

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
— المدرسة الوطنية العليا للبيطرة — الجزائر —  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE - ALGER -

## **MEMOIRE**

**PRESENTE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN SCIENCES  
AGRO-VETERINAIRES  
EOLE DOCTORALE : PRODUCTION, HYGIENE ET SANTE ANIMALE  
OPTION : MICROBIOLOGIE MEDICALE VETERINAIRE**

***Séroprévalence des maladies abortives  
(Chlamydie et fièvre Q) chez les brebis ayant  
avortées dans la Wilaya de Sidi Bel Abbas***

**PRESENTE PAR :D<sup>r</sup>. KARIM ABDELKADIR**

**DEVANT LES MEMBRES DE JURY:**

<b>PRESIDENT:</b>	HAMDI TAHA MOSSADEK.	Professeur	ENSV -ALGER-
<b>PROMOTEUR:</b>	KHELEF DJAMEL.	Professeur	ENSV -ALGER-
<b>EXAMINATRICE:</b>	AÏT OUDIA KHATIMA	Maître de conférences A	ENSV- ALGER-
<b>EXAMINATEUR:</b>	BOUZID RIADH	Maitre de conférences B	ENSV -ALGER-

**SOUTENU LE : 19/10/2014**

# **Dédicace :**

L'ART DE LA RECHERCHE, DE LA REUSSITE, POUR QU'IL PUISSE DONNER SES FRUITS DOIT ETRE CULTIVE POUR SES FLEURS.

AINSI ET SEULEMENT,

AU NOM DE DIEU LE TOUT PUISSANT ET LE TRES MISERICORDIEUX PAR LA GRACE DU QUEL J'AI PU REALISER CE TRAVAIL QUE JE DEDIE :

A TOUTE MA FAMILLE FRERES ET SŒURS, PARTICULIEREMENT A MES CHERS PARENTS QUI N'ONT JAMAIS ARRETE DE M'ENCOURAGER,

A MES AMIS,

A TOUTES LES PERSONNES QUI M'ONT SOUTENU DURANT TOUT MON CURSUS,  
A MON PROMOTEUR KHELEF DJAMEL QUI A ETE REGULIER DANS SES ORIENTATIONS.

A TOUTE LA COMMUNAUTE SCIENTIFIQUE AINSI QU'AUX GENS RECONNAISSANTS.

A MES COLLEGUES DE POST-GRADUATION.

A TOUS LES ETUDIANTS(ES) ET ENSEIGNANTS (ES) DE L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE -EL-HARRACH ALGER.

A TOUS CEUX QUI SONT ANIMES PAR L'AMOUR DU SAVOIR ET DE LA RECHERCHE ET DONT LE BUT ESSENTIEL EST D'AIDER L'HUMANITE.

A MA CHERE PATRIE, L'ALGERIE, TERRE DE MES AÏEUX.

A TOUS CEUX QUE JE NE SAURAI CITER, MAIS QUE JE PORTE DANS MON CŒUR.

# Remerciements

A monsieur KHELEF Djamel, professeur à l'ENSV d'Alger, qui m'a encadré tout au long du travail, et sans qui j'aurais givré sans résultats aucun et grâce à qui cette modeste investigation a vu le jour, je vous témoigne le plus profond de mes plaisirs de travailler avec vous.

A Mr HAMDY Taha Moussadek, Professeur à l'ENSV d'Alger qui nous fait l'honneur de présider le jury de notre mémoire, hommage respectueux. Sa modestie remarquable et son dévouement sont dignes d'égard. Il est toujours prêt à aider, à orienter.

A Dr AIT-OUDHIA Khatima, j'avoue que je suis séduit par votre personnalité chaleureuse, toujours impatiente de voir bien achever ce travail, et pour vos encouragements incessants.

Je vous remercie tous très respectueusement de votre participation au jury de soutenance.

A Dr BOUZID RIADH Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury, trouvez ici la preuve de notre sincère reconnaissance.

Aux, Dr. KHOUALED Y, Dr. HAMRAT M, en témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect pour l'aide qu'ils m'ont procurée dans la réalisation de ce mémoire,

A monsieur le directeur du Laboratoire Vétérinaire Régional de Tlemcen (LRVT). Je tiens à remercier l'ensemble des membres de ce laboratoire pour leur accueil, leur gentillesse, leurs conseils et leur soutien. Ils m'ont permis la découverte de la vie scientifique au sein d'un laboratoire et surtout FOUAD.

Aux personnels de la bibliothèque surtout Hamid, Djamila et M'Barka, Wacila etc.

## **Résumé :**

Peu d'informations sont disponibles en Algérie sur la fièvre Q et la Chlamydogophilose abortive de la brebis, qui sont deux zoonoses causées par *Coxiella burnetii* et *Chlamydogophila abortus*, leurs réservoirs principaux étant les ruminants domestiques.

Cette étude vise à étudier leur séroprévalence dans les troupeaux de moutons de six Daïra (Telagh, Tanira, Moulay Slissen, Marhoum, Ras Elma et Merine). Une enquête sérologique a été réalisée sur 39 troupeaux présentant des troubles abortifs, qui ont été classés par tailles. 180 sérums ont été prélevés à partir de brebis ayant avortées. Les kits, Fièvre Q indirecte kit ELISA et *Chlamydogophila abortus* indirecte kit ELISA (ID Screen) ont été utilisé pour identifier les infections chez les brebis.

Les résultats ont montré que 27,7% (50/180) des brebis étaient positives à la fièvre Q et 30,56% (55/180) des brebis étaient positives à la Chlamydogophilose. Un total de 28 troupeaux (71,79%) a révélé au moins un animal séropositif pour la fièvre Q et 29 troupeaux (74,36%) ont révélé au moins un animal séropositif pour la Chlamydogophilose. Les troupeaux à effectifs importants ont été plus infectés que les troupeaux petits et moyens pour la fièvre Q.

Ces résultats montrent que les infections par la fièvre Q et la Chlamydogophilose existent dans les régions suivies et que des mesures doivent être prises afin d'en réduire la propagation et le risque zoonotique.

**Mots clés :** fièvre Q, Chlamydogiose, séroprévalence, ELISA, zoonose.

### **Summary:**

Little information is available in Algeria on Q fever and abortive chlamydia in sheep, two zoonoses caused by *Coxiella burnetii* and *Chlamydia abortus* and their main Reservoirs are domestic ruminants.

This study aimed at investigating the seroprevalence in sheep flocks from six Daïra (Telagh, Tanira, Moulay Slissen, Marhoum, Ras Elma and Merine). A serological survey was conducted in 39 herds with abortion problems, which were classified by size. 180 Sera were collected from the ewes aborted. Q fever indirect ELISA kit and *Chlamydia abortus* indirect ELISA kit (ID Screen®) kits were used to identify infections in sheep.

The results showed that 27.7% (50/180) of sheep were seropositive for Q fever and 30.56% (55/180) of sheep were seropositive for chlamydia. A total of 28 herds (71.79%) showed at least one seropositive animal for Q fever and 29 herds (74.36%) reported at least one seropositive animal for chlamydia. Larger herds led to more infected herds of small and medium for Q fever.

These results showed that infection with Q fever and chlamydia were common and circulating in the study area, therefore encouraging efforts to propose measures to reduce the spread and zoonotic risk.

**Keywords** : Q fever, Chlamydia, seroprevalence, ELISA, zoonosis.

## الملخص:

معلومات قليلة متاحة في الجزائر حول حمى الاستفهام (FièvreQ) و داء المدثرات (Chlamydophilose) عند الأغنام، وهما من الأمراض ذات الأصل الحيواني ، تسببهما كل من الكوكسيلا بورنيتي و الكلاميدوفيليا المجهضة. حيث أن مصدرهما الرئيسي هي المجترات المحلية .

و تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على الانتشار المصلي لدى الأغنام في ستة دوائر من ولاية سيدي بلعباس (تلاغ، تنيرة، مولاي سليسن، مرحوم، رأس الماء، مرين ) و قد شمل البحث 39 قطيعا لوحظ فيها الإجهاض ، هذه القطعان تم تصنيفها على أساس الأحجام. تم جمع 180 مصل من النعاج التي سبق لها أن أجهضت. بعد أخذ الأمصال من هذه النعاج تم فحصها بحثا عن الأجسام المضادة للحمى الاستفهام (Fièvre Q) و داء المدثرات (Chlamydophilose).

أظهرت النتائج 27.7%(180/50) من الأغنام كانت إيجابية لحمى الاستفهام و 30.56% (180/55) من الأغنام كانت إيجابية لداء المدثرات (Chlamydophilose) و أظهرت أن 28 قطيعا (71.79%) احتوت نعجة واحدة على الأقل إيجابية لحمى الإستفهام (Fièvre Q) و 29 قطيعا (74.36%) احتوت نعجة واحدة على الأقل إيجابية لداء المدثرات (Chlamydophilose) كما أن القطعان التي تحتوي على أعداد كبيرة من الأغنام مصابة أكثر من القطعان التي تحتوي على أعداد صغيرة من الأغنام و هذا بالنسبة للحمى الاستفهام .

تبين هذه النتائج أن الإصابة بمكروب حمى الإستفهام (FièvreQ) و داء المدثرات (Chlamydophilose) موجودة في المناطق التي أجريت فيها هذه الدراسة و الخطوات التي يجب اتخاذها للحد من انتشار و مخاطر هذه الأمراض الحيوانية.

كلمات البحث : حمى الإستفهام، الكلاميديا ، دراسة إيدميوليسا حيواني المنشأ،

# Table de matière

INTRODUCTION GENERALE :	1
CHAPITRE I : CHLAMYDOPHILOSE ABORTIVE OVINE	3
1. Historique :	3
2. Importance :	4
2.1. Importance économique :	4
2.2. Potentiel zoonotique de <i>Chlamydia</i>	5
3. Taxonomie :	6
4. Morphologie de <i>Chlamydia</i> :	7
5. Le cycle de développement :	8
6. Etiopathogénie :	9
7. Symptomatologie :	10
8. Notions d'épidémiologie de la chlamyphilose	12
9. Diagnostic :	14
9.1. Les tests sérologiques	14
9.2. Isolement de l'agent :	15
10. Traitement :	16
11. Prophylaxie :	16
Chapitre II : Coxiellose Abortive Ovine	18
1. Généralités	18
1.1. Définition :	18
1.2. Importance :	18
1.3. Répartition géographique :	18
1.4. Espèces sensibles :	19
2. Caractéristiques biologiques :	19
2.1. Morphologie :	19
2.2. Variation antigénique de phase :	19
2.3. Cycle de développement :	20
3. Symptomatologie :	23
4. Lésion :	24
5. Cycles épidémiologiques de <i>C. burnetii</i> :	25
5.1. Voies et circonstances de contamination entre animaux :	25
5.2. Voies et circonstances de contamination de l'homme :	26
6. Diagnostic :	27
6.1. Mise en évidence directe de l'agent :	27
6.1.1. Bactérioscopie :	27
6.1.2. PCR :	28
6.2. Méthodes de mise en évidence des anticorps :	29
6.2.1. Réaction de fixation du complément (CFT) :	29
6.2.2. ELISA	30
6.2.3. I.F.I. (Immunofluorescence Indirecte)	30
7. Traitement chez les ruminants :	31
8. Prophylaxie sanitaire :	32
8.1. Vaccination	32
I. Matériels et méthodes :	34
I.1. Région d'étude :	34
I.1.1. Situation :	34

1.1.2.	Caractéristiques géographiques :	_____	35
1.1.3.	Caractéristiques climatiques	_____	36
1.1.4.	L'Agriculture :	_____	36
1.2.	Période d'étude :	_____	37
1.3.	Informations épidémiologique :	_____	37
1.4.	Echantillonnage :	_____	38
1.5.	Réalisation des prélèvements :	_____	38
1.5.1.	Matériels	_____	38
1.5.2.	La technique :	_____	39
1.6.	Analyses sérologiques :	_____	39
1.6.1.	Matériels d'analyses :	_____	39
1.6.2.	Description et Principe	_____	40
A.	Mode opératoire pour Kit <i>Coxiella burnetii</i> :	_____	41
B.	Réalisation du test :	_____	41
B.1.	Préparation des échantillons :	_____	41
B.2.	Incubation :	_____	42
B.3.	Lavage :	_____	43
B.3.a.	Préparation solution de lavage :	_____	43
B.3.b.	Préparation du conjugué :	_____	43
B.4.	Révélation :	_____	43
B.4.a.	Ajout du substrat :	_____	43
B.4.b.	Ajout de la solution d'arrêt :	_____	43
B.5.	Lecture :	_____	44
B.6.	Validation et interprétation des résultats :	_____	44
B.6.a.	Validation du test de « fièvre Q »	_____	44
B.6.b.	Validation du test de « <i>Chlamydomphila abortus</i> » :	_____	45
B.7.	Interprétation des résultats :	_____	46
1.6.3.	Approche statistique :	_____	46
II.	Résultats :	_____	48
II.1.	La fièvre Q :	_____	48
II.1.1.	Prévalence totale :	_____	48
II.1.2.	Séroprévalence d'élevage en fonction de la taille du troupeau :	_____	48
II.1.3.	Séroprévalence individuelle de la Fièvre Q par rapport au l'âge des brebis : __	_____	48
II.1.4.	Séroprévalence de la Fièvre Q en fonction du stade d'avortement :	_____	49
II.1.5.	Séroprévalence de la Fièvre Q dans les différentes Daïra :	_____	49
II.2.	Chlamydomphiloze :	_____	50
II.2.1.	Prévalence totale :	_____	50
II.2.2.	Séroprévalence d'élevage en fonction de la taille du troupeau :	_____	50
II.2.3.	Séroprévalence de la Chlamydomphiloze par rapport au l'âge des brebis : _____	_____	50
II.2.4.	Séroprévalence de la Chlamydomphiloze en fonction du stade d'avortement : __	_____	51
II.2.5.	Séroprévalence de la Chlamydomphiloze dans différentes Daïras :	_____	51
III.	Discussion	_____	52
III.1.	Prévalence de la fièvre Q et les facteurs de variabilité :	_____	52
III.2.	Prévalence de la chlamydomphiloze abortive ovin et facteurs de variabilité :	_____	54
IV.	Conclusions et recommandations	_____	57

# Liste d'illustrations

## Liste des tables :

<b>Tableau 1 :</b> Validation du test ELISA	44
<b>Tableau 2 :</b> Validation du test ELISA.	45
<b>Tableau 3 :</b> Interprétation des résultats.	46
<b>Tableau 4 :</b> La prévalence de la Fièvre Q chez les ovins au Sud de Sidi Bel Abbes.	48
<b>Tableau 5 :</b> Séroprévalence de fièvre Q en fonction de la taille du troupeau.	48
<b>Tableau 6 :</b> Séroprévalence individuelle de la Fièvre Q par rapport au l'âge des brebis.	49
<b>Tableau 7 :</b> Séroprévalence individuelle de la Fièvre Q en fonction du stade d'avortement	49
<b>Tableau 8 :</b> La prévalence de la Fièvre Q en fonction de différentes régions d'étude.	49
<b>Tableau 9 :</b> La prévalence de la Chlamydophilose chez les brebis au Sud de Sidi Bel Abbes.	50
<b>Tableau 10 :</b> Séroprévalence de Chlamydophilose en fonction de la taille du troupeau	50
<b>Tableau 11 :</b> Séroprévalence de la Chlamydophilose se par rapport au l'âge des brebis.	51
<b>Tableau 12 :</b> La prévalence de la Chlamydophilose dans les différentes Daïra	511

## Liste des figures :

<b>Figure 1 :</b> Classification génétique de l'ordre Chlamydiales.	7
<b>Figure 2 :</b> Electron micrograph of chlamydial organisms growing in an inclusion in tissue culture.	8
<b>Figure 3 :</b> cycle infectieux de chlamydiae.	9
<b>Figure 4 :</b> La voie de trafic intracellulaire de Coxiella burnetii.	22
<b>Figure 5 :</b> Résultats schématique d'une infection intra-utérine avec Coxiella burnetii chez un animal en gestation.	23
<b>Figure 6 :</b> Diversité des réservoirs et voies de transmission possibles de l'agent de la fièvre Q.	27
<b>Figure 7 :</b> Superficie est population de la Wilaya de S.B.A (le service des statistiques de la wilaya 2008).	355
<b>Figure 8 :</b> Variation de la température dans la région de SBA au cours de l'année 2007 (d'après service de météorologie 2008).	36
<b>Figure 9 :</b> Réactifs et les échantillons température ambiante avant la réalisation du test.	42
<b>Figure 10 :</b> Distribution de tampon, contrôle négatif, contrôle positif et les échantillons à tester.	42
<b>Figure 11 :</b> Incubation des plaques.	43
<b>Figure 12 :</b> photo de la plaque après la mise de substrat de révélation.	44

## **Abréviations :**

AND: Acide désoxy-ribo-nucléique  
ARN: Acide ribonucléique  
ATPase: Adénosine triphosphate  
BGM : Buffalo Green Monkey Kidney  
BHK : Baby hamster kidney  
CCV : vacuole contenant coxiella  
CFT : teste de fixation de complément  
CIRT: Trachoma Inclusion Conjunctivitis  
CIVD: Coagulation Intravasculaire Disseminée  
CTSD: Cathepsine D  
DO: Densité optique  
DSA: direction des services agricoles  
EB: elementary bodies  
ELISA : Enzyme linked immunosorbend assay  
GTPase : Enzymes qui lient et hydrolysent la guanosine triphosphate (GTP),  
IFA : immunofluorescence assay  
IFI: immunofluorescence indirecte  
IgG : immunoglobuline  
IV: intraveineuse  
LAMP1: glycoprotéine membranaire associée au lysosome  
LCV: large cell variant  
LPS: Lipopolysaccharid  
MOMP: Major outer membrane protein  
OEA: ovine enzotique abortion  
OIE: L'office international des épizooties  
OR : Odds Ration  
PCR: Polymerase chaîne reaction  
PH : potentiel hydrogène  
PLT : psittacosis-lymphogranuloma venereum-**trachoma**  
RB: Reticulate bodie  
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism  
RR : Risque Relatif  
SC: sous cutanée  
SCV: small cell variant  
SLP: spore like porticul

## INTRODUCTION GENERALE :

Selon plusieurs études, les avortements chez les animaux constituent un problème majeur non seulement en Algérie, mais aussi dans d'autres pays qui ont développé le secteur de l'élevage. Chaque année, des milliers d'avortements sont enregistrés dans le monde entier chez les animaux d'importance agricole due à des causes diverses, nutritionnelle, métabolique, bactérienne (Al-Ani FK et *al.*, 2004), virales et parasitaires. (Buxton, 1998).

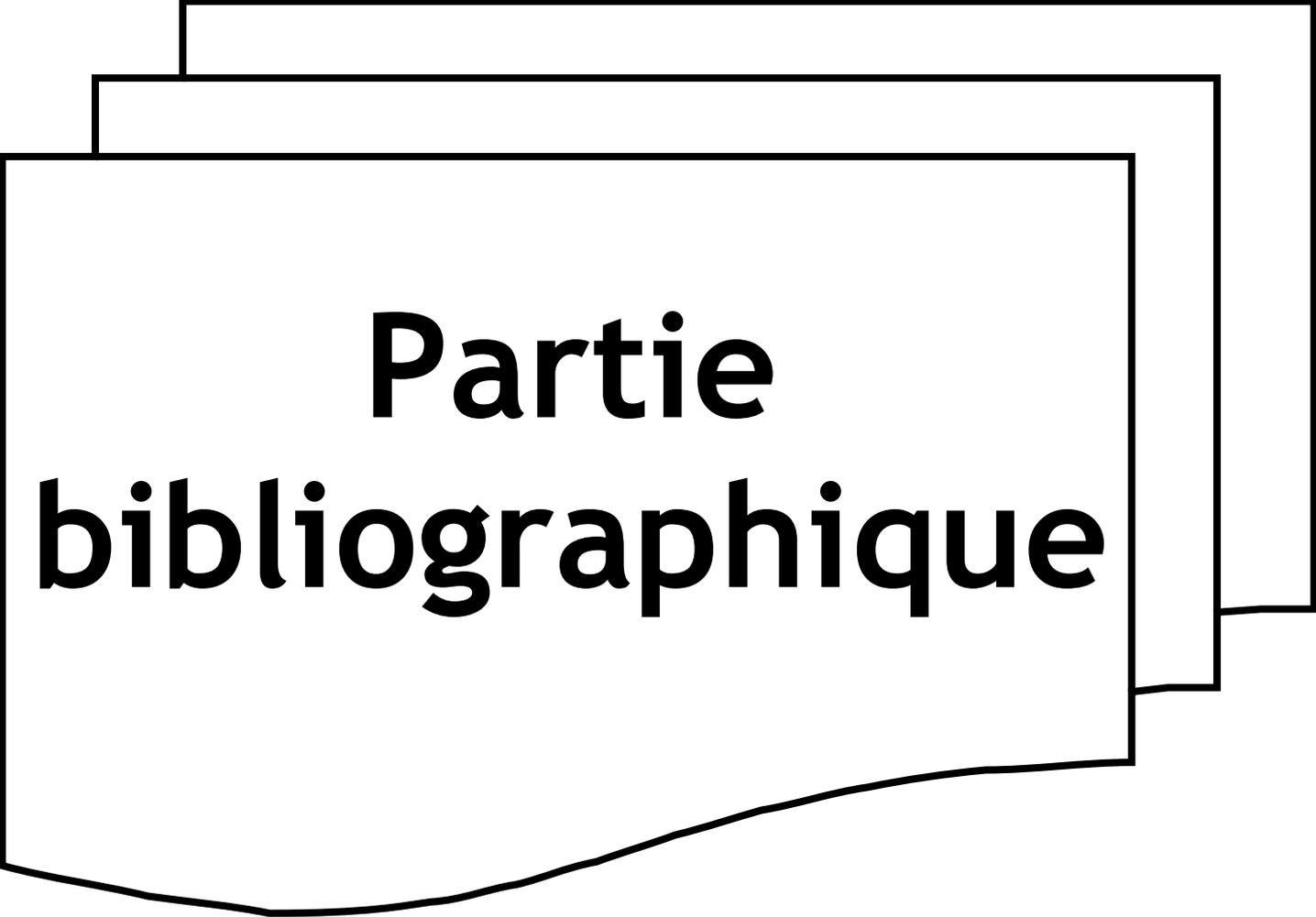
Il existe de nombreuses études dans différents pays portant sur la recherche de l'agent causal de l'avortement chez les ovins et les caprins :

- ❖ En 2003-2005, en Sardaigne, des échantillons de placenta et d'embryons de chèvres et de moutons qui ont avorté ont été examinés par PCR pour la détection de l'ADN de *C. burnetii*, *Chlamydomphila abortus*, *Salmonella abortus ovis*, *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*.
- ❖ *Toxoplasma gondii* a été trouvé dans les deux espèces animales en grand nombre (Masala et *al.*, 2007)
- ❖ Dans deux autres études menées en Suisse en 1996-1998 (Chanton-Greutmann et *al.*, 2002) et en Hongrie en 1998-2005 (Szeredi et *al.*, 2006), il a été constaté que la cause la plus fréquente de l'avortement chez les ovins et des chèvres était l'infection par *Chlamydomphila abortus*.
- ❖ En 2003-2004 en Croatie, il y avait une épidémie d'avortements chez les ovins provoquée par *Salmonella abortus ovis*. Lors de l'examen de cinq élevages de moutons, où le taux d'avortement était entre 22% -38%, *S. abortus ovis* a été isolé à partir de 13 échantillons vaginaux et deux fœtus. (Habrun et *al.*, 2006)
- ❖ En enquêtant sur les cas d'avortement chez les ovins et les caprins en Espagne, il a été constaté que 1,7% des 973 avortements chez les ovins et de 2,6% des 262 avortements chez les chèvres a été causé par *Leptospira Sp.* (Leon-Vizcaino et *al.*, 1987)

Les avortements chez les animaux causent divers problèmes comme la réduction de la production de viande et de lait. Certains des avortements sont dus à des agents pathogènes qui peuvent causer des zoonoses, menaçant la santé publique en plus des effets financiers négatifs liés à la chute de production.

En vue de trouver une solution, chaque pays a mis en place un réseau d'épidémiologie qui vise à recenser les facteurs étiologiques, prendre des mesures

correctives en conséquence, les enregistrer, particulièrement si elles ont un effet sur *C. burnetii* et *C. abortus* qui sont les deux plus importantes causes d'avortements chez les ruminants. (Berri et *al.*, 2009). Car en plus de leur effet néfaste sur la production animale, ce sont des zoonoses transmissibles à l'homme avec un grand impact sur la santé publique. (Rodolakis et *al.*, 1998).



**Partie  
bibliographique**

**CHAPITRE I : CHLAMYDOPHILOSE ABORTIVE OVINE**

Les Chlamydiaceae sont répartis dans le monde et provoquent des maladies aiguës chez les humains et les animaux. Ils peuvent provoquer des maladies oculaire, pulmonaire, génitale, articulaire, et intestinale, mais très souvent, ils induisent des infections persistantes, chroniques, ou subcliniques. Tous les *Chlamydomphila* ont des potentiels pathogènes zoonotiques, bien que *Chlamydomphila psittaci* et *Chlamydomphila abortus* sont les plus importants et les mieux documentées.

*Chlamydomphila abortus* (anciennement *Chlamydia psittaci* sérotype 1) est une bactérie zoonotique qui provoque souvent des avortements chez les ruminants. Il est l'agent infectieux le plus important provoquant l'avortement chez les ovins et les caprins dans de nombreux pays à travers le monde (Smith et Sherman, 1994 ; Aitken, 2000 cité par Szeredi & Bacsadi 2002). OEA est d'une grande importance économique dans le monde entier (Longbottom et al., 2002). On estime que dans le Royaume-Uni, l'avortement chlamydomphiliaal représente environ 50% de tous les avortements diagnostiqués, entraînant des pertes estimées à plus de 20 millions de livres par an (Longbottom et al., 2002). Aux Etats-Unis, *C. abortus* est la cause la plus fréquente de l'avortement infectieux chez les caprins (Aiello et Mays, 1998). En plus de provoquer l'avortement et les pertes fœtales non seulement chez les ovins, les bovins et les chèvres, et aussi chez les humains qui entrent en contact avec le bétail ayant avorté (Ward, 2006), *C. abortus* peut également provoquer l'avortement chez les porcs (Longbottom et al., 2002).

