



service public fédéral

**SANTE PUBLIQUE,
SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE
ET ENVIRONNEMENT**

Hoge Gezondheidsraad

26 -04- 2007

Direction générale Animaux, Végétaux et Alimentation
Service Politique Sanitaire animaux et végétaux
Division Santé animale et produits animaux

55D

VOTRE LETTRE DU

VOS RÉF.

NOS RÉF. 98699/421D/07

DATE 23.IV.2007

ANNEXE(S)

CONTACT E. Hoc

TÉL. 02/524.73.15

FAX 02/524.73.54

E-MAIL cdith.hoc@health.fgov.be

Monsieur le Président du
Conseil Supérieur de la Santé
rue de l'Autonomie, 4
Bruxelles 1070

n° 8334

OBJET Demande d'avis au Conseil Supérieur de la Santé

Monsieur le Président,

La leptospirose est une maladie infectieuse zoonotique qui touche de nombreuses espèces de mammifères sauvages et domestiques. Les rongeurs sont réceptifs à l'infection et constituent le réservoir des leptospires en multipliant l'agent pathogène et restant porteurs rénaux et donc excréteurs urinaires. Tous les mammifères sont sensibles à la maladie, mais les cas cliniques sont plutôt vus chez les bovins, les porcs, les chevaux et le chien.

Ce dernier développe une forme aiguë, subaiguë ou chronique au cours de laquelle la septicémie éventuellement présente peut aboutir à une néphrite et une hépatite s'accompagnant d'urémie voire d'ictère.

La vaccination préventive est largement répandue chez le chien ; les vaccins existants sont des vaccins inactivés. Ils contiennent les sérotypes *icterohaemorrhagiae* et *canicola*. Cependant la protection conférée est partielle et des formes chroniques de leptospirose existent chez des animaux vaccinés. Ces formes sont généralement causées par des bactéries d'un autre sérotype que *icterohaemorrhagiae* et *canicola* comme *seroë*, *australis* ou *grippotyphosa*. L'infection serait également fréquente dans l'espèce féline.¹ La prévalence de cette infection dans les populations d'animaux de compagnie et donc du risque encouru par l'homme risque d'augmenter dans les années à venir.

En effet, un rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (afssa)² a inclus la leptospirose dans la liste des maladies prioritaires à considérer en cas de réchauffement climatique. Le rapport prévoit des modifications de l'épidémiologie des leptospires qui auront des répercussions tant sur la santé animale que sur la santé humaine.

¹ Canine leptospirosis_Do we have a problem : G. André-Fontaine – Veterinary Microbiology 117 (2006) 19-24

² Rapport sur l'évaluation du risque d'apparition et de développement de maladies animales compte tenu d'un éventuel réchauffement climatique [afssa \(2005\)](#)

.be



service public fédéral

**SANTÉ PUBLIQUE,
SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE
ET ENVIRONNEMENT**

Pour ces raisons, la Direction générale Animaux, Végétaux et Alimentation du SPF santé publique, Sécurité de la chaîne alimentaire et Environnement demande au Conseil Supérieur de la Santé :

-d'émettre un avis sur le risque de contamination des particuliers détenant des chiens et des chats infectés par les différents sérotypes de *leptospira interrogans* ;

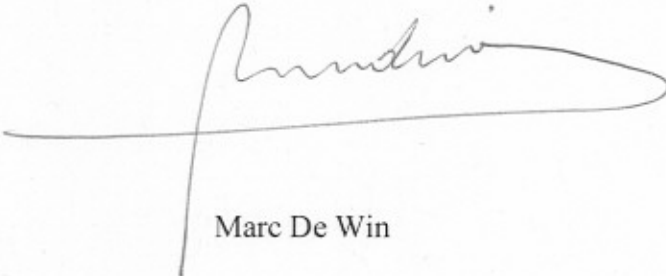
-en fonction de cet avis, d'émettre des recommandations

- sur les mesures de prévention et de surveillance à mettre en œuvre dans la population animale , notamment des mesures possibles de type normatif ;
- sur la pertinence et la forme de la communication destinée au grand public ;
- Sur l'information et la formation destinée aux professionnels confrontés à cette problématique.

La personne de contact pour ce dossier est : Edith Hoc : edith.hoc@health.fgov.be

Vous remerciant d'avance de l'attention que vous porterez à la présente demande, je vous prie d'agréer, Monsieur le Président, l'expression de mes salutations distinguées.

Le Directeur Général a.i.,



Marc De Win



BIJLAGE 02 – ANNEXE 02

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

[Demande d'avis 8334 « *Leptospira* »](#)

a. Motivation de cette demande d'avis :

=> problème soulevé par les services d'inspection du bien-être, confronté à un problème de leptospirose clinique canine (serovar *pyrogenes*) dans un élevage (SPF, 29.03.07)
=> maladie zoonotique non réglementée.

b. Questions :

1) A partir de cette problématique s'est posée la question de savoir quel est le **risque encouru par les propriétaires de chiens, vaccinés ou non, de chats, porteurs et excréteurs de formes asymptomatiques des différents sérovars de *Leptospira*, ainsi que la détention de rongeurs (rats, cobayes, souris, hamsters) vendus en jardinerie.**

D'après le Professeur André-Fontaine de l'Ecole Vétérinaire de Nantes, l'essentiel de la contamination humaine est d'origine environnementale mais lorsque les humains ont des contacts proches avec les chiens, celle-ci n'est pas à négliger.

Le rapport de l'AFFSA (2005, FR) sur l'évaluation du risque d'apparition des maladies en fonction du réchauffement climatique prévoit une augmentation de la prévalence de la maladie dans les populations animales et humaines. Ce rapport recommande que soient développés les moyens de surveillance de l'évolution de cette infection dans l'environnement (ex: survie des leptospires dans les eaux douces). Il faut bien noter que ceci relève des compétences des Régions.

Le Conseil Supérieur de la Santé peut-il évaluer ce risque ou émettre des **recommandations relatives aux moyens d'évaluation et sur les mesures à prendre pour le réduire** (diagnostic, vaccination) ?

2) Nous souhaiterions également obtenir des **recommandations sur l'aspect normatif**. Il existe une base légale mais pas de réglementation spécifique.

2a) Faut-il **lister la leptospirose dans la liste des maladies soumises** à l'application de la loi de santé animale et développer une réglementation spécifique ?

2b) A ce sujet, quelles sont les recommandations du Conseil Supérieur de la Santé concernant les **mesures de surveillance et/ ou de lutte à prévoir** ?

2c) Y a t'il lieu de prévoir la **déclaration obligatoire de la maladie**?

c. Bases légales :

- Actuellement, la base légale est la loi de 1987 sur la santé des animaux: article 6, paragraphe2; qui permet au service vétérinaire du SPF ou de l'AFSCA de prendre des mesures produisant effet de trente jours au maximum en cas de danger imminent de contamination par une maladie contagieuse et l'article 9bis de la même loi qui permet au Ministre de prendre des mesures de lutte en cas de l'accroissement soudain et inattendu de la morbidité ou de la mortalité ou de l'impact zoonotique d'une maladie listée à l'OIE;

Ces mesures concernent les animaux de compagnie et les animaux de rente.

- l'AR du 17/2/1997 sur l'agrément des exploitations de chiens;

- l'AR du 22 mai 2005 portant des mesures pour la surveillance des zoonoses, prévoit la possibilité de mesures de surveillance en fonction de la situation épidémiologique. Ces mesures concernent les animaux de rente.

d. Annexes mentionnées et/ou fournies :

- Rapport sur l'évaluation du risque d'apparition et de développement de maladies animales compte tenu d'un éventuel réchauffement climatique (AFFSA 2005)
- *Canine leptospirosis - Do we have a problem* : G. André-Fontaine - Veterinary Microbiology 117 (2006) 19-24.
- Titers voor leptospirose in hondenkennel en hondenfokkerij (door Els Goossens van CODA-CERVA)
- « *La leptospirose : une maladie méconnue des animaux de compagnie* » Conférence donnée par le Prof G.André-Fontaine (ENV Nantes) le 31 mai 2007 (Bruxelles, Atomium).



**Conseil
Supérieur de la Santé**



**Hoge
Gezondheidsraad**

BIJLAGE 03 – ANNEXE 03

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

Van: Els Goossens [mailto:Els.Goossens@var.fgov.be]

Verzonden: woensdag 18 april 2007 17:40

Aan: Claeys Herman; De Win Marc

Onderwerp: Leptospirose in hondenkennel
Beste,

Op 2 maart 2007 werden bij een whippet (nr 1) in een hondenfokkerij de volgende titers voor leptospirose gevonden:

Serogroep Pyrogenes: 1/500+ (1/1000-) (gebruikte stam *L. interrogans pyrogenes* (Salinem))

Serogroep Icterohaemorrhagiae: 1/300+ (1/500-) (gebruikte stam: *L. borgpetersenii castellanis* (Castellon 3))

Serogroep Ballum: 1/100+ (1/300-) (gebruikte stam: *L. interrogans icterohaemorrhagiae* (RGA))

Zoals overeengekomen op de vergadering van 29 maart jstl., ben ik op 12 april bloed gaan afnemen van de volgende 20 honden (en twee schapen). De eigenaar van de fokkerij en de bedrijfsdierenarts hebben hiervoor hun gewillige medewerking verleend. Deze stalen zijn getest met de MAT test op 22 serovars bij serumverduningen van 1/10 - 1/100 - 1/300

De volgende serovars werden getest: grippotyphosa, canicola, pomona, ballum, icterohaemorrhagiae, javanica (syn. poi), australis (syn. bratislava), autumnalis, bataviae, pyrogenes, tarassovi, sejroe (syn. hardjo), celledoni, cynopteri, panama, shermani, djasimani, hebdomadis, louisiana, mini, manhao en ranarum.

Resultaten:

| Ras | Age | ID | Contact met nr 1 | Leptospirae serovar Pyrogenes | Titer MAT | Andere serovars |
|------------------|-----|---------------------|------------------|-------------------------------|-----------|----------------------|
| 1 whippet | 5m | 96700000 1108873 | ja, zelfde hok | Positief | 1/100± | grippotyphosa 1/10 ± |
| 2 whippet | 5m | halfzus donker | ja, zelfde hok | - | 1/10± | |
| 3 whippet | 7y | Tessa, moeder beige | ja, zelfde hok | Negatief | | |
| 4 whippet | 5y | 98510000 6511604 | ja, zelfde hok | - | 1/10± | |
| 5 whippet | 5y | 96700000 1100454 | ja, zelfde hok | - | 1/10± | |
| 6 border collie | 2y | 96700000 1104460 | ja, hok ernaast | Positief | 1/100± | grippotyphosa 1/10 ± |
| 7 jack russell | 1y | 96700000 1153837 | ja, hok ernaast | Negatief | | |
| 8 deense dog | 3y | 96700000 1100578 | neen | Negatief | | |
| 9 cocker | 4y | 97200000 0313410 | neen | Negatief | | |
| 10 whippet | 3m | nest van nr 5 | ja, zelfde hok | - | 1/10± | |
| 11 beagle | 3y | 0560981002 44699 | neen | Negatief | | |
| 12 beagle | 3y | 0560981002 62688 | neen | - | 1/10± | grippotyphosa 1/10 ± |
| 13 whippet | 2y | 967000000 615088 | neen | Positief | 1/100± | grippotyphosa 1/10 ± |
| 14 labrador | 4y | opgevangen dier | neen | Negatief | | |
| 15 border collie | 1y | 9670000011 39372 | neen | Negatief | | grippotyphosa 1/10 ± |
| 16 pincher | 1y | 967 00001 205079 | neen | - | 1/10± | |
| 17 jack russell | 2y | 056098100 187382 | neen | Negatief | | grippotyphosa 1/10 ± |
| 18 border collie | 7y | 9851000095 89424 | ja, hok ernaast | Negatief | | grippotyphosa 1/10 ± |
| 19 jack russell | 1y | 9670000007 01576 | ja, hok ernaast | Negatief | | |
| 20 deense dog | 3y | 9670000006 53622 | neen | Negatief | | |
| 21 texel | 2y | kleine nummer 26 | neen | Negatief | | |
| 22 texel | 2y | sanitel8826 | neen | Negatief | | |

De titers gevonden in dit bedrijf zijn laag. Titers van 1/10+ zijn moeilijk te beoordelen en zijn niet gecorreleerd met een acute infectie of met symptomen, maar kunnen een indicatie zijn van contact met het agens. Titers van 1/100+ worden algemeen als positief beschouwd. Er werden bij veel honden ook basale titers gevonden tegen serovars Icterohemorrhagia en Canicola, maar deze zijn naar alle waarschijnlijkheid gecorreleerd met vaccinatie.

Dit bedrijf ligt in de nabijheid van een beek die kan overlopen, en er is stilstaand water, waar de honden geen toegang tot hebben. Aangezien de eigenaar vertelde dat zijn honden (vooral de whippets) regelmatig ratten vangen en er bovendien een hoop oud brood in de schuur bewaard wordt, vermoed ik aanwezigheid van knaagdieren. Het probleem in dit bedrijf blijft de opvolging van de honden en traceerbaarheid.

In de eerste plaats moeten hygiënische maatregelen genomen worden en moeten de knaagdieren bestreden worden. Blijvend toezicht en duidelijke rapportering van sterfte/ziekte is aangeraden. Antibioticabehandeling op deze schaal en op dit tijdstip lijkt niet haalbaar. De aanwezige honden verkeerden ook allemaal in goede gezondheid.

Het feitelijke verspreidingsgevaar van de teruggevonden leptospirenstammen naar andere honden, nesten, de kenneleigenaars en eventuele kopers is moeilijk in te schatten omdat er te weinig referentiegegevens beschikbaar zijn, maar is eerder onwaarschijnlijk. Overleg met de bevoegde diensten en met de experts van het IRL schijnt me aangewezen.

Ik blijf tot uwer beschikking,
Met vriendelijke groeten,
Els Goossens

Dr. Els Goossens
Department of Bio-Control
Veterinary and Agrochemical Research Centre
VAR-CODA-CERVA

-----Message d'origine-----

De : Henri Decraemere [mailto:hdecreamere.dwgent@skynet.be]

Envoyé : jeudi 5 avril 2007 15:11

À : Hoc Edith

Objet : RE: Projet de demande d'avis au Conseil Supérieur de la Santé /leptosirose

Collega,

Bijkomende info: uit lijst Rendac blijkt op desbetreffend bedrijf een abnormaal hoge sterfte bij de schapen voor te komen in 2006 en 2007. Els Goossens zal volgende week een aantal bloedstalen van honden en schapen nemen voor onderzoek.

