476690
E16	1	ND	46063	3537017	16532691	8203463
E17	0		32186	753605	21885520	5634045
E18	0		51611	229688	16318921	11724564
E24	0		46004	3941807	17512921	6818443
E27	1	AUS	50453	2499324	22736375	3037470
E28	0		39168	2189118	21808062	4275991
E32	0		52348	1603139	18619828	8050206
E35	1	ND	44558	9612069	13972697	4688407
E40	1	AUS	38751	7579448	18007425	2686302
E41	1	AUS	53315	8503606	13322491	6447077
E42	0		39946	4629437	19746218	3897519
E44	0		41333	1302198	22564738	4406236
E47	1	AUS	40396	4690385	20072506	3510282
E48	1	AUS	50354	3166181	21915498	3191490

DELABORDE Hélène

EXPOSITION ET INFECTION PAR LES LEPTOSPIRES PATHOGENES EN ELEVAGES BOVINS : ETUDE DE TERRAIN DANS L'OUEST LYONNAIS, INDICATEURS DU RISQUE D'EXPOSITION ET ROLE DE LA FAUNE SAUVAGE

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 28 novembre 2019

RESUME : La leptospirose est une zoonose bactérienne qui engendre des pertes économiques importantes chez les ruminants. Un test de micro-agglutination a été réalisé sur 481 bovins parmi 48 troupeaux de l'ouest-lyonnais afin de définir le statut d'exposition. 56% des troupeaux ont présenté au moins un bovin séropositif. Pour 70% d'entre-eux, le sérogroupe majoritaire identifié a été Australis, également identifié dans des populations sauvages fréquentant les bâtiments d'élevage ou les pâtures. Des analyses descriptives et statistiques ont été réalisées sur la base d'un questionnaire soumis aux éleveurs, ce qui a permis de dégager un ensemble de variables environnementales et zootechniques. Parmi ces variables, les pratiques d'alimentation et d'abreuvement avaient le plus de poids dans la détermination du statut d'exposition au sérogroupe Australis.

MOTS CLES :

- Leptospires
- Bovins-élevage
- Facteurs de risque
- Ecologie animale
- Sérologie

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Pierre Breton

1er Assesseur : Madame le Docteur Florence Ayral
2ème Assesseur : Madame le Professeur Marie Anne Arcangioli

Membre invité : Monsieur le Docteur Julien Cappelle

DATE DE SOUTENANCE : 28 novembre 2019