الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر –

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE - ALGER-

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTÈRE EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Option : Microbiologie médicale vétérinaire

Thème

Étude épidémiologique des infections et coïnfections de *Chlamydophila abortus* et *Coxiella burnetii* dans des exploitations bovines de la région de Jijel

Réalisé Par : **Dr. ZINEDDINE Radja**

Membres de Jury :

Président :	**Dr. HAFSI F……..École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger**
Promoteur :	**Dr. GHALMI F…….École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger**
Co-promoteur :	**Dr. ARZOUR N…….Institut des Sciences Vétérinaires de Constantine**
Examinateurs :	**Dr. AZZAG N……..École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger**
	Pr. MEKROUD A….Institut des Sciences Vétérinaires de Constantine

Année universitaire : **2014-2015**

Résumé

Le présent travail a pour objectif principal d'apporter une contribution originale à la connaissance des infections et co-infections par Coxiella burnetii et Chlamydophila abortus chez le bovin dans la région de Jijel ainsi que des facteurs de risque associés. Cette étude a aussi pour but d'étudier l'association entre ces deux infections et la présence de troubles de la reproduction.

Pour cela, 184 prélèvements sanguins de bovins ont été effectués et destinés aux analyses sérologiques par la méthode ELISA indirect. Des informations relatives aux caractéristiques individuelles des animaux ainsi qu'aux pratiques d'élevage ont été recueillies.

Les résultats de l'enquête ont révélé une séroprévalence de 1.08% pour Chlamydophila abortus et de 15.76% pour Coxiella burnetii, avec un taux de co-infection de 0,54%. L'étude des différents facteurs de risque potentiels n'a révélé aucun lien statistique avec l'infection par Coxiella burnetii et /ou Chlamydophila abortus mis à part le facteur altitude qui semble influencer l'infection par Coxiella burnetii ($p<0,05$)

Enfin, l'étude épidémiologique de type cas-témoin n'a montré aucune association significative ($p>0,05$) entre la séropositivité à Coxiella burnetii et /ou Chlamydophila abortus et les troubles de la reproduction ou les avortements présents dans les fermes étudiées

Mots clés: Coxiella burnetii- Chlamydophila abortus- Jijel- bovins- enquête séroépidémiologique- ELISA- séroprévalence.

Abstract

The present work has as main objective to make an original contribution to knowledge of infection and co-infection with Coxiella burnetii and Chlamydophila abortus in cattle in the Jijel region as well as risk factors. The study also aims to investigate the association between these infections and the presence of reproductive disorders.

For this, 184 blood samples from cattle were performed and for serological analysis by the indirect ELISA. Information relating to the individual characteristics of animals and the farming practices were collected.

The results of the survey showed a seroprevalence of 1.08% for Chlamydophila abortus and 15.76% for Coxiella burnetii, with a co-infection rate of 0.54%. The study of various potential risk factors showed no statistical link with infection with Coxiella burnetii and / or Chlamydophila abortus aside from the latitude factor that appears to influence infection with Coxiella burnetii ($p < 0.05$).

Finally, the epidemiological study of case-control showed no significant association ($p > 0.05$) between HIV infection with Coxiella burnetii and / or Chlamydophila abortus and reproductive disorders or abortions present in the studied farms.

Keywords: Coxiella burnetii- Chlamydophila abortus- Jijel- bovins- seroepidemiological survey-ELISA-seroprevalence.

الملخص

لدى الإصابة نسبة لمعرفة مساهمة لتقديم العمل هذا يهدف Coxiella burnetii وChlamydophila abortus ب
جيجل ولاية ابقار

تم لهذا، .الإنجابية الاضطرابات ووجود الإصابات هذه بين الارتباط تحقيق إلى أيضا الدراسة وتهدف
بطريقة وتحليلها ELISA indirecte. الدم من عينة 184 تنفيذ

الخطر عوامل لدراسة الزراعية والممارسات لحيوانات الفردية بالخصائص المتعلقة المعلومات جمع تم
الابقار من 1.08٪ عند و Coxiella burnetii الابقارو من 15.76٪ عند .الإصابة نسبة في المؤثرة
.المشتركة الاصابات من معدل 0.54٪ وجود الى نتائج أظهرت Chlamydophila abortus

الخطرعدى عوامل ومختلف بالعدوى الإصابة بين صلة وجود عدم المحتملة الخطر عوامل مختلف دراسة أظهرت
ب الإصابة نسبة في يؤثر الذي Coxiella burnetii(P <0.05). الارتفاع عامل

التي المزارع في الاجهاض او الانجابية الاضطرابات و الاصابة بين ارتباط أي وجود عدم الدراسة أظهرت
.دراستها تمت

:البحث كلمات Coxiella burnetii - Chlamydophila abortus- ELISA -ابقار -جيجل

Remerciements

A **M^elle^ GHALMI F. (École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger)** *pour m'avoir guidée dans mes démarches, pour son aide et sa gentillesse, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

A **M^me^ ARZOUR N. (Institut des Sciences Vétérinaires de Constantine)** *pour son aide précieuse et ses conseils.*

A **M^me^ HAFSI F. (École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger)** *pour l'honneur qu"elle m'a fait en présidant mon jury de thèse.*

A **M^me^ AZZAG N. (École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger)** *d'être intéressés à ce travail et d'avoir accepté d'en être l'examinateur.*

A **M^r^. MEKROUD A. (Institut des Sciences Vétérinaires de Constantine)** *d"accepter de faire parti des jurys de notre thèse*

A M^me^ MHEMLI directrice du laboratoire régional de Constantine pour son accueil et ses conseils.

Aux techniciennes du service de virologie au laboratoire régionale de Constantine.

A l'ensemble des vétérinaires praticiens pour leurs précieuses aides.

A tous les éleveurs qui ont accepté de me recevoir et de me consacrer un peu de leur temps.

Enfin, je suis reconnaissante à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

A mes parents, lumière de ma vie avec tout mon Amour,
Papa

Pour ton encouragement et tes précieux conseils

Maman

Pour ta tendresse et ta bienveillance

J'espère aujourd'hui vous être source de fierté que dieu vous garde pour moi

A ma moitié, Ilyes

A mes très chers frères et sœurs
Mhamed, Imed, Sid Ali, Lilia, Didine et ma gâtée Sonia

A Mes chers beaux parents

A ma belle sœur et mes beaux frères

A toute ma famille

A tous mes amis et mes camarades de l'école doctorale ENSV promotion 2011

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce modeste travail

Radja

Sommaire

Introduction 1

Synthèse bibliographique 3

I. Historique…… 4

1. *Chlamydia spp*..... 4
2. *Coxiella burnetii*..... 4

II. Étude des agents infectieux…… 7

1. *Chlamydia spp*..... 7

1.1. Taxonomie……..... 7

1.1.1. Classification morphologique et phénotypique ……. 7

1.1.2. Classification moléculaire..... 9

1.2. Morphologie de Chlamydia spp……. 12

1.2.1. Morphologie générale 12

1.2.2. Les différentes formes de Chlamydia …….. 12

1.2.3. Ultra structure des chlamydias …….. 13

1.2.4. Architecture de la paroi de *Chlamydia spp*…… 16

1.2.4.1.Particularités de la paroi..... 16

1.2.4.2. Architecture de la paroi 17

1.2.5. Particularités morphologique de *Chlamydophila abortus*..... 18

1.3. Génétique de *Chlamydia spp* ……..... 19

1.4. Caractères antigéniques de *Chlamydia spp* 22

1.4.1. Les antigènes non protéiques…… 22

1.4.1.1. Le lipopolysaccharide (LPS) 22

1.4.1.2. Les glycolipides…….. 22

1.4.1.3. Le peptidoglycane 22

1.4.2. Les antigènes protéiques ……... 23

1.4.2.1. La protéine majeure de la membrane externe (MOMP) …… 23

1.4.2.2. Les protéines riches en cystéines (Omp3 et Omp2)……... 24

1.4.2.3.Les protéines polymorphiques de la membrane externe POMP……. 24

1.4.2.4. Les protéines de choc thermique ……... 25

1.4.2.5. Les protéines de la membrane d'inclusion ……. 25

1.4.2.6. Le système de sécrétion de type III (T3SS) …… 26

1.5. Cycle de vie de *Chlamydia spp* 24

1.5.1. Particularités du cycle ……... **26**
1.5.2. Étapes du cycle……... **26**
1.5.2.1. Adhérence, fixation et endocytose des EB ……. **26**
1.5.2.2. Formation de la vacuole parasitophore, migration et différenciation des EB en ER... **29**
1.5.2.3. Maturation de la vacuole parasitophore et conversion des ER en EB..... **30**
1.5.2.4. Relargage des EB néoformés…….. **30**
2. *Coxiella burnetii*…… **31**
2.1.Taxonomie……..... **31**
2.2.Morphologie…… **32**
2.2.1. Morphologie générale…… **32**
2.2.2. Les différentes formes de Coxiella …… **32**
2.2.3. Ultra structure de *Coxiella burnetii* **33**
2.2.4. Architecture de la paroi de *Coxiella burnetii*…… **34**
2.3.Génétique de *Coxiella burnetii* …… **38**
2.4.Caractéristiques antigéniques de *Coxiella burnetii*…… **40**
2.4.1. Le lipopolysaccharide (LPS) …… **40**
2.4.2. Les antigènes protéiques ……... **40**
2.5.Cycle de réplication de *Coxiella burnetii*…… **40**
2.5.1. Particularités du cycle ……... **40**
2.5.2. Étapes du cycle de développement de *Coxiella burnetii* **43**
2.5.3. Adhésion et phagocytose …….. **44**
2.5.4. Formation et maturation du phagolysosome …….. **44**
2.5.5. Prolifération de *Coxiella burnetii*…… **46**
2.5.6. Exocytose et lyse cellulaire ……... **46**
III. Epidémiologie……..... 47
1. La fièvre Q…… **47**
1.1.Épidémiologie descriptive ……. **47**
1.1.1. Répartition géographique…… **47**
1.1.2. Animaux atteints …… **47**
1.1.3. Prévalence…… **48**
1.1.4. Distribution dans le temps …… **49**
1.1.5. Distribution en fonction de l'âge et du sexe…… **49**
1.2. Épidémiologie analytique…….. **49**
1.2.1. Sources de contagion…….. **50**
1.2.1.1. Réservoirs……. **50**

1.2.1.2. Matières virulentes…….. **51**
1.2.2. Résistance du germe ……..... **51**
1.2.2.1. Aux agents physiques……... **51**
1.2.2.2. Aux agents chimiques…….. **51**
1.2.2.3. Dans les matières virulentes……. **52**
1.2.2.4. Aux antibiotiques……. **52**
1.2.3. Réceptivité et sensibilité du terrain……..... **53**
1.2.3.1. Facteur intrinsèques -l'état d'immunodépression-…….. **53**
1.2.3.2. Facteurs extrinsèques …….. **54**
1.2.4. Transmission…… **54**
1.2.4.1. Mode de transmission…….. **55**
1.2.4.2. Voies de contamination……. **55**
2. La Chlamydophilose abortive…….. **55**
2.1. Epidémiologie descriptive …… **56**
2.1.1. Répartition géographique…… **56**
2.1.2. Animaux atteints …… **57**
2.1.3. Prévalence…… **57**
2.1.4. Distribution dans le temps…….. **58**
2.1.5. Distribution en fonction de l'âge et du sexe. **59**
2.2. Épidémiologie analytique…… **59**
2.2.1. Sources de contagion…….. **60**
2.2.1.1. Réservoirs…… **60**
2.2.1.2. Matières virulentes…….. **61**
2.2.2. Résistance du germe …….. **61**
2.2.3. Réceptivité et sensibilité du terrain…… **62**
2.2.3.1.Facteur intrinsèques …… **62**
2.2.3.2.Facteurs extrinsèques …….. **62**
2.2.4. Transmission…….. **63**
2.2.4.1.Mode de transmission…….. **63**
2.2.4.2.Voies de contamination…… **63**
IV. Pathogénie……..... 64
1. *Coxiella burnetii*……..... **64**
2. *Chlamydophila abortus*..... **65**
V. Symptômes et lésions ……. 66
2. Fièvre Q..... **66**

2.1. Symptômes …… **66**
2.2. Lésions…….. **67**
3. Chlamydophilose abortive ……..... **68**
3.1. Symptômes……. **68**
3.2. Lésions …….. **69**
VI. Diagnostic……. 71
1. Fièvre Q……. **71**
1.1.Diagnostic clinique et lésionnel……..... **71**
1.2.Diagnostic de laboratoire …… **72**
1.2.1. Diagnostic direct…….. **72**
1.2.1.1. Isolement de l'agent pathogène……... **72**
1.2.1.1.1. Culture…….. **72**
1.2.1.1.2. Inoculation aux animaux de laboratoire……..... **72**
1.2.1.2. Mise en évidence directe …… **72**
1.2.1.2.1. Coloration…….. **73**
1.2.1.2.2. Immunodétection……. **73**
1.2.1.3. Polymérase Chain Réaction (PCR)……. **73**
1.2.2. Diagnostic indirect……... **74**
1.2.2.1. Test de fixation du complément……..... **74**
1.2.2.2. Tests immunoenzymatiques……..... **74**
2. La chlamydophilose abortive……..... **74**
2.1.Diagnostic clinique et lésionnel…….. **75**
2.2.Diagnostic de laboratoire……..... **75**
2.2.1. Diagnostic direct…….. **75**
2.2.1.1. Isolement de *Chlamydophila abortus*……. **76**
2.2.1.2. Mise en évidence directe…….. **76**
2.2.1.2.1. Coloration…….. **76**
2.2.1.2.2. Immunodétection…….. **77**
2.2.1.3. Polymérase Chain Réaction (PCR)……. **77**
2.2.2. Diagnostic indirect…….. **78**
2.2.2.1. Test de fixation du complément……..... **78**
2.2.2.2. Test immunoenzymatiques……... **78**
VII. Traitement et prophylaxie …… 79
1. Fièvre Q……..... **79**
1.1.Traitement…… **79**

1.2.Prophylaxie……. **79**
1.2.1. Sanitaire……... **80**
1.2.1.1. En milieu sain……..... **80**
1.2.1.2. En milieu infecté…….. **80**
1.2.2. Médicale…….. **80**
1.2.2.1.Antibioprévention……. **81**
1.2.2.2.Vaccination…… **81**
2. Chlamydophilose abortive……..... **81**
2.1.Traitement…… **81**
2.2.Prophylaxie…….. **82**
2.2.1. Sanitaire…….. **82**
2.2.2. Médicale…….. **82**
2.2.2.1.Antibioprévention……. **83**
2.2.2.2.Vaccination…… **83**
Partie expérimentale…….. 84
Objectifs…….. 85
I. Matériel et méthodes…….. 86
1. Zone d'étude ……. **86**
2. Population cible …… **87**
2.1. L'élevage bovin dans la wilaya de Jijel……..... **87**
2.1.1. Effectif bovin …….. **87**
2.1.2. Races exploitées …… **88**
2.1.3. Répartition des bovins sur le territoire de la wilaya ……... **88**
2.2. Description du cheptel prélevé…….. **89**
3. Stratégie d'échantillonnage et enquête épidémiologique……..... **89**
3.1. Échantillonnage……..... **90**
3.2. Enquête épidémiologique descriptive …… **90**
4. Nature et préparation des prélèvements……..... **93**
4.1. Nature des prélèvements……..... **94**
4.2. Préparation des prélèvements……. **94**
5. Analyses sérologiques……..... **95**
5.1. Détection des anticorps spécifiques de *Coxiella burnetii* ……. **95**
5.2. Détection des anticorps spécifiques de *Chlamydophila abortus* ……..... **97**
6. Codage et saisie des données …… **99**
7. Analyses statistiques……. **99**

II. Résultats…… 100
1. Enquête épidémiologique descriptive……..... **100**
1.1.Données concernant l'élevage …… **101**
1.1.1. Effectifs des troupeaux …….. **102**
1.1.2. Type d'élevage…… **102**
1.1.3. Mode d'élevage…….. **103**
1.1.4. Principales pathologies dans les élevages ……..... **104**
1.2.Enquête sur les avortements ……..... **104**
1.2.1. Prévalence des avortements…… **105**
1.2.2. Manifestations cliniques précédant l'avortement …….. **105**
1.2.3. Délivrance et état du fœtus après l'avortement…….. **105**
2. Étude de la séroprévalence de l'infection par *Chlamydophila abortus*, par *Coxiella burnetii* et de la co-infection par les deux pathogènes en utilisant la technique ELISA…… **106**
2.1. Séroprévalence de l'infection par *Chlamydophila abortus*……..... **106**
2.1.1. Au niveau individuel…….. **106**
2.1.2. Au niveau troupeau…….. **107**
2.1.3. Étude des facteurs de risque……... **107**
2.1.3.1.Le facteur âge …….. **108**
2.1.3.2.Le facteur race …….. **108**
2.1.3.3.Le facteur état d'embonpoint……..... **109**
2.1.3.4.Le facteur nombre de gestations……... **109**
2.1.3.5.Le facteur entretien et hygiène de l'exploitation …….. **109**
2.1.3.6.Le facteur saison …….. **110**
2.1.3.7.Le facteur altitude…….. **111**
2.2. Séroprévalence de l'infection par *Coxiella burnetii* …….. **112**
2.2.1. Au niveau individuel…….. **113**
2.2.2. Au niveau troupeau…….. **115**
2.2.3. Étude des facteurs de risque……... **115**
2.2.3.1.Le facteur âge …….. **116**
2.2.3.2.Le facteur race …….. **116**
2.2.3.3.Le facteur état d'embonpoint…… **117**
2.2.3.4.Le facteur nombre de gestations……... **117**
2.2.3.5.Le facteur entretien et hygiène de l'exploitation …….. **117**
2.2.3.6.Le facteur saison …….. **118**

2.2.3.7. Le facteur altitude……. **118**

2.3. Séroprévalence de la co-infection par *Chlamydophila abortus-Coxiella burnetii* …… **119**

3. Étude épidémiologique de type cas-témoin…….. **120**

3.1. Étude de l'association entre *Chlamydophila abortus* et les avortements…… **120**

3.2. Étude de l'association entre *Chlamydophila abortus* et divers troubles de reproduction.. **120**

3.3. Étude de l'association entre *Coxiella burnetii* et les avortements …… **121**

3.4. Étude de l'association entre *Coxiella burnetii* et divers troubles de reproduction ……. **121**

Discussion…… 123

Conclusion et recommandations……..... 126

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1:	**Taxonomie des chlamydias……**	**11**
Tableau 2:	**Comparaison entre le corps élémentaire et le corps réticulé des chlamydias……..**	**13**
Tableau 3:	**caractéristiques des trois formes morphologiques de *Coxiella burnetii*……**	**36**
Tableau 4:	**différentes catégories de bovins avec leurs effectifs……**	**95**
Tableau 5:	**développement des effectifs bovins durant les trois dernières années……..**	**96**
Tableau 6:	**répartition des prélèvements par commune……**	**98**
Tableau 7:	**séroprévalence de *Chlamydophila abortus* au niveau individuel.**	**114**
Tableau 8:	**séroprévalence de *Chlamydophila abortus* au niveau troupeau…**	**115**
Tableau 9:	**Séroprévalence de *Chlamydophila abortus* en fonction de la classe d'âge des animaux……**	**115**
Tableau 10:	**Séroprévalence de *Chlamydophila abortus* en fonction de la race des animaux…….**	**116**
Tableau 11:	**séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de l'état d'embonpoint……**	**116**
Tableau 12:	**: séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de nombre du nombre de gestation……**	**117**
Tableau 13:	**séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de l'état d'entretien et d'hygiène des exploitations……..**	**117**
Tableau 14:	**séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de la saison……..**	**118**

Tableau 15:	**séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de la latitude de l'exploitation……...**	**119**
Tableau 16:	**séroprévalence de *Coxiella burnetii* au niveau individuel……...**	**119**
Tableau 17:	**séroprévalence de *Coxiella burnetii* au niveau troupeau……**	**120**
Tableau 18:	**Séroprévalence de *Coxiella burnetii* en fonction de la classe d'âge des animaux……..**	**121**
Tableau 19:	**Séroprévalence de *Coxiella burnetii* en fonction de la race des animaux……..**	**121**
Tableau 20:	**séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de l'état d'embonpoint……**	**122**
Tableau 21 :	**Synthèse des résultats sérologiques *Coxiella burnetii* obtenus en fonction du nombre de gestations…….**	**122**
Tableau 22 :	**séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de l'état d'entretien et d'hygiène des exploitations……..**	**123**
Tableau 23 :	**séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de la saison……**	**123**
Tableau 24 :	**séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de la latitude de l'exploitation……**	**124**
Tableau 25 :	**répartition des séroprévalence obtenus par commune……**	**126**
Tableau 26 :	**résumé des informations concernant l'animal présentant une double infection *Chlamydophila abortus-Coxiella burnetii*……..**	**127**
Tableau 27 :	**Cas-témoin en fonction des résultats sérologiques à *Chlamydophila abortus*……**	**128**
Tableau 28 :	**relation entre sérologie vis-à-vis *Chlamydophila abortus* et troubles de reproduction……**	**129**
Tableau 29 :	**Cas-témoin en fonction des résultats sérologiques à *Coxiella burnetii*…….**	

130

Tableau 30 : relation entre sérologie vis-à-vis *Coxiella burnetii* et troubles de reproduction …… 130

Liste des figures

Figure 1:	**ancienne (1b) et nouvelle classification (1a) des chlamydias ……...**	**09**
Figure 2:	**l'arbre génétique des Chlamydias……**	**10**
Figure 3:	**image au microscope électronique d'une section mince d'un corps élémentaire……..**	**36**
Figure 4:	**Images a, b et c présentant la structure trilaminaire de la membrane de Chlamydia……**	**15**
Figure 5:	**Disposition des projections et des rosettes à la surface de la membrane de *Chlamydia spp*……**	**15**
Figure 6:	**Architecture de la paroi de Chlamydia selon le modèle de Baehret al., 1988……**	**17**
Figure 7:	**Répartition des gènes à rôle fonctionnel……**	**18**
Figure 8:	**Représentation circulaire du chromosome de Chlamydophila abortus……**	**19**
Figure 9:	**Cycle de vie de *Chlamydia spp*……**	**30**
Figure 10:	**arbre phylogénétique montrant la relation entre Coxiella burnetii ……..**	**31**
Figure 11:	**morphologie de C. burnetii……**	**34**
Figure 12:	**espace périplasmique entre la membrane interne et externe…...**	**34**
Figure 13:	**répartition des gènes de Coxiella burnetii selon leurs rôles fonctionnels……**	**36**
Figure 14:	**Représentation circulaire du génome C. burnetii……..**	**37**
Figure 15:	**: chronologie du cycle intracellulaire de *Coxiella burnetii* cultivée sur cellules Véro……**	**42**

Figure 16: cycle de développement de *Coxiella burnetii*…… 46

Figure 17: *Coxiella burnetii* cultivée expérimentalement sur œufs embryonnés après coloration de Stamp…….. 73

Figure 18: mise en évidence de *Coxiella burnetii* dans les cellules du trophoblaste par immunofluorescence directe…… 74

Figure 19: Corps élémentaires de *Chlamydophila abortus* mis en évidence par la coloration de Ziehl-Nelson……. 77

Figure 20: mise en évidence de *Chlamydophila abortus* immunofluorescence directe……. 77

Figure 21 : carte administrative de la wilaya de Jijel…… 86

Figure 22 : matériel utilisé pour les prélèvements sanguins……. 93

Figure 23 : centrifugeuse utilisée pour la centrifugation des tubes…… 94

Figure 24 : effectifs des troupeaux…….. 100

Figure 25: type d'élevages…….. 101

Figure 26 : Mode d'élevages…… 101

Figure 27 : principales pathologies déclarées dans les élevages……... 102

Figure 28 : Répartition des avortements selon le stade de gestation…… 103

Figure 29 : Répartition des avortements selon la prévalence dans les fermes. 103

Figure 30 : manifestations cliniques précédant l'avortement…… 104

Figure 31 : délivrance du placenta après l'avortement……. 105

Figure 32 : État des avortons après expulsion…… 105

Figure 33 : séroprévalence de *Chlamydophila abortus*…….. 106

Figure 34 : séroprévalence de *Coxiella burnetii*……. 111

Figure 35 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus*, de *Coxiella*

***burnetii* et de la co-infection par les deux pathogènes……. 116**

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADP: Adénosine di-phosphate

ARN: Acide ribonucléique

ARNt: Acide ribonucléique transporteur

ATP: Adénosine triphosphate

B.L.A : bovin laitier amélioré

B.L.L : bovin laitier local

B.L.M: bovin laitier moderne

CE : corps élémentaire

CR : corps réticulé

CRP: Protéine C réactive

DSA: direction des services agricoles

EB: elementary body

ECP: effet cytopathogène

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

µl : micro litre

kDa : kilo dalton

FC : fixation du complément

G : guanine

C : cytosine

GTP: Guanosine triphosphate

HSP: heat shock proteins

IC: ntervalle de confiance

Kb: kilo base

LPS: lipopolysacharide

MOMP: Major Outer Membrane Protein

OIE: Office internationale des épizooties

PCR: polymerase chain reaction

PG: peptidoglycane

RB: reticular body

SCV: small-cell variants

LCV: large-cell variants

Spp : species pluralis

T3SS: Type III secretion system

T4SS: Type IV secretion system

TMB: Tétraméthylbenzidine

USA: United States

Introduction

La fièvre Q et la chlamydophilose abortive bovine sont deux zoonoses omniprésentes partout dans le monde provoquées par deux germes de genres différents mais assez proches sur le plan biologique. Nombreux travaux ont démontré que ces deux pathologies ne sont pas des maladies rares et graves chez les bovins (Kaltenboeck et al., 2005 ; Rodolakis, 2006). L'infection de faible niveau chez le bétail sans maladie apparente (épidémie silencieuse) ou avec seulement une expression subtile de la maladie est difficile à reconnaître chez les animaux individuels.

Coxiella burnetii et *Chlamydophila abortus*, deux bactéries gram négatives, agents responsables de la fièvre Q et de la Chlamydophilose abortive bovine respectivement, sont deux entités pathologiques reconnues pour leurs actions abortives chez les ruminants et chez l'être humain présentant ainsi un danger sanitaire et économique considérable pour l'élevage bovin et une menace à prendre au sérieux pour l'être humain (Maurin et Raoult, 1999 ; Rodolakis et Mohamad, 2008).

L'incidence de la fièvre Q et de la chlamydophilose abortive bovine varie d'une région à une autre dans le monde. Connaitre l'incidence et l'épidémiologie de ces deux maladies souvent sous estimées est de première importance pour pouvoir mettre en œuvre les mesures de lutte visant à limiter la propagation et à améliorer la gestion des populations déjà atteintes.

En Algérie, on dispose de très peu d'informations sur l'épidémiologie de la fièvre Q et de la chlamydophilose abortive chez l'espèce bovine, malgré la fréquence élevée des avortements non brucelliques dans les élevages bovins.

C'est pour rappeler les réelles incidences de ces deux pathologies sur l'élevage bovin que nous avons décidé de leur consacrer notre travail. Notre but est de fournir des informations préliminaires sur la séroprévalence de *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* par la technique ELISA dans différentes exploitations bovines de la région de Jijel afin de situer le rôle du bovin comme réservoir potentiel zoonotique et d'estimer le poids réel de ces infections dans la région. Ensuite d'évaluer le taux de co-infection mis en évidence. Un autre objectif important dans cette étude était de réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un lien causal entre la présence des bovins séropositifs à *Coxiella burnetii* et/ou *Chlamydophila abortus* et les exploitations pour lesquelles les

performances de reproduction ne sont pas satisfaisantes pour raison d'infécondité ou d'avortements.

Enfin, ce travail avait aussi pour objectif de déterminer les indicateurs ou facteurs de risque susceptibles de favoriser la transmission de ces deux maladies.

Synthèse bibliographique

II. Historique

2. *Chlamydia spp*

Les maladies humaines causées par *Chlamydia spp* sont connues depuis l'Antiquité. Chez l'homme, elles correspondent à un épaississement de la conjonctive et 60 après Jésus-Christ, elles ont été désignées sous le nom du trachome (Thygeson, 1962). Décrit par les égyptiens dans le papyrus d'Ebers il y'a 3500 ans, le trachome est l'une des maladies les plus anciennement identifiée (Schémann, 2008).

A la fin du 18^{éme} siècle, la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) a été décrite, elle atteint l'appareil génital puis les ganglions lymphatiques inguinaux (Mohamad, 2009).

Au début du 19ème siècle, une relation a été suspectée entre des infections des psittacidés et des cas de pneumonie chez les humains ayant été en contact avec les oiseaux malades. A la fin du 19^{éme} siècle, la transmission d'un agent infectieux d'un perroquet à un homme, causant des symptômes similaires à ceux de la grippe a été rapportée (Morange, 1895). En 1895, Morange a proposé le nom de psittacose pour cette infection, mais l'agent responsable de la maladie n'a été mis en évidence que 35 ans plus tard lors d'une épidémie de plusieurs centaines de cas entre 1929-1930 aux États-Unis et en Europe (Rodolakis et al, 2009).

La première description des chlamydies est attribuée à Halberstaedter et Von Prowazek (1907) (Longbottom et al., 2003). Ils les nommèrent « chlamydozoa », du grec « chlamys » signifiant manteau du fait de leur position intra cytoplasmique, au sein d'une vacuole (Sraka, 2004).

En 1932, le cycle de développement intracellulaire de l'agent de la psittacose a été décrit (Rodolakis et al, 2009). Deux ans plus tard, Thygeson (Thygerson, 1934) a signalé une ressemblance entre le cycle de développement de l'agent de la psittacose et les organismes observés dans les vacuoles lors du trachome et les inclusions des agents de conjonctivite, qui ont été trouvés en 1907 par Halberstaedter et Von Prowazek (Rodolakis et al., 2009). Ces microorganismes ont été détectés dans le cerveau des bovins atteints d'encéphalomyélite sporadiques (McNutt et al., 1940), et chez les chats souffrant de pneumonie (Baker, 1944).

En 1950, *Chlamydia spp* a été identifiée pour la première fois comme cause d'avortement chez les petits ruminants, par Stamp et son équipe (Stamp et al., 1950). Mais le rôle abortif des chlamydies chez les bovins n'a été décrit qu'en 1954 par GIROUD et son équipe (Giroud et al., 1954).

En 1957, Tang et ses collaborateurs réussissent l'isolement de la bactérie sur l'embryon de poulet (Tang et al., 1957), puis Gordan et Quan décrivirent en 1965 une technique d'isolement, de l'agent du trachome, sur une lignée cellulaire (les cellules McCoy) (Gordonet al., 1965).

Pendant longtemps, les recherches sur *Chlamydia spp* sont restées limitées étant donné la difficulté de leur culture sur œufs embryonnés. Un grand progrès à été réalisé par la mise au point de la culture cellulaire par Gordon et al.(1965), technique permettant l'étude d'un grand nombre de prélèvement dans un temps relativement court (Ballan, 2008).

D'abord considérés comme des protozoaires, les chlamydies ont été considérées comme des virus a partir de 1930, ce n'est qu'en 1966 que l'agent infectieux de la chlamydophilose a été finalement reconnu comme une bactérie (Moulder, 1966).

3. *Coxiella burnetii*

La coxiellose ou la fièvre Q est une maladie méconnue dans l'histoire humaine. Contrairement à la chlamydiose, la première description de la coxiellose remonte au 20eme siècle. Cette maladie a été décrite pour la première fois en 1935 chez les employés d'un abattoir à Brisbane dans l'état du Queensland en Australie (Derrik, 1937).

Le terme de « Query Fever », qui signifie littéralement « fièvre point d'interrogation » a été proposé en 1937 par Edward Holbrook Derrick pour décrire les maladies fébriles non diagnostiquées chez les travailleurs des abattoirs à Queensland (Thomas, 1990).

Pendant la même année en 1937, Burnet et Freeman, isolèrent l'agent causal de la fièvre Q : une Rickettsie baptisée *Rickettsia burnetii* (Derrik, 1937).

Indépendamment des travaux de Burnet, Davis et Cox enquêtaient sur l'écologie des fièvres des montagnes Rocheuses. Les agents isolés des tiques ont été inoculés à des cobayes, et une maladie fébrile a été créée chez ces animaux (Cox, 1938).

L'agent responsable de ces fièvres a été nommé *Rickettsia diaporicaen* en raison de son caractère filtrable. En 1938, Cox a réussi à isoler l'agent responsable des fièvres des montagnes rocheuses sur des œufs embryonnées (Thomas, 1990).

En 1939, les deux rickettsies isolées au Montana et à Brisbane ont été considérées comme un seul genre, Derrik lui donna le nom de *Coxiella burnetii* en l'honneur à Cox et Burnet (Cox, 1939). Ceci montre bien qu'il s'agit d'un agent répandu depuis longtemps déjà dans le monde entier et qu'il présente des caractéristiques zoonotiques de par sa transmission de l'animal à l'homme (Thomas, 1990).

En 1942, Derrik et ses collaborateurs montrèrent l'existence de l'infection chez le bétail et réussissent à provoquer la maladie chez le veau (Derrik, 1953).

Depuis sa découverte, plusieurs foyers de fièvre Q en été signalés. Dans les laboratoires de recherche manipulant *Coxiella burnetii* et parmi les troupes de soldats participant à la seconde guerre mondiale. Ceci à conduit la communauté scientifique à confirmer le caractère ubiquitaire de la bactérie, sa transmission respiratoire et à signaler son haut potentiel contagieux (Hornibrook, 1940 ; Spicknall, 1947; Robbins et al, 1946).

En 1946, Topping et ses collaborateurs, comparent six souches hétérogènes de *Coxiella burnetii* et découvrent six sérovars de la bactérie (Topping et al., 1946). En 1948, le germe est isolé à partir du lait cru par Huebner, ce qui démontre une autre source potentielle d'infection (Huebner, 1948). Pendant la même année, Lennette rapporte que les patients atteints de la fièvre Q répondent au traitement par l'auréomycine (Lennette, 1948).

En 1950, Luoto et Huebner ont isolé *C. burnetii* à partir des placentas de vaches ce qui a conduit la communauté scientifique à considérer le germe comme un agent abortif (Luoto et Huebner,1950).

En 1956, le caractère biphasique du cycle de vie de *Coxiella burnetii* a été rapporté après plusieurs travaux de Stoker et Fiset (Stoker et Fiset, 1956).

III. Étude des agents infectieux

2. *Chlamydia spp*

2.1. **Taxonomie**

2.1.1. **Classification morphologique et phénotypique**

Depuis sa découverte, la taxonomie de *Chlamydia spp* a été plusieurs fois controversée. Initialement classés parmi les protozoaires, les agents du groupe de PLT (Psittacosis, Lymphogranuloma venereum et Trachoma) ont été ensuite classés parmi les virus. En 1945, Jones et ses collaborateurs démontrent la sensibilité aux sulfonamides de l'agent de la LGV, ils ont suggéré que ce groupe soit séparé des virus (Longbottom et al., 2003), mais les deux principales raisons qui ont permis l'exclusion définitive des chlamydies du règne viral sont la présence simultanée d'ADN et d'ARN dans le microorganisme ainsi que le cycle de développement unique totalement différent du mécanisme de réplication virale (Moulder, 1966).

Ces micro-organismes ont également longtemps été considérés comme des Rickettsies mais l'absence de système de transport d'électrons, l'absence de cytochromes et l'impossibilité de synthèse de l'ATP et du GTP ont conduit à rejeter cette idée (Vanrompey, 1995).

Les Chlamydies ont reçu diverses dénominations au cours de leur histoire, tout d'abord nommées les agents du groupe de la PLT (Psittacosis, Lymphogranuloma venereum Trachoma). En 1938, le parasitologue français Brumpt a proposé de dénommer ce genre Miyagawanella, en l'honneur du professeur Miyagawa qui avait décrit la morphologie, la transmission et la capacité de culture de l'agent responsable de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV).

En 1952, Meyer propose le nom du genre Bedsonia pour les agents de ce groupe, en l'honneur de Bedson qui fut le premier à décrire leur cycle de développement (Longbottom et al., 2003).

En 1966, Page suggéra que les organismes du groupe psittacose- lymphogranulomatose vénérienne -trachome, soient placés dans un seul et même genre, dans la mesure où leurs propriétés communes (morphologie, cycle de développement et antigène de groupe) les rapprochent plus que les spécificités d'espèce ne les éloignent (Page, 1968).

Vers la fin des années 60, les traits phénotypiques spécifiques des chlamydias identifiés et associés à la morphologie de l'inclusion devinrent la base du clivage des chlamydias en deux espèces*: Chlamydia psittaci* et *Chlamydia trachomatis* (Page, 1968). Le groupe de *C. psittaci* est composé des souches d'une grande variété de sources animales, tandis que le groupe de *C. trachomatis* regroupe les souches d'origine humaine (Mohamad, 2009).

Différentes études ont été réalisées pour classer les souches de *C. psittaci* selon leurs hôtes, leurs propriétés morphologiques, leurs différences antigéniques et enfin leurs différences génomiques. Les souches isolées des ruminants ont été classées en 3 biotypes : les souches abortives (biotype1), les souches isolées des conjonctivites et des arthrites (biotype 2) et les souches intestinales (biotype 3) (Spears et al., 1979).

Schachter et ses collaborateurs (1974) ont divisé les souches de *C. psittaci* isolées des ruminants en deux sérotypes; le sérotype 1 contient les souches responsables des avortements et des entérites et le sérotype 2 contient les souches qui entraînent les polyarthrites et les conjonctivites (Schachter et al., 1974 ; 1975). Un modèle de virulence sur souris a été développé par Rodolakis pour étudier les propriétés invasives et abortives des différentes souches de *C. psittaci* isolées des ruminants (Rodolakis, 1986).

En 1986, le séquençage du gène de l'ARNr 16S de *Chlamydia psittaci* a été réalisé par Weisburg et son équipe. La comparaison de cette séquence avec d'autres séquences de l'ARNr 16S d'autre bactéries connues a montré que les *Chlamydias* sont des eubactéries (des vrais bactéries) (Weisburget al., 1986).

Une nouvelle espèce a été découverte par Fukushi et Hirai en 1993: *Chlamydia pecorum*. Cette séparation d'espèce est confirmée par des études d'hybridation, Southern blot et de profils de restriction (Fukushi et al., 1993).

En résumé, la classification morphologique et phénotypique de *Chlamydia spp* ou l'ancienne classification ne reconnaît qu'un seul genre Chlamydia, au sein d'une seule famille Chlamydiaceae et d'un seul ordre, Chlamydiales. Avant 1968, seule *C. psittaci*, pathogène des oiseaux et de l'homme, est reconnue historiquement. Cependant des travaux ultérieurs ont permis la distinction de trois autres espèces: *C. trachomatis, C. pneumoniae* et *C. pecorum*.

2.1.2. **Classification moléculaire**

C'est la nouvelle classification considérée en 1999 par Everett, elle est basée sur l'analyse de la séquence des gènes ARNr 16S et ARNr 23S, par la méthode d'hybridation ADN-ADN. La nouvelle classification conserve les souches connues auparavant avec plus que 90 % d'identité del'ARNr 16S dans la famille des Chlamydiaceae et sépare d'autres organismes de

« Chlamydia –like » qui ont une similitude de 80 à 90 % de l'ARNr 16S dans de nouvelles familles (Everett et al., 1999).

Le schéma suivant résume l'ancienne et la nouvelle classification de l'ordre des Chlamydiales. L'arbre sur la gauche (a) représente leur récente révision taxonomique. La liste des hôtes typiques illustre leur hétérogénéité écologique (Everett et al., 1999).

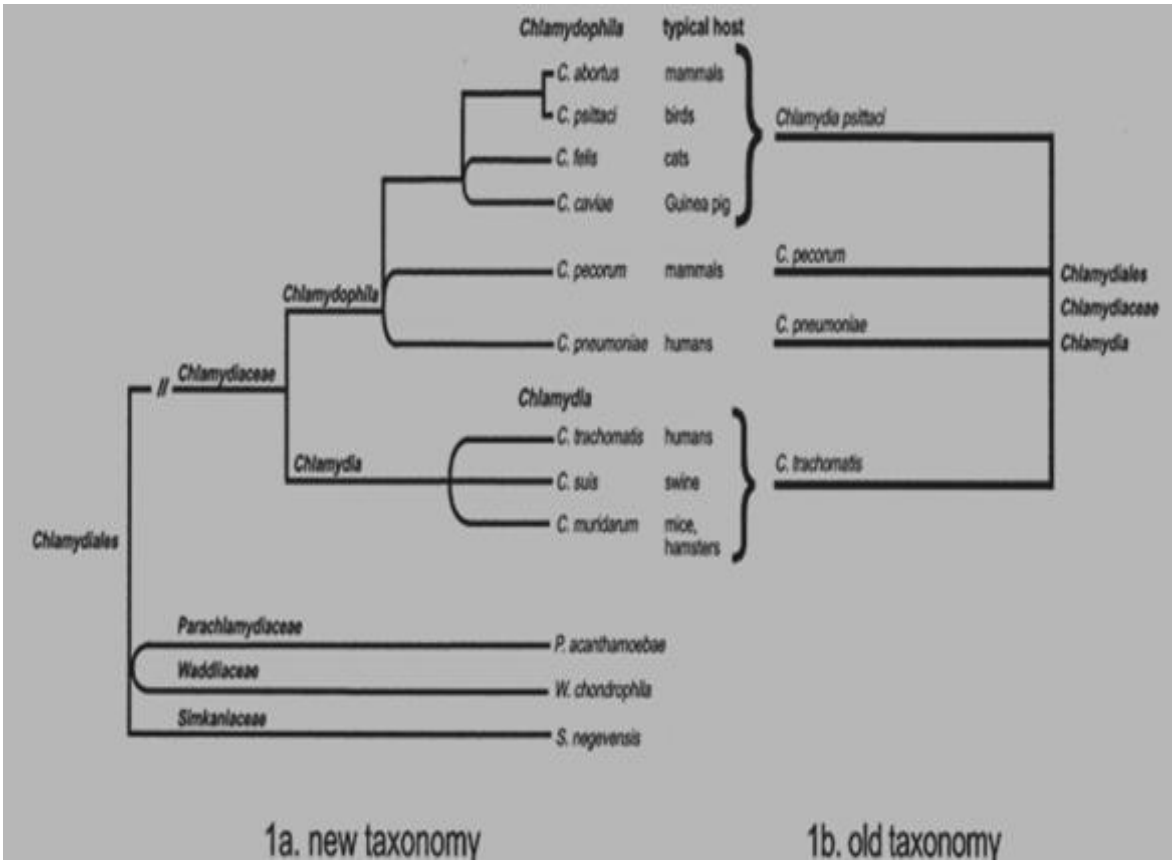

Figure n°1: ancienne (1b) et nouvelle classification (1a) des chlamydias (Everett et al., 2001)

Ainsi, l'ordre Chlamydiales est divisé en 4 familles :

- La familledes Simkaniaceae

- La famille des Waddliaceae

- La familledes Parachlamydiaceae

- La famille des Chlamydiaceae qui ne comprenait jusqu'alors que le genre Chlamydia est maintenant divisée en deux genres : Chlamydia et Chlamydophila. Le genre Chlamydophila est divisé lui-même en 6 espèces: *Chlamydophila abortus, Chlamydophila psittaci, Chlamydophila felis, Chlamydophila caviae, Chlamydophila pecorum* et *Chlamydophila pneumoniae* infectent respectivement les mammifères, les oiseaux, les chats, le cochon d'inde, les mammifères et l'homme. L'arbre génétique des Chlamydias est représentée dans le schéma suivant :

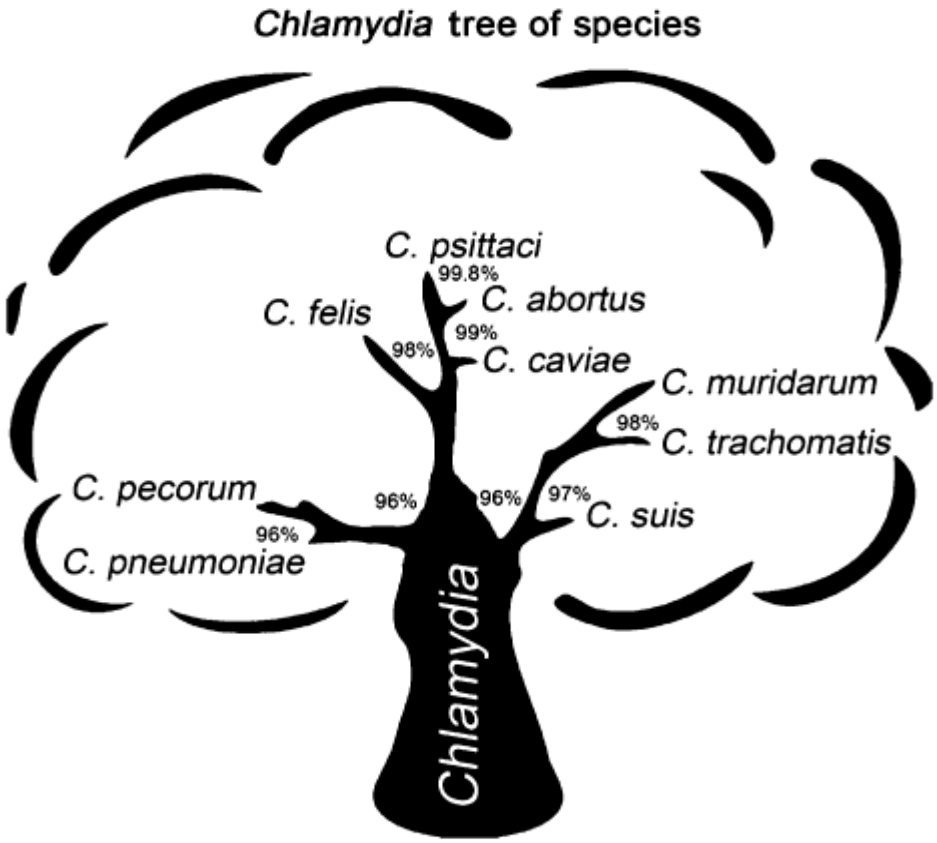

Figure n°2 :l'arbre génétique des Chlamydias (Stephens et al., 2009)

La nouvelle classification d'Everett est confortée par des analyses phylogénétiques (Hermann et al., 2000). La répartition des caractéristiques de virulence telle qu'hôte et tropisme tissulaire ont été clairement cartographiés (Bush et Evertt, 2001).

Les autres familles, Parachlamydiaceae, Simkaniaceae et Waddliaceae dont la classification n'est que partiellement établie sont nommées « lignées de chlamydiae environnementales »

car elles furent découvertes principalement dans l'environnement et les eaux usées (Sraka, 2004).

La taxonomie des Chlamydias est résumée dans le tableau suivant :

Tableau n°1 : taxonomie des chlamydias (Sraka, 2004)

Taxonomie des Chlamydies						
	Ancienne classification		Nouvelle classification			
Ordre	Chlamydiales		Chlamydiales			
Famille	Chlamydiaceae		Chlamydiaceae (et Simkaniaceae, Parachlamydiaceae, Waddliaceae)			
Genre	*Chlamydia*		*Chlamydia*		*Chlamydophila*	
Espèces	*C. trachomatis*	Biovar Trachome	*C. trachomatis*	Biovar Trachome		
		Biovar LGV		Biovar LGV		
		Biovar Murin	*C. muridanum*			
		Biovar Porcin	*C. suis*			
	C. pneumoniae	Biovar Humain			*C. pneumoniae*	Biovar TWAR
		Biovar Koala				Biovar Koala
		Biovar Equin				Biovar Equin
	C. psittaci	Sous-type Aviaire			*C. psittaci*	
		Sous-type Abortif			*C. abortus*	
		Sous-type Félin			*C. felis*	
		Sous-type Cochon d'Inde			*C. caviae*	
	C. pecorum				*C. pecorum*	

Bien qu'elle soit validée par la communauté scientifique, un nombre impressionnant de bactériologistes sont opposés avec véhémence à la reclassification d'Everett (Schachteret al., 2001). L'existence de neuf espèces n'est pas particulièrement controversée mais les critiques principales tiennent en quatre points :

- Le manque d'éléments pour diviser les Chlamydiaceae en deux genres ;

- La trop grande prise en compte des résultats de l'analyse des séquences d'ADN par rapport aux aspects biologiques ;

- L'existence des familles Waddliaceae et Simkaniaceae est basée sur l'isolement à partir d'un isolat extrait d'échantillon unique ;

-Les désaccords sur le nom Chlamydophila qui signifie littéralement «like Chlamydia» (Schachter et al., 2001).

En 2009, un seul genre (le genre Chlamydia) a été proposée à la place de deux genres pour regrouper les neuf espèces de la famille des Chlamydiaceae (Stephens et al., 2009). Mais, la taxonomie utilisée dans les publications scientifiques les plus récentes est toujours celle adoptée par Everett en 1999 (Chen et al., 2014).

2.2. **Morphologie de Chlamydia spp**

2.2.1. **Morphologie générale**

Les chlamydias sont des bactéries colonisant les cellules épithéliales tapissant les cavités naturelles, strictement pathogènes, intracellulaires obligatoires avec un cycle de développement dimorphique qui se déroule entièrement à l'intérieur d'une cellule eucaryote, ces bactéries ne peuvent se reproduire qu'au sein de vésicules cytoplasmiques de la cellule hôte. Bactéries Gram négatif, de taille allant de 0,2 à 1,5 µm. sphériques et non mobiles (Kumar, 2012).

2.2.2. **Les différentes formes de Chlamydiae**

Une particularité propre à la famille de Chlamydiae est la distinction de deux formes au cours du cycle de vie de la bactérie. Une forme extracellulaire infectieuse, le corps élémentaire (CE), et une forme intracellulaire, le corps réticulé (CR). Ces deux formes sont adaptées, de part leur structure, à leur rôle: le corps élémentaire est la forme infectieuse, une forme de résistante inerte avec une membrane externe rigide, le corps réticulé représente la forme intracellulaire métaboliquement active (Kumar, 2012). Les principales caractéristiques des CE et des CR sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°2: comparaison entre le corps élémentaire et le corps réticulé des Chlamydias (Chang et Moulder, 1978; Lepinay et al., 1971; Moulder, 1983)

Caractéristiques	Corps élémentaire (CE)	Corps réticulé (CR)

Taille	0.2-0.3 microns	1 micron
Forme	Dense et noyau rigide	Fragile et polymorphe
Infectiosité	infectieux	Non-infectieux
RNA/DNA ratio	1:1 (noyaux condensés d'ADN)	3:1
Activités métaboliques	inactif	Actif, forme de réplication
Trypsine	Résistant	Sensible
Projection et rosettes	moins	Nombreuses

1.2.6. **Ultra structure des chlamydias**

Une des caractéristiques des chlamydias est la condensation remarquable du matériel génétique ressemblant à un noyau eucaryote et la présence de protéines histones liées à l'ADN bactérien très rares dans le règne bactérien (Remacha et al., 1996). Le rôle des protéines histones désignés Hc1 et Hc2 est primordial dans la condensation de l'ADN préliminaire pour la division binaire. Les protéines histones des Chlamydia, Hc1 et Hc2, fonctionnent en tant que régulateurs de la structure de la chromatine et l'expression des gènes (Grieshaber et al., 2003 ; 2006)

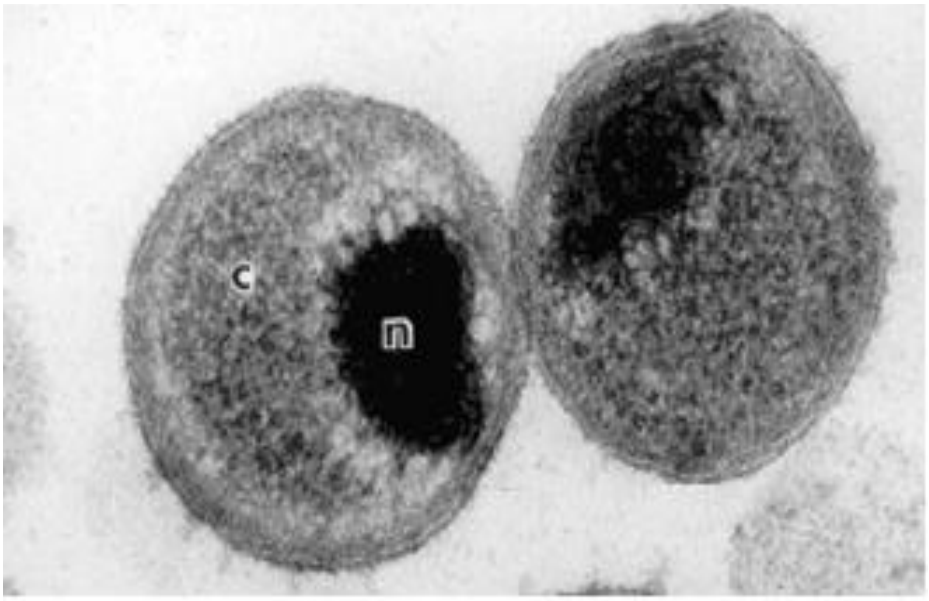

Figure n°3 : Une image au microscope électronique d'une section mince d'un corps élémentaire. La caractéristique la plus évidente est l'ADN(n) excentrique, dense aux électrons (noir) qui est bien compacté sur protéines histones. À noter que le cytoplasme(c) a un aspect granulaire en raison de la présence des ribosomes responsables de la synthèse des protéines (Matsumoto, 1991)

Les Chlamydias possèdent une structure cellulaire à Gram négatif, la cellule bactérienne est entourée par une paroi trilaminaire composée de trois structures, membrane cytoplasmique (membrane interne) et une membrane externe séparées par un espace péri plasmatique (Raulston, 1995). La surface de la membrane est recouverte de projections saillantes (photos a, b et c). Ces projections constituent une des particularités distinguant les Chlamydias des autres bactéries (Hsia et al., 1997 ; Bavoil et Wyrick, 2006).