Mvg

Decraemere Henri

Inspecteur dierenarts, coördinator Vlaanderen

FOD Volksgezondheid, Veiligheid Voedselketen en Leefmilieu, Afdeling Dierenwelzijn en CITES

RAC "Ter Plaeten"

St Lievenslaan 23 - 5de Verd.

9000 Gent

Tel 09 268 64 70 - Fax 09 225 01 29

E-mail: dierenwelzijn.dwgent@skynet.be



BIJLAGE 04 – ANNEXE 04

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

1. Menselijke aspecten

a) Beschrijvende epidemiologie

Wereldwijd worden 300,000 tot 500,000 (ernstige) gevallen van leptospirose geregistreerd. De incidentie van België en de rest van Europa is te zien in Tabel 1. De hoogste incidentie vinden we terug in Estland (0.82 per 100,000) en Frankrijk (0.77 per 100,000). Het hoog aantal gevallen gerapporteerd door Frankrijk heeft te maken met de hogere incidentie van leptospirose in de overzeese departementen (Tabel 1)

De globale incidentie in de EU bleef stabiel op 0.1 to 0.22 gevallen per 100,000 inwoners tijdens de periode 1995-2004 (Tabel 2) (1). Het laagste aantal gevallen in de laatste jaren (688) werd opgetekend in 2004.

| | Incidence per 100,000 per country in 2005 |
|----------------|--|
| Austria | 0.1 |
| Belgium | 0.1 |
| Cyprus | 0 |
| Czech republic | 0.5 |
| Denmark | 0.2 |
| Estonia | 0.8 |
| Finland | <0.1 |
| France | 0.8 |
| Germany | <0.1 |
| Greece | 0 |
| Hungary | 0.3 |
| Ireland | 0.4 |
| Italy | <0.1 |
| Latvia | 0.4 |
| Lithuania | 0.2 |
| Luxembourg | -* |
| Malta | 0.7 |
| Netherlands | 0.2 |

| | |
|----------------|------|
| Poland | <0.1 |
| Portugal | 0.3 |
| Slovakia | 0.7 |
| Slovenia | 0.4 |
| Spain | 0 |
| Sweden | <0.1 |
| United Kingdom | 0.1 |
| Iceland | -* |
| Liechtenstein | -* |
| Norway | -* |

Tabel 1. Incidentie per 100,000 inwoners in de verschillende EU-lidstaten
* not available

| | 1995 | 1996 | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Numbers | 451 | 783 | 752 | 826 | 856 | 750 | 900 | 1022 | 696 | 688 |

Table 2. Reported number of cases in the EU and EEA member states 1995-2004.

Voorzichtigheid is geboden bij het interpreteren van de bestaande cijfers. Net zoals in andere landen onderschatten de Belgische cijfers waarschijnlijk de werkelijkheid. Onderdiagnose door het soms niet-specifieke karakter van de klinische beelden, de complexe diagnostiek, het onvoldoende alert zijn van het artsencorps voor het ziektebeeld en het blind behandelen van aspecifieke koorts met antibiotica, en onderrapportering zijn mogelijke verklaringen (1,2). Toch heeft men geen redenen om aan te nemen dat de incidentie zou toegenomen zijn in de laatste jaren. Net als in andere Europese landen is er enerzijds een afname van het beroepsrisico door mechanisatie en verbetering van de arbeidshygiëne en anderzijds een verhoogd risico op blootstelling tijdens vakanties in gebieden met een verhoogde incidentie. De meeste gevallen van leptospirose worden gediagnosticeerd in de leeftijdsgroep 30 tot 69 jaar. Dit is de leeftijdsgroep die professioneel en qua vrijetijdsbesteding het meeste risico loopt. In de periode 1962-2003 werd 80% van de gevallen in Duitsland geregistreerd in deze leeftijdsgroep.

Naar differentiaaldiagnose toe wordt opgemerkt dat leptospirose en infecties met hantavirussen klinisch sterk gelijklopend zijn maar dat humane leptospirose epidemiologisch veel minder frequent is dan hantavirose, althans in Europa en in Amerika. In de rest van de wereld, is de vergelijking van beide infectieziekten niet of nauwelijks onderzocht met uitzondering van China, waar hantavirose alweer overduidelijk primeert ondanks manifeste aanwezigheid van o.a. wilde ratten. (Jan Clement, *submitted for publication to Acta Clinica Belgica*). Het hantavirus serotype dat leptospirose het best imiteert qua symptomatologie (nier- en leveraantasting, trombocytopenie, koorts, myalgiën) is Seoulvirus, dat bovendien het enige hantavirus serotype is met wereldwijde verspreiding, om de eenvoudige reden dat zijn reservoir en vector, de wilde rat, het enige knaagdier is met een wereldwijde verspreiding en praktisch overal voorkomt. Dit houdt ook in dat niet alleen de symptomatologie identiek is (virus gebonden), maar bovendien ook de epidemiologie (vector gebonden). Praktisch voorbeeld: na overstromingen door overvloedige regen komen epidemieën voor van leptospirose, maar ook van Seoulvirus hantavirose. Daarenboven zijn dubbelinfecties van *Leptospira* en hantavirussen mogelijk zoals in Sri-Lanka (Jan Clement, *submitted for publication*).

Situatie in België

Naar aanleiding van de werkgroep over leptospirose werd een enquête gehouden bij de 110 peillaboratoria van het netwerk van surveillance van infectieuze aandoeningen (WIV-Epidemiologie). Er werd gepolst naar de mogelijkheid om zelf de laboratoriumdiagnose te stellen, naar hoe positieve stalen geconfirmeerd worden en naar het aantal gedetecteerde gevallen van leptospirose in 2002 tot 2006. We ontvingen 94 antwoorden. Zeven laboratoria doen zelf iets van diagnose (directe agglutinatie, complement binding, Medigal (?), fase contrast in urine/CSF, cultuur, fixation du complément, Leptospira Ag + Positive Control, Biorad (79623) (agglutinatie) en LeptoTek Dri Dot, BioMérieux). Achtendertig labo's antwoorden aanvragen/confirmaties door te sturen naar het Instituut voor Tropische Geneeskunde. Zeven laboratoria sturen aanvragen/confirmaties naar Prof. Carlier, Erasme. Bij Prof. Carlier gebeurt directe agglutinatie en positieve stalen worden naar het Institut Pasteur van Parijs gestuurd voor confirmatie. Eén labo stuurt confirmaties naar de UCL. Eén labo zegt geen confirmatie te laten uitvoeren i.g.v. een positief resultaat.

Sommigen vermelden een of meerdere mogelijk positieve gevallen waarvan de meeste via het ITG geconfirmeerd zijn geweest. Prof. Carlier vermeldt één geval in 2006 en één in 2007.

Deze 2 gevallen zijn niet opgenomen in de cijfers hieronder.

Het aantal aanvragen en positieve gevallen in België die te zien zijn in Tabel 3, is dus enkel gebaseerd op cijfers van het ITG. De laatste 2 jaren ontving het ITG aanvragen voor serologie van leptospirose van 110 verschillende laboratoria.

| Year | Number | Probable/certain cases |
|------|-----------|------------------------|
| 2000 | 523 | 6 |
| 2001 | 451 | 4 |
| 2002 | 424 | 4 |
| 2003 | 370 | 3 |
| 2004 | 417 | 4 |
| 2005 | 488 | 3 |
| 2006 | 517 | 14 |
| 2007 | 404 (606) | 8 |

Tabel 3. Aantal aanvragen en positieve gevallen in ITG van 2000-2007

b) Bronnen en manieren van besmetting

Direct of indirect contact met de urine van geïnfecteerde dieren is de belangrijkste oorzaak van besmetting. Blootstelling kan professioneel zijn of door het beoefenen van bepaalde sporten of hobby's.

In België is leptospirose erkend als een beroepsziekte. Het risico kan beperkt worden door het nemen van preventieve maatregelen en controle van knaagdieren. Soldaten lopen tien keer meer risico dan de rest van de bevolking. Wat sport betreft vormen vooral watersporten een risico. In de jaren '80 werden infecties in België geassocieerd aan duiken, waterskiën en tuinieren (2-5). In Nederland gaat het tegenwoordig in een derde van de gevallen van leptospirose om importinfecties uit tropische regio's.

Situatie in België

Van de 22 gevallen die in 2006 en 2007 in België (ITG) geregistreerd werden zijn er 15 (68%) geassocieerd aan water en 2 aan contact met (huis)dieren (zieke pup, boerderij). Andere bronnen van besmetting zijn contact met katten en bossen en tuinbouw. Van 2

gevallen is de transmissie niet gekend. Negen van de 22 infecties (41%) werden opgelopen in tropische regio's, 8 in Zuid-Oost Azië (Thailand, Borneo, Cambodja, niet nader bepaald) en 1 in Togo. De cluster van gevallen uit Thailand in 2006 is verantwoordelijk voor dit hoog percentage aan importinfecties.

c) Aangewezen diagnostiek

Microscopisch onderzoek (donker veldmicroscopie, immunofluorescentie, lichtmicroscopie na kleuring) op bloed, urine, CSF, dialysaat) is ongevoelig (10^4 leptospiren/ml) en niet-specifiek. Daarenboven moet men er rekening mee houden dat de leptospiremise fase kort is (enkele dagen voor tot maximum 1 week na het begin van de symptomen). In CSF zijn te weinig leptospiren aanwezig voor gebruik van deze techniek. Gebruik van kleuringen kan de gevoeligheid verhogen.

Cultuur van bloed, CSF en dialysaat kan gebeuren tijdens de leptospiremise fase, cultuur van urine kan vanaf de tweede week na het begin van de symptomen. Urine moet onmiddellijk verwerkt worden wat de bruikbaarheid van de techniek niet ten goede komt. Culturen moeten wekelijks gedurende 13 weken nagekeken worden alvorens men ze negatief antwoordt.

Door de ongevoeligheid van de microscopie en de duur van de cultuur is men in praktijk meestal aangewezen op serologie voor de diagnostiek. De referentiemethode is de microscopische agglutinatie-test (MAT). Antilichamen zijn meestal aantoonbaar vanaf 5-7 dagen na het begin van de symptomen. De MAT is serogroep-specifiek maar niet serovar-specifiek. In het begin van de infectie is kruisreactie met andere serogroepen frequent. Heterologe (kruisreagerende) antilichamen verdwijnen sneller dan serogroep-specifieke antilichamen die jarenlang positief kunnen blijven. Om een bewijs te hebben van infectie zijn gepaarde sera noodzakelijk om een viervoudige titerstijging te kunnen aantonen. Het interval tussen beide hangt af van de fase van de ziekte waarin de patiënt zich bevindt.

Andere serologische methoden zijn complementfixatie, ELISA, microscopische slide agglutinatie, indirecte hemagglutinatie en microscopische agglutinatie. De IgM-detectie met ELISA (ook beschikbaar in dipstick vorm) is gevoeliger dan de MAT in acute fase sera. Verschillende primersets voor diagnostiek met PCR zijn beschreven. Weinig van deze PCR's zijn uitgebreid klinisch getest. PCR kan uitgevoerd worden op serum, urine, oogvocht, CSF en weefsel bekomen bij autopsie. Het is belangrijk pathogene van niet-pathogene leptospiren te onderscheiden. De meeste PCR's zijn niet in staat de verantwoordelijke serovar aan te duiden (tenzij door bijkomende analyse). (2)

d) Efficacité de la vaccination

L'évaluation du risque en milieu professionnel est de la responsabilité de l'employeur, qui se fait aider par le médecin du travail. Ce dernier doit prendre en compte non seulement l'intitulé de la profession mais surtout l'activité spécifique effectuée par le travailleur qui peut se révéler à risque. Plusieurs éléments de prévention peuvent être déployés.

Lors de l'embauche du travailleur et sous la responsabilité de l'employeur, la délivrance d'une information adéquate est primordiale. L'importance du support écrit de l'information délivrée au travailleur exposé ainsi que la connaissance des symptômes même les plus simples de la maladie est mise en évidence par une petite étude (6).

La prévention individuelle reste le meilleur outil de protection, notamment le port effectif des équipements de protection, le respect des règles d'hygiène élémentaires et une attention particulière sur la prise en charge des petites blessures (désinfection, protection par pansement

impermeable à l'eau). La prévention collective avec la lutte contre les rongeurs est difficile à mettre en œuvre dans certains lieux de travail.

La chimioprophylaxie par la prise de doxycycline a été expérimentée chez les militaires au Brésil lors d'activité en zone endémique avec succès (7). Une autre étude montre que son utilisation ne prévient pas la survenue de la maladie mais réduit significativement la morbidité et la mortalité (prise de 200 mg/ semaine) (8).

Dans certains cas, la vaccination peut compléter cette prévention après évaluation par le médecin du travail, du risque réel encouru par le travailleur, au cas par cas. Elle devra être expliquée en insistant sur l'efficacité prouvée de la vaccination contre un seul séro-groupe de leptospire.

Il existe un vaccin en France (SPIROLEPT®) qui a été initialement mise en place pour les égoutiers de la ville de Paris.

1. La vaccination consiste en trois injections initiales (J0, J15, M6) avec rappel tous les deux ans.
2. La vaccination protège uniquement du séro-groupe *Ictérohaemorrhagiae*. Ce groupe n'est concerné que dans 30 % des cas de leptospirose en France métropolitaine (9).
3. En 2005, le Conseil supérieur d'hygiène publique de France recommande que la vaccination soit posée au cas par cas par le médecin du travail après une évaluation individualisée du risque.
4. Elle ne serait justifiée que pour les personnes exposées de façon fréquente et répétée à des lieux fréquentés par des animaux porteurs de leptospirose. Les activités professionnelles qui paraissent le plus à risque sont :
 - Curage et/ou entretien de canaux, étangs, lacs, rivières, voies navigables, berges
 - Activités liées à la pisciculture
 - Travail dans les égouts, dans certains postes des stations d'épuration
 - Certaines activités spécifiques pratiquées en eau douce, notamment par des pêcheurs professionnels, plongeurs professionnels, gardes-pêche
 - La vaccination peut être proposée également pour les travailleurs présentant une prédisposition à majorer leur risque d'exposition et/ou leur sensibilité à la maladie: âge élevé, alcoolisme, diabète, insuffisance rénale, antécédents d'atteinte hépatique, immunodéprimés. (10)
5. Le vaccin est en général bien toléré et confère une bonne protection vaccinale (11). Il existe fréquemment des réactions locales ou locorégionales (12).
6. Il existe un vaccin cubain et chinois (13,14). Il semblerait que dans l'étude chinoise, le vaccin ait un effet de protection partiel contre les autres séro-groupe de leptospires.
7. D'autres pays vaccinent le bétail: Australie, Nouvelle Zélande, Irlande et Royaume-Uni en prévention (15). La vaccination des chiens (contre le séro-groupe *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola*) n'empêche pas qu'ils soient atteints par des leptospires de séro-groupe différent tel que *Serjoe, Australis ou Grippotyphosa* (16).

