

# Leptospirose canine :

## méthodes de diagnostic biologique rapide au cabinet

A. KODJO, DV, HDR, Professeur  
de Microbiologie  
Laboratoire des Leptospires  
Campus Vétérinaire  
VetAgro Sup  
1 avenue Bourgelat  
69280 Marcy-l'Etoile

### OBJECTIFS PÉDAGOGIQUES

Être capable de connaître :

- les tests sérologiques rapides pour la leptospirose ;
- leur interprétation.

Les tests de diagnostic rapides et un test ELISA permettent un diagnostic de leptospirose au chevet du patient, sous réserve de connaître leurs limites.

La leptospirose est une zoonose de répartition mondiale causée par un spirochète du genre *Leptospira*, famille des *Leptospiraceae*. Quel que soit le test auquel on se réfère, son interprétation doit toujours s'inscrire dans le cadre de l'encours de l'infection et de son évolution. L'objet de cet article est de présenter les tests rapides disponibles au cabinet. □

### Les paramètres d'orientation diagnostique

Dans la majorité des cas de leptospirose clinique aiguë, l'animal présenté au cabinet aura des paramètres biochimiques perturbés. Les témoins du dysfonctionnement rénal (urée [Valeurs usuelles (V.U.) < 0,6 g/L = < 9 mmol/L], créatinine [V.U. < 12 mg/L = 110 µmol/L]) et/ou hépatique (ALAT [V.U. < 80 U/L]), de même qu'une glycosurie sans hyperglycémie, sont des éléments forts d'orientation.

Cependant, selon le moment de la présentation, en particulier lors de formes fulminantes, ils peuvent ne pas être en élévation au moment de la consultation, c'est pourquoi l'absence de modification de ces paramètres biochimiques ne doit en aucun cas constituer un élément d'exclusion. Dans tous les cas, présents ou pas, le praticien peut avoir recours à des méthodes de diagnostic utilisables au chevet de son patient.

Ces méthodes font appel à l'observation directe des leptospires dans les fluides biologiques, ou plus récemment à des méthodes immunologiques de mise en œuvre rapide (< 15-20 minutes).

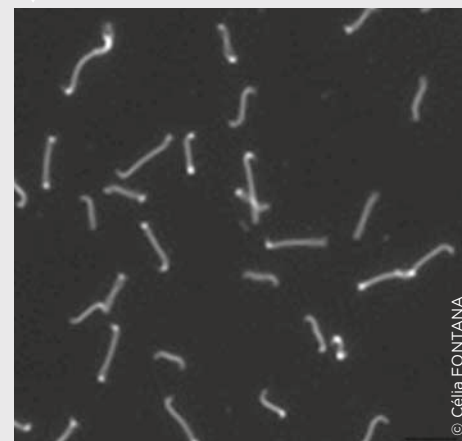


Photo 1. Observation de leptospires au microscope à fond noir (grossissement 10x20). La forme spiralée et les crochets à chaque extrémité sont caractéristiques. (Avec l'autorisation de Célia Fontana, [1])

### Microscopie à fond noir ou contraste de phase

Il faut reconnaître que cette technique qui a été historiquement suggérée au clinicien disposant d'un microscope à fond noir ou à contraste de phase est particulièrement délicate de réalisation, notamment parce qu'il

#### CRÉDITS DE FORMATION CONTINUE

La lecture de cet article ouvre droit à 0,05 CFC. La déclaration de lecture, individuelle et volontaire, est à effectuer auprès du CFCV (cf. sommaire).

faut un œil exercé pour reconnaître la morphologie caractéristique en filament incurvé et la mobilité par rotation des leptospires (PHOTO 1).

Même pour des experts, la confusion est possible avec les filaments de fibrine ou autres débris cellulaires présents dans le sang, les urines ou autres fluides biologiques (liquide péritonéal, liquide pleural) à partir desquels l'observation est envisagée.

Pour que l'observation soit couronnée de succès, il convient de la réaliser sur le sang en tout début d'infection au moment de la leptospirémie (2-3 jours après l'infection), et sur les urines en théorie après la phase de leptospirémie.

