

**UNIVERSITE BLIDA 1**  
**Institut des Sciences Vétérinaires**

**THESE DE DOCTORAT**  
en Sciences Vétérinaires  
Spécialité : Microbiologie Médicale

ETUDE SEROLOGIQUE ET MOLECULAIRE DE *COXIELLA BURNETII* AGENT  
DE LA FIEVRE Q CHEZ LES PETITS RUMINANTS  
DANS CERTAINES REGIONS D'ALGERIE

Par

**Hamza KHALED**

Devant le jury composé de :

M. BACHIR PACHA.	Professeur, U. Blida 1	Président
L. AOUN	Professeur, U. El Taref	Examinatrice
T.K. BOUKHORS	Professeur, E.N.S.V. Alger	Examinatrice
A. BOUYOUCHEF	Professeur, U. Blida 1	Promoteur
E. ROUSSET	Maître de recherche ANSES, France	Co-promotrice

Blida, 2015

## RESUME

La fièvre Q est une maladie à répartition mondiale causée par *Coxiella burnetii*, bactérie à multiplication intracellulaire obligatoire, qui se transmet essentiellement par voie respiratoire, causant chez les ruminants des troubles de la reproduction accompagnés d'élimination de bactéries dans le milieu extérieur. Les pertes directes et indirectes liées à cette pathologie sont considérables puisqu'il s'agit aussi d'une zoonose professionnelle observée principalement en région rurale. En Algérie, la situation épidémiologique est caractérisée par un manque flagrant d'informations.

Notre travail a donc pour objectif essentiel la détermination des statuts sérologiques et excréteurs des cheptels de petits ruminants vis-à-vis de la fièvre Q et un génotypage des souches circulantes. Une enquête relative aux avortements a été menée dans 105 exploitations agricoles et 35 cheptels ont fait l'objet de prélèvements. Un total de 227 sérums et de 267 écouvillons vaginaux ont été collectés. Deux techniques de diagnostic ont été utilisées, l'ELISA indirecte pour la recherche des anticorps spécifiques anti *C. burnetii* dans les sérums et la PCR quantitative (PCRq) pour la détection de l'ADN bactérien au niveau des écouvillons par amplification du gène IS1111. La technique MLVA a été choisie pour le typage moléculaire avec l'usage de 17 VNTR. L'isolement sur cellules SFT a été réalisé.

L'enquête sur le terrain a montré un manque de mesures d'hygiène en relation avec les avortements. Par la technique ELISA, les résultats obtenus ont enregistré 32 cas positifs (14,1 %) répartis sur 17 cheptels (58,6%), ce qui prouve le contact entre la bactérie et les animaux testés. Par la technique PCRq, sur le nombre total des échantillons, nous avons obtenu 57 cas positifs (taux de 21,3%) dans 21 cheptels (60%), ce qui confirme l'excrétion bactérienne par voie vaginale après avortements ou mise-bas normales, dont 11 cas (taux de 6,8%) confirment l'implication de *C. burnetii* dans l'étiologie abortive chez les ovins. Le génotypage a permis la caractérisation de 11 souches d'origine ovine qui appartiennent à 3 clusters différents. Une biodiversité des souches a été constatée avec l'observation de 11 nouveaux profils génétiques. En plus, une certaine apparentée

généétique a été constatée avec les souches des pays voisins (TUNISIE et MAROC) et étrangers (FRANCE et ETATS-UNIS D'AMERIQUE).

Les taux enregistrés soulèvent un problème potentiel d'existence de la fièvre Q au sein de nos cheptels pouvant engendrer un risque sur la santé publique. De ce fait, élargir le spectre d'étude de la maladie à d'autres régions du pays et approfondir les recherches en matière de diagnostic avec des outils récents et fiables semble une nécessité absolue.

**Mots clés :** *Coxiella burnetii*, fièvre Q, ELISA, PCRq, MLVA, petits ruminants, Algérie

## ABSTRACT

Q fever is a disease with world distribution caused by *Coxiella burnetii*, bacterium with obligate intracellular multiplication, which is essentially transmitted through respiratory system, causing in ruminants reproduction disorders accompanied with shedding of bacteria in the environment. The direct and indirect losses in relation to this pathology are considerable because it is considered also a professional zoonosis observed mainly in rural region. In Algeria, the epidemiological situation is characterized by a blatant lack of information.

The main aim of our work is the determination of serological and excretory status of small ruminant' flocks regarding Q fever and genotyping of circulating strains. An investigation in relation to abortions was conducted in 105 farms and 35 herds have been sampled. A total of 227 sera and 267 vaginal swabs were collected. Two diagnostic techniques have been used, indirect ELISA for the detection of specific antibodies to *C. burnetii* in sera and quantitative PCR (PCRq) for the detection of bacterial DNA in swabs by amplification of the IS1111 gene. MLVA technique was selected for the molecular typing with the use of 17 VNTR. The isolation of bacteria was carried with SFT cells.

The field survey showed a lack of hygiene measures in relation to abortions. By ELISA technique, the results showed 32 positive cases (14.1%) in 17 herds (58.6%), which prove the contact between the bacteria and test animals. For the PCRq technique, from the total number of samples, we obtained 57 positive cases (rate of 21.3%) in 21 herds (60%), confirming the bacterial vaginal excretion after abortions or after normal lambing, with 11 cases (6.8%) confirming the involvement of *C. burnetii* in the abortive etiology in sheep. Genotyping allowed the characterization of 11 strains of ovine origin belonging to 3 different clusters.

A biodiversity of strains was found with the observation of 11 new genetic profiles. In addition, some genetic relation was observed with strains of neighboring countries (TUNISIA and MOROCCO) and foreign (FRANCE and UNITED STATES OF AMERICA).

Registered rates raise a potential problem of Q fever existence at our flocks which may pose a risk to public health. Therefore, expanding the study on the disease to other regions of the country and further research in diagnostics with recent and reliable tools seems an absolute necessity.

**Keywords :** *Coxiella burnetii*, Q fever, ELISA, PCRq, MLVA, small ruminants, Algeria

## REMERCIEMENTS

En préambule à cette thèse, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leurs aides et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

A monsieur BACHIR-PACHA M.

Professeur à l'Université BLIDA 1,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de nos vifs remerciements.

A madame AOUN L.

Professeur à l'Université d'EL TAREF,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A madame BOUKHORS T.K.

Professeur à l'E.N.S.V. ALGER,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être membre de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A monsieur BOUYOUCEF A.,

Professeur à l'Université Blida 1,

Qui a accepté d'être mon directeur de thèse.

Pour m'avoir procuré du courage et donné de la confiance en soi, pour sa gentillesse et sa modestie, son soutien illimité et son savoir faire.

Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde estime.

A madame ROUSSET E.,

Responsable LNR fièvre Q, ANSES de Sophia Antipolis,

Qui a accepté d'être ma co-directrice de thèse.

Pour son implication dans ma thèse, sa gentillesse et son professionnalisme.

Qu'elle trouve ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

A monsieur SIDI-BOUMEDINE K.,  
 Adjoint du responsable LNR fièvre Q, ANSES de Sophia Antipolis,  
 Qui a accepté d'être mon maître de stage.  
 Pour sa grande disponibilité, pour ses conseils et ses encouragements.  
 Qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère gratitude.

A monsieur THIERRY R.,  
 Directeur du laboratoire ANSES de Sophia Antipolis,  
 De nous avoir accueilli dans le laboratoire.  
 Qu'il trouve ici nos sincères remerciements et notre grand respect.

A monsieur DUFOUR P., & madame PRIGENT M.,  
 Techniciens au laboratoire ANSES de Sophia Antipolis,  
 Pour leur aide précieuse et le temps qu'ils m'ont consacré.  
 Qu'ils soient assurés de nos vifs remerciements.

A monsieur MERDJA S.  
 Enseignant-chercheur à l'université Saad Dahleb de Blida,  
 Pour avoir travaillé ensemble,  
 Qu'il trouve ici l'hommage de nos vives reconnaissances.

A monsieur DAHMANI A.  
 Enseignant-chercheur à l'université Saad Dahleb de Blida,  
 Pour son aide inestimable, son accueil et son hospitalité.  
 Qu'il trouve ici le témoignage de notre grand respect.

Aux vétérinaires praticiens :  
 Dr. BOULAOUAD Z., Dr. BOUCHAMA B., Dr. ZRAGNIA M., Dr. MERDJA S.,  
 Dr. BOUTEBA B., Dr. NEKAA H., Dr. ABIDINE Z., Dr. MSILA A., Dr. ABSI A.,  
 Dr. OULD SAID H., Dr. RAHMANI M., Dr. NEGRI H., Dr. MENACER A.A.,  
 Dr. OUERGUI A. et Dr. BOUZAHER A.,  
 Pour leurs aides précieuses,  
 Qu'ils trouvent ici le témoignage de notre gratitude.

## TABLE DES MATIERES

RESUME	2
RESUME EN ANGLAIS	4
REMERCIEMENTS	6
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	12
INTRODUCTION	15
1. HISTORIQUE	17
2. EPIDEMIOLOGIE DE LA FIEVRE Q	19
2.1. Fréquence et répartition géographique	19
2.1.1. Chez les petits ruminants	19
2.1.2. Chez l'homme	21
2.2. Réservoir biologique	22
2.3. Modalités de transmission	22
2.3.1. Chez les animaux	22
2.3.2. Chez l'homme	24
2.4. Propagation	25
2.4.1. Transhumance	25
2.4.2. Vent	25
3. CLINIQUE	26
3.1. Chez les ruminants	26
3.2. Chez l'homme	27
4. BACTERIOLOGIE	29
4.1. Systématique	29
4.2. Caractères morphologiques	29
4.3. Génétique	30
4.3.1. Génome	30
4.3.2. Plasmide	30
4.4. Cycle de développement	32
4.5. Caractères antigéniques	33
4.5.1. Variation de phase	33



4.5.2.	Constituants antigéniques	34
4.5.3.	Communautés antigéniques	34
4.6.	Culture	34
4.7.	Métabolisme	35
4.8.	Résistance	36
5.	PHYSIOPATHOLOGIE	38
5.1.	Pathogénie	38
5.2.	Facteurs de virulence	41
5.3.	Dose infectante	41
5.4.	Portage	41
5.5.	Excrétion	42
5.6.	Immunité	43
5.6.1.	Immunité à médiation humorale	43
5.6.2.	Immunité à médiation cellulaire	43
5.7.	Pouvoir pathogène expérimentale	44
6.	DIAGNOSTIC	45
6.1.	Diagnostic directe	45
6.1.1.	Choix du prélèvement	45
6.1.2.	Isolement	45
6.1.3.	Examen microscopique	45
6.1.4.	Immunohistochimie	45
6.1.5.	Biologie moléculaire	46
6.1.5.1.	PCR	46
6.1.5.2.	Typage moléculaire	48
6.2.	Diagnostic indirect	49
6.2.1.	Fixation du complément	50
6.2.2.	ELISA	50
6.2.3.	Immunofluorescence	51
6.2.4.	Intradermoréaction	51
7.	TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE	52
7.1.	Traitement	52
7.1.1.	Chez les animaux	52
7.1.2.	Chez l'homme	52

7.2. Prophylaxie	52
7.2.1. En médecine vétérinaire	52
7.2.1.1. Mesures sanitaires	53
7.2.1.2. Vaccination	54
7.2.2. En médecine humaine	54
7.2.2.1. Mesures sanitaires	54
7.2.2.2. Vaccination	55
8. PROBLEMATIQUE	56
9. OBJECTIFS	57
10. MATERIEL ET METHODES	59
10.1. Régions d'étude	60
10.2. Période d'étude	62
10.3. Enquête sur le terrain	65
10.4. Choix des élevages et des animaux	65
10.5. Choix des prélèvements	65
10.6. Laboratoire d'analyses	66
10.7. Méthodes de diagnostic	68
10.7.1. Technique ELISA	69
10.7.2. Technique PCR quantitative	69
10.7.3. Typage moléculaire par technique MLVA	69
10.8. Traitement statistique des données	74
11. RESULTATS ET DISCUSSION	75
11.1. Enquête sur le terrain	76
11.1.1. Description des avortements	76
11.1.2. Pratiques de santé face aux avortements	76
11.1.3. Evaluation de connaissance des éleveurs sur les maladies abortives et zoonotiques	78
11.2. Etude de la séroprévalence	80
11.2.1. Distribution de la séroprévalence par wilaya	81
11.2.2. Séroprévalence à l'échelle des troupeaux	81
11.2.3. Séroprévalence à l'échelle individuelle	84
11.2.4. Valeurs de Densité Optique du test ELISA	89
11.3. Etude de l'excrétion bactérienne par voie vaginale	91

11.3.1. Distribution de l'excrétion bactérienne par wilaya	92
11.3.2. Excrétion bactérienne à l'échelle des troupeaux	92
11.3.3. Excrétion bactérienne à l'échelle individuelle	94
11.3.4. Quantités bactériennes excrétées en PCRq	98
11.4. Diagnostic de la fièvre Q abortive	100
11.5. Relations entre les techniques ELISA et PCRq	101
11.5.1. Concordance entre les 2 techniques	104
11.5.2. Niveau d'excrétion selon différentes classes sérologiques	104
11.6. Typage moléculaire par la technique MLVA	107
12. DISCUSSION GENERALE	131
CONCLUSION GENERALE	135
RECOMMANDATIONS	137
PERSPECTIVES	139
APPENDICES	140
A. Liste des abréviations	
B. Fiche du questionnaire	140
C. Fiche de renseignements	142
D. Technique ELISA	143
E. Technique d'extraction d'ADN	144
F. Technique PCR	148
G. Migration sur système d'électrophorèse capillaire microfluidique	151
I. Résultats obtenus en ELISA et PCRq	155
J. Proportion d'animaux atteints selon le nombre de troupeau	160
REFERENCES	182

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

<b>Figure 4.1</b>	Génome complet de <i>Coxiella burnetii</i>	31
<b>Figure 4.2</b>	Formes de développement de <i>Coxiella burnetii</i> par microscopie électronique	33
<b>Figure 5.1</b>	Cycle de développement de <i>Coxiella burnetii</i> dans une cellule hôte	38
<b>Figure 10.1</b>	Organigramme général de l'étude	61
<b>Figure 10.2</b>	Représentation géographique des régions d'études	64
<b>Figure 10.3</b>	Echantillonnage par wilaya	66
<b>Figure 10.4</b>	Courbes d'amplification sur le lecteur PCRq	71
<b>Figure 10.5</b>	Validation du contrôle externe positif (EPC)	71
<b>Figure 10.6</b>	Apparition des amplicons sur le gel Dye Mix	73
<b>Figure 10.7</b>	Electrophoregramme sur le bioanalyseur AGILENT	73
<b>Figure 11.1</b>	Description des avortements selon les observations des éleveurs	77
<b>Figure 11.2</b>	Mesures hygiéniques appliquées face aux avortements	79
<b>Figure 11.3</b>	Connaissance des maladies abortives et zoonotiques par les éleveurs	81
<b>Figure 11.4</b>	Séroprévalence par wilaya à l'échelle individuelle	82
<b>Figure 11.5</b>	Séroprévalence par élevage	85
<b>Figure 11.6</b>	Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des élevages	86
<b>Figure 11.7</b>	Séroprévalence selon différents critères à l'échelle individuelle	89
<b>Figure 11.8</b>	Moyennes de Densité Optique par élevage	92
<b>Figure 11.9</b>	Taux d'excrétion bactérienne par wilaya	93
<b>Figure 11.10</b>	Taux d'excrétion bactérienne par élevage	95
<b>Figure 11.11</b>	Taux d'excrétion selon différents critères à l'échelle des élevages	96
<b>Figure 11.12</b>	Taux d'excrétion selon différents critères à l'échelle individuelle	98
<b>Figure 11.13</b>	Moyenne d'excrétion bactérienne par élevage	101
<b>Figure 11.14</b>	Implication de la fièvre Q dans les avortements des femelles de petits ruminants	102
<b>Figure 11.15</b>	Concordance entre les résultats positifs de la sérologie et l'excrétion bactérienne par élevage	104
<b>Figure 11.16</b>	Concordance entre les résultats positifs de la sérologie et l'excrétion bactérienne à l'échelle individuelle	105
<b>Figure 11.17</b>	Répartition des résultats obtenus en ELISA et PCRq dans les wilaya étudiées	106

<b>Figure 11.18</b>	Excrétion bactérienne suivant les 3 classes sérologiques	108
<b>Figure 11.19</b>	Dendrogramme des souches algériennes et étrangères (panel 1 et 2)	117
<b>Figure 11.20</b>	Dendrogramme des souches algériennes et étrangères (panel 2)	119
<b>Figure 11.21</b>	Dendrogramme des souches algériennes et étrangères (10 VNTR)	121
<b>Figure 11.22</b>	Principaux axes de déplacement des cheptels de petits ruminants à travers le territoire national	125
<b>Tableau 1.1</b>	Principales enquêtes réalisées chez les petits ruminants dans les pays Méditerranéens	20
<b>Tableau 6.1</b>	Caractéristiques de principales méthodes utilisées pour le typage de <i>Coxiella burnetii</i>	49
<b>Tableau 10.1</b>	Effectifs de petits ruminants par wilaya pour l'année 2012	63
<b>Tableau 11.1</b>	MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de <i>Coxiella burnetii</i>	110
<b>Tableau 11.2</b>	Matrices de similarité basées sur le coefficient de Pearson des différentes souches de <i>Coxiella burnetii</i> (panel 1 et 2)	116
<b>Tableau 11.3</b>	Matrices de similarité basées sur le coefficient de Pearson des différentes souches de <i>Coxiella burnetii</i> (panel 2)	118
<b>Tableau 11.4</b>	Matrices de similarité basées sur le coefficient de Pearson des différentes souches de <i>Coxiella burnetii</i> (10 VNTR)	120
<b>Tableau 11.5</b>	Description des avortements selon les observations des éleveurs	169
<b>Tableau 11.6</b>	Mesures hygiéniques appliquées face aux avortements	170
<b>Tableau 11.7</b>	Connaissances générales des éleveurs sur les maladies abortives et zoonotiques	170
<b>Tableau 11.8</b>	Séroprévalence par wilaya	171
<b>Tableau 11.9</b>	Séroprévalence selon différentes caractéristiques des élevages	172
<b>Tableau 11.10</b>	Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des troupeaux	172
<b>Tableau 11.11</b>	Séroprévalence à l'échelle individuelle	172
<b>Tableau 11.12</b>	Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des troupeaux	173
<b>Tableau 11.13</b>	Excrétion bactérienne par wilaya	174
<b>Tableau 11.14</b>	Excrétion bactérienne avec caractéristiques des élevages	175
<b>Tableau 11.15</b>	Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle des troupeaux	176
<b>Tableau 11.16</b>	Excrétion bactérienne à l'échelle individuelle	177
<b>Tableau 11.17</b>	Quantités bactériennes excrétées par élevage	178
<b>Tableau 11.18</b>	Diagnostic de confirmation de la fièvre Q	179
<b>Tableau 11.19</b>	Résultats obtenus ELISA et PCRq à l'échelle des troupeaux	179

<b>Tableau 11.20</b>	Concordance entre ELISA et PCR à l'échelle individuelle	180
<b>Tableau 11.21</b>	Concordance des résultats d'excrétion bactérienne suivant les 3 classes sérologiques	180
<b>Tableau 11.22</b>	Résultats obtenus en ELISA et PCRq par élevage	181

## INTRODUCTION

La filière de la production animale apparaît comme une solution pertinente à la mise en place d'un système durable de développement. Un des atouts de cette filière est représenté par l'élevage des petits ruminants qui joue un rôle très important non seulement sur le plan économique, mais aussi sur le plan social, puisqu'il représente plus de 92% de l'effectif global des ruminants. Selon les statistiques du Ministère d'Agriculture et du Développement Rural pour l'année 2012, le cheptel ovin est estimé à plus de 25 millions de têtes, dont 15 millions de brebis, plus de 4,5 millions de caprins dont 2,5 millions de chèvres. En effet, ces données rendent cette filière un vrai atout pour le développement non seulement de l'agriculture mais aussi de l'économie du pays [1].

Les troubles de la reproduction représentent un des fléaux les plus graves en matière de production animale ; ceux causés par les maladies infectieuses occupent une place importante [2], parmi elles, *Coxiella burnetii*, bactérie à multiplication intracellulaire obligatoire agent de la fièvre Q, maladie largement signalée à travers le monde [3], se traduisant par des avortements, des mort-nés ou des nouveau-nés affaiblis, de l'infertilité, des rétentions placentaires et des métrites occasionnant ainsi, des pertes économiques considérables [4]. Chez l'homme, le caractère endémique de la maladie, sa gravité ainsi que les épidémies déclarées viennent confirmer que la fièvre Q est un problème de santé publique important [5]. L'impact social de la maladie est en étroite relation avec les populations des régions rurales et certaines zones urbaines à conditions spécifiques [6].

De nos jours, un manque considérable d'informations épidémiologiques, tant en santé animale qu'en santé humaine est à noter. Cet état des lieux ne permet donc pas une estimation précise de l'incidence de la fièvre Q chez les animaux [7]. A l'échelle nationale, très peu d'études ont été réalisées et se sont essentiellement limitées aux enquêtes sérologiques de certaines régions ; à cela, s'ajoute l'absence d'un système de surveillance spécifique à cette maladie, ce qui rend l'évaluation objective de son importance très difficile.

Le problème étant ainsi posé, nous avons décidé donc de commencer avant tout par une synthèse bibliographique devant nous éclairer sur les différents aspects de la fièvre Q animale, à savoir : la répartition géographique ; les manifestations cliniques ; les caractéristiques de la bactérie ; les modalités de transmission ; la physiopathologie de l'infection ; les méthodes de diagnostic et les mesures de prophylaxie.

Ensuite, sur la base des informations recueillies nous avons estimé qu'il est important d'aborder certains aspects relatifs à cette maladie dans notre partie expérimentale à savoir :

- **épidémiologie descriptive** : par le biais d'une enquête sur le terrain auprès des éleveurs relative aux avortements. Cette enquête a été associée à une étude de séroprévalence par la technique ELISA pour déterminer le statut sérologique des troupeaux vis-à-vis de cette maladie.
- **biotechnologies** : le recours à la PCR quantitative est une nécessité afin de déterminer le statut excréteur des animaux en *C. burnetii*. Un typage moléculaire par la technique MLVA pour des comparaisons avec les souches étrangères a été envisagé.

Ces objectifs nous permettent certainement de contribuer à l'établissement d'un plan de lutte adapté à la situation épidémiologique de cette maladie en Algérie.



## CHAPITRE 1

### HISTORIQUE

En 1937, la fièvre Q a été décrite pour la première fois par EDWARD DERRICK, il a été contacté au sujet d'une maladie fébrile qui avait lieu parmi le personnel d'abattoir à BRISBANE (AUSTRALIE), en 1935. Quand les cultures et les tests sérologiques ne révèlent pas un diagnostic, DERRICK soupçonnait une maladie nouvelle. Il décrivait minutieusement la clinique caractéristique et nommait la maladie « Q fever » (fièvre d'origine inconnue). Il a démontré qu'il était possible de transmettre la maladie à des animaux de laboratoire par inoculation avec le sang des humains souffrant d'une fièvre Q aiguë [8].

Bien que DERRICK ait initialement conclu que l'agent infectieux est un virus, l'étude complétée par MACFARLANE BURNET à MELBOURNE a indiqué que l'agent pathogène est une Rickettsies, selon la terminologie utilisée à l'époque [9].

Cependant, DERRICK risquait de ne pas être le premier pour transférer la maladie à des animaux de laboratoire. Un autre chercheur appelé HIDEYO NOGUCHI qui travaillait à l'Institut de ROCKEFELLER à NEW YORK en 1925, a fait passer *C. burnetii* à des cobayes à partir de tiques qui avaient été recueillies au MONTANA. Néanmoins, cet agent microbien, a finalement été perdu après plusieurs passages chez des animaux de laboratoire [10].

Vers la même époque que les enquêtes étaient faites en AUSTRALIE, GORDON DAVIS étudiait la fièvre pourpre des montagnes rocheuses. Il a observé qu'une fébrile maladie provenait des tiques prélevées autour de la proximité de NINE MILE CREEK. Cette maladie produite ne ressemblait pas à la fièvre pourpre des montagnes rocheuses [11]. Ensuite, HERALD COX a été capable de caractériser l'organisme (à l'époque appelé l'agent Nine Mile) comme semblable aux rickettsies et de le cultiver dans le sac vitellin de l'œuf embryonné de poule, il le nommait *Rickettsia diaporica* [12].

La relation entre la fièvre Q et l'agent de Nine Mile a été établie par ROLLA DYER en 1938, dans un événement qui présageait les problèmes de transmission de la

fièvre Q chez les travailleurs de laboratoire, lui-même acquérait une fièvre Q aiguë [13].

DERRICK proposait le taxon *Rickettsia burnetii* en 1948, et CORNELIUS PHILIP proposait que cette bactérie soit considérée comme la seule espèce dans ce genre différent des autres Rickettsies. L'agent responsable de la fièvre Q a été finalement désigné *Coxiella burnetii* en hommage à la fois de COX et BURNET suite à l'isolement et la caractérisation de ce nouvel agent pathogène [14].

Suite à la description clinique et la caractérisation microbiologique de l'étiologie, la maladie a été identifiée dans au moins 51 pays sur les 5 continents [15].

Une première analyse détaillée de plus de 560 publications scientifiques avait été éditée en 1959 par BABUDIERI [16].

En ALGERIE, la première description de la maladie remonte à 1948, dans la région de KSAR EL BOUKHARI chez des soldats français, par la suite, des foyers ont été signalé en 1955 et 1957 à l'est du pays et en 1958, à l'ouest. En 1955, un foyer de fièvre Q humaine a été signalé chez des soldats français, après un transport dans un train qui fait déplacer des petits ruminants dans la même région [17].

La fièvre Q a connu de nombreux synonymes, les plus utilisés sont : Coxiellose ; grippe Balkanique ; fièvre de l'OLYMPE ; fièvre des 7 jours ; pneumonie de CRETE ; Maladie de DERRICK et BURNET ; NINE MILE CREEK fever.

## CHAPITRE 2

### EPIDEMOLOGIE DE LA FIEVRE Q

#### **2.1. Fréquence et répartition géographique**

La difficulté de connaissance de la fièvre Q et son estimation est un problème soulevé à l'échelle internationale [18]. Récemment, les chercheurs ont commencé la recherche de la prévalence réelle de la maladie, car presque la plupart des anciens travaux avaient des objectifs complètement différents. Ils visaient à mesurer le degré d'implication de la maladie dans les troubles de la reproduction [19], ainsi que l'étude des différentes voies d'élimination du germe dans le milieu extérieur [20, 21]. Puisque les formes inapparentes sont très fréquentes, ceci contribue à la sous-estimation de l'importance de la prévalence chez les animaux de rente [5].

#### **2.1.1. Chez les petits ruminants**

En fièvre Q animale, les connaissances sont limitées, ceci est peut être due à la fiabilité controversée pour son diagnostic, surtout de la complexité de l'épidémiologie animale ainsi que la multitude des voies de transmission possible [6]. Actuellement, la fièvre Q chez les petits ruminants fait l'objet de nombreuses recherches, en raison de son implication prouvée dans les foyers humains [22].

Le tableau 1.1 indique les principales enquêtes réalisées chez les petits ruminants dans certains pays Méditerranéens :

**Tableau 1.1** : Principales enquêtes réalisées chez les petits ruminants dans les pays Méditerranéens

Pays	Année	Espèce	Prévalence (%)	Echantillonnage	Prélèvements	Test	Références
<b>ALGERIE</b>	2011	Ov.	18	jeunes animaux	sérum	ELISA	[23]
	1984	Cp.	3	aléatoire	sérum	FC	[24]
<b>TUNISIE</b>	2005	Ov.	6,7	aléatoire	sérum	FC	[25]
			11,7	femelles ayant avortées			
<b>MAROC</b>	1995	Ov.	3,9	mise-bas normale	sérum	FC	[26]
			7,2	femelles ayant avorté			
<b>EGYPTE</b>	2007	Ov.	22,5	aléatoire	sérum	IFI	[27]
		Cp.	16,8				
<b>FRANCE</b>	2009	Cp.	75	femelles excrétrices	sérum	ELISA	[21]
			73			IFI	
			61			FC	
<b>ESPAGNE</b>	2009	Ov.	8,9	sur 24 cheptels testés	sérum	ELISA	[28]
	2010	Ov.	11,8	aléatoire	sérum	ELISA	[29]
Cp.		8,7					
<b>ITALIE</b>	2004	Ov.	9	femelles ayant avorté	sérum	ELISA	[30]
		Cp.	13				
<b>TURQUIE</b>	2000		10,5	aléatoire	sérum	IFI	[31]
	2004	Ov.	6,5	antécédent d'avortements	lait	PCR	[32]
			0	pas d'antécédent	lait	PCR	
	2010		20	jeunes animaux	sérum	ELISA	[33]
<b>ALBANIE</b>	2008	Ov.	3,1	aléatoire	sérum	ELISA	[34]
		Cp.	18,7				
<b>CHYPRE</b>	2006	Ov.	18,9	aléatoire	sérum	IFI	[35]
		Cp.	48,2				
<b>GRECE</b>	2009	Ov.	10,4	aléatoire	sérum	IFI	[36]
		Cp.	6,5				

Ov. espèce ovine

Cp. espèce caprine

### **2.1.2. Chez l'homme**

La fièvre Q humaine a été reportée à travers le monde entier à l'exception de la NOUVELLE ZELANDE et la région ANTARCTIQUE et beaucoup d'enquêtes épidémiologiques essaient de trouver le lien entre l'infection humaine et celle des animaux domestiques et sauvages [7].

Dans les régions sub-sahariennes d'AFRIQUE, les manifestations cliniques de la fièvre Q chez les enfants sont similaires à la malaria. Dans les zones où la malaria est endémique, la plupart des fièvres sont attribuées au *Plasmodium falciparum* et par conséquent, les enfants subissent des traitements onéreux [37]. Cependant, les taux de prévalence enregistrés à travers le continent africain sont sérieux :

- **ALGERIE** : la séroprévalence globale a été estimée à 18,5%, variant de 7,7% en ville à 35% en zone rurale [38]. Une étude ancienne a révélé un taux de 15% chez les travailleurs d'abattoirs à Alger et 20% chez les enfants moins de 16 ans dans la région du Hoggar [24].
- **TUNISIE** : 26% de séroprévalence a été enregistré à travers le pays [39]. Dans le centre-est du pays, 55 cas ont été confirmés durant 10 ans [40].
- **MAROC** : un taux de 1% a été signalé à l'ouest et 18,3% dans la région du centre [41].
- **MAURITANIE** : un taux d'atteinte de 33% a été enregistré [42].

En EUROPE, on assiste à une augmentation de l'incidence de la maladie et du nombre d'épidémies, parmi les pays les plus touchés, on peut citer :

- **PAYS-BAS** : depuis 2007, plusieurs vagues de cas humains sont survenues, constituant le plus important épisode de fièvre Q chez l'homme jamais rapporté sur le plan international, 982 et 2305 cas confirmés en 2008 et 2009. Les troupeaux caprins incriminés ont fait l'objet de mesures de plus en plus drastiques [43].
- **FRANCE** : la fréquence de la maladie n'est pas connue avec précision car la fièvre Q n'est pas une maladie à déclaration obligatoire. A partir des études séro-épidémiologiques hors épidémies, le taux d'attaque a été estimé à 1cas/1000 habitants/an. Une enquête sérologique chez les donneurs de sang a enregistré une prévalence de 4,1% (38 cas sur 924 individus testés) [44].

- **ALLEMAGNE** : une étude récente a refait le point sur 40 épidémies entre 1947 et 1999. Les auteurs notent que ces épidémies sont de plus en plus urbaines. 24 épidémies étaient liées à des ovins, 6 épidémies étaient dues à des bovins, les 2 plus anciennes sont survenues dans des laboratoires de recherche, tandis que pour 8 épidémies, aucune source n'a pu être suspectée [45].

## **2.2. Réservoir biologique**

L'étude de l'épidémiologie de *Coxiella burnetii* chez les animaux est compliquée parce que la plupart des animaux et surtout les ruminants se sont révélés séropositifs vis-à-vis de cette bactérie lorsque la recherche a été effectuée [46, 47].

Une large variété des animaux peuvent être infectés par *C. burnetii* : chevaux ; dromadaires ; porcins ; lapins ; souris et autres rongeurs ; buffles ; primates ; reptiles ; amphibiens ; oiseaux domestiques (poulets ; pigeons ; dindes ; canards et oies) et sauvages ; poissons et marsupiaux [16, 47, 48]. Par ailleurs, les chiens [49] et les chats [50] pourraient expliquer en partie les cas de fièvre Q en zone urbaine. Récemment, *C. burnetii* a été isolée chez les mammifères marin, à partir de placenta de phoque [51].

## **2.3. Modalités de transmission**

### **2.3.1. Chez les animaux**

#### **a. Voie respiratoire**

La plupart des cas de fièvre Q résulte de l'inhalation d'aérosols ou de poussières contaminés à partir des parturientes ou de ruminants abattus [48, 52]. Un placenta infecté par *Coxiella burnetii* abandonné à l'extérieur peut infecter des troupeaux à plusieurs kilomètres de distance [53].

#### **b. Voie digestive**

La contamination des ruminants par voie orale faite suite à l'ingestion d'aliments souillés par les produits de parturition, mais elle n'est pas considérée comme une

voie importante. Les travaux de DURAND (1993) ont démontré une moins grande sensibilité du cobaye par cette voie [54]. Cependant, une étude a prouvé que le lait de brebis infectées n'avait pas constitué une source de contamination pour les agnelles [55].

### **c. Par les insectes**

La transmission de *Coxiella burnetii* par les tiques est également possible. On compte plus de 40 espèces de tiques qui sont naturellement infectées par la bactérie puisqu'ils peuvent l'ingérer au moment de leurs repas sanguins. Donc, les excréta des tiques infectées sont considérés comme une source possible de transmission car la charge microbienne peut être élevée [56].

Les mouches aussi possède un rôle non négligeable dans la transmission surtout mécanique de la fièvre Q. Parmi les espèces incriminées, on peut citer : *Musca domestica* ; *Melophagus ovinus* et *Stomoxys calcitrans* [57].

### **d. Voie vénérienne**

*Coxiella burnetii* peut être isolée à partir de sperme, mais la transmission sexuelle de l'infection, si elle est possible ne joue pas un grand rôle dans l'épidémiologie de cette maladie parce qu'elle dissémine beaucoup moins efficacement l'agent infectieux que l'excrétion au moment de l'avortement [58].

### **e. Transfert embryonnaire**

Des études récentes ont démontré la présence de *Coxiella burnetii* au niveau de la zone pellucide des embryons de caprins [59] et de bovins [60], ce qui pourrait impliquer le transfert embryonnaire dans la transmission de la bactérie entre les femelles donneuses infectées et les femelles saines et leurs descendants.

### **2.3.2. Chez l'homme**

#### **a. Voie respiratoire**

La voie la plus fréquente d'infection par *Coxiella burnetii* est la voie respiratoire. La maladie apparaît après inhalation d'aérosols provenant d'animaux abattus ou des parturientes, au niveau des élevages, des abattoirs, voir même des laboratoires où ces animaux ou leurs organes ont été étudiés. Les aérosols peuvent provenir de liquides infectés tels que les liquides accompagnants la délivrance, l'urine, les fèces et le lait [48, 52].

Une autre probabilité de transmission est liée à l'inhalation de fèces de tiques si elles contiennent une charge importante de bactéries [61].

#### **b. Voie digestive**

L'ingestion de lait cru contaminé conduit à une séroconversion positive et non pas à des manifestations cliniques de fièvre Q [62].

#### **c. Autres voies**

Il existe davantage des voies qualifiées comme mineures dans la transmission de la fièvre Q humaine, citons :

- la voie foëto-maternelle chez les femmes enceintes [63];
- la morsure de tique [64];
- la transfusion sanguine [65];
- directe de personne en personne ou après autopsie [66];
- la transplantation de rein, d'os ou de cœur [67] ;
- le contact sexuel [68].



## **2.4. Propagation**

### **2.4.1. Transhumance**

Le fait d'avoir assisté à une transhumance représente un facteur de dissémination de *Coxiella burnetii*, plusieurs épidémies le confirment, on peut citer :

- **SUISSE** : au niveau du VAL DE BAGNES, en 1983, 415 cas ont été diagnostiqués après le passage d'une transhumance de 900 ovins [69].
- **ITALIE** : en 1996, dans la région de VICENZA, l'enquête a mis en évidence le rôle de troupeaux d'ovins qui avaient traversés la zone de l'épidémie, 53 cas ont été confirmés [70].
- **FRANCE** : à l'an 2002, en VALLEE DE CHAMONIX où l'on a pu rapprocher la maladie du fait d'avoir eu des contacts avec les ovins ou d'avoir assisté à une transhumance, le nombre de cas était 89 [71].

### **2.4.2. Vent**

Le rôle du vent dans la dissémination de *Coxiella burnetii* a été très bien élucidé, c'est ainsi qu'on a pu expliquer les cas de maladie non liés au contact avec les animaux. On estime que l'agent pathogène peut déplacer pour une distance de 40km [72]. L'exemple le plus connu est l'épidémie de 1989 en Angleterre, 147 cas confirmé de fièvre Q ont été lié à la propagation du vent à partir d'une zone rurale envers une zone urbaine [73].

## CHAPITRE 3

### CLINIQUE

#### **3.1. Chez les ruminants**

Théoriquement, les manifestations cliniques de la fièvre Q chez les animaux infectés dépendent de plusieurs éléments : espèce ; âge ; sexe ; statut immunitaire de l'hôte ; souche bactérienne ; dose de l'inoculum et voie de transmission [52].

Peu de manifestations cliniques sont associées à la fièvre Q animale. La maladie est responsable de troubles de la reproduction chez les bovins, ovins et caprins : avortement tardifs ; mort-nés ou nouveau-nés affaiblis ; infertilités ; rétentions placentaires et métrites [74, 75, 76].

Lors du premier contact de la bactérie avec un troupeau, une vague d'avortements est observée sur des femelles gestantes, puis, l'enzootie évolue de façon périodique et le nombre d'avortements diminue. Dans l'ensemble, les avortements sont plus fréquents chez les petits ruminants que chez les bovins, pour cette dernière, la maladie peut provoquer encore des pneumonies qui peuvent toucher une part importante de l'effectif et précèderaient lorsqu'ils existaient l'épisode abortif, suivis par la suite par de l'infertilité [77] et plus rarement des métrites [78]. Cependant, les avortements enzootiques ont été beaucoup plus chez les caprins où les avortements précoces font l'exception [79]. Les rétentions placentaires sont rares, mais plus fréquentes chez les chèvres et les vaches [53].

Concernant les lésions associés aux avortements, le placenta devient œdématisé et parfois autolysé, avec apparition normale des cotylédons. Les zones intercotylédonaires peuvent être œdématisées et épaissies, avec parfois un exsudat jaunâtre. A l'échelle microscopique, on peut observer une placentite, une vasculite placentaire voir même une thrombose [62, 79, 80]. La réponse immunitaire au cours de la fièvre Q est associée à une réaction inflammatoire qui entraîne la formation de lésions granulomateuses impliquant le plus souvent les poumons, le foie et la moelle osseuse. Bien que les lésions histologiques ne soient pas spécifiques, *Coxiella burnetii* induit dans les organes atteints des

granulomes centrés par une vacuole lipidique avec couronne fibrinoïde [81]. Quant à l'avorton, il est souvent normal, mais en raison du délai entre la mort du fœtus et l'avortement, il peut parfois être autolysé ou momifié. Dans certains cas, on peut observer une congestion du foie [79].

### **3.2. Chez l'homme**

L'infection à *Coxiella burnetii* est asymptomatique pour environ 50% des cas sinon, elle se manifeste par des formes aiguës ou chroniques [82].

#### **a. Forme aiguë**

La période d'incubation varie entre 2 à 3 semaines, avec des extrêmes de 4 jours jusqu'à 6 semaines. Habituellement, la fièvre Q aiguë évolue sous 3 formes [83, 84] :

- **syndrome pseudo-grippal** : il comporte une fièvre très élevée, d'apparition brutale et pouvant être associée à des maux de tête, une asthénie et des myalgies. La fièvre peut durer assez longtemps pour être considérée comme une fièvre prolongée d'origine indéterminée.
- **pneumonie** : la plupart des cas sont modérés avec une toux non productive et des anomalies auscultatoires minimales. L'association à un épanchement pleural, voire même une détresse respiratoire aiguë est possible.
- **Hépatite** : avec une hépatomégalie parfois douloureuse mais rarement un ictère, ces manifestations sont associées à une augmentation du taux de transaminases sériques.

Puisque ses symptômes sont non spécifiques et variables, le diagnostic est souvent raté. Des cas de nécrose de moelle osseuse [85], lymphoadénopathie [86], diarrhée [87], anémie hémolytique [88], éruptions fébriles, myocardite, péricardite, phlébite et méningo-encéphalite ont été signalés [89]. À cela, la maladie peut être responsable chez les femmes enceintes d'avortements ou des fausses couches à répétition [63].

## **b. Forme chronique**

L'endocardite est présente dans 60 à 70 % des cas. La forme chronique peut avoir lieu un mois jusqu'à plusieurs années après avoir manifesté la forme aiguë, voir même en cas d'absence d'antécédents de cette forme [83, 90]. Occasionnellement, la maladie peut provoquer une ostéomyélite, hépatite et fièvre prolongée [91].