**1. Historique :**

Dans l'histoire des infections à *Chlamydia*, la description du trachome s'est d'abord produite dans le papyrus Ebers (1500 avant JC) et dans les anciens manuscrits chinois. Dioscoride, médecin sicilien, le 1<sup>er</sup> qui a utilisé le terme trachome en 60 après JC. Un siècle plus tard, les quatre stades de la maladie ont été délimités par Galen (Thygeson, 1962).

Au début du 19<sup>ème</sup> siècle, une relation a été suspectée entre une infection chez les psittacidés et la pneumonie chez les humains qui avaient été en contact avec eux. En 1895, Morange a proposé le nom psittacose pour cette infection, mais l'agent responsable de la maladie a finalement été isolé 35 ans plus tard lors d'une épidémie de plusieurs centaines de cas causés par des perroquets argentins infectés en 1929-1930 aux États-Unis et en Europe.

En 1930, Levinthal décrit de minuscules corps basophiles sphériques dans les tissus infectés de perroquets, et presque simultanément, Coles et Lillie a fait la même observation dans les cellules des êtres humains et des oiseaux infectés. Bedson et *al.* (1930) a établi le rôle étiologique de ces organismes dans la maladie. En 1932, le cycle de développement intracellulaire de l'agent de la psittacose a été décrit.

Deux ans plus tard, Thygerson (1934) a identifié une ressemblance entre le cycle de développement de l'agent de la psittacose et les organismes observés lors de la réplication des trachomes et l'inclusion des agents de la conjonctivite, qui ont été trouvés en 1907 par Halberstädter et Von Prowazek (1907). Les corps élémentaires (EBs = elementary bodies) ont été détectés dans le cerveau des bovins souffrant d'encéphalomyélite sporadique (McNutt and Waller, 1940). Stamp et *al.* (1950) ont démontré que les chlamydies ont causés des avortements chez les moutons.

Cependant la nature de ces agents pathogènes n'a été clarifiée qu'à la fin des années 1960. Ils ont été initialement considérés comme des virus parce qu'ils étaient incapables de se développer en dehors d'une cellule vivante, puis comme un organisme intermédiaire entre les bactéries et les virus (Bernkopf et *al.*, 1962).

Des études biochimiques et biologiques ont montré que ces agents sont des organismes procaryotes qui parasitent les cellules eucaryotes. Ils conservent leurs propriétés cellulaires au cours du cycle de croissance, et les RB (reticulate bodie) se développent dans des vacuoles cytoplasmiques et se divisent par un procédé analogue à la fission binaire des bactéries. Les EBs ainsi que les RBs contiennent de l'ADN et de l'ARN, et leurs cytoplasmes sont définis par une paroi cellulaire. Ils sont sensibles aux antibiotiques, ce qui conduit à la conclusion qu'ils partagent de nombreuses propriétés avec des bactéries (Moulder, 1966).

## **2. Importance :**

### **2.1. Importance économique :**

*C. abortus* est l'agent causal de l'avortement enzootique des brebis (EAE) ou avortement enzootique ovin (OEA) et est la cause infectieuse la plus fréquente de l'avortement des petits ruminants dans de nombreux pays. L'impact économique de ces avortements est très élevé car un tiers des brebis gestantes dans un troupeau peuvent avorter après la première exposition à *C. abortus*. Ce niveau élevé d'avortements persiste pendant 2 ou 3 ans jusqu'à ce que presque toutes les femelles avortent. Ensuite, la maladie

prend un caractère cyclique et seulement 1-5% des avortements se produisent pendant plusieurs années jusqu'à ce qu'une nouvelle épidémie apparaisse, lorsque toutes les femelles primipares avortent. Cette évolution cyclique est due à une immunité à vie longue suite à un avortement qui protège contre une infection ultérieure (Rodolakis et *al.*, 1998). Il est exceptionnel pour une femelle d'avorter deux fois.

*C. abortus* induit l'avortement chez les brebis et les chèvres gestantes, de la mortinatalité, la naissance d'agneaux ou de chevreaux faibles qui tombent rapidement malades ou qui ont des difficultés en croissance. Les avortements se produisent principalement dans le dernier mois de gestation sans signes cliniques jusqu'à ce que l'avortement soit imminent. Parfois, des pertes vaginales sont observées quelques jours avant l'avortement, plus fréquemment chez les caprins que chez les brebis. Comme chez les petits ruminants, on n'observe pas de signes cliniques avant le début de l'avortement à *Chlamydia* chez les bovins, qui se produit habituellement au cours du dernier trimestre de gestation, mais peut également avoir lieu dès le quatrième mois (Storz, 1971).

## **2.2. Potentiel zoonotique de *Chlamydia***

En plus des pertes économiques, *C. abortus* présente un risque zoonotique, induisant un épisode pseudo-grippale, des signes de pneumonie sont dans de rares cas observés. Des symptômes génito-urinaires ont été décrits chez les hommes et les femmes en contact avec la chlamydie bovine (Stepanek et *al.*, 1983). Bien que *C. abortus* n'est pas très contagieuse chez les humains, les conséquences de l'infection chez les femmes enceintes en contact étroit avec les moutons et les chèvres infectés sont désastreuses. L'association des avortements humains avec *Chlamydia* des ruminants a été suspectée depuis longtemps (Giroud et *al.*, 1956) par plusieurs auteurs (Beer et *al.*, 1982; Crosse et *al.*, 1971; Roberts et *al.*, 1967; Terskikh et *al.*, 1977), mais elle a été basée uniquement sur les données sérologiques. Le rôle de *C. abortus* a été contesté (Hobson et Rees, 1982) jusqu'à ce que l'isolement de la bactérie du placenta et le fœtus d'une jeune femme qui avait assisté à un agnelage dans la ferme de son mari, où certaines brebis avaient avorté (Buxton, 1986; Wong et *al.*, 1985).

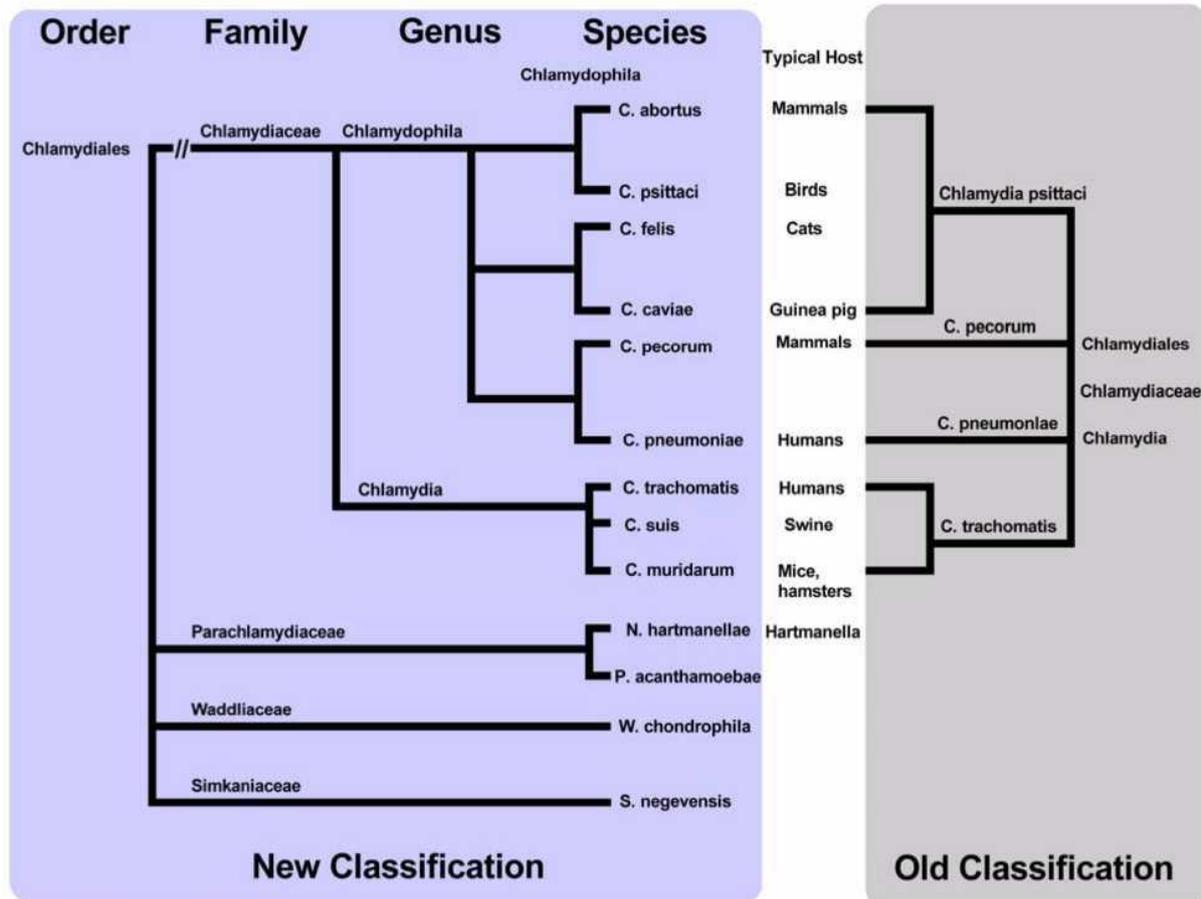
La caractérisation par RFLP des deux souches d'origine humaine et ovine a prouvé définitivement que la jeune femme a été contaminé par ses brebis (Herring et *al.*, 1987). Des avortements dus à *C. abortus* ont été confirmés dans plusieurs autres pays, dont la France

(Villemontheix et *al.*, 1990), les États-Unis (Jorgensen, 1997), la Suisse (Pospischil et *al.*, 2002), Pays-Bas (Kampinga et *al.*, 2000), et l'Italie (Walder et *al.*, 2005). Une fièvre avec maux de tête, des malaises, des nausées, et des vomissements sont généralement les premiers symptômes de l'infection chez les femmes enceintes et sont fréquemment associés à des douleurs abdominales basses, suivie par l'avortement avec des complications parfois sévères, telles que l'insuffisance rénale aiguë, une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), ou une détresse respiratoire nécessitant une ventilation mécanique. La récupération de la maladie suit la fin de la grossesse et un traitement antibiotique approprié, sauf dans un cas où le patient est décédé (Beer et *al.*, 1982).

### **3. Taxonomie :**

Chlamydiae sont des bactéries intracellulaires obligatoires caractérisées par un cycle de développement biphasique spécialisé de 30 à 72 h, contrairement au procaryotes. Historiquement, ce caractère unique était responsable d'une énorme confusion taxonomique qui a conduit non seulement à leur classification erronée comme des protozoaires ou des virus, mais aussi à l'adoption de plusieurs appellations comme "Miyagawanella", "Bedsonia", "Agents d'ornithose", "agents de la psittacose", "Trachoma Inclusion Conjunctivitis (CIRT)- agents" et "Trachoma (PLT)-agents", soit en l'honneur des chercheurs qui les ont décrit pour la première fois ou à cause du type de maladies causées. Le nom actuel de «*Chlamydia*» est un terme impropre, issu d'une idée fautive qui remonte à 1907, quand Halberstaedter et von Prowazek (1907, 1909) pensaient qu'ils avaient découvert des "protozoaires à manteau" pour désigner des vacuoles intracytoplasmiques contenant de nombreux micro-organismes dans un raclage conjonctival de cas de trachome coloré au Giemsa. Ils ont utilisé la désignation "Chlamydozoa" qui trouve sa racine dans le mot grec "Chlamys / khlamus", ce qui signifie manteau.

Selon la classification actuelle, qui repose sur des données ribosomales, biochimiques, sérologiques et d'hybridation ADN-ADN (Bush & Everett 2001), *C. abortus* appartient au genre *Chlamydophila*, famille *Chlamydiaceae* et à l'ordre des *Chlamydiales* comme illustré sur la figure. 1 ci-dessous. Le genre *Chlamydophila* comprend cinq autres espèces : *C. psittaci*; *C. felis*; *C. caviae*; *C. pecorum* et *C. pneumoniae*.



**Figure 1:** Classification génétique de l'ordre Chlamydiales.

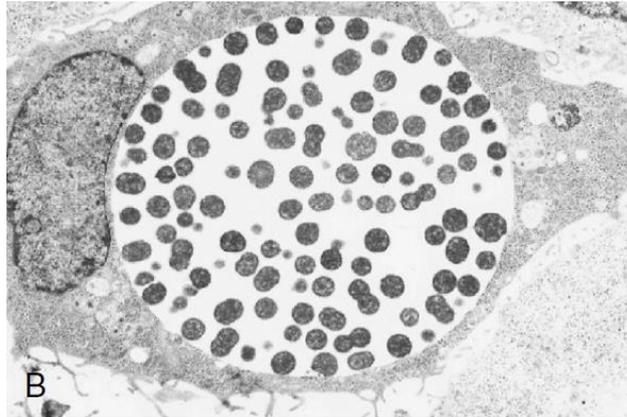
L'arbre sur la gauche (en bleu) représente la classification actuelle des Chlamydiales. Sont des distances horizontales à peu près proportionnelle à la distance génétique telle que mesurée par les données de séquence de l'ARNr 16S et-hybridation ADN-ADN. La liste des hôtes typiques illustre l'hétérogénéité écologique des espèces Chlamydiaceae. Parachlamydiaceae se trouvent dans les amibes, et un second genre dans cette famille, *Neochlamydia*, a récemment été décrit. L'hôte des souches en dehors de la Chlamydiaceae ne sont pas encore résolus. (Karin DE Everett (2001) & Michael Ward (2006).

#### 4. Morphologie de Chlamydia :

*Chlamydophila abortus* est une petite bactérie Gram-négatif, ubiquitaire. Les membres des Chlamydiales sont toutes de petites bactéries Gram négatif qui sont des parasites intracellulaires obligatoires des cellules eucaryotes. Les Chlamydiales se trouvent dans les cellules des vertébrés et des amibes et beaucoup coexistent dans un état asymptomatique au sein de leurs hôtes (Ward 2006).

Deux formes morphologiquement distinctes : un corps élémentaire (EB) infectieux métaboliquement inerte et un corps réticulé (RB) répliatif métaboliquement actif, mais non infectieux. Le premier est petit ( $\sim 0,3 \mu\text{m}$ ) et rond, contient un nucléoïde central et dense, et

fonctionne comme une forme "de spores-like" avec une paroi cellulaire rigide qui permet la survie de chlamydia dans l'environnement extracellulaire. RB sont plus grandes ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ) que EB, structurellement souples et osmotiquement fragiles (en raison de la rareté des "Cross-Linked Membrane Proteins"), riches en ARN et contiennent de l'ADN diffus et fibrillaire. Ces propriétés permettent la réplication intracellulaire, l'absorption et le transport des éléments nutritifs, la synthèse des protéines, ainsi que plusieurs autres activités métaboliques (Moulder, 1991).



**Figure 2:** Electron micrograph of chlamydial organisms growing in an inclusion in tissue culture.

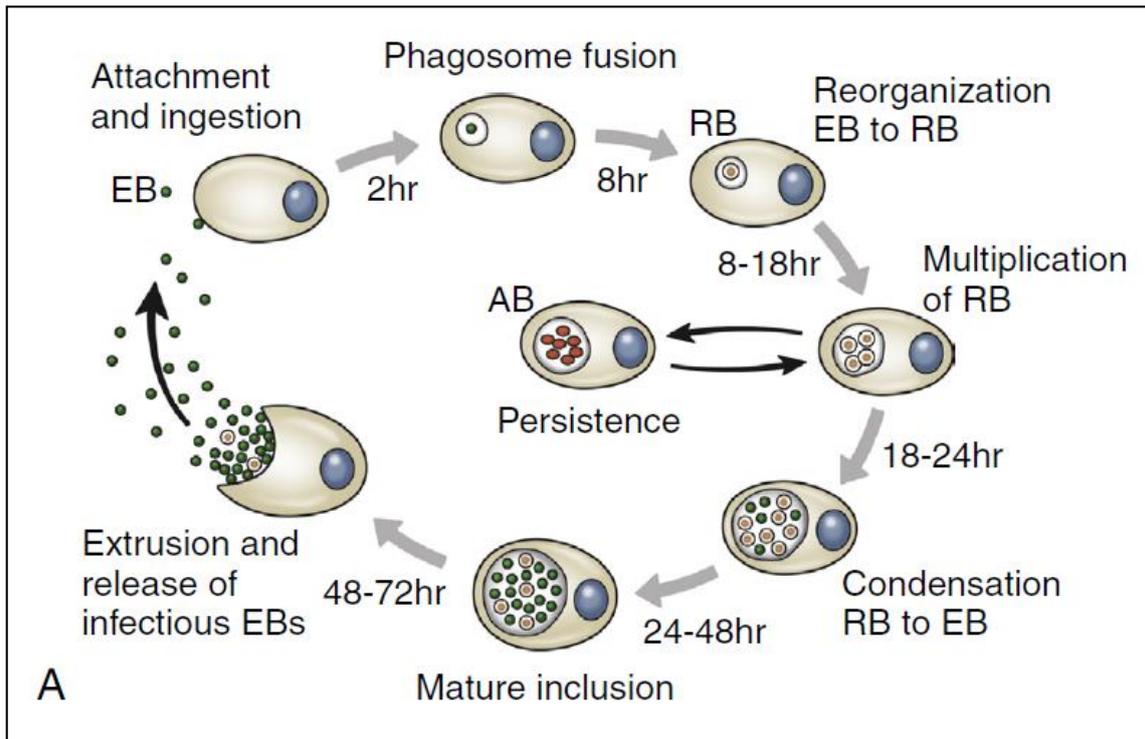
The larger reticulate bodies (RBs) have more diffuse chromatin. One of the RBs appears to be dividing. The smaller dense bodies are elementary bodies.

### 5. Le cycle de développement :

Le cycle de développement de *Chlamydia* a été décrit pour la première fois par Bedson et Bland (1932), *Chlamydiae* subit un cycle de développement biphasique unique qui peut être divisé en cinq grandes étapes :

- L'attachement de EB et l'entrée dans la cellule hôte, ce qui donne la formation d'une inclusion / vacuole ;
- Différenciation d'EB en RB à l'intérieur de l'inclusion ;
- La modification de l'inclusion et la réplication de RB par fission binaire (en tenant compte des temps de doublement moyen de 2-4 h, on peut s'attendre à une descendance de  $\sim 200-500$  par cellule après 7-8 générations (Borges et *al.*, 2013)) ;
- L'expansion de l'inclusion et la transition de RB en EB ;
- La libération des bactéries après 30 à 72 h post-infection (selon les espèces et souches) par lyse de la cellule hôte ou par extrusion (Hybiske et Stephens, 2007).

Tout au long du cycle infectieux, *Chlamydiae* exprime un système actif de type III de sécrétion (T3SS) qui est responsable de la translocation de protéines effectrices directement dans le cytoplasme de la cellule hôte pour manipuler des fonctions cellulaires spécifiques à des étapes distinctes de l'infection, à savoir : l'invasion cellulaire et l'inhibition de la phagocytose, la mise en place de l'inclusion, de l'acquisition des éléments nutritifs, la modulation du trafic intracellulaire, l'inhibition précoce et tardive de l'apoptose, et évitement des réponses immunitaires innées (Valdivia, 2008).



**Figure 3:** cycle infectieux de chlamydiae.

From top left. Electron-dense elementary bodies (EBs) attach to and are taken up by epithelial cells. EBs then differentiate into reticulate bodies (RBs), and RBs divide by binary fission. RBs condense into EBs, and also have the potential to persist in the form of aberrant bodies (AB). EBs are released by cell lysis and infect other cells.

### 6. Etiopathogénie :

La contamination des brebis saines se fait par voie oro-pharyngée, par ingestion de placentas contaminés, d'aliments et d'eaux souillés ou par contact étroit avec une brebis avortée ou les produits de son part (Chalmers et al., 1976, Wilsmore et al., 1984, Rodolakis et al., 1998, Aitken, 2000, Rekiki et al., 2003, Andersen, 2004). *C. abortus* se retrouve au niveau des macrophages et des cellules épithéliales des tonsilles palatines, gagne la circulation sanguine et lymphatique, puis les organes somatiques avant une nouvelle phase de chlamydémie. L'infection du placenta d'une brebis gravide débute au niveau du hile d'un certain nombre de placentomes et fait suite à une phase de chlamydémie. L'invasion du

stroma caronculaire et des villosités choriales dès 60 jours de gestation entraîne la formation d'hématomes qui constituent le point de départ de la colonisation du placenta par *C. abortus*. (Storz, 1971)

L'infection du placenta par *C. abortus* débute à partir de 85-90 jours de gestation et les lésions inflammatoires sont maximales à 120 jours de gestation. Ces lésions sont caractérisées par de la nécrose, la destruction des cellules épithélio-choriales fœtales lors de la multiplication des *Chlamydophila*, des vascularites et thromboses des vaisseaux sanguins fœtaux au niveau du hile des placentomes induites par des cytokines et l'infiltration du placenta fœtal par des cellules mononuclées et des neutrophiles. L'inflammation causée par l'invasion du placenta par *C. abortus* entraîne une diminution des échanges materno-fœtaux et donc des retards de croissance du fœtus voir la mort de ce dernier. L'infection du fœtus via les vaisseaux sanguins allanto-choriaux permet la colonisation de ses organes internes par *C. abortus*. On observe ainsi des avortements quand les brebis sont infectées avant le 110<sup>ème</sup> jour de gestation. (Storz, 1971)

La mise bas prématurée ou à terme d'agneaux chétifs est due à la perturbation des sécrétions placentaires d'hormones stéroïdes et de prostaglandines causée par la placentite (Andersen et al, 2005). Toutes les brebis infectées lors d'une saison de mise bas donnée ne vont pas systématiquement développer de signes cliniques (Livingstone et al., 2009). La diversité des signes cliniques observés doit être liée à la virulence de la souche de *Chlamydophila*, à la dose infectante, à la variabilité individuelle et au stade physiologique de l'hôte (Buxton et al., 1986, Rodolakis et al., 1998, Rocchi et al., 2009).

### **7. Symptomatologie :**

Les infections à *C. abortus* chez les ruminants peuvent causer une variété de signes cliniques, y compris la polyarthrite, la conjonctivite, la pneumonie et l'avortement (Teankum et al. 2007).

Le principal signe clinique observé lors d'infection par la chlamydophilose est l'avortement en fin de gestation, sans altération de l'état général de la brebis (Storz, 1971, Rodolakis et al., 1980, Rekiki et al., 2006, Andersen, 2004, Livingstone et al., 2009). Il n'y a généralement aucun signe précurseur à l'avortement et les brebis se remettent bien ensuite (Aitken et al., 2004).

Les rétentions placentaires suivies de métrites sont rares chez les ovins (Aitken et al, 2004). De l'hypogalactie peut être constatée si l'avortement intervient suffisamment tôt.

Une infection en début de gestation peut être cause de mortalité embryonnaire qui passe inaperçue, la brebis revenant en chaleur tardivement (Aitken et *al.*, 2004). Si les brebis sont infectées à mi-gestation le risque d'avortement s'élève à 80%. Si l'infection a lieu après 110 jours de gestation la brebis mettra bas à des agneaux chétifs et porteurs ou mettra bas normalement l'année de l'infection et avortera dans les années qui suivent (Rekiki et *al.*, 2004).

Les épisodes abortifs causés par la chlamydophilose dans les troupeaux de petits ruminants se traduisent par l'expulsion d'avortons dans le dernier tiers de gestation ou la mise bas à terme d'agneaux morts nés ou chétifs et difficiles à élever, mourant souvent dans les premières 48h. Certaines portées sont composées à la fois d'agneaux chétifs et en bon état général. (Storz, 1971, Rodolakis et Souriau, 1980, Rodolakis et *al.*, 1998, Aitken et *al.*, 2004, Rekiki et *al.*, 2003, Rekiki, 2004, Andersen, 2004)

La brebis semble ne souffrir d'aucun effet systémique mais la rétention du placenta et la métrite, qui est mortelle dans un très petit nombre de cas, sont des séquelles communes (Radostits et *al.*, 1994). Il peut y avoir une récupération rapide après un avortement (Eugster, Jones & Gayle 1977, cité par Rodolakis, 1998). L'arthrite, la conjonctivite et la pneumonie peuvent affecter les veaux, les chevreaux, et les agneaux nés vivants de femelles infectées. Le fœtus ne présente pas de lésions macroscopiques spécifiques.

Il n'existe pas de lésion pathognomonique de la chlamydophilose. Le placenta inflammé est recouvert d'un exsudat floconneux marron, les cotylédons peuvent être décolorés et nécrosés en profondeur, l'espace intercotylédonnaire est épaissi et œdémateux et peut présenter des hémorragies (Sammin et *al.*, 2006, Livingstone et *al.*, 2009, Rocchi et *al.*, 2009). Les agneaux expulsés peuvent avoir une apparence normale ou bien être recouverts d'un enduit crémeux jaunâtre lié à la nécrose du placenta, présenter de l'ascite, de l'œdème sous-cutané ou des pétéchies sur les muqueuses buccales, la langue, le tissu conjonctif sous-cutané et les organes internes, la plèvre et le péritoine (Storz, 1971). Une nécrose multifocale hépatique ainsi qu'une hypertrophie des nœuds lymphatiques de l'avorton sont aussi décrites (Sammin et *al.*, 2006).

### **8. Notions d'épidémiologie de la chlamyphilose**

La Chlamyphilose a été décrite dans de nombreux pays à travers le monde et a été signalée pour la première fois en Allemagne en 1956. Depuis lors, elle a été diagnostiquée dans de nombreux autres pays, dont les Etats-Unis, l'Inde, le Royaume-Uni, la France, le Japon, le Tchad, la Suisse, la Jordanie, la Grèce, la Tunisie, l'Afrique du Sud, la Namibie, et bien d'autres (Rodolakis 2001). Dans de nombreux pays, l'avortement chlamyphilial est la deuxième cause commune des avortements infectieux après la brucellose, et la cause principale dans la plupart des pays où la brucellose est contrôlée (Rodolakis 2001). Aux Etats-Unis *C. abortus* est le type le plus commun de l'avortement infectieux chez les caprins et dans les troupeaux où la maladie est endémique, 25-60% des primipares font des avortements (Aiello et Mays, 1998).