Bien entendu, au moment de la consultation, le vétérinaire n'a pas forcément tous les éléments épidémiologiques qui permettent de préciser le moment de la contamination ; de ce fait, si cette observation est envisagée, la cible proposée pour l'observation reste purement théorique, on pourra néanmoins se fier au moment du pic fébrile pour décider du fluide à privilégier pour l'observation.

Au pic fébrile correspond théoriquement la leptospirémie optimale, on ciblera alors le sang pour l'observation ; en dehors de cette fenêtre, les urines devront être préférées.

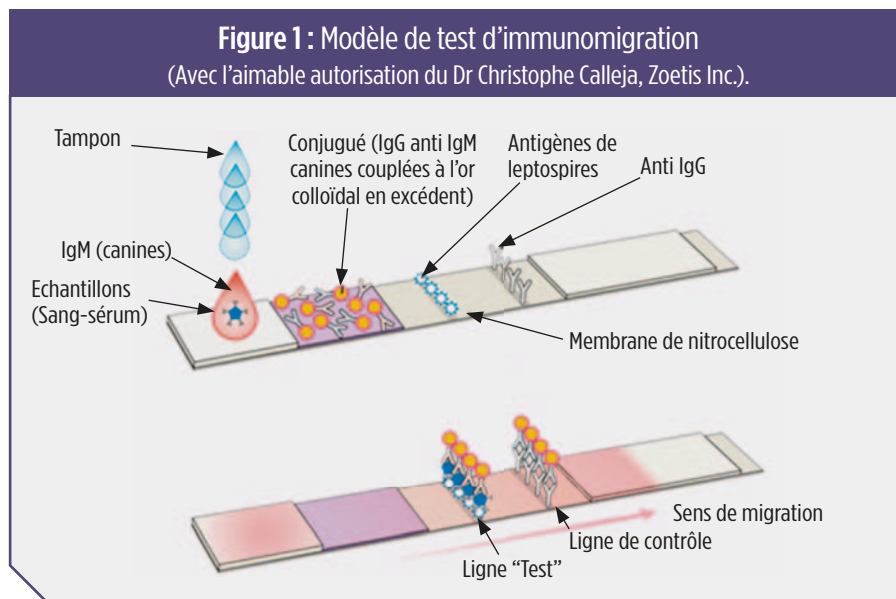
Il faut être conscient du risque qu'il y a à la manipulation de leptospires, cet examen devra donc se réaliser sous couvert de conditions strictes de biosécurité, le port de gants étant un minimum incontournable.

La possibilité d'une infection par voie conjonctivale est réelle [2], aussi le port d'un masque et de lunettes de protection n'est pas superflu.

Compte tenu de la très grande fréquence des échecs, de la nécessité de disposer d'une expertise dans la reconnaissance visuelle de ces spirochètes et des risques associés à la réalisation de cette observation, cet examen est aujourd'hui très rarement voire jamais pratiqué au cabinet.

La plupart des fluides cibles prélevés dans l'optique éventuelle de cet examen pourront donc être utilement adressés au laboratoire pour d'autres tests.

Il convient donc de retenir que la pratique de cet examen au cabinet est peu recommandée, son résultat étant aléa-



toire et sa pratique associée à un risque de biosécurité.

## Tests sérologiques rapides

### Immunomigration ou Immunochromatographie (*Lateral Flow Test*)

Ces tests, également appelés Tests de Diagnostic Rapides (TDR) ou *Rapid ImmunoMigration* (RIM), sont actuellement en plein essor, notamment du fait de leur utilisation aisée, de leur simplicité, de leur rapidité et de leur coût.

En biologie humaine, ils sont particulièrement appréciés dans les pays en développement où ils sont fortement recommandés par l'Organisation Mondiale de la Santé [3].

Leur usage le plus commun est le TDR paludisme très utilisé en pays tropicaux.