## **c. Séquelles à long terme**

Un ensemble de symptômes a été rapporté sous le nom de « Syndrome de fatigue chronique » [85, 92] :

- fatigue inappropriée ;
- sueur nocturne ;
- myalgie ;
- arthralgie ;
- changements d'humeur ;
- interruption de sommeil ;
- perte de la libido.

## CHAPITRE 4

### BACTERIOLOGIE

#### 4.1. Systématique

Les études phylogénétiques basées sur le séquençage de la sous unité 16S de l'ARNr ont prouvé certaines apparentés entre *Coxiella burnetii* avec les genres *Legionella*, *Francisella* et *Rickettsiella*. Actuellement, elle est classée dans [93] :

- **phylum** : *Gammaproteobacteria* ;
- **ordre** : *Legionellales* ;
- **famille** : *Coxiellaceae* ;
- **genre** : *Coxiella*
- **espèce** : *C. burnetii* (seule espèce présente).

#### 4.2. Caractères morphologiques

*Coxiella burnetii* est une bactérie intracellulaire obligatoire. Il s'agit de petites cocci pléomorphe (0,4 à 1µm de longueur et 0,2 à 0,4µm de largeur) [61].

Leur surface est composée de 3 membranes ressemblant celles des bactéries à Gram négatif puisqu'elle contient [94] :

- une membrane externe, très riche en lipopolysaccharide (LPS) et protéines ;
- le peptidoglycane ;
- une membrane interne.

*C. burnetii* possède un gène similaire à celui découvert chez *Escherichia coli* qui est responsable de la production de la capsule, ceci suggère que cette bactérie peut posséder cette capacité sous certaines circonstances [95].

### **4.3. Génétique**

#### **4.3.1. Génome**

Le génome de *Coxiella burnetii* est composé d'un chromosome circulaire de 1,5 à 2,4 Mb et un plasmide facultatif de 36 à 42 Kb dont la fonction est encore indéterminée. La taille du génome est variable entre les différentes souches [96].

Les mouvements des éléments du gène *IS* intervenaient dans la plasticité génomique de *C. burnetii* avec la présence de 83 pseudogènes [97, 98]. Les études d'hybridation ADN-ADN ont montré que les souches sont homogènes et la variation génétique dans cette bactérie est à l'origine géographique [99].

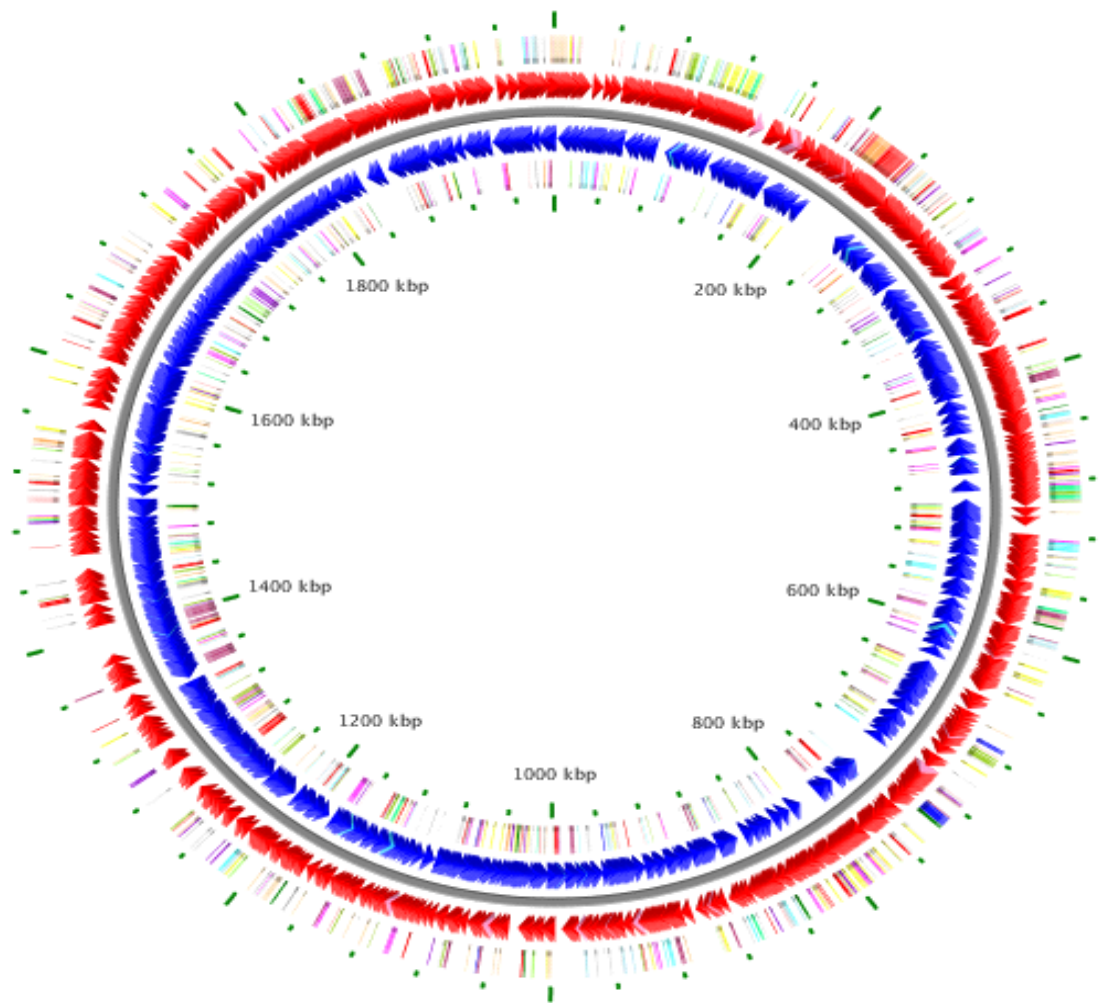
Le pourcentage de G+C est égal à 42 à 43% [98].

#### **4.3.2. Plasmide**

Certaines souches possèdent des plasmides, mais ce n'est pas encore prouvé qu'il code pour certains facteurs de virulence. Bien que des plasmides étaient présents uniquement dans certaines souches de *Coxiella burnetii* isolées à partir de cas humains d'endocardites et d'avortements chez les caprins. En contrepartie, d'autres plasmides marquent leur présence uniquement dans les infections aiguës [100, 101, 102].

Les plasmides isolés à ce jour sont :

- **QpH<sub>1</sub>** : isolé à partir de la souche Nine Mile, sa taille est de 36 Kb ;
- **QpR<sub>s</sub>** : isolé de la souche Prescilla, sa taille est de 39 Kb ;
- **QpDG** : celui à 51 Kb a été isolé à partir de la souche Dugway et celui à 40 Kb à partir des cas chronique de fièvre Q ;
- **QpDV** : il y en a 2, l'un avec une taille de 33,5 Kb et l'autre avec 56 Kb ;



Premier cercle : les régions codantes du brin (+), en violet : la biosynthèse des acides aminés ; en vert clair : enveloppe cellulaire ; en bleu clair : biosynthèse des cofacteurs des groupes prosthétiques et transporteurs ; en rouges : processus cellulaires ; en marron : métabolisme intermédiaire ; en jaune : métabolisme de l'ADN ; en gris clair : métabolisme énergétique ; en magenta : acides gras et métabolisme des phospholipides ; en rose : synthèse des protéines ; en orange : purines, pyrimidines, nucléosides, nucléotides ; en vert olive : fonction de régulation et de transduction du signal ; en vert sombre : de transcription, des protéines ; en sarcelle : fonction de transport et de liaison ; en gris : fonction inconnue ; en saumon, d'autres catégories ; en bleu : protéine hypothétique. Deuxième cercle : les régions codantes du brin (-) ; Troisième cercle : les pseudogènes en vert ; Quatrième cercle : IS éléments en rouge ; Cinquième cercle : gènes d'ARNt en violet ; Sixième cercle : gènes de l'ARNr en brun foncé ; Septième cercle : composition tri nucléotide en noir ; Huitième cercle : GC skew curves en bleu (résidus positifs) et en gris (résidus négatifs).

**Figure 4.1** : Génome complet de *Coxiella burnetii*, souche Nine Mile RSA 493 [99]

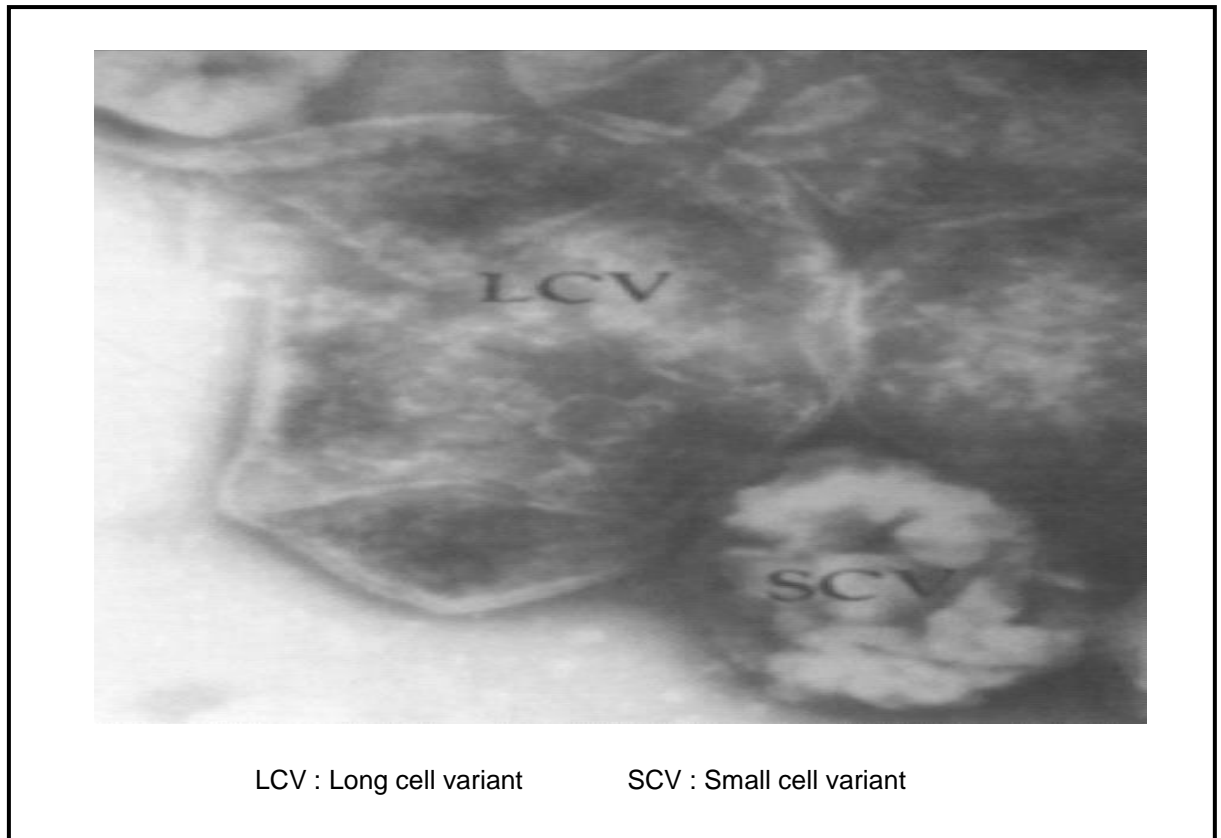
#### **4.4. Cycle de développement**

Il existe 3 formes cellulaires chez *Coxiella burnetii* qui sont associées à différents stades du cycle de développement [103, 104] :

- **Large Cell Variant (LCV)** : c'est une variante à grandes cellules, (0,2µm de large et 1 à 2µm de longueur), elle représente la forme infectieuse de la bactérie. Elle se retrouve dans le compartiment intracellulaire et se multiplie pour donner d'autres LCV, ou bien les 2 autres formes.
- **Small Cell Variant (SCV)** : il s'agit d'une cellule métaboliquement peu active, avec une taille de 0,2µm de large et 0,5µm de longueur. Elle représente la forme de résistance et l'infection persistante chez l'hôte.
- **Small Dense Cell (SDC)** : appelée pseudo-spore, elle représente le précurseur de la forme extracellulaire. C'est un variant compact de petite taille (0,4µm de large sur 0,7µm de longueur), qui constitue la forme extrême de résistance de la bactérie, retrouvé à l'intérieur de la cellule infectée ou dans le milieu extérieur.

La SCV se développe à partir d'une LCV suite à une division cellulaire asymétrique. Elle se distingue de la LCV par sa forme en tige régulière, une épaisse couche de peptidoglycane et des protéines entre les deux couches de l'enveloppe cellulaire, avec un nucléoïde condensé. Les LCV sont beaucoup plus polymorphes, possèdent des nucléoïdes dispersés et granuleux ou parfois fibrilles dans leur cytoplasme [103]. La condensation ou la dispersion du nucléoïde peut être associée à la présence de petites protéines de 20 kDa qui se lie à l'ADN. Un certain nombre de protéines, qui sont exprimés différemment dans les SCV et LCV ont été décrites. La ScvA et la HQ1 sont des protéines SCV spécifiques qui sont localisées dans le cytoplasme. Ces protéines sont supposées avoir des rôles structuraux dans la formation du nucléoïde condensé de la forme SCV [105].





**Figure 4.2 :** Formes de développement de *Coxiella burnetii* par microscopie électronique [106]

## **4.5. Caractères antigéniques**

### **4.5.1. Variation de phase**

Les séries de passages répétés dans des cultures cellulaires ou dans des œufs embryonnés produit des souches atténuées rugueuses ou de phase II à partir des souches virulentes ou de phase I de *Coxiella burnetii*. Ce phénomène est comparable à celui observé chez les *Enterobacteriaceae* [107]. Il s'agit d'une mutation au niveau des gènes codant pour les enzymes qui synthétisent le LPS [108]. La phase II a la propriété de se multiplier rapidement *in vitro* mais, *in vivo*, elle est sensible à l'activité du complément. Cependant, la phase I est la forme infectieuse retrouvée dans la nature, la conformation de son LPS rend la bactérie résistante *in vivo* à l'action du complément par absence de la fixation de la fraction C3b, et en bloquant ainsi l'accès des anticorps à la surface bactérienne [109].

#### **4.5.2. Constituants antigéniques**

**a. Chaîne-O** : elle représente l'antigène dominant de la réponse immunitaire. Le LPS de *Coxiella burnetii* en phase I contient des sucres qui sont absents au niveau de celui en phase II, ces sucres ont été identifiés, il s'agit du L-virinose (6-deoxy-3-C-méthyl-gulose), du dihydrohydroxystreptose (3-C-hydroxyméthyl-pentose) et du galactosaminuronyl- $\alpha$ (1,6)-glucosamine. Par contre, le LPS de *C. burnetii* en phase II ne contient que 2 sucres qui sont le D-mannose et le D-glycero-D-manno-heptose [110].

**b. Lipide A** : il contient beaucoup plus de chaîne acyl (16-C) relativement à d'autres bactéries à Gram négatif [111].

#### **4.5.3. Communautés antigéniques**

*Coxiella burnetii* possède des communautés antigéniques avec [112] :

- *Bartonella henselae* ;
- *Bartonella quintana* ;
- *Chlamydia trachomatis* ;
- *Chlamydia pneumoniae* ;
- *Chlamydia psittaci*.

#### **4.6. Culture**

Au début, la culture de *Coxiella burnetii* s'effectuait au niveau des sacs vitellins des œufs embryonnés de poules. Par la suite, plusieurs types de cultures cellulaires se sont mis en usage, les plus connus sont :

- **Vero** : cellules épithéliales de rein de singe vert d'Afrique [113];
- **BHK-21** : fibroblaste de rein d'hamster [114] ;
- **L-929** : fibroblaste murin [94] ;
- **HEL** : fibroblaste de poumon d'embryon humain [115] ;
- **HeLa** : cellules épithéliales d'un carcinome du col de l'utérus humain [116];
- **CHO** : fibroblaste d'ovaire d'un hamster chinois [117].

La culture du germe est relativement lente et le temps de génération n'est jamais inférieur à 8 heures [118]. Le ralentissement de la croissance de *C. burnetii* est supposé être un reflet de la copie opéron ARNr unique, puisque la présence d'un faible nombre de copies de l'opéron ARNr est une tendance chez les bactéries à croissance lente, y compris d'autres bactéries intracellulaires obligatoires [119].

#### **4.7. Métabolisme**

*Coxiella burnetii* se caractérise par un métabolisme acidophile, parce que la plupart de ses mécanismes de transport requis pour l'acquisition d'éléments nutritifs nécessaires à partir des vacuoles fonctionnera dans un pH de 3,0 à 5,0 [120].

##### **a. Métabolisme des glucides**

*C. burnetii* est capable d'utiliser le glucose, probablement par voie oxydative d'EMBDEN MEYERHOF-PARNAS. Toutefois, le manque d'enzymes de la voie initiale (la glucokinase ou bien le système de phosphotransférase qui peut transformer le glucose en glucose-6-phosphate) est remplacé par une trans-phosphorylation du glucose par voie carbamoyle phosphate dépendante [121].

##### **b. Métabolisme des acides aminés**

*C. burnetii* se caractérise par une forte auxotrophie envers plusieurs acides aminés. L'activité de captation des acides aminés extracellulaires et leurs précurseurs se fait probablement grâce à un groupe de 13 transporteurs dérivants de l'hydrolyse des complexes protéiques par les protéases lysosomales et d'autres enzymes sécrétées par *C. burnetii* [97].

##### **c. Métabolisme des lipides**

*C. burnetii* manque de MEP (2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate), voie de biosynthèse de l'isoprénoïde qui représente un élément en commun aux bactéries Gram négatif. Cette bactérie synthétise 2 stérole-réductases (CBU1158 et

CBU1206) qui sont extrêmement rare chez les procaryotes [122]. Leur rôle probable soit la conversion des précurseurs du cholestérol pour la formation de la vacuole paracithophore (VP) [123].

#### **4.8. Résistance**

##### **a. Survie dans le milieu extérieur**

A +4°C, la viabilité de *Coxiella burnetii* est conservée pendant 1 an ou plus dans les vecteurs passifs tels que les excréments séchés de tiques, la laine, ainsi que l'eau non chlorée. La bactérie peut persister 5 mois dans les sols et 4 mois dans la poussière. Au niveau des denrées alimentaires, la survie bactérienne est maintenue plus de 42 mois à +4°C dans le lait, pour la viande, elle reste infectée pendant au moins 1 mois dans une température de conservation [43, 124, 125].

##### **b. Résistance aux agents physiques**

Relativement à d'autres bactéries à multiplication cellulaire obligatoire, *Coxiella burnetii* possède une résistance élevée envers les stress environnementaux telles que : la température élevée ou basse (allant jusqu'à -20°C) ; la pression osmotique (pH supérieur à 4,5) et les ultraviolets. L'inactivation totale n'est pas toujours réalisée par l'exposition à 63 °C pendant 30 min, ou 85-90 C° pendant quelques secondes [62, 126]. Leur destruction par les rayons gamma nécessite une dose de  $6,6 \times 10^5$  rads. Pour les sérums, la dose doit être égale à  $5,5 \times 10^6$  rads [127].

##### **c. Résistance aux agents chimiques**

*Coxiella burnetii* est résistante aux désinfectants usuels tels que le formol à 0,5%, l'eau de Javel à 0,5%, l'eau oxygénée à 5% et le phénol à 1%. Cette bactérie est rapidement inactivée par l'éther diéthylique, mais pas par l'éthanol. Également, elle est résistante au formaldéhyde utilisé sans humidité, mais devient sensible lorsqu'il est utilisé avec 80% d'humidité [126, 127].

#### **d. Résistance aux antibiotiques**

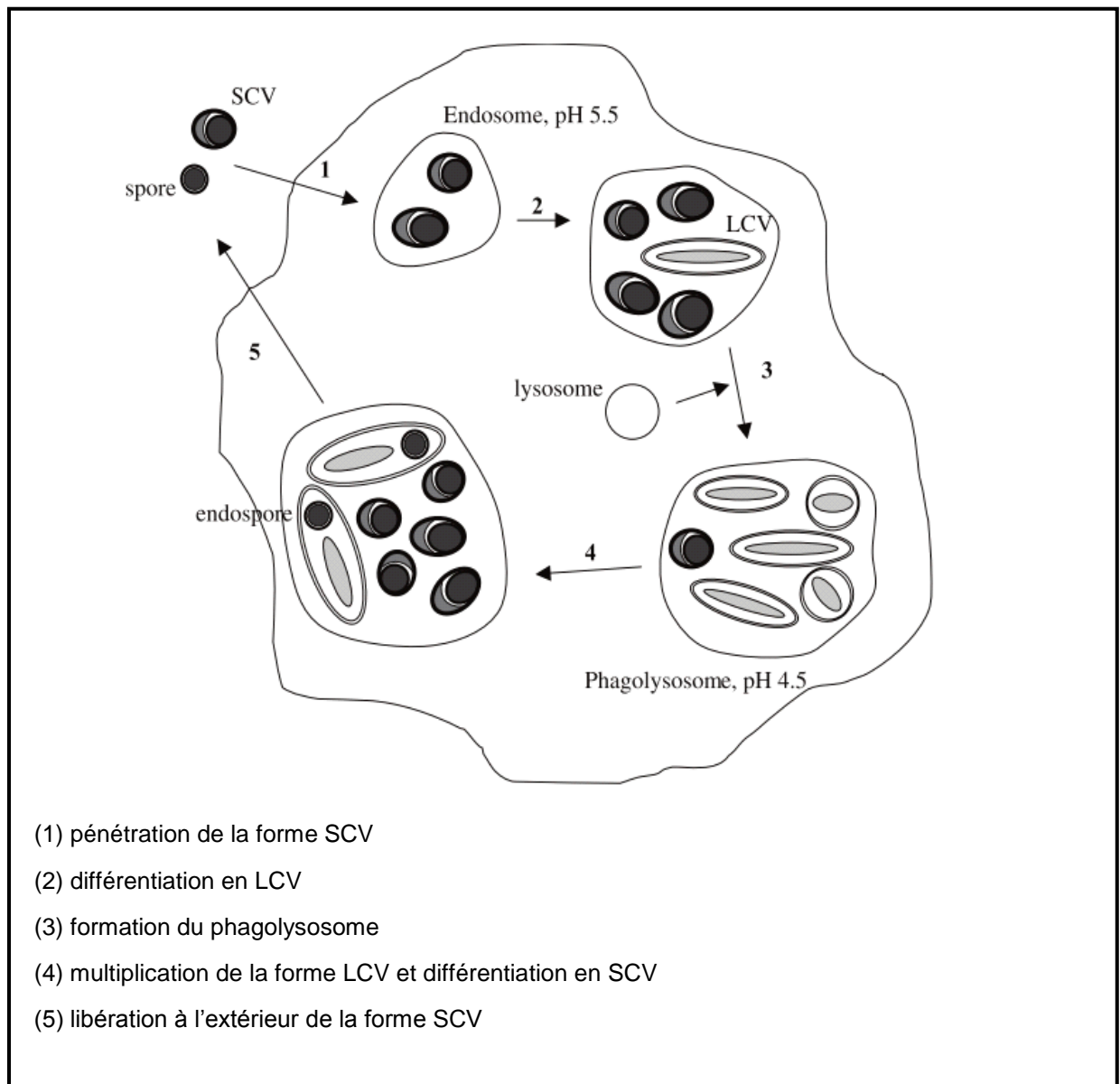
L'activité bactériostatique a été démontré pour les souches Nine Mile et Priscilla avec la doxycycline (10 mg/ml), la rifampicine (1 mg/ml) et l'ofloxacine (10 mg/ml). Cependant, on utilise des cultures cellulaires de type L929 pour tester la sensibilité de *Coxiella burnetii* envers les antibiotiques [128].

## CHAPITRE 5

### PHYSIOPATHOLOGIE

#### 5.1. Pathogénie

Les différentes étapes du cycle de survie de *Coxiella burnetii* sont mentionnées dans la figure 5.1.



**Figure 5.1** : Cycle de développement de *Coxiella burnetii* dans une cellule hôte  
[129]

### **a. Pénétration**

L'infection des animaux et de l'homme survient le plus souvent par voie aérienne, dans certains cas, par voie digestive, en conséquence, les premières cibles de la bactérie sont les macrophages alvéolaires dans les poumons et les cellules de Kupffer dans le foie. Cependant, la bactérie a été effectivement retrouvée dans les monocytes du sang et les macrophages de nombreux autres organes tels que : rate ; moelle osseuse ; pancréas ; cœur et autres ganglions. Chez les mammifères femelles, une particularité est rencontrée quant à la localisation préférentielle de *C. burnetii* au niveau de l'utérus et les glandes mammaires [130]. L'adhérence de la bactérie apparaît être un phénomène passif, puisque les bactéries inactivées pénètrent avec les mêmes proportions que les bactéries vivantes [131].

### **b. Internalisation**

Après attachement des bactéries au niveau de récepteurs cellulaires qui sont spécifiques selon la phase bactérienne, leur internalisation dans les monocytes et les macrophages se fait par endocytose. Les bactéries de phase I interagissent avec l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  tandis que les bactéries de phase II font intervenir l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  et le récepteur du complément CR3. Cependant, d'autres facteurs, tel que l'hydrophobicité, permettraient une meilleure internalisation des bactéries de phase II [132].

Une réorganisation du cytosquelette d'actine a été observée après l'interaction des bactéries de phase I avec leur récepteur, ce qui induira des protubérances au niveau du site d'attachement de la bactérie et donc, son internalisation par endocytose. Puisque ce phénomène n'a pas été observé chez les bactéries de phase II, ça pourrait également expliquer les différences observées au niveau du taux d'internalisation de *C. burnetii* dans les 2 phases [133].

### **c. Fusion et multiplication**

Une fois à l'intérieur de la cellule, le phagosome contenant les bactéries fusionneraient avec les lysosomes et forme une VP décrivant similairement à un lysosome secondaire. C'est à partir de ce stade que les SCV vont se différencier

en LCV. La multiplication de *C. burnetii* se fait en grand nombre dans les VP qui ont les caractères du phagolysosomes. Leur pH avoisinant 5 active le métabolisme de la bactérie et initie sa réplication [134]. Par la suite, le phagosome qui est riche en LCV, se condensent en SCV ou initient une sporogénèse qui aboutisse à la formation des formes SDC (appelées encore pseudospores) et continue à interagir avec la voie autophagique et endosomale de la cellule. Cette forme confère les propriétés de conservation et de dissémination de la bactérie, retrouvée à l'intérieur de la cellule infectée ou en condition extracellulaire, elle est à l'origine de la plupart des infections naturelles et revêt ainsi une importance cruciale en prophylaxie sanitaire [135].

Il a été démontré que *C. burnetii* possède une activité phosphatase acide qui pourrait expliquer sa capacité à inhiber l'action oxydative des polynucléaires neutrophiles [136]. En outre, *C. burnetii* possède la superoxyde dismutase, la catalase et les CbMip (macrophage infectivity potentiator) qui lui confèrent une protection contre les effets microbicides des intermédiaires réactifs de l'oxygène des cellules hôtes [137]. A ces enzymes, s'ajoutent 2 alkyl hydroperoxide reductases (AhpC et A hpD) qui jouent un rôle protecteur lorsque le gène codant la catalase est inactif ou bien tronqué [138].

*In vitro*, l'exposition de *C. burnetii* à un environnement acide peut déclencher la synthèse d'un certain nombre de protéines [139]. Cette activation est supposée refléter la production initiale des protéines *in vivo* et donc, elles représentent un outil pour étudier leur importance pour la phase précoce de l'infection. Parmi eux, il existe la protéine de choc thermique Hsp62 et Hsp71 [140].

La valeur du point isoélectrique pI moyen de protéines synthétisées par *C. burnetii* est de 8,25, dont 45% ont un (pI) supérieur ou égal à 9, comparativement à d'autres bactéries intracellulaires telles que : *Mycobacterium tuberculosis*; *Brucella suis* et *Chlamydia trachomatis* avec un pI moyen de 7,24 à 7,40. Cependant, l'expression d'un nombre élevé de protéines basiques permettrait à la bactérie de survivre dans le phagolysosome qui représente un environnement hostile aux bactéries [98].



#### **d. Physiopathologie d'avortement**

Une forte multiplication bactérienne a été observée, dans les cellules trophoblastiques, la semaine précédant l'avortement. Cette colonisation du placenta par les bactéries pourrait déclencher des avortements, des mortinatalités, des mise-bas prématurées ou la naissance d'animaux chétifs [140]. Ces observations cliniques ont été rapportées spécialement chez les petits ruminants et occasionnellement chez les bovins [141, 142].

D'après TOURATIER et al., (2007) [143] et SIDI-BOUMEDINE et al., (2010) [144], la fièvre Q est considérée comme l'agent de l'avortement lorsque la quantité de bactéries est supérieur ou égal à  $10^4$  par écouvillon vaginal.

#### **5.2. Facteurs de virulence**

Il existe très peu de connaissance concernant les gènes responsables de la pathogénicité de *Coxiella burnetii*, mais il est généralement admissible que le LPS de la paroi joue un rôle important. L'inoculation du cobaye avec le LPS de *C. burnetii* est responsable de changements cliniques et pathologiques similaires à ceux observés avec l'inoculation de germes vivants [114].

#### **5.3. Dose infectante**

Il a été supposé qu'une seule bactérie est capable de causer la maladie, mais plutôt, il a été prouvé qu'une charge microbienne de 200 cellules/m<sup>3</sup> dans l'air était nécessaire pour établir une infection pendant un temps d'exposition de 30 mn jusqu'à 1 heure [145].

#### **5.4. Portage**

Chez les femelles infectées, la présence de *Coxiella burnetii* est massive au niveau du placenta et des enveloppes fœtales, après la mise-bas, l'excrétion bactérienne est présente dans le lait durant la lactation, de même que dans les urines et les fèces [146].

Les femelles non gravides sont moins sensibles que les femelles gestantes. Chez les caprins, l'infection à mi-gestation provoque le plus d'avortement, alors que celle en fin de gestation entraîne la naissance de petits vivants mais infecté et qui pourraient éventuellement avorter lors de leurs première gestation, s'il s'agit d'une femelle, ou excréter des bactéries dans le sperme s'il s'agit d'un mâle. Par contre, il n'y a pas d'étude expérimentale de l'influence de la gestation sur la sensibilité à l'infection chez les bovins et les ovins [4].

### **5.5. Excrétion**

La proportion d'animaux excréteurs est assez variable dans les troupeaux infectés et la cinétique d'excrétion bactérienne par les différentes voies serait irrégulière.

Le germe est excrété dans le lait, les urines, les fèces et les décharges utérines des ruminants infectés. Les bactéries sont présentes en très grand nombre dans le liquide amniotique, le placenta et les membranes fœtales des parturientes ou ayant avortées. Ces animaux peuvent continuer l'excrétion des particules infectieuses longtemps après l'avortement ( $10^9$  bactéries par gram de placenta de chèvres après avortement [147] et au moins 70 jours chez la brebis [20].

Lors de 2 gestations successives, les avortements et une excrétion vaginale de *C. burnetii* ont été observés chez la chèvre [148]. En contrepartie, les brebis n'avorteraient qu'une fois de fièvre Q. Généralement, les femelles se rétablissent rapidement après l'avortement. Chez les bovins, aucune étude jusqu'à présent n'a montré si la bactérie perturbe ou non plusieurs gestations successives comme chez la femme, la chèvre et la souris [4].

Les vaches laitières infectées excrètent des bactéries dans le lait pour de nombreux mois. Concernant celle des chèvres laitières, elle n'est pas connue, mais peut correspondre à celle des vaches. La moyenne dans le lait est variable à plus de 15 jours après délivrance jusqu'à plusieurs mois (voir plus de 36 mois) [54, 149]. Il n'existe pas de lien systématique entre l'apparition de signes cliniques et l'excrétion dans le lait. *C. burnetii* a été détecté dans le lait de brebis pendant plus 3 mois après la mise-bas. Mais ces premiers résultats qui doivent être confirmés sembleraient indiquer que l'excrétion dans le lait de brebis est moins fréquente et persisterait moins longtemps par rapport aux troupeaux bovins et caprins [150].

Chez les vaches et les chèvres ayant avortées, l'excrétion n'est pas systématique dans le lait et, si c'est le cas, cette excrétion peut être de courte durée, contrairement à d'autres femelles du troupeau qui ont des mise-bas apparemment normale et qui vont excréter pendant plusieurs mois voire même pour plusieurs lactations. Par contre, l'excrétion fécale et vaginale chez les brebis est très importantes et semblaient persister plus longtemps que dans le lait. Dans les cas de métrites, cette excrétion semblerait persister longtemps [4].

## **5.6. Immunité**

### **5.6.1. Immunité à médiation humorale**

Le rôle protecteur des anticorps spécifiques a été étudié chez l'animal, plusieurs expériences ont permis de conclure que la réponse humorale, ne peut à elle seule contrôler la multiplication de *Coxiella burnetii* [151]. Tout au long de l'infection, les anticorps IgG anti-phase II sont présents. Un titre supérieur à 50 en IgM signe une fièvre Q aiguë ou une primo-infection. Par contre, un titre élevé d'anticorps antiphase I signe une forme chronique de la maladie [135].

### **5.6.2. Immunité à médiation cellulaire**

Bien que la réponse anticorps puisse être étroitement associée aux caractéristiques de la maladie aiguë, l'immunité à médiation cellulaire est la plus important dans l'éradication définitive de la bactérie et la prévention des manifestations chroniques de l'infection [152].

Les cellules de la réponse immunitaire innée sont les premières impliquées dans le contrôle de la multiplication bactérienne, lors d'une infection ou une vaccination. *in vitro*, les macrophages infectés par *Coxiella burnetii*, produisent de cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF-alpha, l'IL-1 alpha dans les 3 heures post-infection [153]. La production de ces cytokines via l'interaction des bactéries avec le récepteur TLR2 des macrophages permettrait de limiter la multiplication bactérienne [154]. La cytokine IL-12 activerait les lymphocytes T helper Th1 qui induirait la production d'INF gamma qui, à son tour agirait sur la multiplication bactérienne [154]. Cependant, pour que l'infection soit éliminée, les monocytes

infectés sont éliminés suite au signal de mort cellulaire délivré par le TNF-alpha [155]. Lors d'une infection par *C. burnetii*, d'autres interleukines sont impliquées, comme l'IL-10 qui interviendrait dans la réplication de *C. burnetii* ainsi que dans l'évolution vers la chronicité en s'interférant à la production du TNF [156].

Pour maintenir sa niche encore, la bactérie est capable d'inhiber l'apoptose en inhibant l'activation des cascades caspases et d'augmenter l'expression de protéines anti-apoptiques (A1/Bfl-1, c-IAP2) [132].

Un autre mécanisme de survie a été lié au maintien sous forme phosphorylée des protéines impliquées dans la cascade de signalisation de la survie cellulaire, ce qui a pour conséquence la diminution d'apoptose des cellules hôtes suite à une infection [157].

### **5.7. Pouvoir pathogène expérimentale**

- **Cobaye** : la sensibilité des cobayes à *Coxiella burnetii* est variable. Les adultes répondent mieux à l'infection. L'injection par voie intra-péritonéale provoque une hyperthermie, après une période d'incubation de 5 à 12 jours, les lésions sont observées au niveau de la rate, du foie, des testicules, des ganglions lymphatiques inguinaux et mésentériques. La dégénérescence myocardique est fréquemment observée ainsi que la congestion pulmonaire [158].
- **Souris** : l'inoculation des souris par voie intra-nasale et intra-péritonéale montre la présence de nodules au niveau splénique, hépatique et rénale 4 à 6 jours après [159].
- **Hamster** : cet animal est particulièrement indiqué dans l'étude de ce germe. Après inoculation intra-péritonéale, les bactéries sont isolées à partir de la rate, des titres élevés d'anticorps sont détectés voir même supérieur à ceux retrouvés avec les souris et les cobayes [160].
- **Singe** : pour étudier la fièvre Q humaine, le macaque représente le meilleur modèle d'étude. Après 7 jours d'exposition, une détresse respiratoire a été remarquée avec une pneumonie interstitielle et une hépatite [161].

## CHAPITRE 6

### DIAGNOSTIC

#### **6.1. Diagnostic directe**

##### **6.1.1. Choix du prélèvement**

Chez les animaux, les prélèvements peuvent provenir de placenta, d'écoulements vaginaux et de l'avorton (poumon, foie et contenu stomacal) justes après l'avortement ou la parturition. Le lait (de mélange ou individuel), le colostrum ainsi que les échantillons de matières fécales peuvent aussi être étudiés [162].

##### **6.1.2. Isolement**

Puisque toutes les souches de *Coxiella burnetii* possèdent un degré élevée d'infectiosité, elles doivent être manipulées dans un laboratoire de niveau de sécurité 3 [162]. L'isolement peut se pratiquer directement par inoculation d'œufs de poule embryonnés ou par usage de cultures cellulaires [114].

##### **6.1.3. Examen microscopique**

Puisqu'il s'agit de bactérie alcool-résistantes, elles peuvent être colorées par plusieurs méthodes : les colorations de Ziehl-Neelsen modifiée ; Stamp ; GIMENEZ ; GIEMSA ou KOSTER modifiée. Leur mise en évidence présume la présence de l'agent pathogène. Parfois, les bactéries peuvent être difficiles à détecter en raison de leur petite taille [163].

##### **6.1.4. Immunohistochimie**

L'immunohistochimie peut être employée soit sur des tissus inclus dans la paraffine ou bien sur des frottis fixés à l'acétone. Il s'agit d'une analyse immunofluorescente ou immunoenzymatique indirecte utilisant des anticorps polyclonaux dirigés contre *Coxiella burnetii* [81].

## **6.1.5. Biologie moléculaire**

### **6.1.5.1. PCR**

Seule la Polymerase Chain Reaction (PCR) permet d'identifier facilement les troupeaux et les animaux qui excrètent la bactérie. Cette technique constitue le plus important apport au diagnostic de la fièvre Q ces dernières années et plusieurs kits sont disponibles utilisant une PCR classique ou une PCR en temps réel (PCRq), simple, ou multiplex [53].

Plusieurs gène ou séquences ont été utilisés avec succès dans différents types d'échantillons, les plus utilisés sont:

- gène *IS1111* et le gène *icd* [164] ;
- gène de la superoxyde dismutase [20] ;
- gène isocitrate déshydrogénase [99] ;
- des séquences d'ARNr [165] ;
- protéines de la membrane externe com1 [180] ;
- plasmides QpH1 et QpRS [166] ;
- protéines de choc thermique htpAB [166].

En effet, les données récentes montrent que le nombre de la séquence d'insertion (*IS1111* qui code pour la transposase) variaient considérablement entre 7 et 110 en fonction de l'isolat [165]. Il est suffisamment informatif pour des quantités élevées de bactéries (supérieur à  $10^4$  par prélèvement vaginal) pour le diagnostic d'avortement [142].

La PCR passe par plusieurs étapes : dénaturation initiale de l'ADN ; dénaturation ; appariement des amorces (ou hybridation) et élongation. La PCR en temps réel consiste à suivre au cours du temps, le processus d'amplification à l'aide de la fluorescence. Les données de cette fluorescence sont collectées à chaque cycle de la PCR et représentent la quantité de produits amplifiés à cet instant. L'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés, plus l'échantillon est concentré en molécules cibles à l'origine, moins il faudra de cycles pour atteindre un point pour lequel le signal fluorescent est significativement supérieur au bruit de fond. Ce point est défini comme le Ct (cycle seuil) et apparaît en début de phase exponentielle. Ce concept de Ct est à la base de la précision et de la reproductibilité de la technique [168, 169, 170].

Si l'on suit la fluorescence, donc le nombre de fragments PCR amplifiés, on distingue 3 phases :

- **Phase de bruit de fond** : la quantité de fragment amplifiée est insuffisante pour générer un signal fluorescent supérieur au bruit de fond.
- **Phase exponentielle** : la quantité de fragment amplifié génère un signal fluorescent supérieur au seuil de détection de l'appareil, ensuite, le nombre de produits amplifié double à chaque cycle. Cette phase est représentée par une droite en coordonnées logarithmiques.
- **Phase de saturation (de plateau)** : certains composants de la réaction (en particulier le nombre de molécules de *Taq* polymérase disponibles) deviennent limitants. Le système ne permet plus une amplification exponentielle.

Les valeurs de Ct obtenues expérimentalement en fonction du log des concentrations en molécules cibles fixées sont représentés par une droite standard issues de séries de dilutions d'un échantillon connu. La valeur de Ct est inversement proportionnelle au log base 10 de la concentration initiale en molécules cibles. A partir d'un échantillon de concentration inconnue, le Ct obtenu sera traduit en concentration en molécules cibles grâce à la droite standard.

Le choix des amorces efficaces et spécifiques doit respecter plusieurs règles [171, 172] :

- **longueur** : en pratique, le nombre de nucléotides se situe entre 20 et 30 bases. La séquence: les séquences des 2 amorces du même couple doivent présenter le maximum de divergences et plus particulièrement à l'extrémité 3', afin d'éviter leur Co-hybridation. La teneur en G+C doit être d'environ 50 %. La richesse en GC améliore la stabilité du duplex amorce-matrice.
- **concentration** : les concentrations optimales pour 30 cycles varient entre 10 et 50 pmoles de chaque amorce.
- **nombre de cycles** : pour obtenir un signal détectable sur gel, il faut une amplification de 10 molécules dans les conditions optimales en 35 cycles. Un nombre de cycles trop élevé provoque l'accumulation de produits non spécifiques.