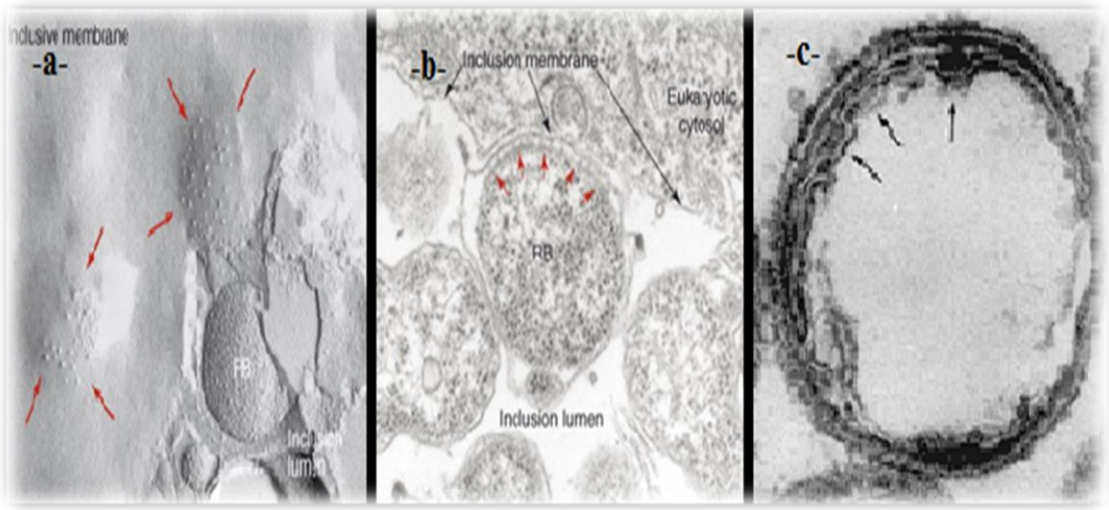

Figure n°4 : Images a, b et c présentant la structure trilaminaire de la membrane de Chlamydia. Les flèches indiquent l'emplacement des projections de la membrane bactérienne. Images a et b (Peters et al., 2007), image c (Matsumoto, 1991)

Chacune des projections saillantes est entourée par des formations sur la membrane externe appelées « rosettes » (Raulston, 1995). Ces formations sont des systèmes de sécrétion de type III qui jouent un rôle très important dans l'interaction de la cellule bactérienne avec la cellule hôte (Bavoil et Wyrick, 2006).

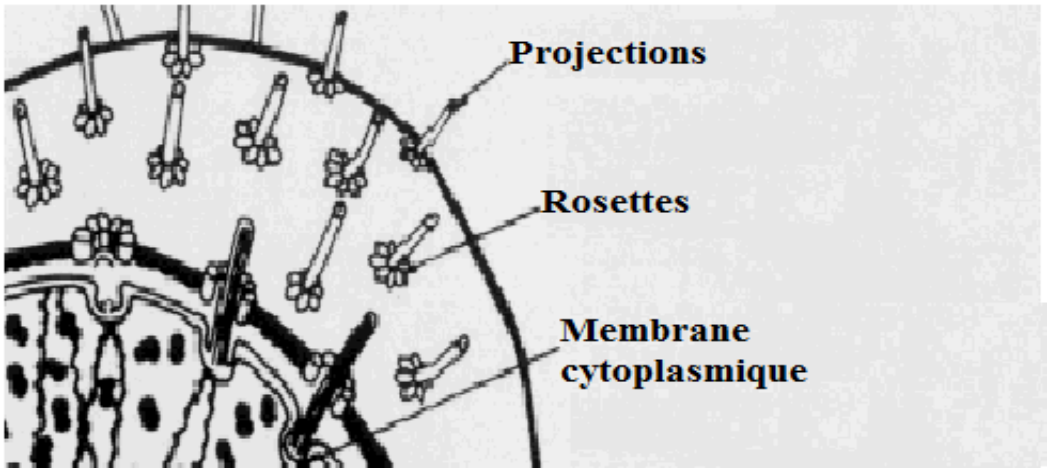

Figure n°5: Disposition des projections et des rosettes à la surface de la membrane de *Chlamydia spp* (Matsumoto, 1991)

1.2.7. **Architecture de la paroi de *Chlamydia spp***

1.2.7.1. Particularités de la paroi

Chlamydia spp partage une structure commune aux autres bactéries gram négatif avec certaines caractéristiques uniques, les plus prononcées comprennent :

- **La présence de peptidoglycane à des quantités subdétectables :** *Chlamydia spp* a été longtemps considérée comme une bactérie dépourvue de peptidoglycane (Caldwell et al., 1981; Fox et al., 1990). La sensibilité des chlamydies à la pénicilline a conduit la communauté scientifique à aller plus loin pour essayer de détecter un peptidoglycane chlamydien. Ces travaux de recherche ont confirmé la présence de peptidoglycane fonctionnel dans la paroi de Chlamydia à des quantités subdétectables (Liechti, 2013 ; Mohammadi et Breukink, 2014).
- **La dominance des protéines riches en cystéine :** Unique parmi les bactéries, la paroi de Chlamydia est renforcée par un réseau de liaisons disulfures (Everett et Hatch, 1991; Sardinia et al., 1988) constitué essentiellement par trois types de protéines : la MOMP (protéine majeur riche en cystéines) et les OmcA et OmcB (Outer Membrane Complex) (Allen et Stephens, 1993 ; Everett et Hatch, 1991). Le rôle de ces protéines riches en cystéine est d'assurer la stabilité des formes de résistance de Chlamydia dans le milieu extérieur (Raulston, 1996).
- **L'absence de la protéine de division FtsZ** (Pilhofer et al., 2013).
- **L'existence du système de sécrétion de type III** (Betts-Hampikianet Fields, 2010).

1.2.7.2. Architecture de la paroi

La paroi de *Chlamydia spp* est composée d'une membrane cellulaire (interne), d'un espace périplasmique et d'une membrane externe. La membrane interne est composée essentiellement de phospholipides incrustés de glycoprotéines. La membrane externe, celle en contact avec le milieu extérieur, joue un rôle primordial dans la biologie et la résistance de la bactérie (Everett et Hatch, 1995). Elle est composée de :

- Lipopolysacharides (LPS) : Comme pour les bactéries Gram négative, le LPS est un des composants majeurs de la membrane de Chlamydiae. Il est composé de deux fractions, de lipide A et d'acide 3-deoxy-D-manno-octulosonic (Kdo) (Kosma, 1999).
- Peptidoglycane : constituant mineur de la paroi bactérienne de *Chlamydia spp.*
- Protéine majeure de la membrane externe (MOMP) : le constituant le plus abondant, une protéine majeure riche en cystéines constituant prés de 60% de la membrane

externe.Grâce à la possibilité de former des ponts disulfures intra et inter moléculaires, cesprotéines subissent des modifications structurales selon le stade du développement de la bactérie entrainant une adaptabilité de la paroi (Wang et al., 2006).

- Protéines riches en cystéines OmcA et OmcB ou bien EnvA et EnvB (enveloppe protein).
- Protéines polymorphiques de la membrane externe POMP.
- Protéines du choc thermique.

La figure suivante résume l'architecture de la membrane de *Chlamydia spp*

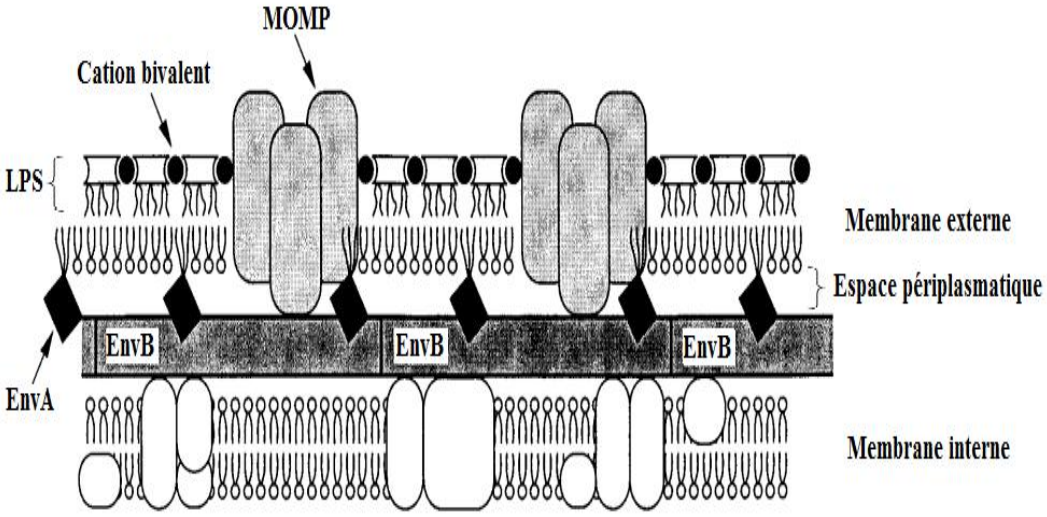

Figure n°6: Architecture de la paroi de Chlamydia selon le modèle de Baehret al., 1988; La MOMP est représentée comme une protéine transmembranaire dans la membrane externe. Sa représentation comme un trimère est fondée sur des preuves que la MOMP cellulaire possède une activité porine. Everett et ses collaborateurs ont proposé que l'EnvA et EnvB soient en contact avec l'espace périplasmique (Everett et Hatch, 1995).

1.2.8. **Particularités morphologique de *Chlamydophila abortus* :**

Mise à part la présence du système de sécrétion de type III, *Chlamydophila abortus* présente deux caractéristiques morphologiques différenciant cette espèce des autres espèces de la famille des Chlamydiaceae. Premièrement, l'accumulation et même le revêtement de corps d'inclusion par des complexes membranaires constitués de plusieurs membranes semble être une particularité propre à *C. abortus*. En deuxième lieu, la formation de petites vésicules dans l'espace périplasmique du corps réticulé dans la seconde moitié du cycle de développement est aussi une particularité propre à *Chlamydophila abortus* (Bavoil et Wyrick, 2006 ; Wilkat et al., 2014).

1.3. Génétique de *Chlamydia spp*

Le séquençage du génome est de première importance dans le développement d'une meilleure compréhension de la biologie de *Chlamydia spp* vue l'impossibilité d'introduire de l'ADN et de cultiver le germe en l'absence de cellules vivantes (Sandoz et al., 2010).

Les manifestations génomiques spécifiques du mode de vie intracellulaire obligatoire des Chlamydiaceae sont reconnues depuis longtemps. Les Chlamydia comme toutes les bactéries intracellulaires tendent à éliminer les gènes codant pour les fonctions disponibles chez la cellule hôte (métabolisme). Le génome de toutes ces bactéries est donc de taille réduite, généralement moins de 2000 kilo paires de bases (kpb). Ces génomes présentent également une diminution de leur contenu en G+C% (pourcentage de guanine+cytosine).

À proximité de l'origine et de la terminaison de la réplication, il existe une zone possédant un fort indice de réorganisation génétique appelé "zone de plasticité" dans laquelle on note la présence de gènes uniques propres à chaque espèce (Toft et Andersson, 2010).

La figure suivante représente la répartition des gènes de *Chlamydia spp* selon leur rôle fonctionnel. Les gènes codant pour la synthèse des protéines membranaires sont majoritaires alors que ceux responsables du métabolisme énergétique sont de loin les moins abondants.

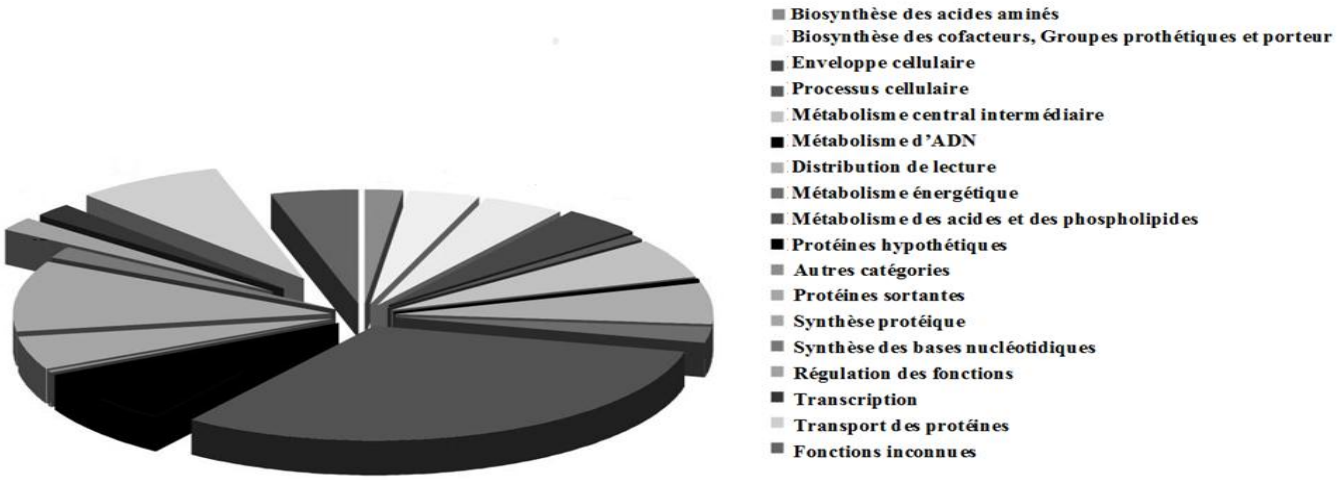

Figure n°7: Répartition des gènes à rôle fonctionnel (Bavoil et Wyrick, 2006)

- **Le génome de *Chlamydophila abortus***

Le génome de *Chlamydophila abortus* est constitué d'un chromosome circulaire de petite taille de 1144 Kpb avec une teneur totale en G + C de 39,87% (Thomson et al., 2005). *Chlamydophila abortus* ne possède qu'une seule copie des gènes ARNr 23S, 16S et 5S

contrairement aux autres espèces de Chlamydia qui en possèdent deux (Everett et al., 1999 ; Thomson et al., 2005). La séquence codante est de 961 Kpb ce qui représente une densité de codage de 88% constituée de 40.5% C+G dont 746 sont destinées à la synthèse de protéines fonctionnelles (Thomson et al., 2005). Il n'y a aucune preuve du transfert horizontal de gènes chez *Chlamydophila abortus*, y compris une absence totale de gènes de phages et de plasmide extra chromosomique qui ont été observés chez d'autres espèces du genre Chlamydophila (Voigt et al., 2012 ; Thomson et al., 2005). La figure suivante illustre la représentation circulaire du chromosome de *Chlamydophila abortus*.

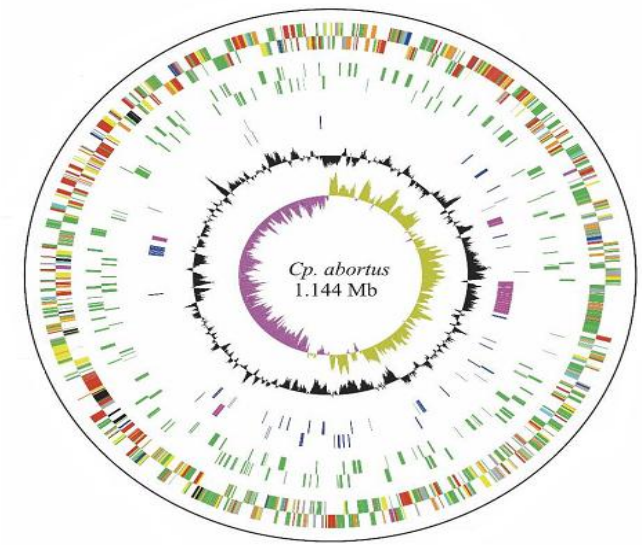

Figure n°8: Représentation circulaire du chromosome de *Chlamydophila abortus*. De l'extérieur, les gènes dans les cercles1 et 2sontcodés par couleur en fonction de leurs produits géniques: (vert foncé) des structures de la membrane ou de surface; (jaune) du métabolisme central ou intermédiaire; (bleu cyan)de la dégradation des macromolécules; (rouge) de la division et transfert de l'information; (violet) de la dégradation de petites molécules; (bleu pâle) de la régulation ; (bleu foncé) de la pathogénicité ou de l'adaptation; (noir) métabolisme énergétique;(orange) conserve hypothétique; (vert pâle) inconnu; (marron) pseudo gènes. La position de la zone de plasticité(PZ) est présentée comme un arc rouge à l'extérieur de la bague graduée (Thomson et al., 2005)

1.4. Caractères antigéniques de *Chlamydia spp*

1.4.1. Les antigènes non protéiques

1.4.1.1. Le lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS constitue un des composants majeurs de la membrane externe de toutes les espèces de Chlamydiae comme pour toutes les bactéries Gram négatif. Le LPS de Chlamydiae

se compose de deux fragments hétérogènes: de lipide A et d'acide 3-deoxy-D-manno-octulosonic qui est l'antigène immunodominant du LPS (Kosma, 1999).

Le lipide A composé de cinq acides gras dont seulement deux possèdent de longues chaînes, induit une hydrophobicité élevée pour le LPS et par conséquence, une toxicité faible dans la cellule hôte (Heine et al., 2007). La liaison du LPS à la MOMP module l'exposition des sites antigéniques de celle ci à la surface des corps élémentaires (Vretou et al., 1992). Le LPS pourrait jouer un rôle dans l'adhésion de *Chlamydia spp* à la cellule hôte (Fadel et Eley, 2008). Il constitue d'après les suggestions, le moyen d'interaction avec la membrane cytoplasmique de la cellule cible (Giles et Wyrick, 2008).

1.4.1.2. Les glycolipides

Les glycolipides de *Chlamydia spp* sont des lipides glycosylés différents du LPS, le GLXA constitue le principal glycolipide identifié chez Chlamydiae. Associé à la membrane externe bactérienne, à la membrane d'inclusion et pourrait être trouvé aussi dans le cytoplasme de la cellule hôte. Les études ont montré le rôle du GLXA dans l'attachement des Chlamydiae aux cellules hôtes (Tan et Bavoil, 2012).

1.4.1.3. Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est un polymère constitué d'une partie glucidique (le N-acetylglucosamine) et d'une partie peptidique (N-acetylmuramic). La polymérisation de ces deux constituants sous forme d'un squelette de disaccharide réticulé par des chaînes pentapeptidiques grâce à des liaisons peptidiques donne naissance au peptidoglycane constituant essentiel de la paroi bactérienne (Tan et Bavoil, 2012 ; Kåhrström, 2014).

Chlamydia spp a été longtemps considérée comme une bactérie dépourvue de peptidoglycane, malgré la possession d'un arsenal génétique complet pour la synthèse de ce composé essentiel et malgré sa sensibilité à la pénicilline. Après plusieurs années de recherche et plusieurs travaux sans issu, Liechti et son équipe ont réussi à détecter un peptidoglycane de Chlamydiae dit particulier ou subdétectables (Liechti etal., 2014).

Contrairement aux autres bactéries gram négatif, le peptidoglycane de *Chlamydia spp* n'est pas couplé à la protéine de division FtsZ. Le peptidoglycane et la FtsZ fonctionnent ensemble dans l'orchestration de la division cellulaire et le maintien de la forme des cellules dans la plupart des autres bactéries (Pilhofer et al., 2013). Le rôle du peptidoglycane est crucial pour

la division cellulaire, le maintien de la forme des cellules et la résistance au stress osmotique (Kährström, 2014).

1.4.2. Les antigènes protéiques

1.4.2.1. La protéine majeure de la membrane externe (MOMP)

D'un poids moléculaire d'environ 40 kDa et constituant prés de 60% de la masse des protéines de la membrane externe de la bactérie, la MOMP est une protéine majeure riche en cystéines qui fait partie de la membrane externe des Chlamydiae (Feher et al., 2013). La MOMP a une structure de porine, elle est présente tout au long du cycle de développement de la bactérie mais sa structure diffère entre les deux formes (Feher et al., 2013). Les ponts disulfures qui sont bien liés par les résidus cystéines dans les corps élémentaires extra cellulaires pour assurer leur rigidité, sont complètement réduits dans les corps réticulés forme intracellulaire (Bavoil et al., 1984 ; Sun et al., 2007).

La MOMP joue un rôle important dans l'infectivité de *Chlamydia spp*, c'est l'une des structures membranaires responsables de l'attachement des CE à la membrane de la cellule hôte (Fan et Stephens, 1997). Le mécanisme d'interaction de la MOMP est encore mal connu, les hypothèses les plus probables sont l'interaction électrostatique avec les constituants membranaires de la cellule cible ou bien l'existence d'un récepteur spécifique de la MOMP sur les membranes cellulaires de l'hôte (Sun et al., 2007).

La MOMP est considérée comme une molécule fortement immunogène induisant une réponse immunitaire forte et protectrice. Pour cette raison, elle reste le candidat vaccinal principal contre les infections par les différentes espèces de Chlamydiae (Feher et al., 2013). Ce constituant majeur de la membrane de *Chlamydia spp* constitue aussi un moyen de sérodiagnostic des maladies causées par Chlamydiae (Hoelzle et al., 2003).

1.4.2.2. Les protéines riches en cystéines (Omp3 et Omp2)

Les deux protéines de la membrane externe ont beaucoup de dénominations : Omp3 et Omp2, CRP (Cystein Rich Protein), EnvA et EnvB (Enveloppe protein) ou encor OmcA et OmcB (Outer membrane complex) (Allen et Stephens, 1993; Everett et Hatch, 1991).

L'Omp3, qui est la plus petite, est une lipoprotéine de 15 kDa. L'Omp2, qui est la plus grande et la plus fréquente est une lipoprotéine riche en cystéine de 60KDa (Everett et Hatch, 1991).

Le rôle de ces deux lipoprotéines riches en cystéine semble être le maintien de la forme du CE et de la pression osmotique grâce aux ponts disulfures très abondants dans ces deux structures. (Everett et Hatch, 1995). Le rôle de la Omp2 dans l'adhésion de *Chlamydia spp* à la cellule hôte a été prouvé (Fadel et Eley, 2007).

Omp2 est un antigène cible de la réponse immunitaire des lymphocytes T dans l'infection par Chlamydiae (Goodall, 2001). L'analyse sérologique de l'Omp2 a montré qu'il s'agit d'une protéine immunogène majeure commune aux différentes espèces de Chlamydiae (Bas et al., 2001; Portig et al., 2003). L'utilisation de l'Omp2 pour le sérodiagnostic a été exclue en raison de son manque de spécificité par rapport aux tests de références *(*Javaherian et al., 2014).

1.4.2.3. Les protéines polymorphiques de la membrane externe POMP (Polymorphic Membrane Proteins Pmp)

Les POMP sont des protéines polymorphes présentes dans la membrane externe de Chlamydia spp. Ces protéines sont composées de séquences conservés GGAI et FXXN, qui se répètent dans la moitié N-terminale des protéines et de séquences variables (Stephens et al, 1998; Kalman et al, 1999). Elles ont une structure de porines et présentent une homologie importante avec les protéines auto-transporteurs ou le système de sécrétion de type V Elles semblent jouer un rôle important dans l'adhérence de la bactérie à la cellule hôte (Henderson et Lam, 2001).

Au moins six protéines de la famille POMP (90-98 kDa) ont été identifiées dans la membrane externe de *Chlamydophila abortus* encodées par 18 gènes répartis en 4 clusters (Longbottom et al., 1998 ; Vretou et al., 2001 ; Thomson et al., 2005).

1.4.2.4. Les protéines de choc thermique

Les protéines de choc thermique ou HSP (Heat Shock Proteins) sont des protéines chaperonnes découvertes initialement en raison de leur inductibilité par la chaleur. Connues pour être hautement immunogènes, les HSP sont couramment impliquées dans le pliage et le dépliage ou la translocation des protéines, ainsi que le montage et le démontage des complexes protéiques (Srivastava et al., 1998; Kaufmann et Zugel, 1999). Chez *Chlamydia spp*, trois protéines de choc thermique ont été identifiées :

- **La Hsp 60 (GroEL)**

La plus étudiée, cette protéine a été identifiée tout d'abord comme un des marqueurs de l'infection chez Chlamydiae (Bavoil et al., 1990). La GroEL est synthétisée dans le stade précoce du cycle de développement de Chlamydiae, c'est l'une des principales cibles de la réponse humorale chez les animaux infectés (Bavoil et al., 1990 ; Hechard et al., 2004). L'immunisation des cobayes avec la protéine Hsp 60 a réduit les signes cliniques induits par certaines Chlamydias mais l'immunisation des souris avec un plasmide contenant le gène Hsp 60 n'a pas protégé les souris contre l'avortement provoqué par *Chlamydophila abortus* (Rank et al., 1995 ; Hechard et al., 2004).

- **La Hsp 10 (GroES)**

Il n'y a pas beaucoup d'informations concernant la Hsp10 chez les Chlamydiae.

- **La Hsp 70 (DnaK)**

Elle est immunogène associée au complexe protéique de la membrane externe des CE (Larsen et al., 1994 ; Raulston et al., 2002). Les anticorps dirigés contre Hsp 70 de Chlamydiae peuvent neutraliser l'infectivité des CE *in vitro* (Danilition et al., 1990). Cependant, l'immunisation des souris avec le vaccin ADN contenant le gène de DnaK n'a pas protégé les souris contre l'infection par *Chlamydophila abortus* (Hechard et al., 2003).

1.4.2.5. Les protéines de la membrane d'inclusion

La membrane d'inclusion joue sûrement un rôle important dans les interactions entre les Chlamydiae et la cellule hôte (Bavoil et al., 2000). La modification de la membrane d'inclusion exige la synthèse par *Chlamydiae spp* de protéines membranaires destinées à s'incruster dans la membrane vacuolaire abritant les particules infectieuses en croissance.

Les protéines Inc sont les plus abondantes, elles sont impliquées dans les interactions entre l'inclusion et les composants cytoplasmiques (Scidmore et al., 1996 ; Beeckman et al., 2008). La plupart des protéines Inc réagissent seulement avec des sérums d'animaux infectés par les Chlamydiae. Récemment, Vretou et son équipe ont pu détecter une protéine d'inclusion chez *Chlamydophila abortus* (Vretou et al., 2008).

1.4.2.6.Le système de sécrétion de type III (T3SS)

Les projections à la surface des CR ont été décrites depuis les années 80 par Matsumoto (Matsumoto, 1981). Ces projections pourraient être des canaux du système de sécrétion de type III (T3SS) de *Chlamydia spp* (Bavoil et Hsia, 1998).

Le mécanisme T3SS de Chlamydiae, y compris toutes les familles de l'ordre Chlamydiales, se compose approximativement de 25 protéines codées par au moins trois clusters de gènes différents. La population de protéines de T3SS dans la cellule hôte change au cours de l'infection, suggérant que ces protéines jouent différents rôles selon les étapes du cycle de développement des Chlamydiae (Kleba et Stephens, 2008). Ces protéines sont exposées dans le cytosol et partagent la caractéristique structurale commune d'un long domaine hydrophobe bilobé mais peu ou pas de similarité de séquence d'acides aminés primaire (Mital et al., 2013). Les études ont démontré que la fonction première de la T3SS de Chlamydia est la translocation des protéines effectrices cellulaires pour la manipulation de processus cellulaires de la cellule hôte (Betts-Hampikian et Fields, 2010). En comparant les séquences des gènes du T3SS de différentes espèces de Chlamydiae, des différences génétiques ont été mises en évidence afin d'expliquer les différences de pathogénie observées entre les différentes espèces de Chlamydiae (Peters et al., 2007).

1.5. Cycle de vie de *Chlamydia spp*

1.5.1. Particularités du cycle

Chlamydia spp est une bactérie intracellulaire obligatoire. Ce germe subi un cycle de développement biphasique distinct, conversion entre deux formes morphologiquement et fonctionnellement distinctes, le corps élémentaire(EB) et le corps réticulé(RB).

Le corps élémentaire (EB), forme de résistance extracellulaire et la seule forme infectieuse de la bactérie. Ils sont métaboliquement inactifs, leur rôle est d'assurer la dissémination et la survie des Chlamydiae en dehors de la cellule hôte. Le corps réticulé (RB) est la forme intracellulaire active, elle est responsable de la réplication de Chlamydiae au sein d'une vacuole intracellulaire.

L'existence d'une troisième forme a été démontrée. C'est une forme de pseudo-sporulation ou un état de quiescence intracellulaire provoqué par un stress survenu à l'intérieur de la cellule hôte comme la présence d'antibiotiques, d'interféron-γ ou encore lors d'une carence

nutritionnelle. Un retour à la forme active est possible si les conditions favorables à l'activité bactérienne se présentent à nouveau dans la cellule infectée (Beaty et al., 1994).

Le cycle de vie de Chlamydia commence par l'adhérence et la liaison du corps élémentaire (EB) à la surface de la cellule hôte. A ce stade, des protéines effectrices sont injectées dans la cellule hôte par le moyen d'un système de sécrétion de type III (SST3) facilitant l'entrée bactérienne à l'intérieur de la cellule. Après son endocytose, le corps élémentaire se trouve à l'intérieur d'une vacuole. De nouvelles protéines effectrices sont secrétées, la vacuole bactérienne se trouve modifiée par l'insertion des protéines membranaires bactériennes d'inclusion. Ces protéines insérées sont destinées à limiter la fusion de la vacuole abritant les particules bactérienne avec les compartiments de dégradation générés par la cellule hôte, tout en favorisant le contact avec d'autres organites cellulaires comme les ribosomes et l'appareil de Golgi. En utilisant la machinerie intracellulaire et les nutriments disponibles à l'intérieur de la cellule hôte, les corps élémentaires commencent leur différenciation en corps réticulés (RB) et leur prolifération à l'intérieur de la vacuole. Au cours de l'infection, la mort de la cellule hôte et les défenses immunitaires sont inhibées. Environ à mi-chemin à travers le cycle infectieux, la réplication bactérienne devient asynchrone et les RBs se re-différencient en EBs. Tard dans le cycle, l'augmentation de la taille de la vésicule provoque la déchirure de la vacuole, la lyse de la cellule et la libération d'un grand nombre d'EB (Cocchiaro et Valdivia, 2009).

Sur une période de48 à 72h, *Chlamydia spp* s'engage dans une série de transformations aboutissant à l'augmentation en nombre et à un changement en formes. Le cycle de vie peut être divisé en 4 étapes principales :

1-adhérence, fixation et endocytose

2-Formation et maturation de la vacuole parasitophore

3-Différenciation des EB en ER et prolifération

4-Relargage des particules infectieuses néoformées.

2.5.2. Étapes du cycle

2.5.2.1.Adhérence, fixation et endocytose des EB

L'interaction initiale de Chlamydiae avec la cellule hôte commence par l'attachement du CE qui est la forme infectante de la bactérie à la surface de la cellule. Plusieurs facteurs

interviennent dans ce phénomène d'adhésion, facteurs spécifiques comme la présence de récepteurs membranaires ou non spécifiques comme les interactions de type électrostatique et hydrophobe (Cocchiaro et Valdivia, 2009). Des adhésines bactériennes et des ligands cellulaires multiples ont été proposés pour élucider le phénomène de l'attachement de la bactérie à la surface de la cellule hôte. L'utilisation du récepteur de la cellule cible dépend à la fois du type de la cellule hôte et de l'espèce de Chlamydia (Stephens et al., 2000 ; Stephens et al., 2001; Dautry-Varsat et al., 2005 ; Moelleken et Hegemann, 2008).

Des facteurs bactériens tels que le glycosaminoglycane (GAG) (Menozzi et al., 2002), la protéine majeure de la membrane externe (MOMP) (Su et al., 1996), la Omp2 (Fadel et Eley, 2007) et la PMPD (Wehrl et al., 2004) ont été proposés en tant que ligands pour assurer l'interaction avec des récepteurs membranaires de la cellule cible. Du côté cellulaire, le sulfate d'héparine, le récepteur du mannose 6-phosphate et le récepteur d'œstrogènes ont été proposés comme récepteur aux différents ligans bactériens (Joseph et Bose, 1991 ; Davis et al., 2002 ; Campbell et Kuo, 2006). La PDI qui est une isomérase des protéines disulfures est une nouvelle structure découverte récemment. Cette structure membranaire de l'hôte est impliquée dans l'attachement de l'EB et la production d'une enzyme facilitant l'entrée bactérienne à l'intérieur de la cellule (Fudyk et al., 2002; Conant et Stephens, 2007; Abromaitis et Stephens, 2009). Le taux d'attachement de Chlamydiae à la cellule hôte est déterminé par la multiplicité d'infection. Ce taux est plus élevé quand des faibles doses infectieuses sont utilisées (Byrne et Moulder, 1978). L'attachement est augmenté par les cations bivalents de calcium et magnésium qui peuvent diminuer la répulsion électrostatique (Hatch et al., 1981).

Le mécanisme exact de l'endocytose demeure incertain en raison de plusieurs études contradictoires (Dautry-Varsat et al., 2005). Plusieurs stratégies sont susceptibles d'assurer l'entrée de la bactérie à l'intérieur de la cellule hôte dépendant de l'espèce de Chlamydia ou du type de cellule hôte envahie.

La fonction commune que partagent toutes les espèces de Chlamydia est le remodelage et l'activation de l'actine Rac-1 dépendante sur les sites de fixation de l'EB (Carabeo et al., 2004). La Tarp qui est l'agent activateur de l'actine est phosphorylée par les facteurs Src et Abl produits par la cellule hôte (Jewett et al., 2008). Par la suite, Rac1 recrute différents facteurs menant à la production et l'organisation d'un réseau d'actine complexe indispensable à l'endocytose de la particule infectieuse (Carabeo et al., 2007). L'implication de la clathrine

a également été révélée dans l'entrée de Chlamydia dans les cellules non phagocytaires (Hybiske et Stephens, 2007).

2.5.2.2. Formation de la vacuole parasitophore et différenciation des EB en ER

Une fois phagocytée, Chlamydia se retrouve à l'intérieur d'une vacuole. La membrane de l'inclusion naissante ressemble initialement à la membrane plasmique de l'hôte, mais ses composants se perdent progressivement pour être remplacés rapidement par les protéines d'origine bactériennes produites et insérées (Scidmore et al., 2003).

Parmi les facteurs synthétisés et insérés dans la membrane de la vacuole, un sous-ensemble de recycleur d'endosomes, GTPases et Rab liés à l'appareil de Golgi (Rab1, 4 et 11), se sont des protéines essentielles d'accueil, leur fonction est de réguler le trafic membranaire et les échanges de substances avec les organites cellulaire (Rzomp et al., 2006 ; Seabra et Wasmeier, 2004). Rab 6 et Rab10 sont associés de manière spécifique à l'espèce (Rzomp et al., 2006). Les INC sont des facteurs exécutants des protéines Rab interagissant avec le cytoplasme pour faciliter les échanges de nutriments et de substances à travers la membrane de la vacuole. la dynéine est un complexe jouant le rôle d'un moteur pour faciliter ainsi le déplacement de l'inclusion le long des microtubules cytoplasmique pour gagner à la fin l'appareil de Golgi et le nucléole (Grieshaber et al., 2003).

Les modifications membranaires atteignant la membrane vacuolaire ne se réalisent que si la bactérie est activée, les corps élémentaires préparent leur conversion en corps réticulés forme intracellulaire de la bactérie. Les EB sont stables dans l'environnement extracellulaire grâce à la présence de protéines de la membrane externe largement réticulés (Newhall et Jones, 1983). Ces liaisons disulfures sont réduites au cours de leur conversion en RB (Hackstadt et al., 1985) suivie d'une augmentation de taille, une modification de la structure des protéines de la membrane externe par réduction des ponts disulfures et monomérisation de la MOMP et d'une augmentation du nombre des ribosomes. La réduction des ponts disulfures permet de fournir de l'énergie au cours des premières heures et d'exposer les pores nécessaires aux passages des différents métabolites à partir de la cellule hôte. D'une décondensation du nucléotide et initiation de la transcription bactérienne. Dans les 15 minutes suivant l'infection, de nouvelles protéines bactériennes sont déjà produites et l'expression de l'ARN bactérien peut être détecté dès une heure post infection (Plaunt et Hatch, 1988 ; Belland et al., 2003). Après la conversion de EB en RB, les particules infectieuses commencent leur prolifération par scissiparité à l'intérieur des limites d'inclusion (Belland et al., 2003).

2.5.2.3.Maturation de la vacuole parasitophore et conversion des ER en EB

La vacuole parasitophore abritant les particules bactériennes continue sa maturation par l'acquisition de nombreux facteurs tout en migrant dans le cytoplasme pour finir enfin à proximité de l'appareil de golgi et du nucléole (Cocchiaro et Valdivia, 2009). Les CE ont tendance à occuper le centre de l'inclusion, alors que la plupart des CR sont situés à la périphérie des inclusions. La synthèse d'ATP dans les cellules infectées augmente significativement au cours de l'infection ainsi que celle du glutamate et par conséquence la consommation de glucose va augmenter ainsi que la production de lactate (Ojcius et al., 1998). Les Chlamydiae sont des bactéries énergétiques aérobies qui utilisent probablement le glutamate comme principale source de carbone, en plus du glucose et du 2-oxoglutarate avec une activité d'échange ATP/ADP (Bavoil et al., 2000).

Une fois à proximité, l'inclusion peut interagir sélectivement avec les organites qui fournissent des facteurs essentiels pour le développement de Chlamydia tels que les lipides (Hackstadt et al, 1996 ; Moore et al, 2008), le Cholestérol (Carabeo et al, 2003) et les glycérophospholipides (Wylie et al., 1997). L'appareil de golgi est de loin l'organite le plus indispensable pour le développement de Chlamydia. Il change de conformation pour s'adapter à la conformation de la vésicule parasitophore (Heuer et al., 2009). L'association des mitochondries avec des inclusions a également été observée (Matsumoto et al., 1991), mais un lien entre la fonction mitochondriale et l'infection à Chlamydia manquait jusqu'à récemment. Les corps multi vésiculaires (MVBS) peuvent représenter une voie de transport des lipides alternative. Les MVBS sont des organites d'endocytose où les protéines et les lipides qui sont destinés à la dégradation ou le recyclage de l'appareil de Golgi sont triés et traités (Woodman et Futter, 2008). Les voies de transport non classiques comme les gouttelettes lipidiques (LD) peuvent également être impliquées dans la livraison des lipides à l'inclusion (Kumar et al., 2006 ; Cocchiaro et al., 2008).

Chlamydia spp effectue son développement à l'intérieur de la vacuole parasitophore à l'abri des lysosomes de la cellule hôte. La vacuole hébergeant la bactérie empêche la fusion avec les lysosomes de la cellule hôte pour assurer la réplication et la croissance des Chlamydiae. Pour cela, la vacuole pourrait fusionner avec des vésicules exocytiques contenant de la sphingomyéline de la cellule hôte. La sphingomyéline produite par l'appareil de Golgi est transférée à la vacuole (Hackstadt et al., 1997). Les Chlamydiae pourraient aussi sécréter par l'intermédiaire du T3SS des facteurs qui empêcheraient la fusion avec les lysosomes (Hackstadt et al., 1997).

L'inclusion s'élargie pour accueillir un nombre croissant de bactéries. La croissance de l'inclusion est probablement alimentée par le niveau de nutriments et de précurseurs de lipides de la cellule hôte. L'intégrité structurale de l'inclusion est préservée par un maillage des structures du cytosquelette principalement composées de filament d'actine et de filaments intermédiaires (FI) (Kumar et Valdivia, 2008).

La survie et le développement de *Chlamydia spp* à l'intérieur de la cellule nécessite l'inhibition de l'apoptose de cette dernière. Pour cela, La bactérie utilise sans doute le T3SS pour injecter les produits qui assurent l'inhibition de l'apoptose de la cellule hôte. Une enzyme protéase spécifique pour Chlamydia, la CPAF (chlamydial proteasome-like activity factor) a été mise en évidence. La CPAF est sécrétée dans le cytoplasme des cellules hôtes infectées, son rôle est de dégrader les protéines pro-apoptotiques et de protéger l'inclusion de chlamydiae des lysosomes cellulaires (Fan et al., 2002 ; Dong et al., 2004 ; Pirbhai et al., 2006 ; Kawana et al., 2007).

2.5.2.4.Relargage des EB néoformés

La conversion morphologique des RB en EB commencent 36-48 h après l'infection. La diminution des niveaux d'énergie en particulier de l'ATP est l'une des causes de la transformation de RB en EB. La transformation du RB en EB passe par une forme intermédiaire (IB) et se caractérise par une condensation du nucléoïde, une diminution de taille et la formation d'une membrane externe rigide par polymérisation de la MOMP (Cocchiaro et Valdivia, 2009)

Entre 48 et 72 heures après l'infection, l'inclusion intra cytoplasmique est énorme. La cellule éclate mécaniquement, libère de nombreux EB par exocytose susceptibles d'infecter les cellules environnantes et de commencer un nouveau cycle infectieux (Moulder, 1991).

La figure suivante résume le cycle de développement de *Chlamydia spp* :

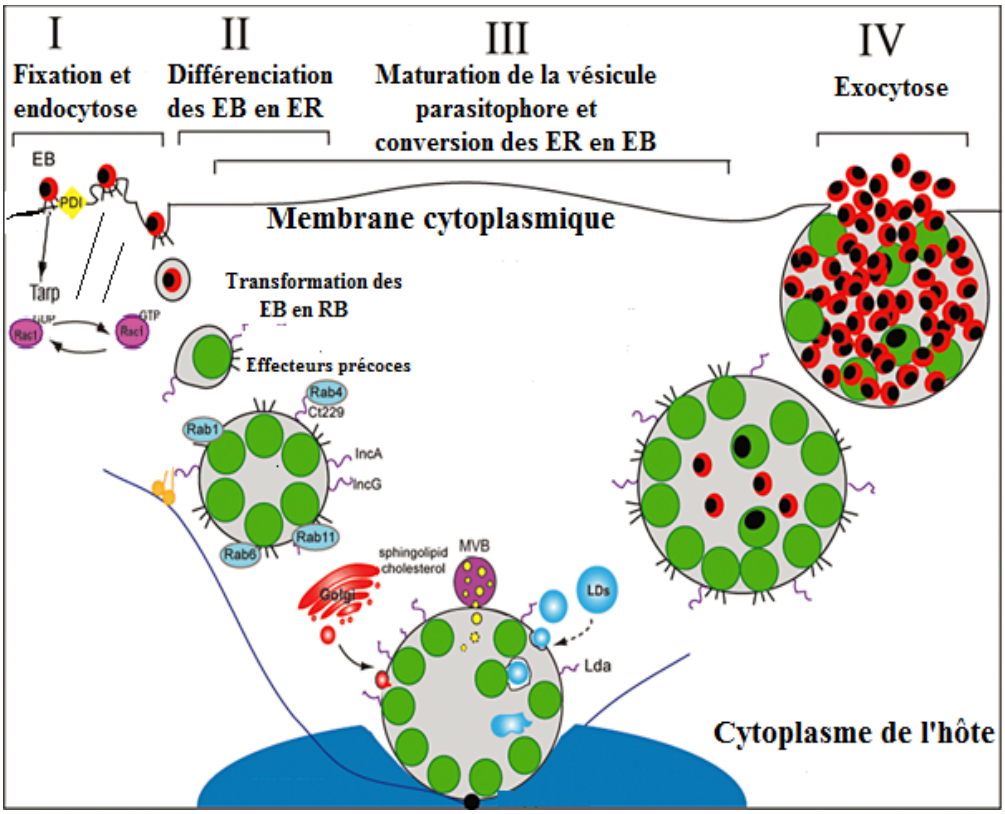

Figure n°9: Cycle de vie de *Chlamydia spp*. L'infection par Chlamydia commence quand un corps élémentaire (EB) se lie à la surface de la cellule hôte (I). A ce stade les protéines effectrices injectées dans l'hôte par le (SST3) facilitent l'entrée bactérienne. Après endocytose, l'EB se transforme en RBS. Les nouveaux effecteurs sont sécrétés et la vacuole bactérienne est modifiée par des protéines membranaires bactériennes d'inclusion(II).L'inclusion interagit avec l'appareil de Golgi, les corps multi vésiculaires (MVBS) et des gouttelettes lipidiques (LDS) (III). Environ à mi-chemin à travers le cycle infectieux, la réplication bactérienne devient asynchrone et les RBS redifférencient en EBS. Tard dans le cycle, l'inclusion remplit presque le volume de la cellule entière. Finalement, l'inclusion provoque la rupture de la cellule hôte libérant EB infectieuses dans le milieu extracellulaire (IV) (Cocchiaro et Valdivia, 2009)

3. *Coxiella burnetii*

3.5. **Taxonomie**

Coxiella burnetii est une petite bactérie intracellulaire stricte colonisant les cellules d'arthropodes et de mammifères (Raoult et Parola, 2007). Son isolement à partir d'arthropodes, sa multiplication intracellulaire et sa morphologie proche de celle des Rickettsies (petite bactérie gram négatif) l'ont classé avec les genres Rickettsia et Rochalimaea dans la sous-classe alfa de l'embranchement des protéobactérie, ordre des Rickettsia les, famille des Rickettsiaceae et tribu des Rickettsiae (Weiss et Moulder, 1984).

Coxiella burnetii partage plusieurs propriétés avec les rickettsies cependant, elle s'en distingue par de nombreuses caractéristiques telles une grande résistance dans le milieu extérieur avec une forme pseudo-sporulée et une croissance dans un phagolysosome (Raoult, 2005 ; Roux, 1997). Après plusieurs recherches basées sur l'analyse phylogénétique de la séquence 16S de l'ARN ribosomal, *Coxiella burnetii* a été déplacée de l'ordre des Rickettsiales vers l'ordre des Legionellales contenant les genres Legionella, Francisella et Rickettsiella (Maurin et Raoult, 1999). En 2001, les travaux de biologie moléculaire réalisés sur la bactérie aboutissent à une exclusion du genre Coxiella de l'ordre des Rickettsiales par le National Center for Biotechnology Information, du fait de sa parenté phylogénétique avec la famille des Legionellaceae (Raoult et Parola, 2007). Le schéma suivant présente la relation entre *Coxiella burnetii* et les autres espèces bactériennes appartenant aux Proteobacteries.

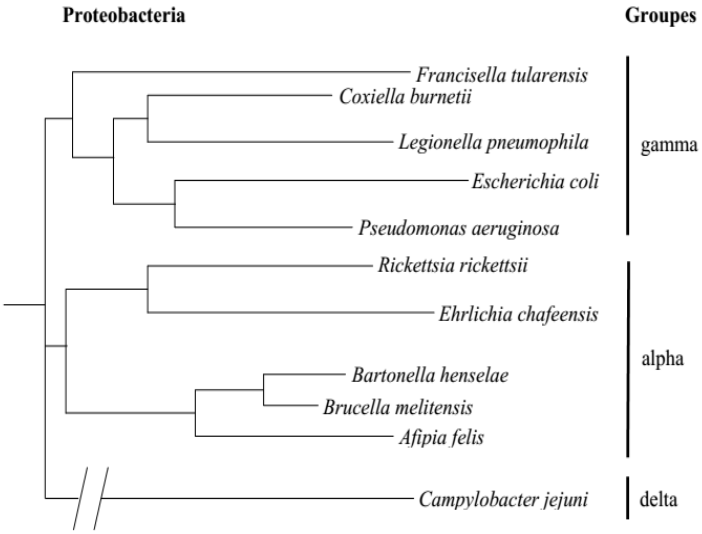

Figure n°10: arbre phylogénétique montrant la relation entre *Coxiella burnetii* et les autres espèces bactériennes appartenant aux Proteobacteries (Maurin et Raoult, 1999)

De ce fait, et d'après la nouvelle classification, *Coxiella burnetii* appartient au phylum des Proteobacteries, sous classe des Gamma proteobacteries, ordre des Legionellales, famille des Coxiellaceae qui inclut les genres Coxiella et Rickettsiella (Roux, 1997 ; Arricau-Bouvery et

al., 2005 ; Bogdan, 2012). *Coxiella burnetii* est la seule espèce reconnue du genre Coxiella, même si un certain nombre de bactéries avec un 16Ssimilaireont été isolées à partir des tiques et des crustacés (Stein et al., 1993 ; Bogdan,2012).

Coxiella burnetii est divisé en six groupes génomiques numérotés de I à VI. Le groupe I est isolé à partir d'animaux, le groupe II des tiques. Le groupe III, isolé de cas aigus chez l'Homme, les groupe IV et V isolé de cas chroniques chez l'Homme le groupe VI est isolé à partir de rongeurs. Cette hétérogénéité génétique ne semble pas avoir de conséquence flagrante sur la virulence de la bactérie (Thompson et Suhan, 1996 ; Raoult et Parola, 2007).

3.6. **Morphologie**

3.6.1. Morphologie générale

Coxiella burnetii est une bactérie gram négatif, coccobacille pléomorphique caractérisée par son mode de vie intracellulaire stricte. Bactérie aérobie stricte, immobile, de petite taille (0,2 à 0,4 µm de large sur 0,4 à 1 µm de long) située à la limite de la visibilité en microscopie optique (Marrie, 1990 ; Raoult et Parola, 2007).

3.6.2. Les différentes formes de Coxiella

Coxiella subit une variation de phase au cours de sa croissance, la bactérie peut se présenter sous deux ou trois formes morphologiquement différentes :

- La forme large cell variant(LCV) : Il s'agit de la forme végétative de la bactérie, présente dans les cellules infectées de taille supérieure à 1 µm, métaboliquement très active, contenant peu de lipopolysaccharide de surface (LPS), très fragile à l'extérieur de la cellule.

- La forme small cell variant(SCV) : Il s'agit de la forme extracellulaire de la bactérie, hautement infectieuse, de petite taille (0.2-0.5 µm), métaboliquement inactive, très résistante dans le milieu extérieur. Le SCV se présente sous deux formes antigéniquement différentes qualifiée de phase I et II.

- La forme small dense cell (SDC) : Ressemblant à des pseudo-spores, c'est la plus petite des formes. Particule infectieuse et très robuste dans le milieu extérieur (Mc Caul et al., 1991; Seshadri et al., 1999 ; Raoult et Parola, 2007 ; Gürtler, 2014).