Besluit

De incidentiecijfers van leptospirose in België zijn waarschijnlijk een onderschatting van de werkelijkheid en moeten dus met voorzichtigheid geïnterpreteerd worden. Enerzijds is er een afname van het beroepsrisico, anderzijds is er een verhoogd risico op blootstelling bij het uitoefenen van watersporten in gebieden met een verhoogde incidentie.

In situaties van mogelijke uitbraken van leptospirose na overstromingen is het van belang in het achterhoofd te houden dat ook infecties met hantavirus, meer bepaald Seoulvirus, kunnen voorkomen en dat dubbelinfecties mogelijk zijn.

De indruk bestaat dat transmissie in België voornamelijk gebeurt door contact met water, professioneel of recreatief. Welke rol spelen huisdieren in de transmissie van leptospiren? Waarom zijn er weinig registraties van deze soort van transmissie, omdat de infecties minder ernstig zijn of omdat er niet aan leptospirose gedacht wordt?

Hoewel microscopisch onderzoek, cultuur en PCR hun nut hebben zijn is men in praktijk meestal aangewezen op serologie voor de diagnostiek. De vraag is of de beperkingen van de commerciële serologische methodes voldoende gekend zijn bij de gebruikers.

Er is een vaccin beschikbaar. Welke bescherming biedt het tegen andere serotypes dan *Icterohemorrhagiae*? Wat is de incidentie van de verschillende serotypes? Moeten mensen, dieren of beide gevaccineerd worden? Als mensen moeten gevaccineerd worden, wie dan precies?

Marjan Van Esbroeck
29/11/2007

Referenties

1. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. ECDC: Stockholm 2007.
2. Levett PN. Leptospirosis. *Clinical microbiology reviews* 2001;14(2): 296-326.
3. Van Hooste WL. Leptospirose: een literatuuroverzicht. *Tijdsch Geneesk* 2007;63 (19) 917-28.
4. Hartskeerl RA. Leptospirose: een onderschatte infectieziekte. *Ned Tijdschr Med Microbiol* 2003; 4:94-98.
5. Landelijke Coördinatiestructuur Infectieziektebestrijding Nederland. *Leptospirosen 2006*. Heymann DL. *Control of Communicable diseases Manual 2004* APHA: Washington.
6. Ehrmann P. La leptospirose en milieu professionnel : évaluation de l'information et de la prévention chez des travailleurs professionnellement exposés, conduite à tenir pour le médecin du travail. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Spécialisées en Santé au Travail, Orientation Médecine du Travail. UCL, Ecole de Santé Publique, 2006-2007.
7. Guiduglif F, Castro AA, Atallah AN. Antibiotics for preventing leptospirosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (4): CD001305.
8. Seghal SC, Sugunan AP, Murhekar MV, Sharma S, Vijayachari P. Randomized controlled trial of doxycycline prophylaxis against leptospirosis in an endemic area. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 13: 249-255.
9. Conseil supérieur d'hygiène publique de France « Nouvelles recommandations relatives à la prévention du risque chez les personnes exposées à la leptospirose ». Rapport du groupe de travail adopté le 18 mars 2005 : 43 pages.
10. Guide Eficatt [Online]. May 2006 [cited 2007 November 29]; Available from: URL: <http://www.inrs.fr/>
11. Pouliquen P, Catalina P. Vaccin leptospires. Enquête de pharmaco-surveillance auprès des médecins vaccinateurs. *Revue de médecine du travail* 2000 ; 27(2) :83-88.
12. Guide des vaccinations [Online]. 2006 [cited 2007 November 29]; Available from: URL: <http://www.inpes.sante.fr/10000/themes/vaccination/guide/index.htm>
13. Martinez R, Perez A, Quinones Mdel C, Cruz R, Alvarez A, Armesto M et al. Efficacy and safety of a vaccine against human leptospirosis in Cuba. *Rev Panam Salud Publica* 2004; 15: 249-255.
14. Yan Y, Chen Y, Liou W, Ding J, Chen J et al. An evaluation of the serological and epidemiological effects of the outer envelope vaccine to leptospira. *J Chin Med Assoc* 2003; 66: 224-230.
15. Bolin CA, Alt DP. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo. *Am J Vet Res* 2001 Jul; 62: 995-1000.
16. André-Fontaine G. Canine leptospirosis- Do we have a problem? *Vet Microbiol* 2006; 117: 19-24.



BIJLAGE 05a – ANNEXE 05a

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

Hoge Gezondheidsraad 13.12.2007

« *Leptospirose bij gezelschapsdieren* »

« *Leptospirosis in companion animals* »

-
- Leptospirose bij huisdieren: epidemiologie en situatie in België - E. Goossens (CODA)
« *Leptospirosis in companion animals: epidemiology and situation in Belgium* »
 - Klinische aspecten en pathologie bij honden - D. Peeters (Ulg)
« *Canine leptospirosis : clinical signs and pathology* »
 - Leptospirose bij reptielen, amfibieën en vogels - F. Pasmans (UG)
« *Leptospirosis in reptiles, amphibians and birds* »
-

Part I

Leptospirosis in companion animals: epidemiology and situation in Belgium

Before 2000, canine leptospirosis caused by serovar *icterohaemorrhagiae* and *canicola* was well known as a disease (Ghneim et al., 2007). It seemed that the availability and general use of an inactivated vaccine containing the two serovars resulted in an important decline in reported cases at the early 1990's. The last decades, a recrudescence of canine leptospirosis has generally been reported worldwide, coinciding with a change of the

infecting serovars, predominantly *grippotyphosa*, *pomona* and *bratislava* (USA: Stokes and Forrester, 2004; Moore et al., 2006; Ghneim et al., 2007 – Europe: Steger-Lieb et al., 1999; Scanziani et al., 2002).

Both in Europe and in the USA, different studies have revealed high seroprevalence (ranging 29-85%) of mainly serovars *grippotyphosa*, *pomona* and *bratislava* in clinically normal dogs (Steger-Lieb et al., 1999; Scanziani et al., 2002; Boutilier et al., 2003; Stokes et al., 2007). In California (USA), a retrospective study from 1990-1998 has indicated that in dogs treated for leptospirosis, acute renal failure was the most occurring sign and the serovars *pomona* and *bratislava* were mostly indicated as cause: mortality rate in dogs was 17% (Adin and Cowgill, 2000). *Leptospira* generally targets adult animals one to six years of age, but all ages can be affected. Hunting, working or herding dogs with exposure to surface waters seemed to be most commonly affected. Risk factors for canine leptospirosis in California were walks in rural environments, swimming in outdoor waters or drinking of outdoor water in the two weeks preceding illness (Ghneim et al., 2007). In Italy, high seroprevalence was found in stray dogs (30%) and in dogs kept in unsanitary and crowded kennels (39-49%) (Scanziani et al., 2002).

In Belgium, only occasionally serovars *icterohaemorrhagiae* and *grippotyphosa* was found in dogs from 1938 till 1990's. Serovar *canicola* and other serovars were not to very rare observed (Desmecht, 1986 and personal observations). Sensitization and increased vaccination could be responsible for the apparent disappearance of the serovars *icterohaemorrhagiae* and *Canicola* in dogs since 2002. A sudden increase of cases in dogs with serovars *australis* (Jez Bratislava), *pyrogenes* and *pomona* was observed in 2006 and 2007. The number of positive cases doubled since 2005. In the case of serovar *australis* in dogs, acute kidney failure seemed to be prominently present and the infection frequently ended fatally. In the case of *pyrogenes* and *pomona*, hepatic disease dominated and most animals recovered. In case of kennels and breeding facilities, it seemed that not all dogs but usually more than one are seropositive; The source of infection could in most cases be related to contact with water, watery soils and high presence of rodents.

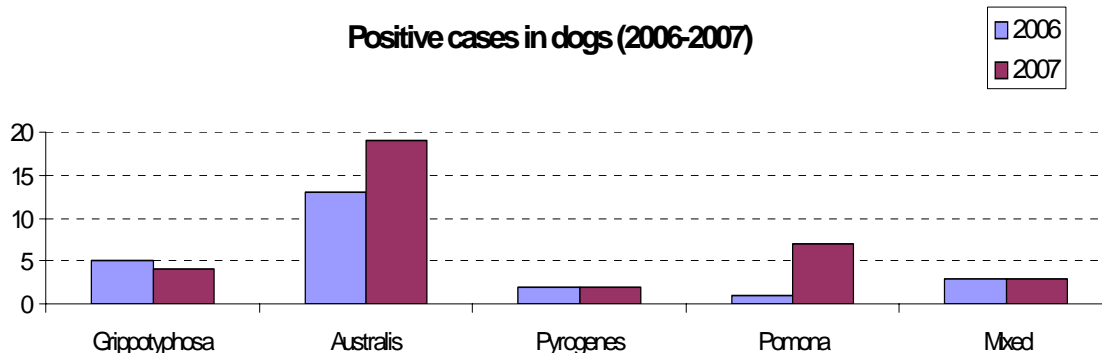


Table 1: Number of MAT performed for pets (dogs, cat horses) in the CODA-CERVA.

| | Total | Positive MAT | % |
|-------------|-------|--------------|------|
| 2000 | 547 | 36 | 6,6% |
| 2001 | 516 | 51 | 9,9% |
| 2002 | 583 | 29 | 5,0% |
| 2003 | 575 | 13 | 2,3% |
| 2004 | 433 | 10 | 2,3% |
| 2005 | 477 | 13 | 2,7% |
| 2006 | 459 | 20 | 4,4% |
| 2007 | 492 | 42 | 8,5% |

A low seroprevalence (10%-20%) of serovars *icterohaemorrhagiae*, *autumnalis*, *hardjo* has been described in cats, however, cats appeared to be clinically not affected (Larsson et al., 1984; Agunloye and Nash, 1996; André-Fontaine, 2006). In an experimental infection study with several serovars, cats remained healthy but viable leptospires could be isolated from the urine for a period ranging from 2 till 8 weeks (Larsson et al., 1985). Although stoats, weasels, mink, foxes and badgers have been found positive, no leptospirosis was reported in ferrets kept as pets (Hathaway et al., 1983; Brihuega et al., 2007). Pet rabbits, guinea pigs and rodents could be able to excrete leptospires, as observed after experimental infection of laboratory animals.

A variety of serologic tests to determine leptospirosis were developed or studied: ELISA, rapid agglutination tests, flow cytometry scatter analysis, molecular techniques such as PRC, Taqman (Surujballi et al., 1997; Ribotta et al., 2000). Although commercial ELISA kits are available to determine IgG levels in animals, the test the most widely used to determine IgG and IgM antibody titers is the microscopic agglutination test (MAT). Titers higher than 1/100 are generally considered as positive; 4-fold increase in titers in paired sera with a 2 to 4 weeks interval, are considered to confirm an acute infection. In the contrary to the commercial tests that usually focus on one or two serovars, the MAT test can indicate which serogroup or serovar is involved by using a panel of different serovars. In Belgium, only the laboratories of the ITG and CODA-CERVA are able to perform MAT testing on animal sera. A few commercial laboratories use rapid commercial kits for the detection of leptospirosis. They don't always send the samples to the ITG, CODA-CERVA or laboratories abroad for confirmation and typing of the serovars. Therefore, no detailed view on the current prevalence of leptospirosis in dogs or pets exists and the prevalence in Belgium could be underestimated. In the contrary to leptospirosis in food producing animals, notification of cases of leptospirosis in dogs are not obligatory in Belgium.

The only vaccines available on the Belgian market against canine leptospirosis are inactivated whole-cell bacterins vaccines containing serovars *icterohemorrhagiae* and *canicola*. These vaccines are reported to cause titers > 1/100 for at least 12 to 16 weeks (Barr et al., 2005). Those vaccines seem not to give cross-protection to other serovars, or only partial (Sonrier et al., 2000). Multivalent inactivated or subunit vaccines for dogs containing serovars *pomona*, *bratislava* and *autumnalis* besides the mentioned two serovars, are currently on the market outside Europe or are being developed. Cellular debris in old inactivated leptospirosis vaccines seemed to cause a large number of vaccine reactions such as swellings, short period lethargy and even anaphylaxis. Those reactions are not reported recently in Belgium. Vaccination seems to protect against clinical symptoms, but only the recent developed vaccines are proven to prevent clinical shedding. Vaccination may not prevent infection (colonisation of blood and organs) (André-Fontaine, 2006).

Of the pets, mainly the dog is described to be able to transmit leptospirosis to man. Dogs are proven to be a source of human infection with leptospire in some individual cases and some common source epidemics (Schmidt et al., 1989; André-Fontaine and Ganière, 1990; Huits et al., 2004; Brod et al., 2005). Before diseases can be transmitted from pets to man, a close contact with pets and their excretions is required. This usually implicates a breach of sound hygienic practice (Kahrs et al., 1978). *Leptospira* are usually not very resistant to soaps, detergents and antiseptics, and will die quickly when submitted to UV beams or deshydration. However, they can survive in the environment up till six months under good circumstances (humid, Ph neutral or slight alcalinic, warm temperature). Besides this, contact with pets and immunodeprived persons - such as elderly, pregnant women and children- has to be considered. Although most pet-borne zoonoses are “dead-end” situations with little subsequent man-to-man transmission, mostly signs of disease are non-specific and subtle, thereby making clinical diagnosis difficult. This could lead to an under-reporting of pet-associated disease. In the USA, extended surveillance programs have been set up to survey leptospirosis infection in man and animals. Several international organizations have recently taken initiatives to survey animal leptospirosis (EFSA, WHO, OIE).

Other pet-borne zoonotic infections include Rabies, Pasteurellosis, Salmonellosis, Tularemia, internal parasites and ringworm.

Part II

Canine leptospirosis : clinical signs and pathology

Most clinical infections are subacute and characterized by lethargy/depression, anorexia, vomiting and/or diarrhea (Geisen et al., 2007). On physical examination, reluctance to move resulting from muscular or meningeal inflammation is frequent (Greene et al., 2006). Other typical clinical signs include icterus, red- to brownish-coloured urine, dehydration weakness and ocular nasal discharge. Fever is rarely present (only 15% of the cases in a recent study from Germany) (Geisen et al., 2007). Intussusception attributed to

leptospiral intestinal inflammation has also been reported (Gaschen F., personal communication).