Il a été démontré dans le cas de Chlamyphilose chez les ovins que toute la descendance femelle survivante de brebis infectées va devenir infectée de manière latente et peut excréter des bactéries ou afficher des signes cliniques d'avortement enzootique si elle est conservée pour la reproduction (Kadra et Balla 2006).

Il est rare qu'une brebis avorte deux fois de chlamyphilose car l'immunité à médiation cellulaire acquise lors d'une primo-infection la protégerait d'une nouvelle phase de chlamydémie et colonisation du trophoblaste (Rocchi et *al.*, 2009). Par contre, une exposition successive de brebis naïves à un environnement contaminé n'induit pas chez elles d'immunité suffisamment forte et durable pour empêcher l'expression clinique de la maladie et l'excrétion de *Chlamyphila* lors de leurs gestations suivantes (Rodolakis et Souriau, 1980).

En cas de primo-infection d'un troupeau, près d'un tiers des brebis gravides peuvent avorter la première année où la maladie se manifeste. Dans le cas général, on observe des taux très élevés d'avortements pendant deux ans puis ces derniers semblent se stabiliser autour de 10 % jusqu'au jour où l'on observe une nouvelle flambée d'avortements chez les primipares. (Rekiki et *al.*, 2003, Milne et *al.*, 1989)

Les EBs qui sont excrétés à l'avortement sont la principale source d'infection pour les animaux sensibles par ingestion ou inhalation de sécrétions utérines (Vretou et *al.*, 2007). Selon Dawson (1988), l'environnement d'agnelage contaminé est la principale source d'infection pour les brebis et les agneaux précédemment non exposés. Les muqueuses des voies respiratoires supérieures, des yeux et de l'oropharynx sont présumées en être les

principales voies d'infection. Des études expérimentales avec des brebis gestantes et non gravides ont montré que l'infection chlamydophilial est suivie d'une brève bactériémie au cours de laquelle *C. abortus* est distribué dans tout le corps. Outre la possible excrétion fécale, l'infection reste inapparente jusqu'à la fin de la gestation quand les organites de *C. abortus* sont récupérés à partir du placenta et les tissus utérins. La plupart des avortements ont lieu dans la saison d'agnelage postérieure à celle où l'infection a été acquise (Dawson, 1988).

*Chlamydomphila* est excrété dans les fèces, l'urine, les sécrétions respiratoires, les liquides de naissance, et le placenta des animaux symptomatiques et asymptomatiques, dans la salive et la poussière de plumes d'oiseaux. Comme EB ne survivent pas très longtemps, un contact étroit est nécessaire avec des animaux infectés pour que l'infection puisse voir lieu. Deux facteurs influent sur la transmission de la maladie : la virulence des souches et le nombre de bactéries qui infectent l'hôte. La dose infectante minimale des différentes souches est encore inconnue, mais certains sérovars de *C. psittaci* sont considérés comme très contagieux pour les humains, à la différence de *C. abortus*, mais la quantité de bactéries excrétées dans le placenta d'une brebis ou une chèvre est beaucoup plus abondante que celle excrétées par les oiseaux.

La transmission de *C. abortus* des animaux à l'homme se produit généralement par inhalation de poussières et d'aérosols infectieux induisant l'infection des cellules épithéliales de la muqueuse et les macrophages de l'appareil respiratoire.

En plus des voies respiratoires et oculaires, la voie orale est également importante pour la transmission de *C. psittaci* et *C. abortus* chez les animaux (Harkinezhad et al., 2009).

Chez les ruminants, l'infection provient souvent de l'ingestion de placenta ou de l'herbe contaminée par des pertes vaginales et placentaires. Les chèvres et les brebis sont plus susceptibles d'avorter quand elles sont infectées dans les 100 jours de gestation. Cependant, dans des conditions d'agnelage intensifs, la contamination au moment de l'agnelage peut conduire à l'avortement au cours de la gestation suivante (Wilsmore et al., 1984).

La transmission verticale favorise la persistance de l'infection dans les troupeaux de ruminants.

La transmission vénérienne de *C. abortus* est possible tans que les bactéries sont présentes dans le sperme des taureaux, des béliers, des chèvres et des sangliers. Les mâles

deviennent infectés in utero ou après l'accouplement avec des femelles infectées. Cependant, pendant l'ovulation post-avortement, pas ou très peu de copies d'ADN peuvent être détectés par PCR (Livingstone et al., 2009). En outre, la transmission vénérienne aux femelles conduit à la stérilité et à la mortalité embryonnaire précoce plutôt qu'à des avortements tardifs.

Les oiseaux semblent être d'excellents vecteurs pour la distribution de l'infection à *Chlamydia*, car ils se nourrissent de matières fécales et de carcasses d'animaux infectés et qu'ils sont très mobiles (Everett et al., 1999), bien que l'isolement de *C. abortus* à partir des oiseaux est extrêmement rare (Herrmann et al., 2000). Il a été isolé à partir de chats et de chiens dans les fermes avec des ruminants infectés.

## **9. Diagnostic :**

### **9.1. Les tests sérologiques**

Le test de fixation du complément (CFT) est le test le plus largement utilisé pour détecter *C. abortus* (Vretou et al., 2007) et il est également le test recommandé par l'Organisation mondiale de la Santé Animal en vue du commerce international des moutons et des chèvres. Cependant, CFT n'est pas très sensible et non spécifique parce que le test utilise un antigène partagé avec *C. pecorum*, que la plupart des moutons hébergent dans leur intestin (Rodolakis, 2001). Les anticorps à réaction croisée, spécifique au genre ainsi produits interfèrent et rendent difficile l'interprétation des résultats de CFT. Cela pose un problème particulier dans le cas des sérums provenant d'animaux infectés par des souches des deux espèces.

Les réponses sérologiques à *C. abortus* et *C. pecorum* peuvent être recherchées par des tests de micro-immunofluorescence indirecte, mais la procédure prend trop de temps pour être mise en œuvre à des fins de diagnostic de routine (Longbottom, 2003).

L'ELISA présente une sensibilité plus élevée que le CFT et plusieurs tests ELISA ont été rapportés pour le diagnostic de la Chlamydophilose (Ward 2006). Les rOMP90-3 et rOMP90-4 ELISA se sont montrées plus sensibles et spécifiques que CFT pour différencier les animaux infectés par *C. abortus* des autres infectés par le *C. pecorum* (Longbottom et al. 2002). Des équipes de recherche se sont intéressées à la comparaison de tests ELISA avec le CFT et ont abouti à la conclusion que l'ELISA est plus sensible et plus spécifique pour la détection des anticorps de *C. abortus* (Buendia et al., 2001; Vretou, Radouani et al., 2007).

### **9.2. Isolement de l'agent :**

Aitken et Longbottom (2004) ont décrit comment *Chlamydophila abortus* a pu être isolé dans des œufs embryonnés de poule et dans des cultures cellulaires, ce dernier étant le procédé préféré pour l'isolement de nouvelles souches. Des échantillons de tissus tels que les cotylédons des malades, les membranes placentaires, poumons du fœtus, foie, les prélèvements vaginaux sont idéales pour l'isolement de *C. abortus*. (Aitken & Longbottom 2004).

Pour l'isolement de *C. abortus* à partir des embryons de poulet, des échantillons d'essai sont préparés sous de 10% de la suspension dans un bouillon nutritif contenant de la streptomycine (non pénicilline) (200 µg/ml). 0,2 ml de suspension est inoculé dans le sac vitellin d'embryons âgés 6 à 8 jours, qui sont alors ensuite incubés à 37°C. Les embryons infectés meurent entre 4 et 13 jours après l'inoculation. Frottis préparés à partir de leur membrane vitelline vascularisée révèlent un grand nombre de corps élémentaires (Aitken & Longbottom, 2004).

*Chlamydophila abortus* peut être isolé dans une variété de types de cellules bien que McCoy, BGM ou rein de bébé hamster (BHK) sont couramment utilisés. Pour un diagnostic de confirmation, des monocouches de culture sont mises en suspension dans du milieu de croissance à une concentration de  $2 \times 10^5$  cellules / ml. Des aliquotes de 2 ml de la suspension sont distribuées dans des bouteilles en verre à fond plat universel, chacun contenant une unique 16mm lamelle couvre-objet. Des monocouches confluentes lamelle couvre-objet sont obtenues après incubation pendant 24 heures à 37°C. Le milieu de culture est éliminé et remplacé par 2 ml d'inoculum d'essai, qui est ensuite centrifugé à 2500 tours pendant 30 minutes sur de la monocouche lamelle couvre-objet pour promouvoir l'infection. Après une incubation pendant 2-3 jours, les monocouches lamelle sont fixées au méthanol et colorés au Giemsa ou selon la méthode de Gimenez (Aitken & Longbottom 2004). Les cultures infectées contiennent basophiles (Giemsa) ou éosinophiles (Gimenez) inclusions intracytoplasmiques (Aitken & Longbottom, 2004).

Bien que la culture ait longtemps été considérée comme la golden test, il présente des inconvénients importants. Une chaîne de froid est nécessaire pour protéger la viabilité de l'organisme en cours de transport d'échantillon. Ces organismes sont aussi extrêmement difficiles à cultiver et les échantillons sont souvent trop contaminés pour permettre leur isolement. De plus les méthodes moléculaires modernes de diagnostic basés sur

l'amplification d'acide nucléique sont potentiellement beaucoup plus sensible à la détection de l'antigène de la culture ou ELISA (Ward, 2006).

En médecine humaine, la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) ou de sa variation, la réaction en chaîne par ligase sont considérés comme des tests de diagnostic les plus sensibles disponibles pour la détection de *Chlamydia* (Rodolakis, 2001). Plusieurs amorces communes à toutes les espèces de *Chlamydomphila*, comme *Omp1*, le gène codant pour la protéine majeure de la membrane externe, ou spécifique à *C. abortus* ou *C. pecorum* ont été développés pour des applications vétérinaires (Rodolakis, 2001).

### **10. Traitement :**

Chez les ruminants, un traitement d'antibiotique est constitué de deux injections de tétracycline (20 mg/kg) au cours du dernier mois de gestation afin de réduire le nombre d'avortements et la quantité de *C. abortus* excrété lors de la parturition (Rodolakis et al., 1980). Toutefois, l'infection n'est pas guérie et l'effusion de la bactérie persiste ainsi que la menace pour les femelles gestantes. Ce type de traitement doit être utilisé que pour éviter un taux élevé d'avortements au moment de la première apparition de la maladie dans le troupeau, et les animaux doivent être vaccinés.

### **11. Prophylaxie :**

Les deux vaccins vivants et inactivés pour *C. abortus* ont été développés. Le vaccin thermosensible en direct (Ovilis Enzoowax® ou Cevac® Chlamydia) est plus efficace et provoque la même immunité que la maladie naturelle (Rocchi et al., 2009), ce qui réduit les signes cliniques et de prévenir l'infection chez les brebis et les chèvres contestées (Rodolakis et Souriau, 1983, 1986). Ce vaccin vivant peut être combiné avec d'autres vaccins vivants contre la brucellose, la salmonellose (Souriau et al., 1988), et de la toxoplasmose (Chalmers et al., 1997). Il pourrait être compatible avec le vaccin de la fièvre Q de la phase 1 (Coxevac CEVA) à deux sites d'injection différents comme démontrée chez la souris (Rekiki et al., 2004b). Il est efficace contre tous *C. abortus* souches testées et *C. pecorum* (Rekiki et al., 2004a), mais pas contre *C. psittaci*. Cependant, la vaccination induit la production d'anticorps qui ne peuvent pas être différenciées de celles des animaux naturellement infectés (Borel et al., 2005). Jusqu'à présent, aucune unité ou les vaccins recombinants sont aussi efficaces que le vaccin vivant (Longbottom et Livingstone, 2006). Contrairement à *C. psittaci*, les vaccins à ADN de plasmide exprimant la MOMP (major outer membrane protein)

de *C. abortus*, soit ne pas protéger les souris contre une épreuve virulente ou de façon moins efficace que le vaccin vivant (Zhang et *al.*, 2009).

La prévention passe donc par la vaccination avec un vaccin vivant atténué, seul type de vaccin capable de reproduire l'immunité post-infection (Rocchi et *al.*, 2009).

En cas d'avortement enzootique, Mme Rodolakis recommande de vacciner tous les animaux la première année puis seulement les agnelles de renouvellement les années suivantes (Rodolakis et *al.*, 1998). En pratique, les animaux sont vaccinés un à deux mois avant la lutte. Si on considère que le taux de renouvellement est d'environ 25%, le cheptel est protégé au bout de quatre ans. Une autre stratégie consiste à ne vacciner que les agnelles mais on prolonge alors la durée nécessaire à la couverture vaccinale totale du troupeau. Le premier schéma a l'avantage de limiter l'excrétion par les brebis infectées latentes et la dissémination de l'infection parmi les adultes encore naïves. La vaccination de brebis déjà infectées ne pourra pas les empêcher d'avorter. La vaccination contre la chlamydiafilose avec un vaccin vivant est donc la seule solution à l'assainissement d'un troupeau infecté mais elle atteint ses limites tant qu'il subsiste des animaux infectés latents (Bouakane et *al.*, 2005). Un rappel trois ans après la primo vaccination est conseillé (Bouakane et *al.*, 2005).

## Chapitre II : Coxiellose Abortive Ovine

### 1. Généralités

#### 1.1. Définition :

Le terme Fièvre Q (Q pour « query », doute, questionnement) fut proposé en 1937 pour décrire une maladie fébrile des travailleurs de l'abattoir de Brisbane en Australie, dont le diagnostic restait inconnu. (Maurin et coll., 1999).

La fièvre Q autrement appelée fièvre des abattoirs ou encore grippe des Balkans est une zoonose (Heinzen et al., 1999), ubiquitaire (Angelakis et Raoult, 2010) et émergente (Sheld et al., 2001), causée par *Coxiella burnetii* (Rousset et al., 2001), décrite et identifiés depuis plus d'un demi-siècle (Rousset et al., 2001).

#### 1.2. Importance :

L'homme peut également être infecté par cette bactérie. La fièvre Q, qui est donc une zoonose, appartient à la liste B de l'Office International des Epizooties (OIE). L'épisode épidémique ayant attiré l'attention sur les conséquences de cette infection en santé publique est celui survenu aux Pays-Bas, une épidémie massive sévit depuis 2007 : plus de 3500 cas humains y ont déjà été confirmés. Bien qu'asymptomatique dans plus de 60% des cas, la fièvre Q peut entraîner chez l'Homme des signes cliniques graves tels que pneumonies, hépatites, endocardites ou avortements.

La fièvre Q constitue également un problème de santé animale : chez les ruminants, cette infection peut entraîner des troubles de la reproduction tels qu'avortements, métrites ou infertilité, engendrant des pertes économiques importantes pour les élevages atteints.

#### 1.3. Répartition géographique :

Cette maladie est répandue dans le monde entier, excepté en Nouvelle-Zélande (Boni et al., 1998 ; Buhariwalla et al., 1996; Cetinkaya et al., 2000 ; Cubeddu et al., 2000 ; Norlander, 2000; Rousset et al., 2001 ; Hummel, 1976 ; Marrie et al., 1993), avec des taux de prévalence variant beaucoup d'un pays à l'autre et suivant les régions au sein même de ces états. Toutefois, il semblerait que cette prévalence soit dépendante de la présence ou non de spécialistes s'intéressant à *C. burnetii* (Tissot-Dupont et al., 1999).

### Espèces sensible :

Les ruminants sont considérés dans le monde entier comme les réservoirs domestiques principaux (Cetinkaya et al., 2000 ; Hars, 1990 ; Hubalek et al., 1991 ; Rousset et al., 2001 ; Tadjebakhche et al., 1980 ; Davoust et al., 1986 ; Fontaine et al., 1975). Toutefois, certaines études ont également montré l'importance lors de fièvre Q en zone urbaine des carnivores domestiques, chats (Hirai & To, 1998 ; Marrie et al., 1988) et chiens (Boni et al., 1998 ; Buhariwalla et al., 1996 ; Laughlin et al., 1991). Enfin, les oiseaux aussi bien sauvages (cygnes, corbeaux, canards...) que domestiques (oies, cailles, pigeons...) sont souvent porteurs de *C. burnetii* et parfois incriminés dans sa transmission à l'Homme (Hirai & To, 1998 ; Rousset et al., 2001 ; Tissot- Dupont & Raoult, 1992 ; Stein & Raoult, 1999). D'autres animaux sauvages tels que les mammifères marins sont également susceptibles d'excréter *C. burnetii* (Lapointe et al., 1999)

## 2. Caractéristiques biologiques :

### 2.1. Morphologie :

*C. burnetii* est une petite bactérie intracellulaire obligatoire Gram négatif qui ne peut être cultivée dans un milieu axénique. Il s'agit d'une petite tige pléomorphe (0,2-0,4 µm de large, de 0,4 à 1,0 µm de long) avec une membrane semblable à celle d'une bactérie à Gram-négatif (Maurin et Raoult, 1999). Il réplique à un grand nombre dans une vacuole parasitophore des cellules hôtes eucaryotes, avec un temps de doublement estimé de 20-45h (Mertens et Samuel, 2007).

### 2.2. Variation antigénique de phase :

Une autre caractéristique majeure de *C. burnetii* est sa variation antigénique, appelé variation de phase. Ce phénomène, semblable à la variation approximative-lisse dans les entérobactéries, est due à une perte partielle de lipopolysaccharide (LPS) (Hackstadt, 1985 ; Toman and Skultety, 1996). Le LPS représente un déterminant important de la virulence de *C. burnetii* (Hackstadt, 1990)

La phase 1 correspond à une forme virulente de *Coxiella burnetii*, et se trouve chez l'animal infecté. La phase 2 est observée suite à des repiquages successifs in ovo ou in vitro, et le passage phase 1-phase 2 est dû à une délétion chromosomique d'extension marquée, spontanée, fréquente et irréversible (Widens et coll., 1998). Le mutant de phase 2 se multiplie plus rapidement in vitro mais est détruit par les macrophages in vivo,

contrairement aux bactéries en phase 1. Le LPS de phase 2 est très immunogène, entraînant chez l'animal une réponse plus élevée et plus précoce en anticorps, comparée aux LPS de phase 1. Cependant, ces anticorps n'ont aucune faculté protectrice comparés à ceux produits contre les LPS de phase 1 (Mege et coll., 1997).

### **2.3. Cycle de développement :**

*Coxiella burnetii* est une bactérie à multiplication intracellulaire obligatoire. Après la transmission par aérosol, Ses principales cellules cibles sont les macrophages et les monocytes circulants, mais elle peut également infecter un grand nombre d'autres types cellulaires (Norlander, 2000). Elle pénètre dans la cellule par un phénomène de phagocytose passive actine-dépendante (Baca et al., 1993, Tujulin et al., 1998). *C. burnetii* se lie aux cellules phagocytaires en utilisant l'intégrine  $\alpha V\beta 3$  comme récepteur principal et pénètre dans la cellule par phagocytose dépendante de RAC1 (Capo et al., 1999 ; Dellacasagrande et al., 2000). L'intégrine  $\alpha V\beta 3$  est impliqué dans l'élimination des cellules apoptotiques par phagocytose, et ceci est généralement associé à une inhibition de l'inflammation (Dupuy and Caron, 2008). Ainsi, la possibilité d'utiliser l'intégrine  $\alpha V\beta 3$  pour l'invasion permet au *C. burnetii* d'éviter l'induction d'une réponse inflammatoire. Donc, elle échappe au système immunitaire.

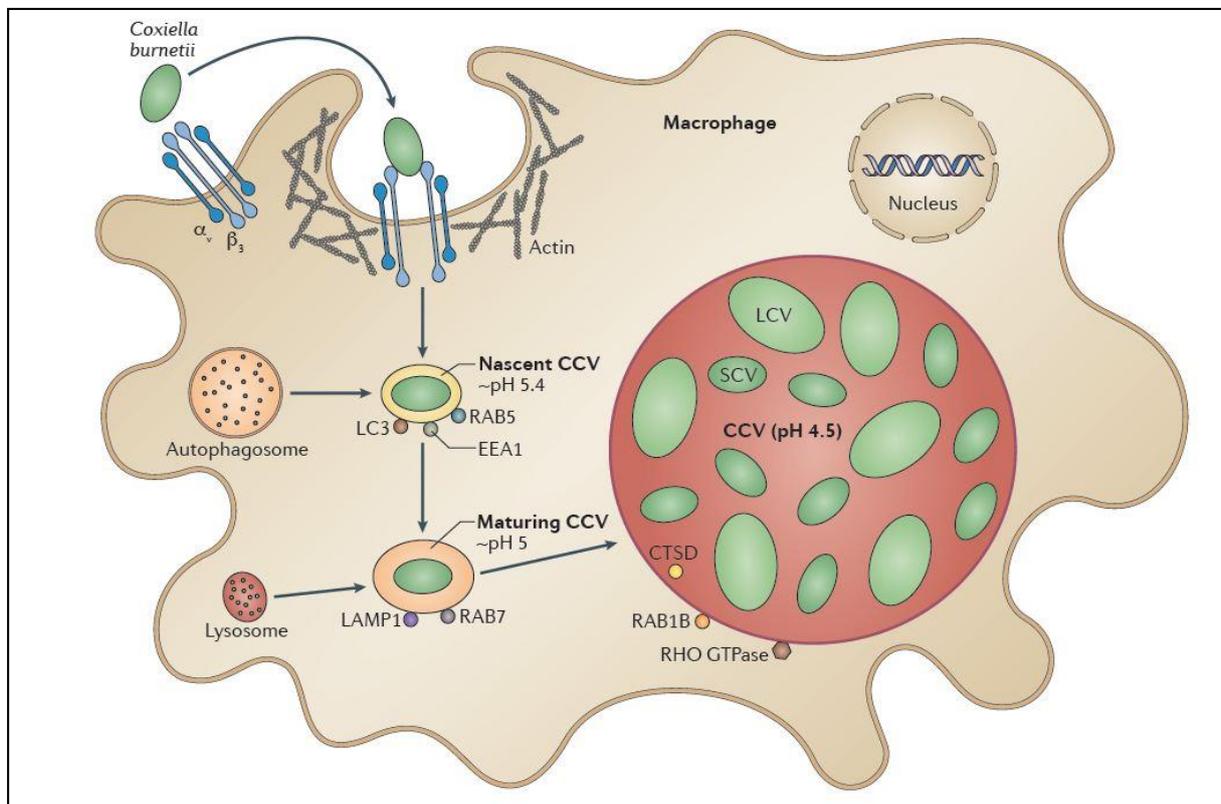
Le phagosome résultant de la phagocytose, se développe en phagolysosome suite à une série d'événements de fusion et fission très ordonnée et régulées [Flannagan et al., 2012]. Peu de temps après l'internalisation à la surface de la cellule, le phagosome produit se développe en un phagosome précoce et acquiert la petite GTPase Rab5. Cette GTPase stimule la fusion avec les endosomes précoces, entraînant une acidification de la lumière à environ pH 5,4 (à travers un processus incomplètement déterminée) et l'acquisition de la protéine marqueur de l'endosome précoce EEA1 (Kinchen and Ravichandran, 2008). Une des caractéristiques les plus frappantes de la maturation du phagosome est que sa taille reste constante, ce qui indique que les composants membranaires sont constamment enlevés après fusion [Flannagan et al., 2012]. Le phagosome tardif perd Rab5 mais acquiert la GTPase Rab7, LAMP1 (glycoprotéine membranaire associée au lysosome), LAMP2 et l'ATPase vacuolaire, qui pompe protons dans le phagosome mature pour diminuer encore le pH lumineuse à environ pH 5 (Kinchen and Ravichandran, 2008). Enfin, le phagosome fusionne avec des compartiments lysosomaux pour acquérir cathepsines et hydrolases, et l'ATPase

vacuolaire qui réduit encore le pH à environ pH 4,5 (Flannagan et al., 2012 ; Kinchen and Ravichandran, 2008).

Son cycle de développement (assimilable par certains côtés à celui de la sporulation) présente trois formes morphologiques principales, de capacités de résistance différentes (Rousset et al., 2000 ; Rousset et al., 2001). La forme LCV (Large Cell Variant) est la moins résistante et correspond à la forme intracellulaire de la bactérie. Elle peut se différencier en SLP (Spore Like Particle), qui une fois libérée dans le milieu extracellulaire donnera la forme SCV (Small Cell Variant). Cette dernière est une forme végétative, à la paroi plus dense, de taille plus petite et résistante à la pression osmotique, ce qui permettrait d'expliquer la grande résistance de *C. burnetii* dans le milieu extérieur. De plus, la forme SCV conserve la capacité d'infecter une cellule et de s'y multiplier après activation métabolique par le pH acide du phagolysosome (Rousset et al., 2001).