Les caractéristiques des trois formes morphologiques sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau n°3 : caractéristiques des trois formes morphologiques de *Coxiella burnetii* (Raoult et Parola, 2007)

Forme morphologique	Large cell variant (LCV)	Small cell variant (SCV)	Small dense cell (SDV)
Type de forme	Forme végétative	Forme extracellulaire	Pseudo-spore
Formation	A partir des SCV	Condensation des LCV	Compartimentation des LCV
Multiplication	Division binaire	Division binaire	absente
Taille	2 µm	0.2-0.5 µm	<0.2 µm
Résistance	Très faible	Elevée	Elevée
Métabolisme	Elevé	Très faible	Très faible
Rôle	Dissémination	Transmission	Résistance

3.6.3. Ultra structure de *Coxiella burnetii*

Coxiella est une bactérie à gram variable, son ultra structure est peu étudiée par rapport aux autres espèces bactériennes (McCaul et Williams, 1981).

L'analyse morphologique et chimique indique que la structure de *Coxiella burnetii* est plus proche des bactéries gram négatif que celle des grams positifs. La bactérie est composée d'un cytoplasme entouré d'une membrane trilamilaire ressemblant à celle des gram négatif (Burton, 1975 ; Raoult et Parola, 2007).

En plus de sa petite taille, le périphérique du cytoplasme de la cellule bactérienne est caractérisé par la présence de nombreux ribosomes qui semblent être en étroite association avec la membrane, tandis que la région centrale est occupée par des filaments formants le nucléoïde. La condensation du nucléoïde varie selon le stade du développement de la bactérie (Burton, 1975 ; McCaul et Williams, 1981 ; Raoult et Parola, 2007).L'image suivante présente *Coxiella burnetii* observée par le microscope électronique.

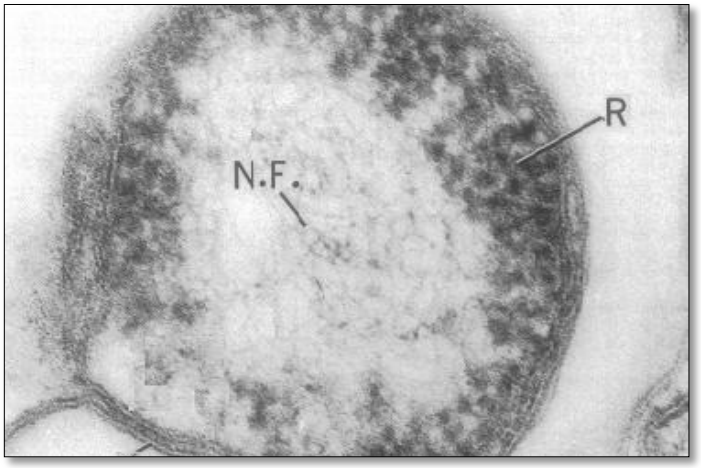

Figure n°11 : morphologie de *C. burnetii* (x273600). (NF) Filaments du nucléoïde centrale, (R) région ribosomique périphérique (Burton, 1975)

3.6.4. Architecture de la paroi de *Coxiella burnetii*

La cellule bactérienne est délimitée par une enveloppe trilamilaire ordinaire semblable à celles des bactéries gram négatif (Williams et Thompson, 1991). L'enveloppe est constituée d'une membrane externe, d'une membrane interne d'environ 6,5nm d'épaisseur chacune et d'un espace périplasmique. À la surface intérieure de la membrane externe, une couche mince modérément dense aux électrons apparait comme une particularité peut distinctive de *Coxiella burnetii* (Figure n°12)

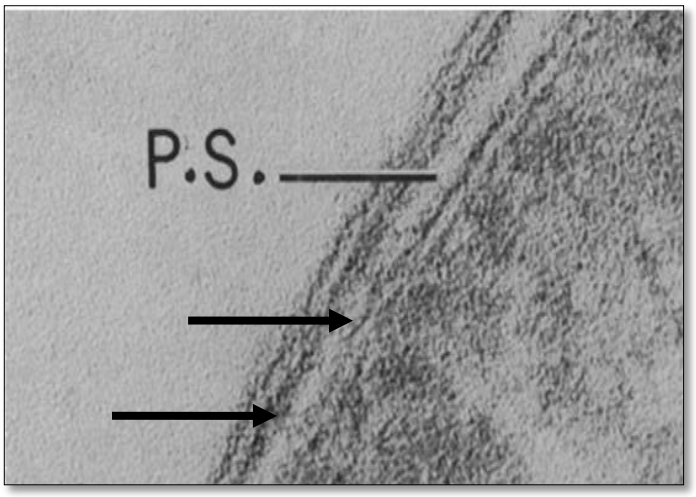

Figure n°12 : espace périplasmique (PS) entre la membrane interne et externe. Les flèches indiquent couche dense associée à la face intérieure de la membrane externe(x291600) (Williams et Thompson, 1991)

La membrane externe et la membrane plasmiques emblent être morphologiquement identiques. La membrane interne est composée essentiellement de phospholipides et de glycoprotéines. La membrane externe, celle en contact avec le milieu extérieur, est composée de :

- Lipopolysacharides (LPS): le LPS est un composant majeur de la membrane externe de *Coxiella burnetii*. Sa composition varie selon le stade de développement de la bactérie. Le LPS de la phase I du développement dit lisse est complet de longueur maximale composé du lipide A et d'un hétéropolysaccharide le LPS de la phase II dit rugueux est court et de forme tronquée (Hackstadt, 1990; Thompson et al., 2003)

- Peptidoglycane (PG): composé de l'acide muramique et de l'acide diaminopimélique, composants clés de peptidoglycane typique.
- Protéines membranaires: la composition des protéines de surface entre les phases I et II est très proche. Trois protéines sont essentiellement les plus abondantes et les plus immunogènes désignées protéines 29,5 kDa, protéines 61 kDa et protéine 116 kDa (Mc Caul et al., 1991).

3.7. **Génétique de *Coxiella burnetii***

Le génome de *C. burnetii* est porté par un chromosome de taille variable de 1.5 à 2.4 Kb selon les souches et un plasmide facultatif (de 36 à 42 kb) dont le rôle reste indéterminé (Willems et al., 1998).La figure suivante représente la répartition des gènes de *Coxiella burnetii* selon leurs rôles fonctionnels.

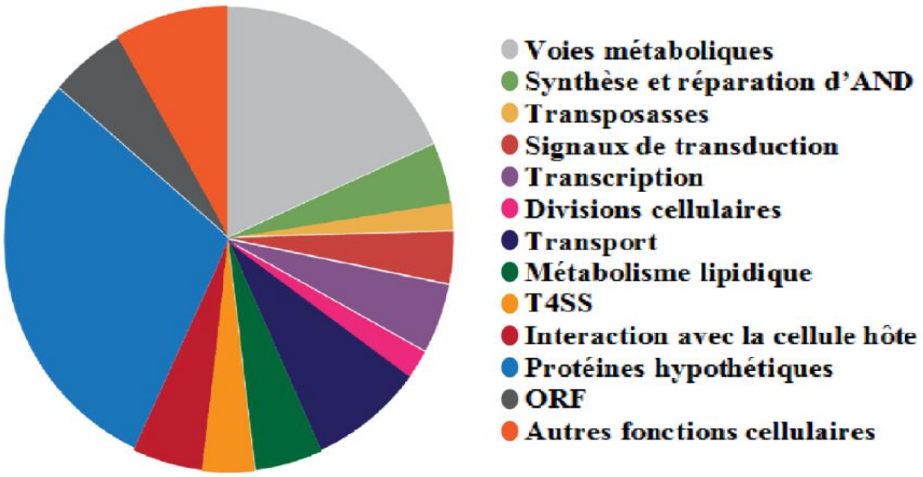

Figure n°13 : répartition des gènes de *Coxiella burnetii* selon leurs rôles fonctionnels (Martinez et al., 2014)

L'analyse du génome a révélé contrairement à d'autres bactéries intracellulaires obligatoires, 32séquences d'insertion se trouvant dispersés dans le chromosome, indiquant une certaine plasticité du génome de *C. burnetii*. Ces analyses suggèrent que le mode de vie intracellulaire obligatoire de *C. burnetii* peut être une innovation relativement récente (Seshadri et al., 2003).

Coxiella burnetii est une bactérie qui présente une très grande hétérogénécité génétique. Il existe de nombreuses souches présentant des variations génétiques portant à la fois sur l'ADN chromosomique et sur l'ADN plasmidique (Raoult et Parola, 2007). Ces plasmides constituent la source de variabilité entre les différentes souches, ils partagent une région centralede30KBet le reste des séquences du plasmide constitue une signature propre à chaque souche (Mallavia et al., 1991; Willems et al., 1998 ; Dworkin et Falkow, 2006).

Sur la base de l'analyse de la séquence d'acide nucléique de différentes régions de gènes y compris des plasmides, une classification en génotypes ou plusieurs génotypes ont été regroupés en génogroupes a été suggéré par divers auteurs (Gürtler, 2014). L'analyse des profils de restriction de l'ADN permet de classer les souches de *Coxiella burnetii* isolées des différentes régions géographiques en 6 groupes génomiques (groupes I à VI). Les souches des groupes génomiques I, II et III renferment un plasmide de 36 Kb (plasmide QpH1), les souches du groupe génomique IV possèdent un plasmide de 39 Kb (plasmide QpRS) et les souches du groupe génomique VI, un plasmide de 42 Kb (plasmide QpDG). Un plasmide de 33 Kb, désigné QpDV, a également été identifié dans une souche d'origine française. Les souches du groupe génomique V sont dépourvues de plasmide libre mais leur chromosome

possède des séquences analogues au plasmide QpRS (Fenollar, 2000 ; Norlander, 2000 ; Dworkin et Falkow, 2006).

Les études ont démontré que les variations de phases (phase I et II) et l'origine géographique de la souche ne sont pas corrélées à l'existence d'une séquence ou d'un gène spécifiques. Par contre, certaines études ont confirmé l'existence d'une relation entre la diversité génétique des souches et leur pouvoir pathogène (Norlander, 2000 ; Stein et al., 2000 ; Gürtler, 2014).

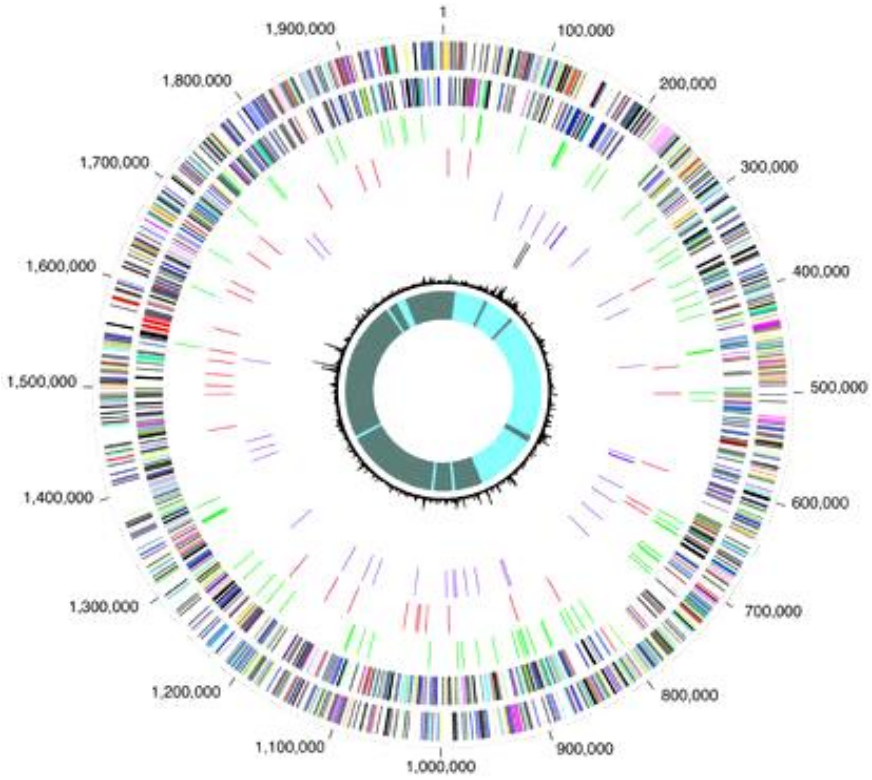

Figure n°14: Représentation circulaire de la structure globale du génome *C. burnetii*. L'échelle extérieure désigne les coordonnées en paires de bases. Les couleurs désignent les catégories des gènes codés selon leur rôle. Le premier et le deuxième cercle en allant de l'extérieur vers l'intérieur, le violet pour la biosynthèse des acides aminés, le bleu clair pour la biosynthèse des cofacteurs, des groupes prosthétiques et transporteurs, le vert clair pour la synthèse des constituants de l'enveloppe cellulaire, le rouge pour les processus cellulaires, le brun pour le métabolisme intermédiaire central, le jaune pour le métabolisme de l'ADN, le gris clair pour le métabolisme énergétique, le rose foncé pour le métabolisme des phospholipides et des acides gras, le rose pour la synthèse des protéines, l'orange pour le métabolisme des purines, des pyrimidines et des nucléosides, le gris pour des fonctions inconnues et le saumon pour d'autres catégories. Le troisième cercle présente les pseudogènes en vert ;le cinquième cercle les gènes d'ARNt en violet; le sixième cercle les gènes ARNr en marron foncé; le septième cercle, la composition trinucléotidique en noir et le huitième cercle, les résidus positifs en bleu et les résidus négatifs en gris (Seshadri et al., 2003)

3.8. **Caractéristiques antigéniques de *Coxiella burnetii***

3.8.1. Le lipopolysaccharide (LPS)

Le lipopolysacharide (LPS) est un constituant majeur des parois des bactéries gram négatif. Il constitue un des déterminants antigéniques chez ces bactéries. Chez *Coxiella burnetii*, le (LPS) est considéré comme l'un des déterminants majeurs de l'expression de la virulence (Honstettre et al., 2004). Il joue un rôle dans l'immunogénicité de la bactérie et induit une forte réponse immunologique humorale (Toman et al., 2003). Bien qu'il soit considéré comme non endotoxinique, contrairement au LPS des entérobactéries (Schramek et Mayer, 1982), il induit la production de cytokines inflammatoires par les macrophages (Toman et Kazar, 1991). La fonction principale du LPS est de servir comme barrière de perméabilité à l'égard des agents extérieurs et de maintenir l'intégrité structurale de la paroi bactérienne (Narasakiet al., 2011). Le rôle du LPS dans la pathogénicité de *Coxiella burnetii* est encore mal défini (Honstettre et al., 2004).

Le lipopolysaccharide (LPS) est une molécule complexe, représente le composant majeur du feuillet externe de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. La molécule de LPS est constitué de trois domaines structuraux: la glucosamine(lipide A), fragment lipidique représente le point d'ancrage hydrophobe de la molécule de l'LPS responsable des propriétés endotoxinique, un fragment oligosaccharidique constitue le noyau interne et externe fixée au lipide A et s'étend vers l'extérieur et une chaîne polysaccharidique O-spécifique(O-PS), composée de séquences répétitives de sucres et détermine l'hétérogénéité sérologique entre les différentes souches de la bactérie (Honstettre et al., 2004; Narasaki et al., 2011).

L'oligosaccharide de noyau interne est composé de D-mannose (D-Man), le D-glycéro-D-manno-heptose (D, D-Hep) et3-désoxy-α-D-manno-oct-2-ulopyranoside (Kdo) (Toman et Skultety, 1996). La chaîne O-PS du lipopolysaccharide (LPS) de *C. burnetii* est considérée comme un hétéropolymère des deux sucres inhabituels β-D-virenose et dihydrohydroxy streptose et mannose (Narasaki et al., 2011).

Une caractéristique majeure différenciant *Coxiella burnetii* des autres bactéries gram négatif est la variation de phase du LPS nommée phase I et phase II, similaire à la variation smooth-rough (lisse-rugueux) rencontrée chez les entérobactéries (Rodolakis, 2004). Les phases I et II ne peuvent pas être distinguées morphologiquement, mais elles présentent une coloration différente lorsqu'elles sont colorées par la fuchsine basique et l'hématoxyline.

La phase I est la forme infectieuse de la bactérie, isolée chez l'Homme, les animaux, les vertébrés et les arthropodes. Cette forme est extrêmement infectieuse et contagieuse. Le LPS de phase I, phénotypiquement lisse, contient une quantité notable de deux sucres, virenose (Vir) et dihydrohydroxystreptose (STREP), qui n'ont pas été trouvés dans d'autres LPS qui et peut être considérés comme biomarqueurs uniques de *Coxiella burnetii* (Honstettre et al., 2012). Le LPS complet de phase I possède une structure empêchant l'action du complément par impossibilité de fixation de la fraction C3b. Cette conformation permet en outre de bloquer stériquement la fixation des anticorps sur les protéines de surface, ce qui explique la virulence de la bactérie et possiblement sa persistance dans l'organisme après un épisode aigu (Hackstadt, 1990; Thompson et al., 2003).

Lorsque *C. burnetii* cultivé dans des cellules en culture ou dans des cellules d'un système hôte non immunocompétent le LPS est généralement incomplètement synthétisé par la répression des gènes codants pour sa synthèse expliquant l'impossibilité de réversion vers la phase I (Lukacova et al., 1994).De nombreuses protéines de la paroi se trouvent ainsi facilement accessibles aux différents moyens de défense du système immunitaire. Des études antérieures ont montré qu'aucune perte significative de la teneur en protéines sur la surface de *C. burnetii* n'est produite lors de variation de phase et la seule différence notée entre la phase I et la phase II est le LPS (Zhang et al., 2007 ; Narasaki et al., 2011).

La phase II, qui correspond à la phase « rough » ou rugueuse de la bactérie, est moins virulente ou carrément avirulente. Elle se multiplie rapidement *in vitro* alors qu'*in vivo* elle est sensible à l'action du complément et est rapidement éliminée (Hackstadt, 1990 ; Thompson et al., 2003). Par défaut de synthése, le LPS de la phase II est tronqué et manque de la chaine ramifiée des sucres virenose et dihydrohydroxystreptose présents en phase I (Honstettre et al., 2004).

Tous les changements passés au cours des conversions de phase touchaient uniquement le fragment terminal du LPS. Le lipide A n'a révélé aucune modification structurelle importante par rapport aux autres constituants (Vadivic et al., 2009).

3.8.2. Les antigènes protéiques

Il existe environ 30 à 35 protéines exposées à la surface de *C .burnetii*, avec certaines considérées comme antigènes primaires (Zhang et al., 2004). On peut citer :

- **Les protéines SCVA et HQ1** : protéines fortement basiques liées à l'ADN, elles sont exprimées différemment entre le LCV et le SCV. Leur principal rôle est probablement la condensation de l'ADN bactérien (Lukacova et al., 1994).
- **Les protéines(MOMP)** : désigné P1 a une forme de porine de ~29 kDa, elle est fortement exprimée dans les LCV, régulée les SCV, et absente dans les SDC (Varghees et al., 2002).
- **Les protéines de choc thermique :** Connues sous le nom des protéines de « chaleur» ou de « choc», les (HSP) sont des protéines chaperonnes marquant essentiel des bactéries pathogènes (Schlesinger, 1990). Chez *Coxiella burnetii* les analyses ont révélé la présence de laHsp60 (62 kDa) et de la Hsp70 (70 KDa). Une nouvelle classe à été découverte récemment la Hsp71 (71kDa) située dans le cytoplasme de la bactérie. Ces protéines sont considérées comme des immunogènes induisant une réponse immunitaire cellulaire et humorale (Macellaro et al., 1998).

3.9. Cycle de réplication de *Coxiella burnetii*

3.9.1. Particularités du cycle

Coxiella burnetii est une bactérie intracellulaire obligatoire. Son cycle de développement présente un système bactérien fermé (Coleman et al., 2004) . Ce cycle a pour but d'assurer la prolifération de la bactérie, il produit des cellules de morphologies variables comme moyen de résistance au stress environnemental et aux conditions régnant dans le phagolysosome vacuole dans laquelle la bactérie effectue sa prolifération et son développement (Coleman et al., 2004 ; Klingenbeck et al., 2012).

La forme SCV (Small Cell Variants), extracellulaire résistante, est métaboliquement inactive. Cette forme subit un développement au sein d'une vacuole intracellulaire appelée parasitophore caractérisée par un PH remarquablement acide aboutissant à sa transformation en une forme active métaboliquement la LCV (Large Cell Variants).

La forme LCV c'est la forme prolifération de la bactérie, après plusieurs divisions cette forme peut se différencier en forme SLP (Spore-Like Particle) forme sporulée de la bactérie.
Le SLP est précurseur de la forme extracellulaire SCV. Cette dernière est libérée de la cellule par lyse ou exocytose et constitue la forme infectante de *Coxiella burnetii* (Coleman et al., 2004).

La plupart des bactéries parasites intracellulaires strictes emploient des mécanismes sophistiqués pour la biogenèse d'une niche vacuolaire réplicative tout en évitant l'arsenal lysosomal de la cellule hôte. Cependant, ce n'est pas le cas de *Coxiella burnetii*, cette bactérie est reconnue comme la seule capable de vivre et de croitre dans un phagolysosome contenant toutes les enzymes et les substances dégradantes et oxydantes que peut contenir un phagolysosome classique appelé communément vacuole parasitophore (PV) (Heinzenetal., 1996 ;Howe et al.,2010).

Le cycle de développement de *Coxiella burnetii* dans la cellule eucaryote commence par l'adhérence et la fixation de la bactérie sur la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. Après sa phagocytose, le germe se trouve dans le phagosome acide. Le phagosome fusionne avec les lysosomes et des autophagosomes cellulaires pour aboutir à la formation d'une grande vésicule parasitophore. Le métabolisme de la bactérie est alors activé, il est dépendant du pH modérément faible (~ 5) de la PV. Les SCV se transforme en LCV qui à leur tour se transforment en SDC et à nouveau en SCV qui seront rejetés en milieu extérieur par le phénomène de l'exocytose ou de la lyse de la cellule infectée (Heinzenetal., 1996 ; Coleman et al., 2004 ; Voth et Heinzen, 2007).

Le cycle de croissance de *Coxiella burnetii* commence par une phase de latence prolongée d'environ deux jours après l'inoculation. Cette phase est caractérisée par la morphogenèse SCV-LCV. La phase exponentielle au cours des4 jours suivants, caractérisée par la présence d'une vacuole parasitophore (PV) contenant presque exclusivement des LCV. La phase stationnaire commence au 6^{eme} jour post-infection, en concomitance avec l'apparition des SCV elle est caractérisée par l'agrandissement de la vacuole parasitophore, par la prolifération des LCV et par l'exocytose de la bactérie dans le milieu extérieur (Coleman et al., 2004 ; Voth et Heinzen, 2007). Les LCV reste dans le milieu extérieur tout en résistant aux différentes agressions (dessiccation, chaleur, lumière…etc.) en attente d'un nouvel organisme accueillant.

La cinétique du cycle varie vraisemblablement en fonction des conditions internes de l'hôte ou de la culture cellulaire (température, disponibilité des nutriments, pression osmotique, défenses immunitaires…etc.)(Coleman et al., 2004). Les conditions environnementales qui favorisent le développement de *C. burnetii* sont inconnues (Schaik et al., 2013).

La figure suivante présente le développement chronologique de *Coxiella burnetii* sur culture cellulaire *in vitro* :

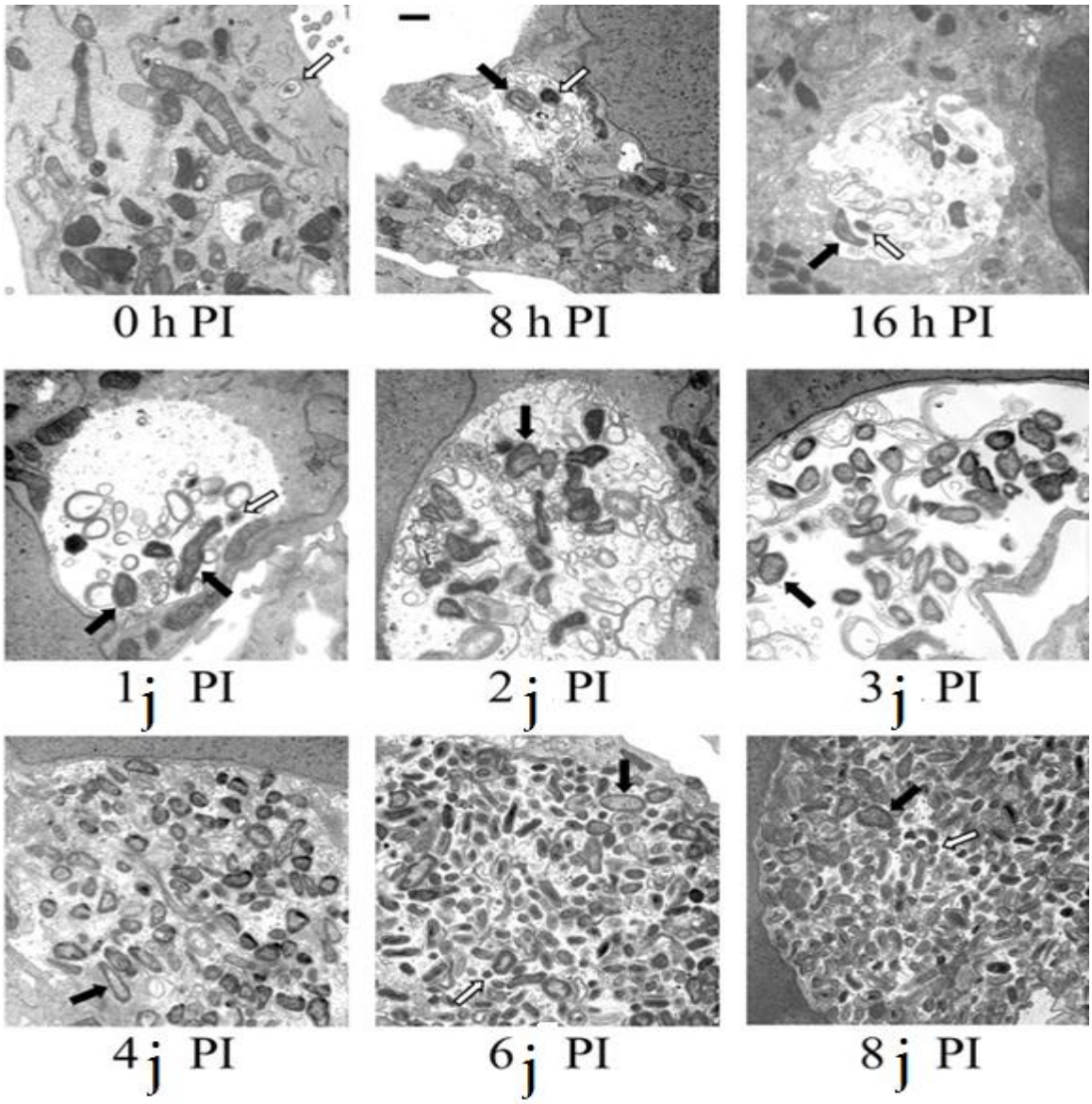

Figure n°15: chronologie du cycle intracellulaire de *Coxiella burnetii* cultivée sur cellules Véro. Les flèches blanches désignent les SCV et les flèches noires désignent les LCV. (PI : poste infection, j : jour, h: heure) (Coleman et al., 2004)

3.9.2. Étapes du cycle de développement de *Coxiella burnetii*

3.9.2.1. Adhésion et phagocytose

Dans les infections naturelles, *Coxiella burnetii* a un tropisme naturel pour les cellules du système des phagocytes mononucléaires telles que les macrophages et les monocytes (Stein et al., 2005; Voth et Heinzen, 2007). Les cellules phagocytaires mononucléaires professionnelles semblent être la cible privilégiée de *Coxiella burnetii* en raison de la présence des récepteurs de phases à leur surface (Capo et al., 1999 ; Voth et Heinzen, 2007).

En effet, Coxiella présente deux phases antigéniquement différentes, la phase I, très virulente et la phase II, qui est la moins virulente ou dépourvue de virulence (Voth et Heinzen, 2007 ; Howe et al., 2010).

Les particules bactériennes de phase I se lient de façon spécifique à l'intégrine avß3 présente à la surface de la cellule hôte tandis que les organismes de phase II engagent en outre le récepteur CR3 (Knodler et al., 2001 ;Voth et Heinzen, 2007;Schaik et al.,2013). Les organismes de phase II seront directement attaqués et dégradés par le lysosome cellulaire (anomalie de la membrane du phagosome primaire) (Voth et Heinzen, 2007). De ce fait, pour éviter les lysosomes cellulaires, la forme infectieuse de la bactérie (phase I) bloque les récepteurs CR3 et utilisent des récepteurs d'intégrine (Howe et al., 2010). Des microfilaments d'endocytose s'installent et une réorganisation spectaculaire du cytosquelette d'actine qui induit des protubérances membranaires prononcées à l'endroit de la fixation des bactéries (Schaik et al., 2013). L'entrée de *Coxiella burnetii* à la cellule eucaryote se fait de façon passive par phagocytose (Voth et Heinzen, 2007).

3.9.2.2. Formation et maturation du phagolysosome

Après sa phagocytose, la bactérie se trouve dans une vacuole appelée phagosome précoce. La maturation du phagosome naissant se fait par l'acquisition de certains marqueurs lysosomales apportés par voie endolysosomale (Heinzen et al., 1996 ; Voth et Heinzen, 2007). Le phagosome précoce est enrichi par la petite GTPase, le Rab5avec un moindre recrutement du Rab7, le système de sécrétion type IV(T4SS) avec son effecteur et le LC3 marqueur de l'autophagie (Romano et al., 2007).

Grâce au Ph acide de la vacuole et au système de sécrétion type IV responsable des échanges avec le cytosol et la machinerie intracellulaire de l'hôte, le métabolisme de la bactérie reprend et la synthèse protéique commence (Romano et al., 2007). Cette synthèse est primordiale pour l'expression du facteur LC3 responsable de l'interaction et de la fusion avec les auto-phagosomes cellulaires (Howe et al., 2003). L'interaction et la fusion avec les auto-phagosomes cellulaire constitue l'étape clé de maturation du phagosome abritant *Coxiella burnetii*. La bactérie bénéficie de l'autophagie par le gain de surface que se soit l'espace interne ou la surface membranaire ce qui va permettre l'agrandissement de la vacuole et de l'ampleur de réplication de la bactérie (Coleman et al., 2004; Gutierrez et al., 2005). Autre avantage possible de l'interaction de Coxiella avec la voie autophagique comprennent la livraison de nutriments (Heinzen et Hackstadt, 1997).

La maturation du phagolysosome naissant continue par l'élargissement de la vacuole abritant les organismes bactériens et l'insertion d'un autre groupe de marqueurs membranaires pour aboutir à la formation d'une grande vacuole parasitophore (PV) idéal pour la survie et la multiplication de *Coxiella burnetii* (Voth et Heinzen, 2007). La vacuole conserve le (T4SS), le LC3 et le Rab 7 et acquit les facteurs Lamp 1,2 et 3, la flotilline et divers hydrolases acides (Howe et Heinzen, 2006 ; Romano et al., 2007). Les premières interactions avec l'auto-phagosomes peuvent délivrer une impulsion de peptides, d'acides aminés et de saccharides. Il semble que la disponibilité des nutriments provoque la différentiation des SCV en LCV forme active de la bactérie (Coleman et al., 2004; Gutierrez et al., 2005).

3.9.2.3. Prolifération de *Coxiella burnetii*

Coxiella burnetii réside dans une vacuole parasitophore (PV) avec les caractéristiques d'un lysosome secondaire (Schaik et al., 2013). En plus des marqueurs lysosomales, la vacuole est riche en enzymes oxydantes et dégradantes (Howe et al., 2003). La 5'-nucléotidase, la phosphatase acide la cathepsine D et la H+ATPase constituent les substances les plus présentes dans la vacuole parasitophore. Le PH interne est de 4.5 idéal pour les réactions d'oxydation (Heinzen et al, 1996; Howe et Mallavia, 2000).

Malgré la richesse de la vacuole parasitophore en enzymes bactéricides visant à dégrader les organismes bactériens parasites et malgré l'acidité du milieu intra vacuolaire, *Coxiella burnetii* résiste parfaitement aux différentes agressions (Voth et Heinzen, 2007; Mertens et Samuel, 2012). La bactérie met en place certains mécanismes de résistance visant à dégrader

les enzymes cellulaires d'une part et à renforcer la paroi bactérienne d'autre part (Howe et al.,2010).

Coxiella burnetii supprime la production de dérivés de l'oxygène et de NO, la synthèse de l'interféron gamma, et la formation de lymphocytes T suppresseurs. La bactérie est capable de bloquer le métabolisme oxydatif de la cellule hôte et de synthétiser ses propres enzymes dégradant les substances oxydantes (Zamboni et Rabinovitch, 2003 ; Howe et al., 2010).La paroi bactérienne est renforcée par un peptidoglycane biochimiquement différent avec des protéines résistantes aux protéases lisosomales (Voth et Heinzen, 2007). La bactérie répond à ce stress par la translocation de plusieurs protéines membranaires. Des phénomènes de redistribution des composants membranaires lipidiques surviennent comme moyen de lutte contre l'acidité de l'environnement et contre les enzymes oxydant par l'épaississement de la couche des LPS et l'augmentation du taux de cholestérol membranaire (Howe et Heinzen, 2008). En effet, les cellules infectéesproduisent73% de plus de cholestérol en fin de cycle infectieux de l'agent pathogène (Romano et al., 2007).

Le but de la vacuole parasitophore n'est pas la survie du germe uniquement mais la prolifération et la dissémination de la bactérie (Schaik et al., 2013). Les études ultrastructurales fournissent amplement la preuve de la fission binaire du germe avec constriction de la région équatoriale et apparition concomitante de deux régions nucléoïde (Baca et Paretsky, 1983).

La LCV est la forme réplicative de *Coxiella burnetii.* Le déclenchement du phénomène réplicatif semble être en relation avec la disponibilité à l'intérieur de la vacuole parasitophore de nutriments et de métabolites (Coleman et al., 2004; 2007 ; Gutierrez et al., 2005). Les LCV rentrent dans une phase de développement exponentiel, à la fin de cette phase la vacuole parasitophore occupe une très grande partie du cytoplasme et contient des centaines de particules bactériennes néoformées. L'arrêt du processus de division semble être en relation avec l'épuisement des nutriments de la cellule hôte (Coleman et al., 2004 ; Schaik et al., 2013).

La bactérie empêche l'apoptose de la cellule hôte pour assurer une réplication productive. Le rôle du système de sécrétion de type IV(T4SS) dans le contrôle de l'apoptose cellulaire a été démontré (Klingenbeck et al., 2012).

3.9.2.4. Exocytose et lyse cellulaire

La croissance de la vacuole parasitophore touche son maximum à cause de l'épuisement de l'espace cytoplasmique et du nombre important de particules bactériennes néo formées. Les LCV se transforme en SDC. Ces derniers sont des pseudos spores formées en réponse à la diminution des nutriments dans la vacuole parasitophore (Voth et Heinzen, 2007). Le contexte de sporulation est purement descriptif basé essentiellement sur des caractéristiques morphologique. Les SCV qui sont la forme de départ du cycle et la forme de dissémination et de la résistance dans le milieu extérieur sont formés à partir des SDC par un mécanisme jusqu'ici inconnu (Seshadri et al., 1999 ; Schaik et al., 2013).

Les SDC secrétés se trouvent rejetés dans le milieu extérieur, ces particules ont la particularité de résister aux hautes températures, à la lumière ultraviolette, aux divers désinfectants et à la dessiccation (Seshadri et al., 1999) . Un nouveau cycle commence après l'introduction de ces particules à l'intérieur d'un nouvel organisme hôte.

La figure suivante illustre les étapes du cycle de développement de *Coxiella burnetii* :

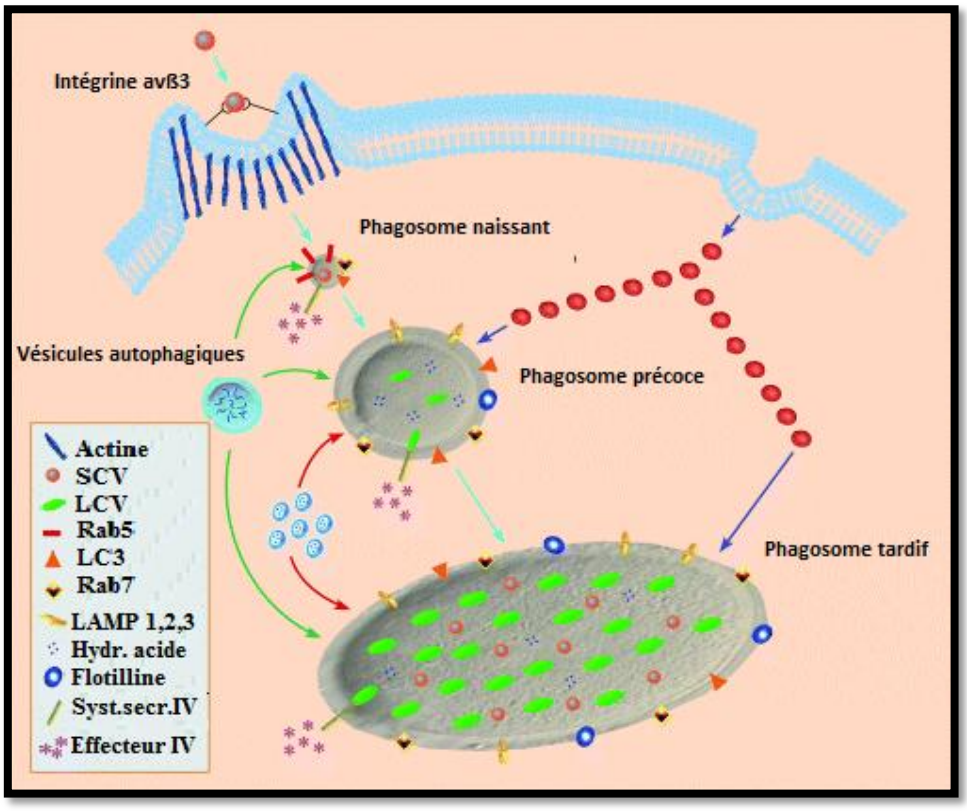

Figure n°16: cycle de développement de *Coxiella burnetii* (Voth et Heinzen, 2007)

VIII. Epidémiologie

2. La fièvre Q

2.1.**Épidémiologie descriptive**

2.1.1. **Répartition géographique**

La coxiellose ou la fièvre Q est une zoonose endémique présente sur tous les continents du globe terrestre, elle a été mise en évidence dans toutes les régions où elle a été recherchée à part la Nouvelle Zélande qui est considérée comme le seul pays indemne de toute la planète (Hilbink et al., 1993 ; Norlander, 2000). La fréquence de la maladie change en fonction des pays et des espèces animales (Norlander, 2000).

2.1.2. **Animaux atteints :**

La fièvre Q peut toucher un grands nombre d'espèces animales dont l'être humain (Marrie, 1990). L'expression de la maladie diffère d'une espèce à une autre, les animaux hébergeant le germe sans exprimer la maladie jouent le rôle de réservoir que se soit sauvage ou domestique.

- **Les ruminants domestiques,** sont les hôtes principaux de *Coxiella burnetii*. Les bovins, les ovins et les caprins constituent le réservoir de la fièvre Q au niveau des élevages et représentent une source de contamination importante pour l'être humain (Marrie, 1990 ; Kersh et al., 2013). L'expression de la maladie est souvent absente, les ruminants domestiques sont pour la plupart du temps des porteurs asymptomatiques servant à l'amplification et à l'excrétion de la bactérie **(**Mc Quiston et Childs, 2002 ; Kersh et al., 2013).
- Les Camélidés et les équidés (Marrie, 1990)
- Les carnivores domestiques tels les chiens et surtout les chats, sont couramment infectés mais demeurent asymptomatiques, ils représentent le réservoir urbain de la maladie infectant ainsi l'être humain et les autres animaux domestiques (Boni et al., 1998).
- Les vertébrés sauvages tels les ruminants (mouflons, daims, cerfs), les carnivores (ours, renards et léopards), les lagomorphes (lapins et lièvres), les rongeurs (rats, souries, mulots et campagnols), les marsupiaux (le bandicoot), les chiroptères…etc. Ces animaux constituent le réservoir sauvage de la fièvre Q, leur implication dans la transmission de la maladie vers les animaux d'élevage et l'être humain est minime (Marrie, 1990).

- Les oiseaux : les volailles domestiques (poules, dindes, oies, canards), les oiseaux sauvages (corbeaux, pigeons, hirondelles et oiseaux migrateurs) (Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005).
- Quelques reptiles et poissons (Marrie, 1990).
- Les arthropodes : les tiques dures et molles, les poux, les mites, les mouches, les blattes et les punaises (Ho et al., 1995 ; Sprong et al., 2010) .
- Les amibes (Scola et Raoult, 2001).
- L'être humain : sa contamination est accidentelle mais elle est d'une grande importance médicale du fait de la gravité potentielle de la maladie (Marrie, 1990).

L'expression de la fièvre Q diffère d'une espèce à l'autre, certaines représentent des réservoirs domestique ou sauvage du germe par le fait de leur portage asymptomatique, d'autres, développent la maladie mais avec un degré et des conséquences sanitaires plus ou moins importantes.

2.1.3. **Prévalence**

- **En Afrique**

-En Algérie, on dispose de très peu d'informations sur la prévalence de la fièvre Q chez les différentes espèces animales ou même chez l'être humain (Vanderburg et al., 2014). Ce manque de données reflète la sous estimation de cette zoonose malgré son omniprésence dans notre pays (Dechicha et al., 2010).

Chez les bovins, la prévalence a été estimée entre 2 et 29% selon deux enquêtes sérologiques réalisées séparément dans les régions est et centres du pays (Dechicha et al., 2010).

Chez les petits ruminants (ovins et caprins confondus) la prévalence de la coxiellose est beaucoup plus importante, elle est estimée entre 75% et 85,71% (Yahiaoui, 2013). Chez les autres espèces animales (carnivores, équidés, camelins et volailles) domestiques ou sauvages, aucune information ou estimation n'est disponible concernant la prévalence de la maladie (Vanderburg et al., 2014).

Chez l'Homme, la séroprévalence en Algérie est estimée à18,5%, avec une grande variation de 7,7% dans les zones urbaines à 35% dans les zones rurales (Lacheheb et Raoult, 2009). Cette variation est due à l'exposition des Hommes vivants dans les zones rurales aux contaminants provenant d'animaux d'élevage (Vanderburg et al., 2014).

-Dans les pays du Maghreb, la prévalence de la fièvre Q chez les bovins est très peu documentée. Chez les petits ruminants (ovins et caprins confondus) la prévalence est estimée à 20% au Maroc et à 28% en Tunisie (Benkirane et al., 1990 ; Rekiki et al., 2005). Chez l'être humain la séroprévalence est estimée à 18,3% au Maroc et à 26% en Tunisie (Vanderburg et al., 2014).

Dans les autres pays africains, la prévalence de la fièvre Q chez les différentes espèces est mieux rapportée :

-En Égypte, 13% chez les bovins, 23% chez les caprins, 33% chez les ovins, 0% chez le buffle et 16% chez les humains en contact étroit avec ces animaux (Nahed et Khaled, 2012).

-Au Tchad, 80% chez le chameaux, 4% chez les bovins, 13% chez les caprins, 11% chez les ovins et 1%chez les humains (Schelling et al., 2003).

La majorité des études sur la prévalence de l'infection à *Coxiella burnetii* en Afrique centrale au Sahel et en Afrique du Sud suggèrent que la séroprévalence chez les bovins est inférieure à 13% dans la plupart des pays (Kamga-Waladjo et al., 2010) et qu'elle est un peu plus élevée chez les petits ruminants (11-33%) (Vanderburg et al., 2014).

- **En Europe**

L'Allemagne et la France sont deux exemples de pays européens. Comme le montrent les résultats obtenus, on remarque une grande hétérogénéité entre les séroprévalences.

-En France, 0.32% chez les bovins, 16 à 21% chez les ovins, 70.3% chez les caprins, 9,8% chez les chiens et 1 à 4% chez l'Homme (Maurinand et Raoult, 1999 ; Rousset et al., 2000 ; 2001 ; Georgiev et al., 2012).

-En Allemagne, 7.8% chez les bovins, 1.3 % chez les ovins, 2.5% chez les caprins, 3% chez les chiens et 22% chez l'Homme (Hellenbrand et al., 2001; Georgiev et al., 2012).

- **Dans le continent Américain**

Dans le continent Américain, au Canada comme aux États-Unis d'Amérique, les bovins constituent le réservoir majeur de la maladie chez les ruminants domestiques (67%), au Canada et (32%) aux USA. Dans une enquête sérologique réalisée en Californie, 66% des chiens de Californie, 9% des chats, 32% des troupeaux de bovins et 26% des chevaux étaient séropositifs. Chez l'être humain, la séroprévalence de la fièvre Q reste mal définie (Maurin et Raoult, 1999).

2.1.4. Distribution dans le temps

Chez les animaux, la fièvre Q sévit avec un caractère enzootique au sein des troupeaux dans des épisodes atteignant les animaux avec un degré différent d'un élevage à l'autre. À l'échelle régionale, la maladie est plutôt sporadique (Rousset et al., 2001 ; Cantas et al., 2011).

La contamination au sein des troupeaux et souvent soumise à un rythme saisonnier suivant le rythme des mise bas. Au moment de ces dernières, les femelles infectées vont excréter la bactérie avec les produits de parturition et dans le lait pendant l'allaitement ce qui expose les nouveaux nés et les autre animaux du troupeau à un risque accru de contamination (Rousset et al., 2001).

Certains travaux ont prouvé le caractère saisonnier de la maladie, la fièvre Q semble se développer en hiver plus qu'en été et s'exprime par des avortements en automne (Yanase et al., 1997 ; Cantas et al., 2011).

2.1.5. Distribution en fonction de l'âge et du sexe

- **Le sexe**

Chez les animaux en général et chez les bovins en particulier, le sexe n'a pas d'influence sur la contamination par *Coxiella burnetii*, seulement, l'exprime chez les femelles par des troubles de reproduction. La maladie passe souvent inaperçue chez les mâles (Tissot-Dupont et Raoult, 1993).

- **L'âge**

Les jeunes animaux nés de mères infectées sont très réceptifs à la fièvre Q, ils développent la maladie qui peut être souvent létale pour eux alors qu'elle est souvent asymptomatique ou se limite à des troubles de reproduction chez les adultes (Tissot-Dupont et Raoult, 1993).

L'influence de l'âge sur la prévalence de la fièvre Q chez les bovins est discutée, certains auteurs confirment la prédominance chez les animaux âgés (McCaughey et al., 2010) alors que d'autres enquêtes sérologiques n'ont pu trouver aucune différence significative entre les différentes classes d'âge (Ruiz-Fons et al., 2010).

2.2. **Épidémiologie analytique**

1.2.5. Sources de contagion

La source primaire de contamination est constituée par les animaux malades exprimant ou non la maladie, ils assurent ainsi la contamination intra et interspécifique ainsi que celle du milieu extérieur. Dans un élevage, la contamination inter espèce étant possible, tout animal excréteur domestique ou sauvage constitue une source potentielle de contamination. Les bovins peuvent contracter *Coxiella burnetii* des bovins malades, des petits ruminants cohabitant l'étable ou partageant le pâturage, de chiens, de chats, de volailles domestiques ou même de pigeons sauvages (Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005).

1.2.5.1.**Réservoirs**

-**Les animaux domestiques (ruminants, carnivores et volailles),** par contact direct ou par contamination du milieu (Rousset et al., 2002).

-**Les animaux sauvages (carnivores et ruminants sauvages, oiseaux migrateurs) :** le rôle des oiseaux migrateurs semble être important dans la contamination des élevages de ruminants, les fientes sont considérées comme source de contamination (Stein et Raoult, 1997).

-**Le milieu extérieur** : contaminé par les matières virulentes excrétées des animaux malades. Ainsi, le sol, le fumier, les matériaux, la nourriture les abreuvoirs et même le pâturage constituent un réservoir d'importance épidémiologique notable (Rousset et al., 2001 ; 2002).

-**Les arthropodes hématophages** : constituent également un réservoir de la fièvre Q mais loin d'être indispensable à la propagation de la bactérie, du moins chez les animaux domestiques (Ho et al., 1995). Les arthropodes contractent la bactérie au cours de leur repas sanguin. Excrétée dans la salive et les fèces, *Coxiella burnetii* bénéficie également d'une transmission transovarienne et transstadiale ce qui assure une bonne propagation dans la population arthropodes (Sprong et al., 2010). Ces derniers permettent non seulement l'entretien de la bactérie mais jouent aussi un rôle de relais amplificateur (Sprong et al., 2010).

En plus des arthropodes hématophages, les amibes peuvent également servir de réservoir pour *Coxiella burnetii* dans la nature, ce qui peut constituer une source de contamination des eaux d'abreuvement des animaux (Scola et Raoult, 2001).

1.2.5.2.**Matières virulentes**

Les matières virulentes sont les substances secrétées par l'animal porteur de la maladie permettant la dissémination du germe à l'extérieur du corps de l'animal. Ces substances

peuvent être un contaminant direct (le lait, le sperme) ou bien indirect (produits de parturition, urines).

- **Les produits de parturition ou d'avortement**

Le placenta, les lochies, les enveloppes fœtales, le liquide amniotique, ces tissus constituent la voie d'excrétion la plus importante de la bactérie (Van Moll et al., 1993 ; Bildfell et al., 2000). En effet, le placenta est le tissu le plus riche en bactéries. La contamination peut être directe (nouveaux nés, léchage, consommation par les carnivores) ou bien indirecte (contamination du milieu) (Hansen et al., 2011).

- **Les sécrétions vaginales**

Coxiella burnetii est secrétée dans les secrétions vaginales (Bildfell et al., 2000). La moitié des vaches portantes *Coxiella burnetii* secrètent cette dernière par le vagin de façon intermittente permettant ainsi la contamination des mâles à la monte et celle du milieu extérieur (Guatteo et al., 2007).

- **Le lait**

La bactérie est secrétée par le tissu mammaire dans le lait par 40% des vaches et contrairement à la sécrétion vaginale, la sécrétion mammaire est continue et peut aller jusqu'à 32 mois couvrant ainsi plusieurs lactations (Willems et al., 1994 ; Berri et al., 2000; Guatteo et al., 2007). Le risque de cette voie de sécrétion se limite aux nouveaux nés et à la contamination humaine par la consommation de lait non pasteurisé (Rodolakis, 2009).

- **Le sperme (**Kruszewska et al., 1997).
- **Les fèces et les urines (**Heinzen et al., 1999 ; Berri et al., 2000 ; Arricau-Bouvery et al., 2001).

Les fèces et les urines sont des contaminants du milieu extérieur, la literie, la nourriture, l'eau de boisson et même le pelage des animaux.

La plus part des animaux adoptent une seule voie de sécrétion, le lait reste le plus contaminé suivie par les fèces et enfin les secrétions vaginales qui semblent être les moins contaminants (Guatteo et al., 2006 ; 2007).

Ainsi pour qualifier une vache laitière vis-à-vis de l'excrétion de *Coxiella burnetii* par les méthodes directes ou par PCR, la réalisation de plusieurs prélèvements est nécessaire car le diagnostic à partir d'un seul prélèvement peut augmenter considérablement le nombre de faux positifs (Beaudeau et al., 2006).

Les poussières contaminées par les excrétions ou les produits animales (laine, produits d'abattage, produits de parturition ou d'avortement) constituent une source de contamination très importante vue le caractère aéroporté de l'infection par *Coxiella burnetii* (Carrieri et al., 2002). En effet, des microorganismes ont pu être retrouvés dans l'air jusqu'à deux semaines (Rousset et al., 2001).

1.2.6. Résistance du germe

Coxiella burnetii est considérée parmi les bactéries non sporulées les plus résistantes au monde.

1.2.6.1. **Aux agents physiques**

Coxiella burnetii résiste très bien à la dessiccation ce qui permet sa persistance dans la nature. Elle survie 2 ans dans les déjections de tiques desséchées, 150jours dans le sol et plusieurs semaines dans l'air et l'eau (Marrie, 1990 ; Rousset et al., 2000).