Acute infections are less frequently encountered. In these cases, fever, vomiting, rapid dehydration and peripheral vascular collapse occur (Greene et al., 2006). Cardiac arrhythmia, coagulation defects and vasculitis develop with hematemesis, melena and widespread petechiae. These patients die rapidly so that renal and hepatic failure does not have time to develop.

Clinicopathological changes may include leucocytosis, thrombocytopenia, azotemia, increased bilirubin and phosphorus concentrations as well as increased activities of liver enzymes (Geisen et al., 2007). Many dogs show changes suggestive of renal and liver involvement even though impairment of renal function clearly dominates the clinical picture in most animals. Some dogs show exclusively abnormal renal function while others only show signs of liver involvement. It has been suggested that the change in aetiological serogroups would be accompanied by a change in the clinical syndrome detected, with the preponderance of clinical signs now related to renal failure rather than to liver disease or coagulation abnormalities (Harkin et al., 1996). Nevertheless, this has not been confirmed by two recent studies conducted in the US and in Germany in which distinct clinical patterns could not be appreciated among dogs infected with different serogroups (Goldstein et al., 2006; Geisen et al., 2007).

Therapy of canine leptospirosis includes appropriate treatment of renal and/or liver failure in combination with antibiotic therapy. Antimicrobial therapy is usually given in two phases. Ampicillin is usually administered during the initial phase of the disease (20 mg/kg TID). When the dog is recovered, doxycycline (5 mg/kg BID orally) is considered the antibiotic of choice and is prescribed for a minimum of 3 weeks to prevent persistent renal shedding (Greene et al., 2006).

Prognosis is usually good with survival rate of 80-90 % with appropriate therapy (Birnbaum et al, 1998; Goldstein et al., 2006). Oliguric/anuric renal failure is a strong negative prognostic factor (Adin and Cowgill, 2000).

Part III

Leptospirosis in reptiles, amphibians and birds

Searching the PubMed and Web of Science, text books and clinical records of the Division of Exotic Companion Animals (UGent), clinical leptospirosis in reptiles, amphibians and birds is probably extremely rare or even non-existing. Very few reports describe the presence of anti- *Leptospira* antibodies in snakes (serogroups Semarang, Andamana, Sejroe, Tarassovi, Pomona, Pyrogenes and Shermani; Stanchi et al., 1986), caimans (mainly serogroups Sarmin, occasionally Javanica, Pyrogenes and Icterohaemorrhagiae; Rossetti et al., 2003) and turtles (serogroups Ballum, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Semarang and Andamana, Glosser et al., 1974). The bacterium has been isolated from aquatic chelonians (serovar Tarassovi, Glosser et al., 1974) and frogs (serovars Bim and Bajan, Diesch et al., 1966, Diesch et al., 1970, Gravekamp et al., 1991, Everard et al., 1988, Everard et al., 1990). An unidentified isolate (“C3”) from toads was proven pathogenic for mammals (Babudieri et al., 1973). These findings suggest that aquatic chelonians and amphibians might promote sustaining *Leptospira* in the aquatic environment.

Nothing is known either concerning the occurrence of *Leptospira* in Belgian indigenous amphibians, reptiles and birds and their contribution towards sustaining *Leptospira* in surface waters or concerning the occurrence of *Leptospira* in reptiles, amphibians and birds, imported in Belgium for the pet industry. If *Leptospira* carriers and shedders would be frequent among these exotic pet animals, they might constitute a public health risk for leptospirosis as has been proven extensively for *Salmonella*. However, until now, human leptospirosis has not been associated with direct or indirect contact with birds, amphibians or reptiles.

In conclusion, the limited reports available indicate that reptiles and amphibians but not birds might be reservoirs of pathogenic *Leptospira* serovars. The contribution of these animal groups to the number of human leptospirosis cases is not clear.

Conclusion and research questions:

To conclude, leptospirosis in dogs occurs in Belgium and can cause mild to severe symptoms involving several organs (depending on the serovars involved). The number of positive cases is increased during the last three years. Prognosis is usually good, provided a rapid diagnosis and specialized treatment. The source of infection for dogs is presumed to be swimming, walks in rural or suburban environments and hunting rodents, but this is not studied further. Seropositivity of healthy dogs has not been investigated in Belgium. Other pet animals are usually not clinically infected, but can possibly play a role as reservoir.

It could be interesting to find out more about the actual number of cases and seroprevalence of leptospirosis in companion animals in Belgium. This might be obtained by funded research, obligatory notification and/or the appointment of reference laboratories or contact points. The link between canine leptospirosis and human cases in Belgium should be investigated.

It might be opportune to inform practitioners, veterinarians, animal handlers and care takers about the risk of contracting leptospirosis from animals and contaminated water.

Treatments could be compared and veterinarians can be informed about the options for treatment. The extension of existing leptospira vaccines for dogs with other serovars should be stimulated.

References part I:

Adin CA and Cowgill LD. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 36 cases (1990-1998). J Am Vet Med Assoc, 2000, 216, 371-375.

Agunloye CA, Nash AS. Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. J Small Anim Pract. 1996, 37(3),126-129.

André-Fontaine G, Ganiere JP. New topics on leptospirosis. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 1990, 13(3),163-168.

André-Fontaine G. Canie leptospirosis – Do we have a problem? Vet Microbiol, 2006, 117(1),19-24.

Barr, SC, McDonough PL, Scipioni-Ball RL, Starr, JK. Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar Pomona and *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa. Am J Vet Res, 2005, 66, 1780-1784.

Boutilier P., Carr A, Schulman RL. Leptospirosis in dogs; a serologic survey and case series from 1996 to 2001. Vet Ther, 2004, 4, 178-187.

Brihuega B, Paván M, Cairó F, Venzano A, Auteri C, Funes D, Romero G, Samartino L. Pathogenic *Leptospira* in the kidney of *Didelphys albiventris* (weasel). Rev Argent Microbiol., 2007, 39(1),19.

Brod CS, Guimaraes Aleixo JA, Dorneles Jouglard SD, Hartleben fernandes CP, Rodrigues Teixeira JL, Dellagostin OA. Evidence of a dog as a reservoir for human leptospirosis: a serovar isolation, molecular characterization and its use in a serological survey. Rev Soc Bras Med Trop, 2005, 38, 294-300.

Desmecht M. Importance of leptospirosis in Belgium. In: The present state of Leptospirosis diagnosis and control. Eds: Ellis WA and Little TWA. 1986., p197-203.

Ghneim GS, Viers JH, Chomel BB, Kass PH, Descollonges DA, Johnson ML. Use of a case-control study and geographic information systems to determine environmental and demographic risk factors for canine leptospirosis. *Vet Res*, 2007, 38, 37-50.

Hathaway SC, Little TW, Headlam SA, Stevens AE. Infection of free-living carnivores with leptospires of the Australis serogroup. *Vet Rec*, 1983, 113(11), 233-235.

Huits RM, van der Werf TS, Zijlstra JG. Clinical reasoning and decision-making in practice. A man with jaundice, renal function disorder, thrombocytopenia, muscular pain and confusion. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2004, 148(23), 1137-1141.

Kahrs RF, Holmes DN, Poppensiek GC. Diseases transmitted from pets to man: an evolving concern for veterinarians. *Cornell Veter.*, 1978, 58, 442-459.

Larsson CE, Santa Rosa CA, Hagiwara MK, Paim GV, Guerra JL. Prevalence of feline leptospirosis: serologic survey and attempts of isolation and demonstration of the agent.. *Int J Zoonoses*. 1984, 11(2),161-169.

Larsson CE, Santa Rosa CA, Larsson MH, Birgel EH, Fernandes WR, Paim GV. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. *Int J Zoonoses*, 1985, 12(2), 111-119.

Moore GE, Guptill LF, Glickman NW, Caldanaro RJ, Aucoin D, Glickman LT. Canine leptospirosis, United states, 2002-2004. *Em Inf Dis*, 2006, 12, 17-24.

Ribotta MJ, Higgins R, Gottschalk M, Lallier R. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. *Can J Vet Res*, 2000, 64(1), 32-37.

Scanziani E, Origgi F, Giusti AM, Iacchia G, Vasino A, Pirovano G, Scarpa P, Tagliabua S. Serological survey of leptospiral infection in kennelied dogs. *J Small Anim Pract*, 2002, 43, 154-157.

Schmidt DR, Winn RE, Keefe TJ. Leptospirosis. Epidemiological features of a sporadic case. *Arch Intern Med*, 1989, 149(8),1878-1880.

Sonrier C, Branger C, Michel V, Ruvoën-Clouet N, Ganière JP, André-Fontaine G. Evidence of cross-protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. *Vaccine*, 2000, 19, 86-94.

Steger-Lieb A, Gerber B, Nicolet J, Gaschen F. An old disease with a new face: canine leptospirosis does not lose its relevance. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 1999, 141, 499-507.

Stokes JE, Forrester SD. New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2004, J34(4), 909-922.

Stokes JE, Kaneene JB, Schall WD, Kruger JM, Miller R, Kaiser L, Bolin CA. Prevalence of serum antibodies against six *Leptospira* serovars in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 2007, 230(11),1657-1664.

Surujballi OP, Marenger RM, Eaglesome MD, Sugden EA. Development and initial evaluation of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Leptospira interrogans* serovar hardjo antibodies in bovine sera. *Can J Vet Res*, 1997, 61(4), 260-266.

References Part II

Adin CA and Cowgill LD. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 36 cases (1990-1998). J Am Vet Med Assoc, 2000, 216, 371-375.

Birnbaum N, Barr SC, Center SA, Schermerhorn T, Randolph JF and Patterson R. Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: serological and clinicopathological features. J Small Anim Pract, 1998, 39, 231-236.

Geisen V, Stengel C, Brem S, Müller W, Greene C and Hartmann K. Canine leptospirosis infections – clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). J Small Anim Pract, 2007, 48, 324-328.

Goldstein RE, Lin RC, Langston CE, Scrivani PV, Erb HN and Barr SC. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. J Vet Intern Med, 2006, 20(3), 489-494.

Greene CG, Sykes JE, Brown CA and Hartmann K. Leptospirosis. In: Infectious Diseases of the Dog and the Cat. Editor: Greene CG. 3rd Ed. Saunders, Missouri. 2006, 402-417.

Harkin KR and Gartrell CL. Canine leptospirosis in New Jersey and Michigan: 17 cases (1990-1995). J Am Anim Hosp Assoc, 1996, 32, 495-501.

References Part III

Babudieri B., Carlos E.R., Carlos E.T. (1973) Pathogenic leptospira isolated from toad kidneys. Trop. Geogr. Med., 25: 297-299.

Diesch S.L., McCulloch W.F., Braun J.L., Davis J.R. (1970) Detection and ecology of leptospirosis in Iowa wildlife. J. Wildl. Dis., 6: 275-288.

Diesch S.L., McCulloch W.F., Braun J.L., Ellinghausen H.C. (1966) Leptospire from frog kidneys. *Nature*, 209: 939-940.

Everard C.O., Carrington D., Korver H., Everard J.D. (1988) Leptospire in the marine toad (*Bufo marinus*) on Barbados. *J. Wildl. Dis.*, 24: 334-338.

Everard C.O., Carrington D.G., Korver H., Burke R., Everard J.D., Gravekamp C. (1990) Leptospire in the whistling frog (*Eleutherodactylus johnstonei*) on Barbados. *J. Trop. Med. Hyg.*, 93: 140-145.

Glosser J.W., Sulzer C.R., Eberhardt M., Winkler W.G. (1974) Cultural and serologic evidence of *Leptospira interrogans* serotype *Tarassovi* infection in turtles. *J. Wildl. Dis.*, 10: 429-435.

Gravekamp C., Korver H., Montgomery J., Everard C.O., Carrington D., Ellis W.A., Terpstra W.J. (1991) Leptospire isolated from toads and frogs on the island of Barbados. *Zentralbl. Bakteriol.*, 275: 403-411.

Rossetti C.A., Uhart M., Romero G.N., Prado W. (2003) Detection of leptospiral antibodies in caimans from the Argentinian Chaco. *Vet. Rec.*, 153: 632-633.

Stanchi N.O., Grisolia C.S., Martino P.E., Peluso F.O. (1986) Presence of antileptospira antibodies in ophidian in Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.*, 18: 127-130



BIJLAGE 05b – ANNEXE 05b

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

Hoge Gezondheidsraad 13.12.2007

« *Leptospirose bij landbouwdieren* »

« *Leptospirosis in food producing animals* »

Epidemiologie en situatie in België - E. Goossens (CODA)

Epidemiology and situation in Belgium

- *Cattle*
- *Sheep, goats*
- *Pigs*
- *Horses*

Leptospirosis in food producing animals: epidemiology and situation in Belgium

CATTLE

Bovine leptospirosis is described worldwide and has various clinical manifestations. Calves can present ill thrift, haemoglobinuria and jaundice. Adult cows have more subtle symptoms: leptospirae can cause atypical mastitis and abortion, with shedding of leptospirae in the uterine secretions (Ellis, 1994). Even without apparent clinical symptoms, cows can enter a carrier state and excrete leptospirae in the urine and milk (steers in sperm). Before the 1990's, seroprevalence of sera from aborted cows ranged from 5 till 60% (André-Fontaine et al., 1987; Atxaerandio et al., 2005) and the occurrence of high titers was not always linked to

abortion. Generally, the most encountered serogroup were *sejroe* (*hardjo*) and *grippothypohosa*, less encountered were *icteroheamorrhagiae*, *pomona* and *australis*. Other possible causative agents for abortions in mid- to late-gestation are *Coxiella burnetti* (Q-fever), *Chlamydia* spp., brucellosis, neosporosis and other agents such as fungi, viruses or fever-causing bacteria.

In Belgian dairy herds, antibodies in tank milk against serovar *hardjo* were found in 9.2% of the herds, with the incidence being higher in the southern part (Dom PP, 1991). A study of the tank milk prevalence in Wallonie even revealed a prevalence of 31.1% (questionnaire based survey, Czaplicki, 2006, attached).

The CODA-CERVA receives about a 600-700 sera each year for MAT testing, mostly for routine health check prior to breeding or transport and only in a minor part in case of abortions or suspicions. Seropositive cases are limited to 3-6 per year since 2005. This could be a serious underestimation, because cows are not routinely checked for leptospirosis in case of abortions and send-in foetuses are usually not very fresh. Different sensitive tests (PCR, IF) are available to indicate presence of leptospires in infected tissues and urine (Smith et al., 1994). Commercial ELISA kits for testing milk for one or maximum four serovars are freely available and used by several institutes (Surujballi and Mallory, 2004). In Belgium, notification of leptospirosis in cattle, sheep, goats and pigs is obligatory and confirmed cases are well registered by the authorities (data DGZ, ARSIA, FAVV).