- **température** : la température d'hybridation est spécifique d'une amorce. Elle se calcule à partir de sa Td (Température de dissociation), température à laquelle la moitié des duplex formés sont dissociés.
  - Formule de SUGGS : elle s'applique uniquement aux duplex parfaits de 11 à 20 bases. Pour des duplex supérieurs à 20 paires de bases.  $Td^{\circ} = 4(G+C) + 2(A+T)$ .
  - Formule de MCCONAUGHY : Pour des hybrides comportant plus de 20 paires de bases :  $Td^{\circ} = 81,5 - 16,6(\text{Log}(\text{Na}^+)) + 0,41(\%G-C) - (600/N)$ . D'où G et C représentent le nombre de nucléotides et N est le nombre de bases de l'amorce.

#### **6.1.5.2. Typage moléculaire**

Concernant le génotype, plusieurs méthodes sont envisagées, les plus connues sont résumées dans le tableau 6.1.

La méthode MLVA (Multi-locus Variable Number of tandem repeats Analysis) est une technique de génotypage qui repose sur l'analyse de profil d'amplification par PCR. Ces profils correspondent à des motifs nucléotidiques ou éléments le plus souvent répétés en tandem, d'où le nom de Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) qui sont distribués tout le long du chromosome de *Coxiella burnetii* [177]. En effet, l'analyse des génomes complets a montré que la plupart des bactéries possédaient des régions répétées et que le nombre de répétition était variable d'une souche à l'autre au sein de la même espèce [186]. De ce fait, un produit d'amplification ciblant ces régions répétées aura une taille directement proportionnelle au nombre de motifs répétées.

Sur un gel d'agarose, ces profils sont visualisés pour les différentes souches et une estimation des différentes longueurs des régions amplifiées du génome de chaque souche analysée sera envisagée. Un locus VNTR est donc défini par un couple d'amorces PCR qui amplifie une région unique du génome contenant un motif répété [176].

**Tableau 6.1** : Caractéristiques de principales méthodes utilisées pour le typage de *Coxiella burnetii* [142]



Méthodes	Pouvoir discriminant	Nb. de profils/ Nb. de souches testées	Commentaires	Références
Typage des SNP par PCR-RT	modéré >élevé	9/65	La différenciation dépend du type et du nombre de SNP choisis	[173]
Séquençage	élevé	4/4	/	[97]
PCR de l'IS1111	modéré	5/21	l'IS présent dans les souches à analyser peut être détecté mais pas quand il est absent	[174]
Génotypage par puce à ADN	élevé	8/23	les gènes ne seront pas tous présents dans la souche séquencée	[175]
IRS-PCR	modéré >élevé	7/14	la différenciation dépend du type d'enzyme choisie	[176]
Typage VNTR	modéré >élevé	9/16	la fiabilité dépend du rendement et de la pureté de l'ADN	[177]
		36/42		[176]
MLST et ses variantes	modéré >élevé	34/176	la sélection initiale des gènes cibles peut prendre beaucoup de temps	[178]
Séquençage direct d'une région du génome	modéré >élevé	3/19	la sélection initiale des gènes cibles peut prendre beaucoup de temps	[179]
		4/21		[180]
Profils plasmidiques	faible	Nd.	pourrait être améliorée par l'utilisation des enzymes de restriction	[181]
REP et RAPD PCR	faible >modéré	4/5	les profils peuvent varier selon l'équipement utilisé	[182]
Enzyme de restriction sur un seul produit amplifié	faible >modéré	5/37	idem.	[183]
ECP	modéré >élevé	20/82	la différenciation dépend du type et du nombre d'enzymes choisies	[184]
REA du génome entier	modéré >élevé	6/32	la différenciation dépend du type et du nombre d'enzymes choisies	[185]

## 6.2. Diagnostic indirect

Puisque le diagnostic Clinique de la fièvre Q est très difficile, le recours à la sérologie représente une alternative. Les critères à prendre en considération pour le choix judicieux d'une méthode sont : la sensibilité ; la spécificité ; la valeur prédictive positive ; le coût et le choix de l'antigène [187].

Les investigations sérologiques ont l'inconvénient majeur de se renseigner sur l'exposition au germe, mais elles ne le détectent pas [53]. C'est ainsi après 5 semaines d'agnelage que les titres en anticorps atteignent le maximum et qu'il y a le plus de conversions et ils persistent plusieurs mois [188].

En fièvre Q aigue, les anticorps anti-phase-II prédominent et leurs titres dépassent ceux de l'anti-phase-I. Comme la plupart des maladies infectieuses, les IgM sont les premiers qui apparaissent [187].

### **6.2.1. Fixation du complément**

La méthode de Fixation du Complément (FC) est très spécifique mais manque de sensibilité. Les anticorps lytiques peuvent persister pendant de longues périodes après maladie, en contrepartie, la séroconversion est détectée plus tardivement par rapport à l'Immuno Fluorescence Indirecte (IFI) ou l'Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). L'apparition des faux-négatifs dans les cas de maladie chronique est liée au phénomène de prozone [162].

### **6.2.2. ELISA**

Cette technique possède une excellente sensibilité et spécificité [21, 189]. En médecine vétérinaire, elle est préférable à la technique de fixation du complément et l'immunofluorescence, elle recherche les anticorps anti-phase I et anti-phase II.

Un troupeau séropositif n'est pas forcément un troupeau qui excrète *C. burnetii* [4]. La réponse anticorps persiste au moins 2 ans, même en absence de signe clinique et d'excrétion [20].

Les puits de la microplaque sont sensibilisés par un antigène inactif de la paroi cellulaire de *C. burnetii*. Les échantillons de sérum sont ajoutés aux puits et vont se fixer aux antigènes liés au support solide. Le matériel non lié est éliminé par un lavage après une période d'incubation appropriée. Le conjugué (anticorps couplé à la peroxydase) réagit avec les anticorps spécifiques liés à l'antigène. Le conjugué n'ayant pas réagi est éliminé par lavage après une période d'incubation appropriée. Le substrat d'enzyme est ajouté. Le taux de conversion du substrat est proportionnel à la quantité d'anticorps liés. La réaction est arrêtée après un temps adéquat et la quantité de développement de couleur est mesurée par spectrophotométrie [7].

### **6.2.3. Immunofluorescence**

En médecine humaine, l'immunofluorescence indirecte (IFI) représente la technique de référence pour le sérodiagnostic de la fièvre Q. Cette technique recherche les immunoglobulines IgG, IgM et IgA pour les phases I et II. La séroconversion est détectable 7 à 15 jours après manifestation des signes cliniques [162]. Les titres en immunoglobuline atteignent leur maximum entre 4 à 8 semaines, ensuite ils diminuent progressivement durant les 12 mois qui se suivent [190].

### **6.2.4. Intradermoréaction**

Une méthode de test cutané a été proposée pour étudier la réponse cellulaire et à améliorer la détection des animaux infectés au niveau des troupeaux. Un nodule de taille variable apparaît au niveau du site d'injection si l'animal a été déjà infecté par la fièvre Q [191].

## CHAPITRE 7

### TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

#### **7.1. Traitement**

##### **7.1.1. Chez les animaux**

Chez les ruminants, le traitement antibiotique consiste généralement à administrer 2 injections d'oxytétracycline (20 mg par kg de poids vif) pendant le dernier mois de gestation, bien que ce traitement n'aille pas totalement supprimer les avortements et l'excrétion de *C. burnetii* à l'agnelage. Dans les troupeaux connus infectés, l'administration de tétracycline (8mg/kg/jour) à titre prophylactique dans l'alimentation en eau avant la mise-bas peut réduire la propagation de l'organisme [192], quoique l'administration d'antibiotique pour traiter ou prévenir une fièvre Q reste une méthode très peu recommandée [193].

##### **7.1.2. Chez l'homme**

La Doxycycline 100 mg à 2 prises quotidiennement est recommandée dans les formes aiguës. Le Co-trimoxazole est le plus utilisé chez les enfants de moins de 8 ans. Encore les nouvelles molécules de Macrolides peuvent être utilisées [37].

Pour traiter une fièvre Q chronique, 18 mois de traitement avec la Doxycycline (100mg à 2 prises par jour) ou bien l'Hydroxychloroquine (200 mg, 3 prises par jour) semble suffisante [81].

#### **7.2. Prophylaxie**

##### **7.2.1. En médecine vétérinaire**

La prévention de la fièvre Q animale repose essentiellement sur la réduction ou carrément l'évitement du contact entre la source de l'infection et les espèces sensibles, à cela, s'ajoute la stimulation de la résistance de l'hôte par la vaccination.

L'identification d'un troupeau indemne de fièvre Q est particulièrement très délicate. Elle ne pourra en aucun cas être basée sur une seule analyse PCR négative du lait de mélange, mais devra associer une analyse sérologique d'une dizaine de sérums et plusieurs analyses PCR successives du lait de tank. Les sérums à analyser seront prélevés en privilège sur des femelles ayant eu des problèmes de la reproduction [4, 193].

#### **7.2.1.1. Mesures sanitaires**

Puisque l'excrétion de *Coxiella burnetii* atteint son maximum au moment de l'avortement ou bien la mise-bas, à cela s'ajoute la très forte infectiosité des placentas, les mesures générales d'hygiène appliquées aux placentas et aux fumiers sont les plus appropriées à mettre en œuvre, elles correspondent à [193] :

- la mise-bas dans un box spécifique qui doit être désinfecté ;
- le fumier doit être traité, ainsi que le lisier qui doit encore subir une neutralisation par de la cyanamide calcique ;
- la destruction des placentas et des avortons, par incinération, équarrissage ou traitement avec la chaux, afin d'éviter leur ingestion par les carnivores domestiques ou sauvages. Ces mesures doivent être appliquées loin du vent qui risque de propager le germe.
- l'administration d'antibiotiques comme l'oxytétracycline (20 mg/kg de poids vif) dans le dernier mois de gestation réduit le taux d'avortement ainsi que l'excrétion de bactéries au moment du part [55].

Les mesures sanitaires défensives visent à limiter l'introduction du germe dans les cheptels dont le statut sanitaire favorable est connu au préalable, elles se fondent sur [20, 194] :

- précaution lors de l'introduction ou le mélange des animaux (dépistage, mise en quarantaine et limiter le risque de contamination pendant le transport, ne pas introduire d'animaux provenant de troupeaux dont le statut sanitaire est inconnu) ;
- précaution vis-à-vis des élevages voisins (meilleure séparation physique et limiter le contact entre animaux) ;

- isolement des femelles en fin de gestation ;
- proscription du prêt de mâles entre troupeau ;
- synchronisation des gestations chez les petits ruminants.
- précaution vis-à-vis des autres vecteurs de *C. burnetii*. Dans les zones où l'infestation par les tiques est élevée, les mesures sanitaires de lutte doivent être adaptées et la vaccination est recommandée.

### **7.2.1.2. Vaccination**

La vaccination contre la fièvre Q a été suggérée depuis longtemps pour la prévention de l'infection humaine et pour diminuer les pertes économiques au niveau des élevages [195].

Plusieurs travaux révèlent beaucoup de variations concernant les méthodes de fabrication de vaccins, les souches de *Coxiella burnetii* et dans quelle phase sont utilisées, la nature des adjuvants ainsi que les antigènes utilisés. Les vaccins préparés à partir de souches en phase I montrent une efficacité nettement élevée relativement à ceux de la phase II, ces derniers sont en même temps moins périlleux lors de la manipulation [196].

Le COX-VAC (vaccin monovalent composé d'antigènes de *C. burnetii* en phase I et le CHLAMYVAX FQ ((vaccin bivalent composé de *C. burnetii* en phase II et de *Chlamydia abortus*) sont des vaccins efficaces et permettent d'avoir une meilleure protection contre la fièvre Q, associés à des mesures d'hygiène et d'autres plans de contrôle appropriés pour les ruminants [128, 193].

## **7.2.2. En médecine humaine**

### **7.2.2.1. Mesures sanitaires**

Les mesures à recommander ne sont pas spécifiques à la fièvre Q. Il s'agit de mesures de prévention communes à l'ensemble des affections susceptibles de survenir au niveau des élevages et qui risquent de causer une contamination humaine. Elles incluent notamment la restriction du contact avec les animaux en

période de mise-bas et la mise à disposition de moyens pour le lavage des mains [193, 194].

#### **7.2.2.2. Vaccination**

Les vaccins préparés à partir de souches en phase I étaient 100 à 300 fois plus puissants par rapport aux vaccins de phase II. Néanmoins, ils risquent de provoquer une induration dans le lieu d'injection ainsi que la formation de granulomes. Actuellement, le vaccin le plus utilisés est le Q-Vax phase I. Il s'avère plus efficace en matière de protection chez les populations à risques. Sa protection dure plus de 5 ans avec 100% d'efficacité dans certaines situations [197].

## CHAPITRE 8

### PROBLEMATIQUE

La fièvre Q est une zoonose largement rapportée à travers le monde, beaucoup de difficultés sont soulevées concernant sa connaissance et son estimation [18]. Récemment, plusieurs chercheurs ont commencé l'étude de la prévalence réelle de la maladie, puisque la plupart des anciens travaux avaient des objectifs complètement différents, ils visaient à mesurer le degré d'implication de la maladie dans les troubles de la reproduction, ainsi que l'étude des différentes voies d'élimination du germe dans le milieu extérieur [21, 198].

Actuellement, la fièvre Q pose un problème de santé publique dans plusieurs pays. La flambée la plus importante jamais déclarée à ce jour a été observée aux PAYS-BAS avec plus de 3500 cas, entre 2007 et 2009. Pour la plupart des épidémies, une exposition à des animaux de rente est mise en cause [199]. Les travailleurs des abattoirs, les éleveurs, les vétérinaires et les manipulateurs de cuirs sont les personnes les plus concernées par la maladie [62]. De ce fait, l'impact de cette maladie n'est pas lié uniquement aux pertes économiques engendrées par les avortements (pertes sèches de fœtus, entretien des femelles ayant avortées, infertilités et retard de renouvellement des cheptels) mais aussi à son aspect zoonotique et sanitaire.

Dans les pays du Maghreb, quelques études ont été réalisées avec la méthode de fixation du complément et ont rapporté des séroprévalences variables allant de 6,7 et 11,7% en TUNISIE [25] et 3,9 et 7,2% au MAROC [26]. Cependant, une seule souche caprine d'origine marocaine a été isolée et subie un génotypage en FRANCE [176].

En ALGERIE, la situation se caractérise par un manque énorme d'informations épidémiologiques en santé animale. Une enquête réalisée sur le terrain auprès des vétérinaires praticiens a confirmé la méconnaissance de cette maladie, ainsi que l'absence de sa suspicion même après des avortements chez les ruminants [23]. La situation en médecine humaine est pareille selon le nombre d'études menées sur la fièvre Q. Une séroprévalence de 3% a été rapporté par



BENSLIMANI et al., (2005) chez des patients atteints d'endocardites [200]. Une autre étude réalisée par LACHEHEB et RAOULT (2009) dans une région rurale à SETIF a rapporté un taux de 18,5% [38].

Chez l'espèce bovine, dans le cadre de l'opération de dépistage entre 1970 et 1987, les enquêtes sérologiques menées au niveau des laboratoires vétérinaires publiques ont enregistré une prévalence de 5,9% au centre du pays et entre 2 à 2,9% à l'est [201]. D'autres enquêtes réalisées en 2001 et en 2008 ont enregistré une séroprévalence de 29 [202] et 20,8% [203] parmi les femelles dans la région du centre et l'est du pays.

En 1984, une étude réalisée dans la région du HOGGAR qui n'est pas connue comme zone potentielle d'élevage, a enregistré une séroprévalence de 3% chez les caprins et 24% chez les camelins [24]. En 2010, la séroprévalence a été estimée à 18% chez les jeunes ovins et 70% pour les cheptels dans le sud de la wilaya de MEDEA [23]. Cependant, aucune étude relative à l'isolement et la caractérisation moléculaire des souches locales de *C. burnetii* n'a été réalisée. Nous tenons aussi à signaler, qu'aucune vaccination relative à la maladie n'a été entreprise.

Plusieurs contraintes font que la fièvre Q soit une maladie méconnue, les plus importants sont :

- **Facteurs liés à la maladie :**

- nature souvent asymptomatique de la maladie ;
- absence de signes cliniques spécifiques ;
- grande fréquence des infections inapparentes par rapport aux infections symptomatiques ;
- culture délicate et onéreuse nécessitant un laboratoire de confinement de niveau de sécurité élevé de type 3.

- **Facteurs liés au terrain :**

- défaut d'investigation de certaines situations pathologiques chez l'animal ;
- méconnaissance des signes cliniques chez l'animal, ainsi que chez l'homme ;
- parmi les autres agents abortifs, la recherche de *C. burnetii* est exceptionnelle.
- absence de déclaration des avortements ;
- absence de suivi sanitaire et zootechnique au niveau des élevages ;
- type extensif des élevages.

- **Facteurs rencontrés au niveau des laboratoires :**

- manque d'outils récents de diagnostic ;
- manque de standardisation des techniques de diagnostic.

## CHAPITRE 9

### OBJECTIFS

Dans le contexte où la fièvre Q mérite une inquiétude importante en termes de santé et de production animale, la recherche de l'agent causal dans les troupeaux algériens s'avère importante. Etant donné que le réservoir principal de la bactérie est les petits ruminants, cette thèse s'est donc focalisée sur ces espèces surtout en période d'avortements et de mise-bas.

Dans le but de répondre à la problématique que nous avons posée, nous nous sommes fixés les objectifs principaux suivants :

- appréciation du risque zoonotique en relation avec les avortements ;
- détermination des taux d'infection de la maladie chez les petits ruminants dans quelques élevages de certaines régions du pays ;
- étude de l'excrétion vaginale du germe après avortements ou mise-bas ;
- évaluation de l'implication de la maladie dans les avortements ;
- caractérisation moléculaire des souches circulantes en Algérie ;
- estimation du degré d'exposition des catégories professionnelles à la bactérie.

## CHAPITRE 10

### MATERIEL ET METHODES

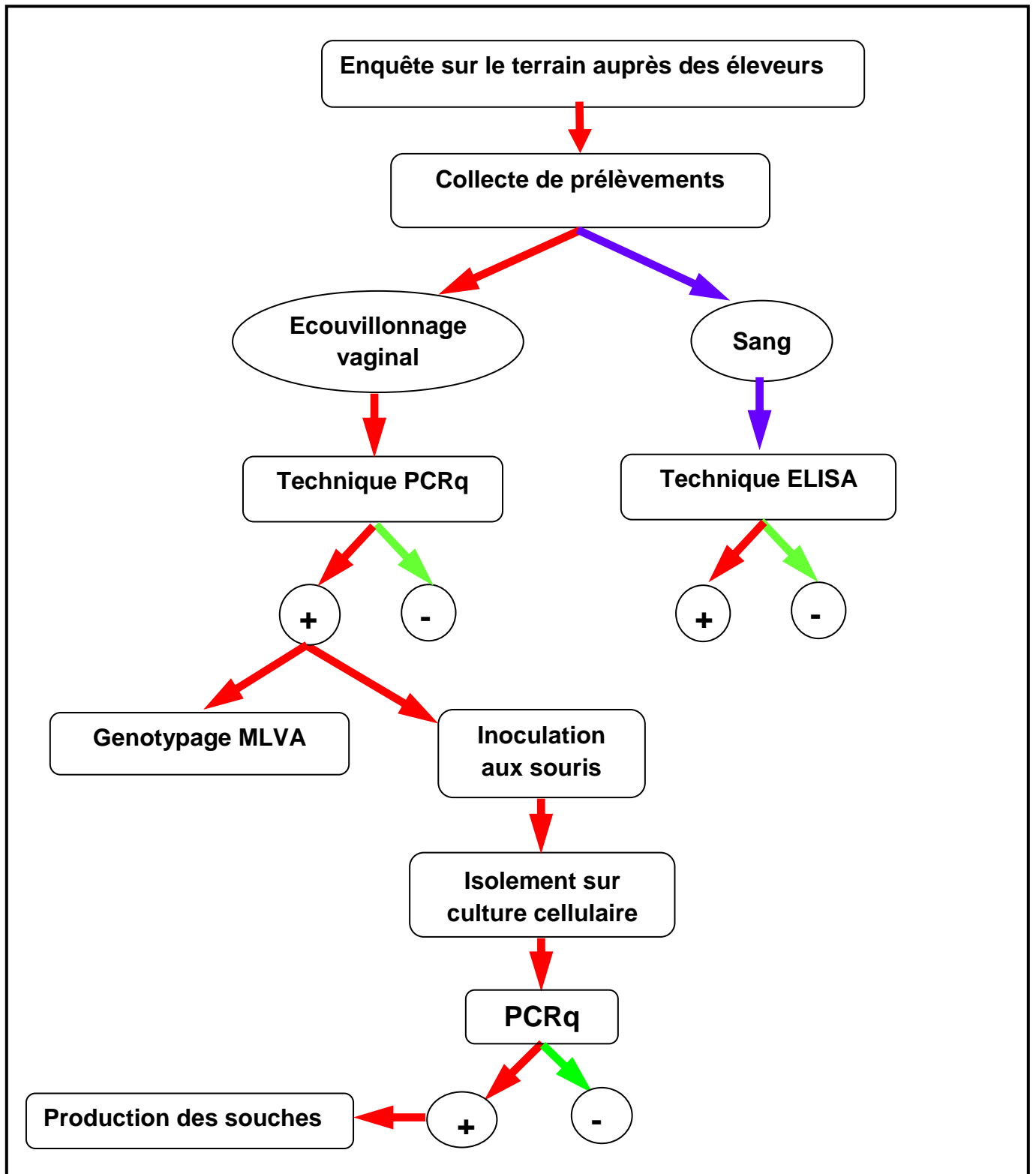


Figure 10.1 : Organigramme général de l'étude

### **10.1. Régions d'étude**

Nous avons essayé d'assurer au maximum une diversité entre les régions choisies surtout en matière de : situation géographique ; climat ; relief ; type et taille d'élevage.

Au total, 8 wilaya ont fait l'objet de prélèvements :

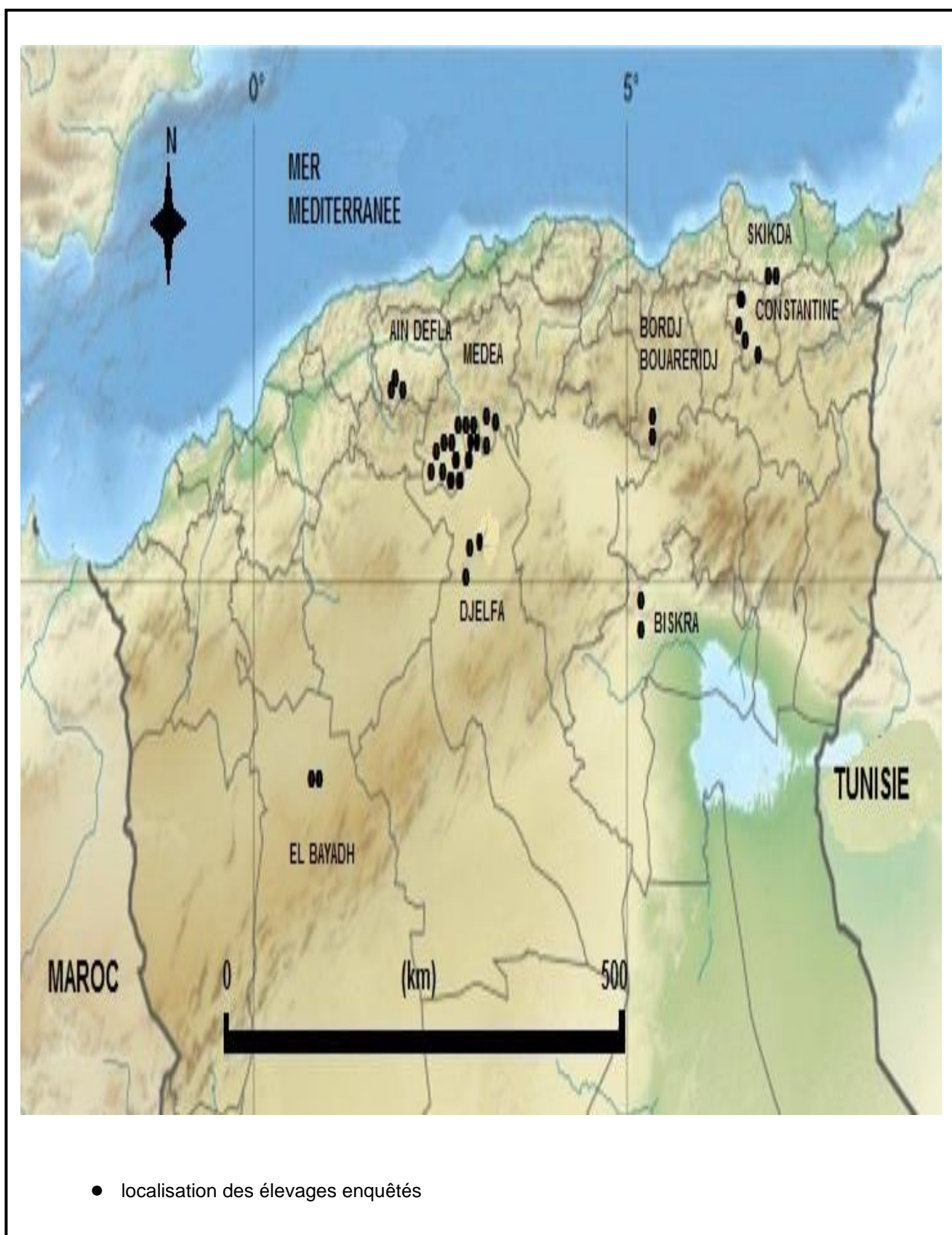
- **MEDEA** : Les prélèvements de MEDEA ont été pris dans le sud de la wilaya, dans la région de KSAR EL BOUKHARI et ses environs (BOUGHEZZOUL, SANEG, SDARA, MFATHA, OUMDJELLIL, AZIZ, OULED HELLAL et ZARGA).
- **DJELFA** : 2 régions ont fait l'objet de prélèvements, il s'agit de la commune de AIN OUESSARA et celle de BIRINE.
- **AIN DEFLA** : c'est dans la commune de KHEMIS MELIANA que nos échantillons ont été prélevés.
- **CONSTANTINE** : les prélèvements proviennent de 3 communes : ZIGHOUD YUCEF ; GUERRAH et AIN KERMA.
- **BORDJ BOUARERIDJ** : tous les prélèvements sont de la région de BORJD GHDIR à la frontière avec la wilaya de MSILA.
- **SKIKDA** : l'enquête a été réalisée dans la région de AZZABA.
- **BISKRA** : les échantillons provenaient de la région de TOLGA.
- **EL BAYADH** : les 2 élevages enquêtés étaient localisés dans la commune d'EL BAYADH, chef lieu de la wilaya.

Le tableau 10.1 indique l'importance d'élevage dans différentes wilaya choisies dans notre étude, selon le recensement du Ministère d'Agriculture de l'année 2012.

**Tableau 10.1 : Effectifs de petits ruminants par wilaya pour l'année 2012**

Départements	Espèce ovine						Espèce caprine					
	Brebis	Béliers	Antenaises	Antenais	Agneaux	Agnelles	Total	Chèvres	Boucs	Chevreaux	Chevrettes	Total
<b>DJELFA</b>	1 954 700	95 800	250 820	171 330	243 370	251 280	2 967 300	247 150	9 400	48 320	56 930	361 800
<b>EL BAYADH</b>	1 031 688	62 424	181 097	116 837	166 910	140 372	1 699 328	131 215	8 497	15 000	20 280	174 992
<b>MEDEA</b>	365 768	28 129	124 513	116 923	87 331	91 826	814 490	48 691	8 236	19 384	22 546	98 857
<b>BISKRA</b>	443 500	17 740	100 318	99 122	92 810	98 810	852 300	134 065	5 362	42 163	40 510	222 100
<b>BORDJ BOUARERIDJ</b>	188 674	10 499	28 006	37 378	62 512	61 787	388 856	29 574	3 296	14 988	11 936	59 794
<b>AIN DEFLA</b>	135 241	20 951	40 006	32 170	33 786	32 846	295 000	35 440	11 895	14 913	14 862	77 110
<b>SKIKDA</b>	98 128	13 309	39 305	26 919	19 891	29 863	227 415	78 589	7 187	14 712	19 152	119 640
<b>CONSTANTINE</b>	99 050	4 450	18 315	20 279	17 126	18 100	177 320	4 040	405	2 210	2 475	4 040

Source : MADR (2012)



**Figure 10.2 :** Représentation géographique des régions d'études

## **10.2. Période d'étude**

Notre étude a concerné les saisons de mise-bas et des avortements qui s'étalaient entre le mois d'août et janvier et entre le mois de mars et avril, pour une période de trois années successives (de 2011 jusqu'à 2013).

## **10.3. Enquête sur le terrain**

Cette enquête a été réalisée dans le but de rechercher certains facteurs de risque en relation avec la survenue et la propagation de la fièvre Q chez les petits ruminants, ainsi que les menaces zoonotiques pour les personnes en contact avec ces animaux. Des entretiens individuels ont été réalisés pour mieux cerner les attitudes des éleveurs vis-à-vis de la santé des troupeaux et des règles collectives de gestion des risques sanitaires. Toutefois, il nous a paru intéressant d'évaluer leurs connaissances sur les zoonoses associés aux avortements, cela nous a permis également de comprendre leurs actuelles motivations dans la lutte contre une maladie infectieuse et zoonotique ciblée.

Au total, 105 exploitations agricoles ont été visitées à travers les zones d'études. Les éleveurs ont été sollicités pour participer à notre questionnaire (appendice B). Les questions étaient fermées pour la plupart et elles ont été formulées simplement permettant à l'interrogé de développer davantage sa réponse, ce qui était attendu par la suite avec quelques questions ouvertes. Ainsi, ce questionnaire représente un excellent moyen d'obtenir des informations pertinentes pour ce qui concerne les avortements (fréquence et saison d'apparition ; espèces atteintes ; déclaration aux services vétérinaires) et les mesures d'hygiène appliquées devant des cas d'avortements.

## **10.4. Choix des élevages et des animaux**

Il est important de signaler que la composition des troupeaux changeait très fréquemment et les animaux n'ont pas été marqués.

À l'aide de vétérinaires sentinelles sur le terrain, les prélèvements ont été réalisés sur des femelles de l'espèce ovine et caprine qui ont avortées ou mis-bas au maximum dans les 8 jours qui suivent. Par définition, l'avortement est l'expulsion



de tout fœtus ou mort-né ou succombant dans les 48 heures qui suivent la naissance [204, 205].

Nous avons choisi 35 cheptels avec des taux d'avortements excédants les 5% vu qu'un taux inférieur est considéré comme normal dans un élevage et n'attire pas l'attention de l'éleveur [205].

Un taux d'échantillonnage avoisinant les 10% du nombre total de femelles composants chaque cheptel a été choisi.

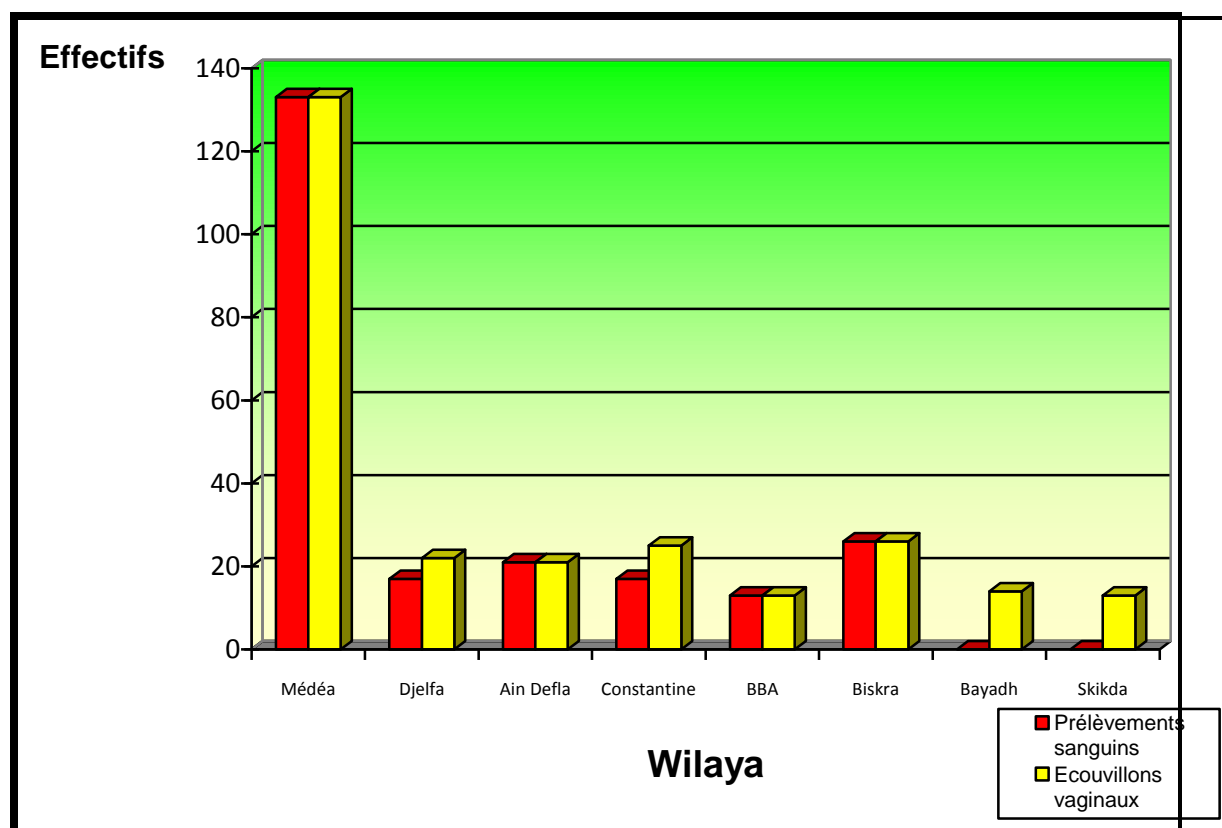


Figure 10.3. Echantillonnage par wilaya

### 10.5. Choix des prélèvements

Après l'accord des éleveurs, les animaux choisis pour les prélèvements ont été isolés et ont subi une contention. Sur le même animal, nous avons choisi les prélèvements suivants :

- **sang** : il a été pris à partir de la veine jugulaire à l'aide des seringues de 5 mL avec aiguilles à usage unique. Ensuite, on a versé le sang dans des tubes secs (sous vide) en verre de 5 mL. Après centrifugation du sang à 1500 g pendant 15 mn, nous avons récolté le sérum dans des tubes Eppendorf de 2 mL à fermeture sécurisée.

Il est à noter que les prélèvements sanguins de 3 élevages ont été écartés à causes du phénomène d'hémolyses. Dans 3 autres élevages, nous n'avons pas pu prendre des prélèvements sanguins à cause des refus des éleveurs.

- **écouvillonnage du mucus vaginal** : après écartement des lèvres de la vulve, on a introduit des écouvillons stériles secs de 10 cm à l'intérieur du vagin et on les a frottés énergiquement contre les parois de façon à récupérer le mucus et le maximum de cellules de la muqueuse. Nous avons pris 2 écouvillons par femelle.

Nous avons acheminé tous les prélèvements vers le laboratoire LBRA de l'Université de BLIDA sous couvert du froid à l'aide de glacières. Ensuite, ils ont subi une congélation à -20°C.

Tous les prélèvements ont été étiquetés et accompagnés par des fiches de renseignements dans le but d'enregistrer les informations relatives à l'animal et à l'exploitation (appendice C).

Pour l'envoi de prélèvements, nous les avons rassemblés dans des sacs hermétiques qui, à leur tour seront mis dans des boîtes étanches avec des carboglaces. Pour le troisième emballage, il s'agit de carton bien fermé à l'aide de ruban adhésif. Sur le côté du carton, nous avons collé les documents officiels de transport avec les autorisations des services de douanes des deux pays.

La société de transport et logistique aérien assure l'arrivée des échantillons au laboratoire de l'ANSES dans un délai ne dépassant pas les 24 heures.

La nature des prélèvements choisis dans notre étude a été définie en prenant en considération l'importance relative des différentes voies de présence et d'excrétion de la bactérie recherchée à savoir :

- **prélèvement sanguin** : le dosage d'anticorps dans les sérums représente un témoin intéressant de la circulation de ces bactéries dans les élevages de petits ruminants, vu leur présence précoce après infection et leur persistance pendant une longue période [135].
- **écouvillonnage vaginal** : l'excrétion de *C. burnetii* par voie vaginale est d'une d'importance épidémiologique majeure, compte tenu de sa relative facilité d'obtention et de sa persistance. Elle nous permet de suivre l'évolution des niveaux d'excrétion au sein des cheptels correspondants car le diagnostic de la fièvre Q abortive s'appuie sur la mesure d'excrétion par voie vaginale [43, 144].

L'association des deux méthodes est appuyée par les recommandations de :

- Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE) [7] ;
- Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) [43] ;
- Agence Nationale Française de la Sécurité de l'Alimentation, l'Environnement et du Travail (ANSES) [195] ;
- Association pour la Certification de la Santé Animale en Elevage (ACERSA) [193].

Le non recours à des analyses sur des prélèvements de lait ainsi que des matières fécales dans notre étude a été justifié par le fait que ces voies d'excrétion de bactéries ne constituaient pas sur le plan épidémiologique une voie de propagation majeure au niveau des élevages et de leur environnement, ainsi qu'en matière de risque en santé publique [194].

### **10.6. Laboratoire d'analyse**

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein du Laboratoire National de Référence de la Fièvre Q Animale, à l'Unité de Pathologie des Petits Ruminants à SOPHIA ANTIPOLIS, NICE, FRANCE. Il a été récemment nommé encore Laboratoire de Référence de l'OIE en Fièvre Q des petits ruminants.

L'ANSES (ancienne AFSSA) a été mise en place en 1999. C'est un établissement public à caractère administratif placé sous les tutelles des ministères de la Santé,

de l'Agriculture et de la Consommation. L'agence est chargée des missions d'évaluation, de recherche et d'appui scientifique et technique.

Le laboratoire met en œuvre un ensemble d'actions qui concourent à une traçabilité et une maîtrise de ses performances, et donc garantir la qualité de ses résultats. Cette démarche est accréditée selon la norme ISO17025. Le respect de la bonne mise en œuvre fait l'objet d'un audit externe tous les 15 mois.

Concernant la fiabilité des résultats, le suivi est effectué notamment à l'aide d'une carte de contrôle des témoins positifs. Cela permet de surveiller la reproductibilité des méthodes de diagnostic.

## **10.7. Méthodes de diagnostic**

### **10.7.1. Technique ELISA**

Nous avons utilisé un kit ELISA CoxLS-001 (LSIVET®). Des sérums de contrôle internes négatifs et positifs ont été inclus dans chaque essai en accord avec la norme NFU 47-019 du Comité Français d'Accréditation (COFRAC). Les valeurs des échantillons et du contrôle positif du coffret sont corrigées en soustrayant la valeur du contrôle négatif du kit. Les résultats sont exprimés en pourcentage de densité optique (%DO) par rapport à la valeur corrigée du contrôle positif du kit.

Tout le matériel nécessaire ainsi que les différentes étapes de réalisation de la technique sont mentionnés dans l'appendice D.

### **10.7.2. Technique PCR quantitative (en temps réel)**

La première étape de l'extraction d'ADN (appendice E) nécessite un Poste de Sécurité Microbiologique de type 3 (PSM 3) et ceci, pour éviter toutes sortes de propagation de bactéries vu leur grande virulence.

La préparation du mix réactionnel de la méthode PCRq se fait dans une zone exempte d'ADN pour éviter toutes sortes de contamination des spécimens.

Le gène cible dans notre étude est l'*IS1111*. En parallèle, une amplification du gène *Gapdh* (gène codant pour la glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase ubiquitaire pour les cellules eucaryotes de ruminants) ou Contrôle Interne Positif

(IPC) a été réalisée dans le but de détecter la présence d'inhibiteurs, et donc d'éviter les faux négatifs.

Dans notre étude, le système de détection utilisé est la sonde Taqman (Perkin-Elmer-Applied Biosystems®), elle utilise l'activité 5' exonucléasique de l'ADN polymérase de *Thermophylus aquaticus* (Taq polymérase) pour hydrolyser une sonde fluorescente fixée sur sa cible. Cette cible se situe à l'intérieur d'un produit PCR amplifié par 2 amorces. Elle s'hybride durant la phase d'hybridation de la PCR. Cette sonde contient un fluo rapporteur à son extrémité 5' dont l'émission est quenchée par un second fluorophore situé à l'extrémité 3'. L'activité exonucléasique de la Taq est double-brin spécifique. Elle ne va pas hydrolyser les sondes non fixées. Si l'amplicon est correctement amplifié par les 2 amorces PCR, la sonde Taqman va s'hybrider sur sa cible après l'étape de la dénaturation. Lorsque l'enzyme atteint la sonde hybridée, son activité exonucléasique va déplacer la sonde et la dégrader.

Le nombre de bactéries dans chaque prélèvement est déterminé par interpolation par rapport aux résultats obtenus à l'aide d'une gamme d'ADN génomique de *Coxiella burnetii* (8 standards d'ADN inclus dans chaque essai) ou contrôle externe positif (EPC) (figure 10.5). La gamme a été préparée à partir de bactéries de la souche Nine Mile produites sur culture cellulaire (L929), purifiées et dénombrées. Ensuite, Les résultats sont exprimés en nombre de bactéries par écouvillon vaginal.

Un témoin tous les 10 échantillons à tester à l'étape d'extraction ADN, et un témoin pour chaque série d'analyses par PCRq sont inclus.