En médecine vétérinaire, leur usage largement répandu pour le diagnostic des principales maladies infectieuses des Carnivores domestiques (parvovirose, FeLV, FIV, PIF...) s'étend actuellement au diagnostic au cabinet de la leptospirose.

Son principe est un système d'immunochromatographie à deux emplacements sur une membrane de nitrocellulose emprisonnée dans une cassette.

L'échantillon à analyser est déposé dans une zone dédiée "échantillon" contenant des immunoglobulines de type IgG anti-

IgM canines conjugués à l'or colloïdal. Au fur et à mesure que l'échantillon migre sur la membrane de la cassette, les anticorps anti-IgM canines conjugués à l'or colloïdal forment un complexe avec les immunoglobulines de type IgM canines contenus dans l'échantillon.

Ce complexe avance sur la membrane jusqu'à une zone réactionnelle où il est immobilisé par une ligne d'antigènes de leptospires reconnus par les IgM canines.

Ces antigènes ont été sélectionnés de manière à représenter le panel de sérovars de leptospires épidémiologiquement dominants dans une région.

A ce stade, seuls les IgM spécifiques des antigènes de leptospires seront reconnus, conduisant à la formation d'une ligne colorée au repère "T" de la zone réactionnelle, ce qui confirme un résultat positif.

L'absence de cette ligne colorée dans le "T" indique un résultat d'essai négatif.

L'excédent d'anticorps conjugué migre jusqu'au repère "C" où il est capturé par des anticorps qui lui sont spécifiques, validant le test.

Des variantes peuvent être possibles selon le fabricant du test, notamment en ce qui concerne la zone de validation où diverses combinaisons peuvent être utilisées, mais le principe général reste le même (FIGURE 1).

L'absence de cette ligne de validation est généralement significative d'un défaut de migration de l'échantillon et conduit à refaire le test avec une autre cassette.

Deux modèles de ce type de test sont actuellement commercialisés en France par le laboratoire Zoetis sous l'appellation Witness lepto® et le laboratoire Kitvia sous la dénomination Test Rapide Leptospirose IgM®.

Bien que la nature des antigènes utilisés dans ces deux systèmes soit distincte, il semble d'après les données publiées [4,5] que ces deux produits se valent, tant en sensibilité qu'en spécificité.

Sans interférence apparente avec les anticorps vaccinaux, ils sont recommandés pour le diagnostic en phase aiguë de la leptospirose pendant la phase d'apparition des IgM, c'est-à-dire environ une semaine après le contact infectant.

Il n'est donc pas rare de constater des réponses négatives lors de formes fulminantes de leptospirose canine.

Dans ce cas, si l'animal survit, le test pourra se positiver dans les jours qui suivent.

Leur utilisation dans les formes évolutives n'est pas indiquée, les titres en IgM étant alors inférieurs à leur seuil de détectabilité.

Dans ce contexte, seul le recours au laboratoire permettra une confirmation de l'infection.

Enfin, il convient de préciser que ces tests ne permettent pas d'identifier le sérovar infectant.

De ce fait, un diagnostic limité à l'utilisation de ce seul test ne permettrait plus d'appréhender les sérovirs actuellement circulants dans un territoire donné, ce qui, à terme, ôterait toute possibilité d'adaptation des valences vaccinales.

Leur utilisation devrait donc être associée à un typage du sérovar infectant, à réaliser au moment de la guérison, les IgM ayant été remplacés par des IgG, beaucoup plus spécifiques.

Utilisables à partir de seulement 5 µL de sérum ou de sang total, ils fournissent une réponse en 10 à 15 minutes et sont donc totalement adaptés à un usage au cabinet.

Leur principale indication réside dans le diagnostic étiologique des formes aiguës de leptospirose canine. Il convient d'indiquer que la vaccination peut produire des IgM pendant les toutes premières semaines [6] ; aussi, une positivité sur un animal très récemment vacciné

(< 2 mois) doit être interprétée avec précaution (comme c'est aussi le cas avec le test sérologique de référence).