A commercial inactivated multivalent vaccine is available in certain European countries, but for now, not in Belgium.

People handling infected cattle and certainly the aborted tissues or internal organs whilst performing necropsy, insemination or caesarean sections are observed to become infected and develop flu-like symptoms ("melkerskoorts"). A veterinarian that became infected during necropsy had infected her newborn child by breastfeeding (Songer and Thiermann, 1988). Normally treated milk and meat products contain no risk of transmitting leptospirosis.

SHEEP, GOAT

Seroprevalences ranging from very low till high are reported in a few European countries (Desmecht, 1986; Sting et al., 1997; Rocha, 1998; Ceri et al., 2003). Generally, leptospirosis seems to be regarded as less important cause of abortions and fertility problems in sheep and goat. They are however able to carry and excrete *Leptospira* spp. and consequently act as reservoirs in infected farms (Gerritsen et al., 1994). The current prevalence and clinical manifestations in Belgium is unknown; very few samples are sent in for diagnosis.

PIGS

Generally, the most prevalent serovars are pomona and tarassovi (rarely bratislava). Leptospirosis can cause fertility problems in pigs (abortion, weak piglets). In Belgium, prevalence is considered to be very low and it seems that porcine leptospirosis presents no serious problem (in comparison to PRRS, Circovirus, ...) (Desmecht, 1986; Maes et al., 2007). However, the spreading of pig faeces mixed with urine can pose a possible threat for the spreading of leptospires. Other European countries reported high prevalences (Wasinski, 2007).

In Belgium, number of samples tested with MAT in the CODA-CERVA dropped to 400-500 per year. Only one seropositive pig was found, which was immediately noted to the FAVV.

Vaccination is not practiced in Belgium. In a study conducted in the Netherlands, one out of 191 pig farmers was found to have antibody titers against leptospira, which indicates that disease transmission is possible (Elbers et al., 1999).

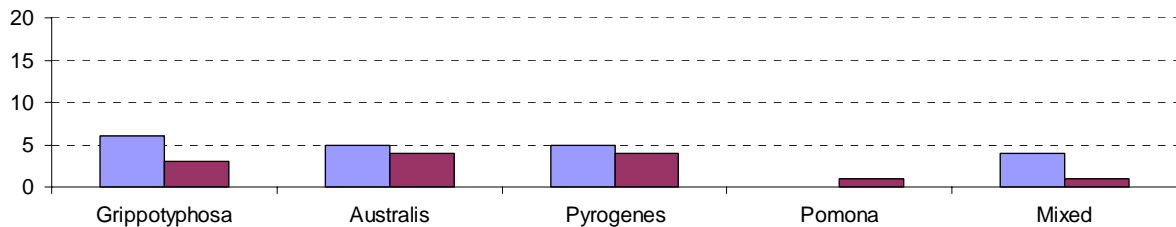
HORSES

Leptospirosis is seen in combination with renal and hepatic failure, central nervous system problems and abortions in late gestation (Donahue and Williams, 2000; Szeredi and Haake, 2006). In horses, leptospires are presumed to cause recurrent uveitis or moon-blindness (Dwyer et al., 1995; Rohrbach et al., 2005). The

serovars demonstrated in horses are *pomona*, *grippotyphosa*, and *bratislava*. Abortion in the horse is most frequently associated with *pomona* infection - serovar *bratislava (australis)* can be found in healthy horses or horses with elevated renal and hepatic enzymes (Divers et al., 1992; Rocha et al., 2004). Rhinopneumonia, Equine influenza and even common colics have to be considered as differential diagnosis and can cause an underestimation of leptospirosis cases.

In the CODA-CERVA, coincidentally with the increase of cases in dogs, an increase in seropositive cases for serovar *bratislava* (serogroup Australis) was seen since 2006. In December 2007, three cases of infection with *pomona* have to be added. Most horses seem to have flu-like symptoms, and elevated renal and hepatic biochemistry values. Recovery usually seemed to be quick and complete.

Positive cases in horses (2006-2007)



Horses that are infected usually are kept on wet pastures or pastures in contact with surface waters. Environment and management plays an important role in the epidemiology (Barwick, 1998). Also in the Belgian cases, mostly more than one horse from the same herd demonstrated seropositivity. Important Belgian studs were found positive, but the consequence of these findings on abortions (alive-foal data) and spreading was not further investigated.

There is not an approved vaccine for the horse against leptospirosis.

Conclusion and research question

With the exception of horses, leptospirosis seems not to be a major problem in the area of food-producing animals, although seroprevalence and prevalence of antibodies in tank milk can be high. We have to be sure that these prevalence and their consequences are not underestimated. It could be very interesting to look into the seroprevalence of sheep and goat. We might have to think about a sensitization of horse owners, because of the increase in cases in horses. A centralized contact point to gather data on the prevalence in food-producing animals could be opportune, since many laboratories use different tests with sometimes only a few serovar antigens.

References

André-Fontaine G., Boukerrou A., Ganière J. Serological survey of leptospiral antibodies in aborted cows from Loire-Atlantique. Proc Fifth Meeting of European Leptospira workers, 1987, S5.

Atxaerandio R, Aduriz G, Ziluaga I, Esteban JI, Maranda L, Mainar-Jaime RC. Serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava infection and its association with abortions in cattle in northern Spain. *Vet Rec*, 2005, 156(12), 376-380.

Barwick RS, Mohammed HO, McDonough PL, White ME. Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. *Prev Vet Med*, 1998, 36(2):153-165.

Cerri D, Ebani VV, Fratini F, Pinzauti P, Andreani E. Epidemiology of leptospirosis: observations on serological data obtained by a "diagnostic laboratory for leptospirosis" from 1995 to 2001. *New Microbiol*. 2003, 26(4), 383-389.

Desmecht M. Importance of leptospirosis in Belgium. In: The present state of Leptospirosis diagnosis and control. Eds: Ellis WA and Little TWA. 1986., p197-203.

Divers TJ, Byars TD, Shin SJ. Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, 1992, 201(9), 1391-1392.

Dom PP, Haesebrouck F, Vandermeersch R, Descamps J, Van Ommeslaeghe K. Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo antibodies in milk in Belgian dairy herds. *Vet Q*, 1991, 13(2),118-120.

Donahue JM, Williams NM. Emergent causes of placentitis and abortion. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 2000, 16(3), 443-56.

Dwyer AE, Crockett RS, Kalsow CM. Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). *J Am Vet Med Assoc*, 1995, 207(10), 1327-1331.

Elbers AR, Vecht U, Osterhaus AD, Groen J, Wisselink HJ, Diepersloot RJ, Tielen MJ. Low prevalence of antibodies against the zoonotic agents *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., *Streptococcus suis* serotype II, hantavirus, and lymphocytic choriomeningitis virus among veterinarians and pig farmers in the southern part of The Netherlands. *Vet Q*. 1999, 21(2), 50-54.

Ellis WA. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 1994, 10(3), 463-478.

Gerritsen MJ, Koopmans MJ, Peterse D, Olyhoek T. Sheep as maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjobovis. *Am J Vet Res*, 1994, 55(9), 1232-1237.

Maes D, Van Soom A, Nauwynck H, de Kruif A. Oorzaken van abortus bij zeugen. *Vlaams Diergenesk Tijdschr*, 2007, 76, 337-343.

Rocha T. A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. *Rev Sci Tech*, 1998, 17(3), 699-712.

Rocha T, Ellis WA, Montgomery J, Gilmore C, Regalla J, Brem S. Microbiological and serological study of leptospirosis in horses at slaughter: first isolations. *Res Vet Sci*, 2004, 76(3), 199-202.

Rohrbach BW, Ward DA, Hendrix DV, Cawrse-Foss M, Moyers TD. Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. *Vet Ophthalmol*, 2005, 8(3), 171-179.

Smith CR, Ketterer PJ, McGowan MR, Corney BG. A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in cattle. *Aust Vet J*, 1994, 71(9), 290-294.

Songer JG, Thiermann AB. Leptospirosis. *J Am Vet Med Assoc*, 1988, 193(10), 1250-1254.

Sting R, Nagel C, Steng G. Significance of causes of infectious abortion in sheep flocks in northern Baden-Württemberg with special reference to *Chlamydia psittaci*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 1997, 110(1), 5-11.

Surujballi O, Mallory M. An indirect enzyme linked immunosorbent assay for the detection of bovine antibodies to multiple *Leptospira* serovars. *Can J Vet Res*, 2004, 68(1), 1-6.

Szeredi L, Haake DA. Immunohistochemical identification and pathologic findings in natural cases of equine abortion caused by leptospiral infection. *Vet Pathol*, 2006, 43(5), 755-761.

Wasinsky B. Occurrence of *Leptospira* sp. Antibodies in swine in Poland. *Bull Vet Inst Pulawy*, 2007, 51, 225-228.



BIJLAGE 06 – ANNEXE 06

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

Les réservoirs potentiels de leptospires en faune sauvage.

A. Linden – 26/11/2007

Les leptospires sont largement représentés dans la faune sauvage. Hormis les infections expérimentales et quelques tableaux cliniques précis (chez des otaries de Californie, des cerfs de Virginie ou des primates, entre autres), peu de travaux font état de leptospirose clinique chez des animaux sauvages. La plupart des études sont des enquêtes sérologiques qui n'apportent qu'une information partielle sur l'épidémiologie des leptospires dans une espèce animale donnée. Dans ce dossier, les études mentionnant des séroprévalences associées à des mises en culture et identification ont été privilégiées même si elles restent rares. La distribution des sérogroupes et sérovars varie non seulement en fonction des espèces animales, mais également en fonction des zones géographiques et des écosystèmes concernés. Les études sont présentées par espèce animale, via un classement alphabétique des différents Ordres de Mammifères.

1 - Artiodactyles

- Suidés

Chez le sanglier (*Sus scrofa*), plusieurs sérogroupes dont Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola et sérovars dont Bratislava et Copenhageni ont été mis en évidence (Ebani et al., 2003, Mason et al., 1998, Schonberg et al., 1999). En Europe, l'importante augmentation des populations de suidés sauvages associée à la fragmentation de leur habitat naturel a pour conséquence de rapprocher ces animaux des jardins et habitations. La présence de sangliers en milieu périurbain peut être problématique notamment en ce qui concerne la leptospirose. Une

étude allemande décrit un cas de leptospirose humaine (atteinte grave avec hémorragies pulmonaires) pour lequel l'implication de sangliers est fortement suspectée (Jansen et al., 2006).

- Cervidés

De nombreuses enquêtes sérologiques ont été réalisées chez des cervidés sauvages. Chez le wapiti (*Cervus elaphus canadensis*), les principaux sérovars mis en évidence étaient Autumnalis, Icterohaemorrhagiae et Bratislava, avec un rein positif sur 18 analysés (Kingscote et al., 1987). Des titres vis-à-vis de Pomona, Grippytyphosa, Canicola et Pyrogenes ont également été décrits chez d'autres espèces de cervidés sauvages aux Etats-Unis (Shotts, 1982) et en Argentine (Uhart et al., 2003).

Des enquêtes sérologiques réalisées en Europe ont mis en évidence plusieurs sérogroupes tels que Ballum, Pomona, Grippytyphosa et Icterohaemorrhagiae chez des cerfs à l'état sauvage (Mackintosh, 1984, Trembl and Nesnalova, 1993).

Ces résultats montrent l'implication de nombreux sérogroupes, mais les leptospiroses cliniques sont rarement décrites chez des cervidés à l'état sauvage. Ainsi chez le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*), même si les séroprévalences sont élevées (de 15 à 25 %) et qu'expérimentalement, ce cervidé est sensible, il n'y a pas de leptospirose clinique décrite, à l'exception d'un cas d'avortement (Shotts, 1982).

Par contre, chez le cerf d'élevage, la leptospirose fait partie des pathologies d'intérêt. Les enquêtes sérologiques et les mises en culture suggèrent que l'infection est largement répandue dans les élevages. Une étude néo-zélandaise suggère que le cerf est hôte réservoir pour Hardjobovis, hôte accidentel, et probablement hôte réservoir pour Pomona (car certaines infections persistent plusieurs mois) et hôte accidentel pour Copenhageni (Ayanegui-Alcerreca et al., 2007). Des manifestations cliniques (mort brutale ou tableau évolutif avec ictère, lésions rénales, hémoglobinurie, etc) sont décrites avec Pomona tandis que les infections avec Hardjobovis apparaissent subcliniques.

Les cervidés sauvages n'ont, jusqu'à présent, pas été décrits comme source de contamination pour l'homme. Le contexte des cerfs d'élevage est différent et les travailleurs à l'abattoir sont considérés comme personnel à risque (Ayanegui-Alcerreca et al., 2007).

2 - Carnivores

Les carnivores sauvages, prédateurs de rongeurs, sont également impliqués dans le cycle des leptospires. Des enquêtes sérologiques révèlent la présence de leptospires notamment chez

des canidés (loups, renards, coyotes) et des mustélinés (martres), (Khan et al., 1991, Trembl and Nesnalova, 1993, Desmecht, 1990, Drewek et al., 1981). Une infection expérimentale a été réalisée chez des coyotes (Marler et al., 1979).

En Amérique du Nord, les ratons-laveurs (*Procyon lotor*) doivent être mentionnés car ils peuvent représenter une source d'infection pour l'homme (populations importantes de ces carnivores, présence en zone urbaine et comportement peu farouche). Un cas de leptospirose humaine a été décrit suite au contact avec de l'urine de raton-laveur (Falk, 1985). Une étude réalisée au Québec suggère que les ratons-laveurs peuvent représenter un réservoir de leptospires pour les humains et les animaux domestiques (Mikaelian et al., 1997).

Sur base d'une infection expérimentale (Grippotyphosa) réalisée sur des espèces sauvages, les ratons-laveurs étaient les plus sensibles, suivis par les opossums, puis les mouffettes et les renards roux (Reilly, 1970).

Enfin, outre des sérologies positives chez des ours sauvages en Alaska (Zarnke and Ballard, 1987), des ours en captivité ont été suspectés d'être la source d'infection de deux gardiens de zoos infectés par *Icterohaemorrhagiae* (Anderson et al., 1978).