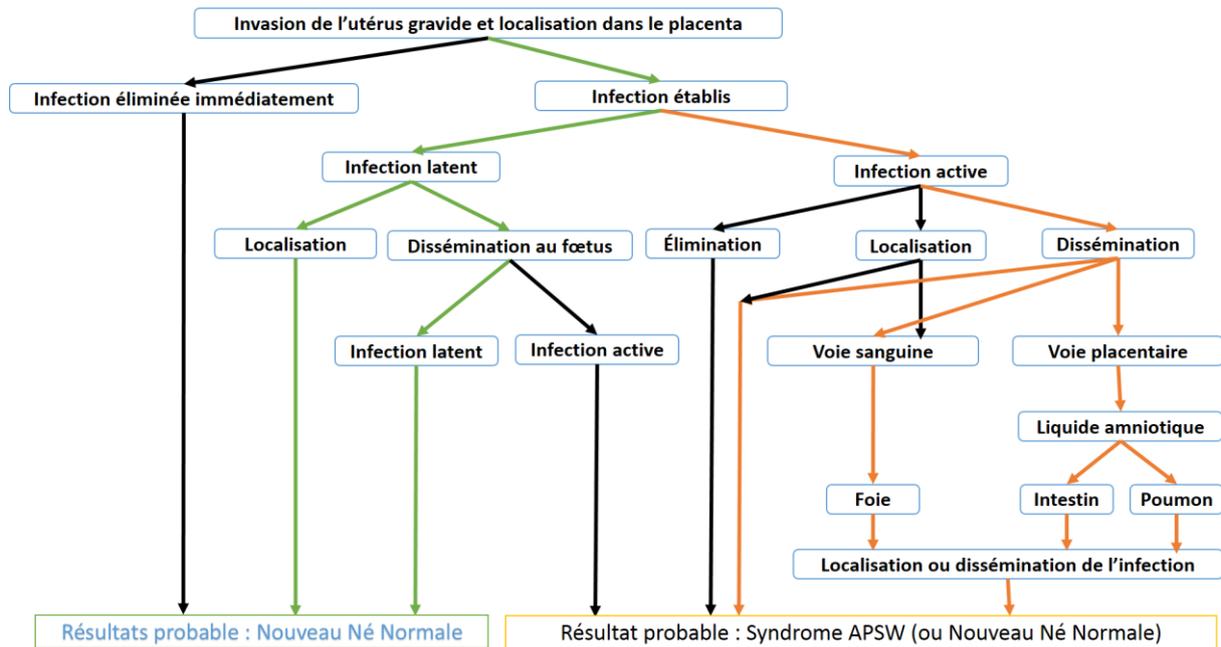
*Coxiella burnetii* s'attache à des macrophages par l'intégrine  $\alpha v\beta 3$ , ce qui déclenche la phagocytose de la bactérie par l'intermédiaire d'un mécanisme d'actine-dépendant. La vacuole contenant *Coxiella*-(CCV) ainsi produit acquiert Rab5 et EEA1 dès 5 minutes après l'internalisation et acidifie le pH à d'environ 5,4, ce qui est caractéristique du développement phagosomale normal. Par contraste avec les phagosomes, le CCV acquiert également la chaîne légère de la protéine associée aux microtubules 3 (LC3, un marqueur autophagosomal), un processus qui dépend de la synthèse des protéines bactériennes. Le CCV se développe à travers des événements de fusion et de fission avec les endosomes précoces et puis les endosomes tardifs, conduisant à la disparition de Rab5 et EEA1 et l'acquisition de Rab7 et glycoprotéine membranaire associée au lysosome (LAMP1) de 40 à 60 minutes après l'internalisation, en accord avec une autre acidification à pH 5, ce qui est caractéristique du développement phagosomale normal. Enzymes lysosomales, y compris la cathepsine D (CTSD), commencer à s'accumuler dans le CCV de 2 heures après l'internalisation, point auquel la vacuole est à  $\sim$  pH 4,5 ; cela est retardé de manière significative depuis l'acquisition phagolysosomique normal de CTSD. Cette pause dans le développement de CCV pourrait permettre la conversion des bactéries de la forme SCV (Small Cell Variant) à la forme LCV (Large Cell Variant) métaboliquement actives. Entre 8 heures et 2 jours après l'internalisation, le CCV se dilate pour occuper une partie de plus en plus dominante de l'espace cytoplasmique de la cellule hôte. Ce processus dépend de la synthèse des protéines bactériennes et implique à la fois le recrutement de la GTPase Rho et

RAB1B à la membrane de CCV. RHO GTPase est susceptible d'être impliqué dans le maintien de la grande vacuole, tandis que le recrutement de RAB1B de l'ER peut faciliter l'acquisition de membranes supplémentaires pour créer cette CCV spacieux.



**Figure 4 :** La voie de trafic intracellulaire de *Coxiella burnetii*.

Peu de connaissances sur la propagation intra-utérine de *C. burnetii* est présent, mais les données indiquent que l'infection peut suivre l'une des deux voies après une localisation initiale dans le placenta (indiqué par des flèches rouges et vertes). Une infection latente (flèches vertes) qui soit reste localisée dans le placenta ou atteint le fœtus (toujours latente) est probablement le résultat le plus commun, au moins chez les bovins. Cette situation se caractérise par des nouveaux nés normale qui peuvent ou ne peuvent pas être infectés congénitalement, par l'excrétion vaginale des coxielles pendant le mise bas et dans la période post-partum. Une infection active (flèches rouges) qui peuvent rester limités au placenta, bien qu'il soit très répandue, ou peut se propager au fœtus par la voie sanguine ou la voie oro-amniotique qui est susceptible de nuire au fœtus et provoquer l'avortement, de mise bas prématuré, de mortinatalité et des naissances chétifs (Complexe APSW), bien que les nouveaux nés normale mais probablement infectée congénitalement peut également être survenus.



**Figure 5:** Résultats schématique d'une infection intra-utérine avec *Coxiella burnetii* chez un animal en gestation.

### 3. Symptomatologie :

Chez les ruminants, l'infection passe inaperçue dans la majorité des cas. Les seuls signes cliniques (par ailleurs non spécifiques) détectables sont :

- ❖ Des avortements en fin de gestation, généralement 15 jours avant le terme (Russo & Malon, 1981 ; Raju et al., 1988). Selon les troupeaux, de 0 à 90% des femelles peuvent avorter (Rodolakis, 2001 ; Rousset et al., 2001).
- ❖ Une mortalité néo-natale
- ❖ Des naissances d'animaux chétifs.

Rarement, l'agent de la fièvre Q peut être responsable d'agalactie, d'infertilité (Cetinkaya et al., 2000) ou de métrites (Tainturier, 1987). Mais la plupart du temps, les femelles ne présentent aucune séquelle et les gestations suivantes se déroulent sans problèmes. *C. burnetii* peut également être à l'origine de lésions hépatiques, pulmonaire ou articulaires.

Chez les ovins, l'infection aiguë produite expérimentalement a été étudiée. Des brebis inoculées par voie intraveineuse (IV) ou intrapéritonéale avec une souche ovine de *C. burnetii* "Tchilnov". La brebis a développé une fièvre à 40,9°C pendant 2-3 j et 5-7 jours

après l'exposition, suivie par la réapparition d'une légère fièvre 12-13 jours post-inoculation. La fièvre était accompagnée par la dépression, la salivation, la rhinite, la conjonctivite et la tachypnée (pneumonie interstitielle). Plusieurs jours avant l'agnelage, l'état général des brebis s'est détérioré et elles mettent bas à terme des agneaux mort-nés ou faibles non viables accompagnés d'un placenta nécrotique et enflammée. La bactérie a été trouvée dans le placenta (Martinov et al., 1989).

Six brebis gestante autour du 100ème jour, ont été inoculées en SC par la souche de *C. burnetii* Nine Mile dans une autre étude (Brooks et al., 1986). Les signes cliniques aigus n'ont pas été signalés, mais les brebis mettent bas des agneaux petits et faibles. Un placenta nécrotique accompagné d'un agneau qui est mort en 2ème jours d'âge. L'évolution clinique aiguë dans les cas spontanés n'a pas été signalée.

Détermination du potentiel abortif de *C. burnetii* pour les moutons est compliqué pour les mêmes raisons que pour les bovins, à savoir l'excrétion des bactéries provenant d'animaux apparemment sains [Berri et al., 2001, Runge et al., 2012] et donc l'histopathologie de confirmation est nécessaire en plus de la détection de l'agent de déterminer *C. burnetii* comme la cause de l'avortement.

L'examen des cas spontanés d'avortements tardifs a démontré des exsudats mucopurulent et nécrose des cotylédons et du placenta intercotylédonnaire focal à coalescence. Dans certains cas, les lésions intercotylédonaires peut être importante. Certains fœtus semblent être de condition physique réduite.

#### **4. Lésion :**

A l'examen macroscopique, l'avorton peut être en bon état ou autolyse. Des lésions sont observées sur le placenta. Un exsudat important, blanchâtre, se retrouve entre les cotylédons. Sur les cotylédons, les lésions forment un anneau blanc en périphérie avec des petites taches blanches dispersées au centre. L'inflammation placentaire est caractérisée par une suppuration aigue diffuse, avec une forte infiltration de neutrophiles et une nécrose extensive des villosités cotylédonaires et de l'épithélium intercotylédonnaire. Dans le tissu interstitiel chorio-allantoïdien, l'infiltration cellulaire est dominée par des cellules mononuclées, en particulier des plasmocytes. On peut également observer une vascularite non caractéristique. L'enduit placentaire, qui contient beaucoup de *Coxiella*, peut permettre un diagnostic par coloration au Ziehl-Nielsen modifiée, ou de Macchiavello. L'invasion du

chorion produit des microcolonies qui font augmenter le volume du cytoplasme des cellules infectées. Ces images doivent cependant être différenciées de celles obtenues lors d'avortement à Chlamydia.

Les lésions microscopiques observées sur le fœtus sont peu nombreuses. Une hépatite granulomateuse, ainsi qu'une pneumonie non suppurative, avec d'éventuelles hyperplasies lymphoïdes autour des bronchioles ont été décrites. La médullaire du rein et les espaces porte du foie peuvent être infiltrés par quelques lymphocytes et macrophages (Jubb et coll., 1992).

Une placentite nécrosante sévère accompagnée d'une importante infiltration neutrophile, l'œdème et l'hémorragie dans le stroma et l'accumulation cytoplasmique généralisée des basophiles et des bactéries positives dans les trophoblastes sont vus par immunohistochimie ou hybridation in situ Fluorescent. Des foyers de nécrose hépatique ou une inflammation granulomateuse ont été trouvés dans certains cas, mais l'association avec *C. burnetii* reste à déterminer. (Martinov et al., 1989).

### **5. Cycles épidémiologiques de *C. burnetii* :**

La circulation de la bactérie parmi les nombreuses espèces sauvages contribue à la pérennité de *C. burnetii* dans la nature, alors que la transmission entre animaux domestiques formerait un cycle à l'origine d'une grande part des contaminations humaines [Lang, 1990]. Les tiques seraient des vecteurs communs à chacun des 2 cycles.

#### **5.1. Voies et circonstances de contamination entre animaux :**

- ↳ **La voie respiratoire** : est le mode transmission le plus habituel : l'inhalation de 10 bactéries peut provoquer une infection. Les mises-bas génèrent un risque maximal de diffusion de la bactérie. Une fois excrétées, les pseudo-spores sont capables de persister dans l'environnement plus de 100 jours (Welsh et al. 1957 ; Babudieri 1959) et peuvent être transportées par le vent sous forme d'aérosols sur une distance de plus de 40 km (Tissot- Dupont et al. 2004).
- ↳ Chez les ruminants, la transmission par **voie transplacentaire** n'a pas forcément lieu. Néanmoins, les jeunes peuvent s'infecter rapidement après leur naissance.
- ↳ **La transmission sexuelle** a été démontrée chez des animaux de laboratoire et il a été possible, à partir d'une semence de taureau naturellement infecté, d'isoler la bactérie (Kruszewska & Tylewska-Wierzbanowska 1997).

↳ **La transmission inter-animale** de la fièvre Q par les tiques est considérée mineure ou conséquente selon les pays.

↳ Enfin, **la voie orale** doit être un mode important. Par exemple, on suppose que les animaux se contaminent par léchage ou ingestion des produits de la parturition.

Les facteurs favorisant la transmission (le mode d'élevage, le climat, la souche de *C. burnetii*), que ce soit à l'intérieur d'un élevage ou entre élevages, sont insuffisamment caractérisés. A priori, les taux et les périmètres de transmission sont multifactoriels et donc très variables.

### **5.2. Voies et circonstances de contamination de l'homme :**

↳ **La voie respiratoire** : Le plus souvent, un contact direct ou indirect avec des brebis, chèvres ou vaches ayant mis bas est en cause (exposition aux produits de parturition ou manipulation des placentas). Les sources de contamination humaine peuvent être constituées par toutes sortes de poussières contaminées provenant des sols lors du nettoyage des exploitations, des fumiers ou lisiers en période d'épandage, déchets lors des abattages intensifs, laines lors de la tonte, déchets et cuirs dans les tanneries, voire des véhicules de transport en relation avec les activités des élevages (Figure ...) [Maurin and Raoult, 1999].

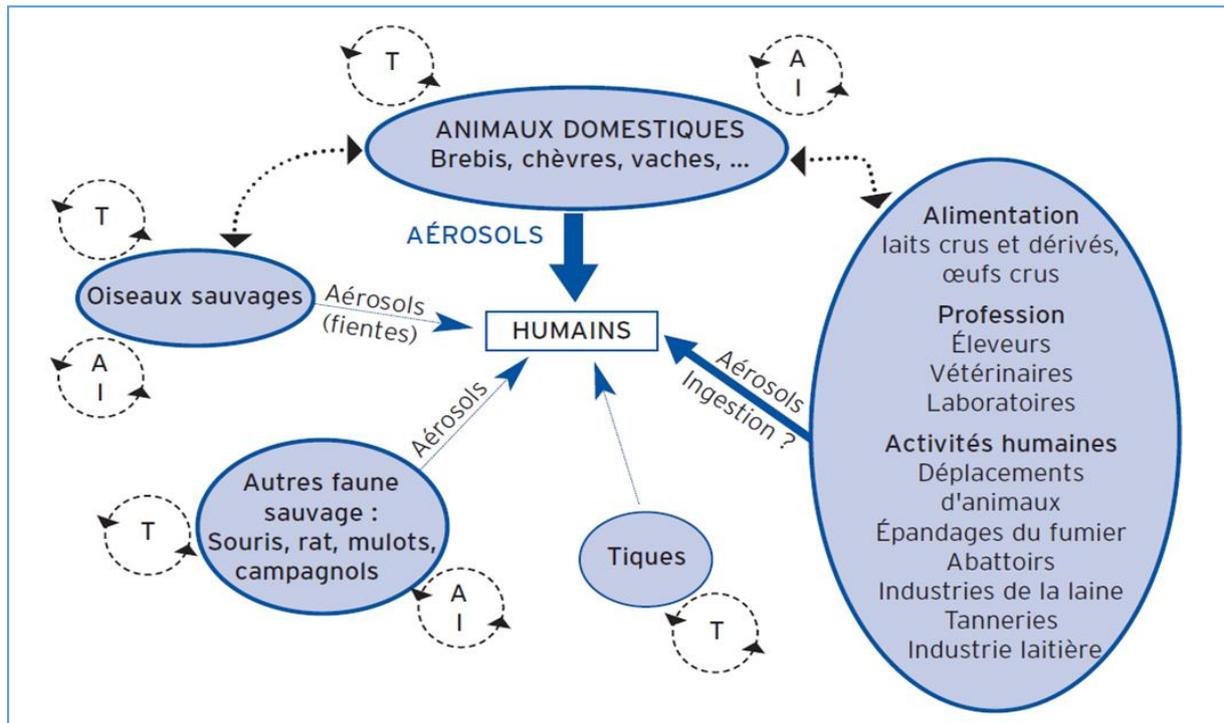
↳ **La voie digestive** : Dans l'état actuel des connaissances, la contamination par la voie alimentaire reste encore controversée car la dose infectieuse requise est assez méconnue. Cependant, cette voie suscite certaines précautions pour protéger les consommateurs (Rodolakis et al. 2004).

↳ **Les autres voies de contamination** ont été décrites beaucoup plus rarement : piqûre de tique, transmission materno-fœtale et interhumaine (au contact d'une personne infectée lors de l'accouchement, voie sexuelle, par transfusion sanguine).

Il s'avère que le risque d'infection est plus élevé pour la population rurale (éleveurs, vétérinaires, personnels de laboratoire, techniciens d'abattoirs). Néanmoins, des bouffées épidémiques surviennent plutôt en zone urbaine ou semi-urbaine, car les personnes n'ont pas acquis d'immunité et apparaissent cliniquement plus sensibles à la fièvre Q.

Les chats et chiens sont parfois à l'origine de cas sporadiques (manipulation des animaux mettant bas, des litières contaminées à la suite de mises bas). Les modalités de

contamination à l'homme sont donc nombreuses et complexes et méritent d'être investiguées.



**Figure 6 :** Diversité des réservoirs et voies de transmission possibles de l'agent de la fièvre Q.

*Modes de transmission :* A : par voie aérienne ; I : par ingestion ; T : par les tiques

## 6. Diagnostic :

Tous les échantillons, à l'exception du sang entier qui doivent être conservés à 4°C, doivent être conservés à -80°C et doivent être transmis sur de la glace sèche au laboratoire de diagnostic (Fournier et al., 1998).

### 6.1. Mise en évidence directe de l'agent :

Le diagnostic de la maladie ne peut être établi qu'après un examen de laboratoire. En effet, il n'existe pas de signes cliniques ou de lésions macroscopiques spécifiques des avortements à *Coxiella burnetii* (Maurin et coll., 1999). Des avortements en fin, mais aussi en début de gestation, sans signes cliniques précurseurs et sans récurrence, des mises bas prématurées ou à terme de produits chétifs qui meurent, ou à problèmes par la suite, peuvent mettre sur la voie.

#### 6.1.1. Bactérioscopie :

En raison de la nature de l'agent zoonotique, l'isolement de *C. burnetii* n'est pas effectué pour le diagnostic de routine en médecine vétérinaire. Les principales raisons en sont le haut niveau d'expertise requis, le temps consommé et l'exigence de laboratoires de biosécurité 3. (Berri M. et al, 2000)

La bactérioscopie, rapide et facile à exécuter, est cependant difficile à interpréter. Des frottis ou des calques de placenta, réalisés sur des cotylédons, peuvent être colorés par les méthodes de Stamp, Gimenez ou Machiavello pour observer des *Coxiella*, *coccobacilles* ou fins bâtonnets, intracellulaires ou dispersés sur le calque. Cette lecture au microscope demande un personnel expérimentés afin d'éviter la confusion avec *Chlamydia* ou *Brucella*.

### **6.1.2. PCR:**

La mise en évidence de l'ADN de *Coxiella* est réalisable par PCR classique ou en temps réel, à partir d'un broyat de placenta, d'écouvillons vaginaux ou encore par prélèvement de lait ou de fèces (Berri et coll., 2000 ; Ongor et coll., 2004). Cette technique, qui ne nécessite pas la survie des *Coxiella*, est actuellement la plus sensible pour la détection (Berri et coll., 1999 ; Ennuyer, 2004). Cette technique nécessite un appareillage et des produits onéreux, un personnel expérimentés, et une méthodologie très rigoureuse, pour éviter à la fois les réactions faussement positives dues à sa grande sensibilité et les réactions faussement négatives dues à la présence d'inhibiteur.

De nombreuses PCR ont été développées s'intéressant à quatre gènes principalement utilisés dans la recherche de *Coxiella burnetii* : les gènes *sod*, *htpB*, *IS1111a* et *com1* (Petit, 2003).

Le gène *sod* code le superoxyde dismutase (Stein et Raoult, 1992). Le couple d'amorces assure l'amplification d'un fragment - cible du génome de *Coxiella burnetii* de 257 paires de bases. La méthode regroupant PCR et R.F.L.P. - Restriction Fragment Length Polymorphism, affiche une sensibilité de détection de 10 *Coxiella*/ml de suspension bactérienne obtenue à partir d'échantillons tissulaires cardiaques (Everett et Andersen, 1999).

La « Trans-touchdown-PCR » amplifiant une séquence hautement répétée (transposon), présente, chez la brebis, une sensibilité équivalente pour les divers types d'échantillon : placenta, organes de l'avorton, fèces ou encore lait (Berri et al., 2000). Elle

avance une sensibilité 100 fois supérieure à la PCR ciblant le gène *sod*, avec un seuil de détection estimé à 1 *Coxiella*/ml de lait ou 1 *Coxiella*/mg de fèces (Berri et al., 2000 et 2002).

Une autre cible a été choisie pour la détection spécifique de *C. burnetii* : elle code une protéine membranaire de 27 kDa appelée Com1 (Zhang et al., 1998). Une « nested PCR » permet l'amplification d'un fragment du gène *com1* de 438 p.b. Ce protocole se compose de deux PCR successives : la seconde PCR est réalisée en utilisant un nouveau couple d'amorces situées à l'intérieur du domaine défini par le premier couple d'amorces. Ces deux PCR successives peuvent être réalisées en une seule étape si le  $T_m$  des amorces est éloigné : c'est la « single tube nested PCR » (Hurtado et al., 2001).

La PCR semble être l'outil le plus adapté pour affirmer, dans les conditions d'un prélèvement correctement effectué, l'absence d'excrétion de *Coxiella burnetii*, avec toutes les considérations épidémiologiques et sanitaires que cela entraîne (Berri et al., 2002).

Parmi les différentes PCR développées, la « single tube nested PCR » a pour avantages une très spécificité encore meilleure, une économie de temps et une diminution des risques de contamination, tout en conservant le même haut degré de sensibilité (Hurtado et al., 2001).

## **6.2. Méthodes de mise en évidence des anticorps :**

### **6.2.1. Réaction de fixation du complément (CFT) :**

Bien que le test de FC est prescrit par l'OIE comme une méthode de diagnostic de *C. burnetii*, sa sensibilité est faible. Les anticorps de *C. burnetii* chez les moutons et les chèvres ne peuvent pas être détectés fréquemment par l'antigène du test spécifique (Kovacova E., J. Kazar, Spanelova D. 1998).

Ce test, bien au contraire à ELISA, ne peut pas détecter tous les sous-classes d'IgG. Chez les ruminants, CFT peut détecter qu'IgG1 qui fixe le complément. En outre, IgG2, IgM et les substances anticomplément potentiellement présents dans les sérums sont capables d'interférer la fixation du IgG1 avec complément et abaissement le titre d'IgG 1 détectée par CFT. (Rousset E., et al., 2009)

La séroconversion est détectée plus tardivement qu'avec l'Immunofluorescence Indirecte (I.F.I) ou l'E.L.I.S.A (environ 15-20 jours après l'apparition des symptômes pour la CFT contre 10-15 jours) (Fournier et Raoult, 1998). Il existe des faux-positifs dus, le plus souvent, à la présence de facteur rhumatoïde (Taoudi et al., 2004).

### **6.2.2. ELISA**

La technique ELISA peut être réalisée sur sérum, lait, colostrum ou placenta. L'ELISA reconnaît les immunoglobulines dirigées aussi bien contre les *C. burnetii* en phase I qu'en phase II, avec toutefois une réponse supérieure en présence d'antigènes solubles de phase I (Behymer et al., 1989).

Le test ELISA, permet de tester un plus grand nombre d'animaux et des troupeaux, et malgré le fait qu'il s'agit d'un test plus sensible que le CFT et l'IFA, il ne permet pas également l'identification individuelle des animaux qui excrètent *C. burnetii* dans les matières fécales ou du lait, car il n'y a pas de véritable relation entre la réponse sérologique et de l'excrétion. Bien que la plupart des animaux qui excrètent *C. burnetii* dans le mucus vaginal, les fèces ou lait peuvent être séropositif, il y a encore quelques animaux qui peuvent être séropositif sans élimination de *C. burnetii* et quelques-uns peuvent excréter et rester séronégatif (Berri, M. et al., 2002).

Les observations expérimentales confirment l'incapacité du test ELISA à identifier individuellement les excréteurs au sein d'un troupeau. L'ELISA ne s'entrevoit que dans un contexte de sérodiagnostic de troupeau afin d'y évaluer le passage du germe ; et pas dans celui du dépistage d'animaux à risques au sein d'un troupeau. Si un troupeau séronégatif en ELISA est indemne de Fièvre Q, en revanche un troupeau séropositif n'est pas forcément un troupeau qui excrète des Coxiella (Rodolakis, 2004). La réponse anticorps persiste longtemps (au moins 2 ans) même en absence de signes cliniques et d'excrétion (Berri et al., 2002). Il en découle une impossibilité à faire appel à l'ELISA dans le cadre de la santé publique, contrairement à la PCR.

Moins coûteuse que la méthode par Immunofluorescence Indirecte (I.F.I.), elle apparaît aussi sensible, plus facilement automatisable mais requiert cependant d'interpréter les résultats avec précaution et éventuellement de répéter les analyses.

### **6.2.3. I.F.I. (Immunofluorescence Indirecte)**

Les anticorps sériques se fixent sur un antigène issu de la souche Nine Mile I en phase II cultivée sur cellules fibroblastiques (Petit, 2003). La technique met en évidence les Ig G, M et A anti-*Coxiella burnetii* en phase I et II, permettant ainsi un diagnostic précis distinguant Fièvre Q aigue et chronique. Elle peut être améliorée en utilisant un facteur rhumatoïde adsorbe pour évincer les Ig G avant de déterminer les taux d'Ig M et Ig A (cf. tableau 4).

L'I.F.I. demeure la technique de référence pour le diagnostic chez l'Homme (Fournier et Raoult, 1998). Elle n'est utilisée en médecine vétérinaire chez les petits ruminants que dans le domaine de la recherche. Extrêmement simple et fiable, la technique demeure toutefois lourde à automatiser et coûteuse. De plus, elle est considérée comme très spécifique et sensible pour les anticorps antiphase I mais l'est moins concernant les anticorps antiphase II.

Dans le cas d'une Fièvre Q aigue, la séroconversion est habituellement détectée une à deux semaines après l'apparition des signes cliniques. Sous microscope à fluorescence de « Zeiss », qui mesure l'incidence des rayons ultraviolets, *Coxiella burnetii* apparaît sous la forme de traînées vert brillant (Berri et al., 2001).

### **7. Traitement chez les ruminants :**

Il est utile de rappeler que *Coxiella burnetii* se multiplie dans le phagolysosome des cellules, ce qui constitue une forme de résistance aux mécanismes des antibiotiques qu'il est possible d'utiliser dans la lutte contre la bactérie. Les antibiotiques utilisés doivent donc avoir la capacité de pénétrer dans les cellules en se concentrant dans les lysosomes, et de conserver leur activité malgré le pH acide. Il n'est donc pas possible d'utiliser les bêta-lactamines, qui ne peuvent pas se concentrer dans les cellules, ni les aminoglycosides qui sont inactivés à pH acide.

*C. burnetii* est sensible à différents antibiotiques in vivo et in vitro : tétracyclines, macrolides, fluoroquinolones, oxazolidinones. Il a été montré que les antibiotiques testés sont bactériostatiques, à l'exception de l'association doxycycline-agents lysosomotropes (chloroquine, chlorure d'ammonium), qui ont une activité bactéricide, potentialisant l'action de tétracyclines.