### Elisa Rapide

L'originalité de cette technologie réside dans le fait que l'ensemble des réactifs permettant la mise en œuvre d'un test ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) se trouve réuni dans un système miniaturisé et breveté qui réduit considérablement le temps de réaction, le rendant applicable en cabinet.

Ainsi, après application de l'échantillon (sang, sérum, plasma) dans la cupule prévue, les réactifs sont libérés par une pression de l'opérateur sur l'emplacement prévu.

Toutes les étapes de la réaction ELISA se déroulent alors successivement jusqu'à l'apparition d'une coloration bleue, dans les zones dédiées.

La réaction qui se déroule sur un temps total de 10 minutes est validée par l'apparition d'une coloration dans une cupule "contrôle positif". Noter que le temps habituel d'un test ELISA au laboratoire varie entre 1 à 2 heures.

Commercialisée par la société Idexx sous l'appellation SNAP® LEPTO, elle utilise comme antigène une protéine recombinante spécifique des leptospires pathogènes LipL32 et offre la possibilité de détecter les anticorps dirigés contre tous les sérovirs pathogènes.

A la différence des tests précédents, ce dernier détecte l'ensemble des anticorps présents dans le sérum. Ce test peut donc être utilisé aussi bien dans le cadre d'un contrôle de l'immunité postvaccinale que dans le cadre du diagnostic d'une leptospirose clinique, à condition d'intégrer le statut vaccinal dans le diagramme d'interprétation.

En cas d'utilisation chez l'animal vacciné présentant des symptômes évocateurs de leptospirose, le recours au laboratoire est indispensable pour une confirmation, ainsi que précisé dans sa notice d'utilisation.

Dans leur évaluation comparative, Curtis et ses collaborateurs indiquent des performances superposables à celles du test de référence de micro-agglutination [7]. □

### MÉMO

- Le profil symptomatique de la leptospirose, caractérisée désormais par une pluralité de symptômes, rend son diagnostic parfois délicat.
- De nouveaux systèmes miniaturisés de diagnostic ont été conçus, permettant au praticien d'établir rapidement le diagnostic au cabinet.

### >>À LIRE...

1. Fontana C et coll. Analysis of a Spontaneous Non-Motile and Avirulent Mutant Shows That FlIM Is Required for Full Endoflagella Assembly in *Leptospira interrogans*. *PLoS One*. doi: 10.1371/journal.pone.0152916. eCollection 2016.
2. Zilber A-L et coll. Comparison of Mucosal, Subcutaneous and Intraperitoneal Routes of Rat *Leptospira* Infection. *PLoS Negl Trop*. 2016 ; Dis. DOI : 10.1371/journal.pntd.0004569. eCollection 2016.
3. Organisation Mondiale de la Santé. 2017. Les tests de diagnostic rapide. Consultable sur : [http://www.who.int/malaria/areas/diagnosis/rapid\\_diagnostic\\_tests/fr/](http://www.who.int/malaria/areas/diagnosis/rapid_diagnostic_tests/fr/). Dernier accès le 21 février 2017.
4. Kodjo A et coll. A Rapid In-Clinic Test Detects Acute Leptospirosis in Dogs with High Sensitivity and Specificity. *BioMed Res Int*. Article ID 3760191.
5. Abdoel T H et coll. Rapid test for the serodiagnosis of acute canine leptospirosis. *Vet Microbiol*. 2011 ; 150 : 211-3.
6. Hartman EG et coll. Humoral immune response of dogs after vaccination against leptospirosis measured by an IgM- and IgG-specific ELISA. *Vet Immunol Immunopathol*. 1984 ; 7 : 245-54.
7. Curtis, KM et coll. Performance of a Recombinant LipL32 Based Rapid In-clinic ELISA (SNAP® Lepto) for the Detection of Antibodies against *Leptospira* in Dogs. *Intern J Appl Res Vet Med*. 2015 ; 13 : 182-9.

**Déclaration publique d'intérêts sous la responsabilité du ou des auteurs :**  
L'auteur travaille dans un laboratoire effectuant des tests de diagnostic de leptospirose.