3 - Chiroptères

Les études réalisées sur chiroptères sont importantes vu le mode de vie de certaines espèces de chauves-souris et le contact étroit possible avec l'homme dans les habitations. Le suivi épidémiologique le plus important concerne les lyssavirus. Quant aux leptospires, plusieurs espèces de chauves-souris ont été détectées séropositives dans différents pays (Bunnell et al., 2000, Sebek et al., 1989, Smythe et al., 2002). Une étude, réalisée sur des chiroptères au Pérou, a montré que le portage rénal était de 3.4 % et que de nombreuses espèces de leptospires pouvaient être isolées. Outre *L. interrogans* et *L. kirschneri* déjà décrits, les chauves-souris étaient porteuses de *L. borgpetersenii*, *L. fainei* et deux espèces de leptospires jamais décrites auparavant. Dans cette étude, le rôle des chauves-souris dans la transmission humaine n'est pas établi mais les auteurs avancent l'hypothèse que des leptospires pourraient être maintenus via un cycle de transmission chauves-souris/rongeurs ou chauves-souris/marsupiaux (Matthias et al., 2005).

En Australie, les roussettes (*Pteropus* spp) sont également considérées dans l'épidémiologie de la leptospirose. Une étude a montré que 11 % de ces chauves-souris étaient porteuses au niveau rénal et que, sur 48 échantillons d'urine analysés, 39% étaient PCR positifs confirmant que les roussettes disséminent les leptospires dans l'environnement (Cox et al., 2005). Les auteurs ne se prononcent pas non plus sur une transmission éventuelle à l'homme.

4 - Insectivores

La présence de leptospires est également décrite chez le hérisson (*Erinaceus europaeus*) (Kuiken, 1990), et la musaraigne (*Crocidura russula*). Le Centre de Référence des Leptospires de l'Institut Royal Tropical d'Amsterdam a identifié des musaraignes comme source probable d'infection chez un patient infecté par *poimona* (Hartskeerl and Terpstra, 1996). Les auteurs (résultats non publiés) ont isolé les sérovars *mozdok* et *poi* des musaraignes présentes dans l'habitation du patient ainsi que *mozdok* chez une souris (*Mus musculus*).

5 - Lagomorphes

Des enquêtes sérologiques ont démontré la présence de Grippotyphosa et de Bratislava chez des lièvres (*Lepus europaeus*) notamment en Belgique et en Hollande (Desmecht, 1990, Hartman et al., 1980).

6 - Marsupiaux

En forêt amazonienne, vu leur abondance et leur diversité, les marsupiaux peuvent représenter un réservoir important de leptospires. Une étude réalisée au Pérou a montré que 20 % des rongeurs, 39 % des marsupiaux (des opossums) et 35 % des chauves-souris étaient PCR positifs au niveau rénal et donc excréteurs potentiels (Bunnell et al., 2000). En Australie, un autre marsupial, le phalanger renard (*Trichosurus vulpecula*), qui vit en zone périurbaine, est également considéré comme réservoir pour certains sérovars de leptospires (Eymann et al., 2007).

7 - Pinnipèdes

La leptospirose a été décrite chez des otaries à fourrure du Nord (*Callorhinus ursinus*), des phoques du Pacifique (*Phoca vitulina richardsii*) et des otaries de Californie (*Zalophus californianus*) (Stamper et al., 1998). Ces dernières sont particulièrement sensibles à la leptospirose. Des milliers d'otaries se sont échouées sur les côtes californiennes entre 1981 et 1994. Près de 30 % présentaient une leptospirose clinique (*Pomona*) et 70 % des cas étaient mortels (Gulland et al., 1996). Plus récemment, une enquête sérologique d'envergure a montré que les épidémies étaient cycliques, apparaissant tous les 4 à 5 ans. La leptospirose semble endémique chez l'otarie de Californie mais peut aussi générer des épidémies

périodiques avec des cas aigus. Dans ce contexte, les auteurs remettent en question les définitions classiques d'hôte accidentel et d'hôte de maintenance (Lloyd-Smith et al., 2007).

8 - Primates

En médecine humaine, des modèles expérimentaux de leptospirose sont mis au point sur de nombreuses espèces de primates. Les rhésus (*Macaca mulatta*), singes rouges (*Cercopithecus patas*) et capucins (*Cebus* sp.) sont sensibles aux infections expérimentales (fièvre, perte de poids, etc) mais ne développent pas de tableau aigu. Par contre, le singe écureuil (*Saimiri sciureus*) est très sensible. Perolat et coll. (1992) rapportent une épidémie de leptospirose aiguë (Icterohaemorrhagiae), avec un taux de mortalité élevé, dans une colonie de singes écureuils dans un laboratoire français en Guyane.

9 - Rongeurs

Le rôle des rongeurs est évidemment stratégique dans l'épidémiologie de la leptospirose. Le risque zoonotique est lié à des activités professionnelles (égoutiers) ou de loisirs (sports aquatiques). Il faut également mentionner le risque lié à la mode des « Nouveaux Animaux de Compagnie » qui sont parfois élevés en contact étroit dans l'environnement familial.

Les différentes espèces de rongeurs ainsi que les sérovars impliqués ont été abordés précédemment (II - Aspects écologiques).

Pour information complémentaire :

- T. Kuiken (1990) mentionne la présence de Grippytyphosa chez des hamsters (*Cricetus cricetus*) et d'Icterohaemorrhagiae chez des ragondins (*Myocastor coypus*).
- aux Pays-Bas, sur les trois espèces animales reconnues comme source d'infection pour l'homme, deux sont des rongeurs : le rat (*Rattus norvegicus*) réservoir pour Icterohaemorrhagiae et Copenhageni et le campagnol (*Microtus arvalis*) réservoir pour Grippytyphosa (la troisième source d'infection reconnue est le bovin (*hardjo*) (Hartskeerl and Terpstra, 1996).

10 - Autres classes que Mammifères

Les études sur l'épidémiologie des leptospires chez des animaux autres que des mammifères ne sont pas développées ici. Brièvement, des leptospires ont été isolés chez des arthropodes, des amphibiens, des reptiles et des oiseaux (Glosser et al., 1974, Minette, 1983, Rossetti et al., 2003) incluant des sérovars pathogènes pour les mammifères. Pour anecdote, une étude mentionne la présence du sérovar Bim isolé de reins de crapauds et de grenouilles (Gravekamp et al., 1991).

Bibliographie leptofaune sauvage

1. Anderson DC., Geistfeld JG., Maetz HM., Patton CM., Kaufmann AF. Leptospirosis in zoo workers associated with bears. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 1978, 27(1) : 210-211.
2. Ayanegui-Alcerreca MA., Wilson PR., Mackintosh CG., Collins-Elmerson JM., Heuer C., Midwinter AC., Castillo-Alcala F. Leptospirosis in farmed deer in New Zealand: a review. *N Z vet. J.*, 2007, 55(3):102-108.
3. Bunnell JE., Hice CL., Watts DM., Montrueil V., Tesh RB., Vinetz JM. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. Infection among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2000, 63:255-258.
4. Cox TE., Smythe LD., Leung LK. Flying foxes as carriers of pathogenic *Leptospira* species. *J. Wildl. Dis.*, 2005, 41(4):753-757.
5. Desmecht M. Leptospirose bij het wild levende dieren. Nationaal Instituut voor Diergeneeskunding onderzoek. *Activiteitenverslag, 1990-1991*, 106-107.
6. Drewek J., Jr., Noon TH., Trautman RJ., Bicknell EJ. Serological evidence of leptospirosis in southern Arizona coyote population. *J Wild Dis.*, 1981, 17:33-37.
7. Ebani VV., Cerri D., Poli A., Andreani E. Prevalence of leptospira and brucella antibodies in wild boars (*Sus scrofa*) in Toscana, Italy. *J Wild Dis.*, 2003, 39 (3), 18-22.
8. Eymann J., Smythe LD., Symonds ML., Dohnt MF., Barnett LJ., Cooper DW., Herbert CA. Leptospirosis serology in the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) from Urban Sydney, Australia. *J Wild Dis.*, 2007, 43 (3), 492-497.
9. Falk VS. Leptospirosis in Wisconsin: report of a case associated with direct contact with raccoon urine. *Wisconsin Med. J.*, 1985, 84:14-15.
10. Glosser JW., Sulzer CR., Eberhardt M., Winkler WG. Cultural and serologic evidence of *Leptospira interrogans* serotype Tarassovi infection in turtles. *J Wild Dis.*, 1974, 10, 429-432.
11. Gravekamp C., Korver H., Montgomery J., Everard CO., Carrington D., Ellis WA., Terpstra WJ. Leptospirae isolated from toads and frogs on the Island of Barbados. *Zentralbl bakteriologie*, 1991, 275(3):403-411.
12. Gulland FMD., Koski M., Lowenstine LJ., Colagross A., Morgan L., Spraker T. Leptospirosis in California sea lions *Zalophus californianus* stranded along the central California coast, 1981-1994. *J Wild Dis.*, 1996, 32:572-580.
13. Hartman EG., Broekhuizen S. Antibodies to *Leptospira* in European hares (*Lepus europeus pallus*) in the Netherlands. *Zbl. Vet. Med.*, 1980, 27:640-649.
14. Hartskeerl RA., Terpstra WJ., Leptospirosis in wild animals. *Wildlife diseases In: Veterinary Quarterly*, 1996, vol.18, supplement 3, s149-s150.
15. Jansen A., Nöckler K., Schönberg A., Luge E., Ehlert D., Schneider T. Wild boars as possible source of hemorrhagic leptospirosis in Berlin, Germany. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2006, 25:544-546.
16. Khan MA., Goyal SM., Diesch SL., Mech LD., Fritts SH. Seroepidemiology of leptospirosis in Minnesota Wolves. *J. Wild. Dis.*, 1991, 27(2):248-253.
17. Kingscote BF., Yates WDG., Tiffin GB. Diseases of wapiti utilizing cattle range in southwestern Alberta. *J. Wild. Dis.*, 1987, 23:86-91.
18. Kuiken T. infectierisico door contact met knaagdieren en insectenetters. Leptospirose gevaar voor de mens. *Zoogdier*, 1990, (1)90/2:3-9.
19. Lloyd-Smith JO., Greig DJ., Hietala S., Ghneim GS., Palmer L., St Leger J., Grenfell BT., Gulland FM. Cyclical changes in seroprevalence of leptospirosis in California sea lions : endemic and epidemic disease in one host species ? *BMC Infect Dis.*, 2007, 7 (1) : 125.

20. Mackintosh CG. Leptospirosis in deer. Proc. N.Z. vet. Assoc. Deer Branch, 1984, 1:100-106.
21. Marler RJ., Cook JE., Kerr AI. Experimentally induced leptospirosis in coyotes (*Canis latrans*). Am J Vet Res., 40, 1115-1119.
22. Mason RJ., Fleming PJ., Smythe LD., Dohnt MF., Norris MA., Symonds ML. *Leptospira interrogans* antibodies in feral pigs from New South Wales. J. Wild. Dis., 1998, 34:738-743.
23. Matthias MA., Diaz MM., Campos KJ., Calderon M., Willing MR., Pacheco V., Gotuzzo E., Gilman RH., Vinetz JM. Diversity of BAT-associated *leptospira* in the Peruvian amazon inferred by Bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. Am. J. trop. Med. Hyg., 2005, 75(5):964-974.
24. Mikaelian I., Robert H., Magali L., Michel M., Francis L., Daniel M. Leptospirosis in raccoons in Quebec : 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. Can. Vet. J., 1997, 38: 440-442.
25. Minette HP. Leptospirosis in poikilothermic vertebrates. A review. Int J Zoonoses, 1983, 10 (2) : 111-121.
26. Perolat P., Poingt JP., Vie JC., Jouaneau C., Baranton G., Gysin J. Occurrence of severe leptospirosis in a breeding colony of squirrel monkeys. Am J Trop Med Hyg., 1992, 46(5) : 538-545.
27. Reilly JR. The susceptibility of five species of wild animals to experimental infection with *leptospira grippityphosa*. J. wild. Dis., 1970 Oct, 6 (4):289-294.
28. Rossetti CA., Uhart M., Romero GN., Prado W. Detection of leptospiral antibodies in caimans from the Argentinian Chaco. Vet Rec., 2003, 15, 153 (20):632-633.
29. Schönberg A., Lutz W., Kämpe U. Investigation of serum samples of wild boar (*Sus scrofa* L. 1758) for leptospirosis. Z. jagdwiss., 1999, 45:262-265.
30. Sebek Z., Sixl W., Reinthaler F., Valova M., Schneeweiss W., Stunzner D., Mascher F. Result of serological examination for leptospirosis of domestic and wild animals in the Upper Nile province (Sudan). J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., 1989, 33:337-345.
31. Shotts EB., Jr. Leptospirosis. In *Infection diseases of Wild mammals*, ed. J.W Davis, L.H. Karstad, and D.O. Trainer, 2d ed. Ames: Iowa State University press, 1981, 323-331.
32. Smythe LD., Field HE., Barnett LJ., Smith SC., Dohnt MF., Symonds ML., Moore MR., Rolfe PF. Leptospiral antibodies in flying foxes in Australia. J. Wild. Dis., 2002, 38:182-186.
33. Stamper MA., Gulland FMD., Spraker T. Leptospirosis in rehabilitated Pacific Harbor Seals from California. J Wild Dis., 1998, 34 (2) 407-410.
34. Trembl F., Nesnalová E. Occurrence of *Leptospira* antibodies in the blood of game animals. Vet. Med (Praha), 1993, 38(2):123-127.
35. Uhart MM., Vila AR., Beade MS., Balcarce A., Karesh WB. Health Evaluation of Pampas Deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at Campos del Tuyú Wildlife Reserve, Argentina. J Wild Dis., 2003, 39(4):887-893.
36. Zarnke RL., Ballard WB. Serological survey for selected microbial pathogens of wolves in Alaska, 1975-1982. Journal of Wildlife Diseases, 1987, 23:77-85.



BIJLAGE 07 – ANNEXE 07

PUBLICATION DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE n° 8334

La problématique de *Leptospira interrogans* en Belgique.

PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 8334

De problematiek van *Leptospira interrogans* in België.

**LES LEPTOSPIROSES HUMAINES ET ANIMALES :
*LEPTOSPIRA INTERROGANS***

J. Mainil, N. Martin, E. Goossens

ULg, FMV, DMI, Bactériologie, Sart Tilman, B43a, 4000 Liège

Cerva-Coda, Groeselenberg, 99, 1180 Bruxelles

I. Description de la bactérie

La leptospirose est une zoonose répandue dans le monde entier, particulièrement en zone tropicale. Elle est due à une bactérie de l'ordre des Spirochètes du genre *Leptospira*, de la famille des *Leptospiraceae*, isolée en 1915. Ce sont des bactéries finement spiralées (de 0,1 à 0,2 µm de diamètre pour 6 à 12 µm de longueur), aux extrémités en crochet et mobiles grâce à deux flagelles périplasmiques (Baranton et al., 2007). Elles sont aérobies strictes avec un optimum de croissance compris entre 28° et 30°C, catalase et oxydase positives et capables d'utiliser les acides gras à longues chaînes comme seule source de carbone (Levett, 2001 ; Bharti et al., 2003).