En élevage ovin, il est préconisé deux injections intramusculaires de tétracycline longue action à raison de 20 mg/kg, à 15 jours d'intervalle pendant le dernier mois de gestation. Cependant, ce schéma thérapeutique n'est pas suffisant pour supprimer l'excrétion dans le placenta, les sécrétions génitales ou le lait. Ce traitement est recommandable pour limiter un épisode abortif. Mais le traitement systématique pourrait entraîner une sélection de bactéries résistantes (Berri et al., 2007).

## **8. Prophylaxie sanitaire :**

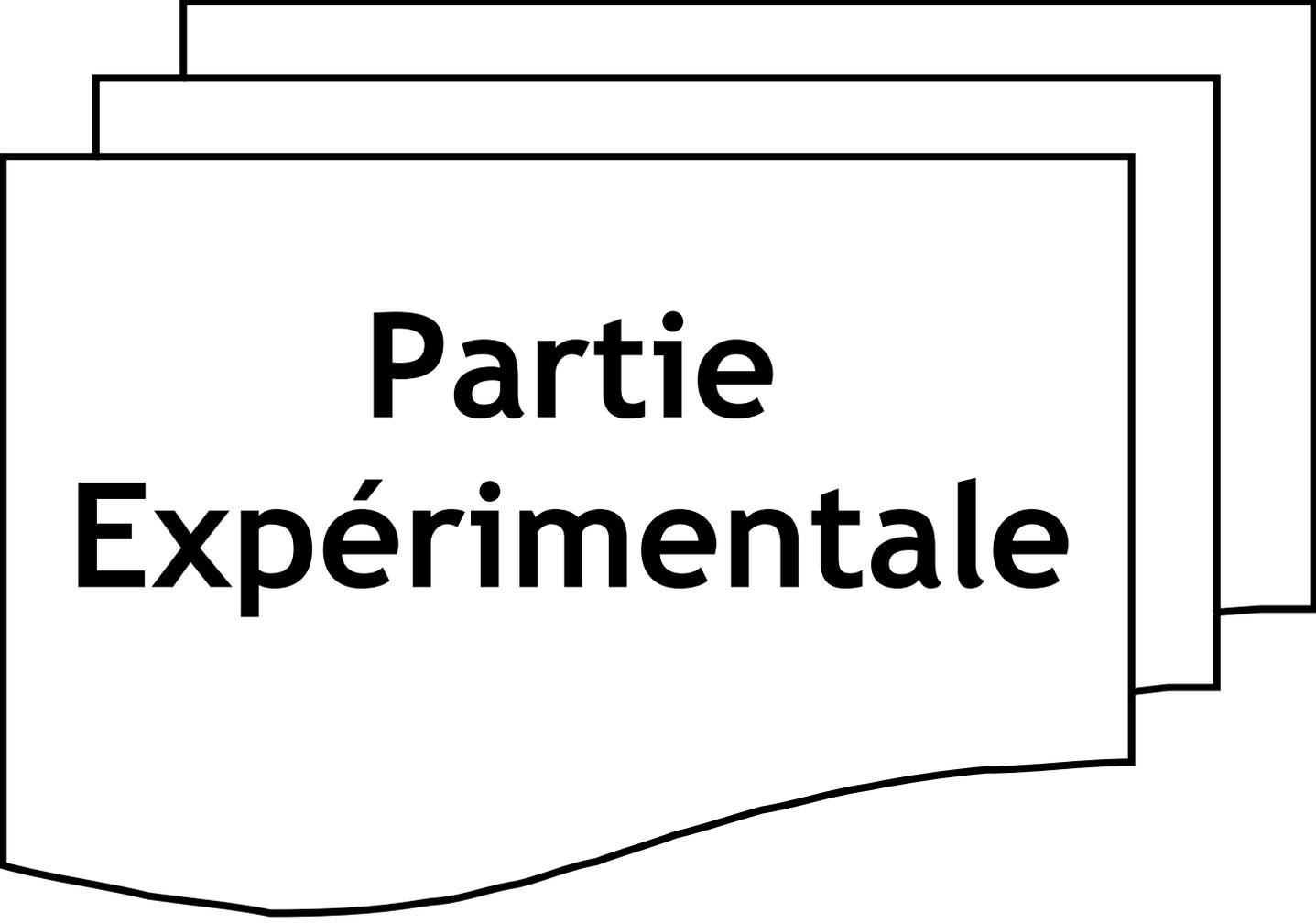
La prophylaxie sanitaire de la fièvre Q consiste à appliquer des précautions élémentaires d'hygiène : désinfection des locaux et du personnel à l'eau de Javel ou à l'alcool iode, mise bas en box isolés, destruction des placentas et avortons, contrôle des chiens et des tiques, lisiers et fumiers décontaminés par l'addition de cyanamide calcique à 0,6% à 4°C pendant une semaine (Arricau-Bouvery et coll., 2001).

### **8.1. Vaccination**

Les mesures de prophylaxie sanitaire ne sont pas très efficaces car *Coxiella burnetii* diffuse par voie aérienne, est fortement résistante à la dessiccation et possède un nombre important de réservoirs. De plus le traitement ne supprime pas l'excrétion. La vaccination avec un vaccin efficace serait donc la méthode idéale de maîtrise de la fièvre Q.

La comparaison de 2 vaccins chez les chèvres, l'un en phase 2 (Chlamyvac FQ®, Merial, Lyon), l'autre en phase 1 (Coxevac®, CEVA, Liboume), suggère une efficacité clinique et épidémiologique supérieur pour le vaccin en phase 1. Avec Coxevac®, la protection contre les avortements à *Coxiella* semble satisfaisante et l'excrétion vaginale et fécale est très réduite en post-partum, et ce en nombre d'animaux excréteurs, en nombre de bactéries excrétées et en durée d'excrétion. La contamination de l'environnement serait donc fortement diminuée, alors que le vaccin phase 2 ne diminue pas l'excrétion pour toutes les voies considérées (Arricau- Bouvery et coll., 2004).

Le vaccin inactivé en phase I protège efficacement les animaux non infectés. Dans un troupeau indemne, il permet de conserver le statut sanitaire de l'élevage. En revanche, dans un troupeau infecté, le vaccin ne permet pas de supprimer l'excrétion ni d'enrayer l'évolution de la maladie, mais seulement de protéger les animaux indemnes. L'assainissement se fait au fur et à mesure de l'élimination des animaux excréteurs.

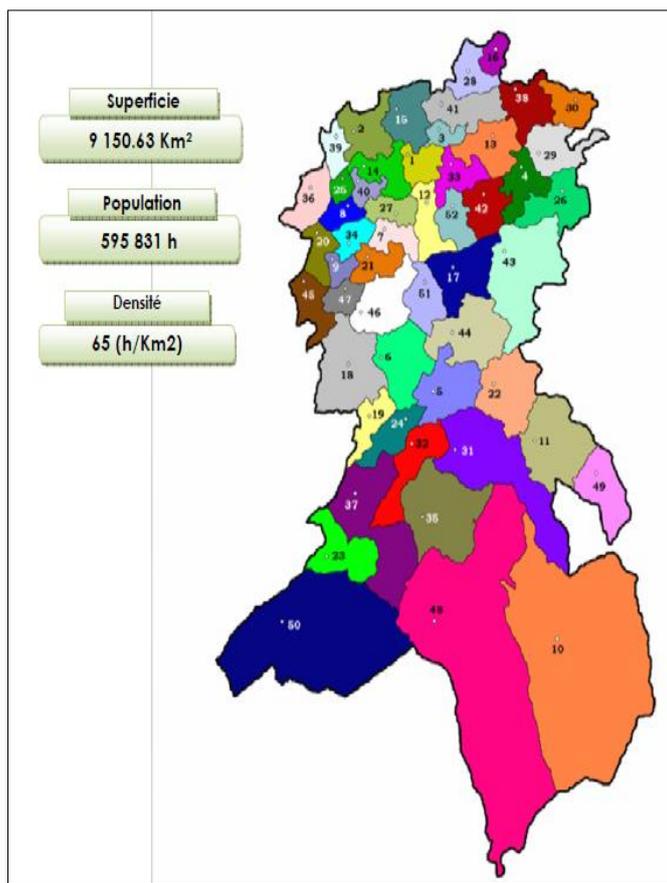


**Partie  
Expérimentale**

***I. Matériels et méthodes :******I.1. Région d'étude :******I.1.1. Situation :***

La Wilaya de Sidi Bel Abbes est située sur la Mékerra, à 470m d'altitude, au centre d'une vaste plaine comprise entre le djébel Tessala au Nord et les monts de Daya au Sud. La wilaya occupe une position centrale stratégique et s'étend sur environ 15% du territoire de la région Nord-Ouest du pays soit 9 150,63 km<sup>2</sup>. Elle est limitée géographiquement comme suit:

- ⊕ -Au nord par la Wilaya d'Oran.
- ⊕ -Au Nord-Ouest par la Wilaya de Ain Témouchent.
- ⊕ -Au Nord-est par la Wilaya de Mascara.
- ⊕ -A l'Ouest par la Wilaya de Tlemcen.
- ⊕ -A l'Est par les Wilayas de Mascara et Saïda.
- ⊕ -Au Sud par les Wilayas de Nâama et El Bayadh.
- ⊕ -Au Sud-est par la Wilaya de Saïda.



**Figure 7:** Superficie et population de la Wilaya de S.B.A (le service des statistiques de la wilaya 2008).

### **I.1.2. Caractéristiques géographiques :**

Le relief peut être décomposé en trois grands ensembles naturels physiques distincts :

- ♣ **Les zones de montagnes :** Elles couvrent une superficie totale de l'ordre de 2.250,37 km<sup>2</sup> soit 24,59% de la wilaya. Elles sont représentées au nord, par les monts de Tessala, de Beni Chougrane avec environ 864,20 km<sup>2</sup> et dans la partie centrale de la wilaya par les monts de Dhaya environ 1.386,16 km<sup>2</sup>.
- ♣ **Les zones de plaine :** Elles couvrent une superficie totale de l'ordre de 3 239,44 km<sup>2</sup> soit 35,40% de la superficie de la wilaya. Elles sont représentées par la plaine de Sidi Bel Abbes avec environ 2 102,85 km<sup>2</sup> et une altitude qui varie entre 400 à 800 m et les hautes plaines de Telagh avec environ 1 136,59 km<sup>2</sup> et une altitude qui varie de 400 à 1000 m.

- ♣ **Les zones de steppe** : Elles sont au sud de la wilaya et occupent une superficie totale de l'ordre de 3 660,82 km<sup>2</sup> soit 40% de l'espace de la wilaya dont l'altitude varie de 1 000 à 1 400 m.

Le choix de la zone d'étude est guidé par l'importance du cheptel dans la wilaya dont l'effectif en 2011 a été estimé à 595 milles têtes d'ovins et 26 milles têtes de caprins (DSA SBA 2012). Cette région est divisée en deux parties : la région nord avec une prédominance des élevages bovin et aviaire et la région sud caractérisée par des élevages ovins et caprins.

Conformément à la dernière organisation territoriale du pays, la Wilaya de Sidi Bel-Abbès regroupe actuellement 15 Dairas et 52 Communes.

### **I.1.3. Caractéristiques climatiques**

Le climat de la région est de type méditerranéen semi-aride, à caractère continental avec un été long et chaud et un hiver rigoureux (Fig 2). La moyenne des précipitations annuelles est de 393 mm<sup>3</sup> avec une répartition irrégulière dans le temps et l'espace. L'humidité est en variance au cours de l'année comme l'indique le tableau.



**Figure 8** : Variation de la température dans la région de SBA au cours de l'année 2007 (d'après le service de météorologie 2008).

### **I.1.4. L'Agriculture :**

La wilaya de Sidi Bel-Abbès se caractérise par une double vocation :

- ✚ Agricole au nord soit au niveau des plaines et sur les bas piémonts.

✚ Sylvo-pastorale sur les différents massifs et au niveau des hautes plaines steppiques du sud de la wilaya.

Elle dispose aussi d'importantes potentialités animales diversifiées à dominance gros élevage (ovin et bovin) ainsi que d'un réseau d'appui et de soutien de la production et de la transformation des produits agricoles et animaliers.

Les superficies : La S.A.U totale de la wilaya est de 358 780 hectares soit 39% de la superficie totale de la Wilaya, dont :

- 210 500 ha constituent la zone agricole.
- 118 980 ha constituent la zone agro-pastorale.
- 29 300 ha constituent la zone pastorale.

Pour ce qui est des surfaces irriguées, seule 6.160 hectares sont actuellement irrigués sur un potentiel apte à l'irrigation de l'ordre de 30.000 hectares.

Les principaux atouts de la wilaya dans ce domaine restent liés aux potentialités dont elle dispose, à savoir une SAU d'environ 39 % de la superficie totale.

Les sols sont en majorité bons et profonds, les espaces forestiers et alfatiers représentent 40% du territoire de la wilaya ; ils constituent donc des ressources complémentaires à l'activité agricole.

### **1.2. Période d'étude :**

L'étude a été menée durant la saison d'agnelage 2013, (septembre, Octobre, Novembre et décembre 2013)

### **1.3. Informations épidémiologique :**

Conception d'un questionnaire (bulletin épidémiologique) qui a été rempli lors de la collecte de l'échantillon.

Le questionnaire visait à recueillir des informations sur :

- a. Le domaine de la reproduction.
- b. Le nombre total d'animaux à la ferme.
- c. Le nombre d'animaux avortés.
- d. L'âge relatif des animaux.
- e. Le mois où l'avortement a eu lieu.
- f. Le type d'échantillons prélevés.

- g. Les mesures de biosécurité à la ferme.
- h. Toute autre information jugée utile et nécessaire pour l'enregistrement.

Le questionnaire a été rempli en présence de l'éleveur qui avait reçu des informations relative à étude et qui dans cette perspective a donné son accord. Le questionnaire a reçu un code qui était unique à l'animal et la région. Le même code a été utilisé pour les échantillons recueillis.

#### **1.4. Echantillonnage :**

Au cours de la période de mise bas entre septembre et décembre 2013, une enquête a été menée dans 39 élevages de différentes régions du sud de la wilaya de Sidi Bel Abbes ayant eu des problèmes d'avortements pour établir la prévalence de la chlamydie et de la fièvre Q par le biais d'un diagnostic indirect. Au cours de chacune des visites, des informations relatives à l'élevage ont été collectées à l'aide d'un questionnaire portant sur: le nombre total de femelles, le nombre de femelles ayant mi-bas ou avorté, ainsi que le stade déclaré de gestation au moment de l'avortement. La plupart des troupeaux ont été visités une seule fois, Dans chacun des troupeaux ainsi identifiés, une prise de sang a été réalisée sur les femelles ayant avortées (n= 180).

#### **1.5. Réalisation des prélèvements :**

Suite à une bonne contention de l'animal, les prélèvements sanguins sont réalisés au niveau de la veine jugulaire, une quantité de 4 ml est prélevée pour servir au dépistage vis-à-vis de la fièvre Q et de la Chlamydie. Cent quatre vingt (180) sérums de brebis ayant avorté âgées de 1 à 6 ans provenant de six Daïras situées dans le sud de la wilaya de Sidi Bel Abbes (Telagh, Merine, Marhoume, Moulay Slissen, Ras El Ma et Tanira) ont été prélevés.

Lors de notre visite un certain nombre d'informations relatives aux troupeaux et aux animaux prélevés ont été recueillies à l'aide de fiches de renseignements préalablement élaborées.

##### **1.5.1. Matériels**

- ✂ Tube vacutainer MD (sous vide) + portoir tubes.
- ✂ Aiguilles + holder.
- ✂ Marqueur pour identifier les tubes.

✂ Glacière dotée d'un portoir et de deux plaques (ICEBOX) congelées conçues spécialement pour maintenir la fraîcheur des prélèvements, pour le transport des échantillons.

### **1.5.2. La technique :**

Après collecte du sang, les tubes sont mis sur des portoirs de façon à les laisser décanter dans des glacières pour éviter l'hémolyse à cause de la haute température.

La centrifugation des tubes est effectuée après chaque opération de prélèvement d'un troupeau à l'aide d'une centrifugeuse portative à 3000 tours/minute pendant 5 minutes, puis le sérum est séparé du culot par une pipette pasteur et déposé dans des Eppendorfs. Le numéro d'identification du tube est copié sur des Eppendorfs par un marqueur indélébile.

Les sérums sont mis en congélation (- 20°C) en attendant leurs analyse.

### **1.6. Analyses sérologiques :**

La réalisation des analyses sérologiques des 176 sérums récoltés a lieu dans le laboratoire vétérinaire régional de Tlemcen « LVRT » suivant les instructions préconisées par le fabricant du kit.

#### **1.6.1. Matériels d'analyses :**

##### **A. Réactifs :**

###### **♣ Kit *Chlamydomphila abortus* :**

- ⊕ Microplaques sensibilisées avec un antigène *Chlamydomphila*.
- ⊕ Conjugué Concentré (10X).
- ⊕ Contrôle Positif.
- ⊕ Contrôle Négatif.
- ⊕ Tampon de dilution 13.
- ⊕ Tampon de dilution 3.
- ⊕ Solution de lavage concentrée (20X).
- ⊕ Solution de révélation.
- ⊕ Solution d'arrêt (H2SO4 0,5 M).

Le conjugué, les contrôles et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (± 3°C). Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.

##### **B. Matériel :**

- ✂ Centrifugeuse : capable de tourner à au moins 2500 tours/ min.
- ✂ Cuvette et papier absorbant : pour recueillir les liquides de lavage.
- ✂ Embouts jetables.

- ✘ Éprouvette graduée : de 500ml.
- ✘ Étuve : réglé à 37 °C pour l'incubation des microplaques.
- ✘ Gants latex, de tailles 7 ou 8.
- ✘ Micropipettes : distribuant des doses de sérum de 25 microlitres.
- ✘ Micropipettes multicanaux : distribuant des doses de sérum allant jusqu'à 10 Microlitres.
- ✘ Papier essuie et poubelle de table.
- ✘ Pipettes graduées : de volume de 05ml. de 10ml et de 20 ml.
- ✘ Plaques de microtitration « qualité ELISA » puits à fond plat.
- ✘ Petites pissettes pour conditionnement de tampon de lavage.
- ✘ Portoires pour conditionnement des réactifs.
- ✘ Réfrigérateur : réglé à 4 °C pour l'entreposage du réactif.

### **1.6.2. Description et Principe**

Les cupules sont sensibilisées avec de l'extrait antigénique spécifique de *Chlamydomphila*.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques de *Chlamydomphila*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Après lavage, un conjugué anti-multi-espèces marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester : en présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

**A. Mode opératoire pour Kit Coxiella burnetii :**

Ramener tous les réactifs à température ambiante ( $21\text{ °C} \pm 5\text{°C}$ ) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au Vortex.

- ❖ Distribuer 90  $\mu\text{l}$  de Tampon de dilution 2 dans chaque puits
- ❖ Distribuer :
  - 10  $\mu\text{l}$  de Contrôle Négatif dans les cupules A1 et B1.
  - 10  $\mu\text{l}$  de Contrôle Positif dans les cupules C1 et D1.
  - 10  $\mu\text{l}$  de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.
- ❖ Incuber 45 min  $\pm$  4 min à  $21\text{°C} (\pm 5\text{°C})$ .
- ❖ Vider les puits. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300  $\mu\text{l}$  de Solution de lavage. Éviter le dessèchement des cupules entre les lavages.
- ❖ Préparer le Conjugué 1X en diluant le Conjugué 10x au  $1/10^{\text{ème}}$  en Tampon de dilution 3.
- ❖ Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de Conjugué 1X dans chaque cupule.
- ❖ Incuber 30 min  $\pm$  3 min à  $21\text{°C} (\pm 5\text{°C})$ .
- ❖ Vider les puits. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300  $\mu\text{l}$  de Solution de lavage.
- ❖ Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de Solution de révélation dans chaque cupule.
- ❖ Incuber 15 min  $\pm$  2 min à  $21\text{ °C} (\pm 5\text{°C})$  à l'obscurité.
- ❖ Distribuer 100  $\mu\text{l}$  de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
- ❖ Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

**B. Réalisation du test:****B.1. Préparation des échantillons :**

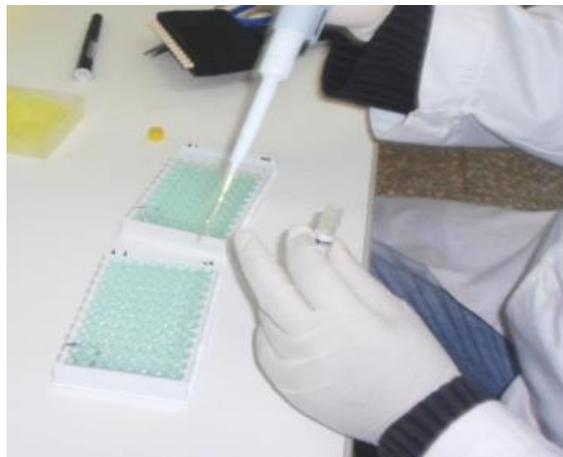
Les réactifs et les prélèvements ont été portés à température ambiante ( $21\pm 5\text{°C}$ ) avant la réalisation du test (Fig.9)

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une microplaque de 96 puits contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis les transférer dans la plaque ELISA avec une pipette multicanaux.



**Figure 9** : Réactifs et échantillons à température ambiante avant la réalisation du test.

- ❶ Distribution de 90  $\mu$ l de Tampon de dilution 2 dans chaque puits
  - ❷ puis distribution de 10  $\mu$ l de Contrôle Positif dans les cupules A1 et B1,
  - ❸ ensuite distribution de 10  $\mu$ l de Contrôle Négatif dans les cupules A2 et B2
  - ❹ enfin distribution de 10  $\mu$ l de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes
- ⊕ après l'Homogénéisation par agitation douce manuelle ou à l'aide d'un agitateur de plaque



**Figure 10** : Distribution de tampon, du contrôle négatif, du contrôle positif et des échantillons à tester.

### **B.2. Incubation :**

Incuber 45 min  $\pm$  4 min à 21°C ( $\pm$  5°C).



**Figure 11** : Incubation des plaques.

### **B.3. Lavage :**

#### **B.3.a. Préparation de la solution de lavage :**

Préparer la Solution de lavage (1X) par dilution au 1/20<sup>ème</sup> de la Solution de lavage (20X) dans de l'eau distillée/désionisée puis réalisation des lavages manuellement sous un volume de 300  $\mu$ L par cupule.

#### **B.3.b. Préparation du conjugué :**

Préparer la solution de conjugué par dilution du conjugué concentré 10 fois dans le diluant du conjugué (10 ml est nécessaire par plaque, soit 1 ml de conjugué concentré dilué dans 9 ml de diluant du conjugué). Après préparation du conjugué on distribue 100  $\mu$ l de solution dans chaque cupule avant de refaire une deuxième incubation 30 min  $\pm$  3 min à 21°C ( $\pm$  5°C). Suivie d'un lavage terminal de la plaque.

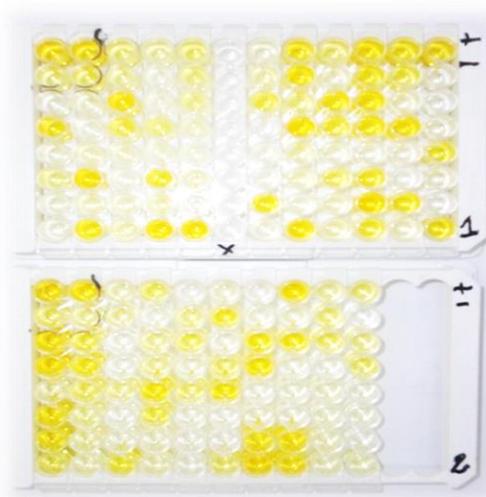
### **B.4. Révélation :**

#### **B.4.a. Ajout du substrat:**

Distribuer 100  $\mu$ l de Solution de révélation dans chaque cupule, homogénéiser en tapotant légèrement la plaque à la main ou à l'aide d'un agitateur de plaque et refaire une dernière incubation pendant 15 min  $\pm$  2 min à 21 °C ( $\pm$  5°C) à l'obscurité.

#### **B.4.b. Ajout de la solution d'arrêt :**

Distribuer 100  $\mu$ l de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction et homogénéiser en tapotant légèrement la plaque à la main ou à l'aide d'un agitateur de plaque.



**Figure 12 :** photo de la plaque après l'ajout du substrat de révélation.

### **B.5. Lecture :**

Mesurer les densités optiques (DO) des échantillons à 450nm puis enregistrer les résultats.