La bactérie résiste à des températures allant jusqu'à 100°C. Elle résiste 30 minutes à 63°C, et 7 secondes à 100°C (Cerf et Condron, 2006). À température ambiante de 20°C, *Coxiella burnetii* peut survivre jusqu'à 2 ans et 70 heures à 4°C (température du réfrigérateur) (Rousset et al., 2000). Quant aux rayons ultraviolets, une exposition de 30 minutes est suffisante pour détruire la bactérie (Rousset et al., 2000).

1.2.6.2.**Aux agents chimiques**

Coxiella burnetii est sensible à l'action de nombreux désinfectants et résistantes à certains d'autres. Le phénol à 1%, le formaldéhyde à 0.3%, le diéthyléther, l'eau de Javel, la soude à 0.5% et l'acide chlorhydrique à 1 % sont des agents chimiques désinfectants pour la bactérie avec une efficacité et une durée d'action plus ou moins importante (Guatteo et al., 2007).

L'eau oxygénée et l'éther deux désinfectants usuels sont avérés non efficaces contre le germe (Marrie, 1990 ; Guatteo et al., 2007).

1.2.6.3. **Dans les matières virulentes**

Coxiella burnetii peut survivre 6 mois dans le sang séché, 7 mois dans la laine, 32 mois dans le lait de vache, quelques semaines dans les urines et 11 à 18 jours dans les fèces des ovins (Thomas et Palmer, 1994 ; Guatteo et al., 2006 ; 2007).

1.2.6.4. **Aux antibiotiques**

La localisation intracellulaire exclusive de *Coxiella burnetii* rend difficile ou même impossibles les tests de sensibilité aux antibiotiques utilisés habituellement (Raoult et al., 1990).

Coxiella burnetii comme toutes les bactéries peut présenter certaines résistances aux molécules antimicrobiennes usuelles. Seulement, les conditions acides des phagolysosomes hébergeant la bactérie rend difficile la détermination de l'origine de ces résistances car la plupart des antibiotiques sont inactivés par l'acidité ceux qui rend nécessaire la détermination de la gamme d'antibiotiques résistant à l'acidité vacuolaire et inhibant le germe en même temps (Raoult et al., 1990 ; Brennan et Samuel, 2003). La résistance de la bactérie dépend de plusieurs facteurs dont la souche et la dose de l'antibiotique. Les B-lactamines restent les molécules les moins efficaces contre l'agent de la fièvre Q aussi les sulfamides et le triméthoprime (Raoult et al., 1991 ; Brennan et Samuel, 2003).

1.2.7. Réceptivité et sensibilité du terrain

1.2.7.1. **Facteur intrinsèques -l'état d'immunodépression-**

-Lors de gestation ;

-De maladies infectieuses (salmonellose, listériose…etc.) ;

-D'alimentation carencée ;

-De consommation de certains médicaments immunodépresseurs (anti inflammatoires stéroïdiens) (Marrie, 1990 ; Maurin et Raoult, 1999).

1.2.7.2. **Facteurs extrinsèques**

-Le mode d'élevage

En élevage extensif, le contact avec les animaux sauvages favorise la réceptivité de la maladie. En élevage intensif, la contamination est favorisée par le confinement et la promiscuité (Durand et Durand, 1993). La transhumance ainsi que le renouvellement des troupeaux participent à la propagation et à l'importation de la fièvre Q dans les élevages (Rousset et al., 2002).

-Le climat

La dissémination des poussières véhicules de *Coxiella burnetii* est favorisée par le vent, le temps sec et la végétation aride (Carrieri et al., 2002). Les périodes sèches peuvent encourager la formation et la propagation de poussières et d'aérosols infectieux (Marrie et al., 1996 ; Lyytikainen et al., 1997).

- **Chez l'être humain**

Les populations à risque sont celles en contact avec les animaux ou leurs produits (éleveurs, vétérinaires, marchands de bestiaux, personnels des laiteries, des abattoirs…etc.). Il s'agit donc de populations plutôt rurales (Maurin et Raoult, 1999).

1.2.8. Transmission

1.2.8.1. **Mode de transmission**

- **Transmission directe**

-Horizontale : lors de contact direct entre les animaux partageant la même étable. La transmission sexuelle a été démontrée expérimentalement chez la souris et reste une possibilité à prendre en compte chez l'espèce bovine vue l'isolement de *Coxiella burnetii* de la semence du taureau (Kruszewska et al., 1997 ; Norlander, 2000).

-Verticale : ce mode de transmission a été prouvé chez les tiques (Sprong et al., 2010). Chez les bovins et les autres ruminants, l'existence de l'infection chez les nouveaux nés ne constitue pas une preuve suffisante pour évoquer une transmission verticale chez ces espèces la contamination peut survenir lors de la mise bas ou bien lors de contact du fœtus avec les enveloppes fœtales contaminées par le placenta (Rousset et al, 2001).

- **Transmission indirecte**

C'est la modalité la plus importante de transmission pour *Coxiella burnetii* vue la propagation et la résistance de la bactérie dans le milieu extérieur contaminé (Norlander, 2000).

Le milieu extérieur (literie, abreuvoir, sol…etc.) présente le réservoir le plus important de l'agent pathogène. La contamination des animaux indirectement à partir de ce réservoir se fait par différentes voies dont la voie orale qui constitue de loin la voie de contamination la plus importante (Rousset et al., 2000).

La transmission par les arthropodes hématophages a été également évoquée, certains auteurs indiquent que le rôle des tiques dans la transmission de la fièvre Q aux animaux d'élevage est

négligeable alors que d'autres estiment que leur rôle est très important dans la transmission de la maladie des animaux saints aux animaux malades (Durand et Durand, 1993 ; Rousset et al., 2000).

1.2.8.2. **Voies de contamination**

La voie digestive est de loin la voie la plus importante de contamination par *Coxiella burnetii* par effet de léchage, de consommation d'aliments et d'eaux contaminés et par ingestion de par les carnivores produits de parturition et d'avortement (Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005).

La voie respiratoire constitue une voie d'importance majeure par inhalation d'aérosols lors de contact direct avec les animaux atteints ou de particules de poussières contaminées (Durand et Durand, 1993 ; Marrie et al., 1996 ; Lyytikainen et al., 1997).

La voie cutanée constitue une porte d'entrée très probable chez l'être humain, chez les animaux en particulier chez les ruminants cette vois n'a pas été prouvée.

La voie congénitale provoque l'avortement ou la mort post natale du fœtus donc elle ne peut pas être considérée comme une voie de contamination chez les bovins. Les contaminations oculaires, génitales, intra mammaires sont très probable chez les bovins mais restent à prouver par contamination naturelle (Marrie et al., 1996).

3. La Chlamydophilose abortive

3.1. **Epidémiologie descriptive**

3.1.1. **Répartition géographique**

Chlamydophila abortus est un germe ubiquitaire présent sur toute la surface terrestre y compris l'Australie et la Nouvelle Zélande. L'incidence de la maladie varie d'une région géographique à une autre et d'une espèce animale à une autre (McCauley et al., 2010).

3.1.2. **Animaux atteints :**

Les bactéries appartenant à la famille des Chlamydiaceae présentent une grande spécificité d'hôte (Pannekoek et al., 2010). *Chlamydophila abortus* anciennement appelée *Chlamydia psittaci sérovar 1* peut infecter les espèces suivantes :

- **Les ruminants domestiques:**

Constituent la cible principale de *Chlamydophila abortus.* Les bovins, les ovins et les caprins constituent le réservoir principal de la bactérie (Pannekoek et al., 2010). Le portage est souvent asymptomatique. En cas d'expression clinique, l'avortement et les troubles de reproduction constituent les symptômes les plus caractéristiques de la maladie chez les ruminants domestiques (Jee et al., 2004).

- **Les équidés et les porcins** (Pantchev et al., 2009) ;
- **Les ongulés sauvages** (Cubero-Pablo et al., 2000) ;
- **L'être humain** (Pospischil et al., 2002) ;
- **Carnivores domestiques (chat et chien)** (Salinas et al., 1995) ;
- **Oiseaux (extrêmement rare)** (Herrmann et al., 2000).

3.1.3. **Prévalence**

Chlamydophila abortus est pratiquement présente partout dans le monde. Malgré son caractère zoonotique, cette bactérie a été recherchée chez les petits ruminants comme cause majeure d'avortements et négligée chez les autres espèces comme les bovins ou elle constitue une cause très importante d'infertilité. Son incidence est la plus faible des espèces des Chlamydiaceae (Jee et al., 2004).

- **En Afrique**

En Algérie, la prévalence de la chlamydophilose abortive chez les petits ruminants a été estimée à 1.38% par Rahal et son équipe lors d'une enquête sérologique réalisée dans la région de Kasr el Boukhari en 2011(Rahal et al., 2011), à 8.5% par Merdja et son équipe (Merdja et al., 2014) et 24,5% par Hireche et ses collaborateur dans la région dans de Constantine (Hireche et al., 2014). Chez les bovins, cette prévalence est un peu plus importante, elle est estimée à 3.2% dans une enquête sérologique réalisée par Dechicha et ses collaborateur en 2010 dans les régions de Tipaza et Blida (Dechicha et al., 2010).

Dans les autres pays du Maghreb, la chlamydophilose abortive a présenté une prévalence de 30 à 70% au Maroc (El idrissi, 1998) et de 18% en Tunisie (Rekiki et al., 2001) pour les petits ruminants espèces premières cibles de la maladie. Ces résultats présentent une très grande hétérogénécité dans une même région qui est celle du Maghreb où les conditions climatiques et géographique sont presque les mêmes.

Dans les autres pays Africains, des prévalences plus ou moins importantes ont été enregistrées chez l'espèce bovine, 2.3% au Togo (kakpo et al., 1994) et 11.2% en Zambie (Ghirotti et al. 1991).

Dans les autres régions du monde, les prévalences enregistrées sont hétérogènes d'un pays à l'autre. En Europe, les prévalences de *Chlamydophila abortus* ont été estimées à 4.8% chez les ovins et 5.8% chez les caprins en Italie (Masala et al., 2005), 18.9% chez les ongulés sauvages en Espagne (Cubero-Pablo et al., 2000) et 2 à 29% chez les ovins en Suisse (Borel et al., 2004). En Asie, la prévalence de la chlamydophilose abortive a été estimée à 19.9% chez les vaches laitières en Jordanie (Talafha et al., 2012) et à 5.38% chez les ovins en Turquie (Otlu et al., 2007).

3.1.4. **Distribution dans le temps**

Chez les animaux, La chlamydophilose abortive à *Chlamydophila abortus* sévit avec un caractère épizootique chez les bovins et enzootique chez les petits ruminants. Ceci indique que la transmission de la bactérie chez les petits ruminants est beaucoup plus importante que chez les bovins (Jee et al., 2004). Le caractère cyclique suivant le rythme des parturitions est mis en évidence chez les petits ruminants surtout chez les caprins (Borel et al., 2006).

3.1.5. **Distribution en fonction de l'âge et du sexe**

- **Le sexe**

Le sexe n'a pas d'influence sur le portage de *Chlamydophila abortus* chez les animaux et même chez les humains (Teankum et al., 2007). Le tropisme génital de la bactérie permet une meilleure expression chez les femelles que chez les mâles ce qui évoque le rôle des mâles dans la dissémination du germe vue leur statut de porteurs asymptomatiques (Teankum et al., 2007).

- **L'âge**

L'infection par *Chlamydophila abortus* semble être plus fréquente chez les veaux que chez les adultes du fait de leur système immunitaire peu développé (Jee et al., 2004). Une enquête sérologique menée par Talafha et son équipe en 2012 en Jordanie a démontré l'existence d'une relation entre l'âge des bovins et la séroprévalence de *Chlamydophila abortus*, les animaux âgés de 2 à 6 ans et de 8 à 10 ans sont les plus infectés par le germe (Talafha et al., 2012).

3.2.**Épidémiologie analytique**

3.2.1. **Sources de contagion**

La source primaire de contamination est constituée par les animaux excrétant qu'ils soient symptomatiques ou non. La contamination interspécifique a été mise en évidence, la contamination des bovins est le plus souvent originaire des petits ruminants cohabitant avec eux dans le même étable, partageant le même pâturage ou même dans les marchés de vente des bétails (Wehrend et al., 2005).

3.2.1.1. Réservoirs

-**Les ruminants domestiques :** constituent le principal réservoir de la maladie. Les petits ruminants sont la source de *Chlamydophila abortus* la plus importante dans un élevage ou dans une région géographique (Pannekoek et al., 2010).

-**Les ruminants sauvages :** leur rôle comme réservoirs de la bactérie est négligeable par rapport aux ruminants domestiques (Cubero-Pablo et al., 2000).

-**Le milieu extérieur** : le milieu extérieur (sol, matériaux, abreuvoirs, pâturage…etc.) contaminée par les excrétions bactériennes des animaux malades constitue un réservoir peu important dans la propagation de la chlamydophilose abortive en élevages vu la résistance modérée de *Chlamydophila abortus* à l'extérieur (Jee et al., 2004).

-**Les arthropodes hématophages** :

Le rôle des arthropodes hématophages a été rapporté par certains auteurs comme réservoir possible à *Chlamydophila abortus* mais l'importance de ce rôle –s'il existe- n'a pas encore été élucidée (Jee et al., 2004).

3.2.1.2. Matières virulentes

- **Les produits de parturition ou d'avortement**

La quantité de germes secrétés par les ovins et les caprins est beaucoup plus importante que celle secrétée chez les bovins. De ce fait, les produits de parturitions normaux issus de femelles infectées (liquides, placenta, enveloppes…etc.) et les produits d'avortement (avorton et annexes) constituent une source importante de *Chlamydophila abortus* dans les élevages de ruminants (Borel et al., 2006).

- **Le mucus vaginal**

L'excrétion de *Chlamydophila abortus* dans le mucus vaginal a été mise en évidence mais elle n'est pas très importante par rapport aux autres espèces de Chlamydophila (*Chlamydophila pecorum*). L'excrétion de la bactérie par le vagin constitue une source importante de contamination pour le milieu extérieur et pour les mâles reproducteurs lors de la monté naturelle (Jee et al., 2004).

- **Le lait**

Une voie de sécrétion très importante pour *Chlamydophila abortus*. La sécrétion est intermittente mais pas obligatoire après une mise bas (Jee et al., 2004).

- **Le sperme**

Chez les bovins, le sperme constitue une matière virulente pour la transmission de *Chlamydophila abortus* (Kruszewska et al., 1997 ; Amin, 2003). Dans une enquête réalisée par Teankum et ses collaborateurs en 2007, 1.9% des taureaux reproducteurs excrétaient *Chlamydophila abortus* dans leurs semences (Teankum et al., 2007) mais cette sécrétion n'est pas permanente elle peut être absente chez tous les taureaux d'un élevage (Karlsson et al., 2010).

Les urines, les fèces les sécrétions nasales et oculaires constituent également des matières virulentes transportant la bactérie mais moins importantes que celle décrites plus haut (Rodolakis et Mohamad, 2008).

3.2.2. **Résistance du germe**

- **Aux agents physiques et chimiques**

Les Chlamydiaceae résistent pendant quelques jours dans le milieu extérieur à des températures moyennes. À 0°C les germes peuvent résister pendant quelques mois. Les bactéries sont résistantes aux acides et aux bases, on peut les détruire par la chaleur ou grâce aux désinfectants et détergents comme les ammoniums quaternaires ou encore le formaldéhyde (Jee et al., 2004).

- **Aux antibiotiques**

Étant intracellulaire, l'étude de la résistance des Chlamydiaceae *in vitro* n'est pas pratiquée par les méthodes d'étude usuelles (Rodriguez et al., 1995). L'induction de la résistance a été observée *in vitro* mais une résistance stable homotypique a été trouvée seulement dans des isolats provenant de porcs (Bébéar et al., 2007).

La résistance acquise est plus controversée chez les chlamydiae. Des échecs thérapeutiques ont été attribués à la présence de souches montrant une résistance hétérotypique à plusieurs antibiotiques, résistance qui concernait seulement une petite fraction de la population bactérienne. Ainsi, la résistance hétérotypique est peut-être simplement l'induction d'un état de persistance réfractaire aux antibiotiques et sa responsabilité dans les échecs thérapeutiques n'est pas claire (Rodriguez et al., 1995 ; Bébéar et al., 2007).

3.2.3. **Réceptivité et sensibilité du terrain**

3.2.3.1. Facteur intrinsèques

-La gestation ;

-Les maladies de reproduction (kystes ovariens) (Wehrend et al., 2005);

-Les maladies infectieuses (salmonelle, viroses, mycoses) ;

-L'alimentation carencée (hypocalcémie) (Wehrend et al., 2005);

-La consommation de médicaments immunosuppresseurs.

3.2.3.2. Facteurs extrinsèques

-Le mode d'élevage

La grande taille du troupeau et la stabulation libre sont des facteurs favorisant la contamination par *Chlamydophila abortus* par augmentation de contact entre animaux excréteurs ou contaminés et sains (Wehrend et al., 2005).

-Le climat

Vue la résistance dans le milieu extérieur des bactéries de la famille des Chlamydiaceae, le climat n'a pas d'influence sur la survie de ces derniers dans le milieu extérieur. Le temps sec et venteux peut favoriser la dissémination de la bactérie d'un territoire à l'autre (Rodolakis et Yousef Mohamad, 2008).

-Chez l'être humain

Les populations des zones rurales en contact avec les ruminants d'élevage, les vétérinaires, les employeurs d'abattoirs de tanneries sont les plus exposés au risque de contamination par *Chlamydophila spp* (Herring et al., 1987 ; Jorgensen, 1990).

3.2.4. **Transmission**

3.2.4.1. Mode de transmission

- **Transmission directe**

-Horizontale : c'est la voie la plus importante. Lors de contact direct entre les sujets sains et les porteurs sécréteurs de la bactérie. Le léchage mutuel constitue une modalité de transmission très importante en élevages des ruminants. La transmission sexuelle a été controversée chez les bovins, l'excrétion de la bactérie dans la semence et la sécrétion du germe par voie vaginale chez les génisses vierges supposent que la contamination de l'appareil reproducteur chez les femelles se fait par voie non sexuelle (Wehrend et al., 2005).
-Verticale : chez les bovins, la transmission verticale n'existe pas. La contamination des nouveaux nés se fait essentiellement par les enveloppe fœtales, par le lait maternel ou bien par les bactéries disséminées dans l'étable (Teankum et al., 2007).

- **Transmission indirecte**

Les animaux malades excrètent la bactérie dans le milieu extérieur contaminant ainsi le sol, la literie, la nourriture, l'eau de boisson et même les matériaux (Jee et al., 2004 ; Wehrend et al., 2005).

3.2.4.2. Voies de contamination

La voie digestive est de loin la voie la plus fréquente de contamination des bovins par *Chlamydophila abortus*. La consommation d'aliments souillés, d'eaux contaminées par les secrétions d'animaux malades et le léchage mutuel mettent en disposition des animaux un nombre important de germes contaminant (Wehrend et al., 2005). L'inhalation de particules ou gouttelettes contaminées constitue aussi une voie de contamination importante.

La contamination des vaches par voie sexuelle est controversée. La sécrétion de la bactérie dans le sperme des mâles reproducteurs infectés a évoqué la contamination sexuelle chez les femelles reproductives, mais l'excrétion de la bactérie chez les femelles jeunes qui n'ont jamais eu de saillie évoquent la possibilité de contamination de l'appareil reproducteur femelle par voie non sexuelle (Jee et al., 2004 ;Teankum et al., 2007).

IX. Pathogénie

3. ***Coxiella burnetii***

Coxiella burnetii est un germe intra cellulaire stricte, il pénètre dans l'organisme de l'animal ou de l'être humain par différentes voies: digestives, respiratoire,…etc. La bactérie est connue pour son affinité et sa survie à l'intérieur des cellules de la lignée myéloïdes, monocytes, macrophages, cellules dendritiques et granulocytes considérées comme les véhicules principaux de la bactérie vers les organes cibles (Mege et al., 1997 ; Shannon et al., 2009).

Le séjour de *Coxiella burnetii* dans les cellules phagocytaires est critique pour le développement de la maladie. Ces dernières constituent le véhicule des germes vers les cellules hôtes définitives (Mege et al., 1997). Le germe interagit avec une intégrine membranaire permettant sa phagocytose par une voie non microbicide permettant sa survie et sa multiplication au sein d'une vacuole parasitophore à PH acide. L'exocytose de la bactérie par ces cellules permet la colonisation d'autre tissus cibles (Capo et al., 1999).

La présence de *Coxiella burnetii* a été démontrée dans le sang, les poumons, la rate, le foie et l'appareil reproducteur femelle (Shannon et al., 2009). Après le transport des germes par les cellules phagocytaires, ces derniers infectent entre autres les cellules du trophoblaste cellules originaires du placenta chez les femelles gestantes (Ben Amara et al., 2010). Chez les

vaches l'antigène de *C. burnetii* est présent dan sle trophoblaste, surtout le long de la base des villosités choriales et dans les espaces intervilleux dans les placentas de fœtus avortés (Van Moll et al., 1993).

Le placenta des ruminants et des bovins en particulier est considéré comme le tissu le plus riche en particules bactériennes, les placentas des animaux infectés contiennent jusqu'à10^9organismes/g (Ben Amara et al., 2010). Bien que les mécanismes précis provoquant l'avortement soient largement indéfinis, il est clair que l'inflammation excessive à l'interface maternelle pourrait jouer un rôle essentiel dans l'interruption de la gestation (Bildfell et al., 2000). La surcharge des cellules placentaires en particules bactériennes provoque l'intervention des cellules immunitaires présentes dans le placenta par l'induction d'un phénomène inflammatoire visant à limiter et à éliminer l'infection, le développement d'une placentite nécrosante et de thrombus intra vasculaire semble être le résultat de l'infection du placenta par *Coxiella burnetii* (Van Moll et al., 1993 ; Bildfell et al., 2000). Dans ce contexte, il est évident que l'interruption de la gestation est causée plus par les lésions placentaires résultant des réactions immunitaires contre l'infection par la bactérie que par l'action du germe lui-même (Ben Amara et al., 2010).

Coxiella burnetii persiste dans l'utérus grâce à la transmission du germe aux cellules filles après division cellulaire (Maurin et al., 1992). Ce phénomène permet à la maladie de passer d'une phase aigue à une autre chronique, les avortements et les troubles de reproduction persistent pendant plusieurs gestations ou plusieurs cycles chez les animaux infectés (Van Moll et al., 1993).

4. ***Chlamydophila abortus***

Selon le mode de contamination, *Chlamydia spp* peut se retrouver au niveau des différentes muqueuses de l'organisme de l'animal infecté. Les cellules épithéliales, les cellules endothéliales vasculaires, les cellules des muscles lisses, les monocytes et les macrophages sont les cellules cibles de la bactérie (Byrne et Ojcius, 2004).

Chlamydophila abortus infecte les bovins par voie digestive, respiratoire ou même vénérienne (DeGraves et al., 2004). Grâce aux macrophages et à travers le flux sanguin, *C. abortus* atteint sa destination finale là ou elle se multiplie. Contrairement aux autres Chlamydophila, *C. abortus* ne provoque pas d'infection locale à son point d'introduction mais exprime son action dans ses tissus cibles uniquement (DeGraves et al., 2004).

L’action de *Chlamydophila abortus* se réplique dans les cellules cotylédonaires du placenta ce qui induit une réaction inflammatoire accrue causant ainsi une placentite, une vascularite et une nécrose du tissu placentaire. Toutes ces manifestations inflammatoires semblent être la cause des avortements et des métrites chez les bovins ainsi que chez les autres espèces animales et chez l’être humain (Perez-Martinez et Storz, 1985 ; DeGraves et al., 2004).

La capacité à induire une infection persistante est l'une des caractéristiques principales de toutes les espèces de la famille des Chlamydiaceae (Airenne et al., 1999). Dans la chlamydophilose abortive, la persistance indique un état d'infection dans lequel la cellule hôte ne peut pas éliminer la bactérie, ce qui induit des dommages continus qui se traduisent par un portage inapparent avec une sécrétion de la bactérie. Cet état de latence peut se transformer en maladie clinique, selon l'équilibre entre l'organisme et la cellule hôte (Hammerschlag, 2002).

X. Symptômes et lésions

4. La fièvre Q

4.1. **Symptômes**

L’infection par *Coxiella burnetii* est principalement inapparente. Cependant, la bactérie est responsable des troubles de reproduction chez les ruminants domestiques et chez l’être humain en plus de certains symptômes touchant l’appareil respiratoire et cardiaque (Bildfell et al., 2000).

- **Chez les bovins**

L’infection peut rester à l’état latent pendant plusieurs années, La forme asymptomatique est la plus fréquente de la maladie.

La maladie peut occasionnellement entraîner des symptômes apparents. L’hyperthermie discrète, l’anorexie, les avortements et les troubles de reproduction, les bronchopneumonies et les kératoconjonctivites constituent les principaux symptômes engendrés par *Coxiella burnetii*. Néanmoins, les avortements et les troubles de reproduction dominent le tableau clinique (Plommet et al., 1973).

La phase aigue de la maladie passe souvent inaperçue, elle est dominée par l’hyperthermie, l’anorexie et des signes respiratoires. La guérison est spontanée. La phase chronique quand à elle, est dominée par des avortements et des troubles de reproduction (Norlander, 2000).

Les avortements causés par *Coxiella burnetii* surviennent en fin de gestation (à partir du sixième mois). Frustes, sans prodrome ni complications, le fœtus est expulsé mort en général mais si l'avortement survient vers le huitième mois, le fœtus peut être expulsé vivant mais non viable avec ou sans rétention placentaire. La mise bas prématurée ou à terme peut donner naissance à des veaux chétifs. Les veaux nés de mères infectées présentent souvent dès le troisième jour des troubles généraux avec faiblesse, anorexie, dysenterie et déshydratation puis, parfois, pneumonie et arthrite. L'évolution vers la mort est rapide en l'absence de traitement (Plommet et al., 1973). De nouveaux épisodes d'avortements peuvent se produire à répétition dans un élevage bovin touchant ainsi les vaches ayant déjà avorté ou même celles qui n'ont jamais présenté de troubles.

Chez les bovins, les métrites et les troubles de reproduction sont plus fréquents que les avortements. Les métrites peuvent être aiguës ou chroniques, Elles surviennent aussi bien après une parturition et une délivrance normales qu'après une rétention du placenta ou un avortement (Bildfell et al., 2000).

Les troubles de reproduction se résument dans l'infertilité et le non retour en chaleur. Les mammites aussi peuvent être parmi les symptômes de la fièvre Q chez les bovins survenues seules ou avec les autres signes cliniques (Kim et al., 2005).

- **Chez les petits ruminants**

Chez les petits ruminants et contrairement aux bovins la maladie s'exprime essentiellement par des avortements, pendant le dernier mois de gestation, sans signes cliniques précurseurs ou par des mises bas, prématurées ou à terme, d'agneaux ou de chevreaux chétifs (Kersh et al., 2013). La mortalité peut être supérieure à 50% et la morbidité de 100% (Mc Quiston et Childs, 2002).

Après un avortement, les femelles se rétablissent rapidement et les gestations suivantes se déroulent d'une façon normale sauf en cas de mort fœtale ou de rétention placentaire où des surinfections bactériennes qui peuvent provoquer des métrites de gravité élevée dans très peu de cas (Maurin et al., 1992).

- **Chez l'être humain**

La fièvre Q humaine est asymptomatique dans 60% des cas. Elle s'exprime d'une façon aigue sous forme d'un syndrome pseudo-grippal de pneumopathie ou d'hépatite. La forme chronique se traduit souvent par un des cardiopathies, des vascularites et des hépatopathies chroniques (Tissot-dupont et al., 2004).

Coxiella burnetii peut entrainer chez la femme enceinte comme chez la femelle animale gestante des avortements et des accouchements prématurés selon le stade de grossesse de la femme lors de son infection par la bactérie (Maurin et al., 1992).

4.2. **Lésions**

Les lésions provoquées par *Coxiella burnetii* se trouve essentiellement au niveau du placenta (Bildfell et al., 2000). A la délivrance normale ou manuelle, on note une placentite nécrosante et purulente avec des zones d'exsudat crémeux blanc-jaune. Le placenta se présente parfois épaissi et induré, parfois œdémateux avec des enveloppes gélatineuses. Le mucus est très abondant épais, en général violacé, marron ou jaunâtre.

Chez les bovins, le fœtus ne présente pas de lésions notables contrairement aux petits ruminants qui présentent des lésions plus prononcées. Chez les petits ruminants et particulièrement chez les caprins, un examen soigneux de l'avorton peut révéler la présence de pétéchies sur la peau ainsi que l'existence d'œdèmes sous-cutanés. À l'autopsie, on observe fréquemment des inflammations localisées dans les poumons, le foie et les reins chez les fœtus des petits ruminants (Maurin et al., 1992).

4.3. Chlamydophilose abortive

4.4. **Symptômes**

Chlamydophila abortus l'agent responsable de l'avortement épizootique chez les bovins est reconnue comme agent abortif chez les ruminants et l'être humain. La chlamydophilose abortive est souvent inapparente mais elle s'exprime dans peu de cas chez différentes espèces par un tableau clinique dominé par des avortements et des troubles de reproduction (DeGraves et al., 2004).

- **Chez les bovins**

L'infection par *Chlamydophila abortus* est fréquemment inapparente chez les bovins (Reinhold et al., 2011). Lors de l'expression de la maladie, les animaux présentent une température corporelle sensiblement plus élevée (subfébrile), une anorexie et une faiblesse transitoire avec une légère perte du poids corporel (Reinhold et al., 2008).

Les troubles de reproduction et les avortements sont les signes dominateurs de la chlamydophilose abortive bovine apparente (DeGraves et al., 2004). Les avortements- moins fréquents que les troubles de reproduction se produisent généralement au cours du dernier

trimestre de la gestation sans signes cliniques préliminaires (Storz, 1971 ; DeGraves et al., 2004). Les rétentions placentaires sont rares et l'avorton expulsé ne porte généralement pas de malformations ou de lésions macroscopiques apparentes, il est souvent recouvert d'exsudat brun-rouge provenant du placenta (Longbottom et Coulter, 2003). Quand la gestation est à terme, les femelles donnent fréquemment naissance à des veaux morts ou chétifs. Les veaux nés de femelles infectées peuvent présenter des arthrites, des conjonctivites ainsi que des pneumonies (Jee et al., 2004).

Les avortements surviennent en particulier chez les génisses en première gestation. Dans un élevage les avortements surviennent de façon cyclique pendant 2ou 3ans jusqu'à ce que presque toutes les vaches avortent et seulement de 1% à 5% des avortements se répètent pendant plusieurs années. donc il est exceptionnel pour une vache d'avorter deux fois (Rodolakis et al., 1998). Habituellement, les femelles qui avortent récupèrent rapidement sans effets néfastes (Jee et al., 2004).

Les troubles de reproduction se traduisent généralement par le retard de retour en chaleur ou carrément par l'infécondité et la stérilité (Longbottom et Coulter, 2003).

La maladie peut s'exprimer également par des métrites qui peuvent êtres de pronostic très sérieux ainsi que des mammites aigues ou chroniques. Des érythèmes vaginaux et des petits granulomes sous-épithéliales peuvent aussi apparaitre pendant l'infection (Jee et al., 2004).

- **Chez les petits ruminants**

Chez les petits ruminants que se soit ovins ou caprins la chlamydophilose abortive s'exprime beaucoup plus par des avortements contrairement aux bovins occasionnant ainsi des pertes économiques très importantes (Longbottom et Coulter, 2003).

L'avortement survient au cours des 2-3dernieres semaines de gestation sans signes précurseurs. Quand la gestation se termine normalement, les femelles infectées donnent souvent naissance à des nouveaux nés morts ou chétifs sans lésions apparentes (Rodolakis, 2006).

- **Chez l'être humain**

L'infection à *Chlamydophila abortus* chez l'être humain est souvent inapparente, la maladie a tendance à s'exprimer par un syndrome pseudo-grippale ordinaire (Herring et al., 1987). Chez les femmes enceintes, le germe peut provoquer des avortements pendant le premier trimestre de la grossesse (Jorgensen, 1990).

4.5. **Lésions**

Après parturition normale ou après avortement, la placentite purulente ou nécrosante constitue la lésion la plus fréquente lors de l'infection par *Chlamydophila abortus* (Holliman et al., 1994 ; Longbottom et Coulter, 2003). Les vascularites sont fréquentes mais se limitent au placenta généralement (Longbottom et Coulter, 2003).

Le fœtus avorté ou le nouveaux nés chétifs ne montrent pas de lésions macroscopiques spécifiques (Vaughan et al., 2006).

À l'autopsie, les veaux nés de mères infectées peuvent présenter une bronchiolite folliculaire avec une inflammation et un poids élevé des amygdales pharyngées (Reinhold et al., 2008)

XI. Diagnostic

3. La fièvre Q

3.1.Diagnostic clinique et lésionnel

Le diagnostic clinique est considéré sans intérêt chez les bovins à cause du caractère asymptomatique dominant de la maladie. À son expression, les symptômes occasionnés par la fièvre Q (avortement et troubles de reproduction) sont considérés comme non spécifiques.

Le diagnostic lésionnel à l'battoir ou à l'autopsie n'est également pas de grande importance car les lésions engendrées par le germe se limitent à des inflammations non spécifiques.

3.2.Diagnostic de laboratoire

3.2.1. **Diagnostic direct**

Le diagnostic direct peut être réalisé à partir de différents types de prélèvements. Les échantillons peuvent être obtenus à partir d'avortons, de placenta et d'écoulements vaginaux juste après l'avortement ou la parturition. Le lait de mélange, le lait individuel ou le colostrum ainsi que les échantillons de matières fécales peuvent aussi être étudiés (Fournier et al., 1998).

Coxiella burnetii est une bactérie très virulente considérée comme très dangereuse pour l'être humain. De ce fait, sa manipulation exige des structures spécialisées ayant un niveau de confinement 3.

3.2.1.1. Isolement de l'agent pathogène

Rarement utilisé en médecine vétérinaire du fait de ses contraintes. Techniques onéreuses nécessitant un laboratoire bien adapté avec un niveau de confinement 3, les prélèvements doivent être réalisés sans contamination en plus techniques lentes fournissant un résultat tardif même s'il est pertinent (Spyridaki et al., 2002).

3.2.1.1.1. Culture

Se fait sur culture cellulaire ou sur œufs de poules embryonnés (Bouvery et al., 2003). Des systèmes de microcultures cellulaires commercialisées sont développés pour ce fait. Après

préparation d'une suspension d'échantillon, cette dernière est inoculée sur des fibroblastes embryonnaires de poumon humain (HEL).

L'effet cytopathogène (ECP) caractéristique de *Coxiella burnetii* est examiné au 3eme, 10eme et 21eme jour. Après le 10eme jour, l'analyse directe par immunofluorescence est réalisable pour confirmer la présence de *C. burnetii*.

Pour avoir un isolat de la bactérie, des inoculations sont réalisées sur cellules VERO ou sur fibroblastes de souris L929 après vérification de l'inoculum par coloration de Gimenez et analyse PCR (Spyridaki et al., 2002).

La culture sur œufs embryonnés de 5 jours se fait sur œufs de poule au niveau du sac vitellin. La récolte des sacs vitellins est réalisée après 10 à 15 jours d'incubation et des examens de frottis colorés à partir de ces sacs ou d'analyse PCR sont réalisés pour confirmer la présence de *Coxiella burnetii*. L'isolat pur de la bactérie est obtenu après passage répétés sur œufs (Ho et al., 1995).

3.2.1.1.2. Inoculation aux animaux de laboratoire

L'inoculation se fait par voie intrapéritoniale chez les souris et les cobayes. Les sérums sont collectés et analysés après 21 jours à la recherche d'anticorps anti-*Coxiella burnetii.* Si au cours de la période d'incubation une augmentation de température corporelle est notée, la rate de l'animal est récupérée après son sacrifice servant ainsi pour l'isolement du germe sur culture cellulaire ou sur œufs embryonnés (Bouvery et al., 2003).

L'inoculation aux animaux de laboratoire est utilisée en utilisant des échantillons fortement contaminés, tels que les placentas, écoulements vaginaux, fèces ou lait (Bouvery et al., 2003).

3.2.1.2. Mise en évidence directe

3.2.1.2.1. Coloration

La coloration se fait sur des frottis préparés à partir de placentas, d'écoulements vaginaux, d'avortons ou d'autres organes connus cibles pour *Coxiella burnetii* (poumons, foie et nœuds lymphatiques) ou à partir de calques réalisé à partir de ces organes (Quinn et al., 1994).

Plusieurs colorations sont utilisées, Stamp, Ziehl-Neelsen, Gimenez, Giemsa, Macchiavello et Koster (Quinn et al., 1994 ; Guatteo et al., 2006).

La bactérie apparait en coccobacilles de très petite taille (0,3 à 1,5 µm de long x 0,2 à 0,4 µm de large) colorées en rose sur un fond bleu ou vert par la coloration de Stamp (Quinn et al., 1994) (figure n°16).

Coxiella burnetii peut être confondue avec *Chlamydophila abortus* ou *Brucella spp*. La corrélation entre l'examen direct par coloration et la sérologie est nécessaire (Quinn et al., 1994).

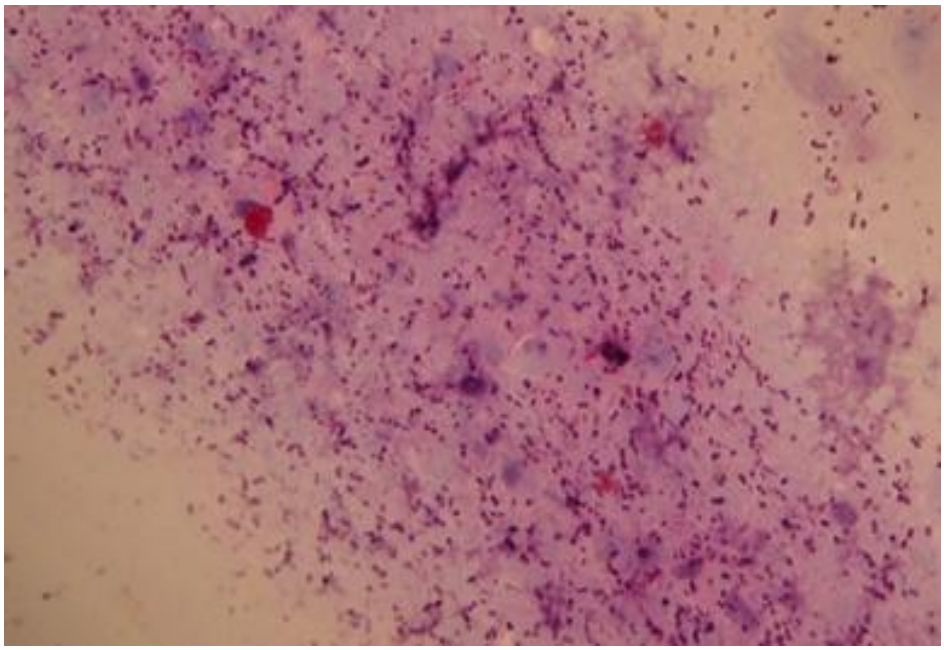

Figure n°17 : *Coxiella burnetii* cultivée expérimentalement sur œufs embryonnés après coloration de Stamp (x1000) (Kerkhofs, 2010)

3.2.1.2.2. Immunodétection

C'est une analyse immunoenzymatique ou immunofluorescente réalisée sur des tissus fixés à l'acétone ou inclus dans la paraffine (Raoult et al., 1994).

L'analyse fait appel à des anticorps polyclonaux dirigés contre *Coxiella burnetii* et à un conjugué anti-IgG anti-espèce marquée avec de l'isothiocyanate de fluorescéine (ITCF) ou de la peroxydase utilisées comme marqueurs pour visualiser la bactérie (Fournier et al., 1998).

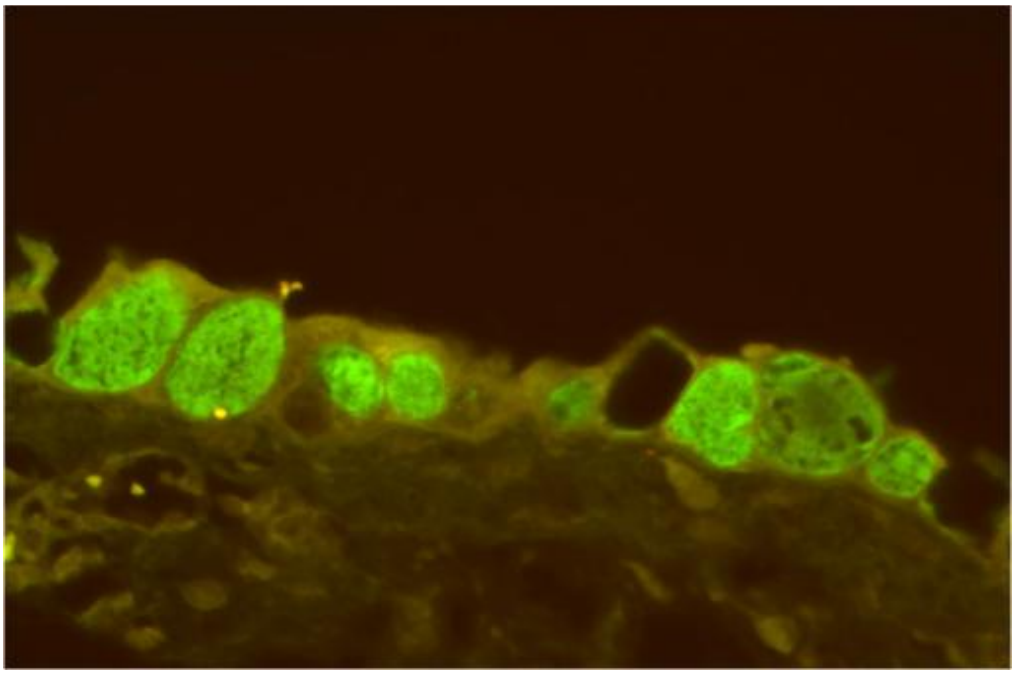

Figure n°18 : mise en évidence de *Coxiella burnetii*dans les cellules du trophoblaste par immunofluorescence directe (Agerholm, 2013)

3.2.1.3. Polymérase Chain Réaction (PCR)

Technique hautement spécifique, rapide et sensible. La PCR vise à détecter l'ADN de *Coxiella burnetii* dans l'échantillon, l'amplifier pour qu'il soit enfin détecter.

Cette technique est applicable avec n'importe quel type de prélèvement (Beaudeau et al., 2006). A l'heure actuelle, les recherches ont développé des technique PCR multiplex permettant d'amplifier simultanément plusieurs microorganismes et des techniques PCR temps réel dans le but d'estimer la charge bactérienne dans les échantillons (Berri et al., 2009).

Cette technique a permis aux chercheurs d'élucider certains points dans la pathogénie de *Coxiella burnetii* surtout en ce qui concerne les voies de sécrétion de la bactérie (technique capable de détecter une *Coxiella burnetii* par 1 ml de lait) (Guatteo et al., 2006 ; 2007). Dans la médecine vétérinaire ou dans le dépistage épidémiologique, l'utilisation de la PCR reste très limitée vue son coût trop élevé.

3.2.2. **Diagnostic indirect**

3.2.2.1. Test de fixation du complément

C'est la technique la plus utilisée en diagnostic vétérinaire pour la fièvre Q. Elle consiste en la recherche des anticorps anti-*Coxiella burnetii* dans le sérum, le lait ou le colostrum (Peter et al., 1987).

La technique est réalisée sur des plaques permettant la fixation du complément aux anticorps que peut contenir l'échantillon. La méthode est considérée comme spécifique mais moins sensible par rapport à d'autres techniques (ELISA) (Fournier et al., 1998).

Selon les recommandations de l'OIE, après réalisation de plusieurs dilutions, des titres en anticorps anti-*Coxiella burnetii* entre 1/10 et 1/40 sont caractéristiques d'une infection latente. Des titres de 1/80 ou au-delà dans un ou plusieurs sérums provenant d'un groupe de 5 à 10 animaux révèlent une phase évolutive de l'infection (OIE, 2005).

3.2.2.2. Tests immunoenzymatiques

La technique 'Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay' connue par la technique ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps (Walker et Rapley ; 2008). Cette technique a une sensibilité élevée et une bonne spécificité (Fournier et al., 1998 ;Rousset et al., 2007).

Technique fiable pour démontrer la présence d'anticorps dirigés contre *Coxiella burnetii* dans le sérum et le lait (Jaspers et al., 1994). La technique exige un antigène pur, des trousses de diagnostic prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce et peuvent détecter des anticorps de phase II ou de phase I et II de *Coxiella burnetii* (Waag et al., 1995).

4. La chlamydophilose abortive

4.1.Diagnostic clinique et lésionnel

Comme pour la fièvre Q, le diagnostic clinique et lésionnel est considéré sans intérêt. Le caractère asymptomatique de la maladie et la non spécificité des symptômes et des lésions orientent le clinicien vers les examens de laboratoire pour établir un diagnostic de certitude (Borel et al., 2006; Berri et al., 2009).

4.2.Diagnostic de laboratoire

4.2.1. **Diagnostic direct**

Chlamydia spp est un germe fragile dans le milieu extérieur. L'inconvénient du diagnostic direct est qu'il dépend des conditions de transport et de conservation de l'échantillon (Sachse et al., 2008).

Pour maintenir la vitalité des bactéries, l'échantillon est conservé à +4°C dans un milieu de transport approprié, tel que le saccharose / phosphate / glutamate ou SPG moyen supplémenté avec du sérum fœtal de veau additionné d'antibiotiques tel que la streptomycine (200 ug / ml), la gentamicine (50 pg / ml), la vancomycine (75 pg / ml) et la nystatine (25 unités / ml) (la pénicilline, les tétracycline et chloramphénicol inhibent la croissance des chlamydia et ne doivent pas être utilisés (Sachse et al., 2008).

4.2.1.1. Isolement de *Chlamydophila abortus*

L'isolement de la bactérie se fait sur œufs embryonnés ou sur culture cellulaire. Les embryons inoculés meurent entre le 4^{eme} et le 13^{eme} jour. La mise en évidence du germe se fait après coloration (OIE, 2008).

Les cellules McCoy, BGM (Buffalo green monkey) ou BHK (Baby hamster kidney) sont les plus couramment utilisées pour la culture cellulaire. La coloration des cellules de la culture par les méthodes de Giemsa ou de Gimenez après une incubation de 3 jours à la recherche de vacuole contenant *Chlamydophila abortus* (OIE, 2008)**.**

4.2.1.2. Mise en évidence directe

4.2.1.2.1. Coloration

Les frottis préparé à partir de calques d'organe (placenta) ou de coupes tissulaires peuvent être colorés en utilisant l'une des colorations usuelles. La coloration de Machiavello modifié, de Gimenez, modifiée, de Giemsa ou de Ziehl modifiées sont les techniques de coloration les plus utilisées pour mettre en évidence *Chlamydia spp* (Dagnall et Wilsmore, 1990).

Colorés avec la technique de Ziehl-Nelson, les corps élémentaires se présentent en petits corps coccoides en rouge ou rose sur un fond bleu ou vert. L'inconvénient de cette méthode est le manque de spécificité du fait de la grande ressemblance entre *Chlamydophila abortus* et *Coxiella burnetii* (Sachse et al., 2008).

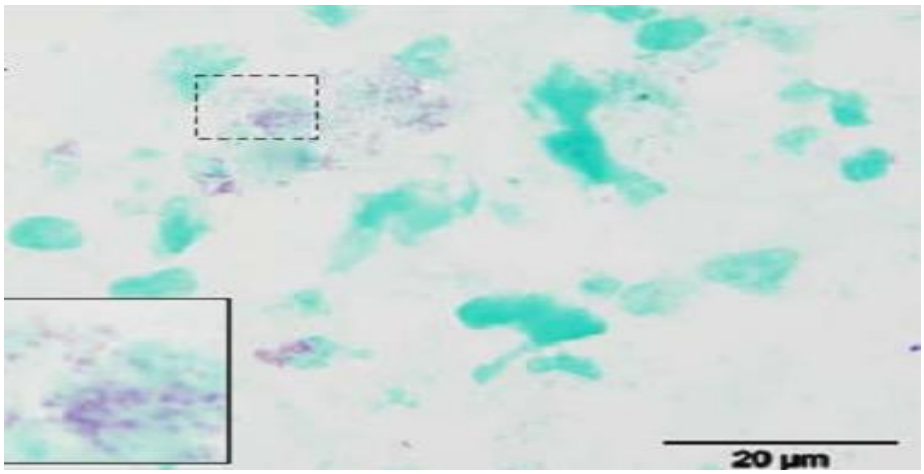

Figure n°19 : Corps élémentaires de *Chlamydophila abortus* mis en évidence par la coloration de Ziehl-Nelson (Sachse et al., 2008)

4.2.1.2.2. Immunodétection

Technique rapide et sensible consiste en l'utilisation sur coupes de tissus d'anticorps monoclonaux dirigés contre les antigènes de surface de *Chlamydophila abortus* (LPS ou MOMP) et d'antisérum couplé à la fluorescéine (Zahn et al., 1995 ;Hoelzle et al., 2004 ; Borel et al., 2006).

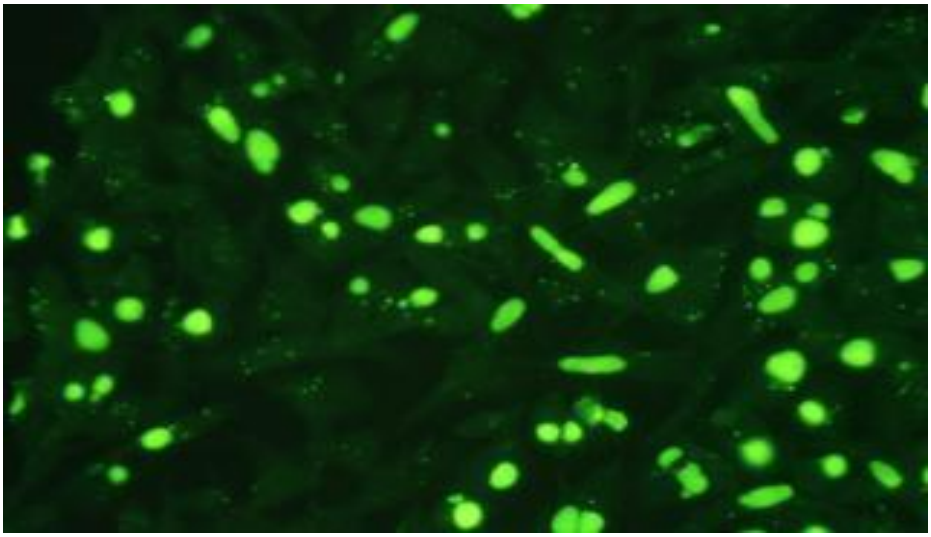

Figure n°20 : mise en évidence de *Chlamydophila abortus* immunofluorescence directe (Longbottom, 2012)

4.2.1.3. Polymérase Chain Réaction (PCR)

La PCR a connu ces derniers temps le développement de différentes variantes visant à assurer la détection quantitative du germe ainsi que la recherche de plusieurs agents infectieux dans le même échantillon (Berri et al., 2009).

Technique très sensible et spécifique mais avec un coût élevé, réservé en général pour le domaine de la recherche. La recherche de *Chlamydophila abortus* se fait dans tout type de prélèvements que soit liquides (secrétions de l'animal vivant) ou bien fragment d'organes après mort de l'animal (Borel et al., 2006).

4.2.2. **Diagnostic indirect**

Repose sur la recherche d'anticorps anti-*Chlamydophila abortus* dans le sérum et le lait. La détection d'anticorps a des fins multiples en médecine vétérinaire, elle constitue un outil précieux de diagnostic beaucoup plus simple pour sa réalisation et moins onéreux que les autres (isolement, PCR) et sert au dépistage de la maladie et à la détermination du statut immunitaire des animaux après vaccination (Sachse et al., 2008).

4.2.2.1. Test de fixation du complément

Technique adopté par l'OIE pour le diagnostic et le dépistage de la chlamydophilose abortive. Son avantage est sa simplicité mais elle a l'inconvénient d'avoir une spécificité limitée du fait des réactions croisées avec *Chlamydophila pecorum* et même avec les autres bactéries gram négatif (Trávniček et al., 2002 ;Sachse et al., 2008).