Le matériel nécessaire ainsi que les différentes étapes de réalisation de la technique sont mentionnés dans l'appendice F.

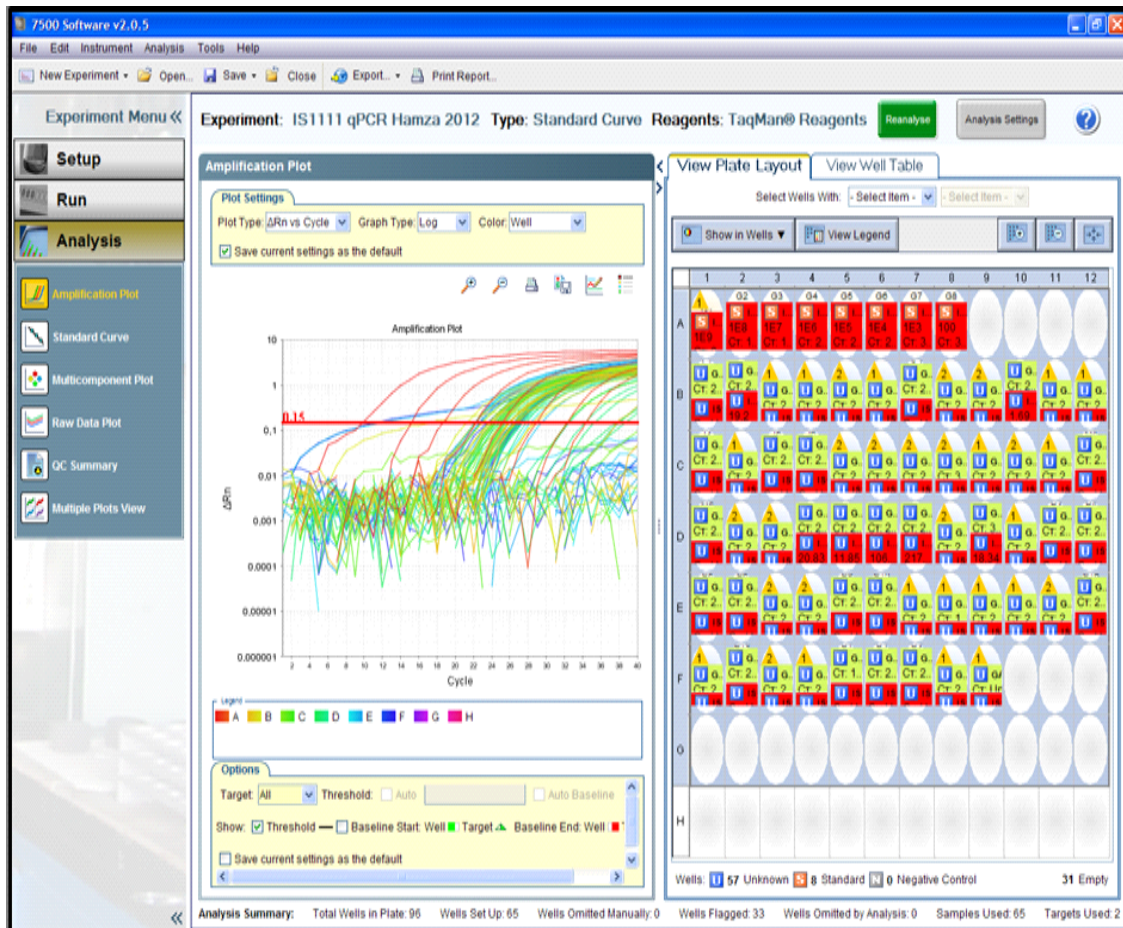


Figure 10.4 : Courbes d'amplification sur le lecteur PCRq

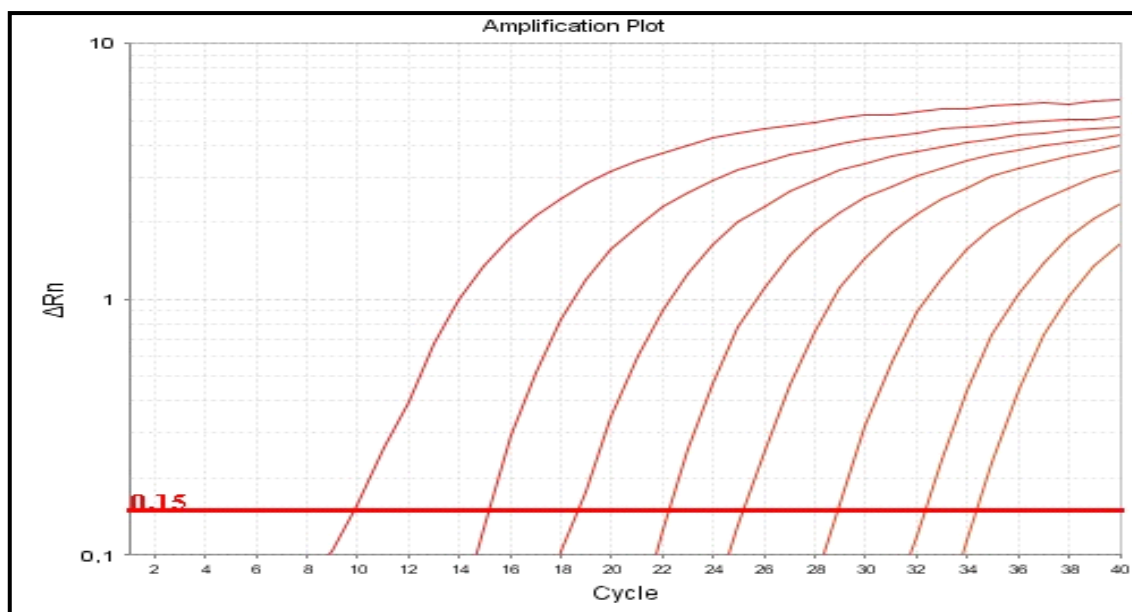


Figure 10.5 : Validation du contrôle externe positif (EPC)

### **10.7.3. Typage moléculaire par la technique MLVA**

Cette technique est basée sur l'amplification de courtes séquences nucléotidiques répétées en tandem. Le nombre de ces répétitions peut varier selon les souches. Elle nous permet d'effectuer des études comparatives des souches obtenues de *Coxiella burnetii* en comparaison avec la souche de référence Nine Mile.

L'amplification par PCR est réalisée au niveau de 17 loci VNTR qui sont ciblés durant la PCR, d'après la description de SVRAKA et al., (2006) [177] et ARRICAU-BOUVERY et al., (2006) [176].

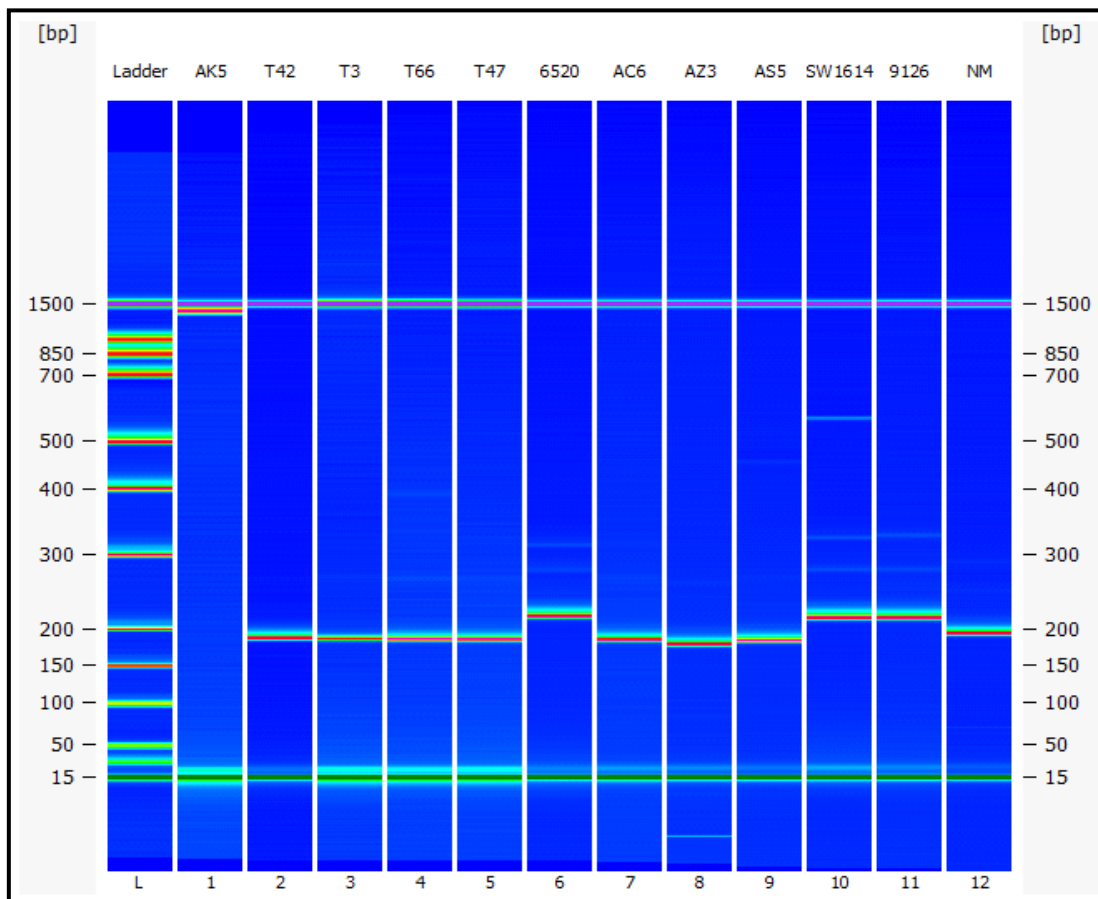
En pratique, les VNTR sont amplifiés par PCR puis analysés par électrophorèse. Nous avons utilisé la technologie LabChip ADN nano AGILENT Technologies® (ref. 5067-1511). Il s'agit d'un système d'électrophorèse capillaire microfluidique. Après réalisation de PCR conventionnelle, les amplicons sont mis dans la Labchip pour une éventuelle migration (figure 10.6), ensuite, les pics enregistrés (figure 10.7) serviront pour le calcul du nombre de répétition des VNTR.

Les différentes étapes de réalisation de la technique MLVA sont mentionnées dans l'appendice G.

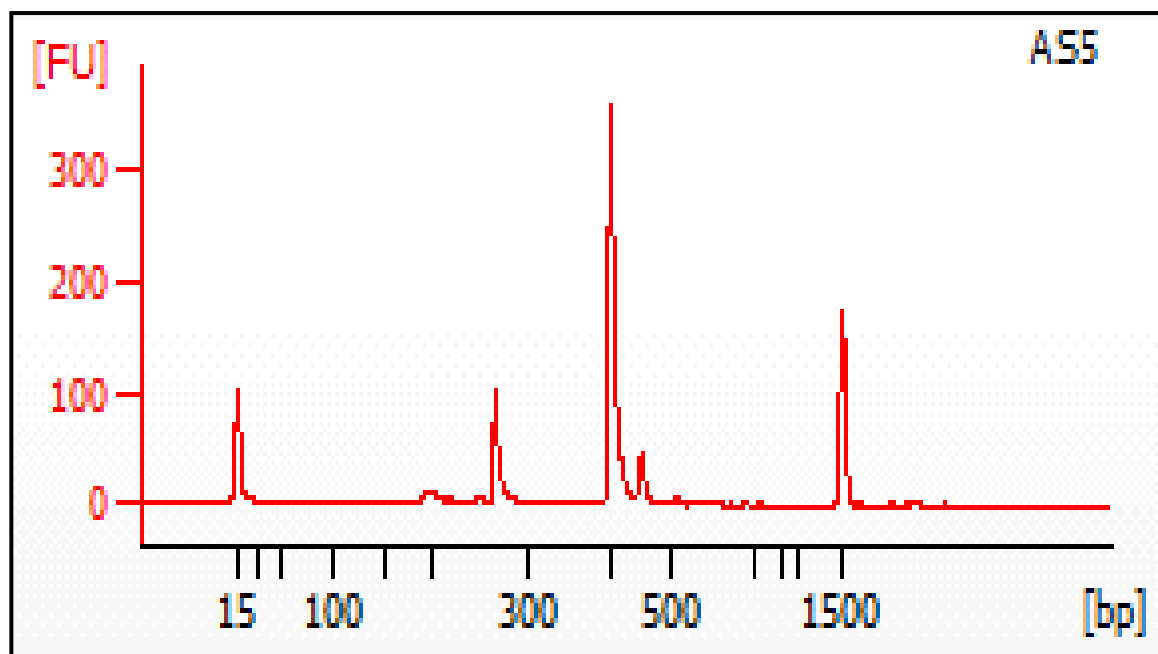
Les dendrogrammes ont été tracés avec la méthode Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) à l'aide du lien :

<http://genomes.urv.cat/UPGMA/index.php?entrada> [206], avec la génération de 100 bootstraps.

Les VNTR ont été choisis avec le logiciel Tandem Repeat Finder® [207]. Les longueurs des unités de répétition varient de 109 à 244 pb pour ms26 jusqu'à 227 à 1600 pour ms33.



**Figure 10.6** : Apparition des amplicons sur le gel Dye Mix



**Figure 10.7** : Electrophoregramme sur le bioanalyseur AGILENT



### **10.8. Traitement statistique des données**

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel STATISTICA (version 2010).

Un test du chi-deux a été utilisé concernant les résultats obtenus en ELISA et PCRq pour détecter des différences significatives au niveau des troupeaux (antécédents d'avortements, taille, composition, système d'élevage et climat) et au niveau individuel (espèce, âge, symptômes). Une probabilité de moins de 5% a été considérée comme statistiquement significative, les effectifs de moins de 30 ont été calculés en utilisant le test exact de Fisher.

Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer les moyennes d'excrétions dans les différentes catégories sérologiques, associé à un test de Bonferroni pour corriger le niveau des comparaisons multiples de signification.

L'Odd-ratio (rapport de cotes) a été calculé pour quantifier l'association entre PCRq positive avec des résultats positifs en ELISA relativement aux résultats négatifs en ELISA.

Enfin, l'intervalle de confiance a été calculé selon la méthode de Miettinen.

# CHAPITRE 11

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 11.1. Enquête sur le terrain

#### 11.1.1. Description des avortements

##### - Résultats

L'éleveur est l'acteur principal en production et santé animale parmi les acteurs de la société civile.

Nous avons jugé avantageux d'initier notre travail par une enquête sur le terrain auprès des éleveurs pour rechercher d'une part l'élément clé de suspicion de la fièvre Q qui est l'avortement et d'autre part, évaluer les risques des différentes maladies infectieuses abortives et zoonotiques, en relation avec les mauvaises pratiques d'élevage pas spécialement ceux liés à la fièvre Q.

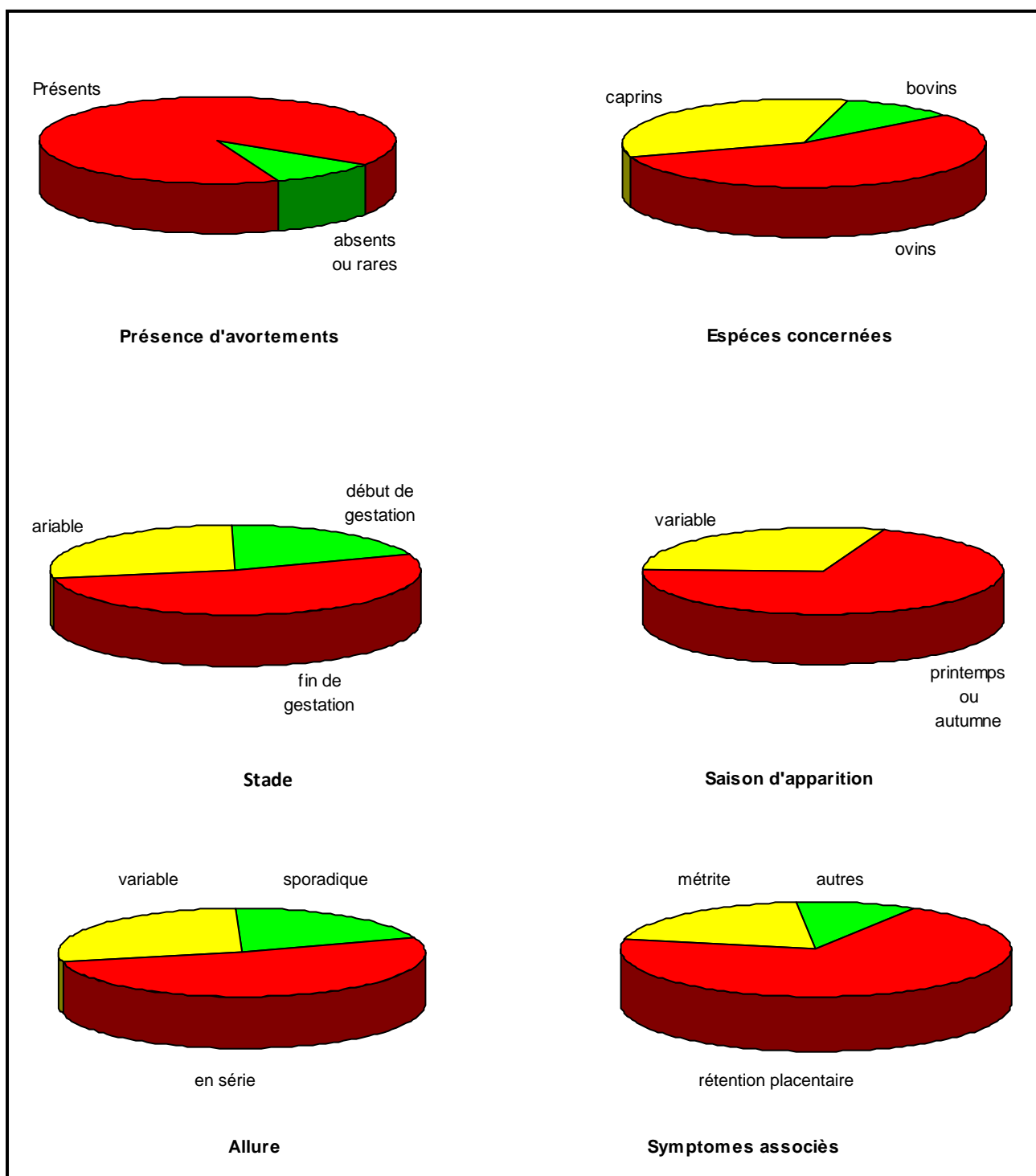
A travers les régions d'étude, notre enquête menée au niveau de 105 exploitations agricoles a prouvé que les avortements intéressent 90% des élevages enquêtés, contre 10% d'absence totale ou de rareté d'observation durant toute l'année.

A l'exception de certains éleveurs, la plupart associent ce phénomène aux pertes financières beaucoup plus qu'à l'état sanitaire des animaux, ils le voient comme un accident et ne le lient à aucune pathologie animale particulière, par conséquence, ils ne montrent aucune inquiétude quant au reste du troupeau surtout si ces avortements ne sont pas à répétition.

Selon les observations des éleveurs, les descriptions suivantes ont été notées :

- **espèces atteintes par les avortements** : une prédominance chez l'espèce ovine (56%), relativement à l'espèce caprine (34%) et bovine (10%).
- **stade d'apparition** : 55% des cas d'avortements ont été observés aux alentours des mise-bas, ce qui correspond à des avortements en fin de gestation.
- **saison** : la survenue de ses avortements a été observée en majorité (70%) au printemps et en automne, correspondant aux saisons d'agnelages.

- **allure** : 53% des élevages ont connu des avortements en série (allure enzootique), contre 20% avec des cas sporadiques.
- **symptômes associés** : 60% des avortements sont associés à des rétentions placentaires et 30% à des métrites.



**Figure 11.1** : Description des avortements selon l'observation des éleveurs

## **- DISCUSSION**

Dans notre enquête, la prédominance d'observations chez les ovins relativement aux caprins et bovins est en relation avec leur effectif (92% du nombre total de ruminants) selon les statistiques du Ministère d'Agriculture et du Développement Rural pour l'année 2012.

Les problèmes des avortements chez les différentes espèces de ruminants domestiques ont été rapportés à travers plusieurs régions du pays avec des proportions variables allant de 40% chez YAHIAOUI et al., (2013) [208] dans la région de KSAR EL BOUKHARI, jusqu'à 80% chez BOUKHALFA et al., (2014) [209] à travers la région Centre. En fait, cette entité pathologique est d'ordre international rapportée par plusieurs auteurs, tels que BENKIRANE et al., (1990) [210]; MAIGA, (1992) [211]; RATTNER et al., (1994) [212]; YILMAZ et al., (2002) [213]; KHAMMASI-KHABOU et al., (2009) [214]; SPILOVSKA et al., (2009) [215] et risque de constituer un frein important au développement des élevages. Les pertes engendrées, les risques zoonotiques et la baisse de productivité limitent le pouvoir compétitif surtout des petits éleveurs et rend les avortements un sujet important à approfondir.

### **11.1.2. Pratiques de santé face aux avortements**

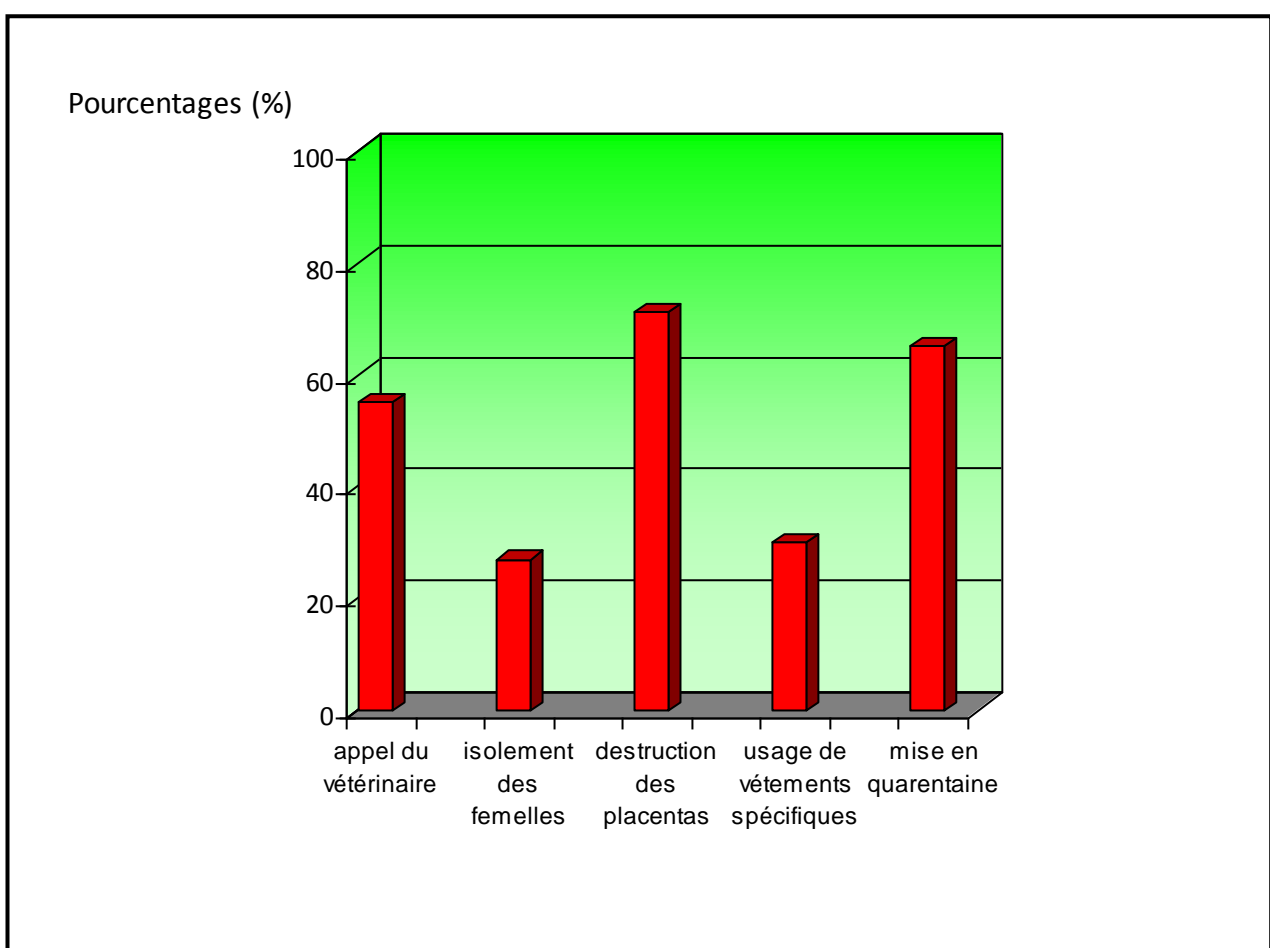
#### **- Résultats**

Après avoir répondu sur le premier volet de notre questionnaire, la deuxième partie a été consacrée aux mesures hygiéniques appliquées par les éleveurs aux périodes des mise-bas ou suite à l'observation d'avortements.

L'appel systématique du vétérinaire suite à des avortements est limité à 55% des éleveurs questionnés. Ce manque d'appel a été lié à une méconnaissance des intérêts de l'intervention du vétérinaire (35%), pour d'autres (10%), ils lient cela au coût de l'intervention qu'ils estiment élevé. Quant à la déclaration des avortements, elle fait défaut dans toutes les exploitations enquêtées.

Concernant les mesures d'hygiène appliquées par les éleveurs face aux avortements :

- uniquement 27% des éleveurs isolent les femelles ayant avortées et seulement 10% qui consacrent un endroit spécial aux agnelages.
- 29% des éleveurs ne se débarrassent pas des placentas et des enveloppes fœtales, dont 5% les distribuent aux carnivores domestiques de la ferme.
- seulement 30% des éleveurs qui interviennent dans les mise-bas utilisent des vêtements de protection.
- 65% des cas d'introduction des nouveaux animaux se faisaient sans aucune mesure sanitaire particulière ou une mise en quarantaine.



**Figure 11.2 :** Mesures hygiéniques appliquées par les éleveurs face aux avortements

## - DISCUSSION

Le fait de ne pas solliciter le vétérinaire suite à l'observation d'avortements témoigne d'une énorme méconnaissance de la part des éleveurs du rôle que peut jouer le vétérinaire dans la protection des animaux contre divers agents pathogènes, et la prévention d'éventuels avortements.

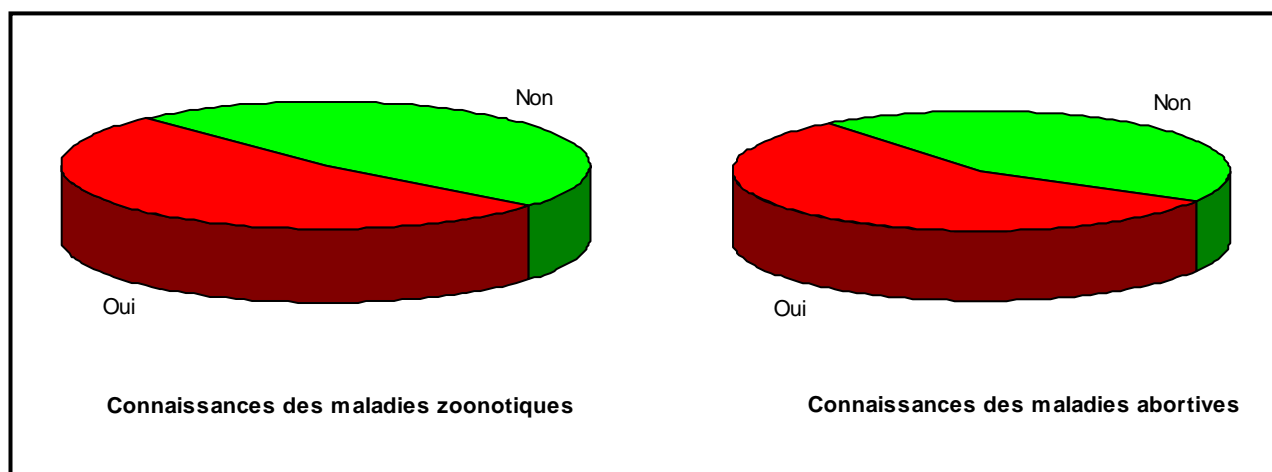
Certaines pratiques incorrectes liées aux avortements et aux mise-bas commises par les éleveurs ont été signalées par plusieurs auteurs dans d'autres pays, comme YILMAZ et al., (2002) en TURQUIE [213] et HOLT et al., (2011) en EGYPTE [216]. Ces pratiques favoriseraient l'infection à différents agents pathogènes ainsi que leurs propagations à travers les exploitations avoisinantes et l'environnement. En plus, elles augmenteraient les risques zoonotiques pour les personnes en contact avec ces animaux suite à une transmission respiratoire, oculaire, dermique ou digestive [204], non seulement de *Coxiella burnetii* [43, 217], mais aussi de différents agents microbiens zoonotiques, tels que *Brucella* [218] ; *Chlamydia* [219] ; *Salmonella* [220] ; *Campylobacter* [221], *Listeria* [222] et *Leptospira* [223].

L'introduction de nouveaux animaux à statut sanitaire inconnu favoriseraient ainsi l'introduction et la dissémination de bactéries [212], surtout lorsqu'il s'agit d'une femelle excrétrice [224].

### **11.1.3. Evaluation des connaissances des éleveurs sur les maladies abortives et zoonotiques**

#### **- Résultats**

Nous avons essayé d'évaluer les connaissances des éleveurs sur les différentes zoonoses liées aux avortements et aux pratiques d'élevages d'une manière générale, 45% des éleveurs questionnés, comme indique la figure 11.3 n'avaient aucune information relatives aux différentes étiologies, aux modes de transmission, aux symptômes rencontrés, et autres. Pour le reste, leurs informations sont très superficielles et limitées à quelques maladies seulement.



**Figure 11.3 :** Connaissance des maladies abortives et zoonotiques par les éleveurs

## - DISCUSSION

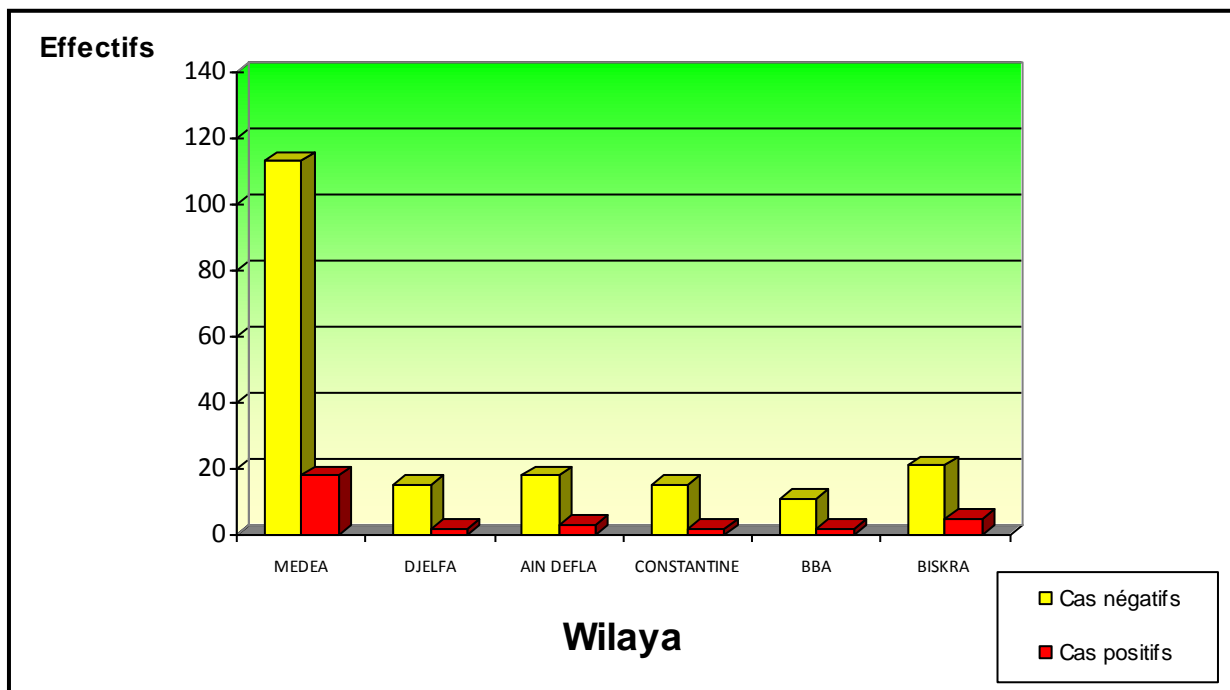
La majorité des éleveurs ont hérité le métier de leurs parents et manquaient de formations spécialisées. De ce fait, la méconnaissance des pathologies animales d'une manière générale, ainsi que des risques zoonotiques qui leurs sont associés pourraient augmenter les menaces d'infection pour les éleveurs et leurs familles ; pouvant rendre ainsi très difficile une application d'un plan de prophylaxie adapté à une pathologie animale, voire même une éventuelle professionnalisation du domaine d'élevage. En réalité, le manque de connaissances des éleveurs n'est pas un phénomène local, puisqu'il a été signalé à travers différents pays, comme l'ARABIE SAOUDITE [225], l'EGYPTE [216] et le KENYA [226].

## 11.2. Etude de la séroprévalence

### 11.2.1. Distribution de la séroprévalence par wilaya

#### - Résultats

Lorsqu'au moins un animal présentait une sérologie positive, nous avons considéré le cheptel positif en fièvre Q. La figure 11.4 résume les principaux résultats obtenus en sérologie pour les 6 wilaya enquêtées.



**Figure 11.4 : Séroprévalence par wilaya**

Globalement, aucune différence significative n'a été observée pour la séroprévalence entre différentes wilaya ( $p=0,97$ ) qui a varié entre 11,8 ( $\pm 23,8$ )% dans la wilaya de DJELFA et de CONSTANTINE, et 19,2 ( $\pm 15,1$ )% dans la wilaya de BISKRA. Pour la wilaya de MEDEA, on a pu enregistrer 18 cas positifs, soit une prévalence de 13,5% ( $\pm 5,8$ )%.

## - DISCUSSION

### a. Echantillonnage

L'hétérogénéité observée entre le nombre de prélèvements obtenus dans chaque wilaya est lié étroitement à la coopération des vétérinaires praticiens et des éleveurs.

Concernant la qualité de nos échantillons, 2 notions sont à évaluer :

- **Exactitude** : un échantillon est qualifié de représentatif, lorsqu'il résulte d'un tirage au sort [227]. Cependant, la définition de la représentativité est théorique et la construction d'un échantillonnage aléatoire est très difficile [228]. Dans notre étude, le choix a été lié à des phénomènes d'avortements ou des mise-



bas, dans un objectif diagnostique. De ce fait, nous ne pouvons pas qualifier nos échantillons de représentatifs pour la population étudiée.

Un écart important a été observé entre la wilaya de MEDEA et les autres wilaya en matière de nombre de prélèvements, comme indique la figure 10.3. Ceci est dû à l'énorme collaboration qu'on a pu obtenir pour la collecte des échantillons de la part des praticiens et des éleveurs, ainsi qu'à la facilitation d'accès pour la plupart des élevages. En 2010, cette région a déjà fait l'objet d'une enquête sérologique chez les moutons avant la puberté et une séroprévalence de 70% à l'échelle des troupeaux et 18% à l'échelle individuelle a été enregistrée [23], ce qui nous a incités à y focaliser nos prélèvements.

- **Précision** : la précision d'une estimation en enquête descriptive est conditionnée par la taille de l'échantillon. Dans notre cas, un taux approximatif de 10% du nombre de femelles composant les cheptels a été choisi pour la plupart des élevages suivant les directives du guide de prélèvement de TOMA et al., (2001) [228].

## **b. Choix de la technique**

La technique ELISA indirecte a été choisie à cause de sa bonne sensibilité et spécificité relativement à la méthode de fixation du complément et sa légère supériorité en matière de sensibilité par rapport à l'immunofluorescence [135, 189].

Il a été démontré que le kit que nous avons utilisé est très performant en matière de recherche des anticorps spécifiques à *Coxiella burnetii*, puisqu'il est capable d'identifier tous les cas négatifs qui proviennent de cheptels négatifs et encore, le nombre le plus élevé des cas positifs à partir d'échantillons provenant de cheptels positifs [229]. En effet, la grande sensibilité de ce kit ELISA est liée à l'utilisation d'un antigène de *C. burnetii* isolé de ruminants domestiques par rapport aux kits utilisant la souche Nine Mile isolée à partir de tiques [193].

### c. Séroprévalence par wilaya

La séroprévalence obtenue par wilaya est en fait, loin de représenter la situation épidémiologique réelle, vu le faible nombre d'échantillons. Cependant, on a obtenu au moins un cheptel infecté par wilaya et 2 cas positifs. Ceci pourrait indiquer une forte circulation du germe entre animaux pendant les périodes des mise-bas et une forte contamination de l'environnement.

Dans la wilaya de Médéa, nous avons obtenus une séroprévalence de 13,5% à l'échelle individuelle et 52,2% à l'échelle des troupeaux, contrairement à une étude réalisée chez les brebis dans la même région en 2011 qui a pu enregistrer 26,1% au niveau individuel et 75% au niveau des cheptels [208]. Ces taux élevés relativement à notre étude pourraient avoir un lien avec l'ancienneté de l'infection dans les cheptels choisis, puisque les anticorps spécifiques anti *C. burnetii* sont détectables pour une durée de plus d'une année [198, 230].

#### 11.2.2. Séroprévalence à l'échelle des troupeaux

##### - Résultats

##### a. Séroprévalence à l'échelle des troupeaux

Nos résultats indiqués sur la figure 11.5 montrent que 17 troupeaux parmi 29 testés ont montré des signes d'infection à *Coxiella burnetii*, avec un taux de séroprévalence cheptel de 58,6 ( $\pm 18$ )%.

Parmi ces 17 cheptels infectés, 9 n'avaient enregistré qu'un seul cas positif par troupeau.

La séroprévalence intra-troupeau variait de 11,1% à 50%. Les taux les plus élevés ont été observés dans la wilaya de MEDEA (33,3% ; 42,9% et 50%). Les autres wilaya ont enregistré des taux variables : 14,3 à 25% à AIN DEFLA ; 14,3 à 16,7% à CONSTANTINE ; 11,1 à 12,5% à DJELFA ; 28,2% dans un seul élevage à BORDJ BOUARERIDJ et 25% dans un élevage à BISKRA.

Nous avons pu obtenir 12 cheptels négatifs, dont 8 à MEDEA, et un pour chacun des wilaya suivantes : CONSTANTINE ; AIN DEFLA ; BORDJ BOUARERIDJ et BISKRA.