### **B.6. Validation et interprétation des résultats :**

Le test ELISA a été d'abord validé pour les deux plaques selon les consignes du fabricant grâce aux formules ci-dessous :

#### **B.6.a. Validation du test de « fièvre Q »**

**Tableau 1 :** Validation du test ELISA

	Densité optique de contrôles positifs	Densité optique de contrôles négatifs
Plaque 1	DO <sub>cp</sub> 1 : 2,137	DO <sub>cn</sub> 1 : 0,528
	DO <sub>cp</sub> 2 : 2,118	DO <sub>cn</sub> 2 : 0,712
Plaque 2	DO <sub>cp</sub> 1 : 2,218	DO <sub>cp</sub> 1 : 0,552
	DO <sub>cp</sub> 2 : 1,854	DO <sub>cp</sub> 2 : 0,404

#### **① Validation de la plaque 1 :**

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs :

$$DO_{mcp} = \frac{2.137 + 2.118}{2} = 2.127 \text{ par conséquent } 2.127 > 0.35$$

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs :

$$DO_{mcn} = \frac{0,528 + 0,612}{2} = 0.57$$

⊕ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DO<sub>cp</sub>) et la moyenne des contrôles négatifs (DO<sub>cn</sub>) :  $DO_{cp}/DO_{cn}$  ( $2.127/0.57=3,713$ ) par conséquent  $3.713 > 3$

**Conclusion :** La 1<sup>ère</sup> microplaque est validée.

#### **② Validation de la plaque 2 :**

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs :

$$DO_{mcp} = \frac{(2.218 + 1.854)}{2} = 2.036 \text{ par conséquent } 2.036 > 0.35$$

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs :

$$DO_{m_{cn}} = 0.552 + 0.404 / 2 = 0.478$$

⊕ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs ( $DO_{cp}$ ) et la moyenne des contrôles négatifs ( $DO_{cn}$ ) :  $DO_{cp} / DO_{cn}$  ( $2.036 / 0.478 = 4.259$ ) par conséquent  $4.259 > 3$

**Conclusion :** La 2<sup>ème</sup> microplaque est validée.

**B.6.b. Validation du test de « Chlamydomophila abortus » :**

**Tableau 2 :** Validation du test ELISA.

	Densité optique de contrôles positifs	Densité optique de contrôles négatifs
Plaque 1	DO <sub>cp</sub> 1 : 1.389	DO <sub>cn</sub> 1 : 0.050
	DO <sub>cp</sub> 2 : 1.448	DO <sub>cn</sub> 2 : 0.051
Plaque 2	DO <sub>cp</sub> 1 : 1.665	DO <sub>cp</sub> 1 : 0.053
	DO <sub>cp</sub> 2 : 1.590	DO <sub>cp</sub> 2 : 0.053

❶ **Validation de la plaque 1 :**

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs :

$$DO_{m_{cp}} = 1.389 + 1.448 / 2 = 1.418 \text{ par conséquent } 1.418 > 0.35$$

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs :

$$DO_{m_{cn}} = 0.050 + 0.051 / 2 = 0.05$$

⊕ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs ( $DO_{cp}$ ) et la moyenne des contrôles négatifs ( $DO_{cn}$ ) :  $DO_{cp} / DO_{cn}$  ( $1.418 / 0.05 = 28.36$ ) par conséquent  $28.36 > 3$

**Conclusion:** La 1<sup>ère</sup> microplaque est validée.

### ② Validation de la plaque 2 :

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs :

$$DO_{mcp} = 1.665 + 1.590 / 2 = 1.627 \text{ par conséquent } 1.627 > 0.35$$

⊕ La valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs :

$$DO_{mcn} = 0.053 + 0.053 / 2 = 0.053$$

⊕ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs ( $DO_{cp}$ ) et la moyenne des contrôles négatifs ( $DO_{cn}$ ) :  $DO_{cp}/DO_{cn}$  ( $1.627/0.053=30.698$ ) par conséquent  $30.698 > 3$

**Conclusion : La 2<sup>ème</sup> microplaque est validée.**

### **B.7. Interprétation des résultats :**

Pour chaque échantillon on doit calculer le pourcentage S/P c'est à dire  
 $S/P\% = DO_{\text{échantillon}} / DO_{\text{control positive}} \times 100$

**Tableau 3 : Interprétation des résultats.**

Résultat	Statut
$S/P\% < 40\%$	Négatif
$40\% < S/P < 50\%$	Douteux
$S/P\% > 50\%$	Positif

Puis le ratio S/P (échantillon/Positive) a été calculé pour chaque échantillon testé puis converti en titre d'anticorps. Des titres inférieurs à 40 sont considérés comme négatifs alors que les titres supérieurs à 50% sont considérés positifs.

### **1.6.3. Approche statistique :**

Afin de mettre en évidence l'association entre un facteur de risque supposé de la maladie, on a calculé l'odds ratio (OR) et le risque relatif (RR).

L'odds ratio correspond à la probabilité d'avoir la maladie selon l'existence ou non du facteur de risque ; et permet d'avoir, outre le degré de signification de l'association, le sens et la force de l'association.

Le risque relatif permet de vérifier si les pourcentages obtenus sont réellement différents ou dus à des fluctuations d'échantillonnage. La valeur du risque relatif indique la force de l'association entre l'exposition au facteur et la maladie.

103	<b>Logistic Regression</b>								
104									
105	<i>Outcome variable:</i> <b>fièvre Q</b>								
106	<i>Co-variables:</i> <b>TYPE DELEVAGE</b>								
107	<i>Dummy variables:</i> <b>stade davortement</b>								
108	<i>Interaction terms:</i>								
109	<i>Include missing:</i> <b>False</b>								
110									
111	fièvre Q starta								
112									
113		<b>Term</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>95%</b>	<b>C.I.</b>	<b>Coefficient</b>	<b>S.E.</b>	<b>Z-Statistic</b>	<b>P-Value</b>
114		TYPE DELEVAGE (2/1)	0,3837	0,1808	0,8143	-0,9578	0,3839	-2,4951	0,0126
115		stade davortement (2/1)	2,5734	0,9562	6,9259	0,9452	0,5051	1,8713	0,0613
116		stade davortement (3/1)	4,1487	1,4289	12,0451	1,4228	0,5438	2,6163	0,0089
117		CONSTANT	*	*	*	-1,5414	0,4513	-3,4158	0,0006
118		Convergence:	Converged						
119		Iterations:	5						
120		Final -2*Log-Likelihood:	199,1425						
121		Cases Included:	180						
122		<b>Test</b>	<b>Statistic</b>	<b>D.F.</b>	<b>P-Value</b>				
123		Score	12,688	3	0,0054				
124		Likelihood Ratio	13,5607	3	0,0036				
125									
126									

1e49fa6adc91450fb55b1775eb75bb7

## II. Résultats :

### II.1. La fièvre Q :

#### II.1.1. Prévalence totale :

180 sérums de brebis ayant un historique d'avortement ont été analysés. 50 sérologies se sont révélées positives et 130 négatives. 11 élevages parmi les 39 sont totalement indemnes de la Fièvre Q contre 28. Le taux de prévalence individuelle de la Fièvre Q au Sud de Bel Abbès est ainsi estimé à 27,78 %. L'intervalle de confiance à 95 % est de 21,37 % à 34,93 %.

Le taux de prévalence troupeau de la Fièvre Q au Sud de S.B.A est estimé à 28/39 soit 71,8 %. L'intervalle de confiance à 95 % est de 55,13 % à 85,00 %. (Tableau 4)

**Tableau 4** : La prévalence de la Fièvre Q chez les ovins au Sud de Sidi Bel Abbès.

	Séropositifs	Total
Nombre d'animaux	50	180
Prévalence individuelle	27,78 [21,37 -34,93] %	
Nombre de troupeaux	28	39
Prévalence Troupeau	71,79 [55,13-85,00] %	

#### II.1.2. Séroprévalence d'élevage en fonction de la taille du troupeau :

L'enquête a révélé que la prévalence troupeau est de 90,91 % pour les troupeaux à effectifs importants plus de deux cents têtes (200), alors qu'elle est de 68,18 % pour les troupeaux de taille moyenne (entre 100 et 200 têtes), contre 50,00% pour les troupeaux de petite taille (<100).

**Tableau 5** : Séroprévalence de la fièvre Q en fonction de la taille du troupeau.

Taille du troupeau	Nombre de troupeaux	Nombre de troupeaux positifs	Prévalence troupeau (%)
<100	6	3	50%
[100-200]	22	15	68,18%
>200	11	10	90,91%
Total	39	28	71,79%

#### II.1.3. Séroprévalence individuelle de la Fièvre Q par rapport à l'âge des brebis :

En ce qui concerne la prévalence de la Fièvre Q par rapport à l'âge des brebis, l'enquête épidémiologique a montré que les animales jeunes inférieures en 3 ans ont présenté le taux d'avortement le plus élevé. Plus précisément 35 animaux (28,69%) avaient

avortés dans les 3 premières années, 3 animaux (21,43%) à l'âge de 4 ans, 10 animaux (27,77%) à l'âge de 5 ans et 2 animaux (25%) à l'âge de 6ans.

**Tableau 6** : Séroprévalence individuelle de la Fièvre Q par rapport à l'âge des brebis.

	Nombre d'animaux prélevés	Nombre d'animaux positifs	pourcentage
< 3ans	122	35	28,69%
4 ans	14	3	21,43%
5 ans	36	10	27,77%
6 ans	8	2	25%
Total	180	50	27,78%

#### **II.1.4. Séroprévalence de la Fièvre Q en fonction du stade d'avortement :**

Les résultats de la répartition de la Fièvre Q au sud de Sidi Bel Abbes par rapport au stade d'avortement montrent une augmentation du taux d'avortement chez les animaux en phase de gestation avancée. Plus précisément, (6/42) animaux (14,29%) ont eu un avortement dans le premier tiers de gestation, (26/91) brebis (28,57%) ont eu un avortement au second tiers, (18/47) brebis (38,30%) dans le troisième tiers.

**Tableau 7** : Séroprévalence individuelle de la Fièvre Q en fonction du stade d'avortement

	Nombre de brebis prélevées	Nombre de brebis positives	Prv. animal (%)
1 <sup>ère</sup> tiers	42	6	14,29%
2 <sup>ème</sup> tiers	91	26	28,57%
3 <sup>ème</sup> tiers	47	18	38,30%
Total	180	50	27,78%

#### **II.1.5. Séroprévalence de la Fièvre Q dans les différentes Daïra :**

Le tableau 8 montre qu'un total de 180 brebis réparties sur six Daïras ont été examinées pour *C. burnetii*, (7/30) à Telagh, (7/30) à Ras Elma, (17/34) à Tanira, (8/40) à M'Slissen, (8/27) et (3/19) à Merine et Marhoume respectivement.

**Tableau 8** : La prévalence de la Fièvre Q en fonction des différentes régions d'étude.

Dira	Nombre de brebis	Nombre de brebis positives	Séroprévalence
Telagh	30	7	23,23%
Ras Elma	30	7	23,23%
Tanira	34	17	50%
M'slissen	40	8	20%
Merine	27	8	29,63%
Marhoum	19	3	15,79%
Total	180	50	27,78%

**Chlamyphilose :****II.1.6. Prévalence totale :**

180 sérums de brebis ayant un historique d'avortement ont été analysés. 55 sérologies se sont révélées positives et 125 négatives. 10 élevages parmi les 39 sont totalement indemnes de la Chlamydirose contre 29. Le taux de prévalence individuelle de la Chlamydirose au Sud de Bel Abbès est ainsi estimé à 30,56 %. L'intervalle de confiance à 95 % est estimé compris entre 23,92 % et 37,84 %.

Le taux de prévalence troupeau de la Chlamydirose au Sud de Bel Abbès est estimé à 29/39 soit 74,36%. L'intervalle de confiance à 95 % est estimé compris entre 57,87 % et 86,96 %. (Tabl. 9)

**Tableau 9 :** La prévalence de la Chlamyphilose chez les brebis au Sud de Sidi Bel Abbès.

	Séropositifs	total	Prévalence
Nombre d'animaux	55	180	Individuelle = 30,56 % (23,92-37,84)
Nombre de troupeaux	29	39	Troupeau = 74,36 % (57,87-86,96)

**II.1.7. Séroprévalence d'élevage en fonction de la taille du troupeau :**

L'enquête a révélé que la prévalence troupeau est de 54,55 % pour les troupeaux à effectifs importants plus de deux cents têtes (200), alors qu'elle est de 81,82 % pour les troupeaux de taille moyenne (entre 100 et 200 têtes), et de 83,33% pour les troupeaux de petite taille (<100).

**Tableau 10 :** Séroprévalence de la Chlamyphilose en fonction de la taille du troupeau

Taille du troupeau	Nombre de troupeaux	Nombre de troupeaux positifs	Prv. troupeau (%)
<100	6	5	83,33%
[100 200]	22	18	81,82%
>200	11	6	54,55%
Total	39	29	74,36%

**II.1.8. Séroprévalence de la Chlamyphilose par rapport à l'âge des brebis :**

En ce qui concerne la prévalence de la Chlamydirose abortive par rapport à l'âge des brebis, L'enquête épidémiologique a montré que les animaux de jeune âge ont présenté le taux d'avortement le plus élevé. Plus précisément 40 animaux (32,8%) avaient avortés dans les 3 premières années, 3 animaux (21,43%) à l'âge de 4 ans, 10 animaux (27,77%) à l'âge de 5 ans et 2 animaux (25%) à l'âge de 6ans.

**Tableau 11** : Séroprévalence de la Chlamyphilose par rapport à l'âge des brebis.

	Nombre d'animaux prélevés	Nombre d'animaux positifs	pourcentage
< 3ans	122	40	32,8%
4 ans	14	3	21,43%
5 ans	36	10	27,77%
6 ans	8	2	25%
Total	180	55	27,78%

**II.1.9. Séroprévalence de la Chlamyphilose en fonction du stade d'avortement :**

Les résultats de la répartition de la Chlamyphilose au Sud de S.B.A par rapport au stade d'avortement montrent une augmentation du taux d'avortement chez les animaux en phase de gestation avancée. Plus précisément, (7/42) animaux (16,27%) ont eu un avortement dans le premier tiers de gestation, (28/91) brebis (30,77%) ont eu un avortement au second tiers, (20/47) brebis (42,55%) dans le troisième tiers.

	Nombre de brebis prélevés	Nombre de brebis positifs	Prv. animal (%)
1 <sup>ère</sup> tiers	42	7	16,67%
2 <sup>ème</sup> tiers	91	28	30,77%
3 <sup>ème</sup> tiers	47	20	42,55%
Total	180	55	30,56%

**II.1.10. Séroprévalence de la Chlamyphilose dans différentes Daïras :**

Le tableau 21 montre qu'un total de 180 brebis réparties sur six Daïra ont été examinées pour *C. burnetii*, (7/30) ont été détectées positives à Telagh, (7/30) à Ras Elma, (17/34) à Tanira, (8/40) à M'Slissen, (8/27) et (3/19) à Merine et Marhoume respectivement.

**Tableau 12** : La prévalence de la Chlamyphilose dans les différentes Daïra

Daira	Nombre de brebis	Nombre de brebis positif	Séroprévalence
Telagh	30	14	46,67%
Ras Elma	30	15	50,00%
Tanira	34	6	17,65%
M slissen	40	9	22,50%
Merine	27	7	25,93%
Marhoum	19	4	21,05%
Total	180	55	30,56%

### **III. Discussion**

#### **III.1. Prévalence de la fièvre Q et facteurs de variabilité :**

La présente étude vise à estimer la séroprévalence de *C. burnetii* dans les cheptels ovins avec un historique d'avortement durant la saison d'agnelage (septembre à décembre) 2013 dans la wilaya de Sidi Bel Abbes.

Nous avons constaté que 50 (27,78%) des 180 échantillons étaient positifs pour *C. burnetii*, correspondant à 28 (71,79%) troupeaux positifs sur 39 exploitations testées. Ces résultats indiquent une forte implication de *C. burnetii* dans les avortements chez les ovins dans la wilaya de Sidi Bel Abbes. Comparés à des études similaires effectuées dans plusieurs pays afin de détecter la séroprévalence de *C. burnetii* chez les brebis qui avaient avortées. Les résultats de notre étude sont proches de ceux obtenus par Georgiou Elena, 2013 dans leur enquête réalisée sur 180 animaux ayant avortés à Chypre et utilisant le même test (ELISA), avec une prévalence animale estimée à 46/180 (25,5%) (Georgiou Elena, 2013). Par ailleurs, l'enquête de Kennerman et al (2010) menée, dans trois provinces de la région de Marmara en Turquie, sur 42 troupeaux, a mis en évidence une prévalence troupeau de 83% (Kennerman et al., 2010). Une étude effectuée dans la région de Ksar El Boukhari dans le centre de l'Algérie par Yahiaoui en 2013 a montré un même taux de séroprévalence de troupeaux (80%) (Yahiaoui et al., 2013).

Nos résultats semblent proches de ceux observés dans les régions pastorales méditerranéennes. (Ruiz-Fons et al; 2010), au nord de l'Espagne sur 42 troupeaux, utilisant le test ELISA, ces auteurs, ont constaté une prévalence troupeau de 74%.

Lorsqu'on considère les taux de prévalence troupeau, on se rend compte, que ces derniers sont loin de ceux obtenus par Masala et al. (2004) lors de leur enquête réalisée en Italie entre 1999 et 2002 et ce sur 675 troupeaux (ELISA). En effet, ces auteurs notent que 38% seulement des troupeaux étaient contaminés, de plus nos résultats comparés à ceux de Lang et al (1991) au Canada, sont très élevés, en effet ces auteurs obtiennent une prévalence de 21%, lors de leur enquête réalisée sur 103 troupeaux. Ces écarts peuvent être expliqués par le fait que les systèmes d'élevage sont différents (Masala et al. 2004).

Toutefois, en raison de nombreux paramètres tels que les différences de conception et les critères d'inclusion de l'étude (par exemple, les taux d'avortement élevés), la taille du

cheptel et de la gestion, la prévalence d'autres agents abortifs (par exemple, *Brucella*, les *salmonelles*, *Toxoplasma*, *Chlamydia*, *Campylobacter*), il est pratiquement impossible de comparer. Les résultats de la séroprévalence de la présente étude avec les études précitées.

Selon la taille des troupeaux, l'analyse statistique au travers du test des proportions ne décèle aucune différence significative. En effet l'enquête a révélé que la prévalence troupeau est de 50% pour les troupeaux de petite taille (<100 têtes), de 68,18% pour les troupeaux de taille moyenne (entre 100 et 200 têtes) et de 90,91 % pour les troupeaux d'effectif important (>200 têtes). Les troupeaux de grande taille sont donc plus infectés que les troupeaux de moyenne et petite taille. En effet, l'étude de Georgiou Elena, 2013, montre une augmentation du taux d'avortement dans les exploitations agricoles de grande capacité : 8 fermes (8,4%) de petite capacité (1-50 animaux), 21 exploitations agricoles (22,1%) d'une capacité modérée (51 à 199 animaux) et 66 exploitations agricoles (69,5%) de grande capacité (> 200 animaux) (Georgiou Elena, 2013). Deux autres études, Yahiaoui (2013) et Kennerman et al (2010) réalisées sur 20 et 42 troupeaux ovins successivement répartis sur trois classes selon leur taille, ont démontré une association entre taille du troupeau et taux d'infection de la maladie (Kennerman et al., 2010). (Yahiaoui, 2013).

En ce qui concerne l'effet de l'âge sur la proportion d'avortement, L'enquête épidémiologique a montré que les animaux de jeune âge moins de trois (3) ans ont présenté le taux d'avortement le plus élevé. Plus précisément 35 animaux sur 50 qui sont positifs à la fièvre Q (28,69%) avaient avortés à l'âge de 3 ans, 3 animaux sur 50 qui sont positifs à la fièvre Q (21,43%) à l'âge de 4 ans, 10 animaux sur 50, sont positifs à la fièvre Q (27,77%) à l'âge de 5 ans et 2 animaux sur 50 positifs à la fièvre Q (25%) à l'âge de 6 ans.

Ces résultats correspondent à ceux de l'étude de Yahiaoui (2013), menée durant la saison d'agnelage 2011 dans la région de Ksar El Boukhari sur 184 sujets repartis sur 20 troupeaux et l'étude de Kennerman et al. (2010), menée entre 2001-2004 sur 743 sujets repartis sur 42 troupeaux de trois provinces de Turquie, ces deux études ont démontré que *C. burnetii* circulait parmi la jeune population de moins de deux ans, et que cette catégorie est associée à une forte séropositivité et un taux de séroprévalence plus élevé. Cela s'explique par la cinétique des anticorps qui chutent au bout d'un certain moment après l'exposition par conséquent les brebis les plus âgées expriment des scores d'anticorps moins élevés. L'étude a révélé aussi un risque relatif de  $RR = 2$  pour les brebis avortées dans le

dernier trimestre. On constate également que 38,30% (18/50) des brebis de cette catégorie sont fortement positives alors que 14,29% (6/50) seulement de celles qui ont avorté dans le premier trimestre sont fortement positives. Le risque est donc deux fois plus élevé chez la catégorie des brebis ayant avortées dans le troisième trimestre, qui est également la plus souvent fortement positive.

Cela correspond aux résultats de l'étude de Georgiou Elena, 2013, menée sur 180 sujets repartis sur 95 troupeaux de cinq régions de Chypre. L'étude a démontré que les avortements sont observés chez les brebis surtout au troisième trimestre comparativement aux deux premiers trimestres.

Concernant l'effet de la région sur la proportion de la séroprévalence de la fièvre Q, notre étude a montré que la région peut avoir une influence sur la propagation de la fièvre Q, ce qui rejoint les travaux de Kennerman et al (2010).

### **III.2. Prévalence de la chlamydophilose abortive ovine et facteurs de variabilité :**

La présente étude vise à estimer la séroprévalence de la *Chlamydomphila abortus* dans les cheptels ovins avec un historique d'avortements durant la saison d'agnelage (septembre à décembre) 2013 dans la wilaya de SIDI Bel Abbes.

Nous avons constaté que 55 (30,56%) des 180 échantillons étaient positifs pour *Chlamydomphila abortus*. Correspondant à 29 (74,36%) troupeaux positifs sur 39 exploitations testées. Ces résultats indiquent une forte implication de *Chlamydomphila abortus* dans les avortements chez les ovins dans la wilaya de SIDI Bel Abbes. Des études similaires ont été effectuées dans plusieurs pays afin de détecter la séroprévalence de *Chlamydomphila abortus* chez les brebis qui avaient avorté. Nos résultats, sont proches de ceux obtenus par REKIKI et al ; 2005 en Tunisie dans leur enquête réalisée sur 188 animaux ayant avorté et dans laquelle a été utilisé le test (ELISA), et qui a une prévalence animale estimée à 39/188 (21%) (REKIKI et al ; 2005). Par ailleurs, l'enquête de Ahmed HAMZY EL IDRISSE, 1995 menée, dans les régions des Zaer et du Moyen Atlas au Maroc, sur 18 troupeaux, a montré une prévalence animale de 21,5% (HAMZY et al., 1995). De plus nos résultats sont proches de ceux obtenus par Al Qudah et al (2004) au nord de la Jordanie, sur 1984 sérums, en effet ces auteurs obtiennent une prévalence de 21,8%, (Qudah et al., 2004).

Lorsqu'on considère, les taux de prévalence animale, on se rend compte, que ces derniers sont loin de ceux obtenus, par Travinček et al (2001), lors de leur enquête réalisée en Slovaquie entre 1996 et 2000 et ce sur 30278 (FC), en effet, ces auteurs notent: 1996 - 6,37%, 1997 - 9,25%, 1998 - 9,57%, 1999 - 7,91% et % 2000 - 10,99%. Ces écarts peuvent se justifier par le fait que les systèmes d'élevage sont différents (Travinček et al 2001).

Toutefois, en raison des nombreux paramètres, tels les différences de conception et les critères d'inclusion de l'étude (par exemple, les taux d'avortement élevés), la taille du cheptel et de la gestion, la prévalence d'autres agents abortifs (par exemple, *Brucella*, les salmonelles, *Toxoplasma*, *Chlamydia*, *Campylobacter*), il est pratiquement impossible de comparer les résultats de la séroprévalence de la présente étude avec les études précitées.

Selon la taille des troupeaux, l'analyse statistique au travers du test des proportions ne décèle aucune différence significative, En effet l'enquête a révélé que la prévalence troupeau est de 40,91% pour les troupeaux de petite taille (<100 têtes), de 32,29% pour les troupeaux de taille moyenne (entre 100 et 200 têtes) et de 24,19 % pour les troupeaux d'effectif important (>200 têtes). Les troupeaux de grande taille sont donc au contraire de ce qu'on observe chez la fièvre Q moins infectés que les troupeaux de moyenne et petite taille. En effet, l'étude de Al Qudah et al (2004) en Jordanie, montre une augmentation du taux d'avortement dans les exploitations agricoles de grande capacité : 13 élevages (13,8%) de petite capacité avec un nombre d'animaux compris entre 100-199, 12 élevages (16,9%) d'une capacité modérée (200 à 299 animaux) et 11 élevages (30%) de grande capacité > 300 animaux (Al Qudah et al, 2004).

En ce qui concerne l'effet l'âge sur la proportion d'avortements, L'enquête épidémiologique a montré que les animaux de jeune âge ont présenté le taux d'avortement le plus élevé. Plus précisément 40 sur 55 animaux, positifs à la Chlamyphilose abortive (32,78%) avaient avortés avant l'âge de 3 ans, 3 animaux sur 55, positifs à la Chlamyphilose abortive (21,43%) avaient avortés à l'âge de 4 ans, 9 animaux sur 55 qui sont positifs à la Chlamyphilose abortive (25,71%) avaient avortés à l'âge de 5 ans et 1 animal sur 55, positif à la Chlamyphilose abortive avait avorté à l'âge de 6 ans. Ces résultats rejoignent ceux de l'étude d'Al Qudah et al (2004), menée dans le nord de Jordanie sur 1984 sujets repartis sur 36 troupeaux, cette étude a démontré que *Chlamyphila*

*abortus* circulait parmi la jeune population de moins de deux ans avec un taux de séroprévalence de 23,5%. (Al Qudah et al, 2004).

L'âge n'est pas un facteur associé ( $P > 0,05$ ) avec l'infection à *Chlamydia*. On pourrait s'attendre à un taux plus élevé d'infection à *Chlamydia* chez les ovins âgés en raison du risque cumulatif. Cependant, comme la *Chlamydia* cause de l'avortement et que les éleveurs réforment les sujets ayant présentés des avortements, il y a un équilibre entre les animaux nouvellement infectés et les animaux infectés abattus. Concernant l'effet de la région sur la proportion de la séroprévalence de la Chlamydogilose abortive ovine, notre étude a démontré que la région peut avoir une influence sur la propagation de la fièvre Q, cela est démontré aussi dans l'étude de Huang et al. (2013).

#### **IV. Conclusions et recommandations**

La répartition géographique de *C. burnetii* et de *Chlamydophila abortus* indiquent que les deux agents pathogènes sont présents dans toute la wilaya de Sidi Bel Abbes. Le pourcentage le plus élevé d'échantillons positifs a été trouvé à Ras Elma pour la Chlamydophilose (50%), et à Tanira pour la fièvre Q (50%).