4.2.2.2. Test immunoenzymatiques

La technique ELISA indirecte constitue le test immunoenzymatique le plus utilisé en diagnostic dans la médecine vétérinaire et même humaine du fait de sa simplicité et de sa sensibilité et de son coût réduit par rapport à la PCR (Trávniček et al., 2002). Le test ELISA indirect commercialisé repose sur la mise en évidence d'anticorps anti-LPS de *Chlamydophila abortus* (Sachse et al., 2008).

XII. Traitement et prophylaxie

3. Fièvre Q

3.1.**Traitement**

L'antibiothérapie anti infectieuse est le traitement de choix pour la fièvre Q chez l'animal ou chez l'être humain. En élevage, l'oxytétracycline est la molécule la plus utilisée. La dose est la fréquence des administrations varient en fonction de l'intensité des symptômes présentés par l'animal. En cas d'avortement la dose habituelle est de 20 mg/Kg de poids vif. En cas de

métrites, des soins locaux sont souvent effectués comme des injections intra-utérines fréquentes d'oxytétracycline, alternées avec des irrigations antiseptiques pendant 3-5 semaines (Aitken, 1989 ; Rodolakis, 2006).

3.2. **Prophylaxie**

3.2.1. Sanitaire

La fièvre Q animale est une maladie à épidémiologie très complexe du fait de la multiplicité des réservoirs, de la haute résistance de la bactérie dans le milieu extérieur et du portage souvent inapparent de la maladie (Aitken, 1989).

Ainsi, la prophylaxie de la fièvre Q bovine vise à lutter contre la maladie et à limiter ses conséquences sanitaires et économiques et à lutter également contre la propagation de la pathologie en élevage tout en limitant l'excrétion et la dissémination de *Coxiella burnetii* par les animaux porteurs (Durand et Durand, 1993).

La protection de l'être humain constitue également un but majeur dans la lutte contre la fièvre Q chez les ruminants domestiques du fait du danger potentiel encouru par le personnel travaillant aux seins des exploitations, des abattoirs et des vétérinaires (Maurin et Raoult, 1999).

-En milieu sain

En milieu sain, les mesures de protection visent à éviter l'introduction de la maladie dans le troupeau par :

-Contrôle du statut sanitaire des animaux avant l'introduction à la ferme, par mise en quarantaine et contrôle sérologique (de l'animal lui-même et du troupeau d'origine) et éviter l'introduction d'animaux dont le statut sanitaire est inconnu surtout avant les périodes de saillie, de gestation ou de mise bas (Krauss, 1989 ; Rousset et al., 2001).

-Lutter contre les tiques vectrices probables de la maladie (Krauss, 1989).

-Adopter une bonne conduite d'élevage pour limiter le contact des bovins avec les animaux réservoirs (sauvages ou domestiques) par clôture des pâturage et limitation de la transhumance (Krauss, 1989 ; Rousset et al., 2001).

3.3.**En milieu infecté**

En milieu contaminé, les mesures de prophylaxie visent à éviter la propagation de la maladie et la dissémination de la bactérie dans l'environnement évitant ainsi la contamination d'autres

animaux ou troupeaux indemnes. Par rapport aux mesures prises dans les exploitations indemnes, les mesures appliquées en milieu contaminé doivent être très rigoureuses (Rousset et al., 2001 ; 2002 ; Guatteo et al., 2007).

-Isoler les femelles avortées avec destruction d'avortons et de placentas ainsi que les femelles infectées lors de la mise bas pendant 2 semaines avec leurs produits (Van Moll et al., 1993 ; Bildfell et al., 2000 ; Guatteo et al., 2007).

-Isoler les femelles en chaleur et écarter les femelles infectées de la reproduction (Van Moll et al., 1993).

-Adopter une bonne conduite d'élevage et une bonne conception des locaux de façon à éviter la souillure des aliments et de l'eau de boisson par les matières fécales, les urines et les secrétions vaginales et à séparer les différentes espèces de ruminants et lutter contre les rongeurs (Rousset et al., 2001 ; 2002).

-Interdire les déplacements des animaux infectés ou provenant de troupeaux infectés (Aitken, 1989).

-Effectuer des dépistages sérologiques lors d'épisodes de métrites ou d'avortements et envoyer à la réforme les animaux confirmés comme atteints (Rousset et al., 2002 ; Guatteo et al., 2007).

-Désinfecter les locaux, les matériaux, les véhicule et éliminer la paille souillée (Guatteo et al., 2007).

-Protection du personnel par des mesures sanitaires appropriées (port de masque, de gants, vaccination pour les personnes à risque...etc.) (Rodolakis, 2006).

3.2.2. Médicale

3.2.2.1.**Antibioprévention**

Consiste à mettre en place un traitement chez les vaches ayant avorté et éventuellement celles en fin de gestation dans un but curatif chez les femelles avortées (réduire l'excrétion de la bactérie) et préventifs chez celles en fin de gestation (éviter l'avortement chez les femelles n'ayant pas avorté).Les antibiotiques utilisés sont les tétracyclines plus particulièrement

l'oxytétracycline sous sa forme longue action à la dose de 20 mg/kg en deux injections pratiquées à 10-15 jours d'intervalle (Rolain et al.,2005).

3.2.2.2.**Vaccination**

Coxiella burnetii se présente sous deux phases, phase I et phase II. La phase I est la phase virulente, la phase II, moins virulente ,s'obtient après plusieurs passages sur culture de cellules ou sur œufs embryonnés (Rodolakis, 2006). Les bactéries en phase II pénètrent plus facilement dans les cellules que celles qui sont en phase I mais, contrairement à elles, ces dernières ne résistent pas aux défenses de l'animal, la réponse immunitaire est alors faible et irrégulière. De ce fait, les vaccins développés contre la phase I sont avérés plus efficace que ceux contre la phase II (Rodolakis, 2006 ; Guatteo et al., 2008).

Chez les bovins, COXEVAC® est le seul vaccin utilisé. C'est un vaccin atténué de phase I qui a prouvé son efficacité en ce qui concerne la réduction du taux d'avortement et d'excrétion de *Coxiella burnetii* (Serbezov et al., 1999 ; Guatteo et al., 2008).

Le protocole recommandé chez les bovins dans les troupeaux infectés consiste en l'administration de deux injections sous-cutanées (4 ml) de vaccin espacées de 3 semaines (primo vaccination). Dans cette espèce, du fait de l'absence de groupage de mises bas, le moment de l'injection est le plus souvent indépendant du stade physiologique (gestation).Un rappel annuel est préconisé sans mention de la durée totale du schéma vaccinal (Arricau-Bouvery et al., 2005). Le fabriquant préconise de ne pas vacciner les femelles gestantes. Cependant, les premières observations sur le terrain indiqueraient qu'il est possible de l'utiliser chez les femelles gestantes quelque soit le stade de gestation sans entraîner d'effets indésirables (Guatteo et al., 2008).

4. Chlamydophilose abortive

4.1.**Traitement**

Les tétracyclines sont les molécules de choix pour le traitement de la chlamydophilose bovine. La dose et la fréquence d'administration changent en fonction de la gravité de l'atteinte (Rodolakis, 2006).

4.2.**Prophylaxie**

4.2.1. Sanitaire

Chlamydophila abortus est une bactérie sensible dans le milieu extérieur, la contamination des bovins se fait beaucoup plus par contact direct entre animaux sains et infectés. La lutte contre la propagation de la maladie en élevage bovin se concentre beaucoup plus sur la séparation des animaux porteurs et indemnes (Wehrend et al., 2005).

Les mesures classiques d'hygiène et de précautions pour l'introduction de nouveaux animaux dans le troupeau peuvent être efficaces pour prévenir l'apparition de la chlamydiose abortive dans un troupeau indemne (Rodolakis, 2006):

-Isoler les femelles infectées ayant avorté ou mis bas et détruire les produits d'avortements (Borel et al., 2006).

-Effectuer des dépistages sérologiques (DeGraves et al., 2004)**.**

-Ne pas introduire des animaux à statut sanitaire inconnu, atteints ou provenant de troupeaux infectés (Wehrend et al., 2005).

-En cas de transhumance, séparer les troupeaux de différentes espèces de ruminants (Wehrend et al., 2005).

-Adopter une bonne conduite d'élevage, suivre les règles d'hygiène, désinfecter régulièrement les locaux, lutter contre les rongeurs (Rodolakis et Mohamad, 2008).

-Suivre les mesures d'hygiène et de protection pour les êtres humains en contact avec les animaux malades (Jorgensen, 1990)**.**

4.2.2. Médicale

4.2.2.1.**Antibioprévention**

Comme pour la fièvre Q, l'administration de l'oxytétracycline à la dose de 20 mg/Kg pour les femelles en fin de gestation semble diminuer les risques d'avortement mais ne diminue pas l'excrétion de la bactérie par les femelles atteintes (Rodolakis, 2006).

4.2.2.2.**Vaccination**

Les vaccins contre *Chlamydophila abortus* ont été développés chez les petits ruminants. Un vaccin vivant atténué contenant une souche de *C. abortus*1B thermosensible (CEVAC

Chlamydia® ou OVILIS Chlamydia®) a démontré son efficacité protectrice sur les ovins pendant 3 saisons de reproduction (Rodolakis, 2006 ; Rocchi et al., 2008).

La vaccination chez les bovins est très peu pratiquée, les vaccins destinés aux ovins sont utilisés chez les bovins avec des résultats satisfaisants (diminution des taux d'avortements et amélioration des performances des veaux nouveaux nés) (Rodolakis, 2006).

En 2013, un vaccin bivalent OVIVAC® CS anti *Chlamydophila abortus* et anti *Salmonella abortus* a été développé pour être utilisé chez les petits ruminants et chez les bovins à la fois mais aucune étude n'a été menée pour tester l'efficacité de ce vaccin. Une primo vaccination est administrée suivie d'une seconde après 20-25 j. Un rappel est effectué chaque 12 mois.

Partie expérimentale

Objectifs

La première partie de ce travail visait à fournir des informations préliminaires sur la séroprévalence de *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* par la technique ELISA dans différentes exploitations bovines de la région de Jijel afin de situer le rôle du bovin comme réservoir potentiel zoonotique et d'estimer le poids réel de ces infections dans la région, Ensuite d'évaluer le taux de co-infection mis en évidence.

Un autre objectif important dans cette étude était de réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un lien causal entre la présence des bovins séropositifs à *Coxiella burnetii* et/ou *Chlamydophila abortus* et les exploitations pour lesquelles les performances de reproduction ne sont pas satisfaisantes pour raison d'infécondité ou d'avortements.

Enfin, ce travail avait aussi pour objectif de déterminer les indicateurs ou facteurs de risque susceptibles de favoriser la transmission de ces deux maladies.

I. Matériel et méthodes

1. Zone d'étude

S'étalant sur une superficie de 2.396,63 km2, avec une façade maritime de 120 Kms, la wilaya de Jijel est comprise entre les méridiens 5°25 et 6°30 Est de Greenwich, et entre les parallèles 36°10 et 36°50, hémisphère Nord. La région appartient au domaine Nord atlasique connu localement sous le nom de la chaîne des Babors, elle est limitée par :

- La mer méditerranée au Nord
- La wilaya de Skikda à l'Est.
- La wilaya de Bejaia à l'Ouest.

- La wilaya de Sétif et de Mila au Sud (anonyme).

Sur le plan administratif, la wilaya de Jijel est divisée en 11 daïras et 28 communes (figure n°15).

Figure n°21 : carte administrative de la wilaya de Jijel (anonyme)

Faisant partie du grand ensemble du tell oriental Algérien; la région de Jijel présente un relief montagneux très complexé dans sa structure et dans sa morphologie. Elle se distingue par un grand massif montagneux, par un ensemble collinaire et par des étendues de plaines côtières et de vallées (Boudjedjou, 2010).

La région de Jijel est considérée parmi les régions les plus pluvieuses en Algérie, elle est caractérisée par un climat méditerranéen pluvieux et froid en hiver, chaud et humide en été. Les températures varient entre 20C° et 35C° en été et de 5C° à 15C° en hiver avec une moyenne annuelle de 18.30°C.La saison de pluie dure environ 6 mois (111 jours pluvieux). Les précipitations moyennes annuelles enregistrées dans la wilaya varient de 800 à 1200 mm/an. L'humidité atmosphérique est de 71% en moyenne (Boudjedjou, 2010).

La région de Jijel est couverte de larges forêts de chênes-lièges et d'une grande variété d'espèces. On trouve mélangés aux chênes-lièges, l'olivier, le lentisque et l'yeuse. À part ces plantes, il y a des étendues considérables d'espèces à feuillage caduc telles que les chênes zen et afares, l'orme et le frêne. Dans certaines zones côtières, ces espèces sont remplacées par le pin maritime (Boudjedjou, 2010).

2. Population cible

7.1. L'élevage bovin dans la wilaya de Jijel

7.1.1. **Effectif bovin**

En Algérie, l'élevage ovin prédomine, il représente 78% du total des effectifs avec plus de 20 million têtes, suivi par les caprins 14% avec plus de 3 million têtes, puis l'élevage bovin qui représente seulement6% de l'effectif global avec plus de 1.5 million têtes dont 58% vaches laitières (Nadjraoui, 2001).

Dans la wilaya de Jijel, l'élevage bovin occupe la deuxième place derrière l'élevage ovin. L'effectif bovin dans la région de Jijel est important par rapport aux autres régions du pays. Il est estimé à 87822 têtes selon la compagne agricole de 2012-2013 (DSA de la wilaya de Jijel), ce qui représente plus de 6% du cheptel national.

7.1.2. **Races exploitées**

Les animaux exploités appartiennent à plusieurs races bovines. Par souci de simplicité, nous suivrons la nomenclature établie par les services du ministère de l'agriculture qui identifie trois catégories de bovins : bovins laitiers modernes (B.L.M), bovins laitiers améliorés (B.L.A) et bovins laitiers locaux (B.L.L). Le tableau suivant résume les effectifs des différentes catégories de bovins (tableau 4).

Tableau n°4 : différentes catégories de bovins avec leurs effectifs (DSA de Jijel ; 2013)

Catégorie	Vaches laitières					

	B.L.M	B.L.A + B.L.L	Génisses	Taureaux reproducteur	Taurillons (12-18mois)	Veaux -12mois	Veles -12 mois
Effectifs	**3867**	**43693**	**9818**	**2206**	**7014**	**10496**	**10728**
	47560						

- **Les B.L.M :** se sont des bovins appartenant aux races modernes (européenne pour la plupart) avec un potentiel de production très important. Ils prédominent dans les zones de plaines et à proximité des centres urbains en élevages intensifs et semi intensifs.
- **Les B.L.A :** se sont des bovins issus des différents croisements entre les races locales et les races modernes avec un potentiel de production moyen. On les retrouve un peu partout en élevages extensifs ou semi intensifs.
- **Les B.L.L :** bovins représentants les différentes races dites locales avec un potentiel de production faible et limité. Ces bovins sont les plus nombreux, on les trouve en élevage extensif dans les zones montagneuses et forestières et même dans les plaines. Les races locales sont caractérisées par l'adaptation aux conditions difficiles du milieu. En effet, elles sont adaptées à la marche en terrains difficiles, aux variations des régimes alimentaires, à la résistance aux maladies et à la sous alimentation.

7.1.3. **Répartition des bovins sur le territoire de la wilaya**

La répartition des élevages bovins sur le territoire de la wilaya n'est pas uniforme ; les plaines hébergent plus d'exploitations agricoles que les montagnes. Et même la répartition selon les catégories n'est pas uniforme ; les plaines sont caractérisées par la dominance des B.L.M et des B.L.A alors que les montagnes et les forêts caractérisées par la dominance des B.L.L plus que des autres catégories de vaches laitières. Ceci s'explique par la présence du facteur humain dans les plaines beaucoup plus que dans les montagnes et les forêts. Le type d'élevage joue aussi un rôle très important dans cette répartition car les élevages des plaines sont pour la majorité des élevages modernes avec des troupeaux importants destinés à la production laitière alors que ceux des hauteurs sont pour la plupart de type familiale avec de petits troupeaux destinés à la consommation des propriétaires et de leur familles.

Avec un effectif estimé à prés de 90 000 têtes, l'élevage bovin occupe une place importante dans l'économie agricole de la wilaya de Jijel. Le cheptel bovin dans la région de Jijel a connu une régression remarquable. Le tableau suivant résume le développement en effectif de l'élevage bovin dans la région de Jijel (tableau n°5)

Tableau n°5 : développement des effectifs bovins durant les trois dernières années (DSA de la wilaya de Jijel)

Année	Total Bovins (têtes)	Vaches laitières (têtes)	B.L.M (têtes)	B.L.A+B.L.L (têtes)
2011	**96572**	**53586**	**4079**	**49507**
2012	**92809**	**50367**	**3957**	**46410**
2013	**87822**	**47560**	**3867**	**43693**

7.2. Description du cheptel prélevé

Les élevages prélevés ont été essentiellement constitués de bovins de races locales (49%) et de races importées (41%), avec quelques individus de races croisées (10%).

8. Stratégie d'échantillonnage et enquête épidémiologique

8.1. Échantillonnage

L'étude épidémiologique réalisée est de type transversal, elle a eu lieu durant la période allant de mois de Mai 2013 au mois de Mai 2014, sur 184 femelles bovines reproductive issus de 90 fermes sélectionnées sur la base d'un échantillon représentatif.

Si on se réfère au chiffre de la Direction des services agricoles de la wilaya de Jijel 2013, le taux d'échantillonnage réalisé a été d'environ 0.21% pour les bovins (n=87822).

L'échantillonnage a été réalisé en deux étapes ; nous avons d'abord effectué un choix aléatoire des fermes en se déplaçons au hasard dans chaque commune et avec l'aide des vétérinaires praticiens privés (par manque de listes d'éleveurs au niveau de la DSA).Le but était d'avoir une répartition homogène des élevages sélectionnés sur la zone d'étude.

Par la suite, le nombre de bovins à prélever dans chaque ferme a été défini en fonction du nombre total de bovins présents dans celle-ci : soit la ferme comprenait moins de 10 bovins et, dans ce cas tous les bovins étaient prélevés, soit la ferme contenait plus de 10 bovins et, dans ce cas, au moins 10% des individus étaient prélevés. L'objectif était d'avoir un échantillon représentant au moins 10% de l'ensemble des individus présents dans les fermes visitées (Ghalmi et al., 2012).

Le choix des bovins (femelles reproductives) prélevés au sein de chaque ferme a été réalisé au hasard. Les prélèvements en été répartis par commune comme suit (tableau n°6):

Tableau n°6 : répartition des prélèvements par commune

Commune	Effectif femelles	Nombre de bovins prélevés	Nombre de fermes prélevés
EL OUANA	2715	9	6
SELMA	460	3	2
Z-MANSOURIAH	1170	4	2
ERRAGUENE	1510	5	2
JIJEL	2126	7	3
KAOUS	2083	7	3
EMIR ABDELKADER	2038	7	4
TEXANNA	1181	4	2
DJIMLA	915	3	2
BENI YADJIS	444	3	2
TAHER	4005	13	3
OUDJANA	2045	7	3
CHAHNA	1570	6	4
CHAKFA	3333	12	6

BOURDJ-THAR	**1002**	**4**	**2**
OULED ESKEUR	**1065**	**5**	**3**
SIDI ABDElAZIZ	**416**	**2**	**1**
EL KENNAR	**296**	**2**	**1**
BENI HBIBI	**641**	**4**	**3**
EL ANCER	**2227**	**8**	**4**
OULED ADJOUL	**2435**	**9**	**3**
BELHADEF	**3195**	**11**	**7**
EL MILIA	**2510**	**9**	**7**
SETTARA	**2406**	**9**	**3**
OULED YAHIA	**1494**	**6**	**2**
SIDI MAROUF	**2242**	**8**	**2**
OULED RABAH	**2176**	**8**	**3**
GUEBALA	**2592**	**9**	**5**

8.2. Enquête épidémiologique descriptive

La recherche épidémiologique en médecine vétérinaire sert en général à répondre à une question précise visant à établir un lien entre l'exposition des animaux à des facteurs de risques (mode d'élevage, alimentation,…etc.) et des effets ultérieurs sur le développement et l'expression de telle et telle maladie. Toutes les enquêtes — ou presque — sont effectuées grâce à un questionnaire qui constitue l'outil de base de collecte des données.

Un questionnaire épidémiologique a été adressé à l'éleveur afin de relever si des épisodes d'avortement ont été observés ou jamais. Ce questionnaire nous a permis aussi de relever d'autres renseignements en rapport avec chaque individu prélevé (voir annexe n°1).

La plupart des questions demandent une réponse fermée, donc courte facilitant l'analyse, tout en laissant toujours la possibilité de rajouter une information qui aurait été oubliée mais qu'en jugerait importante. Les questions portent sur :

- Des informations générales concernant l'élevage:

- emplacement de l'exploitation (commune et hauteur).
- nombre de vaches dans le troupeau.
- type, mode d'élevage et de stabulation.
- contact des bovins avec d'autres animaux.
- hygiène, entretien et suivie médicale par le vétérinaire.

-Des informations concernant l'animale prélevé :

- âge, race et état d'embonpoint.
- vache gestante ou non.
- nombre de gestations.
- antécédents de maladies.
- introduction à la ferme.
- présence ou non d'éventuels symptômes au moment du prélèvement.

-Des informations concernant les pathologies abortives :

- présence ou non d'un éventuel avortement.
- stade de gestation au cours duquel est survenu l'avortement.
- symptômes accompagnants l'avortement.
- délivrance de l'avorton et du placenta.
- forme de l'avorton et du placenta.
- prévalence de l'avortement au sein du troupeau.

Les questions ont été posés directement aux éleveurs par langage courant et facile, certaines réponses ont été données directement par l'éleveur (historique de l'animal, historique de l'avortement,….etc.) d'autres ont été relevées par nous même. Avant de quitter la ferme ou bien l'exploitation, on vérifiait les données fournies par l'éleveur à la recherche d'éventuelles contradictions. Enfin, les informations collectées ont été organisées et groupées dans un fichier Excel en attendant leur analyse et traitement ultérieur.

9. Nature et préparation des prélèvements

9.1. Nature des prélèvements

Pour les prélèvements sanguins, nous avons ponctionné soit à partir de la veine coccygienne (caudale) ou bien à partir de la veine jugulaire. Du sang a été recueilli dans des tubes secs de système VACUTAINER sous vide (réf 365964) (5 ml dans chaque tube).

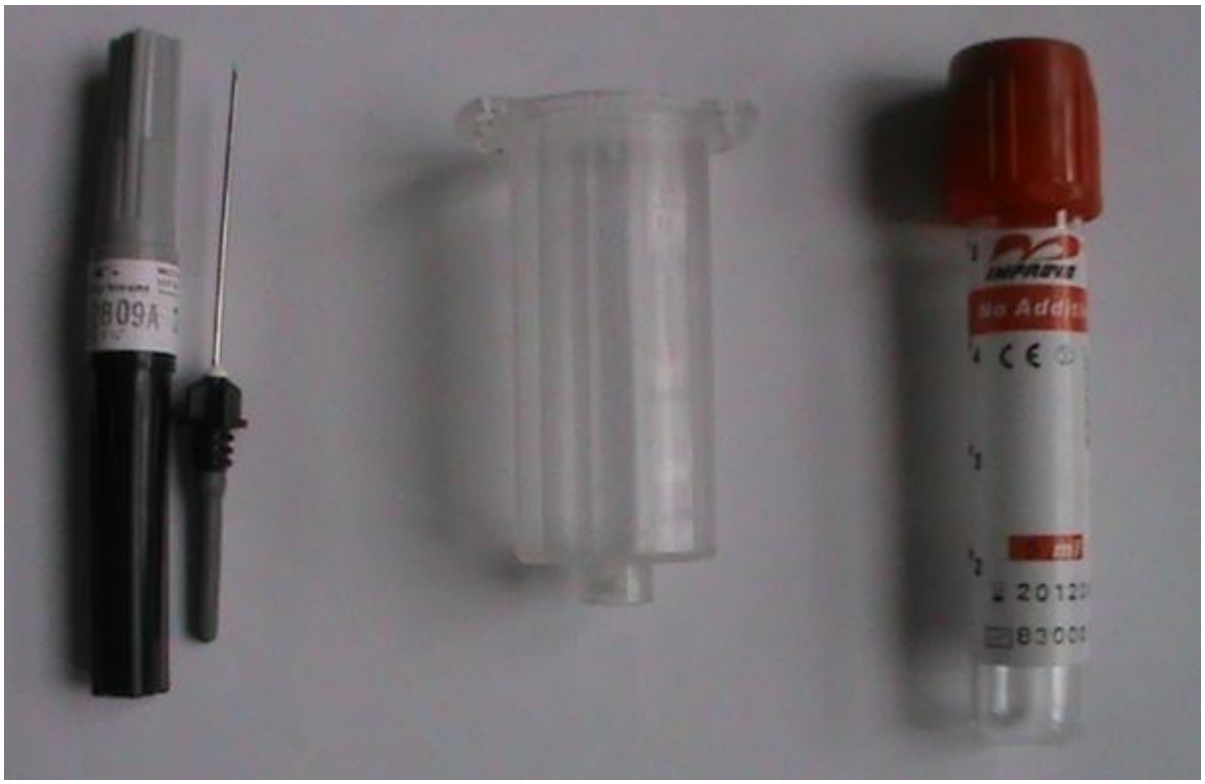

Figure n° 22: matériel utilisé pour les prélèvements sanguins

9.2. Préparation des prélèvements

Les tubes de prélèvements ont été étiquetés selon un code faisant ressortir le numéro d'identification de l'animal. Les échantillons ont été transportés et acheminés vers le laboratoire de biochimie de l'hôpital de Jijel dans une glacière. Ils ont alors été préparés comme suit : le sang dans les tubes sec a été centrifugé à 3 000 t/min pendant 10 min. Les sérums ont été récupérés puis transvasés dans des tubes eppendorf de 2 ml, stockés à -20°C et destinés aux analyses sérologiques.

Figure n°23: centrifugeuse utilisée pour la centrifugation des tubes

5. Analyses sérologiques

Les tests sérologiques ont été réalisés au sein du Laboratoire régional de Constantine de l'Institut de Médecine Vétérinaire (INMV), service de virologie.

Après décongélation lente des sérums à température ambiante, nous avons procédé aux analyses sérologiques des 184 sérums en utilisant des kits commerciaux pour la détection des anticorps spécifiques de *Chlamydophila abortus* et de *Coxiella burnetii.* Pour cela, en a choisi une méthode sérologique qui est le test ELISA indirecte (voir annexes n°2).

5.1. Détection des anticorps spécifiques de *Coxiella burnetii* :

Nous avons utilisé un test commercial du laboratoire Bio-X, destiné au diagnostic sérologique indirect des infections causées par *Coxiella burnetii* chez les bovins et les petits ruminants

- **Composition du kit**

Le kit est utilisé pour la recherche des anticorps anti *Coxiella burnetii* dans les sérums sanguins et le lait. Il est composé de :

1-Microplaques: Deux microplaques de 96 puits sensibilisées par des extraits antigéniques de *Coxiella burnetii.*

2-Solution de lavage : un flacon de 100 ml de solution de lavage contenant un bactériostatique concentrée 20 fois.

3-Tampon de dilution : un flacon de 50 ml de tampon de dilution coloré, concentré 5 fois.

4-Conjugué : un flacon de 0.5 ml de conjugué anti-IgG de mammifères couplé à la peroxydase (Protéine G couplée à la peroxydase de raifort) prêt à l'emploi.

5-Sérum positif : un flacon contenant le sérum positif lyophilisé à reconstituer avec 0.5 ml d'eau distillée ou déminéralisée.

6-Sérum négatif : un sérum contenant le sérum négatif lyophilisé à reconstituer avec 0.5 ml d'eau distillée ou déminéralisée.

7-Solution de TMB mono composant : un flacon de 25 ml de chromogène TMB (tétraméthylbenzidine) prêt à l'emploi.

8-Solution d'arrêt : un flacon de 15 ml de solution d'arrêt contenant de l'acide phosphorique 1 M.

La trousse est conservée en totalité au réfrigérateur à +4°C jusqu'à l'utilisation.

- **Principe de l'analyse**

Nous avons procédé comme suit : dans le but de réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, nous avons préparé une microplaque en plastique non sensibilisée de 96 puits contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle pour les transférer après sur la plaque ELISA à l'aide d'une pipette multicanaux.

Avant de procéder à la dilution des sérums et des contrôles positifs et négatifs, nous avons préparé le tampon de dilution 1x par l'addition de l'eau distillée au tampon de dilution 5x.

Les contrôles positifs et négatifs lyophilisés ont été reconstitués avec 0.5 ml d'eau distillée**.**

Pour la dilution des sérums, nous avons utilisé des tubes à hémolyse de 5 ml dans lesquels nous avons distribué 1 ml du tampon de dilution déjà préparé et 1µl de chaque sérum.

Les contrôles positifs et négatifs ont été dilués au $1/100^{eme}$ de la même façon que les autres sérums.

Les sérums dilués (y compris les contrôles négatifs et positifs) ont été distribués sur une microplaque (pour réduire la différence des temps d'incubation) et transférés par la suite sur la plaque ELISA à l'aide d'une micropipette multicanaux.

Nous avons laissé incuber pendant 60 minutes à 21°C (température ambiante du laboratoire) tout en couvrant les plaques. La température recommandée par le fournisseur est de 21°C +/- 3°C.

Entre temps, la solution de lavage a été préparée : après dissolution des cristaux présents dans la solution de lavage concentrée 20 fois fournie avec le kit, nous avons préparé une solution diluée par dilution au 1/20eme de la solution (x20) dans de l'eau distillée.

Après une heure d'incubation, nous avons procédé au lavage des plaques en les retournant vigoureusement sur un évier tout en évitant le décollement des cupules de la plaque : à l'aide d'une pissette, nous avons rempli les cupules avec une quantité suffisante de la solution de lavage. L'opération est répétée 3 fois pour chaque plaque.

Après le dernier lavage, nous avons rajouté le conjugué qui a été fourni sous forme d'une solution concentrée 50 fois. Le conjugué 1x est obtenue par la dilution au 1/50eme du conjugué concentré 50 fois avec le tampon de dilution.

Le conjugué a été distribué en raison de 100µl dans chaque cupule y compris les cupules des contrôles positifs et négatifs. Les plaques ont été mises en incubation à température ambiante (21°C) pendant 60 minutes.

Le lavage a été effectué de la même façon que pour la première étape (3 lavages pour chaque cupule) avec la solution de lavage.

Nous avons distribué ensuite 100 µl de la solution de révélation TMB prête à l'emploi dans chaque cupule à l'aide d'une pipette multicanaux. Une incubation de 10 minutes à 21°C (température ambiante du labo) dans l'obscurité absolue.

Après incubation des plaques à l'obscurité pendant 10 minutes et sans faire de lavage, 50 µl de la solution d'arrêt prête à l'emploi est distribuée dans chaque cupule.

La lecture du test a été effectuée par la mesure des densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450nm.

5.2. Détection des anticorps spécifiques de *Chlamydophila abortus* :

La technique ELISA Indirect a été utilisée pour la mise en évidence des anticorps dirigés contre *Chlamydophila abortus*. Les sérums ont été analysés avec un kit commercial du laboratoire ID.vet destiné au diagnostic indirect des infections causées par *chlamydophila abortus* chez les ruminants, les porcs et les chevaux.

- **Composition du kit**

Le kit est composé de :

1-Microplaques: deux microplaques de 96 puits sensibilisées par des extraits antigéniques de *chlamydophila abortus*

2-Solution de lavage : un flacon de 60 ml d'une solution de lavage concentrée 20 fois.

3-Tampon de dilution 3: un flacon de 60 ml d'un tampon de dilution.

4-Tampon de dilution 13: un flacon de 60 ml d'un tampon de dilution

5-Conjugué : un flacon de 3 ml d'un conjugué concentré 10 fois.

6-Sérum positif : un flacon de 0.5 ml contenant le sérum positif.

7-Sérum négatif : un flacon de 1 ml contenant le sérum négatif.

8-Solution de révélation : un flacon de 60 ml d'une solution de révélation.

9-Solution d'arrêt : un flacon de 60 ml d'une solution d'arrêt.

- **Principe**

90 µl de tampon de dilution 13 ont été distribués dans chaque puits de la microplaque. Ensuite, 10 µl des contrôles négatifs et positifs sont rajoutés dans les puits correspondants.10 µl de chaque sérum ont été distribués dans chacun des puits restants. Nous avons ensuite transféré, dans le même ordre, nos sérums dilués dans la plaque ELISA.

Nous avons effectué une incubation pendant 45 min à 21°C.

Entre temps, nous avons préparé la solution de lavage : après dissolution des cristaux présents dans la solution de lavage concentrée (x 20). Nous avons préparé une solution diluée par dilution au 1/20eme de la solution de lavage fournie dans le kit (x20) dans de l'eau distillée.

Nous avons ensuite procédé au lavage des plaques après 45 minutes d'incubation. L'opération est répétée 3 fois pour chaque plaque.

Le conjugué est distribué ensuite en raison de 100µl dans chaque cupule y compris les cupules des contrôles positifs et négatifs à l'aide d'une pipette multicanaux. Le conjugué est fourni sous forme d'une solution concentrée 10 fois. Le conjugué x1 est obtenue par dilution au 1/10eme du conjugué x10 avec le tampon de dilution 3.

Les plaques sont ensuite mises à incubation à température ambiante (21°C) pendant 30 minutes. Nous procédons ensuite au lavage de la même façon que la première étape (3 lavages pour chaque cupule).

Ensuite, 100 µl de la solution de révélation prête à l'emploi sont rajoutés dans chaque cupule à l'aide d'une pipette multicanaux.

Une incubation de 15 minutes à 21°C (température ambiante du labo) est réalisée dans une boite métallique pour assurer l'obscurité nécessaire pour la réaction de révélation.

Après l'incubation des plaques à l'obscurité pendant 15 minutes et sans effectuer de lavage, nous avons distribué 100 µl de la solution d'arrêt prête à l'emploi dans chaque cupule.

La lecture du test a été effectuée par la mesure des densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450nm.

6. Codage et saisie des données

Les données collectées sur place (fiche de renseignements et questionnaires) et les résultats des analyses ont été saisis, au fur et à mesure de l'étude, à l'aide d'un système de gestion de base de données (Microsoft Excel, 2007).

7. Analyses statistiques

Toutes les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance (IC à 95%).Les différences dans les proportions ont été statistiquement analysées et comparées en utilisant le test exact de Fisher afin de déterminer des différences dans les prévalences entre

les groupes. Les calcules du test exacte de Fisher ont été réalisés grâce au site (http://www.danielsoper.com/statcalc3/calc.aspx?id=58) avec un risque de 5%.

Les différences dans les prévalences ont été considérées comme statistiquement significatives lorsque $p<0,05$.

II. Résultats

4. Enquête épidémiologique descriptive

Le nombre d'animaux concernés par l'enquête était de 184 vaches provenant de 90 élevages différents distribués sur tout le territoire de la wilaya de Jijel.

4.1. **Données concernant l'élevage**

4.1.1. **Effectifs des troupeaux**

La plupart des troupeaux contenaient moins de 5 bovins par exploitation. La moyenne des effectifs était de 6 têtes par troupeau (Figure n°24)

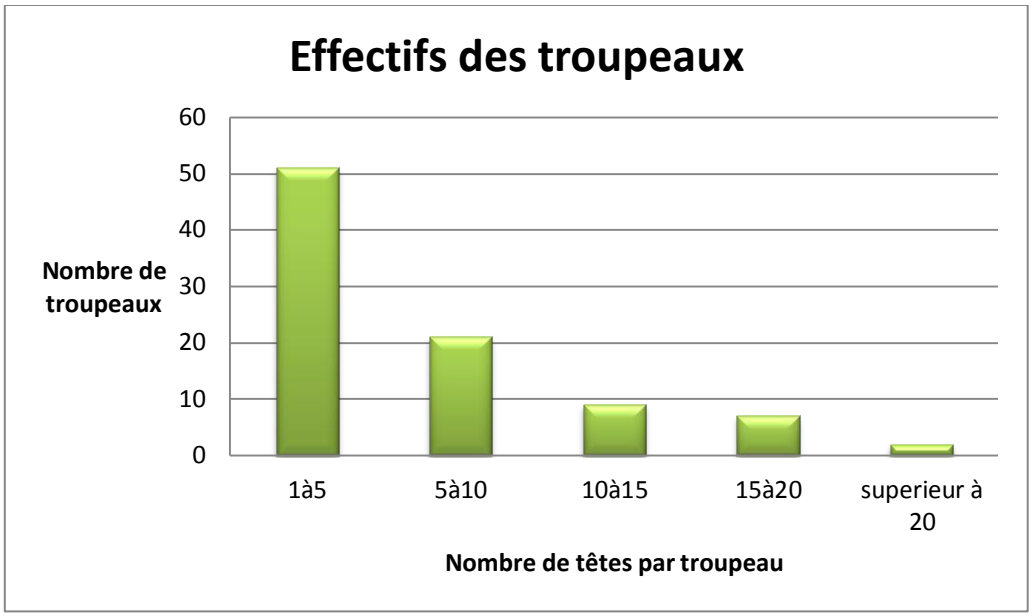

Figure n°24 : Effectifs des troupeaux

4.1.2. **Type d'élevage**

La majorité des élevages visités sont de type laitier producteur (53 élevage/90), les élevages de type allaitant familial sont aussi fréquents avec 42 élevages/90 Les élevages mixtes sont les moins fréquents avec 5 élevages/90 (Figure n°25).

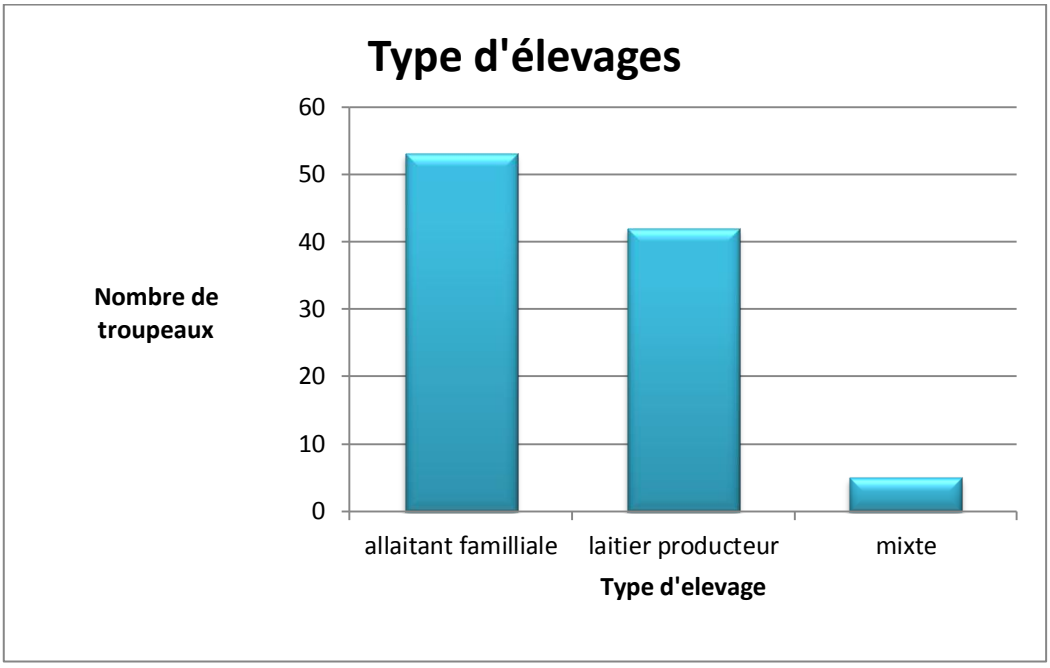

Figure n° 25: Type d'élevages

4.1.3. **Mode d'élevage**

Sur l'ensemble des 90 exploitations visitées, 87 suivent un mode d'élevage extensif, 2 avec un mode d'élevage semi intensif et uniquement une seule exploitation avec le mode d'élevage intensif.

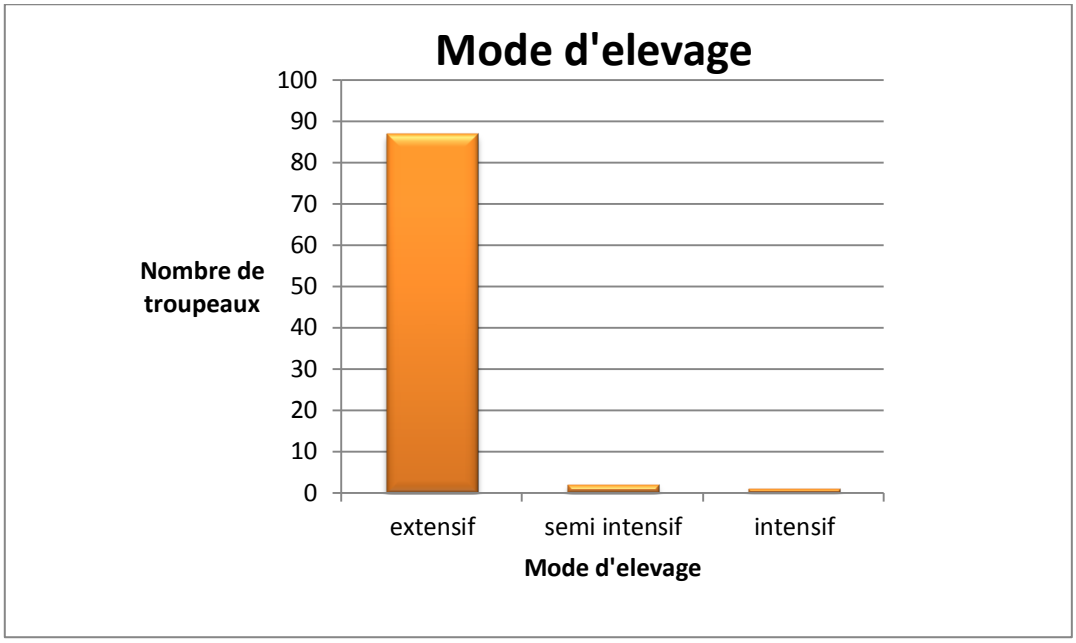

Figure n° 26: Mode d'élevages

4.1.4. **Principales pathologies dans les élevages**

Parmi les pathologies rencontrées dans les exploitations bovines visitées, les troubles de la reproduction (avortements, retard de retour en chaleur, métrites,..) étaient les plus fréquemment déclarés suivis des troubles digestifs et respiratoires (Figure n°27).

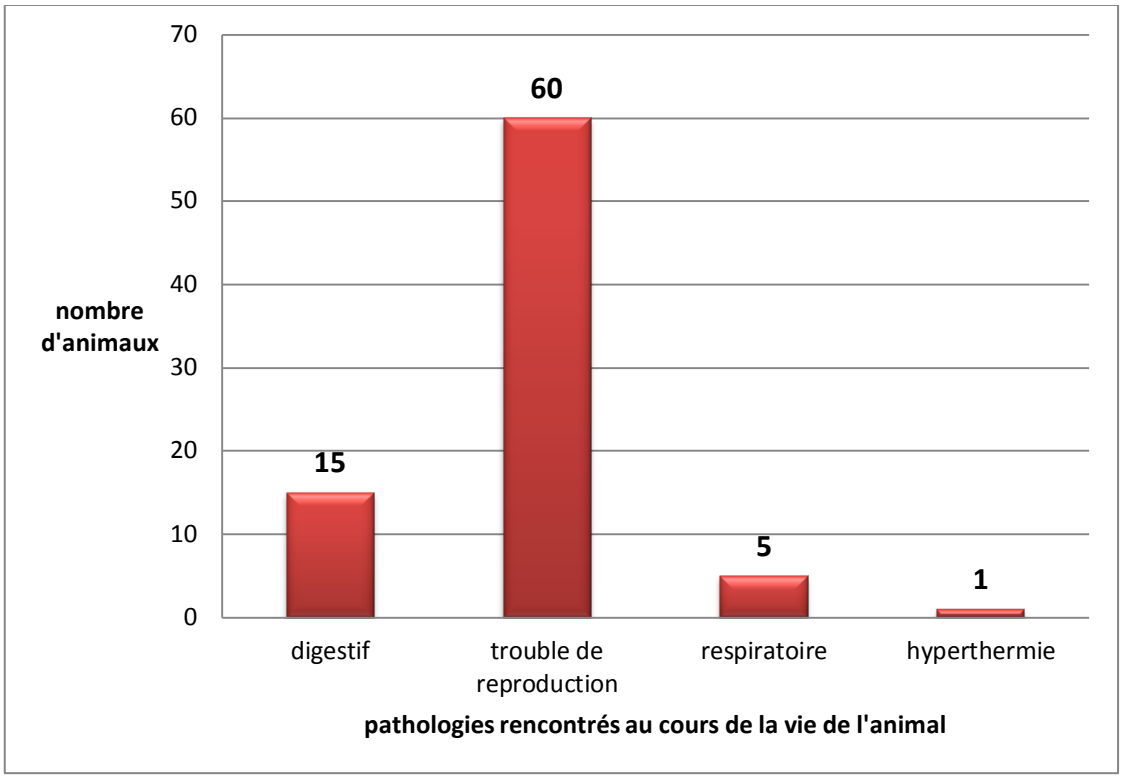

Figure n°27 : principales pathologies déclarées dans les élevages

4.2.Enquête sur les avortements

4.2.1. **Prévalence des avortements**

Dans notre échantillon de 184 vaches, 30 ont déjà subi un avortement, soit une prévalence de 16%. Selon notre enquête, les avortements évoqués par les éleveurs apparaissaient pour la plupart vers le 3ème tiers de la gestation (Figure n°28).

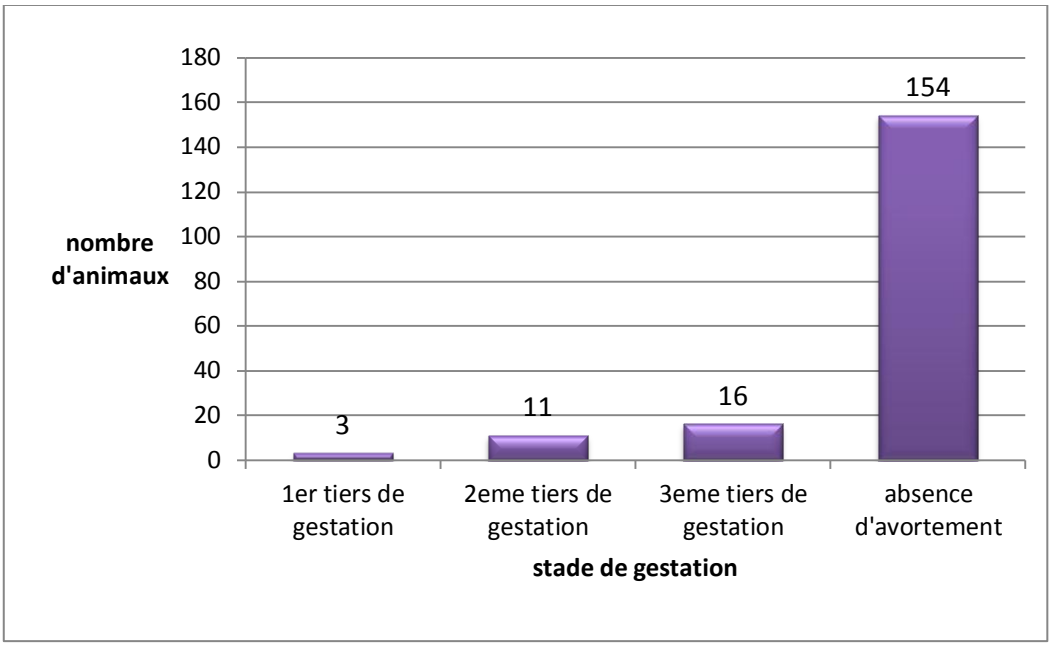

Figure n°28 : Répartition des avortements selon le stade de gestation

Parmi les 90 fermes visitées les avortements ont été relevé dans 26 d'entres elles. Quasiment tous les avortements sont survenus isolément dans les troupeaux, L'enquête a montré que 70% des cas ont touché un seul animal dans le troupeau alors que 30% ont concerné plusieurs animaux à la fois appartenant à la même exploitation (une prévalence de 100% a été relevée dans certains élevages).

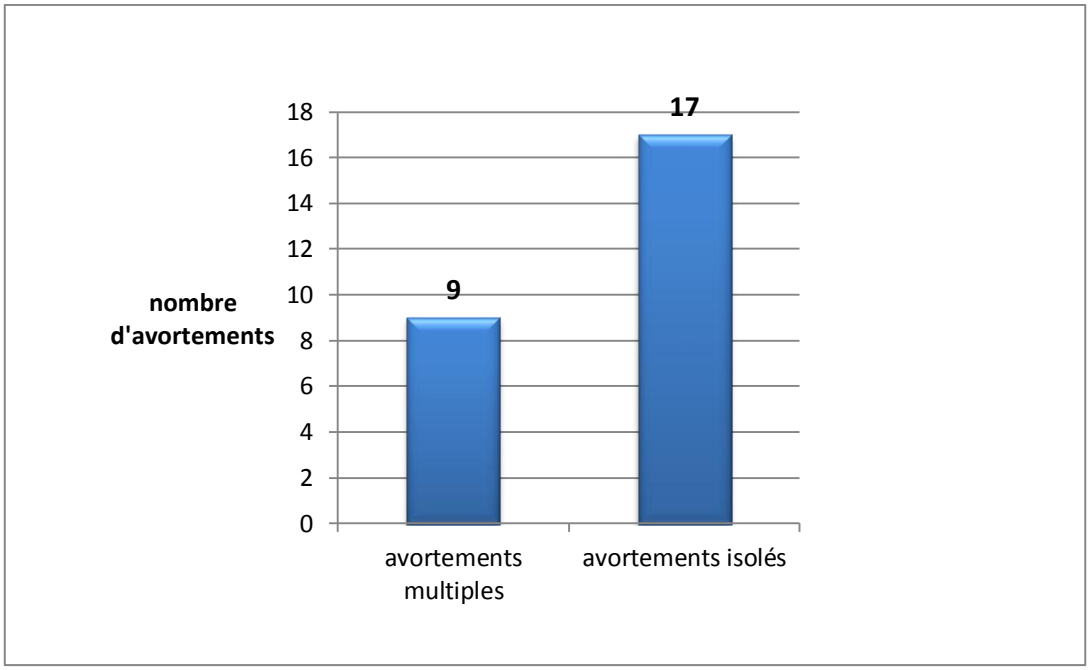

Figure n°29 : Répartition des avortements selon leur prévalence dans les fermes

4.2.2. **Manifestations cliniques précédant l'avortement**

La majorité des avortements sont survenus sont aucun signe préliminaire (19/30) soit un taux de 63%, 6 cas ont eu une diarrhée avant l'avortement soit un taux de 20%, 3 cas ont présenté de la fièvre soit un taux de 10 %, dans un seul cas d'avortement, l'association diarrhée-fièvre a été relevée soit un taux de 3 % et enfin, des signes respiratoire ont précédé un cas d'avortement soit un taux de 3 % (Figure n° 30).