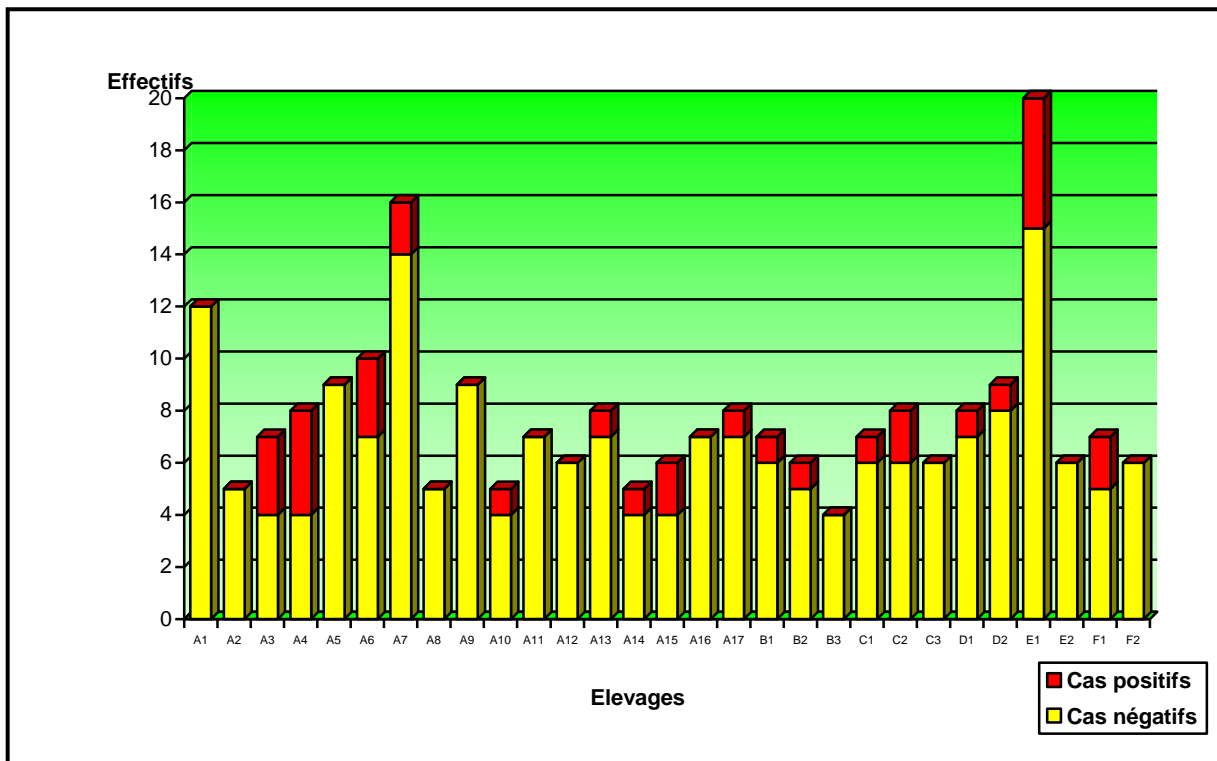


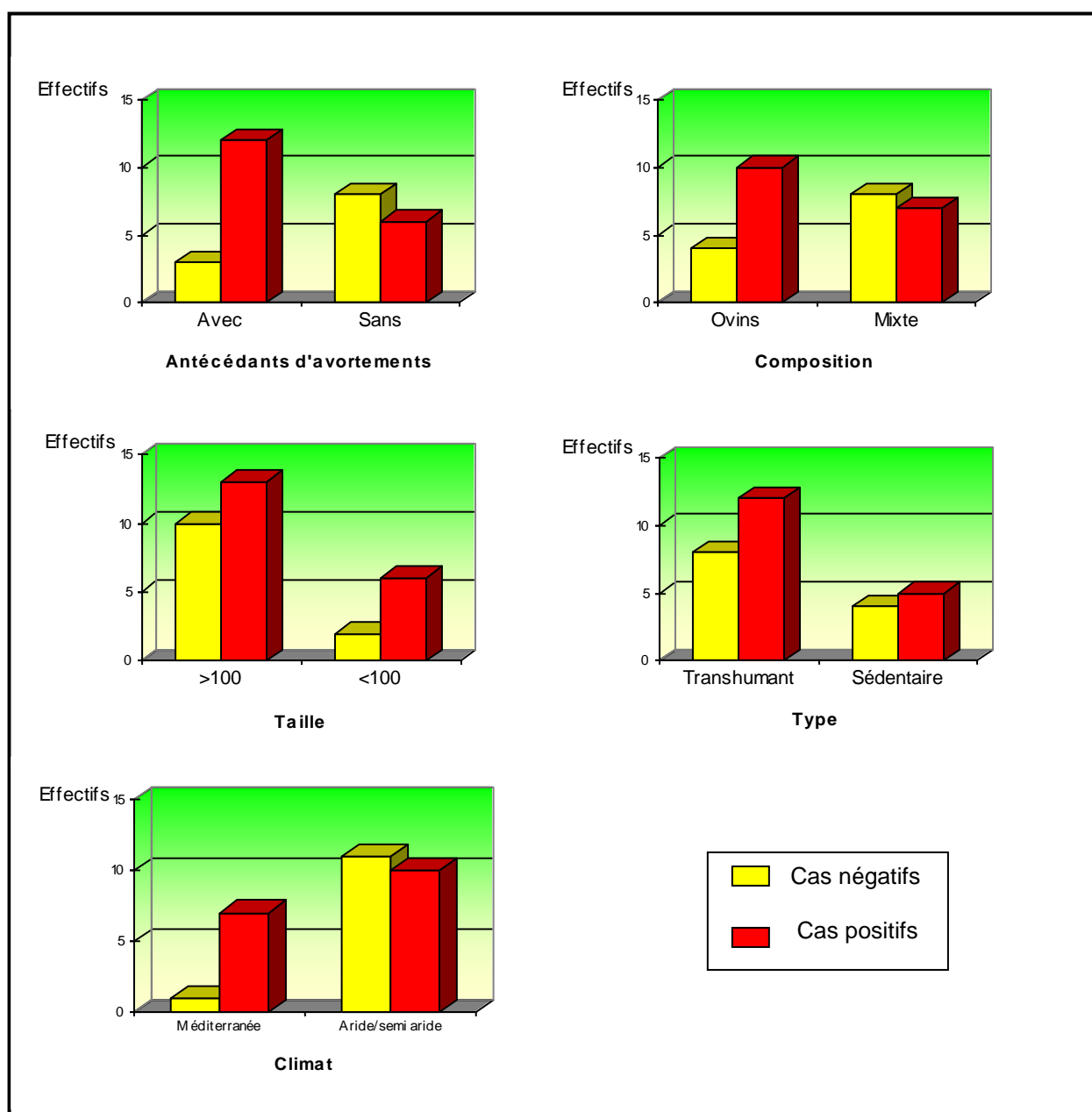
Figure 11.5 : Séroprévalence par élevage

### b. Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des élevages

La figure 11.6 présente les principaux résultats de la séroprévalence avec les différentes caractéristiques des élevages.

- **Antécédents d'avortements** : 80% des troupeaux avec des antécédents d'avortements ont présenté des animaux séropositifs contre 42,8% des troupeaux sans antécédents d'avortements, sans différence significative ( $p=0,06$ ).
- **Taille** : les troupeaux de plus de 100 animaux ont enregistré 66,7% relativement aux troupeaux à moins de 100 animaux (56,5%), les résultats étaient indépendants ( $p=0,65$ ).
- **Composition** : aucune association n'a été observée entre les taux de prévalence observés dans les troupeaux de moutons (taux de 66,7%) et les troupeaux mixtes avec un taux de 50% ( $p = 0,26$ ).

- **Type d'élevage** : une similitude a été observée entre les troupeaux sédentaires (55,6%) et les troupeaux transhumants (60%) ( $p=0,83$ ) en matière de séropositivité.
- **Climat** : aucune différence significative n'a été observée ( $p=0,35$ ). 83,3% pour les troupeaux qui se localisent dans les régions à climat méditerranéen et 52,1% pour les troupeaux à climat aride ou semi-aride ont présenté des animaux séropositifs.



**Figure 11.6** : Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des élevages

## - DISCUSSION

### a. Séroprévalence à l'échelle des troupeaux

Les taux de séroprévalence obtenus dans notre enquête (58,6 ±18%) sont proches à ceux rapportés en TUNISIE (55% chez les troupeaux à antécédents d'avortements) [25] et au MAROC (50% chez les troupeaux en période de mise-bas) [26]. Ces taux sont encore plus élevés par rapport à d'autres enquêtes, telles que celle de MASALA et al., (2010) en ITALIE sur des troupeaux à antécédents d'avortements avec 38% pour les troupeaux ovins et 47% pour les troupeaux caprins [30], HILBERT et al., (2012) avec 28% en ALLEMAGNE [231], ANASTACIO et al., (2013) avec 37,5% au PORTUGAL [232] et VAN DER BROM et al., (2012) avec 14,5% au PAYS-BAS [233]. En contre partie, des taux beaucoup plus élevées ont été rapportées par RUIZ-FONS et al., (2010) avec 74% en ESPAGNE [29], KENNERMAN et al., (2010) avec 83% en TURQUIE [33], GEORGIEV et al., (2013) avec 89% en FRANCE [234] et ASADI et al., (2012) avec 100% en IRAN [235].

En ce qui concerne les 12 troupeaux où aucun cas positif n'a été enregistré, nous ne pouvons pas affirmer que la séropositivité intra-troupeaux est égal à 0, selon TOMA et al., (2001) [228], concernant les pourcentages indiquant les probabilités de non-infection en relation avec les animaux infectés pourrait être inférieur à 45% pour les troupeaux A2 et A8 ; moins de 40% pour le troupeau B4 ; moins de 35% pour les troupeaux A11 ; A12, A16 , C3, E2 et F2 ; moins de 25% pour les troupeaux A5 et A9 ; moins de 20% pour le troupeau A1 (voir appendice I).

### b. Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des élevages

- **Antécédents d'avortements** : la séropositivité élevée pour les troupeaux avec antécédents d'avortements relativement aux troupeaux sans antécédents pourrait renforcer l'idée d'une forte implication de la fièvre Q dans ces avortements, ce qui a été déjà rapporté par plusieurs études, comme ROUSSET et al., (2007) [135] et GARCIA-PEREZ et al., (2009) [28].
- **Taille** : les taux de séroprévalence élevés observés dans les troupeaux de plus de 100 animaux relativement aux troupeaux de petite taille pourraient être liés au surpeuplement des animaux dans les bâtiments d'élevage, où la

densité élevée pourrait influencer le bien-être animal et par conséquent, l'apparition de maladies infectieuses, les résultats de SCHIMMER et al., (2011) [236] et ANASTACIO et al., (2013) [232] confortent nos résultats que les grands troupeaux sont beaucoup plus en mesure d'acquérir et de développer la fièvre Q.

- **Composition** : les taux similaires observés entre les troupeaux d'ovins et les troupeaux mixtes nous laissent penser que la présence de caprins n'a pas d'influence sur la survenue de l'infection entre les 2 espèces qui sont les principaux réservoirs de la bactérie [7, 194].
- **Type d'élevage** : CAPUANO et al., (2001) [237] ont montré que, pour une même espèce dans une même région et à une même période, la séroprévalence individuelle pouvait être 6,8 fois plus importante dans les élevages entièrement conduits en bâtiment que dans ceux conduits entièrement en pâture, contrairement à notre étude où les 2 types d'élevages ont présenté des taux de séroprévalence cheptels avoisinants. Ceci en fait dépendrait essentiellement des circonstances d'apparition de la maladie au sein du cheptel, ainsi que de la présence d'animaux excréteurs.
- **Climat** : nous avons observé des animaux séropositifs dans des régions avec des climats différents (méditerranéen et aride ou semi-aride) sans différences statistiques, contrairement à certaines études qui ont démontré la relation du temps sec et l'environnement aride dans la survenue de la fièvre Q [72, 238, 239]. Cette présence dans des climats différents pourrait avoir une relation avec la résistance de la bactérie dans le milieu extérieur sous sa forme pseudosporale, ce qui lui permet de survivre et d'assurer la transmission aux animaux dans différentes conditions climatiques [240].

### 11.2.3. Séroprévalence à l'échelle individuelle

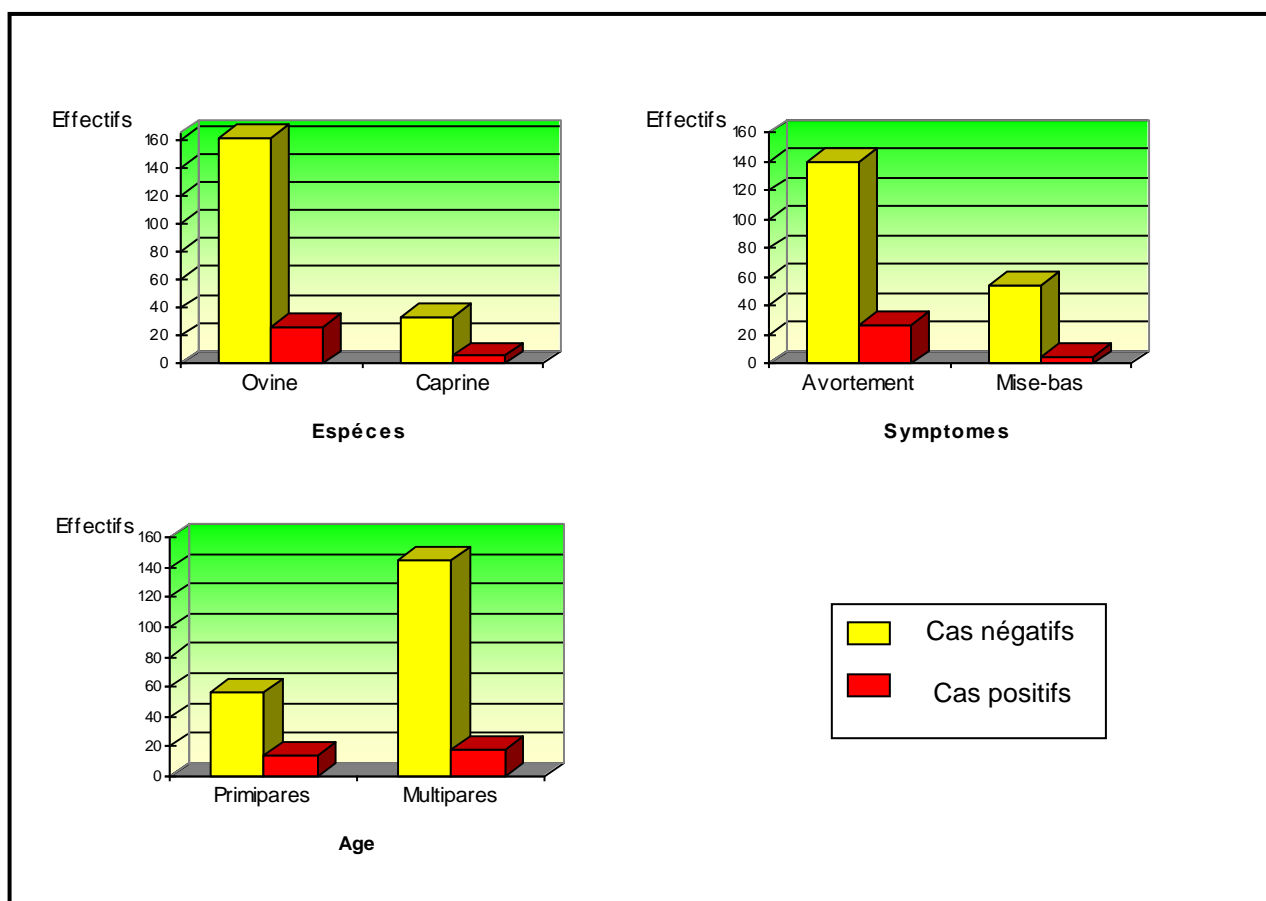
#### - Résultats

##### a. Séroprévalence à l'échelle individuelle

On a pu observer 32 cas positifs sur 227 femelles testées, avec une prévalence individuelle de 14,1 ( $\pm 2,3$ )%.

##### b. Séroprévalence selon différents critères à l'échelle individuelle

La figure 11.7 indique les principaux critères en association avec la séroprévalence à une échelle individuelle.



**Figure 11.7 :** Séroprévalence selon différents critères à l'échelle individuelle

- **Espèces** : parmi les 2 espèces étudiées, 13,9% des femelles ovines et 15% des femelles caprines ont présenté des cas positifs, mais les résultats étaient indépendants ( $p=1$ ).
- **Symptômes** : 8,3% des femelles ayant eu des agnelages normaux étaient séropositifs, tandis que les femelles ayant avortées ont donné un taux de 16,2%, ils étaient insignificatifs statistiquement ( $p=0,13$ ).
- **Age** : la plus grande valeur de séroprévalence a été observée pour les primipares avec 20%, par rapport aux multipares avec 11,5% mais sans preuve de relation ( $p=0,1$ ).

## - DISCUSSION

### a. Séroprévalence à l'échelle individuelle

Le taux de séroprévalence obtenu dans notre enquête ( $14,1 \pm 2,3\%$ ) est avoisinant aux valeurs obtenues par SCHELLING et al., (2000) chez les troupeaux de nomades en TCHAD avec 11% chez les ovins et 13% chez les caprins [240], RUIZ-FONS et al., (2010) avec 11,8% [29], VAN DER BROM et al., (2012) avec 17,2% [233], ASADI et al., (2012) avec 19,5% [240], GEORGIEV et al., (2013) avec 20% [234] et SIDIBE et al., (2013) avec 17% au MALI [242]. Nos résultats sont légèrement supérieurs aux valeurs obtenues par la méthode de fixation du complément en TUNISIE avec 11,7% pour REKIKI et al., (2005) [24], au MAROC avec 7,2% pour HAMZY EL IDRISSE et al., (1995) [26], encore pour VAIDYA et al., (2010) avec 9,3% [243], MASALA et al., (2010) avec 9% [29] et ANASTACIO et al., (2013) avec 8,3% [232]. Des valeurs extrêmement élevées ont été signalées par CHAILLON et al., (2008) avec 65,3% parmi les chèvres ayant avortées en relation avec des cas de fièvre Q humaine en FRANCE [244]. En contre partie, d'autres enquêtes de séroprévalence ont enregistré des taux assez faibles, à l'exemple HATCHETTE et al., (2001) avec 3,1% au CANADA [245] et CEKANI et al., (2008) avec 3,2% en ALBANIE [34].



## b. Séroprévalence selon différents critères à l'échelle individuelle

- **Espèces** : les taux de séroprévalence avoisinants entre les 2 espèces ont été déjà rapportés dans plusieurs études : SCHELLING et al., (2003) avec 11 et 16,8% [241] ; MAZYAD et HAFIZ (2007) avec 22,5 et 16,8% [27] et VAIDYA et al., (2010) avec 11,6 et 7,5% [243] chez les ovins et les caprins respectivement.
- **Symptômes** : il n'y a pas de lien systématique entre la séropositivité et l'avortement, les cas positifs en ELISA pourraient être liés à une ancienne exposition à la bactérie [53].
- **Age** : bien que la différence n'était pas statistiquement significative, une légère supériorité en matière de séropositivité a été observée pour les primipares relativement aux multipares, consentant l'étude de KENNERMAN et al., (2010) qui ont signalé un taux de 28% pour les primipares et 19% pour les multipares [33]. Nos résultats nous permettent de supposer que la sensibilité des femelles non vaccinées vis-à-vis de *C. burnetii* est identique quel que soit l'âge.

### 11.2.4. Valeurs de Densité Optique du test ELISA

#### - Résultats

Les résultats des valeurs de Densité Optique obtenues par élevage sont mentionnés dans la figure 11.8.

Les moyennes de positivité de la DO les plus élevées par troupeau ont été observées à MEDEA pour le troupeau A4 avec une valeur de 54,1 et le troupeau A15 avec une valeur de 43. Quatre troupeaux encore se rapprochaient des moyennes de positivité par élevage : F1 à BORDJ BOUARERIDJ avec 38 ; B2 à CONSTANTINE avec 37,2 ; E1 à BISKRA avec 34,7 et A6 à MEDEA avec 34,2. Les moyennes de DO pour le reste de troupeaux étaient assez faibles, voire négatives pour les troupeaux A8 à MEDEA et C3 à AIN DEFLA.

Entre les 32 cas positifs, seulement 8 ont une valeur supérieure à 100 de DO et sont donc considérés comme fortement positifs, les 24 restants avaient des valeurs faiblement positives comprises entre 40 et 100.

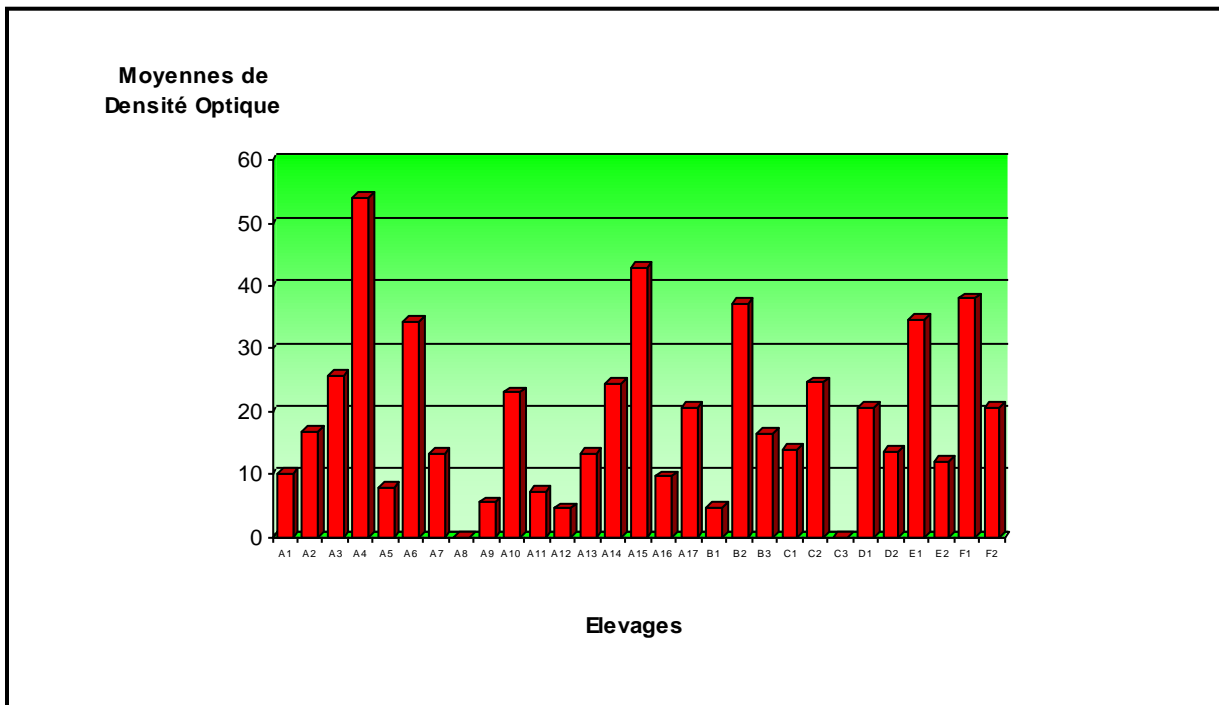


Figure 11.8 : Moyennes de Densité Optique par élevage

## - DISCUSSION

Les réponses positives obtenues dans notre étude (8 cas fortement positifs et 24 cas faiblement positifs) pourraient indiquer une infection récente, surtout pour les primipares, au point de ne pas permettre aux animaux de développer un niveau élevé d'anticorps spécifiques puisque les titres en anticorps atteignent leur maximum après 5 semaines d'agnelage ou d'avortement. Cependant, pour les multipares, les infections pourraient être anciennes ce qui a baissé le niveau des anticorps, puisque la réponse immunitaire humorale peut durer deux années chez les brebis après une infection [198, 229].

### 11.3. Etude de l'excrétion bactérienne par voie vaginale

#### 11.3.1. Distribution de l'excrétion bactérienne par wilaya

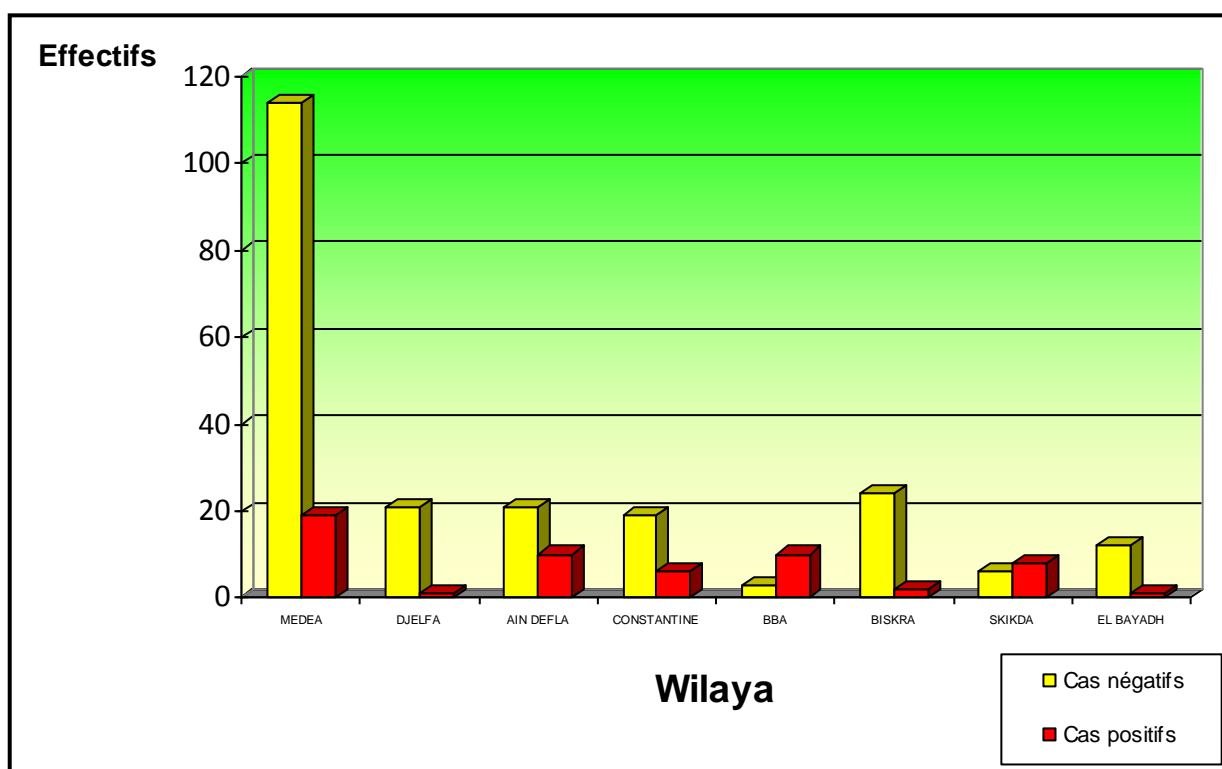
##### - Résultats

Nous avons considéré le cheptel comme excréteur de *Coxiella burnetii* lorsqu'au moins un animal présentait une PCRq positive.

La figure 11.9 résume les principaux résultats obtenus en PCRq pour les 8 wilaya enquêtées.

Les 2 troupeaux testés pour chacune des 3 wilaya BORDJ BOUARERIDJ, BISKRA et SKIKDA ont compté des animaux excréteurs. Les taux d'atteintes pour les cheptels ont avoisiné les 50% pour les wilaya de AIN DEFLA (67%), MEDEA (53%) et CONSTANTINE et EL BAYADH (50%). Le taux le plus faible a été observé à DJELFA avec 34%.

C'est dans les wilaya de BORDJ BOUARRERIDJ (avec  $77 \pm 27\%$ ), SKIKDA (avec  $57 \pm 27\%$ ), AIN DEFLA (avec  $47,6 \pm 21,4\%$ ) et MEDEA (avec  $14,3 \pm 8,5\%$ ) qu'on a pu observer les taux d'excrétion les plus élevés. Un taux de  $7,7 \pm 19,2\%$  a été observé à BISKRA et  $7,7 \pm 27,1\%$  à EL BAYADH. Le taux le plus faible a été noté à DJELFA avec  $4,5 \pm 21,1\%$ .



**Figure 11.9 :** Taux d'excrétion bactérienne par wilaya

## - DISCUSSION

### a. Choix de la technique

La PCRq a été employée dans notre étude pour son énorme succès dans la détection et la quantification de l'ADN de *Coxiella burnetii* au niveau des échantillons biologiques et des cultures cellulaires [7, 43, 146, 164, 246].

### b. Excrétion bactérienne par wilaya

Après avoir observé des cas positifs en ELISA qui ont démontré le contact entre la bactérie et les animaux testés, les cas positifs enregistrés avec la technique PCRq et observés dans toutes les wilaya enquêtées, avec des proportions variables viennent confirmer que ces contacts ont été accompagnés d'une excrétion bactérienne qui pourrait augmenter le risque de propagation de la maladie entre les animaux du même élevage et des élevages avoisinants, ainsi que la contamination du milieu extérieur [4, 53].

Nous n'avons pas pu comparer les taux d'excrétion obtenus dans notre étude avec d'autres wilaya à cause d'absence d'étude à l'échelle moléculaire.

### 11.3.2. Excrétion bactérienne à l'échelle des troupeaux

#### - Résultats

#### a. Excrétion bactérienne à l'échelle des troupeaux

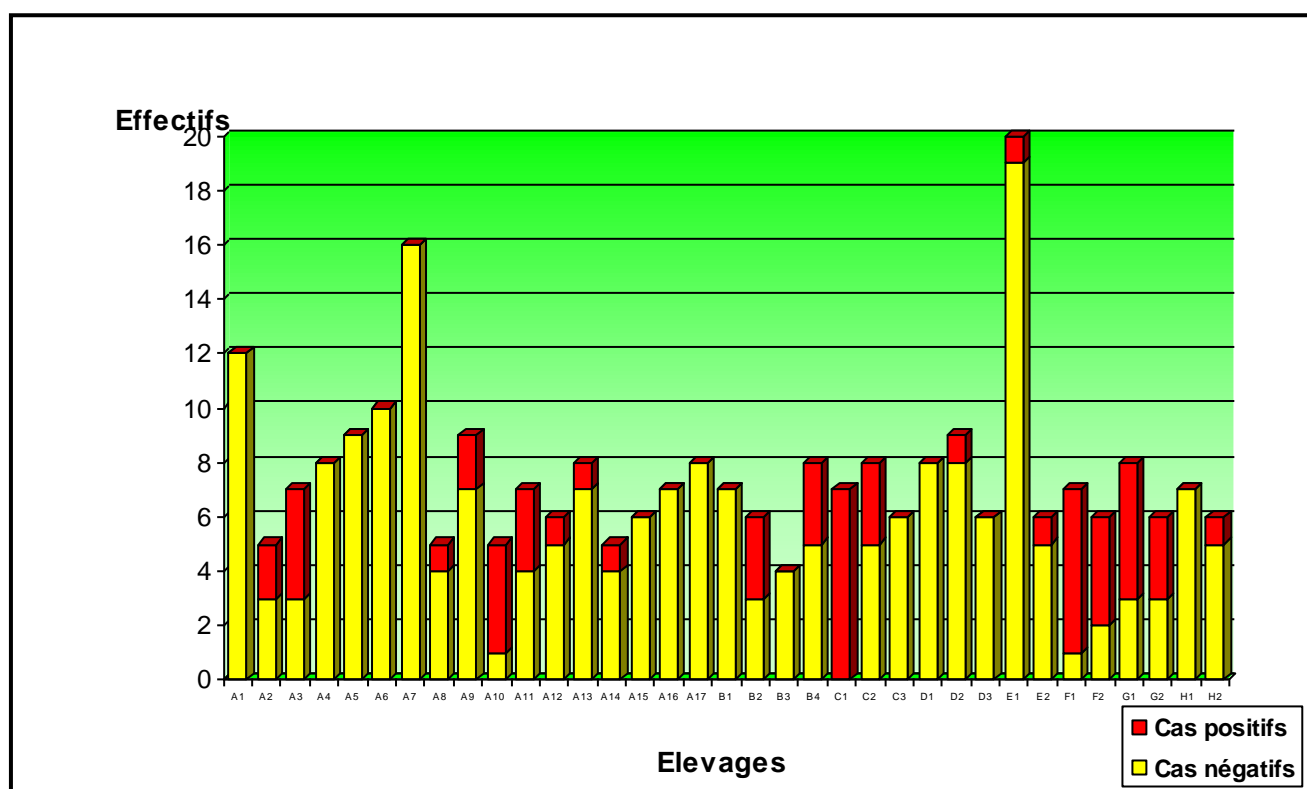
En observant la figure 11.10 des résultats obtenus par élevage, 21 troupeaux avaient au moins une femelle excrétrice (soit un taux de  $60 \pm 16,2\%$ ).

Les écarts entre les taux d'excrétion intra-troupeaux étaient assez importants :

- 0% pour 14 troupeaux, dont 8 à MEDEA, 2 à DJELFA et CONSTANTINE, 1 à AIN DEFLA et EL BAYADH.
- entre 11 à 22% pour 9 troupeaux, dont 5 à MEDEA, 2 à BISKRA, 1 à DJELFA et EL BAYADH.
- entre 37 à 66% pour 9 élevages, 3 à MEDEA, 2 à CONSTANTINE et SKIKDA, 1 à DJELFA et BORDJ BOUARERIDJ.

- entre 80 à 85% pour 2 élevages à MEDEA et BORDJ BOUARERIDJ.
- 100% pour un élevage à AIN DEFLA où les 7 femelles testées étaient excrétrices.

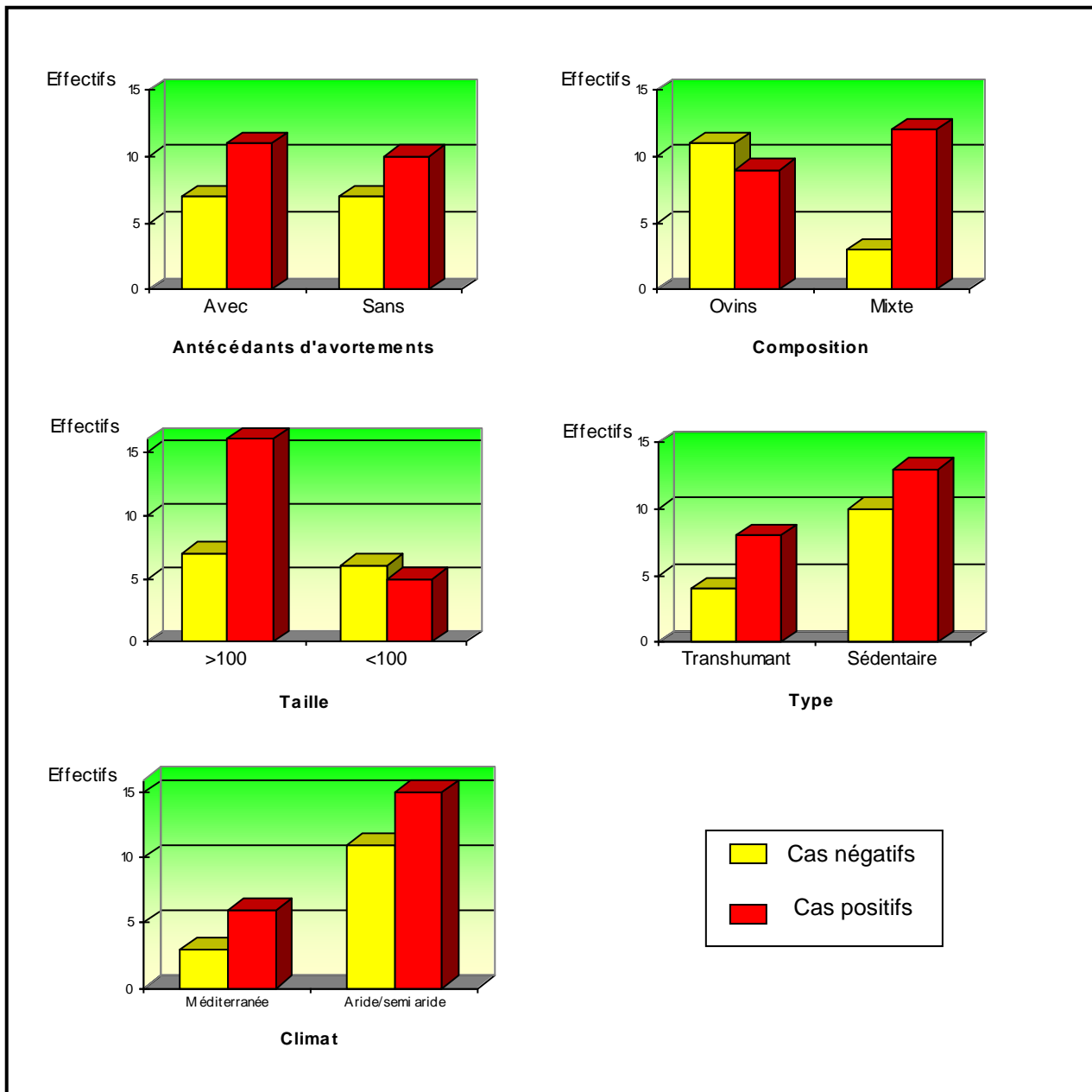
Ces pourcentages sont en relation avec le nombre d'animaux testés, puisque 8 troupeaux n'ont enregistré qu'une seule femelle excrétrice pour chacun, 2 troupeaux avec 2 femelles excrétrices seulement, encore 5 troupeaux avec 3 cas positifs et 6 troupeaux avec 4 cas positifs et plus.



**Figure 11.10 :** Taux d'excrétion bactérienne par élevage

### b. Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle des élevages

Les résultats obtenus en PCRq (figure 11.11) n'ont pas présenté des différences significatives entre les critères choisis à l'échelle des troupeaux.



**Figure 11.11 :** Taux d'excrétion selon différents critères à l'échelle des élevages

## - DISCUSSION

### a. Excrétion bactérienne à l'échelle des troupeaux

Nos résultats de taux d'excrétion bactérienne à l'échelle des troupeaux ( $60 \pm 16,2\%$ ) sont proches de ceux de DUBUC-FORFAIT et al., (2009) avec 77,8% pour les troupeaux caprins laitiers [246]. RODOLAKIS et al., (2007) ont pu enregistrer des taux d'excrétion intra-troupeaux de 94% chez les ovins et 30,8% chez les caprins [146].

La présence de femelles excrétrices dans les troupeaux pourrait représenter une source de contamination des autres animaux de la même exploitation, des cheptels avoisinants et de l'environnement, puisque cette excrétion peut persister 1 mois pour la majorité des animaux, voire 3 à 5 mois pour une partie d'animaux. Cette résistance serait associée à une résistance élevée à l'extérieur [129, 247].

#### **b. Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle des élevages**

- **Antécédents d'avortements** : les cas positifs observés dans les troupeaux à antécédents d'avortements pourraient incriminer la fièvre Q dans les avortements des saisons précédentes [192]. Par contre, chez les troupeaux sans antécédents d'avortements la maladie pourrait être soit nouvellement introduite dans ces cheptels soit les femelles ont été infectées hors saison d'agnelages, ce qui serait passé inaperçu.
- **Taille** : pareillement à nos résultats, l'étude de Garcia-Pérez et al., (2009) n'a pas trouvé une relation entre la taille de l'élevage et le statut excréteur d'un élevage [28].
- **Composition** : chez les troupeaux excréteurs de *C. burnetii*, la composition des cheptels ne semble pas avoir une influence sur cette excrétion [194].
- **Type d'élevage** : Il semble que l'excrétion de *C. burnetii* peut être maintenue chez les ruminants domestiques dans différents systèmes d'élevage et aucune influence d'un type particulier n'a été prouvée [43].
- **Climat** : certaines conditions climatiques (vents forts et climat sec) pourraient influencer la survenue de la fièvre Q [97, 253], ce qui n'a pas été observé dans les élevages enquêtés.

### 11.3.3. Excrétion bactérienne à l'échelle individuelle

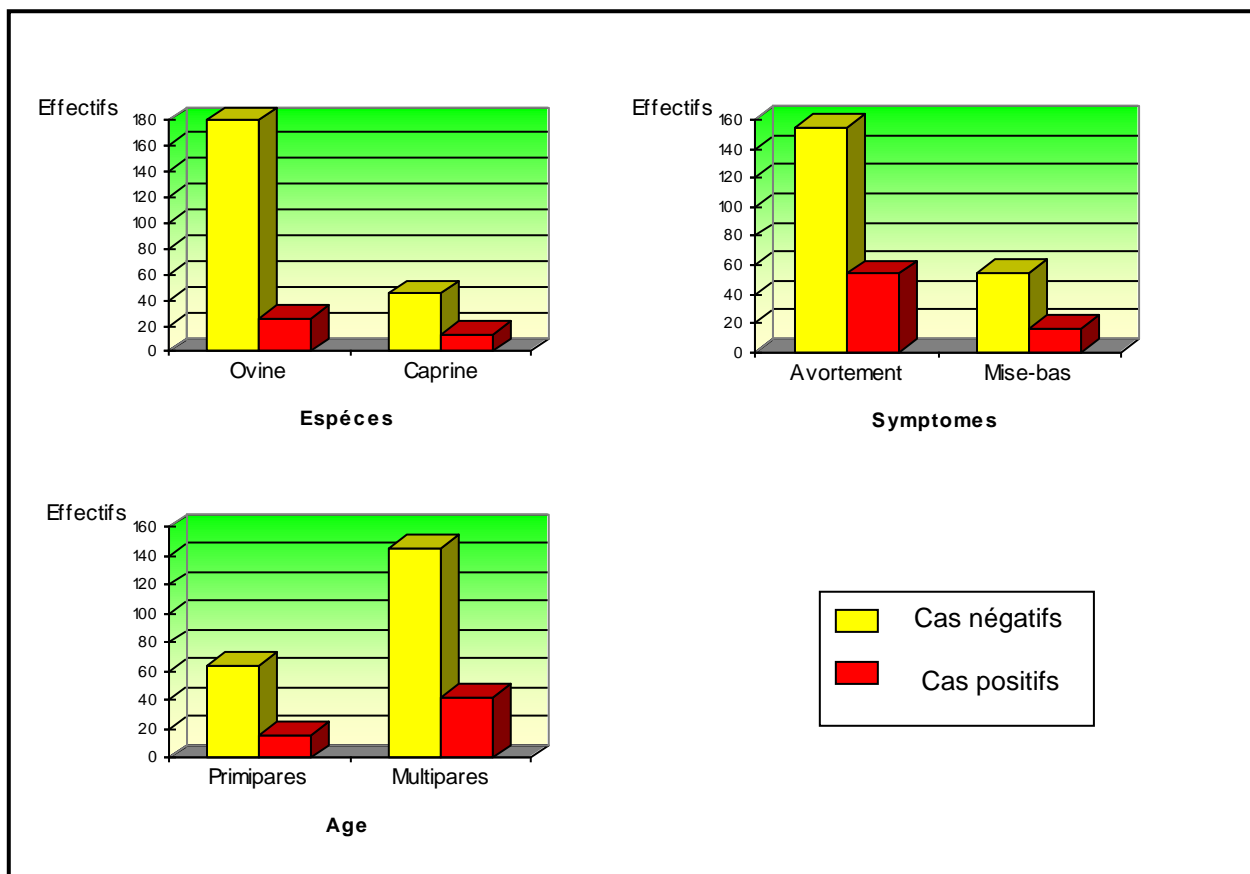
#### - Résultats

##### a. Excrétion bactérienne à l'échelle individuelle

57 femmes parmi 267 les testées ont excrété *Coxiella burnetii* dans leur sécrétion vaginale, soit un taux de 21,3 ( $\pm 6$ )%.

##### b. Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle individuelle

La figure 11.12 indique les principaux résultats obtenus en PCRq selon différents caractéristiques à l'échelle individuelle.



**Figure 11.12 :** Taux d'excrétion selon différents critères à l'échelle individuelle

- **Espèces :** aucune différence significative n'a été observée entre les taux d'excrétion bactérienne et les espèces testées (20,1% pour les ovins et 30,2% pour les caprins) ( $p=0,82$ ).



- **Symptômes** : 21,3% des femelles ayant avortées et 23% ayant mis-bas sont excrétrices de bactéries ( $p = 0,12$ ).
- **Age** : les pourcentages d'excrétion bactérienne ont varié de 19,5% pour les primipares et 22,7% pour les multipares sans différence significative ( $p=0,63$ ).