Avant 1989, le genre *Leptospira* était divisé en deux espèces, *L. interrogans* et *L. biflexa*, regroupant, respectivement, les souches pathogènes et les souches saprophytes. Ces deux espèces ont été divisées en de nombreux sérovars définis par agglutination après absorption croisée avec un antigène homologue (Bharti et al., 2003). Les sérovars antigéniquement proches sont regroupés en sérogroupes : *L. interrogans* comprend plus de 225 sérovars répartis en 23 sérogroupes (Institut Pasteur, en ligne). Après 1989, des études d'hybridation ADN-ADN ont modifié la nomenclature des leptospires. La classification génétique comprend, actuellement, 13 espèces (*genospecies*) déjà nommées (tableau I) et 4 *genospecies* non nommées (Baranton et al., 2007). Cependant, les deux classifications ne

concordent pas car, dans cette nouvelle classification, des sérovars pathogènes et non pathogènes apparaissent dans la même espèce.

II. Aspects écologiques

Les réservoirs

Les mammifères sont les hôtes habituels de la bactérie. Les rongeurs constituent, dans la grande majorité des pays du monde, le réservoir principal, bien que de nombreuses autres espèces animales, domestiques ou sauvages, puissent être impliquées, comme les chiens, bovins, porcs, sangliers, hérissons, musaraignes, etc (tableau II).

Les différents hôtes peuvent être classés en deux grands groupes : les hôtes réservoirs, qui multiplient l'agent pathogène sans que leur santé soit altérée, et les hôtes accidentels, qui développent des signes cliniques plus ou moins sévères. Chez l'hôte réservoir, l'infection est acquise tôt dans la vie et la prévalence d'excrétion chronique via les urines augmente avec l'âge de l'animal. Les hôtes peuvent être réservoirs pour certains sérovars et accidentels pour d'autres. L'homme est un hôte accidentel (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, en ligne). L'infection se maintient suite au portage chronique au niveau des tubules rénaux et l'excrétion de leptospires dans les urines peut se poursuivre pendant des mois, voire des années (Amstutz et al., 1971 ; Levett, 2001 ; AFSSA, 2005).

Les rongeurs sont le principal réservoir pour le séro groupe Icterohemorrhagiae. Il faut savoir que tous les rongeurs n'ont pas le même potentiel épidémiologique : plusieurs études ont montré que près de 50% des rats (*Rattus norvegicus*), ragondins (*Myocastor coypu*) et rats musqués (*Ondatra zibethicus*) sont séropositifs (André-Fontaine, 2006). Cependant, pour être un réservoir efficace, les rongeurs doivent non seulement être infectés, mais aussi être excréteurs de la bactérie. Environ 30% des rats et rats musqués sont des porteurs rénaux de leptospires des sérotypes Icterohemorrhagiae et Grippotyphosa, respectivement. Cinq pourcents seulement des ragondins le sont et particulièrement de Sejroë (André-Fontaine, 2006). En Belgique, 24 sérotypes de leptospires ont été isolés chez les rats musqués. Les sérotypes Grippotyphosa, Sejroe, Icterohaemorrhagiae et Australis représentaient 38% des isolats (Desmecht et Smeets, 1989 ; Desmecht et al., 1991).

La survie dans le milieu extérieur

La présence des leptospires dans le milieu extérieur, représenté par l'ensemble des milieux hydro-telluriques (eaux douces, mares, boues), suite à une contamination par les urines d'hôtes excréteurs, est l'un des éléments essentiels de leur transmission (Institut

Pasteur, en ligne). Cependant, la survie des leptospires dans le milieu extérieur dépend de divers facteurs incluant le pH, la température, la salinité, les ultraviolets (Tableau III). Ces bactéries survivent jusqu'à 6 mois, bien que sans se multiplier, dans l'eau ou des sols boueux chauds, à pH neutre ou légèrement alcalin, d'une salinité nulle ou très faible et en l'absence d'exposition aux rayons ultraviolets (Stamm et al., 1988 ; Baranton et al., 2007). L'incidence de la leptospirose est ainsi significativement plus importante en fin d'été et en automne dans les régions tempérées et surtout dans les pays à climat chaud, du fait d'une survie plus longue des leptospires dans des conditions chaudes et humides (Levett, 2001). D'après l'AFSSA (2005), une modification de la température terrestre avec diminution/disparition des périodes de gel pourrait intervenir à deux niveaux : le premier concerne la régulation des populations de rongeurs réservoirs sensibles au gel ; le second concerne la survie des leptospires pour lesquelles des températures inférieures à 4°C sont néfastes.

Mais, d'autres paramètres climatiques peuvent influencer l'incidence de la leptospirose chez l'homme : des concentrations plus élevées en leptospires ont été trouvées en Amérique du Sud dans les réseaux urbains de distribution d'eau par rapport aux réseaux ruraux (Ganoza et al., 2006) et le risque semble plus élevé après des inondations ou des pluies très importantes (Yanagihara et al., 2007).

III. Aspects pathologiques

Les voies d'entrée principales sont, d'une part, la peau macérée par un séjour prolongé dans l'eau douce ou la peau lésée (une égratignure peut suffire) et, d'autre part, les muqueuses nasale, buccale et oculaire (Institut Pasteur, en ligne). Les bactéries vont se multiplier dans le sang et coloniser divers organes internes, tels que les reins, le foie, la rate, le système nerveux central, les yeux et le système génital (Greene et al., 2006). Cependant, de nombreuses infections restent asymptomatiques, essentiellement quand elles atteignent un hôte réservoir (LeFebvre, 2004). La maladie peut être soit sévère ou clinique, soit modérée ou subclinique, selon l'adaptation du sérovar à l'hôte. Par exemple, les sérovats Hardjo, Bratislava pour lesquels le bovin et le porc sont, respectivement, des hôtes réservoirs induisent une infection modérée, tandis que les sérovats Pomona et Icterohaemorrhagiae induisent une infection sévère (Songer et al., 1988).

Différentes formes cliniques peuvent se manifester suivant les espèces animales. Chez le chien, les formes classiques les mieux connues sont dues aux sérovats Icterohemorrhagiae et Canicola principalement. L'infection par le premier résulte en un syndrome hémorragique,

des atteintes hépatiques et un syndrome urémique (LeFebvre, 2004). Par contre, chez le chat, les signes cliniques sont souvent modérés ou inapparents, malgré la présence d'une leptospirémie et d'une leptospirurie ainsi qu'une évidence de lésions inflammatoires rénales et hépatiques (Greene, 2006). Chez le bovin, les sérovars Hardjo et Pomona sont les plus fréquents. Le signe clinique prédominant est l'avortement, habituellement tard dans la gestation (LeFebvre, 2004). La forme aiguë de la maladie affecte principalement les veaux et se caractérise par de la fièvre, de l'hémoglobinurie, de l'ictère, de l'anémie et un taux de mortalité de 5 à 15% (LeFebvre, 2004). Chez le porc, les sérovars impliqués dans la leptospirose sont Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Tarassovi, Bratislava et Muenchen. Les principaux signes cliniques sont semblables à ceux observés chez les bovins (LeFebvre, 2004). Chez le cheval, les sérovars Pomona, Grippotyphosa et Icterohaemorrhagiae sont souvent rencontrés. Les signes cliniques sont de la fièvre, un ictère modéré et un avortement. Les bactéries sont également impliquées dans l'uvéite récurrente équine (LeFebvre, 2004). L'homme est susceptible à tous les sérovars, mais de nombreuses infections passent inaperçues. L'infection cause une fièvre élevée (>39°C), de l'ictère, des douleurs musculaires, des méningites non suppuratives. Une forme grave, connue sous le nom de maladie de Weil, souvent due au sérovar Icterohaemorrhagiae, peut provoquer une pathologie rénale ou hépatique fatale (LeFebvre, 2004).

Aspects zoonotiques

Le mode de contamination se fait le plus fréquemment par contact de la peau fragilisée et des muqueuses avec les urines d'hôtes excréteurs, soit de façon directe, soit de façon indirecte. Des contaminations directes par d'autres voies sont aussi possibles, par morsure ou lors d'exposition professionnelle avec des animaux infectés (agents de voirie, agriculteurs, éleveurs, employés d'abattoirs et de laiterie, vétérinaires). La contamination indirecte est liée à la présence de l'homme dans un environnement infecté lors de certaines activités professionnelles (les mineurs, les militaires, les éleveurs de poissons, les coupeurs de canne à sucre) ou de loisirs (sports d'eau principalement). Elle est considérée comme étant la plus fréquente pour les populations humaines en général (Institut Pasteur, en ligne ; Levett, 2001).

Dans la plupart des pays tropicaux qui sont des pays en développement, les habitants ont un risque plus élevé d'exposition aux hôtes infectés, aussi bien les animaux de rente, domestiques ou sauvages du fait de la proximité, des conditions d'hygiène et des habitudes des populations (se promener pieds-nus, par exemple) (Levett, 2001).

Les propriétés de virulence

Les facultés pathogènes des leptospires sont associées à certaines structures et propriétés qui sont exprimées durant l'infection par des souches virulentes (André-Fontaine, 2006). Mais leur mécanisme d'action n'est pas encore clairement élucidé.

- L'endoflagelle périplasmique impliqué dans le mouvement en hélice de la bactérie est un facteur important pour la pénétration dans les tissus et pour les mouvements en milieu visqueux (Matsunaga et al., 2003).

- Beaucoup de souches pathogènes sécrètent une sphingomyélinase C ainsi que des hémolysines formant des pores dans la membrane cytoplasmique des cellules animales et pouvant être associées avec l'anémie hémolytique observée chez les malades (Lee et al., 2002 ; Matsunaga et al., 2003).

- La faculté de pénétration, de dissémination et de persistance au sein des tissus hôtes semble liée à la capacité des leptospires à s'attacher aux cellules eucaryotes et aux protéines de la matrice extracellulaire (Matsunaga et al., 2003). Une « fibronectin-binding protein » exprimée à la surface du sérovar *Icterohaemorrhagiae*, mais absente de la surface des souches avirulentes, pourrait jouer un rôle dans cette adhésion (Merien et al., 2000 ; Bharti, 2003).

- La protéine A, une immunoglobuline-like, de *Leptospira interrogans* (LigA) possède certains domaines homologues avec des protéines impliquées dans des fonctions d'attachement et d'invasion, comme l'intimine d'*Escherichia coli*, par exemple (Bharti, 2003 ; Matsunaga et al., 2003). Palaniappan et al. (2002) ont montré que LigA est exprimée à hauteur des reins de hamsters infectés, mais n'est pas détectée lors de culture *in vitro*.

- Trois classes d'OMP (« outer membrane proteins ») ont été identifiées (Cullen et al., 2003). La première est la plus abondante et comprend les lipoprotéines de la membrane externe, notamment LipL21, LipL32, LipL36, LipL48 et LipL41. Une seule OMP a été identifiée dans les classes II (OmpL1) et III (P31). Parmi ces protéines, certaines (OmpL1, LipL21, LipL32, LipL41) sont bien conservées et caractéristiques des souches virulentes de leptospire. Il a ainsi été démontré que LipL21 n'est pas exprimée chez les souches avirulentes de leptospires (Cullen et al., 2003).

- Récemment le rôle d'une autre OMP, Loa22, dans la pathogénie des infections à leptospires a été démontré dans un modèle sur cobayes par utilisation de souches mutantes et complémentées (Ristow et al., 2007).

IV. Conclusions

La répartition de la leptospirose dans le temps est étroitement liée aux variations climatiques avec la température comme principal facteur limitant de la survie des leptospires. En zone tempérée, une recrudescence des cas est observée pendant l'été et l'automne, alors que dans les zones tropicales, s'ajoutent des influences liées au régime des pluies ou à des événements climatiques irréguliers, par exemple, les périodes cycloniques (Levett, 2001). A titre d'exemple, en France métropolitaine, le niveau d'endémie est faible avec une incidence de 0,3/100.000 habitants en 2006. En zone tropicale, comme à Hawaï ou aux Seychelles, l'incidence annuelle est beaucoup plus élevée. En Nouvelle-Calédonie, elle était, en 2006, de 28/100.000 habitants avec un pic important en février-mars en pleine saison chaude et pluvieuse (Institut Pasteur, en ligne).

D'après l'étude réalisée par l'AFSSA (2005), l'impact d'un réchauffement climatique sur l'incidence de la leptospirose peut être qualifié de faible directement (l'influence du réchauffement climatique sur l'évolution de la maladie est peu probable) à modéré indirectement (l'influence du réchauffement climatique sur l'évolution de la maladie est vraisemblable). L'influence directe de modifications de la température serait plus importante vers le bas que vers le haut : des températures inférieures à 4°C sont néfastes pour les leptospires dont l'optimum de croissance se situe entre 28 et 30°C. Cependant, chez le chien et l'homme, il faut s'attendre à une augmentation du risque du fait d'une tendance plus importante à se baigner par temps chaud dans des eaux dont la charge virulente serait augmentée. En résumé, le réchauffement climatique pourrait favoriser l'augmentation de la fréquence d'infection de l'homme par les leptospires principalement par voie indirecte, du fait de changements du comportement (baignades, jeux d'eau, compétitions aquatiques) lors de températures plus élevées, comme en été dans les régions tempérées. Par ailleurs, des températures plus élevées peuvent causer une augmentation de la population des rongeurs, et de la sorte, augmenter le risque de transmission de la leptospirose par voie directe ou indirecte.

V. Orientation des recherches futures

i) Il serait intéressant de suivre l'évolution des populations de rongeurs hôtes réservoirs sur plusieurs années, pour mieux connaître l'impact des variations de température sur leur mode de vie et de reproduction ;

ii) Le recensement du nombre de cas humains pour voir s'il existe une augmentation du nombre de cas au fil des années en fonction d'un éventuel changement de climat devrait être proposé.

iii) De meilleures connaissances de l'épidémiologie de la leptospirose parmi les différentes populations animales.

iv) Pour une meilleure compréhension du pouvoir pathogène des leptospires in vivo, une connaissance plus approfondie des différents facteurs de virulence et de leur mode d'action est indispensable. Ces connaissances permettront la mise au point de vaccins plus ciblés.