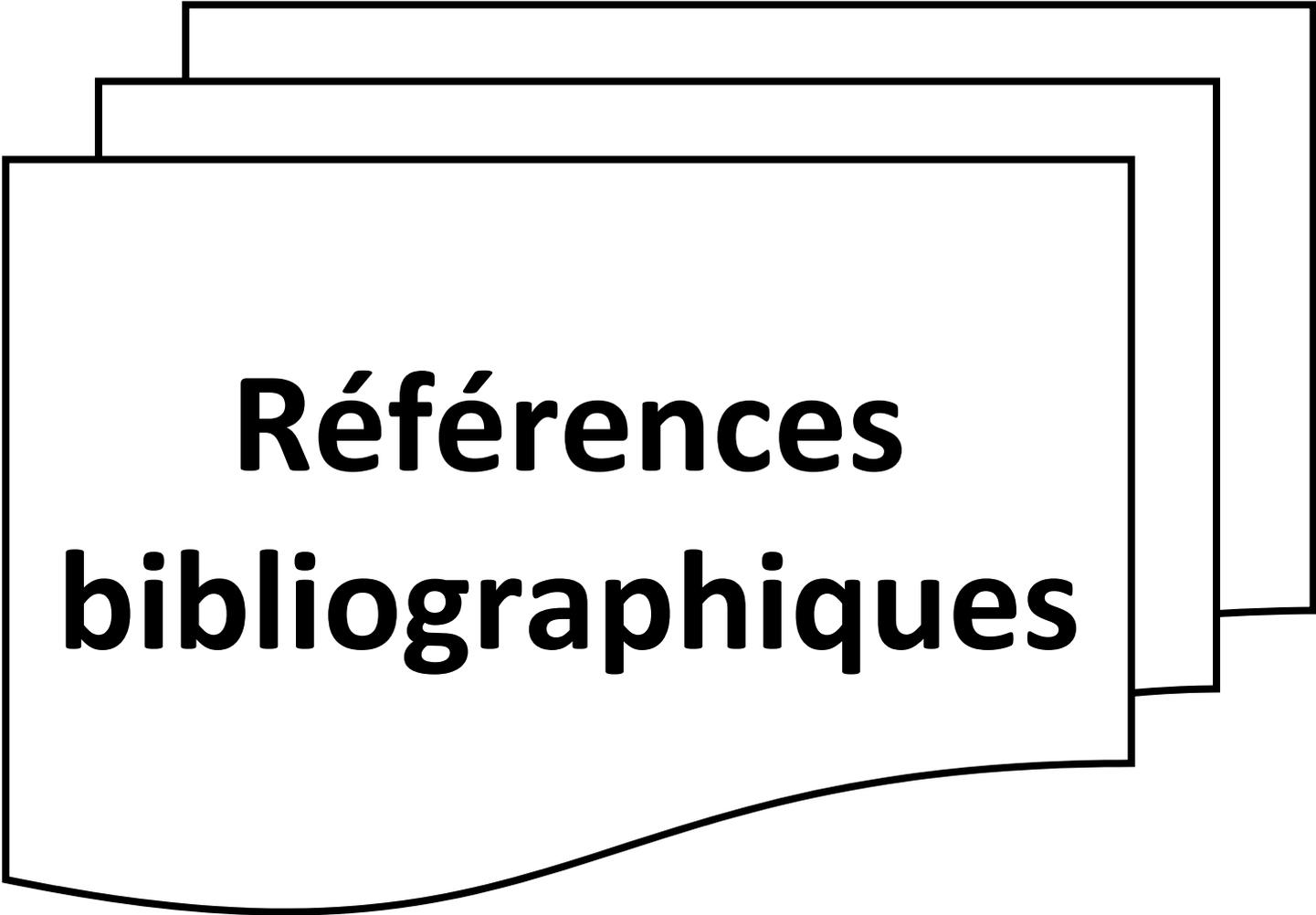
Il semble que les avortements chez les ovins suite à une infection par *C. burnetii* et *Chlamydophila abortus* ont une fréquence plus élevée, même chez les jeunes animaux.

De l'analyse de tous les facteurs de risque possibles pour la transmission de deux maladies de quatre principaux facteurs de risque avaient eu lieu : les mesures de biosécurité insatisfaisante, la grande capacité de la ferme, la proximité des exploitations et leur concentration dans les zones d'élevage spécifiques. Compte tenu de la propagation de l'agent pathogène par les fluides de naissance, le placenta et les embryons, le très faible pourcentage de fermes qui disposent lieux de naissance distincts, semble favoriser la transmission de *C. burnetii* et de *Chlamydophila abortus* ovine à Sidi Bel Abbes.

Des mesures d'hygiène et des précautions doivent être appliquées aux troupeaux de bétail et au niveau humain, pour réduire la transmission de l'agent pathogène.

Lignes directrices écrites pour les mesures d'hygiène et des précautions doivent être appliquées aux éleveurs pour réduire la transmission de la maladie chez les animaux et les humains. Des antibiotiques, tels que la tétracycline peuvent être utilisés chez l'animal infecté de manière à minimiser le rejet de *C. burnetii* et de *Chlamydophila abortus* ovine et les incidents d'avortements.

La connaissance de la prévalence réelle de l'infection peut conduire à une meilleure évaluation des risques, ce qui pourrait influencer sur la décision de mettre en œuvre ou non un programme de contrôle. Cette information pourrait aussi aider les décideurs et les vétérinaires afin de déterminer à quel niveau ce programme de contrôle (c.-à-troupeau, au niveau local, régional) doit être mis en œuvre.



**Références  
bibliographiques**

AIELLO, S. E. et MAYS, A. (Eds), 1998. The Merck veterinary manual. Merck & Co., INC. Whitehouse Station, New Jersey, U.S.A

AITKEN, I.D. et LONGBOTTOM, D., 2004. Enzootic abortion for ewes, in Manual for diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. World Organisation for Animal Health (OIE). Edited by the OIE Standards Commission.

Al-Ani FK, EL-Qaderi S, HailatNQ, Razziq R, AL-Darraji AM., 2004. Human and animal brucellosis in Jordan between 1996 and 1998: a study, Rev Sci Tech Dec; 23 (3) : 83 1-40)

AL-QUDAH K. M., SHARIF L. A., RAOUF R. Y., HAILAT N. Q., AL-DOMY F. M., 2004. Seroprevalence of antibodies to *Chlamydophila abortus* shown in Awassi sheep and local goats in Jordan. Vet. Med. - Czech, 49, 460-466.

Andersen, A.A., 2005. Serotyping of US isolates of *Chlamydophila psittaci* from domestic and wild birds. J. Vet. Diagn. Invest. 17, 479-482.

Angelakis E et Raoult D., 2010. Q fever. Veterinary microbiology. 140(3-4):297-309. Anses (agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), 2010: Avis relatif à une auto-saisine concernant les risques pour l'homme associés à l'ingestion de lait cru ou de produits transformés à base de lait cru issus de troupeaux atteints de fièvre Q avec signes cliniques et à l'intérêt de la pasteurisation du lait issu de ces troupeaux, Saisine n°2010-SA-0043, Maisons-Alfort, le 13 juillet 2010

ARRICAU-BOUVERY N, RODOLAKIS A. 2004. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? Vet. Res. 36, 327-349

ARRICAU-BOUVERY N, SOURIAU A, MOUTOUSSAMY A, LADENISE K, RODOLAKIS A., 2001. Etude de l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans un modèle expérimental caprin et décontamination des lisiers par la cyanamide calcique. Renc. Rech. Ruminants. 8, 153-15.

Babudieri, C., 1959. Q fever: a zoonosis. Adv. Vet. Sci. 5, 81-84.

Baca, O. G., Klassen, D. A. & Aragon, A. S. 1993., Entry of *Coxiella burnetii* into host cells. Acta Virol. 37, 143-155.

Beer, R.J., Bradford, W.P., Hart, R.J., 1982. Pregnancy complicated by psittacosis acquired from sheep. Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.) 284, 1156-1157.

BEHYMER D., RIEMANN H.P., 1989. *Coxiella burnetii* infection (Q fever). J. Am. Vet. Assoc., 194, 6, 164-767.

Bernkopf, H., Masiah, P., Becker, Y., 1962. Correlation between morphological and biochemical changes and the appearance of infectivity in FL cell cultures infected with trachoma agent. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 98, 62–81.

Berri M, Rousset E, Champion JL, Russo P, Rodolakis A., 2007. Goats may experience reproductive failures and shed *Coxiella burnetii* at two successive parturitions after a Q fever infection. *Res Vet Sci*, 83 :47–52 .

Berri M, Souriau A, Crosby M, Crochet D, Lechopier P, Rodolakis A., 2001. Relationships between the shedding of *Coxiella burnetii* , clinical signs and serological responses of 34 sheep. *Vet Rec*, 148:502 –505

BERRI M., LAROUCAU K., RODOLAKIS A., 2000. 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.*, 72(3-4). 285-293

BERRI M., SOURIAU A., CROSBY M., RODOLAKIS., 2002. A. Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock *Vet. Microbiol.*, 85, 55-60

BERRI M., SOURIAU A., CROSBY M., CROCHET D., LECHOPIER P., RODOLAKIS A., 1999. Fièvre Q ovine : étude de la réponse sérologique (ELISA) et de l'excrétion vaginale (PCR) de *Coxiella burnetii* dans un troupeau de brebis infectées *Ren. Rech. Rum.*, 6,210

Berri Mustapha, Abdessalem Rekiki, Karim Sidi Boumedine and Annie Rodolakis., 2009. “Simultaneous differential detection of *Chlamydia abortus*, *Chlamydia pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR” *BMC Microbiology*, July

BONI M., DAVOUST B., TISSOT-DUPONT H., RAOULT D., 1998. Survey of seroprevalence of Q fever in the southeast of France, French Guyana, Martinique, Senegal and the Ivory Coast. *Vet. Microbiol.*, 64, pp 1-5

Borel, N., Sachse, K., Rassbach, A., Bruckner, L., Vretou, E., Psarrou, E., Pospischil, A., 2005. Ovine enzootic abortion (OEA): antibody response in vaccinated sheep compared to naturally infected sheep. *Vet. Res. Commun.* 29 (Suppl. 1), 151–156

Borges, V., Ferreira, R., Nunes, A., Sousa-Uva, M., Abreu, M., Borrego, M.J., Gomes, J.P., 2013. Effect of long-term laboratory propagation on *Chlamydia trachomatis* genome dynamics. *Infect. Genet. Evol.* 17, 23–32.

BOUAKANE, A., REKIKI, A., RODOLAKIS, A., 2005. Protection of pregnant mice against placental and splenic infection by tree strains of *Chlamydia abortus* with a live 1B vaccine, *Vet. Rec.*, 157, 771-774.

Brooks DL, Ermel RW, Franti CE, Ruppanner R, Behymer DE, Williams JC, Stephenson EH., 1986. Q fever vaccination of sheep: challenge of immunity in ewes. *Am J Vet Res*, 47: 1235– 1238.

BUENDIA, A.J., CUELLO, L., DEL RIO, L., GALLEGO, M.R. & SALINAS 2001. Field evaluation of a new commercially available ELISA based on a recombinant antigen for diagnosing *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) infection. *Veterinary Microbiology*, 78: 229-239.

BUHARIWALLA F., CANN B., MARRIE T.J., 1996. A dog related outbreak of Q fever. *Clin. Infect. Dis.*, 23, pp 753-755

Bush, R.M., Everett, K.D., 2001. Molecular evolution of the Chlamydiaceae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 203–220

Buxton D., 1998. "Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats : recent advances" *Vet Res* May-Aug;(3-4):289-310.

Buxton, D., 1986. Potential danger to pregnant women of *Chlamydia psittaci* from sheep. *Vet. Rec.* 118, 510–511

Capo, C., Lindberg, F.P., Meconi, S., Zaffran, Y., Tardei, G., Brown, E.J., Raoult, D., Mege, J.L., 1999. Subversion of monocyte functions by *Coxiella burnetii* impairment of the cross-talk between a v b3 integrin and CR3. *J. Immunol.* 163, 6078–6085.

Cetinkaya B, Kalender H, Ertas HB., 2000. Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. *Vet Rec*; 146: 131–36.

Chalmers, W.S., Simpson, J., Lee, S.J., and Baxendale, W., 1997. Use of a live chlamydial vaccine to prevent ovine enzootic abortion. *Vet Rec* 141: 63-67.

Chanton-Greutmann H, Thoma R, Corboz L, Borel N, Pospischil A., 2002. "Abortion in small ruminants in Switzerland : investigations during two lambing seasons (1996-1998) with special regard to Chlamydial abortions" , *Schweiz Arch Tierheilkd* Sep;144(9):483-92)

CUBEDDU G.M, GRIMALDIC., CODA S., PINNA PARGAGUA ML., PINTORI G., COCCO R., 2000. Q fever: clinical and serological findings in mouflons and goats on the island of Asinara. *Proceedings of the third international symposium on Mouflon*, Sopron, Hungary October 27-29, pp 302-306

DAVOUST B., RAOULT D., TOULZH M., LOUBOUTIN-CROC JP., 1986. Fièvre Q ovine: sondage sérologique. *Rev. Méd. Vét.*, 137, pp 521-524

DAWSON, M., 1988. Chlamydia, in *Fertility and infertility in veterinary practice*, edited by Laing, J. A., Brinley Morgan, W. J. & Wagner, W. C. Oxford: The University printing House, 15:234-236.

- Dellacasagrande, J., 2000.  $\alpha\beta 3$  integrin and bacterial lipopolysaccharide are involved in *Coxiella burnetii*-stimulated production of tumor necrosis factor by human monocytes. *Infect. Immun.* 68, 5673–5678).
- Dupuy, A. G. & Caron, E., 2008. Integrin-dependent phagocytosis – spreading from microadhesion to new concepts. *J. Cell Sci.* 121, 1773–1783
- ENNUYER M., 2004. Compte-rendu de la réunion d'information sur la fièvre Q du 25 juin 2004 : un kit de détection PCR, un nouveau vaccin Bull. GTV, , 26, 69
- Everett, K.D.E., Bush, R.M., Andersen, A.A., 1999. Emended description of the order Chlamydiales , proposal of ParaChlamydi-aceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49, 415–440.
- Flannagan, R. S., Jaumouillé, V. & Grinstein, S., 2012. The cell biology of phagocytosis. *Annu. Rev. Pathol.* 7, 61–98.
- FONTAINE M., GIAUFFRET A., RUSSO P., DURAND M., 1975. Importance des troupeaux ovins dans l'épidémiologie de la fièvre Q. *Méd. Mal. Infect.*, 8, DP 445-449
- Fournier, P.-E., Marrie, T. J. & Raoult, D. D., 1998. Diagnosis of Q fever. *J. Clin. Microbiol.* 36, 1823–1834.
- Georgiou Elena., 2013. *Coxiella burnetii* as the causative agent of abortions in sheep and goats in Cyprus. Available from Middlesex University's Research Repository thèse., 2013.
- Giroud, P., Roger, F., Dumas, N., 1956. Certain abortions in women could be attributed to agents belonging to the psittacosis group. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* 242, 697–699.
- Habrun B, Listes E , Spicic S, Cvetnic Z, Lukacevic D, Jemersic L, Lojkic M ,Kompes G., 2006. "An outbreak of *Salmonella Abortus ovis* abortions in sheep in south Croatia" ,*J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* Aug;53(6): 286-90)
- Hackstadt, T., 1986. Antigenic variation in the phase I lipopolysaccharide of *Coxiella burnetii* isolates. *Infect. Immun.* 52, 337–340.
- Hackstadt, T., 1990. The role of lipopolysaccharides in the virulence of *Coxiella burnetii*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 590:27–32.
- Hackstadt, T., M. G. Peacock, P. J. Hitchcock, and R. L. Cole., 1985. Lipopolysaccharide variation in *Coxiella burnetii*: intrastain heterogeneity in structure and antigenicity. *Infect. Immun.* 48:359–365.

HAMZY EL IDRISSE A., MANYARI A., BENKIRANE A., 1995. Fréquence des avortements infectieux des ovins au Maroc (régions des Zaer et du Moyen Atlas) Actes Inst. Agron. Veto (Maroc) 1995, Vol. 15 (4) : 11-14.

Harkinezhad, T., Geens, T., Vanrompay, D., 2009. Chlamydia psittaci infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. Vet. Microbiol. 135, 68–77  
HARS J. (1990) Conséquences sanitaires du pastoralisme sur les ongulés sauvages. Protocole- premiers résultats. B.I.P.A.S, vol 9, G.E.E.F.S.M, 79

Heinzen RA, Hackstadt T, Samuel JE., 1999. Developmental biology of Coxiella burnettii. Trends Microbiol. Apr; 7(4):149-54

Herring, A.J., Anderson, I.E., McClenaghan, M., Inglis, N.F., Williams, H., Matheson, B.A., West, C.P., Rodger, M., Brettle, P.P., 1987. Restriction endonuclease analysis of DNA from two isolates of Chlamydia psittaci obtained from human abortions. Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.) 295, 1239.

Herrmann, B., Rahman, R., Bergstrom, S., Bonnedahl, J., Olsen, B., 2000. Chlamydia abortus in a Brown skua ( Catharacta antarctica lonn-bergi) from a subantarctic island. Appl. Environ. Microbiol. 66, 3654–3656.

Hirai, K., To, H., 1998. Advances in the understanding of Coxiella burnetii infection in Japan. J.Vet.Med.Sci. 60, 781 -790

HUBALEK Z., JURICOVA Z., SVOBODOVA S., HALOUZKA J., 1991. A serological survey for some bacterial and viral zoonoses in some animals in the Czech Republic. Journal of Wildlife Diseases, 29(4), pp 604-607

HUMMEL PH., 1976. Incidence in Tanzania of CF antibody to Coxiella burnetii in sera from man, cattle, sheep, goats and game. Vet Rec., 98, pp 501-505

Hurtado A, Aduriz G, Moreno B, Barandika J, Garcia-Perez AL., 2001. Single tube nested PCR for the detection of Toxoplasma gondii in fetal tissues from naturally aborted ewes Vet. Parasitol.; 102(1-2) : 17-27.

Hybiske, K., Stephens, R.S., 2007. Mechanisms of host cell exit by the intracellular bacterium Chlamydia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 11430–11435.

JOBB K.V.F., KENNEDY P.C., PALMER N., 1992. Disease of the pregnant uterus - The female genital system Pathology of Domestic Animals, 4eme éd., 3.417-419  
Johnson, F.W., 1983. Chlamydiosis. Br. Vet. J. 139, 93–101.

Jorgensen, D.M., 1997. Gestational psittacosis in a Montana sheep rancher. Emerg. Infect. Dis. 3, 191–194.

KADRA, B. & BALLA, É., 2006. Development and production of vaccines against abortion caused by Chlamydia abortus and Coxiella burnetii in small ruminants. Small Ruminant Research, 62: 75-78

- Kampinga, G.A., Schroder, F.P., Visser, I.J., Anderson, J.M., Buxton, D., Moller, A.V., 2000. Lambing ewes as a source of severe psittacosis in a pregnant woman. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 144, 2500–2504.
- Kennerman E, Rousset E, Gölcü E, Dufour P., 2010. Seroprevalence of Q fever (coxiellosis) in sheep from the Southern Marmara Region, Turkey. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*,33,1:37-45.
- Kinchen, J. M. & Ravichandran, K. S., 2008. Phagosome maturation: going through the acid test. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 781–795
- Kovacova, E., Kazar, J., Spanelova, D., 1998. Suitability of various *Coxiella burnetii* antigen preparations for detection of serum antibodies by various tests. *Acta Virol.* 42, 365–368
- Kruszewska, D., Tylewska-Wierzbanowska, S., 1997. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Res. Vet. Sci.* 62, 299–300
- Lang, G.H., 1990. Coxiellosis (Q fever) in animals. In: Marrie, T.J. (Ed.), *The Diseases*, vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 23–48.
- LAPOINTE, J.M., GULLAND, F.M., HAINES, D.M., 1999. et al. Placentitis due to *Coxiella burnetii* in a Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*). *J. Vet. Diagn. Invest.*, , 11, 541-543
- Laughlin T, Waag D. Williams J, Marrie TJ. Q fever: from deer to dog to man. *Lancet* 1991;337:676-677.
- Leon-Vizcaino L, Hermosode Mendoza M, Garrido F., 1987. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain” *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 10(2):149-53
- Livingstone, M., Wheelhouse, N., Maley, S.W., Longbottom, D., 2009. Molecular detection of *Chlamydia abortus* in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing. *Vet. Microbiol.* 135,
- Longbottom, D., Coulter, L.J., 2003. Animal chlamydioses and zoonotic implications. *J. Comp. Pathol.* 128, 217–244 .
- Longbottom, D., Fairley, S., Chapman, S., Psarrou, E., Vretou, E. & Livingstone., 2002. Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by enzyme-linked immunosorbent assay with a recombinant protein fragment of the polymorphic outer membrane protein POMP90 of *Chlamydia abortus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 4235-4243
- Marrie TJ., Embil J., Yates L., 1993. Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* among wildlife in Nova Scotia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 49(5), pp 613-615 MATTHF.WS I HQW

Marrie, T.J., Durant, H., Williams, J.C., Yates, L., 1988. Exposure to parturient cats is a risk factor for acquisition of Q fever in Maritime Canada. *Journal of Infectious Diseases* 158, 101–108.

Martinov SP, Neikov P, Popov GV: 1989., Experimental Q fever in sheep. *Eur J Epidemiol*, 5: 428– 431.

MASALA G., PORCU R., SANNA G., CHESSA G., CILLARA G., CHISU V., TOLA S., 2004. Occurrence, distribution, and role in abortion of *Coxiella burnetii* in sheep and goats in Sardinia, Italy *Vet. Microbiol.*, 99, 301-305

Masala Giovanna ,Rosaura Porcu, Cinzia Daga, Stefano Denti, Giuliana Canu, Cristiana Patta, Sebastiana Tola., 2007. “ Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR” *J Vet Diagn Invest* 19:96–98 ,

Maurin M, Raoult D. Q Fever., 1999. *Clin Microbiol Rev* ; 12 : 518-53.

McNutt, S.H., Waller, E.F., 1940. Sporadic bovine encephalomyelitis. *Cornell Vet.* 30, 437–448.

MEGE J.L.. MAURIN M., CAPO C., RAOULT D., 1997. *Coxiella burnetii*: the 'query' fever bacterium. A model of immune subversion by a strictly intracellular microorganism *FEMS Microbiol. Rev.*, 19,209-217

Mertens, K., Samuel, J.E., 2007. *Bacteriology of Coxiella: Rickettsial dis-eases.* 257–270.

Milner, AR. Mack, WN. and Croates, KJ., 1989. A modified ELISA for the detection of goats infected with *Mycobacterium paratuberculosis* *Australian Veterinary Journal*, Vol. 66, N° 9, September

Moulder, J.W., 1966. The relation of the psittacosis group (chlamydiae )to bacteria and virus. *Annu. Rev. Microbiol.* 20, 107–130.

Moulder, J.W., 1991. Interaction of Chlamydiae and host cells in vitro. *Microbiol. Rev.* 55, 143–190

Norlander L., 2000.Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes and infection*, 2, pp 417-424

Obson, D., Rees, E., 1982. Pregnancy complicated by psittacosis acquired from sheep. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 284, 1560–1561.

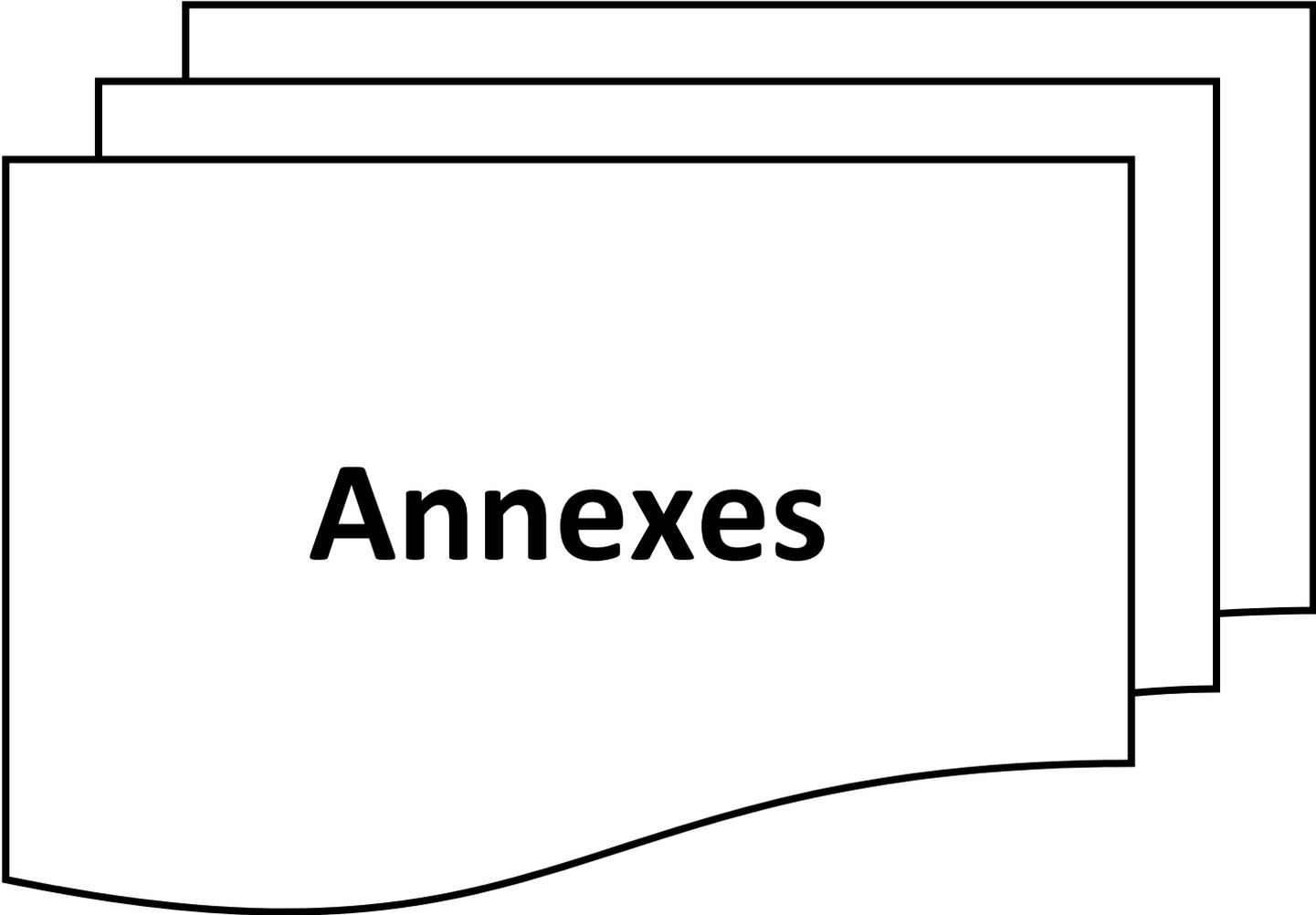
Ongor, H., Cetinkaya, B., Acik, M. N., Karahan, M., Bulut, H., 2004. Detection of *Chlamydia abortus* in Ovine Milk by Immunomagnetic Separation-Polymerase Chain Reaction, *J. Vet. Med.*, B 50, 43-45.