## - DISCUSSION

### a. Excrétion bactérienne à l'échelle individuelle

Contrairement à notre étude ( $21,3 \pm 6\%$ ), des taux d'excrétion vaginale de 70% chez les ovins et 8,3% chez les caprins ont été rapportés par RODOLAKIS et al., (2007) dans un contexte d'avortements liés à la fièvre Q [129], RAČIĆ et al., (2014) ont signalé des taux d'excrétion de 7,1% chez les ovins et 29,5% chez les caprins [248].

### b. Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle individuelle

- **Espèces** : Nous avons observé des pourcentages très proches d'excrétion bactérienne entre les femelles des 2 espèces testées, ceci pourrait être justifié par le fait qu'elles représentent les principaux réservoirs de *C. burnetii* et de nombreuses recherches sont similaires à nos résultats [55, 249, 250].
- **Symptômes** : Après des avortements ou agnelages normales, les pourcentages d'excrétion bactérienne n'ont pas présenté de différences statistiques, ce qui est en accord avec l'étude de ROUSSET et al., (2009) avec 23% pour les femelles avec avortements et 11% pour celles sans avortements dans les troupeaux de chèvres [21]. L'excrétion bactérienne sans signes cliniques d'avortements (avec un taux de 22,9%) a été observé dans d'autres études comme celle de ALSALEH et al., (2011) avec un taux de 22,5% [251] et BERRI et al., (2005) avec 26,5% chez les caprins [55]. Pour les multipares, l'excrétion pourrait être liée à des avortements précédents et l'excrétion bactérienne se poursuit normalement, puisque l'avortement chez les ovins ne s'observe qu'une seule fois et les gestations suivantes sont généralement menées à terme [198], contrairement, chez les caprins où la maladie peut perturber plusieurs gestations successives [148]. Concernant les primipares

excrétrices sans avortements, l'infection pourrait être récente et associée uniquement à une élimination de bactéries dans le milieu extérieur, donc l'étiologie abortive n'est pas *C. burnetii*.

- **Age** : En ce qui concerne l'âge des femelles excrétrices, aucune association n'a été démontrée dans notre étude, ce qui nous laisse supposer que la sensibilité des femelles de différents âges à l'infection par *C. burnetii* est identique.

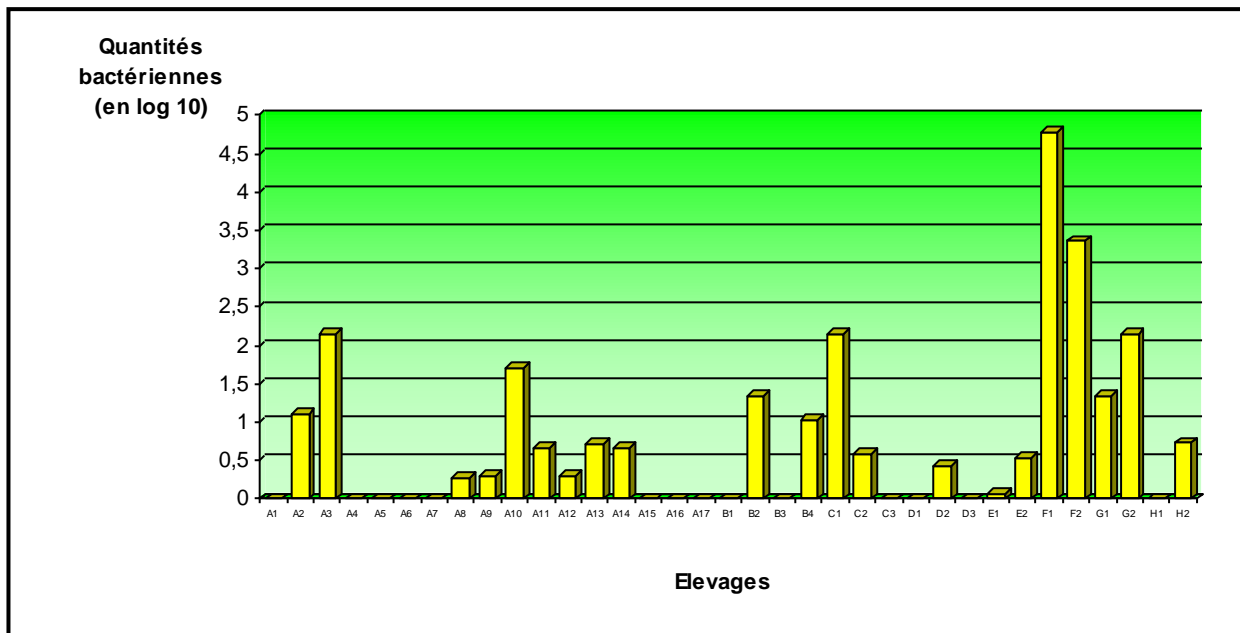
#### **11.3.4. Quantités bactériennes excrétées en PCRq**

##### **- Résultats**

Les quantités bactériennes obtenues par la technique PCRq sont transformées en log<sub>10</sub> en mettant en évidence plutôt les variations relatives surtout pour des valeurs qui peuvent varier entre 0 et 10<sup>8</sup>, permettant ainsi d'amplifier les valeurs proches de 0 et de rendre moins importantes les grands nombres. Les résultats sont mentionnés dans la figure 11.13.

Suivant le niveau d'excrétion bactérienne par voie vaginale, nous avons pu classer les élevages en 4 niveaux différents :

- **élevages sans excrétion bactérienne** : 14 troupeaux n'avaient pas de traces d'ADN dans les écouvillons vaginaux des femelles testées.
- **élevages à faible niveau d'excrétion** : des moyennes faibles d'excrétion ont caractérisé 11 troupeaux, variant de 0,07 (log<sub>10</sub>) bactéries par écouvillon dans élevage à BISKRA jusqu'à 0,73 (log<sub>10</sub>) bactéries par écouvillon dans un élevage à EL BAYADH.
- **élevages à niveau moyen d'excrétion** : 8 cheptels avaient des niveaux modérés d'excrétion, allant de 1,02 (log<sub>10</sub>) bactéries par écouvillon à CONSTANTINE jusqu' à 2,15 (log<sub>10</sub>) bactéries par écouvillon pour 2 cheptels à MEDEA et AIN DEFLA.
- **élevages à niveau élevé d'excrétion** : cette catégorie concerne uniquement 2 élevages à Bord Bouarerdj avec des valeurs allant de 3,36 (log<sub>10</sub>) et 4,78 (log<sub>10</sub>) bactéries par écouvillon.



**Figure 11.13 :** Moyenne d'excrétion bactérienne par élevage

## - DISCUSSION

Les quantités bactériennes excrétées dans le milieu extérieur jouent un rôle important dans la dissémination de la maladie puisque la bactérie se caractérise par une résistance élevée dans l'environnement sous sa forme SDC [252].

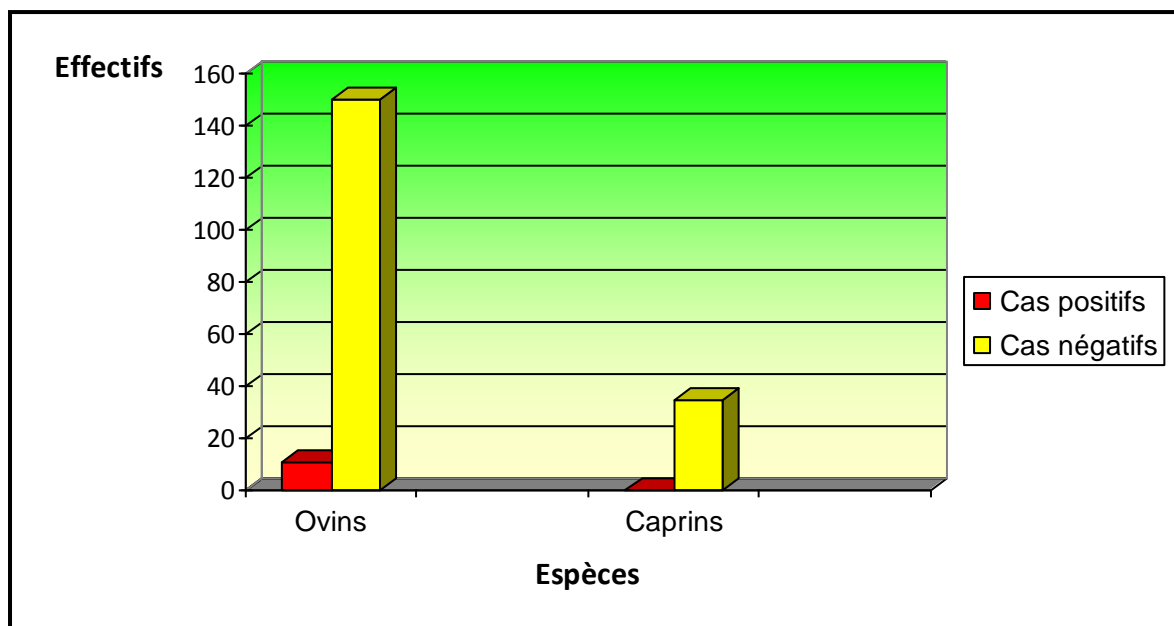
Les niveaux élevés d'excrétion ont été observés pour 2 troupeaux dans la wilaya de BORDJ BOUARERIDJ (3,36 (log10) et 4,78 (log10) bactéries par écouvillon). En effet, ces 2 troupeaux localisés dans la même région, se situent dans une vallée avec des vents forts en automne et en hiver, ce qui nous laisse penser aux épidémies signalées à l'échelle mondiale dans les mêmes conditions géoclimatiques, telles que celles de la VALLEE DE CHAMONIX en FRANCE [71] et de la ville de BOTEVGRAD en BULGARIE [253].

### 11.4. Diagnostic de la fièvre Q abortive

#### - Résultats

On considère que la fièvre Q est la cause de l'avortement lorsque la quantité de bactéries est supérieure ou égale à  $10^4$  par écouvillon vaginal. La figure 11.14 montre les résultats de diagnostic de la fièvre Q chez les 2 espèces testées.

- **Chez les ovins** : 11 cas ont dépassé le seuil requis sur les 162 cas d'avortements testés (soit un taux de 6,8%), répartis dans 5 élevages, dont 7 cas confirmés dans 2 élevages à BORDJ BOUARERIDJ, 2 cas dans 2 élevages à MEDEA, un cas à SKIKDA et un autre à EL BAYADH.
- **Chez les caprins** : aucun cas n'a été observé (0% sur 35 testés), quoique des valeurs très proches du seuil requis ont été observées.



**Figure 11.14** : Implication de la fièvre Q dans les avortements des femelles de petits ruminants

## - DISCUSSION

### a. Choix de la méthode

Le développement récent de la PCR en temps réel fournit des moyens supplémentaires pour la détection et la quantification. Cette technique représente donc la méthode de choix pour le diagnostic abortif lié à la fièvre Q [21, 143, 144, 198, 230, 250].

## **b. Implication de *Coxiella burnetii* dans les avortements**

Les causes d'avortements chez les petits ruminants sont très variées, dont certaines sont microbiennes (*Brucella spp.*, *Chlamydia abortus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira hardjobovis* et *L. pomona*, *Campylobacter jejuni* et *C. fetus subsp. Fetus*, *Yersinia pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Pestivirus* agent de la Border disease, virus de la Blue tongue, virus d'Akabane, virus de Cache Valley, virus de Shmallemberg, *Herpesvirus 1* caprin, *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*) et non microbiennes (d'ordre génétique, hormonal, traumatique, climatique, alimentaire ou liée à une intoxication) [205, 254, 255, 256].

- **Chez les ovins** : suivant le taux enregistré dans notre étude (6,8%), nous estimons que la fièvre Q pourrait être considérée comme une des principales causes d'avortements. La situation est proche dans certains pays, à savoir : la FRANCE [5] ; l'ITALIE [257] et le PORTUGAL [249]. En contrepartie, la fièvre Q n'est pas considérée comme une préoccupation majeure en pathologie abortive des petits ruminants, à l'exemple de la NORVEGE où la sérologie était négative pour toutes les espèces de ruminants domestiques testées selon l'étude de KAMPEN et al., (2012) [258]. En SUISSE [259], en HONGRIE [260] et en ROYAUME-UNI [261], la chlamydie est la pathologie abortive la plus signalée. Par contre, aux ETATS-UNIS, c'est la vibriose qui est la plus répandue [262]. Dans d'autres pays, à l'exemple la TURQUIE [263] et l'IRAN [264] c'est la brucellose qui occupe le premier rang.
- **Chez les caprins** : aucun cas n'a été confirmé pour les chèvres ayant fait l'objet d'avortements (0%). Pour cette raison, les investigations doivent se poursuivre pour confirmer l'implication de *C. burnetii* chez cette espèce puisque l'ADN de la bactérie a été détecté dans les sécrétions vaginales des femelles testées. Cependant, la fièvre Q chez les caprins occupe une place importante dans plusieurs pays, tels que la France [5, 129] et les PAYS-BAS [199], dans ces derniers, deux ans après la première description de la fièvre Q comme pathologie abortive chez les petits ruminants en 2005 [265], cette maladie devient la plus signalée en matière d'avortements, ainsi que maladie zoonotique. Mais après l'établissement d'un plan de lutte associant une

prophylaxie médicale basée sur la vaccination dans les zones d'enzootie et des mesures sanitaires sévères, son implication a du baisser dès l'an 2010 [43, 233].

## **11.5. Relations entre les techniques ELISA et PCRq**

### **11.5.1. Concordance entre les 2 techniques**

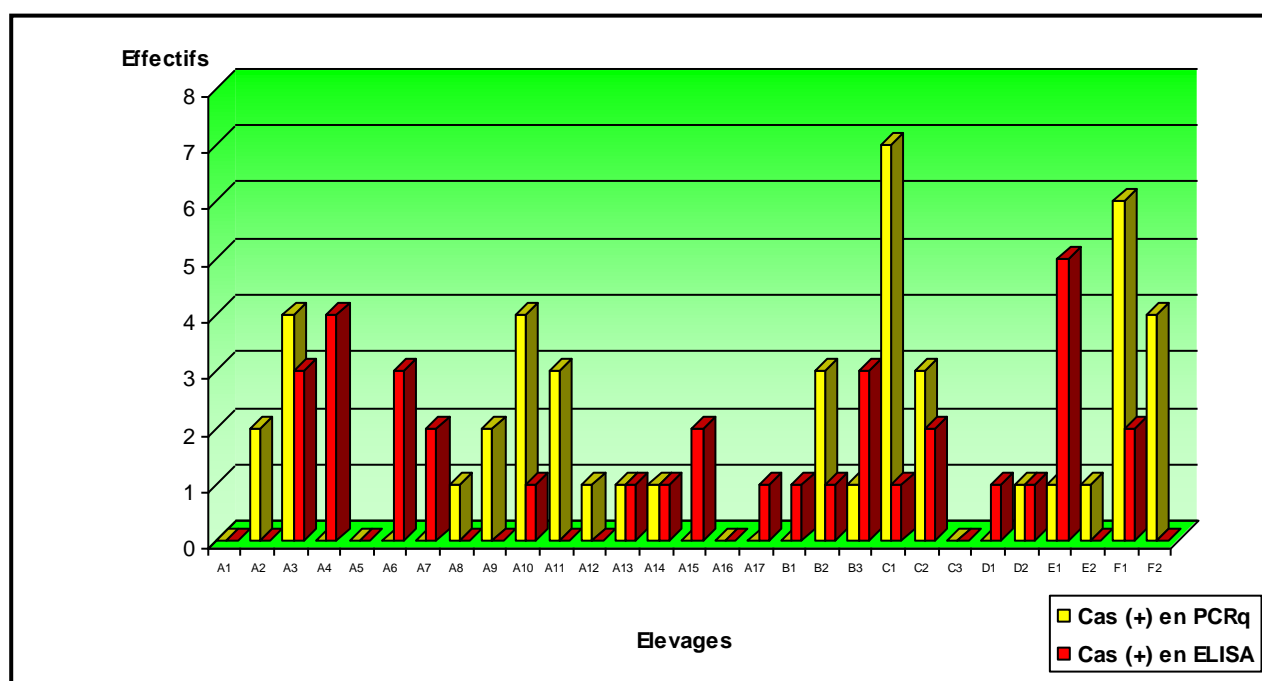
#### **- Résultats**

Seulement 29 troupeaux seront inclus dans cette rubrique, puisque 6 n'ont pas été testés en ELISA.

#### **a. Concordance à l'échelle des troupeaux**

Parmi les 12 troupeaux séronégatifs, 7 troupeaux avaient au moins un animal excréteur (avec un taux de 58,3%), et 10 troupeaux excréteurs ont été observés parmi les 17 séropositifs (soit un taux de 59%), les données ne sont pas statistiquement significatives ( $p=0,98$ ).

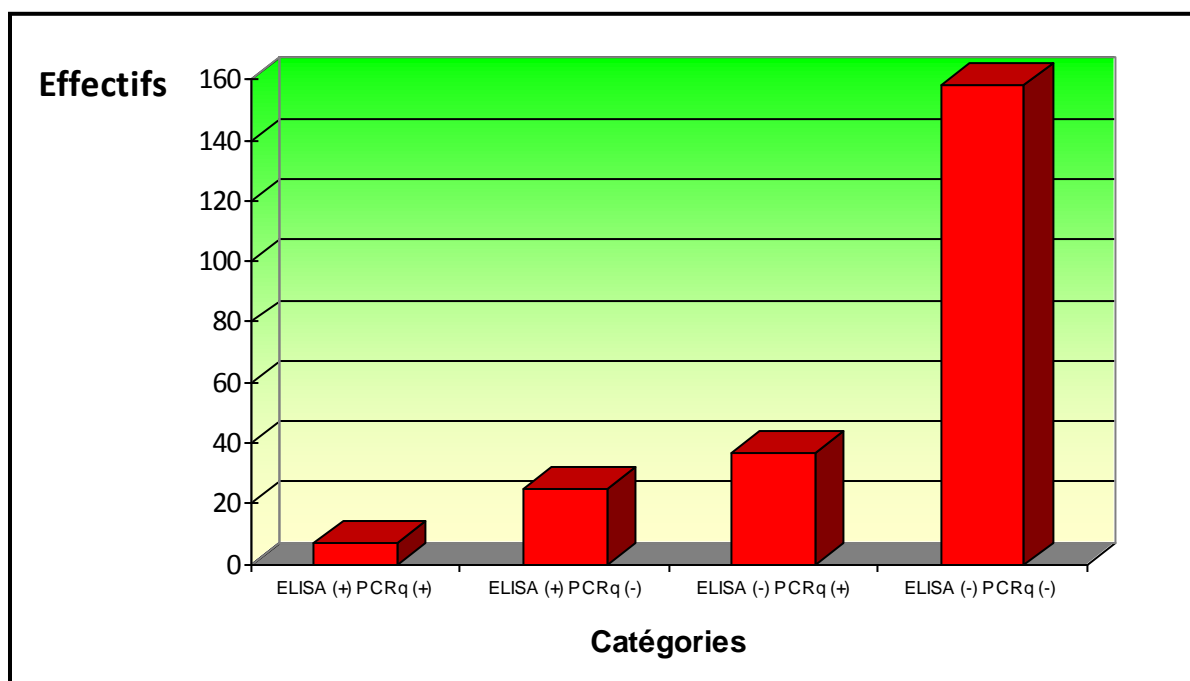
Concernant la concordance entre l'ELISA et la PCRq, elle a été détectée dans 9 troupeaux avec ELISA(+) et PCRq(+), et 4 troupeaux avec ELISA(-) et PCRq(-). Les résultats sont représentés dans la figure 11.15.



**Figure 11.15 :** Concordance entre l'ELISA et la PCRq à l'échelle des troupeaux

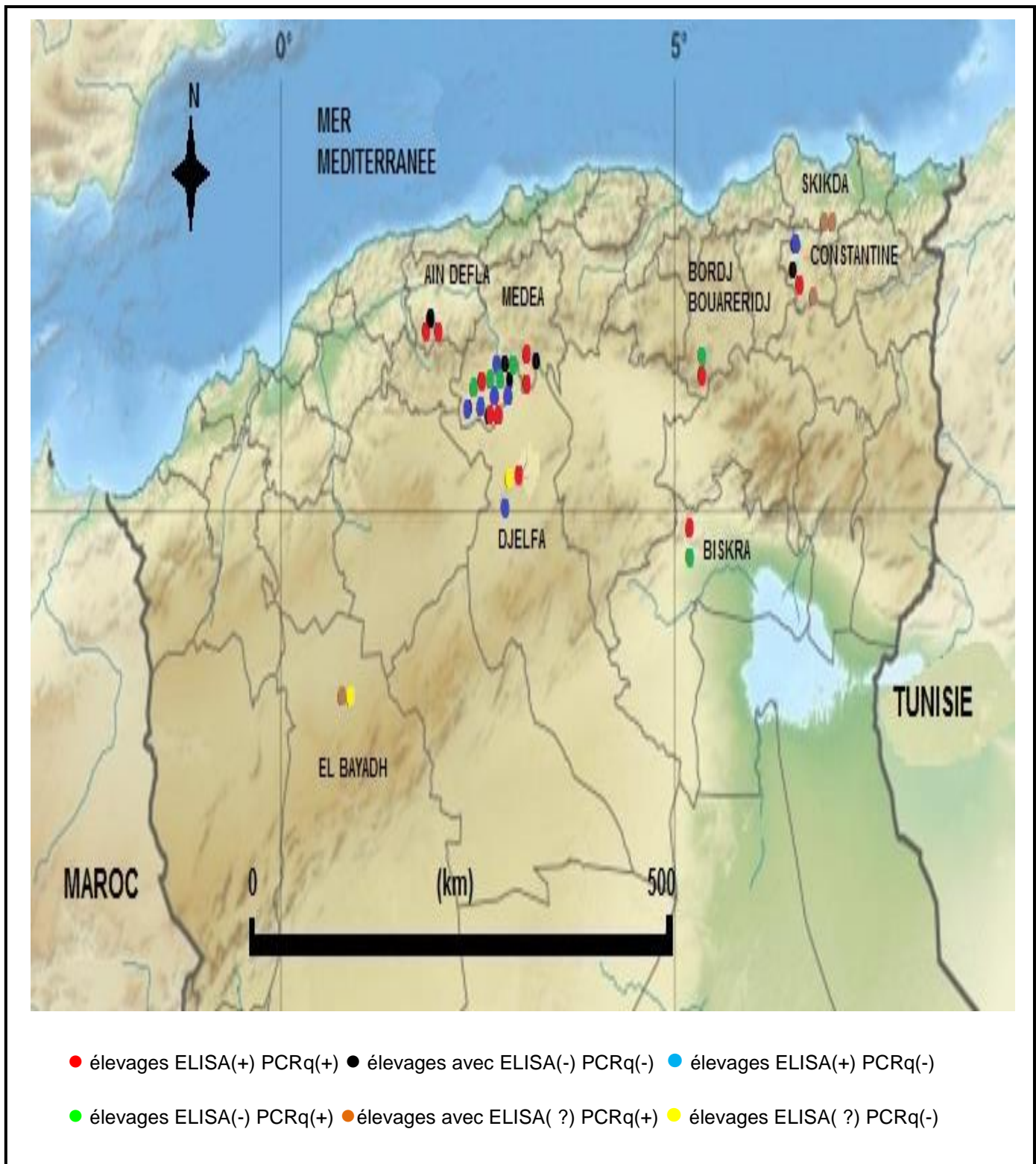
### b. Concordance à l'échelle individuelle

Comme le montre la figure 11.16, l'excrétion vaginale de *Coxiella burnetii* a été détectée chez 38 femelles parmi 195 des animaux séronégatifs testées (soit un taux de 19%) et 7 femelles parmi 32 des séropositifs (soit un taux de 22%), sans signification statistique ( $p=0,75$ ). Uniquement 7 animaux étaient positifs en ELISA et PCRq, contre 158 animaux avec des résultats négatifs pour les 2 méthodes.



**Figure 11.16** : Concordance entre l'ELISA et la PCRq à l'échelle individuelle

La figure 11.17 représente une carte épidémiologique des élevages enquêtés suivant les résultats obtenus en ELISA et PCRq.



**Figure 11.17 :** Répartition des résultats obtenus en ELISA et PCRq dans les wilaya étudiées



## - DISCUSSION

Nos résultats (un taux d'excrétion de 58,3% chez les séronégatifs et 59% chez les séropositifs à l'échelle des troupeaux, 19% et 22% à l'échelle individuelle) ne confortent pas les différentes études effectuées. DUBUC-FORFAIT et al., (2009) [246] ont rapporté un pourcentage de 42% et 91%, chez DE CREMOUX et al., (2012) [266], les pourcentages étaient 43,3% et 91,2% respectivement à l'échelle des troupeaux. La présence d'excrétion bactérienne sans séropositivité pourrait être liée à une localisation génitale de *Coxiella burnetii* sans induire une production systémique d'anticorps, ou plutôt ces femelles testées étaient immunodéprimées et incapable de produire des anticorps spécifiques à *Coxiella burnetii* [198], à cela, la détection de ces anticorps pourrait être affectée non seulement par le test utilisé, mais encore par la nature de préparation de l'antigène du kit [267]. En plus, les femelles qui viennent d'être infectées nécessitent au moins entre 3 à 5 semaines pour développer une immunité humorale décelables par le test ELISA [147].

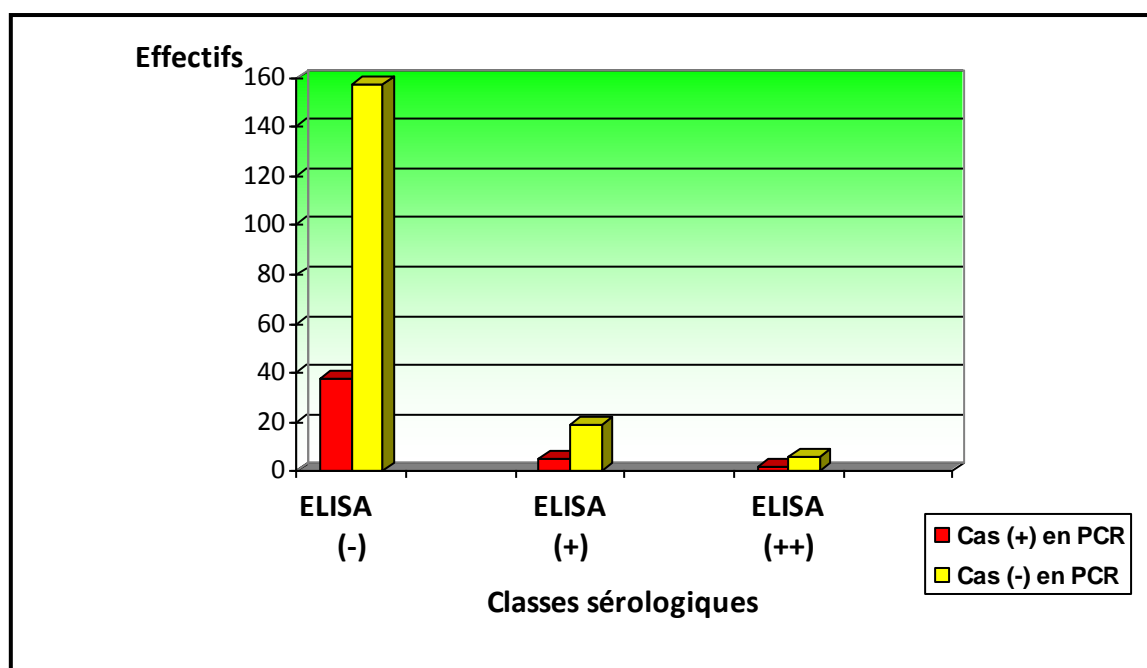
### 11.5.2. Niveau d'excrétion bactérienne selon différentes classes sérologiques

#### - Résultats

Nous avons essayé d'estimer la pertinence de la technique ELISA pour la détection des animaux excréteurs en comparant les résultats obtenus en PCRq selon les 3 catégories sérologiques (négative ; faiblement positive et fortement positive). Les résultats sont mentionnés dans la figure 11.18.

La moyenne d'excrétion des femelles était estimée à 2,77 (log10) ( $\sigma=2,7$ ) pour les animaux à sérologie négative, contre 3,03 (log10) ( $\sigma=1,5$ ) pour les animaux à faible réponse positive et 4,77 (log10) ( $\sigma=4,7$ ) pour les animaux fortement séropositifs. Aucune signification statistique globale n'a été enregistrée (Kruskal-Wallis,  $p=0,39$ ). Néanmoins, la méthode d'ajustement de Bonferroni a montré que les résultats sont significatifs entre les animaux excréteurs avec ELISA (-) et ELISA (+) ( $p<0,0001$ ), et entre les animaux excréteurs avec ELISA (-) et ELISA (++) ( $p<0,0001$ ), les animaux excréteurs avec une sérologie faiblement et fortement positive ne diffère pas statistiquement ( $p=0,94$ ).

L'odds-ratio pour les excréteurs séropositifs à l'égard de l'excrétion séronégatifs était égal à 1,12 et les résultats étaient indépendants ( $p=0,4$ ).



**Figure 11.18** : Excrétion bactérienne suivant les 3 classes sérologiques

## - DISCUSSION

Les niveaux d'excrétion étaient similaires chez les animaux avec une sérologie faible avec une moyenne d'excrétion de 3,03 (log10) et fortement positive avec une moyenne d'excrétion de 4,77 (log10), tandis que ce niveau était différent pour les animaux avec une sérologie négative avec 2,77 (log10). Nos résultats sont proches de ceux rapportés par DUBUC-FORFAIT et al., (2009) [246] avec 1,06 pour les séronégatifs ; 2,36 pour les faiblement séropositifs et 2,90 pour les fortement séropositifs. Puisque les niveaux d'excrétion tendent à être plus faibles dans la classe des séronégatifs et d'un niveau équivalent dans les deux classes de séropositifs, l'outil sérologique semble avoir un potentiel d'évaluation du risque global d'excrétion à une échelle des troupeaux mais pas à une échelle individuelle [21, 246].

## **11. 6. Typage moléculaire par la technique MLVA**

### **- Résultats**

Au total, 11 souches locales de *Coxiella burnetii* issues de brebis ayant avortées ont subi un génotypage par la technique MLVA et 17 loci ont été utilisés. Les matrices de similarité basées sur le Coefficient de Similarité de Pearson (CS) des différentes souches sont mentionnées dans le tableau 11.2 ; 11.3 et 11.4 et les groupes génomiques ou clusters ont été délimités avec des valeurs de 0,6 du CS. En même temps, le Coefficient de Corrélation Cophénétique (CCC) sera calculé.

Nous avons observé le même nombre de répétitions pour la souche de référence Nine mile testée dans notre étude.

La comparaison a été effectuée avec les différentes souches qui ont subi un typage moléculaire avec la technique MLVA à travers plusieurs pays : AFRIQUE (TUNISIE, MAROC, NAMIBIE et ETHIOPIE), EUROPE (FRANCE, ITALIE, ESPAGNE, PORTUGAL, PAYS-BAS, BELGIQUE, SUISSE, ALLEMAGNE, AUTRICHE, SLOVAQUIE, POLOGNE, SUEDE et ANGLETERRE), ASIE (JAPON, RUSSIE, QATAR et ARABIE SAOUDITE) et ETATS-UNIS D'AMERIQUE. Différentes espèces ont été incluses (ovins, caprins, bovins, rongeurs, tiques et êtres humains). Puisque aucun travail à l'échelle nationale n'a fait l'objet ni communication, ni de publication, la comparaison n'est pas possible.

Comme les études de génotypage MLVA n'ont pas utilisé les mêmes marqueurs moléculaires (tableau 11.1), la comparaison des souches algériennes a été faite à plusieurs niveaux :

**1. Panel 1 et 2 :** avec l'étude de ARRICAU-BOUVERY et al., (2006) [176], CHMIELEWSKY et al., (2009) [268] et des souches issues de la souchothèque du laboratoire de l'ANSES (figure 11.19).

**2. Panel 2 :** les études de TILBURG et al., (2012) [269, 270], ASTOBIZA et al., (2012) [271], SULYOK et al., (2014) [272] et PIÑERO et al., (2015) [273] (figure 11.20).

**3. Un choix de 10 marqueurs moléculaires entre les 2 panels :** avec les études de ROEST et al., (2011 et 2013) [274, 275], MORI et al., (2013) [276] et BOARBI et al., (2014) [277] (figure 11.21).

**Tableau 11.1** : MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de *Coxiella burnetii*

Souches	Espèces	Pays	Panel 1										Panel 2							Références
			ms 1	ms 3	ms 7	ms 12	ms 20	ms 21	ms 22	ms 26	ms 30	ms 36	ms 23	ms 24	ms 27	ms 28	ms 31	ms 33	ms 34	
<i>Nine Mile</i>	tique	USA	4	7	8	8	15	6	6	4	6	4	8	27	4	6	5	9	5	étude courante
<i>Dz-S1</i>	ovine	ALGERIE	4	7	8	7	19	6	6	0	2	13	0	13	2	4	8	0	4	
<i>Dz-BY1</i>	ovine	ALGERIE	0	7	8	0	0	6	6	4	6	0	0	16	4	4	10	0	7	
<i>Dz-M1</i>	ovine	ALGERIE	4	7	8	7	19	6	6	0	2	13	0	13	2	4	3	0	4	
<i>Dz-M2</i>	ovine	ALGERIE	4	6	8	3	19	7	6	4	3	12	0	14	4	6	8	8	3	
<i>Dz-B1</i>	ovine	ALGERIE	5	7	8	7	23	6	6	0	5	13	0	13	3	4	4	0	4	
<i>Dz-B2</i>	ovine	ALGERIE	0	7	8	7	23	6	6	0	5	13	0	13	3	4	4	0	4	
<i>Dz-B3</i>	ovine	ALGERIE	0	7	0	0	0	6	6	4	5	13	0	13	3	4	4	0	4	
<i>Dz-B4</i>	ovine	ALGERIE	0	7	8	7	0	6	6	0	5	13	0	13	0	4	4	0	4	
<i>Dz-B5</i>	ovine	ALGERIE	0	7	8	7	0	6	6	0	5	13	0	13	0	4	0	0	4	
<i>Dz-B6</i>	ovine	ALGERIE	0	0	8	7	0	6	6	4	5	13	0	13	3	4	2	0	4	
<i>Dz-B7</i>	ovine	ALGERIE	3	7	8	7	20	6	6	4	5	3	0	13	0	4	4	9	4	
<i>Tun-1</i>	ovine	TUNISIE	4	7	8	7	19	6	6	0	2	13	0	14	2	4	8	0	4	ANSES (2013) [Résultats non publiés]
<i>Tun-2</i>	ovine	TUNISIE	0	7	8	7	0	6	6	0	2	13	0	15	0	4	8	0	4	
<i>Tun-3</i>	ovine	TUNISIE	0	7	8	7	0	6	7	0	2	13	0	15	0	4	8	0	4	
<i>Tun-4</i>	ovine	TUNISIE	0	7	8	7	0	6	6	0	2	13	0	15	0	4	0	0	4	
<i>Zam</i>	bovine	POLOGNE	4	7	8	7	19	5	6	16	5	16	3	8	3	3	2	5	4	
<i>801</i>	bovine	POLOGNE	4	7	8	8	18	5	6	16	5	16	3	8	3	3	2	5	5	
<i>Dugway</i>	rongeur	USA	3	6	8	7	15	5	6	4	6	7	5	4	2	7	3	0	10	
<i>755</i>	humaine	POLOGNE	4	7	8	8	15	5	6	4	6	7	8	27	3	6	5	9	5	
<i>Henzerling</i>	humaine	ITALIE	4	7	8	6	19	5	6	16	5	16	3	8	3	3	2	5	4	

**Tableau 11.1** : MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de *Coxiella burnetii* (suite)

Souches	Espèces	Pays	Panel 1										Panel 2							Références
			ms 1	ms 3	ms 7	ms 12	ms 20	ms 21	ms 22	ms 26	ms 30	ms 36	ms 23	ms 24	ms 27	ms 28	ms 31	ms 33	ms 34	
<b>Cbc1</b>	ovine	FRANCE	3	6	8	7	15	5	6	4	6	7	6	12	2	7	3	9	10	ARRICAU- BOUVERY et al., (2006) [176]
<b>Cbc2</b>	ovine	FRANCE	4	7	8	7	15	5	6	4	5	17	0	11	4	3	3	9	8	
<b>Cbc4</b>	ovine	FRANCE	4	6	6	7	14	6	7	4	6	7	4	10	4	5	3	9	2	
<b>Cbc5</b>	ovine	FRANCE	4	7	8	7	19	5	6	4	5	17	0	11	2	3	3	8	3	
<b>Cbc6</b>	ovine	FRANCE	4	6	6	4	14	6	7	2	6	7	0	11	4	5	3	7	2	
<b>Cbc7</b>	ovine	FRANCE	4	6	6	4	14	6	7	4	6	7	4	10	4	5	3	8	2	
<b>Max</b>	ovine	ALLEMAGNE	4	7	8	9	19	5	6	11	5	17	4	7	4	3	3	6	4	
<b>CbO4</b>	caprine	MAROC	4	7	8	7	19	5	6	2	5	17	4	10	2	3	3	0	3	
<b>Pricsilla</b>	caprine	USA	4	6	6	4	14	5	7	2	6	7	0	8	4	5	3	7	2	
<b>CbO1</b>	caprine	FRANCE	4	6	6	4	14	6	7	2	6	7	4	12	4	5	3	0	2	
<b>Namibie</b>	caprine	NAMIBIE	4	6	5	4	22	6	6	4	6	21	9	13	4	6	3	7	2	
<b>Innsbruck</b>	caprine	AUTRICHE	4	7	8	8	19	5	6	17	5	15	4	7	3	3	3	4	3	
<b>CbB3</b>	bovine	FRANCE	3	6	8	7	15	5	6	4	6	7	6	12	2	7	3	9	9	
<b>Z3749092</b>	bovine	ALLEMAGNE	3	6	8	7	15	5	6	5	6	7	6	13	3	7	3	9	8	
<b>Cs-Bud</b>	bovine	SLOVAQUIE	4	7	8	7	19	5	6	14	5	17	4	0	3	3	2	4	3	
<b>J3</b>	bovine	JAPON	4	6	8	8	15	5	6	5	6	7	9	27	5	6	5	9	5	
<b>CS-Dayer</b>	tique	SLOVAQUIE	3	6	8	7	15	5	6	5	6	7	9	27	5	7	5	9	4	
<b>Scurry</b>	humaine	USA	4	6	7	7	15	5	6	2	6	7	0	9	4	4	4	7	2	
<b>Cs-Florian</b>	humaine	SLOVAQUIE	4	7	8	4	19	5	6	13	5	17	4	4	3	3	2	4	3	

**Tableau 11.1** : MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de *Coxiella burnetii* (suite)

Souches	Espèces	Pays	Panel 1										Panel 2							Références
			ms 1	ms 3	ms 7	ms 12	ms 20	ms 21	ms 22	ms 26	ms 30	ms 36	ms 23	ms 24	ms 27	ms 28	ms 31	ms 33	ms 34	
<b>Cs-R</b>	Humaine	ITALIE	4	7	8	9	19	5	6	14	5	17	4	8	3	3	2	4	3	ARRICAU- BOUVERY et al., (2006) [176]
<b>F2</b>	Humaine	FRANCE	4	6	6	4	22	6	6	5	6	15	9	13	4	7	3	7	2	
<b>F4</b>	Humaine	FRANCE	4	6	6	4	18	6	6	5	6	15	0	8	3	7	3	7	2	
<b>R1-140</b>	Humaine	RUSSIE	4	6	6	4	18	6	6	4	6	15	6	13	3	7	3	6	2	
<b>RAK8</b>	Tique	AUTRICHE	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	4	nt	nt	8	9	4	6	5	Nt	5	SVRAKA et al., (2006) [177]
<b>Luga</b>	Sourie	RUSSIE	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	18	nt	nt	3	2	3	3	2	Nt	3	
<b>48</b>	Tique	SLOVAQUIE	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	14	nt	nt	3	2	3	3	2	Nt	3	
<b>L35</b>	Humaine	SLOVAQUIE	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	13	nt	nt	3	2	3	3	5	Nt	3	
<b>Sh1</b>	Ovine	ESPAGNE	non testés										3	9	4	5	nt	2	2	ASTOBIZA et al., (2012) [271]
<b>Sh2</b>	Ovine	ESPAGNE											3	9	5	5	nt	2	2	
<b>Gt2</b>	Caprine	ESPAGNE											4	9	3	3	nt	3	4	
<b>Gt3</b>	Caprine	ESPAGNE											3	9	4	5	nt	2	2	
<b>Dc1</b>	Bovine	ESPAGNE											6	13	2	7	nt	4	9	
<b>Dc2</b>	Bovine	ESPAGNE											6	13	2	7	nt	4	10	
<b>Dc5</b>	Bovine	ESPAGNE											6	15	2	7	nt	4	12	
<b>Dc6</b>	Bovine	ESPAGNE											6	11	2	3	nt	4	3	
<b>Dc7</b>	Bovine	ESPAGNE											6	13	2	7	nt	4	12	