VI. Bibliographie

1. **AFSSA.** Rapport sur l'évaluation du risque d'apparition et de développement de maladies animales compte tenu d'un éventuel réchauffement climatique. 2005.
http://www.academie-medecine.fr/UserFiles/File/rapports_thematiques/veterinaire/Maladies_animales_dues_au_rechauffement_climatique_avril_2005.pdf, consulté le 6/11/2007.
2. **André-Fontaine G.** Canine leptospirosis- Do we have a problem ? Vet. Microbiol., 2006, **117**, 19-24.
3. **Baranton G, Postic D, Dauwalder O.** *Leptospira*. 2^e édition du Précis de bactériologie clinique, 2007, éditions ESKA.
4. **Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM.** Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. The Lancet, 2003, **3(12)**, 757-771.
5. **Cullen PA, Haake DA, Bulach DM, Zuerner RL, Adler B.** LipL21 is a novel surface-exposed lipoprotein of pathogenic *Leptospira* species. Infect. Immun., 2003, **71**, 2414-2421.
6. **Desmecht M.** Les leptospiroses. Ann. Méd. Vét., 1970, **114**, 197-220.
7. **Desmecht M, Smeets L.** L'ondatra, une des principales sources de leptospires pour les bovins ? Ann. Méd. Vét., 1989, **133**, 413-419.
8. **Desmecht M,** Isolatie in België van *Leptospira Interrogans* serotypen Saxkoebing, Grippotyphosa en Copenhageni uit muskusratten. Vl. Diergsk. Tijdschrift, 1991, **60**, 59-63.
9. **Greene CE, Sykes JE, Brown CA, Hartmann K.** Leptospirosis. Infectious diseases of the dog and cat, Third Edition, 2006, 402-417, Elsevier.
10. **Institut Pasteur.** Epidémiologie de la leptospirose en France en 2006.
<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/LeptospiraF.html>, consulté le 6/11/2007.

11. **Institut Pasteur.** La leptospirose : une zoonose sous surveillance en Nouvelle-Calédonie. http://www.institutpasteur.nc/article.php3?id_article=86, consulté le 6/11/2007.
12. **Ferguson IR.** A European Perspective on leptospirosis. *Microbiol. Europe*, 1994, 8-11.
13. **Ganoza CA, Matthias MA, Collins-Richards D, Vrouwer KC, Cunningham CB, Segura ER, Gilman RH, Gotuzzo E, Vinetz JM.** Determining risk for severe leptospirosis by molecular analysis of environmental surface waters for pathogenic leptospira. *Plos Med.*, 2006, **3**, 308
14. **Lee SH, Kim S, Park SC, Kim MJ.** Cytotoxic activities of *Leptospira interrogans* hemolysin SphH as a pore-forming protein on mammalian cells. *Infect. Immun.*, 2002, **70**, 315-322.
15. **LeFebvre RB.** Spiral-Curved Organisms : *Leptospira*. *Veterinary Microbiology*, Second Edition, 2004, 148-152, Blackwell Publishing.
16. **Levett PN.** Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, **14**, 296-326.
17. **Matsunaga J, Barocchi MA, Croda J, Young TA, Sanchez Y, Siqueira I, Bolin CA, Reis MG, Riley LW, Haake DA, Ko AI.** Pathogenic *Leptospira* species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. *Mol. Microbiol.*, 2003, 929-945.
18. **Merien F, Truccolo J, Baranton G, Perolat P.** Identification of a 36-kDa fibronectin-binding protein expressed by a virulent variant of *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, 17-22.
19. **Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.** Leptospirose. <http://agriculture.gouv.fr/sections/thematiques/sante-protection-animaux/maladies-animales/leptospirose>, consulté le 6/11/2007.
20. **Palaniappan RU, Chang YF, Jusuf SS, Artiushin S, Timoney JF, McDonough SP, Barr SC, Divers TJ, Simpson KW, McDonough PL, Mohammed HO.** Cloning and molecular characterization of an immunogenic LigA protein of *Leptospira interrogans*. *Infect. Immun.*, 2002, **49**, 5924-5930.
21. **Ristow P, Bourhy P, McBride FW, Figueira CP, Huerre M, Ave P, Girons IS, Ko AI, Picardeau M.** The OmpA-like protein Loa22 is essential for *Leptospira* virulence. *PLoS Pathogens*, 2007, **3**, 1250-1254.
22. **Songer JG, Thiermann AB.** Leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, **193**, 1250-1254.
23. **Stamm L.V., Charon N.W.** Sensitivity of pathogenic and free-living *Leptospira* spp. to UV radiation and mitomycin C. *Appl. Environm. Microbiol.*, 1988, **54**, 728-733.

24. **Yanagihara Y, Villanueva Sy, Yoshida S, Okamoto Y, Masuzawa T.** Current status of leptospirosis in Japan and Philippines. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2007, **30**, 339-413.

| Espèces | Références |
|-------------------|-----------------------------|
| L. alexanderi | Brenner <i>et al.</i> 1999 |
| L. borgpetersenii | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. broomii | Levett <i>et al.</i> 2006 |
| L. fainei | Perolat <i>et al.</i> 1998 |
| L. inadai | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. kirschneri | Ramadass <i>et al.</i> 1992 |
| L. meyeri | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. noguchii | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. santarosai | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. weilii | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. wolbachii | Yasuda <i>et al.</i> 1987 |
| L. biflexa | |
| L. interrogans | |

Tableau I : les différentes espèces nommées sur base des études génomiques

| Reservoir host | Serovar(s) |
|----------------|---|
| Pigs | <i>pomona, tarassovi</i> |
| Cattle | <i>hardjo, pomona</i> |
| Horses | <i>bratislava</i> |
| Dogs | <i>canicola</i> |
| Sheep | <i>hardjo</i> |
| Raccoon | <i>grippityphosa</i> |
| Rats | <i>icterohaemorrhagiae, copenhageni</i> |
| Mice | <i>batum, arborea, bin</i> |
| Marsupials | <i>grippityphosa</i> |
| Bats | <i>cynopteri, wolffi</i> |

Tableau II : Réservoirs et leurs principaux sérovars (Bharti, 2003)

| | |
|----------------------|----------|
| Eau du robinet, pH 5 | 2 jours |
| Eau du robinet, pH 7 | 28 jours |
| Eau de mer | 18-24 h |
| Ordures | 10 jours |
| Sol mouillé | 35 jours |
| Sol saturé d'urine | 6 mois |

Tableau III : Survie des leptospires (Ferguson IR, 1994)

2. Wat is het reservoir van de bacterie?

De belangrijkste natuurlijke gastheren zijn kleine knaagdieren (ratten, muskusratten, muizen), runderen, varkens en honden. Zij dragen de leptospiren in hun nieren en scheiden ze soms levenslang uit via hun urine. Jonge dieren worden besmet door volwassen dieren.

Leptospiren kunnen enkele weken overleven in waterachtige milieus of op vochtige bodems.

De bacterie wordt vernietigd door een droog, zout of zuur milieu en door ontsmettingsmiddelen.

3. Hoe loop je leptospirose op?

De besmetting kan gebeuren via een wonde, de mond, neus of ogen na rechtstreeks contact met urine van een natuurlijke gastheer, of onrechtstreeks via besmet water of voedingsmiddelen.

Hoe langer de blootstelling, hoe groter het infectierisico. Overdracht van persoon tot persoon is mogelijk maar extreem zeldzaam.

4. Welke symptomen hebben de patiënten?

De incubatieperiode duurt meestal 6 à 12 dagen (spreiding 2-30 dagen). Meestal kent de ziekte een mild verloop.

De symptomen kunnen zeer sterk variëren. Er zijn vier brede, klinische categorieën:

- milde griepachtige aandoening
- syndroom van Weil met geelzucht en nierfalen
- hersen(vlies)ontsteking
- respiratoir falen (met hoest en kortademigheid).

Typisch verloopt de ziekte in 2 fasen met een abrupt begin van hoge koorts (40°C), rillingen en spierpijn gedurende ongeveer een week. Na 1 à 3 dagen zonder klachten volgt een tweede fase met multipale orgaanproblemen.

Gastheerfactoren als leeftijd, onderliggende ziekte, e.d. spelen een belangrijke rol in het ziektebeeld.

5. Hoe wordt de diagnose gesteld?

De diagnose is gebaseerd op klinische symptomen, risicofactoren en laboratoriumonderzoek.

Kweek van de bacteriën is moeilijk en duurt erg lang zodat deze techniek geen plaats heeft in de acute diagnostiek en men meestal aangewezen is op serologie. Vijf tot tien dagen na het begin van de symptomen kunnen antilichamen tegen leptospiren opgespoord worden in het bloed. Een negatief resultaat in het begin van de ziekte sluit een leptospirose dus niet uit. De aanvragen voor analyse of voor bevestiging van een resultaat van een screening kunnen naar het referentielaboratorium (ITG) worden gestuurd. Er worden bij voorkeur twee stalen onderzocht met een interval van 1-2 weken.

Antilichamen kunnen jaren aantoonbaar blijven. Antibiotica kunnen de vorming van antilichamen vertragen.

6. Hoe wordt leptospirose behandeld?

Leptospirose wordt met antibiotica behandeld. Hoe eerder de behandeling wordt aangevat, hoe minder symptomen en complicaties zullen optreden. Men mag het resultaat van de laboratoriumtesten bijgevolg niet afwachten om een behandeling in te stellen.

Dankzij een aangepaste antibioticatherapie geneest de patiënt binnen een termijn van ongeveer een maand na aanvang van de behandeling.

7. Wie kan leptospirose oplopen?

De beroepsgroepen die het meest zijn blootgesteld aan het risico zijn die van rioolwerkers, landbouwers, dierenartsen, beenhouwers, ...

De ziekte is opgenomen in de lijst van beroepsziekten met meldingsplicht (site 'fonds voor beroepsziekten*'). Ook recreatie kan een bron van besmetting vormen : personen die watersporten beoefenen zoals zwemmen, kajakken, duiken, surfen, vissen en windsurfen lopen een risico.

8. Wanneer worden gevallen van leptospirose vastgesteld?

In tropische en subtropische regio's wordt de diagnose leptospirose het hele jaar door gesteld. Dit heeft te maken met de langere overleving van leptospiren in de omgeving in warme en vochtige omstandigheden.

In landen met een gematigd klimaat is de ziekte seizoensgebonden en gaat het aantal gevallen van leptospirose op het einde van de zomer en in de herfst in stijgende lijn. Naast de temperatuur speelt ook de verhoogde blootstelling een rol : het toenemende aantal activiteiten in het water is groter in de zomer.

9. Waar worden gevallen van leptospirose vastgesteld?

Elk jaar diagnosticeert het referentielaboratorium een tiental gevallen.

Van de 14 gevallen van leptospirose die in 2006 door het referentielaboratorium zijn gediagnosticeerd, werden er 7 besmet in België, 1 in Frankrijk, 1 op het eiland Borneo en 5 in Thailand. In 2007 zijn er 8 gevallen door dit laboratorium gediagnosticeerd.

10. Welke voorzorgsmaatregelen moeten worden genomen om het risico op leptospirose zo klein mogelijk te houden?

Voor de doelgroepen is het raadzaam om op de werkplaats een bril, handschoenen, laarzen en waterdichte kledij te dragen.

Algemene bevolking:

- Rechtstreeks contact met urine van een dier vermijden.
- De handen wassen na elke contact met een dier of een besmet voorwerp.
- Wonden bedekken vóór elk contact met zoet water of besmette vochtige omgeving.
- Niet in bezoedeld water zwemmen.
- De toegang van knaagdieren tot de woningen verhinderen (openingen dichtmaken).

In sommige landen bestaat een vaccin. Men moet de samenstelling van het vaccin zo kiezen dat bescherming wordt opgewekt tegen de serovars die in omloop zijn in de betrokken risicovolle streek. Het vaccin biedt slechts 6 à 12 maanden bescherming. In België is geen vaccin beschikbaar.

11. Wat je moet doen als een geval van leptospirose optreedt?

De behandelende arts van de patiënt moet het geval melden aan de gezondheidsinspecteur infectieziektebestrijding van de provincie waar de patiënt woonachtig is (meldingsplichtige aandoening) en moet de personen verwittigen die zich tijdens de risicovolle activiteit in de omgeving van de patiënt bevonden.

Tot besluit

Het is raadzaam een arts te raadplegen wanneer griep-symptomen optreden en de persoon mogelijk is blootgesteld aan urine van een besmet dier, besmet materiaal of besmet zacht water.

Voor toelichtingen:

Referentielaboratorium

Dr. M. Van Esbroeck
Instituut voor Tropische Geneeskunde
Klinische Biologie
Nationalestraat 155
2000 Antwerpen
Tel. : 03 247 64 07 (08)
www.itg.be

Medische diensten van de Gemeenschappen

Vlaamse Gemeenschap
Tel. : 02 553 35 85
Gemeenschappelijke gemeenschapscommissie
van Brussel Hoofdstad
Tel. : 02 502 60 01
Franse Gemeenschap
Tel. : 02 413 24 01

Nuttige adressen

*www.fmp-fbz.fgov.be
www.pasteur.be

U kan deze folder ook raadplegen op
www.iph.fgov.be/epidemie/labo
(informatiefolders)



Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV)

Afdeling Epidemiologie
in samenwerking met

de Vlaamse Gemeenschap van België
Toezicht Volksgezondheid
Infectieziekten en Vaccinatie

de Hoge Gezondheidsraad
en
het Referentielaboratorium
Instituut voor Tropische Geneeskunde (ITG)

Inhoud

1. Wat is leptospirose?
2. Wat is het reservoir van de bacterie?
3. Hoe loop je leptospirose op?
4. Welke symptomen hebben de patiënten?
5. Hoe wordt de diagnose gesteld?
6. Hoe wordt leptospirose behandeld?
7. Wie kan leptospirose oplopen?
8. Wanneer worden gevallen van leptospirose vastgesteld?
9. Waar worden gevallen van leptospirose vastgesteld?
10. Welke voorzorgsmaatregelen moeten worden genomen om het risico op leptospirose zo klein mogelijk te houden?
11. Wat je moet doen als een geval van leptospirose optreedt?

Maart 2008

1. Wat is leptospirose?

Leptospirose (of ziekte van rioolwerkers) is een infectie die door de bacterie *Leptospira interrogans* wordt overgedragen. De ziekte komt vooral voor bij wilde en tamme dieren en kan ook worden overgedragen op de mens. De infectie komt wereldwijd voor maar vormt een groter probleem in vochtige (sub)tropische gebieden, vooral door klimaats- en omgevingsfactoren. Leptospirose maakt deel uit van de meldingsplichtige aandoeningen in de Vlaamse en Franse Gemeenschap alsook in Brussel.