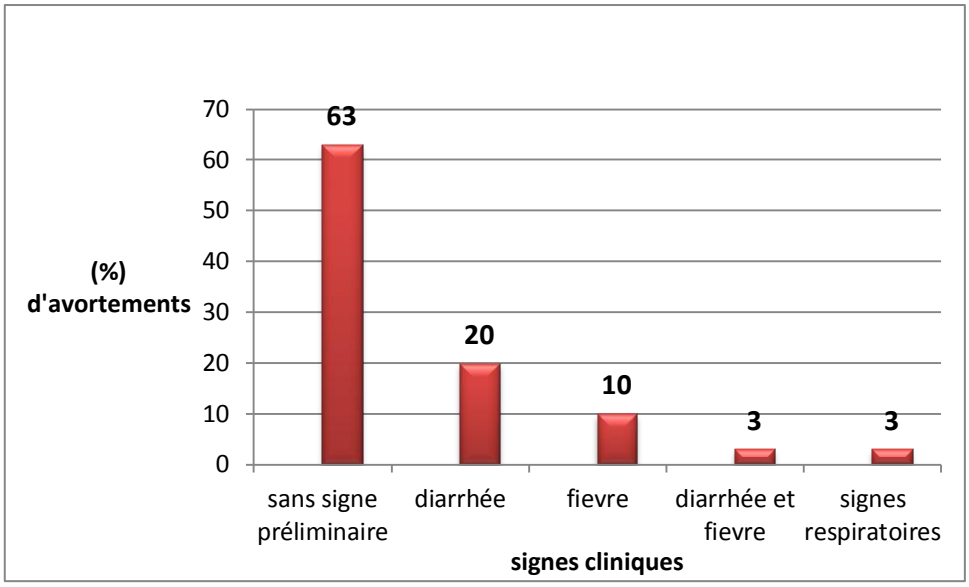

Figure n°30 : manifestations cliniques précédant l'avortement

4.2.3. **Délivrance et état du fœtus après l'avortement**

La délivrance de l'avorton a été facile pour la plupart des vaches ayant avorté. Ainsi, le placenta a été délivré normalement pour la plupart des cas (22 cas/30 soit un taux de 73,33%), retenu dans 5 cas soit un taux de 16,66%, nécrosée dans 2 cas soit un taux de 6,66% et avec un exsudat coloré pour 1 seul cas soit un taux de 3,33%.

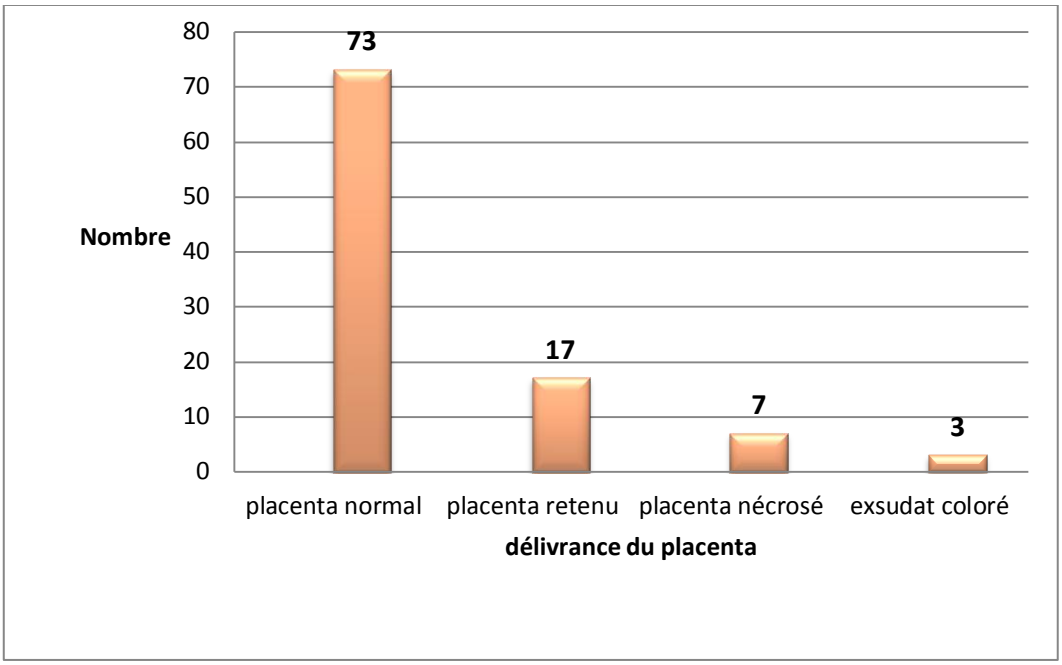

Figure n°31 : délivrance du placenta après l'avortement

La majorité des avortons n'ont présenté aucune anomalie apparente après expulsion (46%). Les œdèmes fœtaux ont été les plus fréquents des malformations observées lors des avortements enregistrés (23%), suivis par des avortons (17%) et enfin viennent en dernier les avortons emphysémateux et mal formés avec 7% pour chaque cas (Figure n°32)

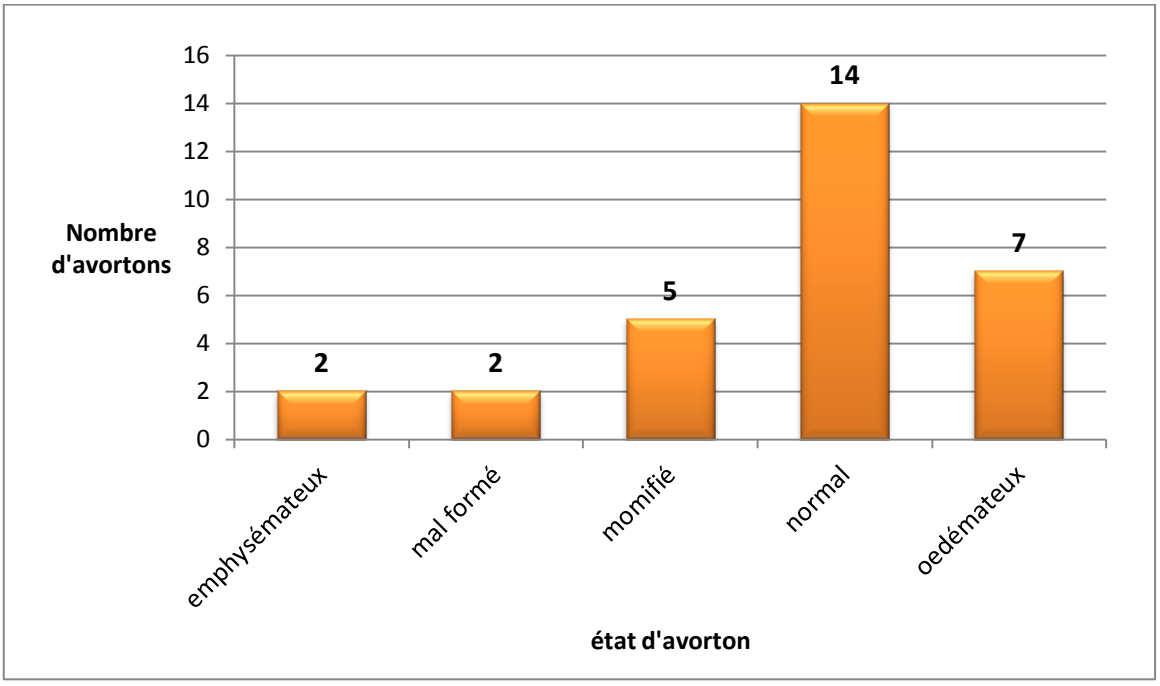

Figure n°32 : État des avortons après expulsion

5. Étude de la séroprévalence de l'infection par *Chlamydophila abortus*, par *Coxiella burnetii* et de la co-infection par les deux pathogènes en utilisant la technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent *Assay*)

5.1. Séroprévalence de l'infection par *Chlamydophila abortus*

5.1.1. Au niveau individuel

Parmi les 184 bovins testés sérologiquement, 2se sont montrés positifs par analyse la méthode ELISA indirect correspondant à une séroprévalence globale de 1,08 % (IC 95% 0% - 2%). (Tableau n°7).

Tableau n°7: séroprévalence de *Chlamydophila abortus* au niveau individuel

Bovin	prélevés	Positifs	Négatifs	Séroprévalence (IC 95%) (%)
	184	2	182	1,08%(0% - 2%)

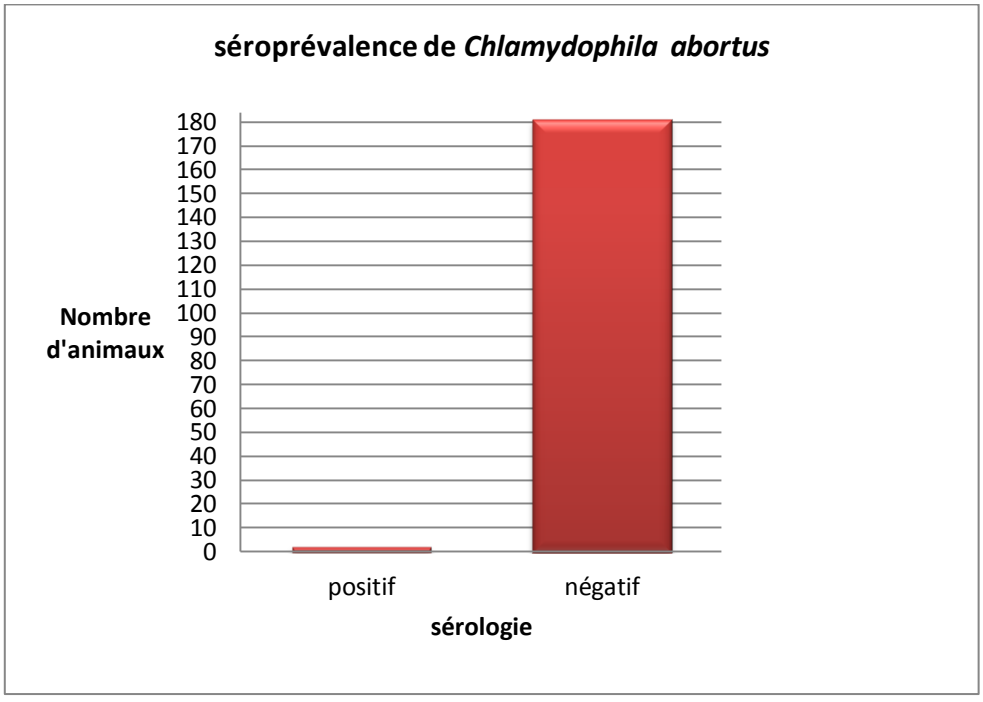

Figure n°33 : séroprévalence de *Chlamydophila abortus*

5.1.2. **Au niveau troupeau**

Parmi les 90 exploitations prélevées, deux fermes bovines situées dans deux communes différentes (Texanna et Ouled adjoul) se sont révélées positives (donc les 2 vaches séropositives n'appartenaient pas à la même ferme). Ceci correspond à une séroprévalence troupeau de 2,22% (IC 95% 0% - 4%) (Tableau n°8).

Tableau n° 8 : séroprévalence de *Chlamydophila abortus* au niveau troupeau

	prélevés	**Positifs**	**Négatifs**	**Séroprévalence (IC 95%) (%)**
Troupeaux	**90**	**2**	**88**	**2,22%(0% - 4%)**

5.1.3. **Étude des facteurs de risque**

Cette étude, basée sur les résultats de l'étude de la séroprévalence, nous a permis d'identifier les facteurs qui semblent augmenter le risque de la séropositivité vis-à-vis de *Chlamydophila abortus.*

5.1.3.1. **Le facteur âge**

L'âge des bovins testés varie de 3 à 14 ans. Le tableau suivant résume les prévalences sérologiques vis-à-vis *Chlamydophila abortus* en fonction de l'âge des animaux.

Tableau n°9 : Séroprévalence de *Chlamydophila abortus* en fonction de la classe d'âge des animaux

Facteur	Classe d'âge	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Age (an)	**<5ans**	1	84	85	1,17%	0,99	NS
	5-10ans	1	86	87	1,14%		
	>10ans	0	12	12	0%		
Total		2	182	184			

Le test statistique de Fisher exact indique que le facteur âge testé ne s'est pas révélé significativement associé à la séropositivité de ***Chlamydophila abortus*** **(p>0,05).**

5.1.3.2. **Le facteur race**

Les races des bovins testés variaient entre 3 catégories, locales, croisées et modernes. Le tableau suivant résume les prévalences sérologiques vis-à-vis *Chlamydophila abortus* en fonction des races bovines.

Tableau n°10 : Séroprévalence de *Chlamydophila abortus* en fonction de la race des animaux

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Race	**croisée**	1	18	19	5,26%	0,09	NS
	locale	0	88	88	0 %		
	moderne	1	76	76	1,31%		
Total		2	182	184			

Le test exact de Fisher mis en œuvre pour chercher l'existence d'une éventuelle relation statistiquement significative entre la sérologie de l'animal et sa race a donné un P-value=0.096. Le P étant supérieur à 0.05 la dépendance des deux variables est affirmée. L'hypothèse : "le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Chlamydophila abortus* est en relation avec sa race" est rejetée.

5.1.3.3.**Le facteur état d'embonpoint**

L'état d'embonpoint des bovins testés varie entre bon et moyen. Le tableau suivant résume les prévalences sérologiques vis-à-vis *Chlamydophila abortus* en fonction de leur état d'embonpoint.

Tableau n°11 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de l'état d'embonpoint

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Race	**bon**	2	129	131	1.52%	0,09	NS
	moyen	0	53	53	0 %		
Total		2	182	184			

Le test de Fisher exact mis en œuvre pour chercher l'existence d'une éventuelle relation statistiquement significative entre la sérologie de l'animal et son état d'embonpoint a donné un P-value=0.096.

Le P étant supérieur à 0.05 l'indépendance des deux variables est confirmée. L'hypothèse : "le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Chlamydophila abortus* est en relation avec son état d'embonpoint" est rejetée.

5.1.3.4. **Facteur nombre de gestations**

Dans notre enquête, le nombre de gestation des vaches testées variait entre 1 et 10 gestations. Le tableau suivant reprend les séroprévalences obtenues vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction du nombre de gestation de l'animal (regroupées en 3 classes).

Tableau n°12 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de nombre du nombre de gestation

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Nombre de portée	**1-4**	2	145	147	1,36%	0,99	NS
	4-8	0	33	33	0 %		
	>8	0	4	4	0%		
Total		2	182	184			

Le test exact de Fisher a donné une P-value=0.99. Le P étant supérieur à 0.05 l'indépendance des deux variables « nombre de gestations » et « sérologie *Chlamydophila abortus* » est confirmée. L'hypothèse: "la relation entre le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Chlamydophila abortus* et le nombre de gestation" est rejetée.

5.1.3.5. **Le facteur entretien et hygiène de l'exploitation**

L'état d'entretien et d'hygiène des exploitations concernées par notre enquête varie entre le bon, le moyen et le mauvais.

Le tableau suivant résume les séroprévalences obtenues vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de l'état d'entretien et d'hygiène de l'exploitation.

Tableau n°13 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de l'état d'entretien et d'hygiène des exploitations

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
État d'entretien	**bon**	2	76	78	2,56%	0,23	NS
	moyen	0	100	100	0 %		
	mauvais	0	6	6	0%		
Total		2	182	184			

Le test exact de Fisher a donné une P-value=0.23. Le P étant supérieur à 0.05 l'indépendance des deux variables (sérologie *Chlamydophila abortus* et état d'entretien et d'hygiène de l'exploitation) est confirmée. L'hypothèse : "la relation entre le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Chlamydophila abortus* et l'état d'hygiène et d'entretien de l'exploitation" est rejetée.

5.1.3.6. **Le facteur saison**

Nos prélèvements ont été effectués au courant d'une année. Par conséquent, les quatre saisons ont été impliquées dans nos prélèvements. Le tableau suivant reprend les séroprévalences obtenues vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de la saison.

Tableau n°14 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de la saison

Facteur		Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Saison	**Hiver**	0	72	72	0%	0,21	NS
	Printemps	1	68	69	1,44%		
	Été	1	14	15	6,66%		
	Automne	0	28	28	0%		
Total		2	182	184			

Le test exact de Fisher a donné une P-value=0.21. Le P étant supérieur à 0.05 l'indépendance des deux variables (sérologie *Chlamydophila abortus* et la saison) est confirmée. L'hypothèse : "le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Chlamydophila abortus* est en relation avec la saison " est rejetée.

5.1.3.7.**Le facteur altitude**

Les animaux testés appartiennent à différentes communes (n=28) de la wilaya. Le tableau suivant résume les séroprévalences vis-à-vis *Chlamydophila abortus* en fonction de l'altitude.

Tableau n°15 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de l'altitude de l'exploitation

Facteur		Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Latitude	**10-400 m**	0	100	100	0%	0,05	NS
	400-800 m	1	71	72	1,38%		
	>800 m	1	11	12	9,09%		
Total		2	182	184			

Le test exact de Fisher a donné une P-value=0.05. Le P étant égale à 0.05 la dépendance des deux variables (sérologie *Chlamydophila abortus* et l'altitude) n'est pas prouvée. L'hypothèse: "le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Chlamydophila abortus* est en relation avec l'altitude " est rejetée.

2.2. Séroprévalence de l'infection par *Coxiella burnetii*

2.2.1. Au niveau individuel

Parmi les 184 bovins testés sérologiquement, 29 se sont montrés positifs par analyse la technique ELISA indirect, correspondant à une séroprévalence globale de 15.76 % (IC 95% 9,73% - 20.26%) (Tableau n°16).

Tableau n°16: séroprévalence de *Coxiella burnetii* au niveau individuel

Bovins	prélevés	Positifs	Négatifs	Séroprévalence (IC 95%) (%)
	184	29	155	15.76 % (IC 95% 9.73% - 20.26%)

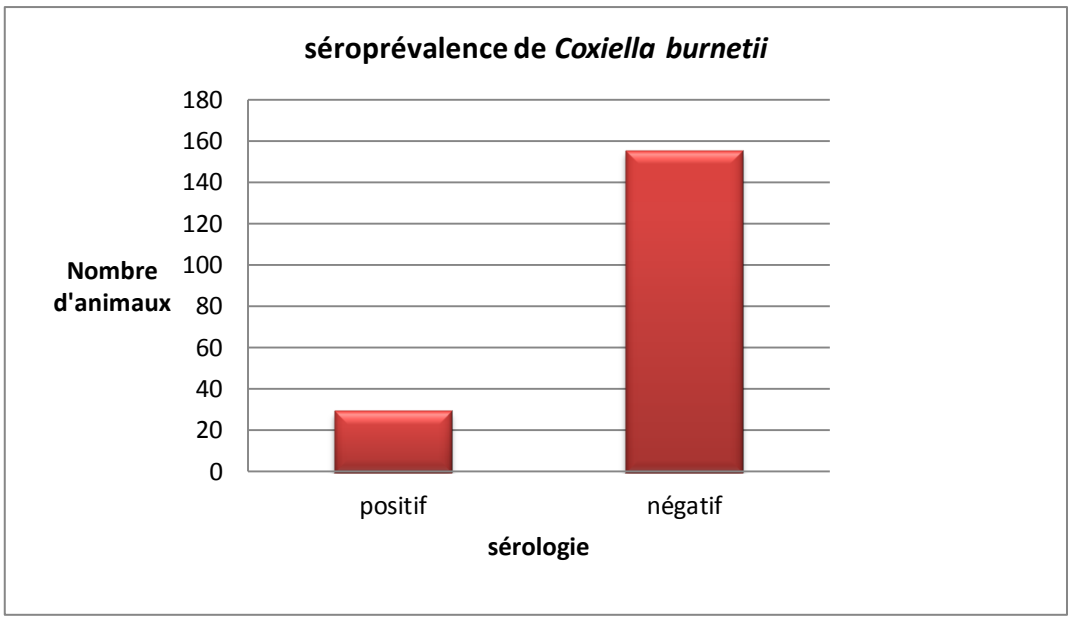

Figure n°34 : séroprévalence de *Coxiella burnetii*

2.2.2. Au niveau troupeau

Parmi les 90 exploitations prélevées, 18 fermes bovines situées dans 16 communes différentes se sont révélées positives. Ceci correspond à une séroprévalence troupeau de 20% (IC 95% 11.74% - 28.26%) (Tableau n°17).

Tableau n° 17 : séroprévalence de *Coxiella burnetii* au niveau troupeau

Troupeaux	prélevés	Positifs	Négatifs	Séroprévalence (IC 95%) (%)
	90	**16**	**74**	20% (IC 95% 11.74% - 28.26%)

2.2.3. Étude des facteurs de risque

Cette étude, basée sur les résultats de l'étude de la séroprévalence, nous a permis d'identifier les facteurs qui semblent augmenter le risque de la séropositivité vis-à-vis de *Coxiella burnetii.*

2.2.3.1. Le facteur âge

L'âge des bovins testés varie de 3 à 14 ans. Le tableau suivant résume les prévalences sérologiques vis-à-vis *Coxiella burnetii* en fonction de l'âge des animaux (tableau n°18).

Tableau n°18 : Séroprévalence de *Coxiella burnetii* en fonction de la classe d'âge des animaux

Facteur	Classe d'âge	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Age (an)	**<5ans**	12	71	83	14,45%	0,71	NS
	5-10ans	16	72	88	18,18%		
	>10ans	0	11	11	0%		
Total		29	155	184			

Au risque de 5% le test exact de Fisher donne un P-value=0.71. Le P>0.05 ce qui indique que l'hypothèse reliant le facteur âge et l'infection par *Coxiella burnetii* est rejetée.

2.2.3.2. Le facteur race

Le tableau suivant résume les prévalences sérologiques vis-à-vis *Coxiella burnetii* en fonction des races bovines.

Tableau n°19 : Séroprévalence de *Coxiella burnetii* en fonction de la race des animaux

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion

Race	**croisée**	3	16	19	15,78%	0,99	NS
	locale	14	75	89	15,73%		
	moderne	12	64	76	15,78%		
Total		29	155	184			

Le test exact de Fisher a donné un P-value=0,99. Le P étant supérieur à 0.05 la dépendance des deux variables est affirmée. L'hypothèse : "le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Coxiella burnetii* est en relation avec sa race" est rejetée.

2.2.3.3.Le facteur état d'embonpoint

Le tableau suivant résume les prévalences sérologiques vis-à-vis *Coxiella burnetii* en fonction de l'état d'embonpoint des animaux.

Tableau n°20 : séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de l'état d'embonpoint

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Race	**bon**	15	117	132	11,36%	0,99	NS
	moyen	14	38	52	26,92 %		
Total		29	155	184			

Le test exact de Fisher a donné un P-value=0.99. Le P étant supérieur à 0.05 l'indépendance des deux variables est confirmée.

2.2.3.4.Facteur nombre de gestations

Le tableau suivant reprend les séroprévalences obtenues vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction du nombre de gestation de l'animal (regroupées en 3 classes).

Tableau n°21 : séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de nombre du nombre de gestation

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Nombre de portée	**1-4**	24	124	148	16,21%	0,99	NS
	4-8	5	28	33	15,15 %		
	>8	0	3	3	0%		
Total		29	155	184			

Le test exact de Fisher a donné une P-value=1. Le P étant supérieur à 0.05 l'indépendance des deux variables « nombre de gestations » et « sérologie *Coxiella burnetii* » est confirmée.

L'hypothèse: "la relation entre le statut sérologique de l'animal vis-à-vis *Coxiella burnetii* et le nombre de gestation" est rejetée.

2.2.3.5. Le facteur entretien et hygiène de l'exploitation

Le tableau suivant résume les séroprévalences obtenues vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de l'état d'entretien et d'hygiène de l'exploitation.

Tableau n°22 : séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de l'état d'entretien et d'hygiène des exploitations

Facteur	Catégorie	Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
État d'entretien	**bon**	11	67	78	14,10%	0,73	NS
	moyen	17	84	101	16,83 %		
	mauvais	1	4	5	20%		
Total		29	155	184			

Au risque de 5% le test exact de Fisher donne un P-value=0.73. Étant supérieur à 0.05, le test exact de Fisher indique que les deux variables « entretien et hygiène de l'exploitation» et « sérologie *Coxiella burnetii*» ne présentent aucune différence statistiquement significative. L'hypothèse de la relation entre les deux variables est rejetée.

2.2.3.6.Le facteur saison

Le tableau suivant reprend les séroprévalences obtenues vis-à-vis de *Chlamydophila abortus* en fonction de la saison.

Tableau n°23 : séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de la saison

Facteur		Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Saison	**Hiver**	8	64	72	11,11%	0,08	NS
	Printemps	10	59	69	14,49%		
	Été	6	10	16	37,5%		
	Automne	5	22	27	18,51%		
Total		29	155	184			

Au risque de 5% le test exact de Fisher donne un P-value=0.08. Étant supérieur à 0.05, le test exact de Fisher indique que les deux variables « sérologie *Coxiella burnetii*» et « mois du prélèvement» ne présentent aucune différence statistiquement significative. L'hypothèse de la relation entre les deux variables est rejetée.

2.2.3.7. Le facteur altitude

Le tableau suivant résume les séroprévalences vis-à-vis *Coxiella burnetii* en fonction de la latitude.

Tableau n°24 : séroprévalence vis-à-vis de *Coxiella burnetii* en fonction de l'altitude de l'exploitation

Facteur		Positif	Négatif	Total	séroprévalence	*Fisher exact (p)*	Conclusion
Latitude	**10-400 m**	12	88	100	12%	0,005	S
	400-800 m	11	62	73	15,06%		
	>800 m	6	5	11	54,54%		
Total		29	155	184			

Au risque de 5% le test exact de Fisher donne un P-value=0.005. Étant inferieur à 0.05, le test exact de Fisher indique que les deux variables «sérologies *Coxiella burnetii*» et « latitude» présentent des différences statistiquement significatives ce qui confirme leur dépendance.

2.3. Séroprévalence de la co-infection par *Chlamydophila abortus-Coxiella burnetii*

Sur les 184 bovins analysés, seul un animal a présenté une infection mixte. En effet, chez ce dernier nous avons mis en évidence des anticorps dirigés contre *Chlamydophila abortus* et ceux dirigés contre *Coxiella burnetii* ce qui représente une prévalence de 0.54% (IC 95% 0%-1%) (figure n°35).

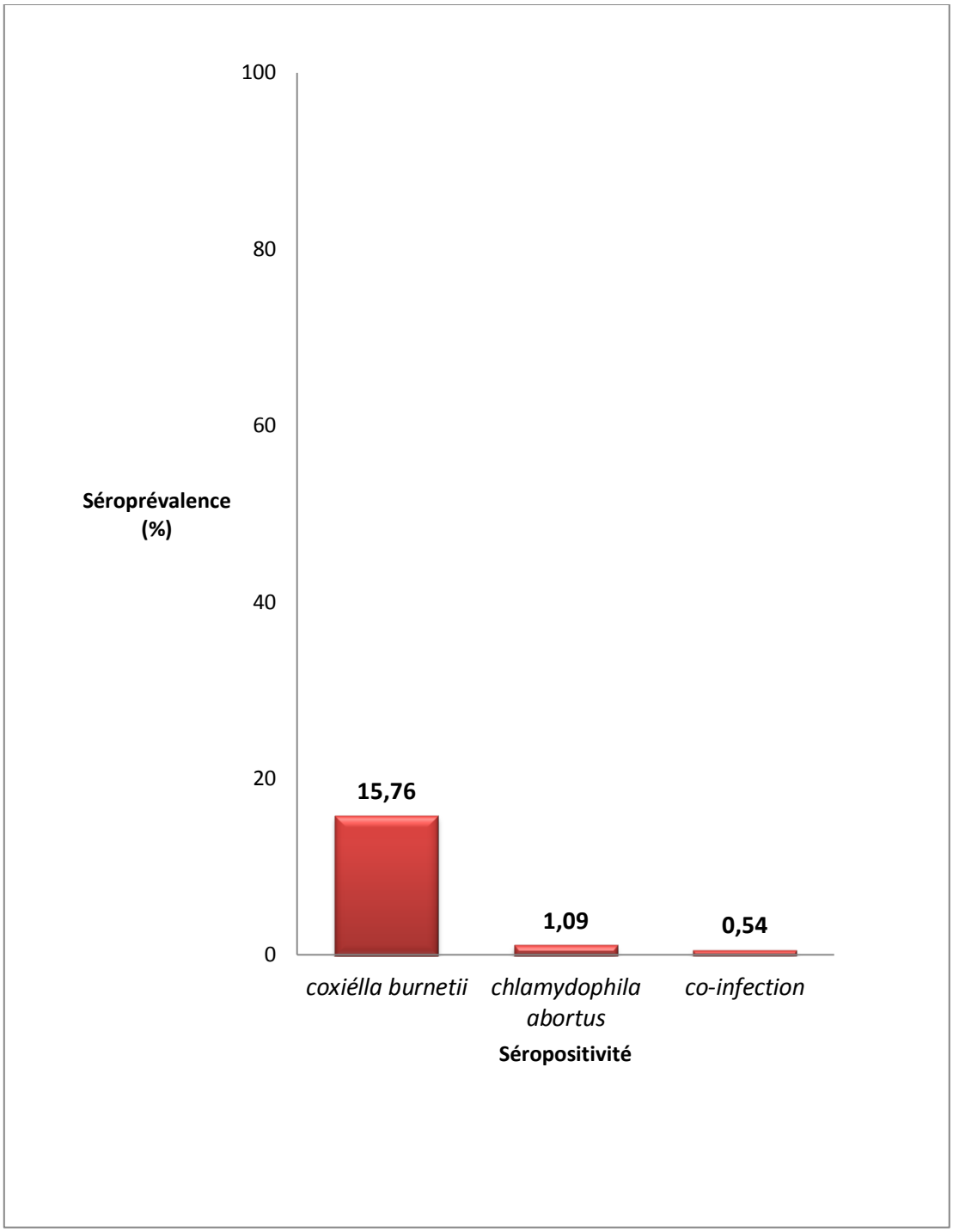

Figure n° 37 : séroprévalence vis-à-vis de *Chlamydophila abortus*, de *Coxiella burnetii* et de la co-infection par les deux pathogènes

Le tableau suivant résume les résultats de séroprévalence obtenus pour *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* dans les différentes communes.

Tableau n°25 : répartition des séroprévalence obtenus par commune

Commune	Effectif testé	*Chlamydophila abortus*			*Coxiella burnetii*		
		Positifs	Négatifs	%	Positifs	Négatifs	%
EL OUANA	9	0	9	0	0	9	0
SELMA	3	0	3	0	0	3	0
Z-MANSOURIAH	4	0	4	0	0	4	0
ERRAGUENE	5	0	5	0	0	5	0
JIJEL	7	0	7	0	2	5	28,57
KAOUS	7	0	7	0	0	7	0
EMIR ABDELKADER	7	0	7	0	0	7	0
TEXANNA	4	0	4	0	2	2	050
DJIMLA	3	0	3	0	2	1	66,66
BENI YADJIS	3	0	3	0	2	1	66,66
TAHER	13	0	13	0	3	10	23,07
OUDJANA	7	1	6	14,2	1	6	14,28
CHAHNA	6	0	6	0	0	6	0
CHAKFA	12	0	12	0	0	12	0
BOURDJ-THAR	4	0	4	0	1	3	25
OULED ESKEUR	5	0	5	0	0	5	0
SIDI ABDEIAZIZ	2	0	2	0	0	2	0
EL KENNAR	2	0	2	0	0	2	0
BENI HBIBI	4	0	4	0	1	3	25
EL ANCER	8	0	8	0	1	7	12,5
OULED ADJOUL	9	1	8	11,1	2	7	22,22
BELHADEF	11	0	11	0	2	9	18,18
EL MILIA	9	0	9	0	1	8	11,11
SETTARA	9	0	9	0	3	6	33,33
OULED YAHIA	6	0	6	0	1	5	16,66
SIDI MAROUF	8	0	8	0	3	5	37,5
OULED RABAH	8	0	8	0	1	7	12,5
GUEBALA	9	0	9	0	1	8	11,11
Total	184	2	182		29	155	

Le tableau ci après reprend toutes les données récoltées sur la seule vache présentant une co-infection par ***Chlamydophila abortus*** et de ***Coxiella burnetii.***

Tableau n°26 : résumé des informations concernant l'animal présentant une double infection *Chlamydophila abortus-Coxiella burnetii*

Données sur l'animal				**Données sur l'exploitation**		
Race	**Age**	**Etat d'embonpoint**	**Avortement**	**Latitude**	**Entretien et hygiène**	**Type et mode d'élevage**
Montbéliarde	5ans	bon	Non	890m	Bon	Extensif allaitant familiale

6. Étude épidémiologique de type cas-témoin

Les fermes qui ont connu des épisodes d'avortement sont considérées comme des fermes cas et les autres comme des fermes témoins.

Nous avons calculé l'association entre l'exposition à *Chlamydophila abortus* et/ou *Coxiella burnetii* et le fait d'observer des avortements dans la ferme.

6.1. Étude de l'association entre *Chlamydophila abortus* et les avortements

Sur le plan individuel pour ***Chlamydophila abortus***, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 0 (tableau n°27). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 0% pour les animaux qui ont avorté, aucun des deux animaux séropositifs à ***Chlamydophila abortus*** n'a avorté auparavant. Dans le groupe témoin, ce taux n'est que de 1 %, donc parmi les animaux qui n'ont jamais avorté 1% était séropositif à cette bactérie.

En conséquence, il n'y a pas d'association entre le fait d'avoir des bovins séropositifs à ***Chlamydophila abortus*** dans une ferme et le fait d'y rencontrer des avortements.

Tableau n°27 : Cas-témoin en fonction des résultats sérologiques à *Chlamydophila abortus*

	Animaux	*Animaux ayant avorté*	*Animaux n'ayant pas avorté*	*Total*
Sérologie vis-à-vis de Chlamydophila abortus	**Positifs**	0	2	2
	Négatifs	30	152	182
	Total	30	154	184
	Taux d'exposition	0%	1%	
	Odd d'exposition	0%	1%	
	Odds Ratio	0		

6.2. Étude de l'association entre *Chlamydophila abortus* et divers troubles de reproduction relevés dans les exploitations

Sur 59 animaux ayant déjà présenté divers troubles de reproduction, aucun n'a montré une réponse sérologie positive vis-à vis de *Chlamydophila abortus* (tableau n°28)

Tableau n°28: relation entre sérologie vis-à-vis *Chlamydophila abortus* et troubles de reproduction

	Animaux	***Animaux ayant des troubles de reproduction***	***Animaux n'ayant pas de troubles de reproduction***	***Total***
Sérologie vis-à-vis de *Chlamydophila abortus*	**Positifs**	0	2	2
	Négatifs	59	123	182
	Total	59	125	184
	Taux d'exposition	0%	1,6%	
	Odd	0%	1%	
	Odds Ratio	0		

Sur le plan individuel pour ***Chlamydophila abortus***, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 0 (tableau n°25). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 0 % pour les animaux atteints de troubles de reproduction ce qui signifie qu'aucun animal souffrant de troubles de la reproduction ne s'est montré séropositif vis-à-vis de cette bactérie. Dans le groupe témoin, ce taux n'est que de 1,6%. En conséquence, il n'y a pas d'association entre le fait d'avoir des bovins séropositifs à ***Chlamydophila abortus*** et le fait d'y rencontrer des troubles de reproduction chez l'animal.

6.3.Étude de l'association entre *Coxiella burnetii* et les avortements

Sur le plan individuel pour ***Coxiella burnetii***, l'étude cas-témoin montre un taux d'exposition de 25% pour les animaux qui ont avorté comparativement à 17% pour les animaux n'ayant jamais avorté. Cependant, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 1,42. Cependant, cette valeur n'est pas significativement différente de 1 (p=0,4).En conséquence, il n'y a pas d'association entre le fait d'avoir des bovins séropositifs à ***Coxiella burnetii*** dans une ferme et le fait d'y rencontrer des avortements (tableau n°29).

Tableau n°29: Cas-témoin en fonction des résultats sérologiques à *Coxiella burnetii*

	Animaux	Animaux ayant avorté	Animaux n'ayant pas avorté	Total
Sérologie vis-à-vis de Coxiella burnetii	**Positifs**	6	23	29
	Négatifs	24	131	155
	Total	30	154	184
	Taux d'exposition	25%	17%	
	Odds	0,2	0,1	
	Odds Ratio (IC 95%)	1,42 (0.52-3.86) p =0,4 NS		

6.4. Étude de l'association entre *Coxiella burnetii* et divers troubles de reproduction relevés dans les exploitations

Sur 59 animaux ayant déjà présenté divers troubles de reproduction, aucun n'a montré une réponse sérologie positive vis-à vis de ***Coxiella burnetii***.

Tableau n°30: relation entre sérologie vis-à-vis *Coxiella burnetii* et troubles de reproduction

	Animaux	Animaux ayant des troubles de reproduction	Animaux n'ayant pas de troubles de reproduction	Total
Sérologie vis-à-vis de Coxiella burnetii	Positifs	9	20	29
	Négatifs	50	105	155
	Total	59	125	184
	Taux d'exposition	18%	19%	
	Odd	0,1	0,16	
	Odds Ratio	0,9(0,40- 2.22) p=0,8 NS		

Sur le plan individuel pour ***Coxiella burnetii***, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 0,9 (tableau n°42). Cependant, cette valeur n'est pas significativement différente de 1 (p=0,8). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 18% pour les animaux atteints de troubles de reproduction. Dans le groupe témoin, ce taux est de 19%.

En conséquence, il n'y a pas d'association entre le fait d'avoir des bovins séropositifs à ***Coxiella burnetii*** et le fait d'y rencontrer des troubles de reproduction chez l'animal.

Discussion

La fièvre Q et la chlamydophilose abortive sont deux maladies atteignant toutes les espèces animales ainsi que l'être humain. Chez les bovins, ces deux pathologies sont souvent sous

estimées à cause de la forme sub-clinique dominante. La fréquence de ces deux maladies dépend de certains facteurs de risque relatif à l'animal et son environnement.

Chlamydophila abortus, agent de la chlamydophilose abortive et *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, sont reconnues comme des agents responsables des troubles de la reproduction et d'avortements chez les ruminants (To et al., 1998 ; Longbottom et Coulter, 2003 ; Godin et al., 2008 ; Petit et al., 2008 ; Agerholm, 2013). L'importance de ce rôle a déjà fait l'objet de plusieurs études chez les bovins, dont certaines l'ont considéré comme important et d'autres l'ont considéré comme négligeable (Petit et al., 2008 ; Agerholm, 2013).

Notre travail avait comme but d'estimer la prévalence de ces deux pathologies en élevage bovin dans la région de Jijel par la réalisation d'une enquête séroépidémiologique, d'étudier l'influence de certains facteurs de risque sur l'apparition de ces maladies et d'étudier la relation entre la survenue d'avortements et de troubles de reproduction et l'atteinte par la fièvre Q ou la chlamydophilose abortive.

Pour cela, on a réalisé une enquête séroépidémiologique transversale sur 184 vaches choisies au hasard parmi la population bovine totale de la wilaya de Jijel ce qui a représenté un pourcentage de 0.21% provenant de 90 élevages différents. La taille de notre échantillon était en fonction de nos moyens financiers.

La sélection de notre échantillon a été réalisée au hasard à l'aide d'une carte géographique de façon à couvrir tout le territoire de la région et d'avoir un échantillon considéré comme représentatif de la population bovine de la wilaya de Jijel.

Les informations épidémiologiques concernant l'animal et son entourage ont été collectées grâce à un questionnaire rempli au moment du prélèvement. Ces informations collectées ont été organisées et analysées ultérieurement.

Les sérums prélevés ont été analysés par la méthode ELISA indirecte à la recherche d'anticorps indiquant l'infection des animaux par *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q et/ou *Chlamydophila abortus*, agent de la chlamydophilose abortive.

Le choix de la méthode d'analyse a été fait par rapport aux avantages de la technique. La méthode ELISA, technique immunoenzymatique, est reconnue comme étant plus sensible et plus spécifique que l'immunofixation du complément (technique adoptée par l'OIE pour le dépistage des deux pathologies) (Waag et al., 1995 ; Fournier et al., 1998).

La PCR est considérée comme une méthode hautement sensible et hautement spécifique mais très onéreuse par rapport à la technique ELISA, en plus, *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* ont la caractéristique d'être secrétées par plusieurs voie vaginale, urines, fèces, sperme, lait…etc.) et d'une façon intermittente pour certaines donc le diagnostic par la méthode PCR nécessite la réalisation de plusieurs échantillons (lait, sécrétions vaginales, placentas en cas d'avortement) ce qui augmente considérablement le cout de l'analyse.

1. Enquête séroépidémiologique

1.1. Enquête épidémiologique descriptive

Avec prés de 90000 têtes ce qui représente prés de 6% du cheptel bovin national, la région de Jijel est considéré comme l'une des régions d'Algérie la plus riche en élevages bovins (Nadjraoui, 2001).

D'après notre enquête, le mode extensif est quasi dominant en élevage bovin dans la région de Jijel. La plupart des troupeaux contenaient moins de 5 bovins par exploitation et ceci avec une majorité de type laitiers producteurs.

Les pathologies de la reproduction incluant les avortements, les métrites, l'infertilité et les mises bas prématurées constituent les maladies les plus fréquentes en élevage bovin à Jijel selon notre enquête, suivies des troubles digestifs et respiratoires. Ces résultats de l'enquête reflètent l'importance qu'accordent les éleveurs aux performances de reproduction chez les animaux d'élevage et chez les bovins en particulier.

Les troubles de la reproduction et l'infertilité sont les principales causes de l'abattage dans les troupeaux laitiers (Godin et al., 2008). Les pathologies digestives et surtout respiratoires sont généralement peu constatées par l'éleveur alors que les troubles de reproduction, surtout en élevage laitier producteur, constituent un problème sérieux et une perte économique considérable.

Dans notre échantillon de 184 vaches, 30 vaches ont connu au moins un avortement au cours de leur vie ce qui représente une prévalence de 16%. Ce taux est considéré comme important par rapport à celui rapporté par Benallou et ses collaborateurs dans la région de Tiaret en 2011 (9 à 12 %) (Benallou et al., 2011).

En France, Gares a reporté un taux d'avortement de 5.3% en 2003 (GARES, 2003). Selon Murray, le taux annuel d'avortement considéré généralement comme acceptable en élevage

bovin laitier est inférieur à 5% (Murray et al., 1998). En Algérie, On ne dispose pas malheureusement de statistiques officiels sur les avortements chez les bovins et même chez les autres espèces animales ce qui nous ne permet pas de comparer nos résultats.

La prévalence troupeau des avortements était de 29%. Parmi ceux là, 30% d'entre eux ont connu des avortements multiples touchant plusieurs vaches dans la même exploitation et durant la même période avec une prévalence de 100% pour certains. Ces résultats ne sont pas comparables à d'autres à cause de manque d'information sur le taux d'avortement annuel.

Les avortements ont été constatés pour la plupart au cours du 3eme tiers de gestation, ceci laisse supposer que les avortements survenus au cours du premier tiers de gestation passent souvent inaperçus à cause des manifestations cliniques souvent discrètes. Ces avortements sont souvent à l'origine de troubles de reproduction (métrites, infertilité, allongement de l'intervalle vêlage-vêlage) que l'éleveur et le vétérinaire praticien n'arrivent pas à déterminer la cause.

Les signes préliminaires d'avortement n'ont pas été détectés dans la majorité des cas. La diarrhée, la fièvre, l'association diarrhée-fièvre et les symptômes respiratoires sont respectivement les signes préliminaires d'avortements détectés par les éleveurs. Les symptômes comme la fièvre et les troubles respiratoires ne sont pas facilement détectés par un simple éleveur surtout en absence de suivis réguliers par un vétérinaire praticien. La délivrance des fœtus et des placentas était normale dans la plupart des cas. Les malformations fœtales ainsi que les lésions placentaires sont très rares.

1.2.Résultats sérologiques

1.2.1. Séroprévalence *Chlamydophila abortus*

L'analyse ELISA indirecte a révélé la séropositivité de 2 bovins sur les 184 testés ce qui représente une séroprévalence individuelle de 1,8% (IC 95% : 0-2%).Les deux séropositifs appartenaient à deux fermes différentes situées dans deux communes différentes. La séroprévalence troupeau est estimée à 2,22 (IC 95% : 0- 4%).

La chlamydophilose abortive ou bien l'avortement épizootique des bovins est bien présente chez les bovins de la région de Jijel comme partout dans le monde. Par comparaison avec d'autres études réalisées sur des bovins en Algérie, notre résultat est assez proche de celui retrouvé par Dechicha et son équipe en 2009, la séroprévalence individuelle de

Chlamydophila abortus était estimé à 3,2% chez les vaches laitières de la région de Blida (Dechicha et al., 2009).

En comparant nos résultats avec ceux rapportés ailleurs dans le monde, on remarque que la séroprévalence de *Chlamydophila abortus* retrouvé chez les vaches dans notre région est assez faible. Les études ont estimé une prévalence de 2,3% au Togo (Akakpo et al., 1994), 11.2% en Zambie (Ghirotti et al.,1991), 7.1% en Slovénie (Lisak et al., 1989), 19,9% en Jordanie (Talafha et al., 2012) et 24% en Italie (Cavirani et al., 2001).

Les résultats sérologiques des Chlamydophila s'influencent beaucoup par le test utilisé du fait des réactions croisées très fréquentes entre les différentes espèces en particulier entre *Chlamydophila pecorum* et *Chlamydophila abortus* lors d'utilisation de test à base d'antigène commun ce qui induit l'obtention des prévalences exagérées avec nombreux faux positifs (Salinas et al., 2008). Le diagnostic sérologique traditionnel basé sur les corps bactériens entiers (FC ou ELISA) manque de spécificité du fait de réactions croisées avec le LPS de *chlamydophila pecorum* (Travnicek et al., 2002 ; McCauley et al., 2007 ; Vretou et al., 2007).

Le test ELISA qu'on a utilisé est basé sur un antigène synthétique issu de la Momp (majeur outer membrane protéine) présentant une spécificité pour *chlamydophila abortus* ce qui écarte les résultats faux positifs et augmentent largement la fiabilité de nos résultats.

1.2.2. Séroprévalence *Coxiella burnetii*

L'analyse ELISA indirect a révélé la séropositivité de 29 bovins sur les 184 testés ce qui représente une séroprévalence individuelle de 15,76% (IC 95%: 9,73-20,26%). La séroprévalence troupeau est estimé à 20% (IC 95%: 11,74- 28,26%). Les bovins séropositifs appartiennent à 18 fermes réparties sur 16 communes différentes.

Nos résultats confirment la présence de la fièvre Q chez les bovins de la région de Jijel. En comparant nos résultats avec des études antérieures réalisées en Algérie, on constate une hétérogénécité entre les différentes études. Dechicha et ses collaborateurs ont relevé une prévalence de 29% chez les vaches laitières de la région de Blida en 2009 (Dechicha et al., 2009) par contre Boudjmaa a relevé une prévalence de 5,92% dans la région de Annaba et El Tarf en 1987 (Boudjmaa, 1987). Si on considère que la prévalence de la fièvre Q bovine en Algérie appartient à un intervalle de 5,92 à 29%, la prévalence retrouvée dans la région de Jijel se situe au milieu de cet intervalle approximativement.

Cette hétérogénécité des résultats peut être l'effet de la localisation de la région d'étude, du protocole d'échantillonnage ou même du test utilisé.

Dans les autres régions du monde, les prévalences de *Coxiella burnetii* chez les bovins sont aussi hétérogènes qu'en Algérie. Au Canada, Lang a estimé une prévalence de 67% (Lang, 1988). Au pays bas, Guatteo l'a estimé entre 20 et 37.7% (Guatteo et al., 2011). En Corée du sud, Kim et ses collaborateur l'ont estimé à 25,6% (Kim et al., 2006) et en Allemagne, Mc Caughey et ses collaborateurs l'ont estimé à 6,2% chez les troupeaux laitiers (McCaughey et al., 2010).

La grande hétérogénécité des résultats pour la séroprévalence de la fièvre Q chez les bovins et les ruminants domestiques en général reste inexplicable.

1.2.3. Séroprévalence de la co-infection par *Chlamydophila abortus-Coxiella burnetii*

La co-infection par *Chlamydophila abortus* et *Coxiella burnetii* a été détectée chez un seul animal des 184 bovins testés ce qui représente une prévalence globale de 0.54%, 1/2 pour *Chlamydophila abortus* et 1/29 pour *Coxiella burnetii*.

Cette co-infection est jugée comme importante par rapport aux prévalences des deux agents pathogènes séparés. La co-infection de *Chlamydophila abortus* et *Coxiella burnetii* a déjà été rapportée par Berri et ses collaborateurs à une prévalence de 0,04% (Berri et al., 2009).

2. Etude des facteurs de risque

L'étude des facteurs de risque a comme but d'exploiter la relation liant l'infection par *Coxiella burnetii* et/ou *Chlamydophila abortus* aux différents facteurs intrinsèques ou extrinsèques à la recherche d'une éventuelle influence de ces facteurs sur la séropositivité vis-à-vis de l'un ou des deux agents pathogènes étudiés.

Cette étude a été réalisée grâce à un test statistique approprié pour ce genre d'étude qui est le test exact de Fisher à un risque admis de 5%.

Les facteurs étudiés sont ceux que nous avons jugés important soit par rapport à des études précédentes ou par rapport à nos constats après l'analyse de nos résultats.

2.1.Le facteur âge

Notre échantillon était composé d'animaux appartenant à différentes classes d'âge. La séroprévalence de ***Chlamydophila abortus*** en fonction de l'âge de l'animal était presque équivalente entre les différentes classes d'âge. Le test exacte de Fisher n'a pas révélé l'existence d'une relation reliant la séropositivité vis-à-vis *Chlamydophila abortus* et l'âge de l'animal.

Certaines études ont mis en évidence une relation reliant l'âge de l'animal à la séropositivité vis-à-vis *Chlamydophila abortus*. Talafha et son équipe en Jordanie ont constaté que la séropositivité augmente chez les animaux âgés entre 2-6 ans et entre 8-10ans (Talafha et al., 2012). Jee et ses collaborateurs ont constaté que la prévalence de la maladie est plus fréquente chez les veaux de moins de deux ans que chez les adultes (Jee et al., 2004).

Dans notre enquête, on a visé les femelles reproductives de plus 3ans d'âge car notre but était d'établir une relation entre l'infection par *Chlamydophila abortus-Coxiella burnetii* et la diminution des performances de reproduction chez ces animaux.

La séroprévalence de ***Coxiella burnetii*** en fonction de l'âge de l'animal était homogène entre les deux classes d'âge (de 3 ans à 10 ans), cette dernière était par contre quasiment nulle chez les bovins de 10 ans d'âge. Le test de Fisher n'a révélé l'existence d'aucune relation entre la séropositivité vis-à-vis de *Coxiella burnetii* et l'âge des animaux.

Selon Tissot-Dupont et Raoult, les jeunes bovins sont les plus susceptibles d'attraper la fièvre Q du fait de leur système immunitaire peu développé (Tissot-Dupont et Raoult, 1993). Certaines études ont confirmé la prédominance de l'infection chez les femelles âgées. D'après McCaughey et ses collaborateurs, la chance de contracter la fièvre Q chez les bovins augmente avec l'âge de l'animal (McCaughey et al., 2010). D'autres études n'ont pu mettre au point l'existence d'aucune relation entre l'âge de l'animal et la séropositivité de *Coxiella burnetii.*

Dans notre étude, on n'a pas pu comparer les séroprévalences entre les bovins jeunes et adultes vu la composition de notre échantillon de femelles adultes uniquement.

2.2.Le facteur race

Le but d'étudier l'influence du facteur race était de chercher l'existence d'une relation reliant la séropositivité à la race de l'animal surtout en ce qui concerne la race locale ou bien de chercher l'existence de certaine résistance à l'infection chez la race locale en particulier.

La séroprévalence de ***Chlamydophila abortus*** en fonction de la race des animaux a était répartie entre les deux catégories moderne et croisée avec une prévalence quasi nulle chez la race locale. L'étude statistique avec le test exacte de Ficher n'a révélé l'existence d'aucune relation entre la race de l'animal et la séropositivité vis-à-vis *Chlamydophila abortus*.

La prévalence globale était trop réduite pour pouvoir en tirer des conclusions valables. A notre connaissance aucune étude n'a été réalisée auparavant pour essayer de déterminer l'influence de la race sur l'infection par *Chlamydophila abortus*.

La séroprévalence de ***Coxiella burnetii*** était répartie entre les trois catégories de races, locale, croisée et moderne d'une façon équivalente. L'étude statistique par le test exact de Fisher n'a révélé l'existence d'aucune relation entre la séropositivité de l'animal et sa race. Aucune étude antérieure n'a étudié l'influence de la race sur la séropositivité de *Coxiella burnetii* chez les bovins.

2.3. Le facteur état d'embonpoint

Nous avons étudié l'influence de l'état d'embonpoint sur la séropositivité vis-à-vis des deux agents pathogènes étudiés, dans le but de rechercher la relation entre l'état corporel de l'animal et sa réceptivité aux deux bactéries. Les animaux en mauvais état corporel sont généralement la cible des différentes maladies infectieuses par déficience de leurs systèmes immunitaires.