**Tableau 11.1** : MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de *Coxiella burnetii* (suite)

Souches	Espèces	Pays	Panel 1									Panel 2							Références
			ms 1	ms 3	ms 7	ms 12	ms 20	ms 21	ms 22	ms 26	ms 30	ms 36	ms 23	ms 24	ms 27	ms 28	ms 31	ms 33	
<b>Q012</b>	Humaine	PAYS-BAS	non testés									6	11	3	3	nt	2	7	TILBURG et al., (2012) [269]
<b>Q007</b>	Humaine	PAYS-BAS										6	11	3	3	nt	2	8	
<b>Q018</b>	Humaine	PAYS-BAS										6	11	4	3	nt	2	7	
<b>Q008</b>	Humaine	PAYS-BAS										6	13	3	3	nt	2	8	
<b>Q042</b>	Humaine	PAYS-BAS										3	11	3	3	nt	2	8	
<b>Q072</b>	Humaine	PAYS-BAS										3	10	3	3	nt	2	7	
<b>Q050</b>	Humaine	PAYS-BAS										3	11	3	3	nt	2	7	
<b>Q056</b>	Humaine	PAYS-BAS										4	11	3	3	nt	3	8	
<b>Q011</b>	Humaine	PAYS-BAS										0	11	3	3	nt	0	7	
<b>SWI1</b>	Bovine	SUISSE	Non testés									6	13	2	7	nt	4	9	TILBURG et al., (2012) [270]
<b>GER1</b>	Bovine	ALLEMAGNE										6	13	2	6	nt	4	10	
<b>SPA3</b>	Bovine	ESPAGNE										6	13	2	7	nt	4	11	
<b>QAT1</b>	Bovine	QATAR										6	12	4	5	nt	4	2	
<b>QAT2</b>	Bovine	QATAR										6	13	2	7	nt	4	10	
<b>RUS1</b>	Bovine	RUSSIE										4	14	2	6	nt	3	11	
<b>SLO1</b>	Bovine	SLOVAQUIE										6	13	2	7	nt	5	10	
<b>SLO2</b>	Bovine	SLOVAQUIE										6	12	4	7	nt	4	5	
<b>ANG1</b>	Bovine	ANGLETERRE										6	13	2	7	nt	5	9	

**Tableau 11.1** : MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de *Coxiella burnetii* (suite)

Souches	Espèces	Pays	Panel 1									Panel 2								Références
			ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	ms	
			1	3	7	12	20	21	22	26	30	36	23	24	27	28	31	33	34	
<b>HSE-209</b>	Tique	ETHIOPIE	non testés									2	12	2	7	nt	8	10	SULYOK et al., (2014) [272]	
<b>HSE-71</b>	Tique	ETHIOPIE										6	12	2	7	nt	10	10		
<b>ESP-I</b>	bovine	ESPAGNE	non testés									6	13	2	7	nt	9	10	PIÑERO et al., (2015) [273]	
<b>ESP-J</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	7	nt	9	9		
<b>ESP-AB</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	7	nt	9	12		
<b>ESP-BI</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	7	nt	9	13		
<b>ESP-M</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	7	nt	9	11		
<b>ESP-BG</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	7	nt	9	8		
<b>ESP-BS</b>	bovine	ESPAGNE										4	8	3	3	nt	9	5		
<b>ESP-BR</b>	bovine	ESPAGNE										4	8	3	3	nt	10	5		
<b>ESP-AE</b>	bovine	ESPAGNE										4	9	3	3	nt	8	4		
<b>ESP-N</b>	bovine	ESPAGNE										5	13	2	7	nt	9	9		
<b>ESP-BQ</b>	bovine	ESPAGNE										4	9	3	3	nt	9	4		
<b>ESP-BO</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	8	nt	9	11		
<b>ESP-BT</b>	bovine	ESPAGNE										4	8	3	3	nt	8	5		
<b>ESP-BP</b>	bovine	ESPAGNE										6	13	2	13	nt	9	13		
<b>ESP-BN</b>	bovine	ESPAGNE										4	13	2	7	nt	9	5		

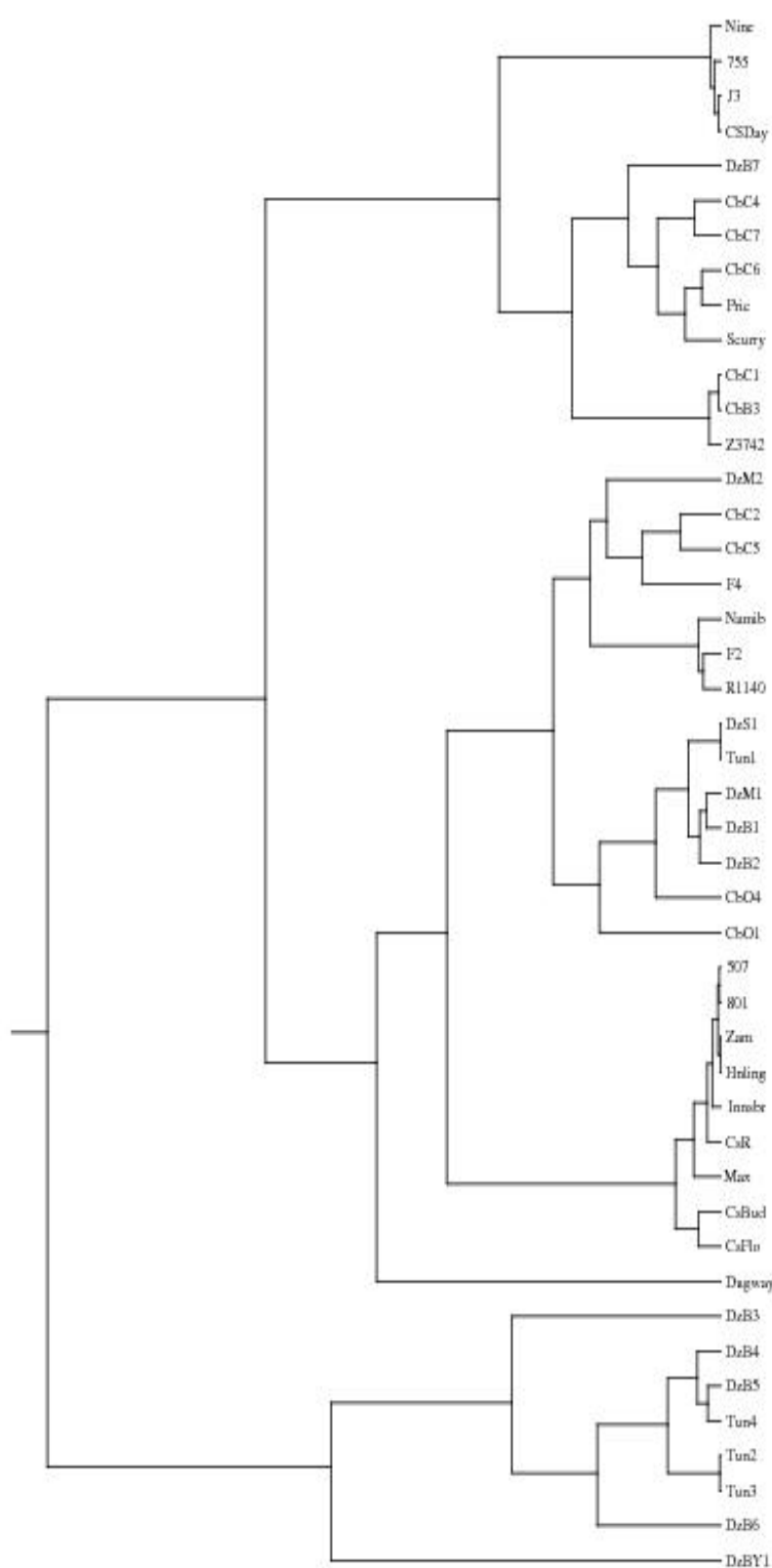


**Tableau 11.1** : MLVA de comparaison des souches locales et étrangères de *Coxiella burnetii* (suite)

Souches	Espèces	Pays	Panel 1										Panel 2							Références
			ms 1	ms 3	ms 7	ms 12	ms 20	ms 21	ms 22	ms 26	ms 30	ms 36	ms 23	ms 24	ms 27	ms 28	ms 31	ms 33	ms 34	
<b>AF1</b>	ovine	PAYS-BAS	nt	7	nt	nt	0	6	6	nt	5	13	nt	11	3	3	3	nt	7	ROEST et al., (2011) [274]
<b>P2</b>	caprine	PAYS-BAS	nt	7	nt	nt	0	6	6	nt	5	0	nt	11	3	3	3	nt	7	
<b>AE1</b>	caprine	PAYS-BAS	nt	6	nt	nt	0	6	6	nt	6	4	nt	13	2	7	3	nt	9	
<b>N6</b>	caprine	PAYS-BAS	nt	7	nt	nt	0	6	6	nt	5	0	nt	11	3	3	3	nt	7	
<b>Rund99</b>	bovine	PAYS-BAS	3	6	nt	nt	15	6	6	nt	6	4	nt	11	2	7	3	nt	9	ROEST et al., (2013) [275]
<b>X0900</b>	caprine	PAYS-BAS	4	7	nt	nt	19	6	6	nt	5	13	nt	11	3	3	3	nt	7	
<b>Antwerp</b>	caprine	BELGIQUE	nt	7	nt	12	nt	6	6	nt	5	13	nt	11	3	3	3	nt	7	BOARBI et al., (2014) [277]
<b>Linburg</b>	caprine	BELGIQUE	nt	3	nt	7	nt	6	6	nt	6	13	nt	13	3	2	3	nt	7	
<b>Flanders1</b>	caprine	BELGIQUE	nt	3	nt	7	nt	6	6	nt	6	4	nt	13	2	7	3	nt	10	
<b>Flanders2</b>	caprine	BELGIQUE	nt	3	nt	7	nt	6	6	nt	6	4	nt	13	2	7	3	nt	11	
<b>Hainut</b>	caprine	BELGIQUE	nt	3	nt	4	nt	7	7	nt	6	4	nt	11	2	5	3	nt	13	
<b>Cap3</b>	caprine	BELGIQUE	nt	7	nt	nt	nt	6	6	nt	5	13	nt	11	3	3	3	nt	7	MORI et al., (2013) [276]
<b>Bov1</b>	bovine	BELGIQUE	nt	6	nt	nt	nt	6	6	nt	6	4	nt	14	2	6	3	nt	9	
<b>Z346</b>	ovine	ALLEMAGNE	4	7	nt	nt	11	6	6	9	5	nt	3	9	3	3	2	4	4	FRANGOULIDIS et al., (2014) [292]
<b>M34</b>	ovine	ALLEMAGNE	4	7	nt	nt	9	6	6	4	5	nt	8	29	4	6	5	9	5	
<b>Z3547</b>	ovine	ALLEMAGNE	4	6	nt	nt	13	7	6	3	5	nt	9	8	3	6	3	6	2	
<b>Z3205</b>	bovine	ALLEMAGNE	3	6	nt	nt	9	6	6	4	5	nt	5	15	2	7	3	9	9	

**Tableau 11.2 :** Matrices de similarité suivant le coefficient de Pearson des différentes souches de *Coxiella burnetii* (panel 1 et 2)

Souches	NM	DzS1	DzBY1	DzM1	DzM2	DzB1	DzB2	DzB3	DzB4	DzB5	DzB6	DzB7	755	CbC2	Cb04	CbC5	CbC6	CbC7	Priscilla	J3	Cs-Dayer	Scurry	F4	Tun1	Tun2	Tun3	Tun4
NM	1	0,533	0,470	0,56	0,607	0,536	0,553	0,294	0,361	0,377	0,331	0,711	0,989	0,398	0,401	0,451	0,661	0,674	0,512	0,987	0,982	0,572	0,330	0,565	0,409	0,402	0,456
DzS1		1	0,175	0,973	0,874	0,961	0,950	0,351	0,503	0,467	0,384	0,716	0,587	0,767	0,903	0,842	0,776	0,695	0,755	0,552	0,547	0,809	0,777	0,999	0,549	0,546	0,504
DzBY1			1	0,101	0,167	0,058	0,110	0,522	0,502	0,418	0,411	0,148	0,433	-0,056	-0,093	-0,117	0,155	0,006	0,005	0,419	0,429	0,009	-0,18	0,202	0,582	0,583	0,447
DzM1				1	0,854	0,981	0,966	0,350	0,508	0,523	0,417	0,738	0,614	0,816	0,936	0,881	0,817	0,752	0,796	0,582	0,575	0,834	0,817	0,973	0,504	0,503	0,555
DzM2					1	0,856	0,859	0,330	0,328	0,303	0,285	0,810	0,651	0,794	0,765	0,875	0,893	0,858	0,867	0,628	0,642	0,859	0,807	0,878	0,389	0,385	0,357
DzB1						1	0,979	0,270	0,396	0,407	0,316	0,767	0,582	0,788	0,935	0,876	0,842	0,784	0,838	0,554	0,547	0,872	0,838	0,959	0,382	0,380	0,422
DzB2							1	0,312	0,439	0,445	0,362	0,775	0,599	0,796	0,926	0,874	0,838	0,793	0,832	0,573	0,575	0,868	0,837	0,947	0,423	0,420	0,455
DzB3								1	0,766	0,743	0,705	0,102	0,363	0,405	0,338	0,319	0,281	0,173	0,163	0,345	0,362	0,092	0,307	0,37	0,751	0,753	0,744
DzB4									1	0,976	0,865	0,147	0,434	0,493	0,468	0,419	0,323	0,172	0,222	0,388	0,388	0,266	0,287	0,518	0,960	0,959	0,962
DzB5										1	0,871	0,167	0,449	0,527	0,489	0,446	0,356	0,224	0,257	0,407	0,405	0,284	0,32	0,482	0,890	0,891	0,983
DzB6											1	0,061	0,400	0,463	0,399	0,374	0,257	0,135	0,145	0,398	0,398	0,189	0,274	0,402	0,813	0,814	0,865
DzB7												1	0,704	0,628	0,598	0,735	0,874	0,869	0,854	0,667	0,663	0,899	0,682	0,721	0,160	0,159	0,203
755													1	0,488	0,484	0,533	0,680	0,694	0,536	0,994	0,989	0,594	0,405	0,618	0,476	0,469	0,524
CbC2														1	0,816	0,947	0,739	0,684	0,747	0,457	0,445	0,762	0,853	0,765	0,448	0,443	0,536
Cb04															1	0,900	0,706	0,706	0,720	0,458	0,455	0,750	0,658	0,879	0,426	0,423	0,487
CbC5																1	0,833	0,820	0,851	0,501	0,499	0,870	0,942	0,838	0,383	0,379	0,454
CbC6																	1	0,947	0,975	0,650	0,661	0,947	0,835	0,782	0,294	0,299	0,371
CbC7																		1	0,932	0,677	0,694	0,894	0,830	0,700	0,141	0,146	0,246
Priscilla																			1	0,503	0,516	0,961	0,876	0,752	0,179	0,185	0,255
J3																				1	0,996	0,562	0,378	0,583	0,434	0,427	0,486
Cs-Dayer																					1	0,561	0,397	0,578	0,433	0,427	0,483
Scurry																						1	0,830	0,808	0,241	0,241	0,289
F4																							1	0,768	0,237	0,235	0,312
Tun1																								1	0,566	0,563	0,522



Souches	Espèces	Pays
<b>Nine Mile</b>	tique	USA
<b>755</b>	humaine	POLOGNE
<b>J3</b>	bovine	JAPON
<b>CS-Dayer</b>	tique	SLOVAQUIE
<b>Dz-B7</b>	ovine	ALGERIE
<b>CbC4</b>	ovine	FRANCE
<b>CbC7</b>	ovine	FRANCE
<b>CbC6</b>	ovine	FRANCE
<b>Pricsilla</b>	caprine	USA
<b>Scurry</b>	humaine	USA
<b>CbC1</b>	ovine	FRANCE
<b>CbB3</b>	bovine	FRANCE
<b>Z3749/92</b>	bovine	ALLEMAGNE
<b>Dz-M2</b>	ovine	ALGERIE
<b>CbC2</b>	ovine	FRANCE
<b>CbC5</b>	ovine	FRANCE
<b>F4</b>	humaine	FRANCE
<b>Namibie</b>	caprine	NAMIBIE
<b>F2</b>	humaine	FRANCE
<b>R1-140</b>	humaine	RUSSIE
<b>Dz-S1</b>	ovine	ALGERIE
<b>Tun-1</b>	ovine	TUNISIE
<b>Dz-M1</b>	ovine	ALGERIE
<b>Dz-B1</b>	ovine	ALGERIE
<b>Dz-B2</b>	ovine	ALGERIE
<b>CbC04</b>	ovine	MAROC
<b>CbO1</b>	caprine	FRANCE
<b>507</b>	bovine	POLOGNE
<b>801</b>	bovine	POLOGNE
<b>Zam</b>	bovine	POLOGNE
<b>Henzerling</b>	humaine	ITALIE
<b>Innsbruck</b>	caprine	AUTRICHE
<b>Cs-R</b>	humaine	ITALIE
<b>Max</b>	ovine	ALLEMAGNE
<b>Cs-Bud</b>	bovine	SLOVAQUIE
<b>Cs-Florian</b>	humaine	SLOVAQUIE
<b>Dugway</b>	rongeur	USA
<b>Dz-B3</b>	ovine	ALGERIE
<b>Dz-B4</b>	ovine	ALGERIE
<b>Dz-B5</b>	ovine	ALGERIE
<b>Tun-4</b>	ovine	TUNISIE
<b>Tun-2</b>	ovine	TUNISIE
<b>Tun-3</b>	ovine	TUNISIE
<b>Dz-B6</b>	ovine	ALGERIE
<b>Dz-BY1</b>	ovine	ALGERIE

**Figure 11.19** : Dendrogramme des souches algériennes et étrangères (panel 1 et 2)

**Tableau 11.3 :** Matrices de similarité suivant le coefficient de Pearson des différentes souches de *Coxiella burnetii* (panel 2)

Souches	NM	Dz-S1	Dz-BY1	Dz-M1	Dz-M2	Dz-B1	Dz-B2	Dz-B3	Dz-B4	Dz-B5	Dz-B6	Dz-B7	Dc1	Q012	Q008	Q072	Q050	Q011	SWI1	SPA3	QAT1	HSE209	HSE71	ESPJ	ESPM	ESPN
NM	1	0,850	0,789	0,850	0,830	0,832	0,832	0,832	0,867	0,867	0,832	0,818	0,761	0,777	0,796	0,752	0,791	0,682	0,761	0,653	0,939	0,614	0,644	0,776	0,673	0,765
Dz-S1		1	0,982	1	0,786	0,996	0,996	0,996	0,987	0,987	0,996	0,693	0,854	0,810	0,842	0,904	0,923	0,936	0,854	0,796	0,786	0,711	0,550	0,684	0,647	0,706
Dz-BY1			1	0,982	0,725	0,986	0,986	0,986	0,956	0,956	0,986	0,635	0,827	0,831	0,865	0,946	0,956	0,98	0,827	0,798	0,697	0,704	0,515	0,635	0,630	0,663
Dz-M1				1	0,786	0,996	0,996	0,996	0,987	0,987	0,996	0,693	0,854	0,810	0,842	0,904	0,923	0,936	0,854	0,796	0,786	0,711	0,55	0,684	0,647	0,706
Dz-M2					1	0,780	0,780	0,780	0,782	0,782	0,780	0,926	0,554	0,419	0,475	0,575	0,615	0,627	0,554	0,458	0,714	0,732	0,619	0,707	0,605	0,749
Dz-B1						1	1	1	0,970	0,970	1	0,660	0,812	0,792	0,824	0,893	0,913	0,937	0,812	0,754	0,777	0,671	0,489	0,628	0,591	0,654
Dz-B2							1	1	0,970	0,970	1	0,660	0,812	0,792	0,824	0,893	0,913	0,937	0,812	0,754	0,777	0,671	0,489	0,628	0,591	0,654
Dz-B3								1	0,970	0,970	1	0,660	0,812	0,792	0,824	0,893	0,913	0,937	0,812	0,754	0,777	0,671	0,489	0,628	0,591	0,654
Dz-B4									1	1	0,970	0,740	0,916	0,830	0,86	0,908	0,925	0,914	0,916	0,86	0,786	0,774	0,654	0,777	0,742	0,791
Dz-B5										1	0,970	0,740	0,916	0,830	0,86	0,908	0,925	0,914	0,916	0,86	0,786	0,774	0,654	0,777	0,742	0,791
Dz-B6											1	0,660	0,812	0,792	0,824	0,893	0,913	0,937	0,812	0,754	0,777	0,671	0,489	0,628	0,591	0,654
Dz-B7												1	0,644	0,471	0,523	0,595	0,625	0,572	0,644	0,579	0,621	0,86	0,854	0,891	0,819	0,916
Dc1													1	0,891	0,904	0,900	0,902	0,832	1	0,982	0,652	0,789	0,773	0,855	0,862	0,841
Q012														1	0,997	0,934	0,937	0,826	0,891	0,874	0,702	0,55	0,563	0,671	0,682	0,640
Q008															1	0,957	0,961	0,861	0,904	0,889	0,703	0,604	0,598	0,702	0,714	0,679
Q072																1	0,998	0,965	0,900	0,907	0,609	0,737	0,631	0,717	0,751	0,724
Q050																	1	0,962	0,902	0,897	0,657	0,735	0,634	0,729	0,750	0,735
Q011																		1	0,832	0,839	0,554	0,736	0,531	0,623	0,658	0,653
SWI1																			1	0,982	0,652	0,789	0,773	0,855	0,862	0,841
SPA3																				1	0,508	0,806	0,775	0,828	0,874	0,819
QAT1																					1	0,359	0,394	0,569	0,431	0,544
HSE																						1	0,915	0,909	0,934	0,944
HSE71																							1	0,979	0,983	0,977

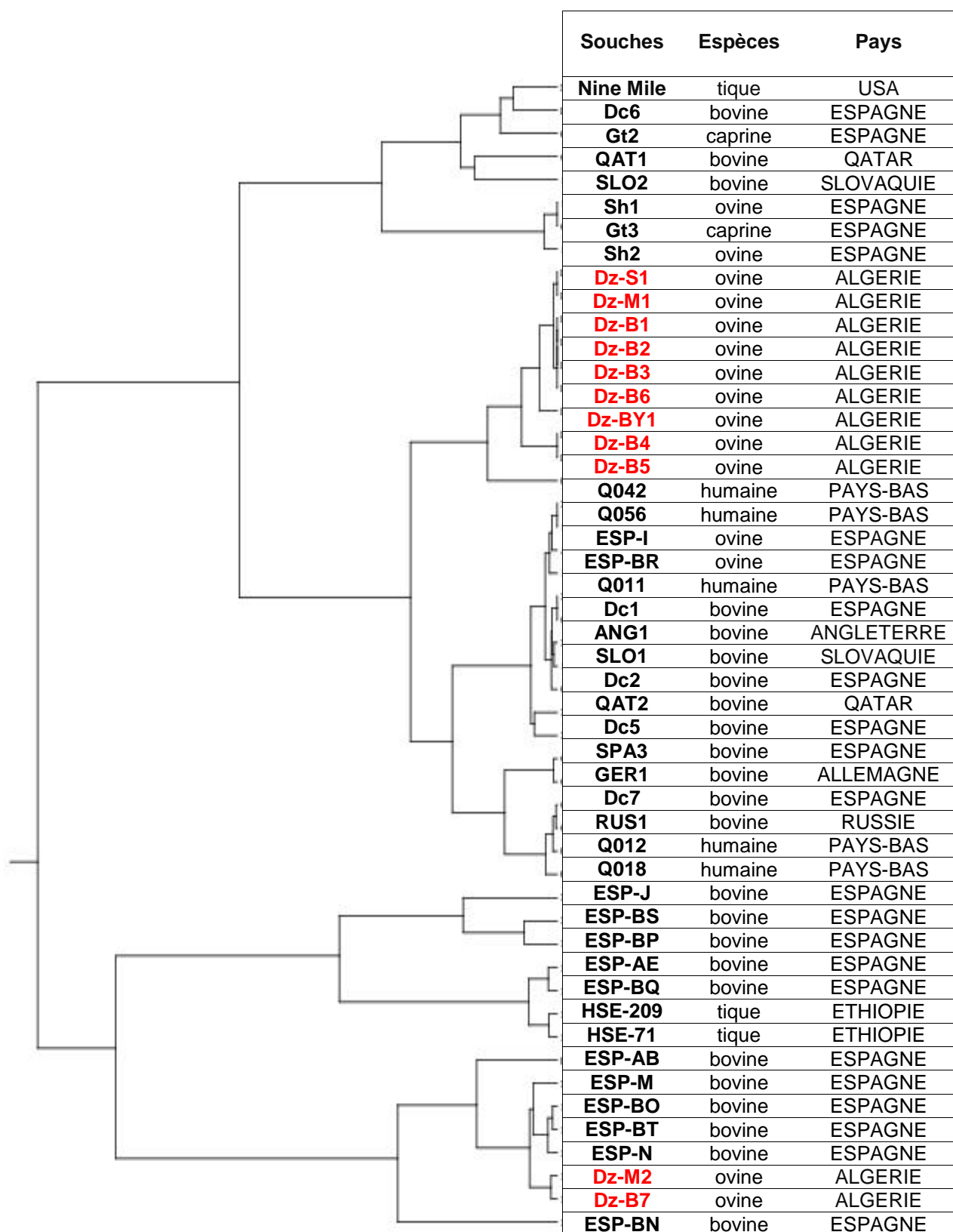
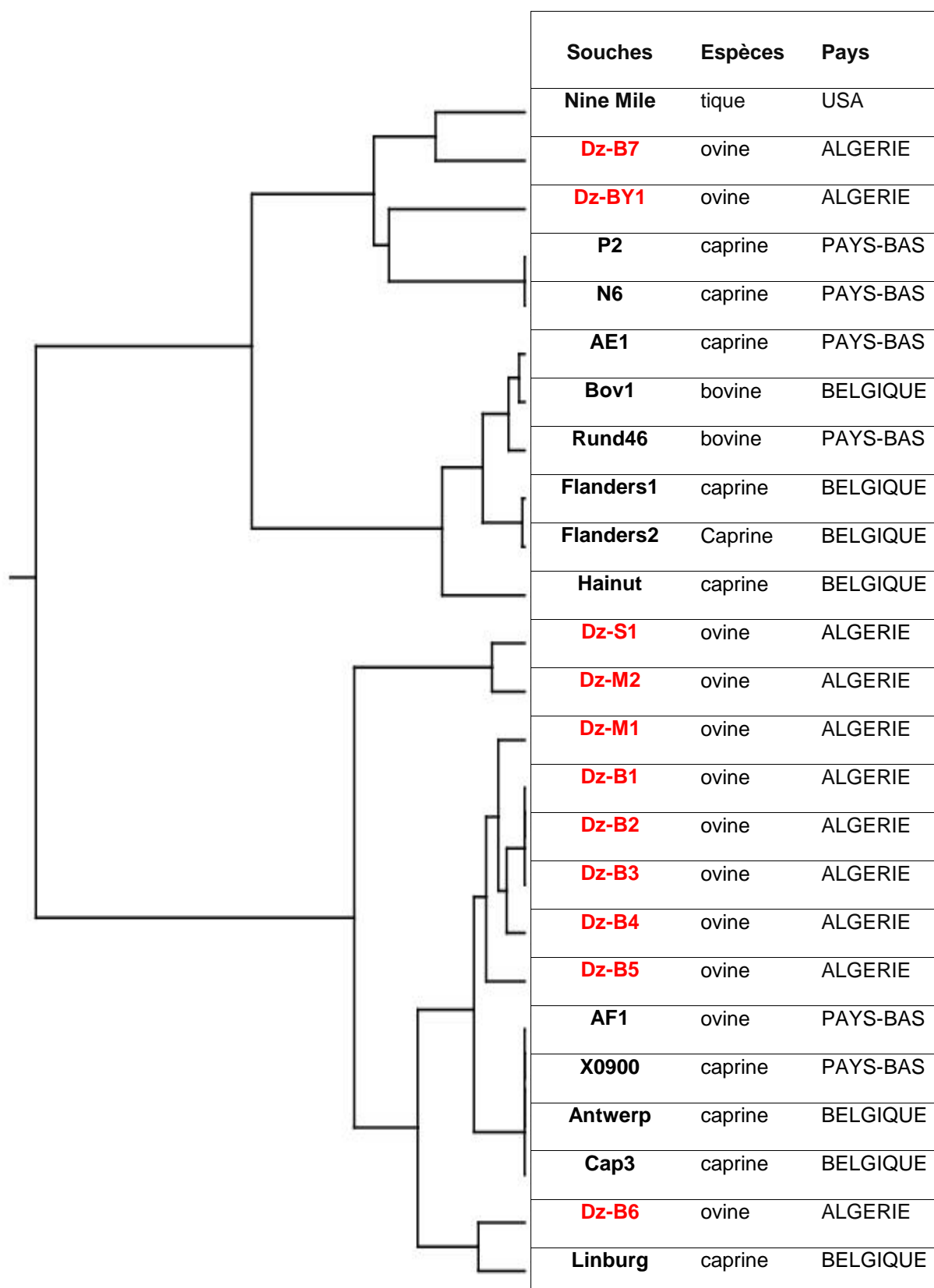


Figure 11.20 : Dendrogramme des souches algériennes et étrangères (panel 2)

**Tableau 11.4 :** Matrices de similarité suivant le coefficient de Pearson des différentes souches de *Coxiella burnetii* (10 VNTR)

Souches	NM	DzS1	DzBY1	DzM1	DzM2	DzB1	DzB2	DzB3	DzB4	DzB5	DzB6	DzB7	AF1	P2	AE1	N6	Rund99	X0900	Antwerp	Linburg	Flanders1	Flanders2	Hainut	Cap3	Bov1
NM	1	0,547	0,817	0,585	0,651	0,605	0,605	0,605	0,585	0,568	0,546	0,878	0,448	0,747	0,806	0,747	0,708	0,448	0,448	0,549	0,736	0,695	0,49	0,448	0,849
DzS1		1	0,295	0,922	0,956	0,903	0,903	0,903	0,903	0,781	0,719	0,544	0,809	0,116	0,324	0,116	0,243	0,809	0,809	0,752	0,265	0,234	0,122	0,809	0,377
DzBY1			1	0,176	0,347	0,190	0,190	0,190	0,221	0,120	0,101	0,787	0,06	0,815	0,660	0,815	0,586	0,06	0,06	0,179	0,6	0,579	0,47	0,06	0,708
DzM1				1	0,890	0,974	0,974	0,974	0,954	0,938	0,816	0,579	0,926	0,208	0,457	0,208	0,390	0,926	0,926	0,843	0,379	0,348	0,238	0,926	0,497
DzM2					1	0,880	0,880	0,880	0,855	0,745	0,772	0,566	0,711	0,122	0,345	0,122	0,241	0,711	0,711	0,718	0,306	0,260	0,078	0,711	0,393
DzB1						1	1	1	0,975	0,953	0,855	0,583	0,935	0,187	0,432	0,187	0,356	0,935	0,935	0,888	0,360	0,324	0,201	0,935	0,483
DzB2							1	1	0,975	0,953	0,855	0,583	0,935	0,187	0,432	0,187	0,356	0,935	0,935	0,888	0,360	0,324	0,201	0,935	0,483
DzB3								1	0,975	0,953	0,855	0,583	0,935	0,187	0,432	0,187	0,356	0,935	0,935	0,888	0,360	0,324	0,201	0,935	0,483
DzB4									1	0,961	0,815	0,650	0,921	0,224	0,498	0,224	0,442	0,921	0,921	0,862	0,420	0,386	0,275	0,921	0,536
DzB5										1	0,823	0,625	0,935	0,272	0,553	0,272	0,513	0,935	0,935	0,862	0,468	0,437	0,336	0,935	0,58
DzB6											1	0,414	0,809	0,080	0,429	0,080	0,359	0,809	0,809	0,937	0,509	0,477	0,372	0,809	0,468
DzB7												1	0,463	0,826	0,833	0,826	0,781	0,463	0,463	0,472	0,700	0,661	0,526	0,463	0,862
AF1													1	0,180	0,435	0,180	0,395	1	1	0,923	0,388	0,378	0,356	1	0,482
P2														1	0,819	1	0,796	0,180	0,180	0,210	0,711	0,702	0,675	0,180	0,848
AE1															1	0,819	0,988	0,435	0,435	0,490	0,953	0,943	0,835	0,435	0,992
N6																1	0,796	0,180	0,180	0,210	0,711	0,702	0,675	0,18	0,848
Rund99																	1	0,395	0,395	0,431	0,944	0,941	0,863	0,395	0,967
X0900																		1	1	0,923	0,388	0,378	0,356	1	0,482
Antwerp																			1	0,923	0,388	0,378	0,356	1	0,482
Linburg																				1	0,536	0,520	0,485	0,923	0,547
Flanders1																					1	0,997	0,915	0,388	0,944
Flanders2																						1	0,939	0,378	0,932
Hainut																							1	0,356	0,831



**Figure 11.21** : Dendrogramme des souches algériennes et étrangères (10 VNTR)

D'après les différents tableaux des VNTR, certains marqueurs avaient un pouvoir discriminant faible, tels que ms21 et ms22 à cause de leur présence en nombre identique pour la plupart des souches et ms3, suite à sa faible présence chez les différentes souches. En contrepartie, ms1, ms7, ms12, ms20, ms26, ms30, ms36, ms24, ms27, ms28, ms31, ms33 et ms34 étaient présents en nombre variable permettant une distinction entre les différentes souches. Cependant, le ms23 n'a pas été exprimé chez toutes les souches algériennes et tunisiennes.

Nous avons choisis une valeur de 0,6 pour le CS afin de regrouper les génotypes dans les mêmes clusters

### 1. MLVA avec les 2 panels (1 et 2) :

La valeur du CCC est pour ce dendrogramme égale à 0,81. Le dendrogramme avec le tableau des matrices de similarité des souches algériennes et étrangères nous a permis de les classer en 3 clusters différents :

- **premier clusters** : il est séparé en 2 principaux sub-clusters :
  - **sub-cluster 1** : il contient la souche de référence Nine Mile et 26 autres souches dont 6 locales (Dz-M1, Dz-M2, Dz-S1, Dz-B1, Dz-B2 et Dz-B7). La souche Dz-S1 est beaucoup plus proche de la souche tunisienne Tun-1 (CS : 0,999) de la région de BIZERTE relativement aux autres souches locales du même sub-cluster. Les souches Dz-B1 et Dz-B2 du même élevage sont très proches génétiquement (CS : 0,979) par rapport à la souche Dz-B7 de l'élevage avoisinant, qui à son tour proche à la souche Dz-M2 (CS : 0,810). Quant aux souches de la même région dans la wilaya de MEDEA Dz-M1 et Dz-M2, la valeur du CS est égale à 0,854.
  - La souche caprine marocaine est proche génétiquement des souches locales Dz-M1, Dz-S1, Dz-B1 et Dz-B2, la valeur la plus élevée pour le CS a été observée avec la souche Dz-M1 (CS : 0,936).
  - Différentes souches locales de ce sub-cluster sont proches des souches françaises (CbC2, CbC4, CbC6, CbC7 et F4) et américaines (Scurry et Priscilla) avec une valeur maximale du CS qui est égale à 0,899 entre la souche Dz-B7 et la souche Scurry.



- **sub-cluster 2** : comporte 10 souches étrangères (4 bovines, une ovine, une caprine, 3 humaines et une isolée à partir de rongeurs).
- **deuxième clusters** : il est divisé en 2 sub-clusters :
  - **sub-cluster 1** : une seule souche est présente dans ce sub-cluster (Dz-B3), la plus proche génétiquement est la souche Dz-B4 du même élevage (CS : 0,766).
  - **sub-cluster 2** : il englobe 3 souches algériennes appartenant à 2 élevages (Dz-B4, Dz-B5 et Dz-B6) et 3 souches tunisiennes dont une (Tun-4 de la région de SOUSSE) est très proche génétiquement de la souche Dz-B5 (CS : 0,983).
- **troisième cluster** : il contient seulement la souche d'EL BAYADH (Dz-BY1) qui est loin génétiquement de toutes les autres souches, la plus proche étant la Dz-B3 avec une valeur de CS : 0,522 et les 2 tunisiennes (Tun-2 et Tun-3 de la région de MENOUBA) avec des valeurs de CS de 0,582 et 0,583 respectivement.

## 2. MLVA avec le panel 2 :

Le panel 2 était exempt du VNTR ms31. La valeur calculée du CCC a donné une valeur de 0,7.

- **premier cluster** : il contient 42 souches au total. Les souches locales Dz-B1, Dz-B2, Dz-B3 et Dz-B6 possèdent une valeur de CS égale à 1, également pour les souches Dz-B4 et Dz-B5 et encore Dz-M1 et Dz-S1. La souche Dz-BY1 est très proche génétiquement à ces 2 dernières (CS : 0,982).
- **deuxième cluster** : il contient 3 souches, dont 2 locales (Dz-M2 et Dz-B7) avec une valeur du CS : 0,926 et une d'origine bovine d'ESPAGNE (ESP-BN).

## 3. MLVA avec 10 VNTR :

2 clusters forment le dendrogramme des souches locales et étrangères avec le choix de 10 VNTR (ms3, ms21, ms22, ms30 et ms36 du panel 1 et ms24 ms27,

ms28, ms31 et ms34 du panel 2). Le calcul de la valeur du CCC a donné une valeur de 0,9.

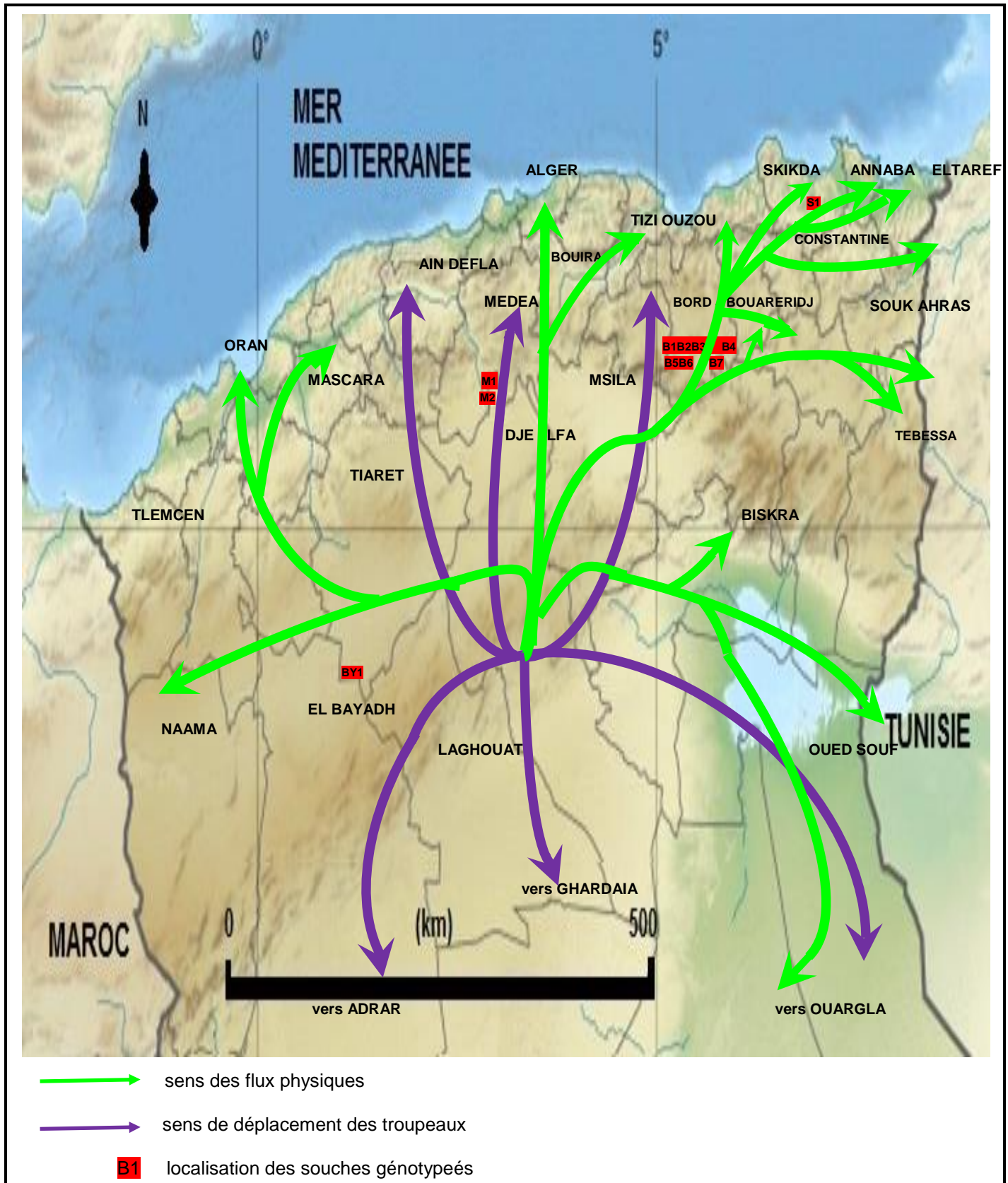
- **premier clusters :**

- **sub-cluster 1 :** il contient 2 souches locales (Dz-B7, Dz-BY1) avec un CS : 0,787, la souche Nine Mile et 2 autres souches caprines des PAYS-BAS.
- **sub-cluster 2 :** avec la présence de 6 souches étrangères.

- **deuxième clusters :**

- **sub-cluster 1 :** 12 souches sont incluses dont 8 locales (Dz-S1, Dz-M1, Dz-B1, Dz-B2, Dz-B3, Dz-B4, Dz-B5, Dz-B6 et Dz-B7). Les valeurs intra sub-cluster du CS pour ces souches ont varié entre 0,719 et 0,975, pour arriver à l'unité pour la Dz-B1, Dz-B2 et Dz-B3.
- **sub-cluster 2 :** il contient la souche locale Dz-M2 et la souche caprine Linburg de la BELGIQUE avec un CS : 0,937.