- Petit V., 2003. Fièvre Q (*Coxiella burnetii*) et élevage ovin allaitant dans le département des Bouches du Rhône: enquête épidémiologique. Thèse de Doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, : 156p.
- Pospischil, A., Thoma, R., Hilbe, M., Grest, P., Zimmermann, D., Gebbers, J.O., 2002. Abortion in humans caused by *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci* serovar 1). *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 144, 463–466.
- Raju NR. Colliogr DF, Svaile PH., 1988. Abortion in black belly sheep in Fiji caused by *Coxiella burnetii* . *Aust Vet J*:65:225-226.
- Rekiki A., Thabti F., Dlissi I., Russo P., Sanchis R. , Pepin M. , Rodolakis A., Hammami S., 2005. Enquête sérologique sur les principales causes d'avortements infectieux chez les petits ruminants en Tunisie. *Revue 1, Revue Méd. Vét.*, 156, 7, 395-401.
- Rekiki, A., Bodier, C., Berri, M. & Rodolakis, A., 2006. Efficacy of vaccines against chlamydiosis and Q fever: Bringing-in the murine model. *Small Ruminant Research*, 62: 117–119.
- Rekiki, A., Bouakane, A., Hammami S., El Idrissi, A.H., Bernard, F., Rodolakis, A., 2004a. Efficacy of live *Chlamydophila abortus* vaccine 1B in protecting mice placentas and foetuses against strains of *Chlamydophila pecorum* isolated from cases of abortion. *Vet. Microbiol.* 99, 295–299
- Rekiki, A., Bouakane, A., Rodolakis, A., 2004b. Combined vaccination of live 1B *Chlamydophila abortus* and killed phase I *Coxiella burnetii* vaccine does not destroy protection against chlamydiosis in a mouse model. *Can. J. Vet. Res.* 68, 226–228
- Rocchi, M.S., Wattedegera, S., Meridiani, I., Entrican, G., 2009. Protective adaptive immunity to *Chlamydophila abortus* infection and control of ovine enzootic abortion (OEA). *Vet. Microbiol.* 135, 112–121
- Rodolakis A, Salinas J, Papp J., 1998. Recent advances on ovine chlamydial abortion. *Vet Res*, 29:275-288
- RODOLAKIS A., BERRI M., ROKKI A., 2004. Le point sur le diagnostic et la prévention de la chlamydiose et la fièvre Q Journée nationales GTV, Tours, 751-754.
- Rodolakis, A., Salinas, J., Papp, J., 1998. Recent advances on ovine chlamydial abortion. *Vet. Res.* 29, 275–288.
- Rodolakis, A., Souriau, A., Raynaud, J.P., Brunault, G., 1980. Efficacy of a long-acting oxytetracycline against chlamydial ovine abortion. *Ann. Rech. Vet.* 11, 437–444.
- Rousset E, Durand B, Berri M, Dufour P, Prigent M, Russo P, Delcroix T, Touratier A, Rodolakis A, Aubert M., 2007. Comparative diagnostic potential of three serological tests for abortive Q fever in goat herds. *Veterinary microbiology* 124, 286-97.

- Rousset E., Russo P., Pepin M., Raoult D., 2000. La fièvre Q, une zoonose encore mystérieuse. Bull. Group. Tech. Vet., 7, 59-63
- Rousset E., Russo P., Pepin M., Raoult D., 2001. Epidémiologie de la fièvre Q animale. Situation en France. Méd. Mal. Infect., 31, 2, 233-246.
- Ruiz-Fons F, Astobiza I, Barandika J F, Hurtado A, Atxaerandio R, Juste R A, Garcia-Perez A L., 2010. Seroepidemiological study of Q fever in domestic ruminants in semi-extensive grazing systems, BMC Vet Res 6:3.
- Runge M, Binder A, Schotte U, Ganter M., 2012. Investigations concerning the prevalence of *Coxiella burnetii* and *Chlamydia abortus* in sheep in correlation with management systems and abortion rate in Lower Saxony in 2004. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 125:138 – 143.
- Russo P, Malo P., 1981. La fièvre Q dans le département de la Vienne en France: cinétique des anticorps et avortements chez les caprins. Rec Mrd Vrt ; 157 : 585-9.
- Sammin, D.J., Markey, B.K., Quinn, P.J., McElroy, M.C., Bassett, H.F., 2006. Comparison of fetal and maternal inflammatory responses in the ovine placenta after experimental infection with *Chlamydia abortus*. J. Comp. Pathol. 135, 83–92.
- 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., 2003. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:5455– 5460.
- Sheld W M, Craig W A, et Hughes J M., 2001. Emerging infections 5, Washington, DC: ASM Press, 137-152
- STEIN A., RAOULT D., 1999. Pigeon pneumonia in Provence: a bird-borne Q fever outbreak. Clin. Infect. Dis., 29, 617-620.
- Stepanek, O., Jindrichova, J., Horacek, J., Krpata, V., 1983. Chlamydiosis in cattle and in man: an epidemiologic and serologic study. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 27, 445–459.
- Storz, J., 1971. Chlamydia and Chlamydia-Induced Diseases. Thomas CC, Springfield, IL, USA, 358 pp.
- Storz, J., Page, L.A., 1971. Taxonomy of the Chlamydiae: reasons for classifying organisms of the genus *Chlamydia*, family Chlamydiaceae, in a separate order, Chlamydiales ord. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 21, 332–334.

- Tadjebakhche H., Gillet R.Y., 1973. Epizootologie d'un nouveau foyer d'avortements causés par *Salmonella abortusovis* à Varamine, province de Téhéran. Bull. Soc. Sci. Vét. Méd. Comp., 75, pp 241-246.
- Tainturier D., 1987. Métrites en série chez la vache provoquées par la fièvre Q. Rec Med Vet ; 163 : 195-8.
- Taoudi ND, Maslin J, Dubrous Ph, Garnotel E., 2004. Apports et limites des sérologies bactériennes en pathologie infectieuse. Revue Française des Laboratoires ; 366 : 37-43.
- TEANKUM, K., POSPISCHIL, A., JANNET, F., BRUGNERA, E., HOELZLE, L.E., HOELZLE, K., WEILENMANN, R., ZIMMERMANN, D.R., GERBER, A., POLKINGHORNE, A. & BOREL, N., 2007. Prevalence of chlamydiae in semen and genital tracts of bulls, rams and bucks. Theriogenology, 67: 303-310.
- Thygeson, P., 1962. Thrachoma virus: historical background and review of isolates. Ann. N.Y. Acad. Sci. 98, 6–13.
- Tissot-Dupont H, Amadei MA, Nezri M, Raoult D., 2004. Wind in November, Q fever in December. Emerg Infect Dis 10:1264– 1269
- Tissot-Dupont H., Raoult D., 1993. Epidémiologie de la fièvre Q. B.E.H., 5, 17-18.
- TISSOT-DUPONT H., TORRES S., NEZRIM., RAOULT D. (1999) Hyperendemic focus of Q fever related to sheep and wind. Am. J. Epidemiol., 150, pp 67-74
- Toman, R., and L. Skultety., 1996. Structural study on a lipopolysaccharide from *Coxiella burnetii* strain Nine Mile in avirulent phase II. Carbohydr. Res. 283:175–185.
- TRÁVNÍČEK M., KOVÁČOVÁ D., ZLBRICKÝ P., CÍSLÁKOVÁ L., 2001. Serosurvey of sheep and goats to *Chlamydia psittaci* in Slovakia during the years 1996-2000. Vet. Med. – Czech, 46, 281–285
- Tujulin, E., Macellaro, A., Lilliehook, B. & Norlander., 1998. L. Effect of endocytosis inhibitors on *Coxiella burnetii* interaction with host cells. Acta Virol. 42, 125–131.
- Valdivia, R.H., 2008. Chlamydia effector proteins and new insights into chlamydial cellular microbiology. Curr. Opin. Microbiol. 11, 53–59.
- Villemonteix, P., Agius, G., Ducroz, B., Rouffineau, J., Plocoste, V., Castets, M., Magnin, G., 1990. Pregnancy complicated by severe *Chlamydia psittaci* infection acquired from a goat flock: a case report. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 37, 91–94.
- Vretou, E., Radouani, F., Psarrou, E., Kritikos, I., Xylouri, E. & Mangana, O., 2007. Evaluation of two commercial assays for the detection of *Chlamydia abortus* antibodies. Veterinary Microbiology, 123: 153-161.

- Yahiaoui W.-I., Afri-Bouzebda F., Bouzebda Z et Dahmani A., 2013. 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
- Walder, G., Hotzel, H., Brezinka, C., Gritsch, W., Tauber, R., Wurzner, R., Ploner, F., 2005. An unusual cause of sepsis during pregnancy: recognizing infection with *Chlamydia abortus*. *Obstet. Gynecol.* 106, 1215–1217.
- WARD, M. (Webmaster) 2006. *Chlamydia abortus*: Human infection, in *Chlamydial infections; chlamydial infections in animals*.  
<http://www.chlamydiae.com/>
- Welsh HH, Lennette EH, Abinanti FR, Winn JF., 1957. Air-borne transmission of Q fever : the role of parturition in the generation of infective aerosols. *Ann NY Acad Sci* ; 70 : 528-35.
- Wilsmore, A.J., Parsons, V., Dawson, M., 1984. Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion. *Br. Vet. J.* 140,380–391.
- Wong, S.Y., Gray, E.S., Buxton, D., Finlayson, J., Johnson, F.W., 1985. Acute placentitis and spontaneous abortion caused by *Chlamydia psittaci* of sheep origin: a histological and ultrastructural study. *J. Clin. Pathol.* 38, 707–711.
- Zhang GQ, Nguyen SV, To H, Ogawa M, Hotta A, Yamaguchi T., 1998. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. *J Clin Microbiol*; 36 : 77–80.
- Zhang, J., 2003. Evolution by gene duplication: an update. *Trends Ecol. Evol.* 18, 292–298



# **Annexes**

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE**

**Plan « Avortements chez les petits ruminants »**

**Fiche de commémoratifs**

N° cheptel :.....

Nom et adresse de l'éleveur :.....

Nom du vétérinaire : .....

---

**Renseignements sur l'élevage :**

Type d'élevage : ovine  mixte (ovin, caprin, bovin)

La race : Ouled Djellal  Rumbi  Hamra  Croisé

Système d'élevage : Intensif  Extensif  Semi-extensif

Transhumance : Oui  Non

Contact avec d'autres cheptels ovins : Jamais  Pat communs  Pat voisins

Contact avec faune sauvage ? Impossible  Possible  Observé

Nombre de femelles du troupeau reproducteur : .....

---

**Conduite du troupeau et alimentation :**

Achats à l'extérieur : Oui  Non

Reproduction : Tout l'année  Saisonnière

Type de reproduction : Monte naturelle  Synchronisation

Mise-bas dans des cases spécifiques ? Oui  Non

Vaccination : Oui  Non

Si oui contre quelle(s) maladie(s) : .....

Traitement contre les tiques : Oui  Non

Ration équilibrée (fourrage + céréales + compl. Azoté) Oui  Non

Distribution régulière de minéraux (Ca & P) Oui  Non

**Signes associés aux avortements (femelles ayant avorté ou troupeau en général) :**

**Avorton :**

Agneaux chétifs à la naissance : Oui  Non

Fœtus momifié : Oui  Non

Nécrose placentaire : Oui  Non

Mortinatalité : Oui  Non

Troubles nerveux (jeunes / adultes) : Oui  Non

**Femelle ayant avorté :**

Stade de gestation au moment des avortements

1<sup>ère</sup> moitié  2<sup>ème</sup> moitié  indifférent

Age des femelles ayant avorté : jeunes (<2 ans)  âgées (>5 ans)  tous âges

Date de début des avortements : / / 20

Nb d'avortements à ce jour (ou de femelles ayant des produits morts à 72h) : .....

Fièvre et dégradation de l'état général suite avortement : Oui Non

Métrite Oui  Non

Ictère Oui  Non

Mammites Oui  Non

Autres signes (jeunes ou adultes)

Préciser.....  
.....  
.....

---

**Facteurs de risque potentiels :**

Maladie(s) infectieuse(s) ou parasitisme connue sur l'élevage Oui  Non



**Tableau 5: Calculs des titres et interprétation des résultats de lecteur ELISA :**

N°	Chlamydirose			Fièvre Q		
	DO Ech	S/P	interprétation	DO Ech	S/P	interprétation
5	0,506	36%	NEGATIF	0,137	6%	NEGATIF
6	0,195	14%	NEGATIF	1,974	93%	POSITIF+
7	0,157	11%	NEGATIF	0,158	7%	NEGATIF
8	0,22	16%	NEGATIF	0,531	25%	NEGATIF
9	0,504	36%	NEGATIF	0,179	8%	NEGATIF
10	0,098	7%	NEGATIF	0,148	7%	NEGATIF
11	1,192	84%	POSITIF+	0,226	11%	NEGATIF
12	1,052	74%	POSITIF+	0,148	7%	NEGATIF
13	1,058	75%	POSITIF+	0,267	13%	NEGATIF
14	2,257	159%	POSITIF+	2,751	129%	POSITIF+
15	2,043	144%	POSITIF+	0,256	12%	NEGATIF
16	1,949	137%	POSITIF+	1,774	83%	POSITIF+
17	1,482	105%	POSITIF+	0,625	29%	NEGATIF
18	0,857	60%	POSITIF+	0,421	20%	NEGATIF
19	0,136	10%	NEGATIF	2,122	100%	POSITIF+
20	1,955	138%	POSITIF+	0,865	41%	POSITIF+
21	1,332	94%	POSITIF+	0,241	11%	NEGATIF
22	0,331	23%	NEGATIF	0,133	6%	NEGATIF
23	0,22	16%	NEGATIF	0,231	11%	NEGATIF
24	1,032	73%	POSITIF+	0,328	15%	NEGATIF
25	0,231	16%	NEGATIF	0,402	19%	NEGATIF
26	0,131	9%	NEGATIF	0,151	7%	NEGATIF
27	0,09	6%	NEGATIF	0,185	9%	NEGATIF
28	1,019	72%	POSITIF+	0,644	30%	NEGATIF
29	1,261	89%	POSITIF+	0,203	10%	NEGATIF
30	0,556	39%	NEGATIF	1,293	61%	POSITIF+
31	0,225	16%	NEGATIF	0,334	16%	NEGATIF
32	0,202	14%	NEGATIF	2,26	106%	POSITIF+

**PLAQUE1**

33	0,096	7%	NEGATIF	0,698	33%	NEGATIF
34	1,292	91%	POSITIF+	0,575	27%	NEGATIF
35	1,364	96%	POSITIF+	0,506	24%	NEGATIF
36	0,131	9%	NEGATIF	0,262	12%	NEGATIF
37	2,521	178%	POSITIF+	0,198	9%	NEGATIF
38	2,166	153%	POSITIF+	0,301	14%	NEGATIF
39	0,149	11%	NEGATIF	0,119	6%	NEGATIF
40	0,096	7%	NEGATIF	2,138	101%	POSITIF+
41	0,313	22%	NEGATIF	0,046	2%	NEGATIF
42	0,85	60%	POSITIF+	0,052	2%	NEGATIF
43	0,526	37%	NEGATIF	0,047	2%	NEGATIF
44	0,259	18%	NEGATIF	0,049	2%	NEGATIF
45	0,993	70%	POSITIF+	0,048	2%	NEGATIF
46	0,284	20%	NEGATIF	0,053	2%	NEGATIF
47	2,053	145%	POSITIF+	0,046	2%	NEGATIF
48	0,843	59%	POSITIF+	0,048	2%	NEGATIF
49	2,268	160%	POSITIF+	0,2	9%	NEGATIF
50	2,264	160%	POSITIF+	0,342	16%	NEGATIF
51	0,068	5%	NEGATIF	0,94	44%	POSITIF+
52	1,554	110%	POSITIF+	0,085	4%	NEGATIF
53	1,962	138%	POSITIF+	0,162	8%	NEGATIF
54	0,403	28%	NEGATIF	0,146	7%	NEGATIF
55	0,12	8%	NEGATIF	1,404	66%	POSITIF+
56	0,048	3%	NEGATIF	0,139	7%	NEGATIF
57	0,128	9%	NEGATIF	1,511	71%	POSITIF+
58	1,636	115%	POSITIF+	1,844	87%	POSITIF+
59	2,413	170%	POSITIF+	0,498	23%	NEGATIF
60	0,94	66%	POSITIF+	2,478	117%	POSITIF+
61	1,779	125%	POSITIF+	0,324	15%	NEGATIF
62	0,289	20%	NEGATIF	0,279	13%	NEGATIF
63	0,116	8%	NEGATIF	0,183	9%	NEGATIF
64	0,12	8%	NEGATIF	2,092	98%	POSITIF+

65	0,096	7%	NEGATIF	0,578	27%	NEGATIF
66	0,137	10%	NEGATIF	0,189	9%	NEGATIF
67	0,501	35%	NEGATIF	1,609	76%	POSITIF+
68	0,075	5%	NEGATIF	0,915	43%	POSITIF+
69	0,06	4%	NEGATIF	0,189	9%	NEGATIF
70	1,741	123%	POSITIF+	0,729	34%	NEGATIF
71	0,358	25%	NEGATIF	0,248	12%	NEGATIF
72	0,091	6%	NEGATIF	0,293	14%	NEGATIF
73	0,082	6%	NEGATIF	2,022	95%	POSITIF+
74	0,068	5%	NEGATIF	1,202	57%	POSITIF+
75	0,11	8%	NEGATIF	1,83	86%	POSITIF+
76	0,071	5%	NEGATIF	1,438	68%	POSITIF+
77	0,387	27%	NEGATIF	0,145	7%	NEGATIF
78	0,69	49%	NEGATIF	1,206	57%	POSITIF+
79	0,049	3%	NEGATIF	2,971	140%	POSITIF+
80	1,688	119%	POSITIF+	0,954	45%	POSITIF+
81	1,034	73%	POSITIF+	1,354	64%	POSITIF+
82	0,084	6%	NEGATIF	0,783	37%	NEGATIF
83	0,054	4%	NEGATIF	0,207	10%	NEGATIF
84	0,149	11%	NEGATIF	1,905	90%	POSITIF+
85	0,578	41%	NEGATIF	0,134	6%	NEGATIF
86	0,159	11%	NEGATIF	0,086	4%	NEGATIF
87	0,397	28%	NEGATIF	1,344	63%	POSITIF+
88	0,382	27%	NEGATIF	0,217	10%	NEGATIF
89	0,801	56%	POSITIF+	1,465	69%	POSITIF+
90	0,615	43%	NEGATIF	0,126	6%	NEGATIF
91	0,104	7%	NEGATIF	0,096	5%	NEGATIF
92	0,15	11%	NEGATIF	0,163	8%	NEGATIF
93	0,203	14%	NEGATIF	0,998	47%	POSITIF+
94	0,682	48%	NEGATIF	0,171	8%	NEGATIF
95	0,267	19%	NEGATIF	0,092	4%	NEGATIF
96	0,138	10%	NEGATIF	1,315	62%	POSITIF+

# PLAQUE2

5	1,866	115%	POSITIF+	1,971	95%	POSITIF+
6	2,019	124%	POSITIF+	2,251	109%	POSITIF+
7	2,052	126%	POSITIF+	0,271	13%	NEGATIF
8	2,018	124%	POSITIF+	1,58	76%	POSITIF+
9	0,186	11%	NEGATIF	1,522	73%	POSITIF+
10	0,165	10%	NEGATIF	0,604	29%	NEGATIF
11	1,22	75%	POSITIF+	0,822	40%	NEGATIF
12	0,941	58%	POSITIF+	1,257	61%	POSITIF+
13	0,128	8%	NEGATIF	0,662	32%	NEGATIF
14	0,182	11%	NEGATIF	0,375	18%	NEGATIF
15	0,251	15%	NEGATIF	0,323	16%	NEGATIF
16	0,437	27%	NEGATIF	0,235	11%	NEGATIF
17	0,272	17%	NEGATIF	0,237	11%	NEGATIF
18	0,179	11%	NEGATIF	0,384	19%	NEGATIF
19	0,173	11%	NEGATIF	0,114	6%	NEGATIF
20	0,168	10%	NEGATIF	0,102	5%	NEGATIF
21	0,168	10%	NEGATIF	0,441	21%	NEGATIF
22	0,187	11%	NEGATIF	0,107	5%	NEGATIF
23	0,383	24%	NEGATIF	0,158	8%	NEGATIF
24	0,16	10%	NEGATIF	0,936	45%	POSITIF+
25	0,252	15%	NEGATIF	0,67	32%	NEGATIF
26	0,194	12%	NEGATIF	0,138	7%	NEGATIF
27	0,126	8%	NEGATIF	0,432	21%	NEGATIF
28	0,492	30%	NEGATIF	0,396	19%	NEGATIF
29	0,461	28%	NEGATIF	1,505	73%	POSITIF+
30	0,23	14%	NEGATIF	0,85	41%	POSITIF+
31	0,299	18%	NEGATIF	0,191	9%	NEGATIF
32	0,736	45%	NEGATIF	0,25	12%	NEGATIF
33	0,176	11%	NEGATIF	0,086	4%	NEGATIF
34	0,198	12%	NEGATIF	0,466	22%	NEGATIF
35	2,149	132%	POSITIF+	0,758	37%	NEGATIF
36	0,251	15%	NEGATIF	0,164	8%	NEGATIF

37	0,145	9%	NEGATIF	0,582	28%	NEGATIF
38	1,413	87%	POSITIF+	0,146	7%	NEGATIF
39	0,22	14%	NEGATIF	0,132	6%	NEGATIF
40	0,286	18%	NEGATIF	0,123	6%	NEGATIF
41	1,102	68%	POSITIF+	0,196	9%	NEGATIF
42	0,106	7%	NEGATIF	1,099	53%	POSITIF+
43	1,113	68%	POSITIF+	0,135	7%	NEGATIF
44	1,457	90%	POSITIF+	0,567	27%	NEGATIF
45	0,453	28%	NEGATIF	1,676	81%	POSITIF+
46	0,329	20%	NEGATIF	0,115	6%	NEGATIF
47	1,46	90%	POSITIF+	0,09	4%	NEGATIF
48	0,154	9%	NEGATIF	0,543	26%	NEGATIF
49	0,209	13%	NEGATIF	0,098	5%	NEGATIF
50	1,268	78%	POSITIF+	0,143	7%	NEGATIF
51	0,213	13%	NEGATIF	1,386	67%	POSITIF+
52	0,242	15%	NEGATIF	1,925	93%	POSITIF+
53	0,054	3%	NEGATIF	0,137	7%	NEGATIF
54	1,751	108%	POSITIF+	0,184	9%	NEGATIF
55	0,211	13%	NEGATIF	1,434	69%	POSITIF+
56	2,11	130%	POSITIF+	2,389	115%	POSITIF+
57	0,059	4%	NEGATIF	2,335	113%	POSITIF+
58	0,633	39%	NEGATIF	0,182	9%	NEGATIF
59	0,155	10%	NEGATIF	1,49	72%	POSITIF+
60	0,069	4%	NEGATIF	0,158	8%	NEGATIF
61	0,069	4%	NEGATIF	0,181	9%	NEGATIF
62	0,077	5%	NEGATIF	0,131	6%	NEGATIF
63	0,076	5%	NEGATIF	1,777	86%	POSITIF+
64	0,091	6%	NEGATIF	1,503	73%	POSITIF+
65	0,176	11%	NEGATIF	0,359	17%	NEGATIF
66	0,155	10%	NEGATIF	0,533	26%	NEGATIF
67	0,168	10%	NEGATIF	0,688	33%	NEGATIF
68	1,249	77%	POSITIF+	0,127	6%	NEGATIF

	69	1,54	95%	POSITIF+	0,247	12%	NEGATIF
	70	0,383	24%	NEGATIF	0,202	10%	NEGATIF
	71	1,004	62%	POSITIF+	0,261	13%	NEGATIF
	72	0,1	6%	NEGATIF	0,208	10%	NEGATIF
	73	0,154	9%	NEGATIF	0,548	26%	NEGATIF
	74	0,292	18%	NEGATIF	0,087	4%	NEGATIF
	75	1,907	117%	POSITIF+	0,458	22%	NEGATIF
	76	0,185	11%	NEGATIF	0,699	34%	NEGATIF
	77	0,203	12%	NEGATIF	0,159	8%	NEGATIF
	78	0,085	5%	NEGATIF	0,202	10%	NEGATIF
	79	0,104	6%	NEGATIF	0,129	6%	NEGATIF
	80	0,087	5%	NEGATIF	0,272	13%	NEGATIF
	PLAQUE3	5	0,232	14%	NEGATIF	0,326	23%
6		0,611	38%	NEGATIF	0,162	12%	NEGATIF
7		0,831	52%	POSITIF+	0,15	11%	NEGATIF
8		0,674	42%	NEGATIF	0,249	18%	NEGATIF
9		0,176	11%	NEGATIF	0,093	7%	NEGATIF
10		0,871	54%	POSITIF+	1,578	113%	POSITIF+
11		0,233	14%	NEGATIF	0,9	64%	POSITIF+
12		0,07	4%	NEGATIF	0,192	14%	NEGATIF
13		1,383	86%	POSITIF+	1,923	137%	POSITIF+
14		0,053	3%	NEGATIF	0,216	15%	NEGATIF
15		0,048	3%	NEGATIF	0,097	7%	NEGATIF
16		0,054	3%	NEGATIF	0,202	14%	NEGATIF