La prévalence de ***Chlamydophila abortus*** a été de 1,52% chez les animaux en bon état d'embonpoint alors qu'elle était quasi nulle chez les animaux ayant un état corporel moyen. L'étude statistique par le test exact de Fisher n'a révélé l'existence d'aucune relation reliant l'état corporel de l'animal à sa séropositivité.

Reinhold et ses collaborateurs ont rapporté que les animaux infectés chroniquement par *Chlamydophila abortus* avaient une légère baisse de leurs poids corporels par rapport aux animaux indemnes (Reinhold et al., 2009). Cette baisse est selon l'auteur, le résultat de l'infection chronique par Chlamydophila abortus non pas la cause.

La séropositivité vis-à-vis de ***Coxiella burnetii*** était plus importante chez les animaux ayant un état d'embonpoint moyen. Le test exact de Fisher n'a pas révélé l'existence d'une relation entre la séropositivité de l'animal et son état corporel. Les études antérieures de séroprévalence de *Coxiella burnetii* chez les bovins n'ont pas exploré cette relation.

2.4.Facteur nombre de gestation

L'état de gestation entraine la régression des défenses immunitaires de la femelle ce qui expose cette dernière à un risque accru de contracter les différents agents infectieux. Le but d'étudier l'influence du facteur nombre de gestation était d'exploiter l'existence d'une éventuelle relation entre le nombre de portées de la vache et l'infection par *Chlamydophila abortus* et/ou *Coxiella burnetii*.

La séroprévalence de ***Chlamydophila abortus*** a été calculée chez les femelles ayant eu de 1 à 4 gestations. Le test exact de Fisher n'a pas prouvé de relation liant le nombre de portées chez la vache et son statut vis-à-vis *Chlamydophila abortus*. Kemmerling et ses collaborateurs ont relevé par contre l'existence d'une relation entre le nombre de gestations ou de lactation et l'infection par *Chlamydophila abortus* (Kemmerling et al., 2009). En effet, la gestation constitue un état de régression de l'immunité de l'animal donc plus la vache a fait de gestation au cours de sa vie plus elle a de chances d'attraper la chlamydophilose abortive ou d'autres maladie infectieuses.

La séroprévalence de ***Coxiella burnetii*** a été absente chez les vaches ayant eu plus de 8 gestations. Chez les autres catégories elle était équivalente entre les différentes classes. Le test exact de Fisher n'a révélé aucune relation entre l'infection par *Coxiella burnetii* et le nombre de gestations de la vache. A notre connaissance, il n'existe pas de travaux ayant étudié l'influence de ce facteur sur la prévalence de la fièvre Q chez les bovins.

2.5. Le facteur entretien et hygiène de l'exploitation

L'entretien et l'hygiène des exploitations sont connus comme facteurs de protection pour la plupart des maladies infectieuses.

La présence de ***Chlamydophila abortus*** a été signalée dans les exploitations dont le niveau d'hygiène et d'entretien est bon. Le test exact de Fisher n'a mis en évidence aucune relation entre l'infection par *Chlamydophila abortus* et l'état d'hygiène et d'entretien de l'exploitation.

Chlamydophila abortus est considérée comme une bactérie sensible dans le milieu extérieur, sa transmission nécessite le contact direct entre l'animal infecté et l'animal indemne ce qui minimise le rôle du milieu comme réservoir (Jee et al., 2004). Kemmerling et ses collaborateurs ont mis en évidence une relation liant le bon entretien et la bonne hygiène de l'exploitation et la résistance à l'infection par *Chlamydophila abortus* chez les bovins (Kemmerling et al., 2009).

La séroprévalence de ***Coxiella burnetii*** était un peu plus élevée dans les élevages avec un mauvais état d'hygiène. Le test exact de Fisher n'a pas mis en évidence la relation liant l'état d'exploitation à la séroprévalence de *Coxiella burnetii*.

Coxiella burnetii est considérée comme une bactérie hautement résistante. Le milieu extérieur que se soit dans la ferme ou dans le pâturage constitue un réservoir d'importance considérable pour la fièvre Q. Cette importance a été prouvée par certain travaux dont ceux de Cantas et rousset et leurs collaborateurs **(**Rousset et al., 2001 ; Cantas et al., 2011).

2.6.Le facteur saison

Le facteur saison n'est pas d'une grande importance dans les études sérologiques vu la réponse retardée de l'organisme à l'infection.

De même pour ***Chlamydophila abortus***, la séropositivité était plus élevée en été et quasi nulle en automne et en hiver. Le test exact de Fisher n'a indiqué aucune relation entre la séropositivité et la saison du prélèvement.

La séroprévalence de ***Coxiella burnetii*** était plus marquée en été. Le test exact de Fisher n'indique pas de relation significative entre la séropositivité et la saison du prélèvement.

Ces résultats sont à compléter dans l'avenir par des examens de mise en évidence des agents pathogènes ou de PCR.

2.7. Le facteur altitude

La séropositivité de ***Chlamydophila abortus*** était plus marquée chez les animaux appartenant à des exploitations situées à plus de 400 m d'altitude. Le test exact de Fisher a indiqué l'absence d'une relation significative du fait du nombre réduit de séropositifs obtenus.

La séropositivité chez ***Coxiella burnetii*** était significativement plus marquée chez les animaux provenant d'exploitations situées à + de 800m. La séroprévalence de *Coxiella*

burnetii augmentait significativement avec l'altitude. Le test exact de Fisher a indiqué une forte corrélation entre l'altitude et la séropositivité.

Ces résultats sont probablement dus au fait qu'en régions hautes, l'élevage bovin est de type extensif, les animaux sont souvent en pâturage pour plusieurs jours ce qui les expose à un risque accru de contracter la bactérie. En plus les régions hautes sont connues comme plus froides et plus sèches favorisants ainsi la conservation de *Coxiella burnetii* dans la nature.

Les régions hautes sont caractérisées également par la fréquence des élevages caprins et des animaux sauvages (sanglier, lapin sauvages et oiseaux sauvages) qui constituent un réservoir très important de la fièvre Q (Marrie, 1990 ; Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005).

Selon nos connaissances, aucun travail n'a étudié l'effet de l'altitude sur la séropositivité de *Coxiella burnetii* chez les bovins. Ces résultats peuvent être de grande importance en ce qui concerne la lutte contre la maladie.

3. Etude cas-témoin

3.1. Étude de l'association entre *Chlamydophila abortus* et les avortements-troubles de reproduction

Le taux d'exposition à *Chlamydophila abortus* pour les femelles ayant déjà avorté était de 0% et pour celles n'ayant jamais connue un avortement était de 1%. Le Odds Ratio de 0 indique une indépendance entre la séropositivité de *Chlamydophila abortus* et la survenue d'avortement chez les femelles bovines.

Pour les troubles de la reproduction, le taux d'exposition des femelles ayant connu des troubles de reproduction était de 0% et celui des femelles n'ayant jamais connu des troubles était de 1,6%. Le calcul de l'Odds Ratio a donné une valeur nulle ce qui indique encore une fois l'absence d'une relation reliant l'infection par *Chlamydophila abortus* et la survenue des troubles de la reproduction.

Chlamydophila abortus l'agent causal de l'avortement épizootique des bovins est considéré comme un agent abortif et responsable des troubles de la reproduction par plusieurs auteurs (Storz, 1971 ; Longbottom et Coulter, 2003 ; DeGraves et al., 2004). Chez les bovins, la chlamydophilose abortive se traduit beaucoup plus par des troubles de reproduction que par des avortements (Jee et al., 2004).

Cependant, de récentes études n'ont pas pu mettre en évidence une relation significative entre l'infection par *Chlamydophila abortus* chez les bovins et la survenue d'avortements ou des troubles de la reproduction. Les travaux réalisés dans d'autres pays indiquent que la chlamydophilose abortive bovine se traduit chez les bovins par un portage asymptomatique que par des avortements et des troubles de reproduction (Wang et al., 2001 ; Kaltenboeck et al., 2005 ; Wehrend et al., 2005 ; Godin et al., 2008 ; Petit et al., 2008).

Nos résultats son en concordances avec ces dernières constatations. En effet, on suppose que les bovins par leur portage asymptomatique jouent le rôle d'un réservoir silencieux à *Chlamydophila abortus*. Ce réservoir est d'une extrême importance, car il constitue une source de bactérie pour les petits ruminants, espèces très sensibles à l'infection et surtout pour l'être humain.

3.2. Étude de l'association entre *Coxiella burnetii* et les avortements-troubles de reproduction

Le taux d'exposition à *Coxiella burnetii* pour les femelles ayant déjà avorté était de 25% et pour celles n'ayant pas connu d'avortement était de 17%. Le Odds Ratio était de 1,42 ce qui indique une indépendance entre la séropositivité à *Coxiella burnetii* et la survenue d'avortements chez les vaches testées.

Pour les troubles de reproduction, le taux d'exposition des femelles ayant connu des troubles de reproduction était de 18% et celui des femelles n'ayant jamais connu des troubles était de 19%. Le calcul de l'Odds Ratio a donné une valeur de 0,9 ce qui indique l'absence d'une relation reliant l'infection par *Coxiella burnetii* et la survenue des troubles de la reproduction chez les femelles bovines.

Nos résultats indiquent qu'il n'existe pas de relation entre le fait d'avoir des anticorps anti-*Coxiella burnetii* et la survenue d'avortement ou des troubles de reproduction.

Les études réalisées sur les bases d'analyses par PCR indiquent l'existence d'une relation entre le portage de *Coxiella burnetii* par les femelles bovines et la survenue soit de troubles de reproduction uniquement (métrites, mises bas prématurées…etc.) (Bildfell et al., 2000 ; López-Gatius et al., 2012) ou d'avortements en fin de gestation (Agerholm, 2013 ; To et al., 1998).

Nos résultats indiquent que le portage asymptomatique de *Coxiella burnetii* est très fréquent chez les bovins de la région de Jijel. Ce portage favorise le rôle des bovins comme réservoir à la fièvre Q, source de contamination pour les autres animaux en particulier les petits ruminants, pour l'homme et pour le milieu.

Conclusion et recommandations

Conclusion

A l'heure actuelle, *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus*, bactéries gram négatif intracellulaires strictes, agents de deux zoonoses, la fièvre Q et de la chlamydophilose abortive respectivement, sont reconnues comme responsables d'avortements et de troubles de la reproduction chez les bovins et les ruminants domestiques.

Dans la wilaya de Jijel, région nord-est d'Algérie, une enquête séroépidémiologique rétrospective, portant sur 184 bovins, a révélé une prévalence de 16 % des avortements chez les bovins ainsi qu'une séropositivité de 1,08% pour *Chlamydophila abortus* et de 15,76% pour *Coxiella burnetii.* Ces résultats indiquent que les infections par *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* sont bien présentes dans l'élevage bovin de la région de Jijel avec une prédominance pour *Coxiella burnetii*.

L'étude des facteurs de risque a révélé la non association statistique de l'infection par les deux agents pathogènes avec de nombreux facteurs tels l'âge, la race, l'état d'embonpoint, le nombre de gestations, l'entretien et l'hygiène de l'exploitation ou encore la saison. Le facteur altitude a fortement influencé la séropositivité de la fièvre Q chez les bovins, les régions les plus hautes semblent être les plus touchées par cette zoonose.

L'étude de type cas-témoin a révélé l'absence d'une relation significative entre l'infection par *Chlamydophila abortus* et/ou *Coxiella burnetii* et la survenue des troubles de reproduction et d'avortements chez les bovins testés. Ces résultats nous indiquent l'importance du rôle des bovins dans l'épidémiologie des deux pathologies.

En effet, par leurs portages asymptomatiques, les bovins jouent un rôle important de réservoir pour *Coxiella burnetii* et/ou *Chlamydophila abortus* constituant ainsi un danger potentiel de contamination pour les autres espèces des ruminants domestiques et pour l'être humain. Ceci nous mène à insister sur les mesures de prophylaxie et d'éradication visant à lutter contre la chlamydophilose abortive et la fièvre Q chez les bovins limitant ainsi les risques de contamination pour les autres espèces animales y compris l'homme.

Recommandations

Lors de la réalisation de notre travail on s'est affronté à différents obstacles dont le principal est le manque de coopération de la part des éleveurs (manque de confiance de leur part) en plus du manque accru d'informations auprès des services agricoles (liste d'éleveurs, statistiques concernant les avortements…etc.). L'aide des vétérinaires praticiens nous a été très précieuse pour essayer de gagner la confiance des éleveurs en vue de l'obtention d'un maximum d'informations juste à propos de leurs animaux.

Notre étude nous a révélé que *Coxiella burnetii* et *Chlamydophila abortus* sont présentes chez les bovins de la région de Jijel. Leur portage est principalement asymptomatique ce qui qualifie les bovins de cette région de réservoirs important pour ces deux bactéries. Suite à ces résultats nous recommandons ce qui suit :

-Réalisation dans l'avenir proche d'études visant à couvrir une plus grande surface géographique et un plus grand nombre d'animaux pour pouvoir en tirer des conclusions plus pertinentes.

- Élargir l'étude et cibler différentes espèces animales tels les ruminants domestiques et sauvages sans oublier l'homme pour définir les prévalences de ces maladies et déterminer l'influence des différents facteurs de risques.

-Etudier le risque potentiel pour l'être humain notamment en ce qui concerne la consommation de denrées provenant d'animaux infectés ou suspects.

- Sensibiliser les éleveurs sur le risque zoonotique potentiel de ces deux pathologies.

-Adopter des mesures prophylactiques sanitaires et médicales visant à limiter la propagation des deux maladies, dans le but surtout de protéger de l'être humain.

Références bibliographiques

1) ABROMITIS S. STEPHENS R.S. Attachment and entry of Chlamydia have distinct requirements for host protein disulfide isomerase. PLoS Pathog, 2009, doi: 10.1371/journal. ppat.1000357.

2) AGERHOLM A. Coxiella burnetii associated reproductive disorders in domestic animals. a critical review. cta Vet Scand. 2013, 18, 13.

3) AITKEN I D. Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. European journal of epidemiology, 1989, 5, 420-424.

4) AKAKPO AJ. TEOU KL. KPONMASSI T. ZELLER HG. Epidémiologie des affections abortives au Togo: Enquête sérologique sur la brucellose, la chlamydiose, la fièvre Q et la fièvre de la vallée de Rift. Biotechnologies du diagnostic et de la prévention des maladies animales, 1994, 125-137.

5) ALLEN J.E. STEPHENS R.S. An intermolecular mechanism of T cell helps for the production of antibodies to the bacterial pathogen, Chlamydia trachomatis. Eur J Immunol. 1993. 23. 1169-1172.

6) AMIN AS. Comparison of polymerase chain reaction and cell culture for the detection of Chlamydophila species in the semen of bulls, buffalobulls, and rams. Vet J. 2003, 166, 86-92.

7) ARRICAU-BOUVERY N. AND RODOLAKIS A. Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis? Vet. Res. 2005, 36, 327-349.

8) ARRICAU-BOUVERY N. SOURIAU A. MOUTOUSSAMY A. LADENISE K. RODOLAKIS A. Étude de l'excrétion deCoxiella burnetii dans un modèle expérimental caprin et décontamination des lisiers par la cyanamide calcique. Renc. Rech. Ruminants, 2001, 8, 153–156.

9) ARRICAU-BOUVERY N. HAUCK Y. BEJAOUI A. FRANGOULIDIS D., BODIER C. SOURIAU A. MEYER H. NEUBAUER H. RODOLAKIS A. AND VERGNAUD G. Molecular characterization of Coxiella burnetii isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. BMC Microbiol. 2006, 6, 38.

10) ATURANA P. GRAHAM J. SHARMA U. VOTH E. Refining the Plasmid-Encoded Type IV Secretion System Substrate Repertoire of Coxiella burnetii. J Bacteriol. 2013. 14. 269-3276.

11) BACA O.G. PARETSKY D. Q fever and Coxiella burnetii: a model for host–parasite interactions. Microbiol Rev. 1983. 47. 127–149.

12) BAEHR WB. ZHANG Y-X. JOSEPH T. HUA S. NANO FE. EVERETT KDE. CALDWELL HD. Mapping antigenic domains expressed by Chlamydia trachomatis major outer membrane protein genes. Proc Natl Acad Sci. USA. 1988. 85. 4000-4004.

13) BAKER J.A. Virus causing pneumonia in cats and producing elementary bodies. J. Exp .Med.1944.79. 159-172.

14) BALLAN S. Les infections uro-génitales basses à Chlamydia tracho-matis : Université Paris XI Faculté de médecine PARIS¬SUD, 2008,11.

15) BAS S. MUZZIN P. VISCHER T.L. Chlamydia trachomatis serology: diagnostic value of outer membrane protein 2 compared with that of other antigens. J Clin Microbiol. 2001. 39. 4082-5005.

16) BAVOIL P. STEPHENS R.S. FALKOW S. A soluble 60 kilo Dalton antigen of Chlamydia spp. is a homologue of Escherichia coli GroEL. Mol Microbiol .1990. 4. 461–469.

17) BAVOIL P. WYRICK P.B. Chlamydia Genomics and Pathogenesis: Horizon Scientific Press, 2006, 542p.

18) BAVOIL P.M. HSIA R. OJSUIS D.M. Closing in on Chlamydia and its intracellular bag of tricks. Microbiology. 2000. 146. 2723-2731.

19) BAVOIL. P. OHLIN. A. AND SCHACHTER J. Role of disulfide bonding in outer membrane structure and perme-ability in Chlamydia trachomatis. Infect Immun.1984.44.479-485.

20) BEATY W L. MORRISON R P. BYRNEG L. Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. Microbiology Review. 1994.4. 689-699.

21) BEAUDEAU F. GUATTEO R. ET SEEGERS H. Voies d'excrétion de Coxiella burnetii par la vache laitière : implication pour le dépistage et la maitrise de l'infection en élevage. Epidémiol.et santé anim. 2006, 49, 1-4.

22) BEBEAR C. M. DE BARBEYRAC B. PEREYRE S. et BEBEAR C. Mycoplasmes et chlamydiae: sensibilité et résistance aux antibiotiques. Revue francophone des laboratoires, 2007, 391, 77-85.

23) BEECKMAN D.S., GEENS T., TIMMERMANS J.P., VAN OOSVELDT P., VANROMPAY D.C. Identification and characterization of a type III secretion system in Chlamydophila psittaci. Vet Res.2008. 39. doi: 10.1051/vetres:2008002.

24) BELLAND R.J. ZHONG G. CRANE D.D. HOGAN D. STURDEVANT D. SHARMA J.Genomic transcriptional profiling of the developmental cycle of Chlamydia trachomatis. Proc Natl Acad Sci USA. 2003.100.8478–8483.

25) BENALLOU B. KOUIDRI M. GHAZI K. Evaluation des performances de reproduction de la vache laitière dans la région de Tiaret. Revue d'Ecologie et Environnement N °07 Décembre 2011.

26) BEN AMARA A. GHIGO E. LE PRIOL Y. LEPOLARD C. SALCEDO SP. et al. Coxiella burnetii, the Agent of Q Fever, Replicates within Trophoblasts and Induces a Unique Transcriptional Response. PLoS ONE. 2010, doi:10.1371/journal. pone. 0015315

27) BENKIRANE A. JABLI N. RODOLAKIS A. Fréquence d'avortement et séroprévalence des principales maladies infectieuses abortives ovines dans la région de Rabat (Maroc). Annales de Recherches vétérinaires, 1990, 21, 267-273.

28) BERRI M. LAROUCAU K. RODOLAKIS A. The detection of Coxiella burnetii from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction, Vet. Microbiol. 2000, 72, 285–293.

29) BERRI M. REKIKI A. SIDI BOUMEDINE K. and RODOLAKIS A. Simultaneous differential detection of Chlamydophila abortus, Chlamydophila pecorum and Coxiella burnetii from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR. BMC Microbiology, 2009, 9,130.

30) BETTS-HAMPIKIAN H., FIELDS K.A. The chlamydial type III secretion mechanism revealing cracks in a tough nut. Front Microbio. 2010.114.1-13.

31) BILDFELL R J. THOMSON G W. HAINES D M. MCEWEN B J. SMART N. Coxiella burnetii infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. J Vet Diagn Invest. 2000, 12, 419–425.

32) BOGDAN C. Rickettsiaceae (Rickettsia, Orientia), Anaplasmataceae (Anaplasma, Ehrlichia, Neorickettsia) und Coxiellaceae: Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Springer-Lehrbuch, 2012, 383-391.

33) BONI M. DAVOUST B. TISSOT-DUPONT H. RAOULT D. Survey of seroprevalence of Q fever in dogs in the southeast of France, French Guyana, Martinique, Senegal and the Ivory Coast. Vet. Microbiol. 1998, 64, 1-5.

34) BOREL N. DOHERR MG. VRETOU E. PSARROU E. THOMA R. POSPISCHIL A. Seroprevalences for ovine enzootic abortion in Switzerland. Prev Vet Med. 2004, 65, 205–216.

35) BOREL N. THOMA R. SPAENI P. WEILENMANN R. TEANKUM K. BRUGNERA E. ZIMMERMANN D.R.VAUGHAN L. and POSPISCHIL A. Chlamydia-related abortions in Cattle from Graubunden. Switzerland. Vet Pathol. 2006, 43, 702–708.

36) BOUDJADJOU L. Etude de la flore adventice des cultures de la région de Jijel : Université de Ferhat Abass, Sétif, Faculté de science département de biologie: Sétif, 2010, 100p.

37) BOUVERY N.A. SOURIAU A. LECHOPIER P. & RODOLAKIS A. Experimental Coxiella burnetii infection in pregnant goats: excretion routes. Vet. Res. 2003, 34, 423–433.

38) BOWEN R-A. SPEARS P. STORZ J. SEIDEL G-E. Mechanisms of infertility in genital tract infections due to Chlamydia psittaci transmitted through contaminated semen. J. Infect. Dis. 1978, 138, 95–98.

39) BRENNAN RE. SAMUEL JE. Evaluation of Coxiella burnetii Antibiotic Susceptibilities by Real-Time PCR Assay. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41, 1869-1874.

40) BUSH K., EVERTT K.D. Molecular evolution of the Chlamydiaceae. Int J Syst Evol Microbiol. 2001, 5, 203–220.

41) BYRNE G.I., MOULDER J.W. Parasite-specified phagocytosis of Chlamydia psittaci and Chlamydia trachomatis by L and HeLa cells. Infect Immun. 1978, 19, 598-606.

42) BYRNE GI. OJCIUS DM. Chlamydia and apoptosis: life and death decisions of an intracellular pathogen. Nat Rev Microbiol. 2004, 2, 802-8.

43) CALDWELL H D., KROMHOUT J., SCHACHTER J. Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis . Infect Immun.1981, 3, 161-176.

44) CAMPBELL L. A., KUO C.C., GRAYSTON J. T. Characterization of the new Chlamydia agent, TWAR, as a unique organism by restriction endonuclease analysis and DNA-DNA hybridization. J Clin Microbiol. 1987.25.1911-1916.

45) CAMPBELL L.A. KUO C.C. Interactions of Chlamydia with the Host Cells that Mediate Attachment and Uptake. In: Bavoil P.M., Wyrick, P.B., Chlamydia: Genomics and Pathogenesis. Horizon Scientific Press.2006, 319.

46) CANTAS H. MUWONGE A. SAREYYUPOGLU B. YARDIMCI H. ET SKJERVE E. Q fever abortions in ruminants and associated on-farm risk factors in northern Cyprus. BMC veterinary research, 2011, 7, 13.

47) CAPO C., LINDBERG F.P., MECONI S., ZAFRRAN Y., TARDEI G., BROWN E.J., al. Subversion of monocyte functions by Coxiella burnetii: impairment of the cross-talk between avb3 integrin and CR3. J Immunol.1993, 163, 6078–6085.

48) CARABEO R A., MEAD D J., and HACKSTADT T. Golgi-dependent transport of cholesterol to the Chlamydia trachomatis inclusion. Proc Natl Acad Sci USA. 2004. 100. 6771–6776.

49) CARRIERI M. TISSOT-DUPONT H. REY D. BROUSSE P. RENARD H. OBADIA Y. RAOULT D. Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2002, 21, 17–21.

50) CAVIRANI S. CABASSI C S. DONOFRIO G. DE IACO B. TADDEI S. et FLAMMINI C. F. Association between Chlamydia psittaci seropositivity and abortion in Italian dairy cows. Preventive Veterinary Medicine, 2001, 50, 145-151.

51) CERF O. et CONDRON R. Coxiella burnetii and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? Epidemiol Infect. 2006, 134, 946–951.

52) CHANG G.T., MOULDER J.W. Loss of inorganic ions from host cells infected with Chlamydia psittaci. Infect Immun.1978.19. 827-832.

53) CHEN Q., GONG X., ZHENG F., CAO X., LI Z., ZHOU.J. Sero-prevalence of Chlamydophila abortus infection in yaks (Bosgrunniens) in Qinghai, China. 2014.46. 503-507.

54) COCCHIARO.J L., VALDIVIA R.H. New insights into Chlamydia intracellular survival mechanisms. Cellular Microbiology .2009.11. 1571–1578.

55) COLEMAN S.A., FISCHER E.R., HOWE D., MEAD D.J., HEINZEN R.A. Temporal analysis of Coxiella burnetii morphological differentiation. J Bacteriol.2004. 186.7344–7352.

56) CONANTC G., STEPHENS R.S. Chlamydia attachment to mammalian cells requires protein disulfide isomerase. Cell Microbiol.2007.9.222–232.

57) CUBERO-PABLO MJ. PLAZA M. PEREZ L. GONZALES M. Seroepidemiology of chlamydial infection of wild ruminants in Spain. J Wildl Dis. 2000, 36, 35-47.

58) DAGNALL G J. WILSMORE A J. A simple staining method for the identification of chlamydial elementary bodies in the fetal membranes of sheep affected by ovine enzootic abortion. Vet. Microbiol. 1990, 21, 233-239.

59) DANILITION S.L., MACLEAN I W., PEELING R., WINSTON S., BRUNHAM R.C.The 75-kilodalton protein of Chlamydia trachomatis.A member of the heat shock protein 70 family Infect Immun. 1990, 58,189-196.

60) DAUTRY-VARSAT A., SUBTIL A., HACKSTADT T. Recent insights into the mechanisms of Chlamydia entry. Cell Microbiol. 2007, 7, 1714–1722.

61) DAVIS C.H., RAULSTON J.E., WYRICK P.B. Protein disulfide isomerase, a component of the estrogen receptor complex, is associated with Chlamydia trachomatis serovar E attached to human endometrial epithelial cells. Infect Immun. 2002, 70, 3413-3418.

62) DECHICHA A. GHARBI S. KEBBAL S. CHATAGNON G. TAINTURIER D. OUZROUT R. AND GUETARNI D. Serological survey of etiological agents associated with abortion in two Algerian dairy cattle breeding farms. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health, 2010, 1, 001-005.

63) DEGRAVES F-J. GAO D. and KALTENBOECK B. Frequent natural chlamydial infection in cattle found with high-sensitivity high-through-put quantitative PCR platform, In J. Schachter (ed.), Chlamydial infections. Proceedings of the Tenth International Symposium on Human Chlamydial Infection, Antalya, Turkey. International Chlamydia Symposium, San Francisco, Calif. 2002, 127-130.

64) DEGRAVES F-J. GAO D. HEHNEN H-R. SCHLAPP T. KALTENBOECK B. Quantitative detection of Chlamydia psittaci and C. pecorum by High-Sensitivity Real-Time PCR Reveals High Prevalence of Vaginal Infection in Cattle. Journal of clinical microbiology, 41, 2003, 1726–1729.

65) DEGRAVES F-J. KIM T. JEE J. SCHLAPP T. HEHNEN H. R. et KALTENBOECK B. Reinfection with Chlamydophila abortus by uterine and indirect cohort routes reduces fertility in cattle preexposed to Chlamydophila. *Infection and immunity*, 2004, *72*, 2538-2545.

66) DERRICK E.H., Epidemiology of Q fever. Review. Med J. 1953.1. 245-253.

67) DONG F., SU H., HUANG Y., ZHONG Y., ZHONG G. Cleavage of host keratin 8 by a Chlamydia-secreted protease. Infect Immun. 2004,72, 3863-3968.

68) DURAND M P. DURAND J L. Fièvre Q. Epidémiologie et prophylaxie humaine et animale. Bull. Mens. Soc. Vet. Prat. de France, 1993, 77, 269-297.

69) DWORKIN M., FALKAW S. The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria, Volume 5, Springer Science & Business Media, 2006, 919p.

70) EL IDRISSI A.H. Les avortements infectieux chez les petits ruminants au Maroc. Référence particulière à la chlamydiose. Rapport du Groupe de Recherche Agronomique Méditerranéen GRAM. Chlamydiose abortive des petits ruminants, 1998, 10, 15-16.

71) EVERETT K.D., Hatch T.P. Architecture of the cell envelope of Chlamydia psittaci 6BC. J Bacteriol.1995.177.877-882

72) EVERETT K.D., HATCH T.P. Sequence Analysis and Lipid Modification of the Cysteine-Rich Envelope Proteins of Chlamydia psittaci 6BC. J Bacteriol.1991 Jun.12.1990.3821-3830.

73) EVERTT K.D., BUSH R.M., ANDERSEN A.A. Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet –reply. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.2001.51.251–253.

74) EVERTT K.D., BUSH R.M., ANDERSON A.A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiales fam.nov. Each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five species, and standards for the identification organisms. Int J Syst Bacteriol.1999, 49, 415-440.

75) FADEL S., ELEY A. Chlamydia trachomatis OmcB protein is a surface-exposed glycosaminoglycan-dependent adhesin. J Med Microbiol. 2007, 56, 15–22.

76) FADEL S., ELEY A. Is lipopolysaccharide a factor in infectivity of Chlamydia trachomatis? J Med Microbiol. 2008, 57, 261-266.

77) FAN P., DONG F., HUANG Y., ZHONG G. Chlamydia pneumonia secretion of a protease-like activity factor for degrading host cell transcription factors required for [correction of factors is required for] major histocompatibility complex antigen expression. Infect Immun. 2002, 70, 345-349

78) FEHER VA., RANDALL A., BALDI P., BUSH RM., DE LA MAZA LM. A 3-Dimensional Trimeric β-Barrel Model for Chlamydia MOMP Contains Conserved and Novel Elements of Gram-Negative Bacterial Porins. PLoS ONE, 2013, 8, doi:10.1371/journal.pone.

79) FENOLLAR F., FOURNIER PE., CARRIERI MP., HABIB G., MESSANA T., RAOULT D. Risks factors and prevention of Q fever endocarditis. Clin Infect Dis. 2001, 33, 312-316.

80) FOURNIER P.E., MARRIE T.J. & RAOULT D. Diagnosis of Q fever. J. Clin. Microbiol. 1998, 36, 1823–1834.

81) FOX A., ROERS J.C., GILBART J., MORGAN S., DAVIS C.H., KNIGHT S., WYRICK P B. Muramic acid is not detectable in Chlamydia psittaci or Chlamydia trachomatis by gas chromatography-mass spectrometry. Infect Immun.1990, 3, 835-837.

82) FUDYK T., OLINGER L., STEPHENS R.S. Selection of mutant cell lines resistant to infection by Chlamydia spp. Infect Immun.2002, 70, 6444–6447.

83) FUKUSHI H., HIRAI K. Chlamydia pecorum-the fourth species of genus Chlamydia. Microbiol Immunol. 1993, 7, 516-522.

84) GARES H. Les interruptions de gestation d'origine infectieuse en élevage bovin laitier a l'Île de la Réunion (Doctoral dissertation), 2003, 84.

85) GHALMI F. CHINA B. GHALMI A. HAMMITOUCHE D. et LOSSON B. Study of the risk factors associated with Neospora caninum seroprevalence in Algerian cattle populations. Research in veterinary science, 2012, 93, 655-661.

86) GHIROTTI M. SEMPRONI G. DE MENEGHI D. MUNGABA FN. NANNINI D. CALZETTA G. PAGANICO G. Sero-prevalences of selected cattle diseases in the Kafue flats of Zambia. Vet. Res. Commun. 1991, 15, 25-36.

87) GILES D.K., WYRICK P.B. Trafficking of chlamydial antigens to the endoplasmic reticulum of infected epithelial cells. Microbes Infect. 2008, 10, 1494-1503.

88) GIROUD P, ROGER F, DARTOIS N. Comportement des sérums de divers animaux domestiques vis-à-vis de l'antigène de la psittacose. C R Hebd Seances Acad Sci. 1954, 3, 419–442.

89) GODIN A. C. BJÖRKMAN C. ENGLUND S. JOHANSSON K. E. NISKANEN R. et ALENIUS S. Investigation of Chlamydophila spp. in dairy cows with reproductive disorders. Acta Veterinaria Scandinavica, 2008, 50, 39.

90) GOODALL JC., YEO G., HUANG M., RAGGIASCHI R., GASTON JS. Identification of Chlamydia trachomatis antigens recognized by human CD4+ T lymphocytes by screening an expression library. Eur J Immunol. 2001, 5, 1513-1522.

91) GORDON F.B., QUAN A.L. Isolation of the Trachoma Agent in Cell Culture. Proc Soc Exp Biol Med.1965, 118, 354-359.

92) GRAYSTON J.T., WANG S.P., KUO C.C., CAMPBEL L.A. Current knowledge on Chlamydia pneumoniae, strain TWAR, an important cause of pneumonia and other acute respiratory diseases. Eur J ClinMicrobiol Infect Dis.1989, 8, 198 , 191-202.

93) GRIESHABER N.A., SAGER J.B., DOOLEY C.A., HAYES S.F., HACKSTADT T. Regulation of the Chlamydia trachomatis Histone H1-Like Protein Hc2 Is IspE Dependent and IhtA Independent. J Bacteriol. 2006, 188, 5289–5292.

94) GRIESHABER S.S., GRIESHABER N.A., HACKSTADT T.Chlamydia trachomatis uses host cell dynein to traffic to the microtubule-organizing center in a p50 dynamitin-independent process. J Cell Sci. 2003, 116, 3793–3802.

95) GUATTEO R. BEAUDEAU F. BERRI M. RODOLAKIS A. JOLY A. et SEEGERS H. (2006). Shedding routes of Coxiella burnetii in dairy cows: implications for detection and control. Veterinary research, 2006, 37, 827-833.

96) GUATTEO R. BEAUDEAU F. JOLY A. et SEEGERS H. Coxiella burnetii shedding by dairy cows. Veterinary research, 2007, 38, 849-860.

97) GUATTEO R. SEEGERS H. JOLY A. ET BEAUDEAU F. Prevention of Coxiella burnetii shedding in infected dairy herds using a phase I C. burnetii inactivated vaccine. Vaccine, 2008, 26, 4320-4328.

98) GUATTEO R. SEEGERS H. TAUREL A. F. JOLY A. ET BEAUDEAU F. Prevalence of Coxiella burnetii infection in domestic ruminants: a critical review. Veterinary microbiology, 2011, 149, 1-16.

99) GUATTEO R. BEAUDEAU F. BERRI M. RODOLAKIS A. SEEGERS A.J.H. Shedding routes of Coxiella burnetii in dairy cows: implications for detection and control. Vet. Res. 2006, 37, 827–833 827.

100) GÜRTLER L. BAUERFEIND U. BLÜMEL J. BURGER R. DROSTEN C. GRÖNER A. HEIDEN M. HILDEBRANDT M. JANSEN B. OFFERGELD R. PAULI G. SEITZ R. SCHLENKRICH U. SCHOTTSTEDT V. STROBEL J. and WILLKOMMEN H. Coxiella burnetii - Pathogenic Agent of Q (Query) Fever. Transfus Med Hemother. 2014, 41, 60-72.

101) GUTIERREZ M.G. VAZQUEZ C.L. MUNAFO D.B. ZOPPINO F.C. BERON W. RABINOVITCH M. COLOMBO M.I. Autophagy induction favours the generation and maturation of the Coxiella-replicative vacuoles. Cell Microbiol.2005, 7, 981–993.

102) HACKSTADT T. The role of lipopolysaccharides in the virulence of Coxiella burnetii. Ann. N. Y. Acad. Sci, 590, 1990, 27-32.

103) HACKSTADT T. FISCHER E.R. SCIDMORE M.A. ROCKEY D.D. HEINZEN R.A. Origins and functions of the chlamydial inclusion. Trends Microbiol. 1979, 5, 288-293.

104) HACKSTADT T., TODD W.J., CALDWELL H.D. Disulfide–mediated interactions of the chlamydial major outer membrane protein: role in the differentiation of Chlamydia? J Bacteriol. 1985, 162, 25–31.

105) HANSEN M. S. RODOLAKIS A. COCHONNEAU D. AGGER J. F. CHRISTOFFERSEN A. B. JENSEN T. K. et AGERHOLM J. S. Coxiella burnetii associated placental lesions and infection level in parturient cows. The Veterinary Journal, 2011, 190, 135-139.

106) HATCH T P., VANCE D W., ALHOUSAINY E. Attachment of Chlamydia psittaci to formaldehyde-fixed and unfixed L cells. J Gen Microbiol.1981, 125, 273-83.

107) HECHARD C., GREPINET O., RODOLAKIS A. Molecular cloning of the Chlamydophila abortus groEL gene and evaluation of its protective efficacy in a murine model by genetic vaccination. MolMicrobiol.2004, 53, 861-868.

108) HECHARD C., GREPINET O., RODOLAKIS A.Proteic boost enhances humoral response induced by DNA vaccination with the dnaK gene of Chlamydophilaabortus but fails to protect pregnant mice against a virulence challenge. Vet Res. 2003, 34, 119-125.

109) HEINE H., GRONOW S., ZAMYATINA A., KOSMA P.,BRADE H. Investigation on the agonistic and antagonistic biological activities ofsynthetic Chlamydia lipid A and its use in in vitro enzymatic assays. J Endotoxin Res.2007,13, 126-132.

110) HEINZEN R.A. HACKSTADT T. SAMUEL J.E. Developmental biology of Coxiella burnetii. Trends Microbiol. 1999, 7, 149–154.

111) HEINZEN R.A., SCIDMORE M.A., ROCKEY D.D. and HACKSTADT T. Differential Interaction with Endocytic and Exocytic Pathways Distinguish Parasitophorous Vacuoles of Coxiella burnetii and Chlamydia trachomatis. Infect Immun.1996, 64, 796–809.

112) HELLENBRAND W. BREUER T. PETERSEN L. Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. Emerg Infect Dis. 2001, 7, 789-796.

113) HENDERSON I.R., LAM A.C. Polymorphic proteins of Chlamydia spp. autotransporters beyond the Proteobacteria. Trends Microbiol. 2001, 9, 573-578.

114) HERMMAN B., PETERSSON B., EVERETT K.D., MIKKEL S., Kirsebom L.A. Characterisation of thernp B gene and Rnase PRNA in the order Chlamydiales. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2000, 50, 149-158.

115) HERRING A. ANDERSON M. MCCLENAGHAN N. F. INGLIS H. WILLIAMS B. A. MATHESON C. P. WEST M. R. and BRETTLE P. Restriction endonuclease analysis of DNA from two isolates of Chlamydia psittaci obtained from human abortions. Br. Med. J. 1987, 295, 1239.

116) HEUER D., LIPINSKY A.R., MACHUY N., KARLAS A.,WEHRENS A.,SIEDLER F. Chlamydia causes fragmentation of the Golgi compartment to ensure reproduction. Nature. 2009, 475, 731–735.

117) HILBINK F. PENROSE M. KOVACOVA E. KAZAR J. Q fever is absent from New Zealand. Int J Epidemiol. 1993, 22, 945–949

118) HIRECHE S. BOUAZIZ O. DJENNA D. BOUSSENA S. AIMEUR R. KABOUIA R. et BERERHI E. H. Seroprevalence and risk factors associated with Chlamydophila spp. infection in ewes in the northeast of Algeria. Tropical animal health and production, 2014, 46, 467-473.

119) HO T. HTWE K. K. YAMASAKI N. ZHANG G Q. OGAWA M. YAMAGUCHI T. FUKUSHI H. and HIRAI K. Isolation of Coxiella burnetii from Dairy Cattle and Ticks, and

Some Characteristics of the Isolates in Japan. Microbiology and Immunology, 1995, 39, 663–671.

120) HO T. HTWE K.K. YAMASAKI N. ZHANG G.Q. OGAWA M. YAMAGUCHI T. FUKUSHI H. et HIRAI K. Isolation of Coxiella burnetii from dairy cattle and ticks, and some characteristics of the isolates in Japan. Microbiol. Immunol. 1995, 39, 663–671.

121) HOELZLE L.E. HOELZLE K. WITTENBRINK M.M. Recombinant major outer membrane protein (MOMP) of Chlamydophila abortus, Chlamydophila pecorum, and Chlamydia suis as antigens to distinguish chlamydial species-specific antibodies in animal sera. Vet. Microbiol. 2004, 103, 85-90.

122) HOELZLE L.E., HOELZE K., WITTENBRINK M.M. Expression of the Major Outer Membrane Protein (MOMP) of Chlamydophilaabortus, Chlamydophilapecorum, and Chlamydia suis in Escherichia coli using an Arabinose-inducible Plasmid Vector. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.2003, 50, 383–389.

123) HOLLIMAN A. DANIEL RG. PARR JG. GRIFFITHS PC. BEVAN BJ. MARTIN TC. HEWINSON RG. DAWSON M. MUNRO R. Chlamydiosis and abortion in a dairy herd. Vet. Rec. 1994, 134, 500–502.

124) HONSTETTRE A., GHIGO E., MOYNAULT A., CAPO C., TOMAN R., AKIRA S., TAKEUCHI O., LEPIDI H., RAOULT D., MEGE J.L. Lipopolysaccharide from Coxiella burnetii is involved in bacterial phagocytosis, filamentous actin reorganization, and inflammatory responses through Toll-like receptor 4. J Immunol. 2004, 17, 695-703.

125) HORNIBROOK J.W. Institutional outbreak of pneumonitis, Epidemiological and clinical studies. Public Health Rep.1940, 55, 1936-1954.

126) HOWE D., HEINZEN R.A. Coxiella burnetii inhabits a cholesterol-rich vacuole and influences cellular cholesterol metabolism. Infect. Immun. 2006.8.496–507.

127) HOWE D., JEFFREY G., WINFREE S., DORWARD D., HEINZEN R.A. Coxiella burnetii Phase I and II Variants Replicate with Similar Kinetics in Degradative Phagolysosome-Like Compartments of Human Macrophages. Infect. Immun. 2008, 8, 3465-3474.

128) HSIA R., PANNEKOEK Y., INGEROWSKI E. AND BAVOIL P.M. Type III secretion genes identify a putative virulence locus of Chlamydia. Molecular Microbiology. 1997, 25, 351–359.

129) HUEBNER R.J., JELLISON W.L., BECK M.D., PARKER R.R., SHEPARD C.C. Q fever studies in Southern California. I. R ecovery of rickettsia burneti from raw, milk, Public Health Rep.1948, 63, 214.

130) HYBISK K., STEPHENS R.S. Mechanisms of Chlamydia trachomatis entry into nonphagocytic cells. Infect Immun.2007, 75, 3925–3934.

131) JASPERS U. THIELE D. et KRAUSS H. Monoclonal antibody based competitive ELISA for the detection of specific antibodies against Coxiella burnetii in sera from different animal species. Zentralbl. Bakteriol. 1994, 281, 61–66.

132) JAVAHIERIAN M., SHARIFNIA Z., TAHERIPANAH R., BANDEPOUR M., SOLEIMANI M., KAZEMI B. Using recombinant Chlamydia trachomatis OMP2 as antigen in diagnostic ELISA test. Iranian Journal of Microbiology, 2014, 6, 8-13.

133) JEE J-B. DEGRAVES F-J. KIM T-Y et KALTENBOECK B. High Prevalence of Natural Chlamydophila Species Infection in Calves. Journal of clinical microbiology, 2004, 5664–5672.

134) JEWETT T.J., DOOLEY C.A., MEAD D.J., HACKSTADT T. Chlamydia trachomatis tarp is phosphorylated by src family tyrosine kinases. Biochem Biophys Res Commun. 2008, 371, 339–344.

135) JONES G. E., LOW J. C., MACHELL J. et ARMSTRONG K. Comparaison des cinq tests pour la détection d'anticorps contre Chlamydia avortement (leucose) de brebis. Veterinary Record. 1997, 141, 164-168.

136) JORDAN L., COCCHIARO R., Valdivia H. Cellular Microbiology.2009.11.1571–1578.

137) JORGENSEN. D. Gestational psittacosis in a Montana sheep rancher. Emerg. 1997.Infect. Dis. 3, 191-194.

138) JOSEPH TD. AND BOSE S K. A heat-labile protein of Chlamydia trachomatis binds to HeLa cells and inhibits the adherence of chlamydiae. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991, 88, 4054-4058.

139) KÅHRSTRÖM CT. Chlamydiae play by their own rules. Nature Reviews Microbiology. 2014, 12, 76–77.

140) KALMAN S., MITCHELL W., MARATHE R. Comparative genomes of Chlamydia pneumoniae and C. trachomatis. Nat Genet.1999, 21, 385–389.

141) KALTENBOECK B. HEHNEN, H. R. ET VAGLENOV A. Bovine Chlamydophila spp. infection: do we underestimate the impact on fertility?. Veterinary research communications, 2005, 29, 1-15.

142) KAMGA-WALADJO A. GBATI OB. KONE P. LAPO RA. CHATAGNON G. Seroprevalence of Neospora caninum antibodies and its consequences for reproductive

parameters in dairy cows from Dakar-Senegal, West Africa. Trop Anim Health Prod. 2010, 42, 953–959.

143) KARLSSON A-C. ALENIUS S. BJÖRKMAN C. PERSSON Y. ENGLUND S. Investigation of Chlamydiaceae in semen and cauda epididymidis and seroprevalence of Chlamydophila abortus in breeding bulls .Acta Veterinaria Scandinavica, 2010, 52, 2.

144) KAUFMANN S.H. ZUGEL U. Immune response against heat shock proteins in infectious diseases. Immunobiology. 1999, 202, 22–35.

145) KAWANA K. QUAYLE A.J. FICARRA M. IBANA J.A. SHEN L. KAWANA Y. YANG H. MARRERO L. YAVAGAL S. GREEN S.J. ZHANG Y.X. PYLES R.B. BLUMBERG R.S. CSHUST D.J. CD1d degradation in Chlamydia trachomatis-infected epithelial cells is the result of both cellular andchlamydial proteasomal activity. J Biol Chem. 2007, 282, 7368-7375.

146) KEMMERLING K. MÜLLER U. MIELENZ M. SAUERWEIN H. Chlamydophila species in dairy farms: Polymerase chain reaction prevalence, disease association, and risk factors identified in a cross-sectional study in western Germany. Journal of Dairy Science, 2009, 92, 4347–4354.

147) KERKHOFS P. 2010,
http://www.coda cerva. be/index.php?option=com_content&id=384%3 Anewsletter-novembre &catid=201%3 Anewsletter&lang=fr. Consulté décembre 2014.

148) KERSH G-J. FITZPATRICK K.A. SELF J.S. PRIESTLEY R.A. KELLY A.J. LASH R. MARSDEN-HAUG N. and ANDERSON A.D. Presence and Persistence of Coxiella burnetii in the Environments of Goat Farms associated with a Q Fever Outbreak. Appl. Environ. Microbiol. 2013, 79, 97-170.

149) KIM S. G. KIM E. H. LAFFERTY C. DUBOVI E J. Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. Emerging Infectious Diseases, 2005, 11, 619-621.

150) KIM W J. HAHN T-W. KIM D-Y. LEE M-G, JUNG K-S. OGAWA M. KISHIMOTO T. LEE M-E. AND LEE S-J. Seroprevalence of Coxiella burnetii Infection in Dairy Cattle and Non-symptomatic People for Routine Health Screening in Korea .J. Korean Med Sci. 2006, 21, 823-826.

151) KLEBA, B.AND STEPHENS, R.S. Chlamydial effector proteins localized to the host cell cytoplasmic compartment. Infect Immun. 2008, 76, 4842-50.

152) Klingenbeck L., Eckart R. A., Berens C., Luhrmann A. The Coxiella burnetii type IV secretion system substrate CaeB inhibits intrinsic apoptosis at the mitochondrial level. Cell. Microbiol. 2012, 15, 675–687.

153) KNODLER L.A. CELLI J., FINLAY B.B. Pathogenic trickery: deception of host cell processes. Nat Rev Mol Cell Biol.2001, 2, 578–588.

154) KOSMA P. Chlamydial lipopolysaccharide. Biochimica et Biophysica.1999, 3, 387-402.

155) KRAUSS H. Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. European journal of epidemiology, 1989, 5, 454-455.

156) KRUSZEWSKA D. ET TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA S. Isolation of Coxiella burnetii from bull semen. Research in veterinary science, 1997, 62, 299-300.

157) KUMAR S. Textbook of Microbiology. JP Medical Ltd: London, 2012, 784p.

158) KUMAR Y. COCCHIARO J. VALDIVIA R.H. The obligate intracellular pathogen Chlamydia trachomatis targets host lipid droplets. Curr Biol. 2006, 16, 1646–1651.

159) KUMAR Y., VALDIVIA R H. Actin and intermediate filaments stabilize the Chlamydia trachomatis vacuole by forming dynamic structural scaffolds. Cell Host Microbe. 2008, 4, 159–169.

160) LACHEHEB A. AND RAOULT D. Seroprevalence of Q-fever in Algeria. Clinical Microbiology and Infection, 2009, 15, 167–168.

161) LANG GH. Serosurvey on the occurrence of Coxiella burnetii in Ontario cattle. Can J Public Health. 1988, 79, 56–9.

162) LARSEN B., BIRCKLUND S., MORDHORST C.H., EJSTRUP L., ANDERSEN L.S., CHRISTIANSEN G.Thehumoral immune response to Chlamydia trachomatis in patients with acute reactive arthritis. Br J Rheumatol. 1994, 33, 534-540.

163) LENETTE E.H., MEIKLEJOHN G., THELEN H.M., Treatment of Q fever in man with aureomycin. Ann. N.Y. Acad. Sci.1948.51.331.

164) LEPINAY A., ROBINEAUX R., ORFILA J., ORME-ROSSELLI L., BOUTRY J. M. Ultrastructure and cytochemistry of Chlamydia Psittaci. Arch Gesamte Virusforsch. 1971, 33, 271-280.

165) LEQUIN R.M. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Clin Chem. 2005, 51, 2415-2418.

166) LIECHTI GW., KURU E., HALL E., KALINDA A., BRUN YV., VAN NIEUWENHZE M., MAURELLI AT. A new metabolic cell-wall labelling method reveals peptidoglycan in Chlamydia trachomatis. Nature. 2014, 506, 507-510.

167) LONGBOTOM D. FINDLAY J. VRETOU E. DUNBAR S.M. Immunoelectron microscopic localisation of the OMP90 family on the outer membrane surface of Chlamydia psittaci. FEMS Microbiol Lett. 1998, 164, 111-117.

168) LONGBOTTOM D., COULTER L.J. Animal chlamydioses and zoonotic implications. Comp J. Path, 2003, 128, 217-244.

169) LONGBOTTOM D., PSARROU E., LIVINGSTONE M., VRETOU E. Diagnosis of ovine enzootic abortion using an indirect ELISA (OMP91B ELISA) based on a recombinant protein fragment of the polymorphic outer membrane protein POMP91B of Chlamydophila abortus. FEMS Microbiology Letters, 2001, 195, 157–161.

170) LÓPEZ-GATIUS F. ALMERIA S. ET GARCIA-ISPIERTO I. Serological screening for Coxiella burnetii infection and related reproductive performance in high producing dairy cows. Research in veterinary science, 2012, 93, 67-73.

171) LOSEPH T D., BOSE S K. A heat-labile protein of Chlamydia trachomatis binds to HeLa cells and inhibits the adherence of chlamydiae. Proc Natl Acad Sci USA.1991, 88, 4054-4058.

172) LUKACOVA M., KAZAR J., GAJDOSOVA E. Coxiella burnetii phase I and II proteins studed by SDS-page. ActaVirol.1994, 38, 263–267.

173) LUOTO L., HUEBNER R.J. Q fever studies in Southern California. IX. Isolation of Q fever organisms from parturient placentas of naturally infected dairy cows. Public Health Rep. 1950, 65, 541.

174) LYYTIKAINEN O. ZIESE T. SCHWARTLANDER B. MATZDORFF P. KUHNHEN C. BURGER C. Krug W. Petersen L.R. Outbreak of Q fever in Lohra-Rollshausen. Euro Surveill. 1997, 2, 9–11.

175) MACELLARO A. TUJULIN E. HJALMARSSON K. Identification of a 71-Kilodalton Surface-Associated Hsp70 Homologue in Coxiella burnetii. Infect Immun.1998, 16, 5882–5888.

176) MALLAVIA L.P. SAMUEL J.E. FRAZIER M.E. The genetics of Coxiella burnetii: etiologic agent of Q fever and chronic endocarditis: Williams J C, Thompson H A, editors. Q fever: the biology of Coxiella burnetii. Boca Raton Fla, 1991, 259–284.

177) MARC M. TRIOLA. MARIO F. Bio statistique pour les sciences de la vie et de la santé. Pearson Education France : Paris, 2012, 367p.

178) MARKEY B.K., MCNULTY M.S., TODD D. Comparaison des tests sérologiques pour le diagnostic de l'infection à Chlamydia psittaci de moutons. Microbiol Vet. 1993, 36, 233-352.

179) MARMION B. P. STORM P. A. AYRES J. G. SEMENDRIC L. MATHEWS L. ET WINSLOW W. Long-term persistence of Coxiella burnetii after acute primary Q fever. Qjm. 2005, 98, 7-20.

180) MARRIE T J. Q fever-a review. Can. Vet. J. 1990, 31, 555-563.

181) MARRIE T-J. Epidemiology of Q fever. In: Marrie T J, editor. Q fever. 1. The disease. Boca Raton, Fla: CRC Press, Inc. 1990, 49–70.

182) MARRIE TJ. STEIN A. JANIGAN D. RAOULT D. Route of infection determines the clinical manifestations of acute Q fever. J Infect Dis.1996, 173, 484-487.

183) MARTINEZ E. CANTET F. FAVA L. NORVILLE I. BONAZZI M. Identification of OmpA, a Coxiella burnetii protein involved in host cell invasion, by multi-phenotypic high-content screening. PLoS Pathog. 2014.3. doi: 10.1371/journal.ppat.1004013.

184) MASALA G. PORCU R. SANNA G. TANDA A. TOLA S. Role of Chlamydophila abortus in ovine and caprine abortion in Sardinia, Italy. Veterinary Research Communications .2005, 29, 117-123.

185) MATSUMOTO A. BESSHO H. UEHIRA K. and SUDA, T. Morphological studies of the association of mitochondria with chlamydial inclusions and the fusion of chlamydial inclusions. J Electron Microsc. (Tokyo).1991, 40, 356–363.

186) MAURIN M. BENOLIEL A M. BONGRAND P. RAOULT D. Phagolysosomal alkalinization and the bactericidal effect of antibiotics: the Coxiella burnetii paradigm. J Infect Dis. 1992, 166, 1097-102.

187) MAURIN M. RAOULT D. Q Fever. Clin. Microbiol. Rev. 1999, 12, 518-553.

188) Mc CAUL T F. BANERJEE-BHATNAGAR N. WILLIAMS J C. Antigenic differences between Coxiellaburnetii cells revealed by post embedding immune electron microscopy and immunoblotting: Infect Immun, 1991, 3243-53.

189) MC CAUL T.F. and JIM C., WILLIAM S. Developmental Cycle of Coxiella burnetii: Structure and Morphogenesis of Vegetative and Sporogenic. J Bacteriol. 1981, 147, 1063-1076.

190) MC NUTT S.H. WALLER E.F. Sporadic bovine encephalomyelitis. Cornell Vet.1940, 30, 437- 642.

191) MCCAUGHEY C. MURRAY L. J. MCKENNA J. P. MENZIES F. D. MCCULLOUGH S. J. O'NEILL H. J., WYATT D. E. CARDWELL C. R. AND COYLE P. V. Coxiella burnetii (Q fever) seroprevalence in cattle. Epidemiology and Infection, 2010, 138, 21-27.

192) MCCAULEY L M. E. LANCASTER M J. YOUNG P. BUTLER K L. et AINSWORTH C G V. Comparison of ELISA and CFT assays for Chlamydophila abortus antibodies in ovine sera. Australian veterinary journal, 2007, 85, 325-328.

193) MCCAULEY L. LANCASTER M. BUTLER K. et AINSWORTH C. Serological analysis of Chlamydophila abortus in Australian sheep and implications for the rejection of breeder sheep for export. Australian Veterinary Journal, 2010, 88, 32–38.

194) MCQUISTON J-H. Childs J-E. Q fever in humans and animals in the United States. Vector Borne Zoonotic Dis. 2002, 2, 179–191.

195) MENOZZI FD. PETHE K. BIFANI P. SONCIN F. BRENNAN MJ. LOCHT C. Enhanced bacterial virulence through exploitation of host glycosaminoglycans. Mol Microbiol. 2002, 6, 1379-1386.

196) MERDJA. S. E. KHALED. H. AAZIZ. R. VORIMORE. F. BERTIN. C. DAHMANI. A. & LAROUCAU. K.. Detection and genotyping of Chlamydia species responsible for reproductive disorders in Algerian small ruminants. Tropical animal health and production, 2014, 1-7.

197) MERTENS K. SAMUEL J.E. Defense Mechanisms against Oxidative Stress in Coxiella burnetii: Adaptation to a Unique Intracellular Niche. Adv Exp Med Biol. 2012, 984.39.

198) MITAL J. MILLER NJ. DORWARD DW. DOOLEY CA. HACKSTADT T. Role for Chlamydial Inclusion Membrane Proteins in Inclusion. Membrane Structure and Biogenesis. PLoS ONE.2013.8. doi: 10.1371/journal.pone.

199) MOELLEKEN K., HEGEMANN J.H. The Chlamydia outer membrane protein OmcB is required for adhesion and exhibits biovar-specific differences in glycosaminoglycan binding. Mol Microbiol. 2008, 67, 403-419.

200) MOHAMED Y.K Diversité génétique des souches de Chlamydophila pecorum, Recherche et identification des marqueurs épidémiologiques: université François-Rabelais de Tour : Tour, 2009,209p.

201) MOHAMMADI T., BREUKINK E. The Chlamydial Anomaly Clarified? Chem bio chem. 2014, 10, 1391-1393.

202) MOORE E.R., FISCHRE E.R., MEAD D.J., HACHSTADT T.The chlamydial inclusion preferentially intercepts baso laterally directed sphingomyelin-containing exocytic vacuoles. Traffic.2008, 9, 2130–2140.

203) MORANGE A. De la psittacose, ou infection spéciale déterminée par les perruches. Thèse. Paris, 1895.

204) MOULDER J.W. Inhibition of onset of overt multiplication of Chlamydia psittaci in persistently infected mouse fibroblasts (L cells). Infect Immun. 1983.39. 898-907.

205) MOULDER J.W. The relation of the psitacosis group (chlamydiae) to bacteria and viruses. Annual Review of Microbiology, 1966, 107-130.

206) MOULDER J.W., Interaction of chlamydiae and host cells in vitro. Microbiol Rev. 1991, 55, 143-190.

207) MURRAY RD. COUNTER DE. CALDOW GL. BUXTON D. Actualités sur les méthodes diagnostiques en cas d'avortements chez la vache. In: Le nouveau peripartum. Société française de buiatrie. Paris, 1998.

208) NABEYA M. KANEKO K. OGINO H. NAKABAYASHI D. WATANABE T. MURAYAMA J. HAYASHI K. FUKUSHI H. YAMAGUCHI T. HIRAI K l. INABA Y. MATUMOTO M. Abortion in Japanese cows caused by Chlamydia psittaci. Vet. Microbiol. 1991, 29, 261-5.

209) NAHED HG. KHALED M. Seroprevalence of Coxiella burnetii antibodies among farm animals and human contacts in Egypt. J Am Sci. 2012, 8, 619–621.

210) NARAZAKI C.T., MERTENS K., SAMUEL J.E. Characterization of the GDP-D-Mannose Biosynthesis Pathway in Coxiella burnetii: The Initial Steps for GDP-β-D-Virenose Biosynthesis. PLoS ONE.2011.6. doi:10.1371/journal. pone.0025514.

211) NEWHALL W.J. JONES R.B. Disulfide-linked oligomers of the major outer membrane protein of chlamydiae. J Bacteriol.1983, 154, 998–1001.

212) NICOLLET PH. MAINGOURD C. CHAROLLAIS P. Evaluation des méthodes diagnostiques utilisées lors d'avortements non brucelliques chez les Ruminants. Recherche de Chlamydia spp., Coxiella burnetii et Toxoplasma gondii en Deux Sèvres et en Vienne sur une série de 150 avortements bovins, ovins et caprins. Renc. Rech. Ruminants, 2004, 11, 317-320.

213) NORLANDER L. Q fever epidemiology and pathogenesis. Microbes and infection, 2000, 2, 417-424.

214) OIE, 2005. http://web.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf_fr/Volume%201_pdf/Chap%202.1.12._Fi%C3%A8vreQ_2008.pdf

215) OJCIUS D.M. DEGANI H., MISPELTER J. DAUTRY-VARSAT A. Enhancement of ATP levels and glucose metabolism during an infection by Chlamydia. NMR studies ofliving cells. J Biol Chem. 1989, 273, 7052-7058.

216) OTLU S. ŞAHİN M. UNVER A. and CELEBİ O. detection of Brucella melitensis and chlamydophila abortus antibodies in aborting sheep in the kars province of Turkey. Bull Vet Inst Pulawy. 2007, 51, 493-495.

217) PAGE L.A. Proposal for the recognition of two species in the genus Chlamydia. Int. J. Syst. Bact.1969, 8, 51-66.

218) PANNEKOEK Y. DICKX V. BEECKMAN DSA. JOLLEY KA. KEIJZERS WC. et al. Multi Locus Sequence Typing ofChlamydiaReveals an Association between Chlamydia psittaci Genotypes and Host Species. PLoS ONE, 2010, 5, 14179.

219) PANTCHEV A. STING R. BAUERFEIND R. TYCZKA J. SACHSE K. Detection of all Chlamydophila and Chlamydia spp. of veterinary interest using species-specific real time PCR assays. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2009. doi:10.1016/j.cimid.2009.08.002.

220) PAPP J R. SHEWEN P E. AND GARTLEY C J. Chlamydia psittaci Infection and Associated Infertility in Sheep. Can J Vet Res. 1993, 57, 185-189.

221) PEREZ-MARTINEZ JA. STORZ J. Chlamydial infections in cattle-Part 1, Part 2. Mod Vet Pract. 1985, 66, 517–522.

222) PETER O. DUPUIS G. PEACOCK M.G. et BURGDORFER W. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation and indirect fluorescent-antibody tests for detection of Coxiella burnetii antibody. J. Clin. Microbiol. 1987, 25, 1063–1067.

223) PETERS J. WILSON DP. MYERS G. TIMMS P. BAVOIL PM. Type III secretion Chlamydia. Trends in Microbiology.2007, 15, 241–251.

224) PETIT T. SPERGSER J. AURICH J. ROSENGARTEN R. Prevalence of Chlamydiaceae and Mollicutes on the genital mucosa and serological findings in dairy cattle. Vet Microbiol .2008, 127, 325-333.

225) PILHOFER M. AISTLEITNER K. BIBOY J. GRAY J. KURU E. HALL E., BRUN YV. VANNIEUWENHZE MS.VOLLMER W. HORN M. JENSEN GJ. Discovery of chlamydial peptidoglycan reveals bacteria with murein sacculi but without FtsZ. Nat Commun. 2013.4.doi: 10.1038/ncomms3856.

226) PIRBHAI M., DONG F., ZHONG Y., PAN K.Z., ZHONG G.The secreted protease factor CPAF is responsible for degrading pro-apoptotic BH3-only proteins in Chlamydia trachomatis-infected cells. J Biol Chem. 2006, 281, 495-501.

227) PLAUNT M R., HATCH T P.Protein synthesis early in the developmental cycle of Chlamydia psittaci. Infect Immun.1988, 56, 3021–3025.

228) PLOMMET M. CAPPONI M. GESTIN J. RENOUX G. MARLY J. fièvre q expérimentale des bovins. 1973, 4, 325-346.

229) PORTG I. GOODALL J.C. BAILEY R.L. GASTON J.S. Characterization of the humoral immune response to Chlamydia outer membrane protein 2 in chlamydial infection. Clin Diagn Lab Immunol. 2003, 10, 103-107.

230) QUINN P.J. CARTER M.E. MARKEY B. et CARTER G.R. Bacterial pathogens: microscopy, culture and identification. In:Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, Mosby-Year Book Europe Limited. 1994, 21–30.

231) RAHAL K. BENNADJI A. DAHMANI A. DECHICHA A. KHALED H. MERDJA S. et BOUYOUCEF A. Séro-prévalence apparente de la brucellose, chlamydiose et fièvre Q chez les ovins de la région de Ksar Boukhari. 4èmes journées vétérinaires de Blida, Algérie, 2011, 13-16.

232) RANK R.G., DASCHER C., BOWLIN A.K., BAVOIL P.M. Systemic immunization with Hsp60 alters the development of chlamydial ocular disease. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1995, 36, 1344-1351.

233) RAOULT D. TORRES H. DRANCOURT M. Shell-vial assay: evaluation of a new technique for determining antibiotic susceptibility, tested in 13 isolates of Coxiella burnetii. Antimicrob Agents Chemother, 1991, 32, 2070-7.

234) RAOULT D. DRANCOURT M. VESTRIS G. bactericidal effect of doxycycline associated with lysosomotropic agents on coxiella burnetii in p388d1 cells. Antimicrob agents chemother, 1990, 34, 1512-4.

235) RAOULT D. LAURENT J.C. et MUTILLOD M. Monoclonal antibodies to Coxiella burnetii for antigenic detection in cell cultures and in paraffin-embedded tissues. Am. J. Clin. Pathol. 1994, 101, 318–320.

236) RAOULT D., PAROLA P. Rickettsial Diseases, CRC Press, 2007, 400p.

237) RAOULT, D., MARRIE T., AND MEGE J. Natural history and pathophysiology of Q fever. Lancet Infect.Dis.2005.5.219–226.

238) RAUKSTON J.E. DAVIS C. H. PAUL T.R. HOBBS J.D. WYRICK P.B. Surface accessibility of the 70-kilodalton Chlamydia trachomatis heat shock protein following reduction of outer membrane protein disulfide bonds. Infect Immun. 2002, 70, 535-543.

239) RAULSTON J.E. Chlamydial envelope components and pathogen-host. Mol Microbiol.1995, 4, 607-616.

240) REIMER L.G. Q fever. Clin Microbiol Rev.1993, 6, 193-198.

241) REINHOLD P. JAEGER J. LIEBLER-TENORIO E. BERNDT A. BACHMANN R. SCHUBERT E. et SACHSE K.. Impact of latent infections with Chlamydophila species in young cattle. The Veterinary Journal, 2008, 175, 202-211.

242) REINHOLD P. SACHSE K. ET KALTENBOECK B. Chlamydiaceae in cattle: commensals, trigger organisms, or pathogens?. The Veterinary Journal, 2011, 189, 257-267.

243) REKIKI A. SIDI-BOUMEDINE K. SOURIAU A. JEMLI J. HAMMAMI S. RODOLAKIS A. Isolation and characterisation of local strains Of Chlamydophila abortus (Chlamydia psittaci serotype 1) from Tunisia. Vet. Res. 2002, 33, 215–222.

244) REKIKI A. THABTI F. DLISSI I. RUSSO P. SANCHIS R. PEPIN M. RODOLAKIS A. et HAMMAMI S. Enquête sérologique sur les principales causes d'avortements infectieux chez les petits ruminants en Tunisie. Revue Méd. Vét. 2005, 156, 395-401.

245) REMACHA M. KAUL R. SHERBURNE R. WENMAN W.M. Functional domains of chlamydial histone H1-like protein.Biochem.1996, 315, 481–486.

246) ROBBINS F.C. RAGAN C.A. Q fever in the Mediterranean area: report of its occurrence in allied troops. I. Clinical features of the disease, Am. J Hyg.1946, 44, 6-22.

247) ROCCHI M S. WATTEGEDERA S. MERIDIANI I. ENTRICAN G. Protective adaptive immunity to Chlamydophila abortus infection and control of ovine enzootic abortion (OEA). 2008. Vet. Microbiol. doi 10.1016/j.vetmic.2008.09.030.

248) RODOLAKIS A. Q fever. state of art: Epidemiology, diagnosis and prophylaxis. Small ruminant research, 2006, 62, 121-124.

249) RODOLAKIS. A. MOHAMAD. K.Y. Zoonotic potential of Chlamydophila,Veterinary Microbiology, 2008, doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.014.

250) RODOLAKIS A. Q Fever in Dairy Animals. Annals of the New York Academy of Sciences, 2009, 1166, 90–93.

251) RODOLAKIS A. Diagnostic de la chlamydiose abortive. In Annales de Recherches Vétérinaires. 1988, 4, 213-220.

252) RODOLAKIS A. Un vaccin en phase I protégerait mieux contre la fièvre Q. Le Point Vétérinaire , 2004, 35, 12-13.

253) RODRIGUEZ P. DE BARBEYRAC B. RENAUDIN H. et BEBEAR. C. Antibiogramme des Chlamydia et des mycoplasmes. Revue française des Laboratoires, 1995, 277, 75-80.

254) ROUSSET E. RUSSO P. PEPIN M. RAOULT D. Epidémiologie de la fièvre Q animale. Situation en France. Méd. Mal. Infect. 2001, 31, 2, 233-246.

255) ROUSSET E. EON L. RUSSO P. PEPIN M. AUBERT M. La fièvre Q : épidémiologie d'une zoonose. Bull. Group. Tech. Vét. 2002, 17, 9-15.

256) ROUSSET E. RUSSO P. PEPIN M. RAOULT D. La fièvre Q, une zoonose encore mystérieuse. Bull. Group. Tech. Vet. 2000, 7, 59-63.

257) ROUX V. BERGOIN M. LAMAZE N. AND D. RAOULT. Reassessment of the taxonomic position of Rickettsiella grylli. Int. J. Syst. Bacteriol. 1997, 47, 1255–1257.

258) RUIZ-FONS F. ASTOBIZA I. BARANDIKA J F. HURTADO A. ATXAERANDIO R. JUSTE R A. GARCÍA-PÉREZ A L. Seroepidemiological study of Q fever in domestic ruminants in semi-extensive grazing systems. BMC veterinary research, 2010, 6, 3.

259) RZOMP K.A. MOORHEADA.R. SCIDMORE M.A. The GTPase Rab4 interacts with Chlamydia trachomatis inclusion membrane protein CT229. Infect Immun. 2006, 74, 5362–5373.

260) SACHSE K. VRETOU E. LIVINGSTONE M. BOREL N. POSPISCHIL A. LONGBOTTOM D. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections,Veterinary Microbiology, 2008, doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.040.

261) SALINAS J. CARO M. R. VICENTE J. CUELLO F. REYES-GARCIA A. R. BUENDIA A. J. ET GORTAZAR C. High prevalence of antibodies against Chlamydiaceae and Chlamydophila abortus in wild ungulates using two “in house” blocking-ELISA tests. Veterinary microbiology, 2009, 135, 46-53.

262) SANDOZ K. ROCKEY D. Antibiotic resistance in Chlamydiae. Future Microbiol.2010, 5, 1427–1442.

263) SARDINIA L.M., SEGAL E., GANEMY D. Developmental Regulation of the Cysteine-rich Outer-membrane Proteins of Murine Chlamydia trachomatis. Mol Microbiol 1988, 4, 997-1004.

264) SCHACHTER J. Chlamydial infections (third of three parts). N Engl J Med. 1978, 10, 540–549.

265) SCHACHTER. J. STEPHENS. R. S. TIMMS. P .and (31) other. Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet (Letter) International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.2001, 51, 249.

266) SCHAIK E.V. CHEN C. MERTENS K. MARY M. WEBERJAMES E M. Molecular pathogenesis of the obligate intracellular bacterium Coxiella burnetii. Nature Reviews Microbiology.2013, 11, 561–573.

267) SCHELLING E. DIGUIMBAYE C. DAOUD S. NICOLET J. BOERLIN P. Brucellosis and Q-fever seroprevalences of nomadic pastoralists and their livestock in Chad. Prev Vet Med. 2003, 61, 279–293.

268) SCHEMANN F. Le trachome une maladie de la pauvreté : IRD Edition : Marseille, 2008, 206p.

269) SCHLESINGER M J. Heat shock proteins. J Biol Chem. 1990, 265, 12111–12114.

270) SCHRAMEK S., MAYER H. Different sugar compositions of lipopolysaccharides isolated from phase I and pure phase II cells of Coxiella burnetii. Infect Immun.1982, 38, 153–157.

271) SCIDMORE M.A. ROCKEY D.D. FISCHER E.R. HEINZEN R.A. HACKSTADT T. Vesicular interactions of the Chlamydia trachomatis inclusion are determined by chlamydial early protein synthesis rather than route of entry. Infect Immun. 1996, 64, 5366-5372.

272) SCOLA B. L. AND RAOULT D. Survival of Coxiella burnetii within free-living amoeba Acanthamoeba castellanii. Clinical Microbiology and Infection, 2001, 7, 75–79.

273) SEABRA M.C., WASMEIER C. Controlling the location and activation of Rab GTPases. Curr Opin Cell Biol. 2004, 16, 451–457.

274) SERBEZOV V S. KAZAR J. NOVKIRISHKI V. GATCHEVA N. KOVACOVA E. et VOYNOVA V. Q fever in Bulgaria and Slovakia. Emerging infectious diseases, 1999. 5, 388.

275) SESHADRI R., HENDRIX L.R., SAMUEL J.E. Differential Expression of Translational Elements by Life Cycle Variants of Coxiella burnetii. Infect. Immun.1999.67.6026-603.

276) SESHADRI R. PAULSEN I.T. EISEN J.A. READ T.D. NELSON K.E. NELSON W.C. WARD N.L. TETTELIN H. DAVIDSEN T.M. BEANAN M.J. DEBOY R.T. DAUGHERTY S.C. BRINKAC L.M. MADUPU R. DODSON R.J. KHOURI H.M. LEE K.H. CARTY H.A. SCANLAN D. HEINZEN R.A. THOMPSON H.A. SAMUEL J.E. FRASER C.M. HEIDELBERG J.F. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen Coxiella burnetii. Proc Natl Acad Sci USA. 2003, 100, 5455–5460.

277) SHANNON J G. COCKRELL D C. TAKAHASHI K. STAHL G L AND HEINZEN R A. Antibody-mediated immunity to the obligate intracellular bacterial pathogen Coxiella burnetii is Fc receptor- and complement-independent. BMC Immunology, 2009, 10,26.

278) SHEWEN P E. Chlamydial infection of the bovine reproductive system. In: Morrow DA (ed):Current therapy in therionogenology. 2. Diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals, ed 2. Philadelphia, WB Saunders, 1986, 279-282.

279) SPERRS P. STORS J. Biotyping of Chlamydia psittaci based on inclusion morphology and response to diethylaminoethyl-dextran and cycloheximide. Infect Immun. 1979, 24, 224-232.

280) SPICHNALL C.G. HUEBNER R.J. FINGER J.A. BLOKER W. P. Report of an autbreak of Q fever at the national Institute. I. Clinical features. Ann Intern Med.1947, 27, 28-40.

281) SPRONG H. TIJSSE-KLASEN E. LANGELAAR M. DE BRUIN A. FONVILLE M. GASSNER F. TAKKEN W. VAN WIEREN S. NIJHOF A. JONGEJAN F. MAASSEN CB. SCHOLTE EJ. HOVIUS JW. EMIL HOVIUS K. SPITALSKÁ E. VAN DUYNHOVEN YT. Prevalence of Coxiella burnetii in ticks after a large outbreak of Q fever. Zoonoses Public Health. 2012, 59, 69-75.

282) SPYRIDAKI I. PSAROULAKI A. LOUKAIDES F. ANTONIOU M. HADJICHRISTODOLOU C. et TSELENTIS Y. Isolation of Coxiella burnetii by a centrifugation shell-vial assay from ticks collected in Cyprus: detection by nested polymerase chain reaction (PCR) and by PCR-restriction fragment length polymorphism analyses. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2002, 66, 86–90.

283) SRAKA B. Détection et quantification du portage de Chlamydophila psittaci chez le canard mulard en gavage: enquête de prévalence, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ENVT: Toulouse, 2004, 108p.

284) SRIVASTAVA P.K. MENORET A. BASU S. BINDER R.J. McQUADE K.L. Heat shock proteins come of age: primitive functions acquire new roles in an adaptive world. Immunity. 1998, 8, 657–665.

285) STAMP J.T. McEwen A.D. WATT J.A. NISBET D.I. Enzootic abortion in ewes. I. Transmission of the disease.1950, 62, 251-254.

286) STEIN A. RAOULT D. Pigeon pneumonia in Provence : a bird-borne Q fever outbreak. Clin. Infect. Dis. 1999, 29, 617-620.

287) STEIN A. SAUNDERS N A. TAYLOR A G. RAOULT D. Phylogenic homogeneity of Coxiella burnetii strains as determinated by 16S ribosomal RNA sequencing. FEMS Microbiol Lett. 1993, 113, 339-344.

288) STEPHENS R S. FAWAZ F S. KENNEDY A. KOSHIYAMA K. NICHOLS B. VAN OOIJ C. ENGEL J N. Eukaryotic cell uptake of heparin-coated microspheres: a model of host cell invasion by Chlamydia trachomatis. Infect Immun. 2000, 82, 1080-1085.

289) STEPHENS R.S. KALMAN S. LAMMEL. C. FAN J. MARATHE R. ARAVIND L. MITCHELL W. OLINGER L. TATUSOV R.L. ZHAO Q. KOONIN E.V. DAVIS R.W.

Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: Chlamydia trachomatis. Science. 1998, 282, 754–759.

290) STEPHENS R.S. KOSHIYAMA K. LEWIS E. KUBO A. Heparin-binding outer membrane protein of chlamydiae. Mol Microbiol. 2001, 40, 691-709.

291) STEPHENS R.S. MARKEPPINGER.G.M. BAVOIL P.M. Divergence without différence: phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved. FEMS Immunol Med Microbiol .2009, 55, 115–119.

292) STOKER M.G.P. FFIXET P. Phase variation of nine mile and other strains of Rickettsia burnetii. J Microbiol. 1956, 2, 310-321.

293) SU H. WATKINS N.G. ZHANG Y.X. CALDWELL H.D.Chlamydia trachomatis-host cell interactions, role of the chlamydial major outer membrane protein as an adhesion: Infect Immun.1990, 58, 1017-1725.

294) SUN G. PAL S. SARCON A.K. KIM S. SUGAWARA E. NIKAIDO H. COCCO M.J. PETERSON E.M. DE LA MAZA L.M. Structural and Functional Analyses of the Major Outer Membrane Protein of Chlamydia trachomatis. J Bacteriol. 2007, 189, 6222-6235.

295) TALAFHA AQ. ABABNEH MM. ABABNEH MM. AL-MAJALI AM. Prevalence and risk factors associated with Chlamydophila abortus infection in dairy herds in Jordan. Trop Anim Health Prod. 2012, 44, 1841-6.

296) TAN M., BAVOIL P. Intracellular Pathogens I: Chlamydiales, American Society for Microbiology Press, 2012, 406 p.

297) TEANKUM K. POSPISCHIL A. JANETT F. BRUGNERA E. HOELZLE L.E. HOELZLE K. WEILENMANN R. ZIMMERMANN D.R. GERBER A. POLKINGHORNE A. BORE N. Prevalence of chlamydiae in semen and genital tracts of bulls, rams and bucks. Theriogenology, 2007, 67, Pages 303–310.

298) THOMPSON H.A. SUHAN M.L. Genetics of Coxiella burnetii. FEMS Microbiol Lett.1996, 145, 139-146.

299) THOMSON N.R.YEATS C. BELL K. HOLDEN M. T. BENTLY S. D. LIVINGSTON M. CERDENOTARRAGA A.M. HARRIS B., DOGGETT J., ORMOND D., MUNGALL K. CLARCKE K. FELTWELLT. HANCE Z. SANDERS M., QUAIL M.A., PRICE C., BARELL B.G., PARKHILL J., LONGBOTOM D. The Chlamydophila abortus genome sequence reveals an array of variable proteins that contribute to interspecies variation. Genome Res. 2005.15. 629-640.

300) THYGESSON P. Trachoma virus: historical background and review of isolates. Ann N Y Acad Sci.1962, 98, 6-13.

301) TISSOT-DUPONT H. RAOULT D. Epidémiologie de la fièvre Q. 1993, B.E.H., 2010, 5, 17-18.

302) TISSOT-DUPONT H. AMADEI M A. NEZRI M. RAOULT D. Wind in November. Q fever in December, Emerging Infectious Diseases, 2004, 10, 1264-1269.

303) TO H. HTWE K K. KAKO N. KIM H. J. YAMAGUCHI T. FUKUSHI H. et HIRAI K. Prevalence of Coxiella burnetii infection in dairy cattle with reproductive disorders. Journal of veterinary medical science, 1998, 60, 859-861.

304) TOFT C. ANDERSSON E. Evolutionary microbial genomics: insights into bacterial host adaptation. Nature Reviews Genetics .2010.11.465–475.

305) TOMAN R. HUSSIEN A. PALKOVIC P. FTACEK P. Structural properties of lipopolysaccharides from Coxiella burnetii strains Henzerling and S. Ann N Y Acad. 2003.990.563–567.

306) TOMAN R. KAZER J. Evidence for the structural heterogeneity of the polysaccharide component of Coxiella burnetii strain Nine Mile lipopolysaccharide. ActaVirol. 1993, 35, 531–537.

307) TOMAN R. SKULTETY L. Structural study on a lipopolysaccharide from Coxiella burnetii strain Nine Mile in a virulent phase II. Carbohydr Res.1996.283.175–185.

308) TOMAS DR. PALMER SR. Q fever: an occupational risk? Microbiol. Eur. 1994, 2, 12-16.

309) TOPPING N.H. SHEPARD C.G. HUEBNER R.J. Q fever. An immunological comparison of strains. Am J Hyg.1946, 44, 173.

310) TRAVNICEK M. KOVACOVA D. BHIDE M.R. ZUBRICKÝ P. ČISLÁKOVÁ L. Évaluation sur le terrain d'un test ELISA et CF pour détection des anticorps IgG dirigés contre Chlamydophila abortus in chèvres, moutons et béliers. Med. - Tchèque, 2002, 47, 195-198.

311) VADIVIC P. FULEOVA A. IHNATKO R. SKULTETY L. HALADA P. TOMAN R. Structural studies of lipid A from a lipopolysaccharide of the Coxiella burnetii isolate RSA 514 (Crazy). Clinical Microbiology and Infection, 2009, 15: 198–199. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02224.x

312) VAN LOOK M.VANROMPAY D. HERMANN B. VANDER STAPEN J.VOLCKAERT G. GODDEETIS M. EVERTT D.E. Missing links in the divergence of Chlamydophila abortus from Chlamydophila psittaci . Int J Syst Evol Microbio .2003, 53, 761–770.

313) VAN MOLL P. BAUMGÄRTNER W. ESKENS U. et HÄNICHEN T. Immunocytochemical demonstration of Coxiella burnetii antigen in the fetal placenta of naturally infected sheep and cattle. Journal of comparative pathology, 1993, 109, 3, 295-301.

314) VANDERBURG S. RUBACH M. P. HALLIDAY J. E. CLEAVELAND S. REDDY E. A. CRUMP J. A. Epidemiology of Coxiella burnetii infection in Africa: a OneHealth systematic review. PLoS neglected tropical diseases, 2014, 8, 2787.

315) VANROMPAY D. DUCATELLE R. HAESEBROUCK F. Chlamydia psittaci infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. Vet Microbiol. 1995. 3. 93-119.

316) VARGHEES S. KISS K. FRANS G. BRAHA O. SAMUEL J. Cloning and Porin Activity of the Major Outer Membrane Protein P1 from Coxiella burnetii. Infect Immun. 2002, 70, 6741–6750.

317) VOIGT A. SCHO G. SALUZ H. The Chlamydia psittaci Genome: A Comparative Analysis of Intracellular Pathogens. 2012.7.1-16.

318) VOTH D. AHEINZEN R. Lounging in a lysosome: the intracellular lifestyle of Coxiella burnetii. Cell Microbiol. 2007, 9, 829-840.

319) VRETOU E. RADOUANI F. PSARROU E. KRITIKOS I. XYLOURI E. ET MANGANA O. Evaluation of two commercial assays for the detection of Chlamydophila abortus antibodies. Veterinary microbiology, 2007, 123, 153-161.

320) VRETOU E. GIANNIKOROULOU E. PSARROU E. Polymorphic outer-membrane proteins of Chlamydophila abortus are glycosylated. Microbiology. 2001.147. 3303-3310.

321) VRETOU E. KATSIKI E. PSARROU E. VOUGAS K. TSANGARIS G.T. Identification and characterization of Inc766, an inclusion membrane protein in Chlamydophila abortus infected cells. Microb Pathog. 2008. 45. 265-272.

322) VRETOU E. PSARROU E. SPILIOPOULOUD. The role of lipopolysaccharide in the exposure of protective antigenic sites on the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. J Gen Microbiol. 1992. 138. 1221-1227.

323) WAAG D. CHULAY J. MARRIE T. ENGLAND M. et WILLIAMS J. Validation of an enzyme immunoassay for serodiagnosis of acute Q fever. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1995, 14, 421–427.

324) WALKER J.M. RAPLEY R. Molecular Biomethods Handbook. Second Edition. Springer Science & Business Media, 2008, 1124 p.

325) WANG F-I. SHIEH H. LIAO Y-K. Prevalence of Chlamydophila abortus Infection in Domesticated Ruminants in Taiwan. Journal of Veterinary Medical Science. 2001, 63, 1215-1220.

326) WANG Y. BERG E.A. FENG X. SHEN L. SMITH T. COSTELLO C. ZHANG Y. Identification of surface-exposed components of MOMP of Chlamydia trachomatis serovar F. Protein Sci. 2006.1.122–134.

327) WEHREND A. FAILING K. HAUSER B. JÄGER C. ET BOSTEDT H. Production, reproductive, and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tract antigens in dairy herds with fertility disorders. Theriogenology, 2005, 63, 923-930.

328) WEHRL W. BRINKMANN V. JUNGBLUT P.R. MEYER T.F.SZCZEPEK A.J.From the inside out – processing of the Chlamydial autotransporter PmpD and its role in bacterial adhesion and activation of human host cells. Mol Microbiol.2004.51. 319–334.

329) WEISBURG W.G. HATCH T P. WOESE C.R. Eubacterial origin of chlamydiae. J Bacteriol.1986.2.167-570.

330) WEISS E. AND. MOULDER J.W. Genus III. Coxiella. In : N. R. Krieg, and J.G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1.The Williams and Wilkins Co., Baltimore. MD.1984, 701-704p.

331) WILD D. The Immunoassay Handbook. 4th Edition. Theory and applications of ligand binding. ELISA and related techniques. Elsevier Science, 2013, 1036p.

332) WILKAT M. HERDOIZA E. FORSBACH-BIRK V. WALTHER P. ESSING A. Electron tomography and cryo-SEM characterization reveals novel ultrastructural features of host-parasite interaction during Chlamydia abortus infection. Histochem Cell Biol. 2014, 142, 171-184.

333) WILLEMS H. THIELE D. FRÖLICH-RITTER R. KRAUSS H. Detection of Coxiella burnetii in cow’s milk using the polymerase chain reaction (PCR). J. Vet. Med. 1994, 41, 580–587.

334) WILLEMS H. JAGER C. BALJER G. Physical and Genetic Map of the Obligate Intracellular Bacterium Coxiella burnetii. J Bacteriol. 1998, 180, 3816–3822.

335) WILLIAMS J.C. THOMPSON H.A. Q fever: The Biology of Coxiella Burnetii, Volume 2, CRC Press, 1991, 368p.

336) WOODMAN P.G. FUTTER C.E. Multivesicular bodies: co-ordinated progression to maturity. Curr Opin Cell Biol. 2008, 20, 408–414.

337) WYLIE J L. HATCH G M. Mc CLARTYG. Host cell phospholipids are trafficked to and then modified by Chlamydia trachomatis. J Bacteriol. 1997.179.7233–7242.

338) YAHIAOUI W-I. AFRI-BOUZEBDA F. BOUZEBDA Z. DAHMANI A. Sondage sérologique de la fièvre Q chez les ovins par la méthode ELISA et prévalence des avortements dans la région de Ksar El Boukhari (Algérie).Tropicultura, 2013, 32, 1, 22-27.

339) YANASE T. MURAMATSU Y. UENO H. and MORITA C. Seasonal Variations in the Presence of Antibodies against Coxiella burnetii in Dairy Cattle in Hokkaido, Japan. Microbiology and Immunology, 1997, 41, 73–75.

340) ZAMBONI D.S. RABINOVICH M. Nitric Oxide Partially Controls Coxiella burnetii Phase II Infection in Mouse Primary Macrophages. Infect. Immun.2003.71.1225-1233.

341) ZHANG G. KISS K. SESHADRI R. HENDRIX L. SAMUEL J. Identification and Cloning of Immunodominant Antigens of Coxiella burnetii. Infection and immunity.2004. 72. 844–852

342) ZAHN I. SZEREDI L. SCHILLER I. STRAUMANN KUNZ U. BURGI E. GUSCETTI F. HEINEN E. CORBOZ L. SYDLER T. POSPISCHIL A. Immunohistochemical determination of Chlamydia psittaci/pecorum and C. trachomatis in the piglet gut . Zentralbl. Veterinärmed. 1995, 42, 266-276.

343) ZUGEL U. KAUFMANN S.H. Immune response against heat shock proteins in infectious diseases. Immunobiology, 1999, 202, 22–35.

Annexes

Annexe 1: Questionnaire de l'enquête épidémiologique

Ministère de l'enseignement et de la recherche scientifique

Ecole nationale supérieure vétérinaire d'Alger

Enquête sur les avortements à *chlamydophila abortus* et *Coxiella burnetii* chez l'espèce bovine dans la wilaya de Jijel

-Questionnaire n°…

A-Emplacement de l'exploitation :

Commune : Hauteur :…..m

B-Elevage :

-Nombre de vaches du troupeau :….

1-type d'élevage :

□Allaitant familiale □ Laitier producteur □Mixte

2- mode d'élevage :

□Extensif. □ Semi extensif □Intensif

3-Stabulation :

□Semi entravé □ Entravé. □Libre

4- contacte possible des bovins avec des :

□ovins □ Caprins □ volailles □oiseaux sauvages

5-Entretien et hygiène :

□Bon □Moyen □Mauvais

6-suivie vétérinaire du troupeau :

□régulier □en cas de pathologie uniquement

C-l'animal :

7-âge :

8-race :

9-Etat d'embonpoint :

10-nombre de gestations :

11-Introduction a la ferme par :

□née à la ferme □Achat □prêt

12-antécédents de maladies :

□respiratoires □oculaires □digestives □ troubles de reproduction
□autre □historique inconnu

13-symptômes décrits :

-

-

-

14- La vache –a-t-elle déjà avortée :

□Oui □Non

15-Si oui, en quel stade de gestation :

□1er tiers de gestation □2eme tiers de gestation □3eme tiers de gestation

16-Symptômes accompagnants l'avortement :

□ Fièvre

□ Diarrhée

□ Symptômes respiratoires

□ Symptômes oculaires

□ Aucun symptôme détecté

17-Délivrance :

□facile □difficile

18-Avorton :

□momifié □œdémateux □emphysémateux □malformé (préciser ……..…….)

19-Placenta :

□nécrosé □exsudat coloré □cartonné

20-cas d'avortement :

□isolé □plusieurs (….% du troupeau)

Annexe 2: La méthode ELISA indirecte

1. Description de la méthode Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ELISA :

La technique **« Enzyme Linked** ImmunoSorbent Assay **»** connue par la technique **« ELISA »**est utilisée dans tout les domaines de la biologie. Développée par **Peter Perlmann** et **Eva Engvall** en **1970 (**Lequin**, 2005),** cette technique constitue l'épine dorsale des techniques de diagnostic.

C'est une technique **immuno-enzymatique** de détection qui permet de visualiser une liaison antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps (Walker et Rapley, 2008)

La méthode ELISA connais 4 variantes : ELISA directe, ELISA indirecte, ELISA sandwich et ELISA par compétition (Crowther, 2001).

2. Principe de la méthode ELISA indirecte :

L'affinité entre l'antigène et l'anticorps est la base de tous les tests immunologiques. Le principe de la méthode ELISA indirecte est simple: avoir l'antigène fixé et la recherche de l'anticorps anti antigène libre dans l'échantillon (Wild, 2013)

L'antigène utilisé est fixé sur un support d'une façon à le rendre immobile (plaque en plastique contenants des puits généralement), en ajoutant le prélèvement (sérum, lait….) sur le support contenant l'antigène, les anticorps spécifiques -s'ils existent-se lient aux antigènes en formant un complexe antigène-anticorps très stable. (Crowther, 2001). Ces complexes sont révélés par un second anticorps, dit de détection, couplé à une enzyme qui va catalyser la réaction de production d'un substrat coloré. (Wild, 2013).

La présence de ce substrat (donc la présence et l'intensité de la coloration) est proportionnelle à la présence des anticorps anti-antigène présent dans le prélèvement. Le schéma suivant résume le principe de la méthode ELISA indirecte.

3. Technique de la méthode ELISA indirecte :

3.1. Préparation de la phase solide:

Il s'agit généralement d'une plaque de microtitration en orpolystyrene disponible dans le commerce. Les formats habituels sont de 8x12 puits ou 96 puits par microplaque (les formats les plus grand peuvent contenir jusqu'à 394 puits). (Walker et Rapley, 2008)

La préparation de la phase solide consiste en le tapissement des supports solides ou des microplaques par l'antigène. Ce processus est communément appelé revêtement. (Crowther, 2001). Les antigènes se fixent sur la surface solide par adsorption passive (Wild, 2013), cette adsorption est assurée par l'interaction entre le pole hydrophobe de la protéine non polaire et les molécules composantes de la matrice en plastique. (Crowther, 2001)**.** Par contre, l'adsorption et l'immobilisation de l'antigène sur le support solide peut être influée par certains facteurs (Wild, 2013) :

- la nature de la molécule composante de la plaque.
- les caractéristiques de la molécule de l'antigène et du tampon de dilution
- La concentration de l'antigène.
- la Température.
- le Temps d'adsorption.

Cette manière simple de l'immobilisation de l'antigène dans ELISA est l'une des clés de son succès, elle permet la mise en disposition des biologistes de microplaques toutes prêtes à l utilisation. (Crowther, 2001)

3.2. Protocol de l'analyse ELISA :

A partir du principe de la méthode en peu décrire quatre étapes principales de la méthode ELISA indirecte (voir figure n°09: étapes du test ELISA indirect) (Walker et Rapley, 2008) :

1- Addition de l'échantillon à tester sur le support solide préalablement sensibilisé par l'antigène
2- addition d'un anticorps de détection couplé à une enzyme
3- ajout du substrat de l'enzyme conjuguée et production du chromogène
4- lecture visuelle ou spectrophotométrique de l'essai

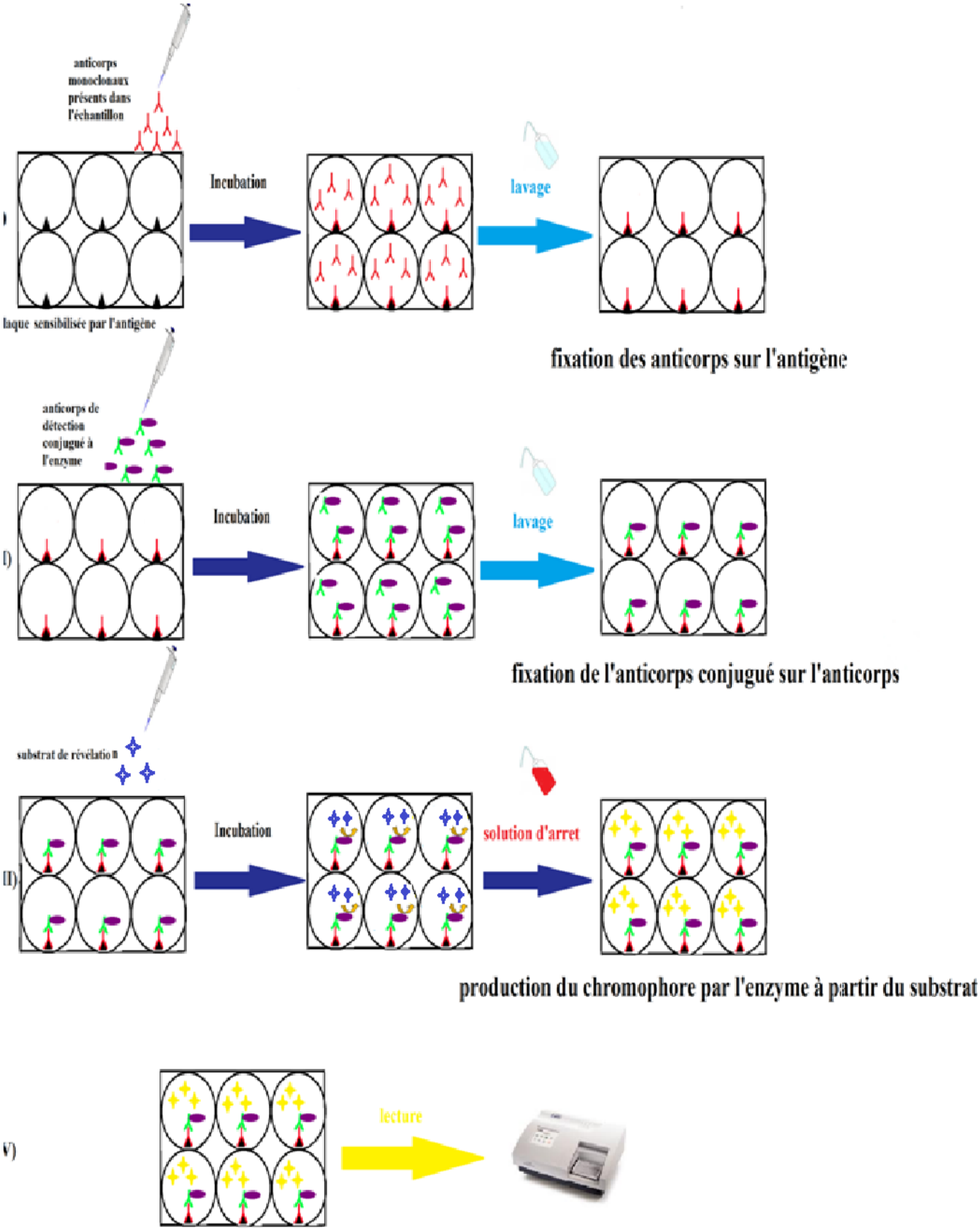

Figure n°01 : étapes du test ELISA indirect

3.2.1. Addition de l'échantillon à tester sur le support solide préalablement sensibilisé par l'antigène :

- **ajout des échantillons à tester :**

Cette étape est la clé du diagnostic sérologique. L'affinité entre l'antigène et l'anticorps est la gérante de cette étape (Wild, 2013). Des volumes minimes d'échantillons à tester sont distribués sur les supports solides préalablement sensibilisés par l'antigène.

- **Incubation :**

L'incubation est la durée de temps nécessaire à la formation des liaisons entre les antigènes fixés et les anticorps monoclonaux, elle varie selon le type des protéines mises en jeu dans ces réactions. (Walker et Rapley, 2008)

- **Lavage :**

Le lavage est une étape critique dans l'analyse ELISA, elle consiste à remplir les puits des microplaques et d'effectuer la vidange de ces derniers (Wild, 2013). Cette opération est effectuée après l'incubation et répétée trois fois au minimum pour chaque puits (Walker et Rapley, 2008)

Le but de lavage est de séparer les réactifs reliés et non reliés (anticorps ou antigènes libres, certaines molécules biologiques) (Wild, 2013). Le tampon de lavage habituellement utilisées est le PBS ou bien le tampon phosphate salin (0,1 M NACL, pH 7,4). (Walker et Rapley, 2008).

3.2.2. Addition d'un anticorps de détection couplé à une enzyme :

Cette étape consiste à l'addition d'un anticorps secondaire anti-anticorps primaire déjà fixé sur l'antigène (Crowther, 2001). Cet anticorps secondaire ou dit de révélation est conjugué à une enzyme et dépond de l'espèce et non pas de l'antigène (produits chez les animaux par stimulation antigénique avec des protéines ou bien des anticorps d'une autre espèce). (Wild, 2013). Le rôle de l'enzyme conjuguée à l'anticorps est simple : catalyser la production d'un chromogène à partir d'un substrat. Ce chromophore étant coloré indique la fixation de l'anticorps conjugué sur l'anticorps primaire. De ce fait, la présence de la couleur implique la présence des anticorps primaires anti-antigènes dans l'échantillon à tester (Walker et Rapley ; 2008). L'action de l'enzyme est résumée dans la réaction suivante :

Figure n°2 : réaction enzymatique de transformation du substrat en chromogène

La peroxydase de raifort ou la HRP est l'enzyme la plus utilisée pour l'analyse ELISA. C'est une glycoprotéine de 44 KDa comportant quatre résidus lysine responsable de la conjugaison à la molécule cible (Wild, 2013)

Les enzymes les plus utilisées dans la méthode ELISA sont résumé-avec leurs propriétés-dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Substrats et chromophores couramment utilisés dans ELISA

(Walker et Rapley, 2008).

Enzyme	**substrat**	**Chromophore**	**Tampon**
HRP	Peroxyde d'hydrogène (0.004%)	OPD	Phosphate/citrate, pH 5.0
HRP	Peroxyde d'hydrogène (0.004%)	TMB	Phosphate/citrate, pH 5.6
HRP	Peroxyde d'hydrogène (0.002%)	AETS	Phosphate/citrate, pH 4.2
HRP	Peroxyde d'hydrogène (0.006%)	5-AS	Phosphate, ph 6.8
HRP	Peroxyde d'hydrogène (0.02%)	Diaminobenzidine	PBS, ph 7.4
AP	PNPP	PNPP	Diethanolamine et chloride de magnesium, ph 9.5
B-Galactosidase	ONPG	ONPG	Chloride de Magnesium, pH 7.5
Urease	Urée	Bromocrésol	Chloride de Magnesium, ph 4.8

L'addition des anticorps couplés à l'enzyme est suivie d'une période d'incubation (de 15 à 60 minutes). (Wild, 2013)**.** Après, la vidange et le lavage sont nécessaires pour éliminer les anticorps secondaires non liés à l'anticorps primaires (Crowther, 2001)

3.2.3. Ajout du substrat de l'enzyme conjuguée et production du chromogène :

- **Addition du substrat**

Le substrat est le composé chimique qui ce transforme en chromogène par une réaction que catalyse l'enzyme conjuguée. (Crowther, 2001). Le substrat est incolore choisi généralement pour donner un produit coloré. Le taux de développement de la couleur est proportionnelle à la quantité du conjugué présente. (Walker et Rapley, 2008). La transformation du substrat en chromogène nécessite une période d'incubation en obscurité (Crowther, 2001).

- **Addition d'une solution d'arrêt**

Une molécule d'arrêt est une molécule capable d'arrêter la réaction enzymatique par dénaturation de l'enzyme conjuguée. (Wild, 2013). Son but est de bloquer la réaction enzymatique dans le deuxième sens pour empêcher la modification de la coloration obtenue (Crowther, 2001).

3.2.4. Lecture visuelle ou spectrophotométrique de l'essai :

La lecture du test ELISA peut être réalisée par l'œil nu ou à l'aide d'un spectrophotomètre. (Wild, 2013).Le résultat positif se traduit par l'apparition de la couleur après addition du substrat incolore, l'incubation et l'addition de la solution d'arrêt. L'utilisation d'un spectrophotomètre pour la lecture du test est recommandée (Crowther, 2001).