La figure 11.22 résume les principaux axes de déplacement des cheptels au niveau national selon les travaux d'ATSCHEMDI (2008) [276] avec la localisation des souches de *C. burnetii* locales.



**Figure 11.22 :** Souches de *Coxiella burnetii* d'origine locale avec les principaux axes de déplacements des cheptels sur le territoire national

## - DISCUSSION

### a. Choix de la technique

#### • Technique MLVA

Elle représente un outil moléculaire intéressant pour l'étude de la phylogénie et l'épidémiologie moléculaire de *Coxiella burnetii*. La capacité de discrimination de cette technique est élevée et plusieurs travaux confirment que c'est la méthode idéale pour le génotypage moléculaire de cette bactérie relativement à d'autres techniques telles que la méthode SNP ou la méthode MLST [173, 176, 177, 178].

Le même nombre de répétition obtenu pour tous les marqueurs de la souche de référence Nine Mile dans notre étude indique une forte stabilité des VNTR choisis pour le génotypage MLVA de *C. burnetii* et qui sont encore indépendants de la phase bactérienne, ce qui a été déjà rapporté par ARRICAU-BOUVERY et al., (2006) [176] et SVRAKA et al., (2006) [177] non seulement pour la souche de référence Nine Mile, mais encore pour les souches Priscilla (d'origine caprine) et RAK8 (isolée à partir de tique) [279, 280].

#### • Système d'électrophorèse capillaire microfluidique (Technologie LabChip ADN nano AGILENT Technologies®)

Ce système offre la possibilité d'effectuer la migration sans utiliser un produit cancérigène qui est le Bromure d'Ethidium (BEt) comme marqueur d'acide nucléique [281].

### b. Clustering

#### • Bootstrapping

En phylogénétique, le bootstrapping consiste à faire de l'inférence statistique sur des échantillons tirés à partir d'un échantillon initial. Le nombre de 100 répétitions est un consensus dans la plupart des études [282].

### ● Coefficient de Similarité de Pearson

La valeur du CS de 0,6 choisie dans notre étude pour regrouper les génotypes dans les mêmes clusters a été rapportée pour *Legionella pneumophila* [283], puisque les travaux sur le génotypage de *C. burnetii* avec la technique MLVA n'ont pas indiqué les valeurs seuils et cette bactérie est très proche génétiquement de *C. burnetii* [93]. Quoique des valeurs variables ont été choisies pour d'autres bactéries, telles que *Salmonella enterica* [284] et *Escherichia coli* [285] avec 0,75 ; *Staphylococcus aureus* [286] et *Brucella abortus* [287] avec 0,7.

### ● Coefficient de Corrélation Cophénétique

Le CCC permet d'évaluer la fiabilité de l'analyse des dendrogrammes. Plus la valeur de ce coefficient est proche de l'unité, plus les distances sont semblables, et plus le dendrogramme représente bien les données d'origine. Selon WHITEHEAD (2009) [288], la représentation est considérée comme fiable lorsque sa valeur est proche de 0,8. Dans notre étude, ce coefficient avait des valeurs satisfaisantes pour les dendrogrammes obtenus avec l'ensemble des panels 1 et 2 et le choix de 10 VNTR. Par contre, sa valeur était faible pour le panel 2.

### ● Pouvoir discriminant

Le faible pouvoir discriminant de certains marqueurs moléculaires que nous avons observé pour le ms21 et ms22 qui ont présenté le même nombre de répétition pour toutes les souches a été déjà rapporté par plusieurs auteurs, tels que ARRICAU-BOUVERY et al., (2006) [176] et RAČIĆ et al., (2014) [248]. Pour le ms26, l'absence de son amplification pour certaines souches est due à une délétion chromosomique [289]. Il est à noter que le ms23 a marqué son absence uniquement pour les souches algériennes et tunisiennes, ainsi que le ms33 qui n'était présent que pour 2 souches locales. Contrairement au marqueur ms26, l'amplification des marqueurs ms23 et ms33 est entravée par la présence d'un élément d'insertion du gène *IS1111* en face des séquences répétées en tandem, entre les deux amorces [289].

Certaines souches locales ont été considérées génétiquement identiques avec l'usage du panel 2 (Dz-B1, Dz-B2, Dz-B3 et Dz-B6) et (Dz-S1 et Dz-M1) et même avec l'usage d'un choix de 10 VNTR (Dz-B1, Dz-B2, Dz-B3). Par contre, l'utilisation des 2 panels entiers (17 VNTR) a prouvé la diversité génétique de ces 11 souches puisque on a pu distinguer 11 profils génétiques différents qui appartiennent à 3 clusters :

- **cluster 1** : Dz-S1, Dz-M1, Dz-M2, Dz-B1, Dz-B2 et Dz-B7. La souche tunisienne Tun-1 ainsi que la souche marocaine Cb04 sont présentes dans le même groupe génomique.
- **cluster 2** : Dz-B3, Dz-B4, Dz-B5, Dz-B6. Une certaine similarité a été observée avec les souches Tun-2, Tun-3 et Tun-4.
- **cluster 3** : Dz-BY1, qui est très particulière génétiquement.

Le pouvoir discriminant élevé de l'association des 2 panels par rapport au panel 2 a été déjà rapporté par ARRICAU-BOUVERY et al., (2006) [176]. En plus, le choix de 10 VNTR entre les 2 panels a prouvé son faible pouvoir discriminant surtout pour les souches locales.

### c. Comparaison des souches

#### ● A l'échelle nationale

Les souches Dz-S1 et Dz-M1 sont très similaires génétiquement malgré l'éloignement qui sépare les 2 régions (plus de 600 km entre AZZABA (wilaya de SKIKDA) et KSAR EL BOUKHARI (wilaya de MEDEA). En plus, la souche Dz-S1 est très semblable génétiquement avec la souche tunisienne (Tun-1) quoique cette dernière provient de la région de TUNIS à plus de 350 km de AZZABA. La souche de la wilaya d'EL BAYADH Dz-BY1 est plus proche des souches Dz-B1, Dz-B2 et Dz-B7 de la région de BORDJ EL GHDIR (wilaya de BORDJ BOUARERIDJ), dans cette dernière, on a pu observer encore une ressemblance entre les souches des 2 élevages partageant les mêmes surfaces fourragères et ayant connus des vagues d'avortements dans la même période. La présence de certains marqueurs moléculaires en commun suggère un mutualisme entre les différentes souches locales. Ce dernier a été déjà rapporté par SVRAKA et al.,

(2006) [177], quoique la similitude de génotypes a été déjà rapportée entre pays voisins comme la FRANCE et l'ALLEMAGNE [176]; l'ESPAGNE [271] et le PORTUGAL [290]; la BELGIQUE [276] et les PAYS-BAS [274]; l'ARABIE SAOUDITE et le QATAR [270].

#### • A l'échelle internationale

Les profils génétiques des souches algériennes ne correspondaient à aucune souche ayant subi un typage moléculaire avec la technique MLVA ; Néanmoins, 11 nouveaux génotypes ont été découverts.

La diversité génétique constatée au sein du même élevage dans certains cas de notre étude diffère aux résultats de tous les auteurs ayant effectués des génotypages par la technique MLVA : ARRICAU-BOUVERY et al., (2006) [176] ; SVRAKA et al., (2006) [177] ; CHMIELEWSKY et al. (2009) [268] ; KLAASEN et al., (2009) [291] ; ROEST et al., (2011 et 2013) [274, 275] ; TILBURG et al., (2012) [269, 270] ; ASTOBIZA et al., (2012) [271] ; SANTOS et al., (2012) [290] ; MORI et al., (2013) [276] ; FRANGOULIDIS et al., (2014) [292], SULTAN et al., (2014) [272] ; BOARBI et al., (2014) [277] ; RAČIĆ et al., (2014) [248] et PIÑERO et al., (2015) [273] qui ont signalé la présence du même profil génétique chez des animaux des mêmes élevages ou dans des élevages et des régions différentes, voire même des pays différents.

La souche caprine originaire du MAROC et les souches ovines d'origine tunisienne ont présenté une apparenté génétique avec nos souches locales. En même temps, certaines ressemblances ont été encore observées avec des souches ovines françaises et des souches caprines et humaines isolées aux ÉTATS-UNIS.

#### d. Phylogénie

Les échelles de temps de l'évolution bactérienne sont largement inconnues, en raison d'absence de preuves. La vitesse avec laquelle les changements génétiques s'accumulent dans les populations de bactéries pathogènes est un paramètre clé pour comprendre leur virulence accrue, leur résistance aux

antibiotiques, ainsi que leur propagation [293]. On estime qu'une bactérie peut présenter une divergence de 1 à 2% dans son génome après 50 millions d'années. Chez les bactéries à multiplication intracellulaire obligatoire rien n'est encore prouvé [294].

En phylogénie bactérienne, seulement des fragments du génome sont étudiés, la mesure du taux de substitution de nucléotides en temps réel dans les populations de bactéries pathogènes permettrait la datation des événements évolutifs et la reconstruction de l'histoire démographique d'un agent pathogène en fonction de la variation de séquence d'ADN, qui pourrait finalement fournir des indications fondamentales concernant l'émergence et la propagation de ces bactéries [295, 296]. Ces approches phylogénétiques sont souvent en conflit avec les approches empiriques basées sur des mesures en laboratoire comme le temps de génération et la fréquence de mutations [297, 298].

Les chercheurs considèrent la diversification biologique comme étant causée soit par l'adaptation à des environnements différents, soit à la dérive d'une mutation génétique (mutation ponctuelle, recombinaison génétique, déplacement de transposons, transfert horizontal de gènes impliquant les plasmides ou les phages) [299, 300]. De ce fait, l'évolution bactérienne causée par les mutations est de deux types [300] :

- **Microévolution** : suite au développement de nouvelles variantes après quelques jours ou quelques semaines ;
- **Macroévolution** : une fois adaptés avec succès, les microorganismes tendent à stabiliser les génotypes nouvellement générés par des mutations adaptatives et ils peuvent les maintenir des millions d'années.

Au niveau d'un élevage, la différence en VNTR pour *C. burnetii* a été estimée à un seul marqueur moléculaire chez les troupeaux bovins [271] et de petits ruminants [273] suggérant qu'une souche est capable de persister longtemps dans un élevage sans avoir observé des changements dans son génome. Nos isolats sont beaucoup plus divergents, ce qui suggère qu'ils représentent la population ancestrale de souches de *C. burnetii* [293], quoique cette hypothèse reste à vérifier.



*In vivo*, les multiples séries de passage pourraient être responsables des mutations observées chez *C. burnetii*, de telles mutations ont été rapportées chez différents Arbovirus [302]. A cela, les contraintes imposées par les différents environnements et les exigences de réplication chez les hôtes vertébrés et arthropodes pourraient en être la cause [303], puisque la transmission de cette bactérie est assurée par plusieurs espèces d'arthropodes [56, 57] et la spécificité d'hôte n'est pas encore prouvée [194].

## CHAPITRE 12

### DISCUSSION GENERALE

#### a. Enquête sur le terrain

Les facteurs de risque qui ont une influence sur l'ampleur et la dynamique de l'infection à *C. burnetii*, tout comme son maintien et sa diffusion inter ou intra-troupeaux ne sont pas clairement déterminés et caractérisés. L'apparition en flambée pourrait survenir le plus souvent dans des élevages indemnes ou quasiment indemnes en permettant une propagation parmi les animaux naïfs [43, 79]. En dehors des facteurs de l'hôte, ils pourraient être liés aux pratiques d'élevage, aux conditions climatiques et à la topographie géographique, voire même aux caractéristiques des souches de *C. burnetii* [245, 307, 308]. Cependant, le rôle d'une mauvaise application des mesures hygiéniques dans la survenue et la propagation de germes pathogènes a été rapporté dans la littérature non seulement pour la fièvre Q [309, 310], mais pour toutes les maladies infectieuses [311, 312].

D'après notre enquête auprès des éleveurs, peu d'entre eux pensent à une maladie qui aurait pu provoquer l'avortement, et donc n'identifient pas un risque de contagion. Ils n'émettent aucune inquiétude quant au reste du troupeau, et s'ils ne pensaient pas à une maladie, la cause ne serait pas révélée et les problèmes pourraient se poursuivre au cours des gestations suivantes. Ils arrivent mal à estimer les pertes économiques surtout indirectes liées à ce phénomène.

Le contact avec les femelles excrétrices de bactéries, les avortons et les enveloppes fœtales contaminés représentent une source de transmission de la fièvre Q à d'autres animaux, à l'environnement et à l'homme [43].

La déclaration des avortements est un facteur clé de la mise en place de mesures de gestion par les services vétérinaires publics, Donc, une absence de déclaration rend tout contrôle de cette maladie très difficile vu la méconnaissance de l'élément indicateur de sa suspicion qui est l'avortement.

## **b. Etude de la séroprévalence**

Notre étude sérologique est une enquête transversale qui nous a permis d'avoir une image instantanée de la fièvre Q au niveau des cheptels testés. Les taux observés pourraient être expliqués par une forte circulation de la bactérie au niveau des troupeaux enquêtés, ainsi qu'à une forte contamination de l'environnement par *C. burnetii*. Les valeurs de Densité Optique ne nous ont pas permis de connaître avec certitude le moment de l'apparition de l'infection.

Nos résultats montrent une association entre la séropositivité des femelles ayant avortées relativement aux femelles avec des agnelages normaux ; ce qui pourrait conforter l'idée d'une implication de la fièvre Q dans ces avortements. Malgré la bonne sensibilité et la spécificité de la technique ELISA [189], le diagnostic sérologique de la fièvre Q chez les petits ruminants reste insuffisant, son interprétation n'est qu'une preuve d'infection antérieure qui date dans certains cas, de plusieurs années [198, 229], d'où l'intérêt de l'utilisation de la PCRq qui représente la méthode de choix pour le diagnostic abortif de la fièvre Q [21, 143, 230, 250].

## **c. Etude de l'excrétion bactérienne par voie vaginale**

L'excrétion bactérienne confirmée dans notre étude après avortements ou même mise-bas normales pourrait représenter une source de contamination aux animaux d'exploitations avoisinantes, ainsi que pour l'environnement. Cette menace est aussi importante pour la santé publique et, par conséquent, peut favoriser l'apparition d'épidémies humaines comme celles déjà signalées dans plusieurs pays comme : le CANADA [245] ; la FRANCE [313] ; la CROATIE [314] ; l'ALLEMAGNE [238] ; la BULGARIE [253] et la plus intense aux PAYS-BAS [274]. Cette menace à la santé humaine et animale est soutenue par les propriétés biologiques de la bactérie qui lui confèrent une persistance durable dans l'environnement et dans certains tissus de l'hôte. Sous sa forme SDC (pseudo-spore) et si elle se retrouve dans des conditions favorables à l'intérieur de l'organisme, la bactérie est capable de se multiplier à nouveau. Ces formes sont donc d'une importance cruciale en prophylaxie d'hygiène [104, 135].

#### **d. Implication de *Coxiella burnetii* dans les avortements**

*C. burnetii* occupe une place non négligeable parmi les agents abortifs d'origine infectieuses au sein des troupeaux enquêtés chez l'espèce ovine, contrairement aux caprins où le faible effectif testé ne nous a pas permis d'estimer son implication, mais dans l'ensemble, nous apprécions que les cas d'avortements liés à *C. burnetii* sont plus élevés relativement à ce que nous avons obtenu pour plusieurs raisons, dont la mauvaise estimation des éleveurs de la durée séparant l'avortement et la prise de prélèvement, d'autre part, l'excrétion intermittente de bactéries et la diversité des voies d'excrétion. Le statut excréteur d'un animal ou d'un cheptel ne peut être donc confirmé qu'après l'étude des 3 voies d'excrétion bactérienne [21].

#### **e. Relations entre les techniques ELISA et PCRq**

D'après nos résultats, dans la classe des animaux séronégatifs, le niveau d'excrétion était plus faible par rapport aux deux classes des animaux faiblement et fortement séropositifs. Pour cette raison, nous estimons que l'outil sérologique semble avoir un potentiel d'évaluation globale d'excrétion à l'échelle des troupeaux mais pas individuellement [21, 246].

#### **f. Génotypage MLVA**

Le génotypage des souches de *C. burnetii* est fondamental pour la mise en relation des différents isolats présents dans les infections naturelles, ainsi pour la compréhension des voies de transmission. Suite à une épidémie, cet outil permet d'identifier la source de contamination et donc, de pouvoir prendre les mesures appropriées [135, 315]. Ce génotypage pourrait améliorer encore l'efficacité d'un programme international de surveillance de maladies infectieuses [316]. En plus, lorsqu'il est utilisé pour comparer des souches virulentes et non virulentes, les marqueurs moléculaires peuvent être identifiés et deviennent des cibles pertinentes pour le diagnostic [317]. D'après les résultats obtenus par la technique MLVA, une révision et des recommandations sont fortement envisageables dans le but d'améliorer le pouvoir discriminatoire de cette dernière. Ceci serait possible dès la disponibilité de nouveaux séquençages de souches de *C. burnetii*, puisque

le choix des VNTR est basé sur le génome de la souche de référence Nine Mile [98] et les loci qui avaient moins de 4 répétitions peuvent passer inaperçus.

Une biodiversité a été observée pour les souches algériennes non seulement entre les régions mais, dans les mêmes élevages dans certains cas, contrairement à d'autres travaux où on a pu observer des similitudes entre animaux de régions différentes. En effet, cette biodiversité pourrait indiquer une ancienneté des souches locales relativement à d'autres souches [293], quoique nos résultats nécessitent encore des analyses pointues par les phylogénéticiens.

À notre connaissance, les profils génétiques des souches locales ne correspondaient à aucune souche déjà isolée à travers le monde chez les différentes espèces humaines ou animales (ruminants, insectes et rongeurs). En effet, la théorie de l'origine géographique des souches de *C. burnetii* n'a pas été consolidée dans notre étude et le rapprochement établi avec la souche marocaine et quelques souches tunisiennes pourraient être la conséquence des mouvements d'animaux surtout en régions frontalières.

## CONCLUSION GENERALE

À travers les régions enquêtées, les pratiques sanitaires sont peu développées, ce qui pourrait influencer l'apparition des avortements causés par *Coxiella burnetii* chez les petits ruminants. Le non-respect des mesures d'hygiène en périodes de mise-bas ou après avoir observés des avortements pourrait encore augmenter le risque zoonotique pour les personnes en contact permanent avec ces animaux.

Cette étude nous a permis la mise en évidence de la prévalence sérologique de la fièvre Q dans plusieurs régions à l'échelle nationale confirmant le contact entre les femelles de petits ruminants testées et *C. burnetii* ainsi qu'une forte circulation du germe en cause dans les cheptels enquêtés ainsi qu'au niveau de l'environnement a été constatée vu les taux d'infection élevés observés individuellement et à l'échelle des troupeaux.

L'excrétion de cette bactérie a été approuvée non seulement après des avortements mais encore suite à des mise-bas menées à terme. Tous les groupes d'âge étaient sensibles à la maladie et aucune prédominance entre les espèces ovines et caprines n'a été signalée. En plus, aucune influence de la localisation géographique, du climat et du type d'élevage n'ont été constatés.

La quantification de *C. burnetii* dans les écouvillons vaginaux nous a permis de passer d'une étape de suspicion fondée sur la sérologie à un diagnostic de confirmation impliquant *C. burnetii* parmi les principaux agents abortifs d'origine infectieuse chez les ovins, contrairement aux caprins où son rôle mérite d'être élucidé.

Le nombre d'animaux positifs en PCRq et négatifs en ELISA nous conduit à l'emploi de la PCRq comme méthode de choix pour rechercher une éventuelle excrétion bactérienne, confirmer l'étiologie abortive et évaluer l'exposition des cheptels et de l'homme à *C. burnetii*. L'excrétion bactérienne observée dans notre étude avec des taux élevés pourrait augmenter le risque de contamination des animaux d'élevages avoisinants, de l'environnement, ainsi que la population humaine surtout les personnes en contact permanent avec les petits ruminants.

Le typage moléculaire par la technique MLVA en utilisant les 2 panels a prouvé son intérêt puisqu'il a pu démontrer une diversité génétique des souches de *C. burnetii* au sein de nos élevages avec la découverte de nouveaux génotypes. Ces souches ne correspondaient pas aux souches ayant subies un typage moléculaire avec la technique MLVA au préalable, ce qui a accordé une certaine originalité pour notre travail.

Cette étude en fait, ne pourrait en aucun cas, résoudre le problème de la fièvre Q animale dans notre pays. Il est impératif que les pistes de recherche que nous dégageons soient prises en charge par d'autres chercheurs. Elles doivent combiner plusieurs disciplines, dans le but de participer à la mise en place d'un système d'épidémiosurveillance cohérent en matière de contrôle de cette maladie.

## RECOMMANDATIONS

Les propositions formulées ci-après sont destinées aux différents acteurs dans le but de bénéficier de conseils appropriés et aptes à minimiser les risques liés à l'apparition et la dissémination de la fièvre Q au sein des troupeaux de petits ruminants. De nombreux acteurs peuvent intervenir à des niveaux différents :

### a. Services vétérinaires :

- intégrer la fièvre Q dans le plan national de lutte contre les maladies infectieuses.
- organiser des rencontres de sensibilisation aux vétérinaires publics et privés (hygiénistes, praticiens, inspecteurs) dans le but de les sensibiliser sur l'existence et les risques liés à cette maladie.
- renforcer la collaboration entre les différents secteurs concernés : chercheurs universitaires, praticiens privés, services vétérinaires, laboratoire de diagnostic et la santé publique.
- valoriser la compétence vétérinaire en participant à un réseau national d'épidémiosurveillance.
- protéger les troupeaux indemnes de fièvre Q par un système de gestion sanitaire des mouvements de cheptels.
- informer les professionnels de la santé humaine pour qu'ils soient en mesure d'évoquer le diagnostic de fièvre Q suite à un tableau clinique similaire et en particulier, lorsqu'un contexte de contact avec un animal ayant avorté ou mi-bas est rapporté. Il en est de même, pour les femmes enceintes présentant des anomalies de grossesse.



**b. Vétérinaires praticiens**

- les inciter à la déclaration des avortements.
- utiliser les tétracyclines en fin de gestation dans le but de diminuer l'excrétion bactérienne.

**c. Laboratoires de diagnostic**

- améliorer la démarche du diagnostic des troubles de la reproduction chez les ruminants.
- moderniser les laboratoires de diagnostic vétérinaire, surtout pour le diagnostic des bactéries à multiplication intracellulaire obligatoire.

**d. Eleveurs**

- organiser des journées de sensibilisation et de vulgarisation sur les risques biologiques liés aux avortements, ainsi que les mesures hygiéniques à appliquer.
- encourager les éleveurs à collaborer en matière de lutte contre les avortements.

## PERSPECTIVES

Ce travail n'est qu'introductif dans la mesure où différents points restent perfectibles, il nous semble très intéressant de dégager plusieurs pistes de recherche pour des études ultérieures, les points les plus importants sont :

- approfondir les recherches chez les petits ruminants dans le but d'apprécier leur rôle comme réservoir biologique de *Coxiella burnetii* selon la distribution géographique, en multipliant les prélèvements sur un nombre élevé d'animaux et de manière suivie dans le temps, à travers tout le territoire national.
- mettre en évidence de cibles nouvelles pour la détection de la bactérie chez les espèces domestiques et sauvages.
- étudier l'implication des vecteurs dans la transmission de la fièvre Q.
- étudier l'excrétion bactérienne par d'autres voies, telles que les voies lactée et la voie fécale.
- effectuer des enquêtes sérologiques chez les êtres humains pour les populations à risque.
- standardiser les méthodes de diagnostic.
- généraliser l'utilisation des techniques moléculaires et particulièrement la PCRq dans les laboratoires de diagnostic.
- utiliser d'autres méthodes de typages, telles que les puces à ADN ou le séquençage du génome total.
- rechercher les protéines immunodominantes dans le diagnostic et la vaccination contre la fièvre Q pour la souche locale.

## APPENDICE A

### Liste des abréviations

**ACERSA** : Association pour la Certification de la Santé Animale en Elevage

**ANSES** : Agence Nationale Française de la Sécurité de l'Alimentation,  
l'Environnement et du Travail

**BHK**: Hamster Kidney Fibroblast

**C.** : *Coxiella*

**CCC** : Coefficient de Corrélation Cophénétique

**CHO**: Chinese Hamster Ovary

**CS**: Coefficient de Similarité de Pearson

**COFRAC** : Comité Français d'Accréditation

**EFSA** : European Food Safety Authority

**ELISA**: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

**ECP** : Effet Cyto Pathogène

**EPC** : External Positive Control (contrôle positif externe)

**FC** : Fixation du Complément

**HEL** : Human Embryonic lung

**HeLa**: Human epithelial cervical

**HRP** : Horseradish Peroxidase

**Hsp**: Heat shock protein

**IFI**: Immuno-Fluorescence Indirecte

**IPC** : Internal Positive Control (contrôle positif interne)

**INF- $\gamma$**  : Interféron Gamma

**Kda** : Kilo Dalton

**LCV:** Large Cell Variant

**LPS :** Lipopolysaccharide

**MLVA :** Multiple Locus VNTR Analysis

**MLST :** Multi Locus Sequence Typing

**OIE :** Organisation Mondiale de Santé Animale

**pb :** paire de bases

**PSM 3 :** Poste de Sécurité Microbiologique de Niveau 3

**PCR :** Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne)

**PCRq :** PCR quantitative ou en temps réel

**VP :** Vacuole Paracitophore

**SCV:** Small Cell Variant

**SDC :** Small Dense Cell

**SFT :** Sheep Fetal Thymus

**Taq Polymérase :** ADN polymérase de *Thermophylus aquaticus*

**TNF:** Tumor Necrosis Factor

**Vero :** Vervet origin

**VNTR :** Variable Number of Tandem Repeat

**UPGMA :** Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean

## APPENDICE B

### Fiche du questionnaire

#### Questionnaire

Date :.....

Wilaya :.....Région : .....Eleveur :.....

- Avez-vous suivi une formation dans le domaine de l'élevage ?  
 oui       non
- Combien de fois rencontrez-vous des avortements dans votre exploitation ?  
 fréquemment       rarement       absence totale
- Quelles sont les espèces les plus atteintes ?  
 bovine       ovine       caprine
- Quel est le stade d'apparition de ces avortements ?  
 début de gestation       fin       variable
- Quelles sont les saisons d'apparition de ces avortements ?  
 printemps       été       automne       hiver       variable
- Quel est l'allure de ces avortements ?  
 sporadique       enzootique       variable
- Quels sont les symptômes associés à ces avortements ?  
 rétention placentaire       métrite       autre
- Est-ce que vous appelez le vétérinaire dans tous les cas d'avortements ?  
 oui       si non pourquoi ?.....
- Quelles sont les mesures hygiéniques que vous pratiquez face aux avortements ?  
 .....
- Lorsque vous introduisez des nouveaux animaux dans l'exploitation, est ce que vous pratiquez une mise en quarantaine ?  
 oui       non
- Connaissez-vous des maladies zoonotiques ?  
 non       oui, exemples :.....
- Connaissez-vous des maladies abortives ?  
 non       oui, exemples :.....

**APPENDICE C****Fiche de renseignements**Fiche de renseignements

Date : .....

Wilaya : .....

Région : .....

Eleveur : .....

Type d'élevage : .....

Effectif : .....

Antécédents d'avortements : .....

Nb. de femelles ayant avorté : .....

Présence d'autres espèces animales : .....

Vaccination : .....

N° du prélèvement : .....

Nature du prélèvement : .....

Espèce : .....

Race : .....

Age : .....

Symptômes : .....

Date : .....

## APPENDICE D

### Technique ELISA

#### ○ Matériels

- Microplaque à 96 puits
- Adhésif spécial
- Lecteur de plaque (SAFAS®)
- Etuve 37°C (JOUANN®)
- Etuve 21°C (MEMMERT®)
- Pipette monocanal 20-200 (EPPENDORF®)
- Pipette monocanal 200-1000 (LABSYSTEMS®)
- Pipette multi canaux 5-50 (LABSYSTEMS®)
- Pipette multi canaux 30-300 (EPPENDORF®)
- Pipette multi canaux 100-1000 (LABSYSTEMS®)
- Réfrigérateur (BOSCH®)
- Congélateur -20°C (LIEBHERR®)
- Agitateur de microplaque (SCIENTIFIC INDUSTRIES®)

#### ○ Réactifs

- Kit ELISACOXLS (LSIVET Ruminant Milk/Sérum Q Fever)
- Sérum de contrôle positif *Coxiella burnetii*
- Sérum de contrôle négatif *Coxiella burnetii*
- Un conjugué protéine HRP (100 fois concentré)
- Solution de lavage (10 fois concentré)
- Tampon de dilution des échantillons (prêt à l'emploi)
- Tampon de dilution du conjugué (prêt à l'emploi)
- Solution substrat (prêt à l'emploi)
- Solution d'arrêt (prêt à l'emploi)

## ○ Technique

### a. Préparation des réactifs

Avant la réalisation de la technique, les réactifs sont portés à température ambiante avec les échantillons à analyser.

La solution de lavage concentrée est diluée au 1/10<sup>ème</sup> dans de l'eau distillée.

### b. Préparation des échantillons à tester (dilution)

Les sérums testés sont dilués au 1/400 avec le tampon de dilution. La dilution se fait en 2 temps :

- **Dans une plaque de pré-dilution** : on dilue au 1/20<sup>ème</sup> les échantillons et les sérums de contrôle au tampon de dilution. On agite doucement et on laisse les sérums dilués s'équilibrer dans le tampon de dilution à température ambiante pendant 5 minutes avant le transfert dans la plaque sensibilisée.
- **Dans la plaque sensibilisée avec l'antigène de *C. burnetii*** : on dilue les échantillons et les contrôles pré-dilués dans les puits au 1/20<sup>ème</sup>. Pour cela, on dépose 5 µl de sérum et contrôle pré-dilués dans chaque cupule auxquels on ajoute 95 µl de tampon de dilution. On agite doucement la plaque.

### c. Distribution des contrôles et des échantillons sur la plaque

La plaque présente 12 barrettes, chacune d'entre elles contient 8 cupules. Au niveau de la 1<sup>ère</sup> barrette, on dépose 5 µl de sérum de contrôle FQ positif dans 2 cupules et 5 µl de sérum de contrôle FQ négatif dans 2 autres cupules. Dans les barrettes suivantes, on dépose 5 µl de l'échantillon à tester dans les cupules restantes. Par la suite, on distribue 95 µl de tampon de dilution dans toutes les cupules utilisées pour les échantillons et les contrôles. On agite doucement puis on recouvre à l'aide d'un adhésif.

La plaque est placée en incubation 1 h pendant 37°C.

### d. Lavages

Après l'incubation, la plaque est vidée et lavée à 3 reprises par une solution de lavage préalablement diluée au 1/10<sup>ème</sup> dans de l'eau distillée. Les lavages



sont réalisés sous un volume de 300 µl par cupule. Après le 3<sup>ème</sup> lavage, on dépose la plaque sur du papier absorbant pour éliminer toute trace de liquide.

#### **e. Dépôt du conjugué**

Une fois préparée, le conjugué (diluer au 1/100<sup>ème</sup> extemporanément) est distribué dans chaque cupule 100 µl de la solution conjugué.

La plaque est de nouveau recouverte d'adhésif et placée 1 h à 37°C pour incubation.

#### **f. Lavages**

La plaque est vidée et lavée 3 fois comme précédemment. Toute trace de liquide est éliminée.

#### **g. Révélation**

Cette étape se fait par la solution substrat qui est distribuée à raison de 100 µl par cupule. La plaque est ensuite incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 minutes au bout desquels on rajoute 100 µl par cupule de solution d'arrêt.

#### **h. Lecture**

La plaque est délicatement essuyée, puis introduite dans un lecteur ELISA relié à un ordinateur. La lecture se fait à 450 nm.

#### **i. Interprétation**

Les valeurs des échantillons et du contrôle positif du coffret sont corrigées en soustrayant la valeur du contrôle négatif. Les résultats sont exprimés en pourcentage de densité optique (DO) par rapport à la valeur corrigée du contrôle positif du coffret. Le taux d'anticorps en pourcentage de DO est ainsi calculé :

$$\frac{\text{DO échantillon} - \text{DO contrôle négatif}}{\text{DO contrôle positif} - \text{DO contrôle négatif}} \times 100$$



« Kit ELISA COX LSI VET »



« Agitateur de plaque avec Vortex »



« Pipette multi canaux »



« Pipette mono canal »



« Lecteur de microplaque »



« Incubateur »

## APPENDICE E

### Technique d'extraction d'ADN

#### ○ Matériels

- Bain marie 70°C (JOUANN®)
- Vortex
- Pipette monocanal 20-200 (EPPENDORF®)
- Pipette monocanal 200-1000 (LABSYSTEMS®)
- Microtube Eppendorf
- Tube collecteur avec colonne

#### ○ Réactifs

- Tampon ATL
- Protéinase K
- Tampon AL
- Ethanol 100 %
- Tampon AW1
- Tampon AW2
- PBS

#### ○ Technique

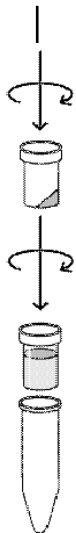
##### a. Prétraitement (enceinte P3)

- Distribuer 1 ml de PBS dans chaque écouvillon.
- Homogénéiser au vortex le mélange et par la suite récupérer dans des microtubes Eppendorf identifiés sur un portoir.
- Récupérer 200 µl de chaque microtube dans de nouveaux microtubes Eppendorf identifiés.

##### b. Lyse

- Ajouter 180 µL de Buffer ATL et 20 µL de Protéinase K pour chaque microtube.





- Vortexer pendant au moins 5 secondes.
- Incuber à 70°C 30 min ou 1 nuit à 56°C.
- Vortexer au moins 5 secondes.
- Ajouter 200 µl de Buffer AL.
- Vortexer 5 secondes.
- Incuber 10 mn à 70°C.

### c. Fixation

- Ajouter 200 µL d'éthanol 100 %.
- Vortexer 15 s et centrifuger rapidement.

### d. Transfert sur colonnes et fixation à la membrane

- Identifier les colonnes et transférer le contenu des tubes Eppendorf dans celles-ci, centrifuger 1 min à 15 000 g, jeter le tube collecteur, conserver la colonne.

### e. Lavage aux tampons AW1 et AW2

- Changer le tube collecteur et ajouter 500 µL du tampon AW1, centrifuger 1 min à 15000 g, jeter le tube collecteur, conserver la colonne.
- Changer de nouveau le tube collecteur et ajouter 500 µL du tampon AW2, centrifuger 1 min à 15000 g, jeter le tube collecteur, conserver la colonne.

### f. Séchage de la colonne

- Mettre la colonne sur un nouveau tube collecteur et centrifuger 3 min à 15000 g. (jusqu'au séchage de la membrane).

### g. Elution

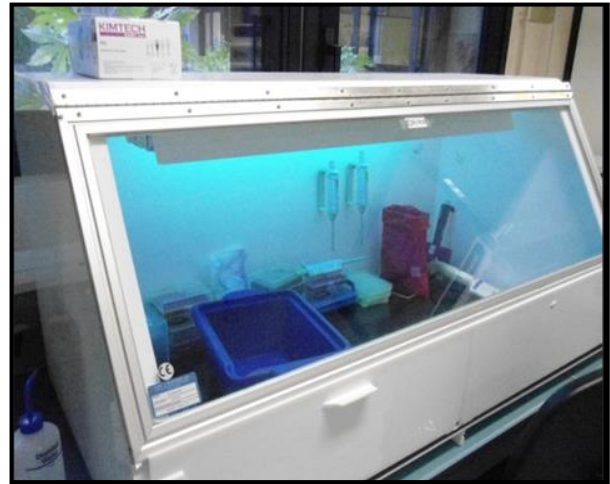
- Transférer la colonne sur un microtube de 1,5 ml.
- Déposer 200 µL du tampon AE pour éluer l'ADN ;
- Incuber 1 mn à température ambiante et centrifuger 1 mn à 6000 g.



- Les microtubes sont fermés, identifiés et conservés dans de la glace pilée (0°C à +4°C), si l'amplification est réalisée tout de suite ou conservés à -20°C ou à -80°C .



« Hotte ADN PSM3 »



« Hotte ADN hors PSM3 »



« Kit pour extraction d'ADN »

## APPENDICE F

### Technique PCR (conventionnelle et en temps réel)

#### ○ Matériels

- Thermocycleur (APPLIED BIOSYSTEMS®)
- Lecteur PCR (APPLIED BIOSYSTEMS®)
- Microplaque à 96 puits
- Microtubes à 1,5 ml
- Adhésif spécial
- Pipette monocanal 1-20 (EPPENDORF®)
- Pipette monocanal 20-200 (EPPENDORF®)
- Pipette monocanal 200-1000 (LABSYSTEMS®)
- Pipette multi canaux 1-20 (LABSYSTEMS®)
- Pipette multi canaux 5-50 (LABSYSTEMS®)
- Pipette multi canaux 30-300 (EPPENDORF®)
- Pipette multi canaux 100-1000 (LABSYSTEMS®)
- Congélateur -20°C (LIEBHERR®)
- Congélateur -80°C (LIEBHERR®)
- Agitateur de microplaque (SCIENTIFIC INDUSTRIES®)

#### ○ Réactifs

##### a. PCRq (Kit (TAQVET LSI PCR Taqman Quantitative))

- Master mix 2x, il contient:
  - H<sub>2</sub>O : 5,7µL
  - dNTP : 0,5µL
  - MgCl<sub>2</sub> : 0,75µL
  - tampon Taq Pol : 2,5µL
  - Taq Pol enzyme : 0,25µL
- un set de nucléotides FQ : 1 Forward primer, 1 Reverse primer et 1 sonde FQ (sonde Taqman marquée FAM-TAMRA).
- un set de nucléotides IPC : 1 Forward primer, 1 Reverse primer et 1 sonde IPC (sonde Taqman marquée VIC-TAMRA).

- l'eau DNaseRNase free qui a été extraite comme un échantillon pour remplacer le contrôle externe négatif.
- Gamme EPC (souche Nine Mile pour le contrôle externe positif de  $2 \cdot 10^9$  à  $2 \cdot 10^2$  bactéries/ml).
- Gamme IPC (gène *gapdh* pour le contrôle interne positif)
- ADN : 5µL

#### **b. PCR conventionnelle (TAQVET LSI PCR Taqman Conventionnelle)**

- RTG mix qui contient un set de nucléotides FQ :
  - H<sub>2</sub>O : 17µL
  - dNTP : 0,5µL
  - MgCl<sub>2</sub> : 0,75µL
  - Tampon Taq Pol : 2,5µL
  - Taq Pol enzyme : 0,25µL
- Différents types d'amorces choisis pour la technique MLVA (1 Forward primer, 1 Reverse primer)
- ADN : 2µL

#### ○ **Technique**

##### **1. Préparation du mix réactionnel et ajout de l'ADN**

- Sous une hotte mix, après 20 mn sous UV, mettre dans un microtube 1,5ml :
  - Master Mix 2x : 12,5µL
  - Amorce R IS : 0,4µL
  - Amorce F IS : 0,4µL
  - Amorce R *Gapdh* : 0,4µL
  - Amorce F *Gapdh* : 0,4µL
  - Sonde IS : 0,1µL
  - Sonde *Gapdh* : 0,1µL
  - H<sub>2</sub>O : 5,7µL
- Sous la hotte PCR Q, après 20 mn sous UV, faites sortir une microplaque à 96 avec un adhésif, y distribuer 20 µL du mix par puits.

- Un plan de plaque est réalisé en fonction des échantillons à tester. En première ligne, la gamme et les contrôles (uniquement pour PCRq) et dans les lignes suivantes les échantillons à tester.
- Ajouter ensuite 5µL ADN (pour PCRq) ou bien 2µL (pour PCR conventionnelle) purifié dans chaque cupule.
- Placer l'adhésif sur la plaque en veillant à bien le sceller à l'aide de la spatule.
- Centrifuger la plaque rapidement.

## 2. Amplification

### a. PCRq

- Placer la microplaque à 96 puits dans la machine PCRq
- Les étapes d'amplification sont:
  - 2 min à 50°C (1 cycle)
  - 10 min à 95°C (1 cycle)
  - [15sec à 95°C / 1 min à 60°C] x (40 cycles)

### b. PCR conventionnelle

- Placer la microplaque à 96 puits dans le thermocycleur pour PCR conventionnelle.
- Les étapes d'amplification sont:
  - 2 min à 50°C (1 cycle)
  - 10 min à 95°C (1 cycle)
  - [15 sec à 95°C / 1 min à 60°C] x (40 cycles)

## 3. Lecture et interprétation

### a. PCRq

La lecture passe par une :

- validation des témoins positifs et négatifs ;
- analyse de la gamme pour la quantification.

Le résultat est représenté graphiquement par des courbessigmoïdes où chaque courbe correspond à un échantillon.



A chaque cycle d'amplification, les valeurs de fluorescence sont enregistrées et représentent la quantité d'amplicons produits. On détermine le nombre de cycles à partir duquel le produit PCR est détectable pour quantifier un échantillon, dans ce cas, on parle du cycle seuil (Threshold cycle ou Ct).

### **b. PCR conventionnelle**

Les amplicons vont subir une migration sur gel pour effectuer la lecture par la suite.



« Thermocycleur »



« Thermocycleur avec lecteur PCRq »

## APPENDICE G

### Migration sur système d'électrophorèse capillaire microfluidique

#### ○ Matériels

- Nano LabChip Kit (ref 5067-1511, AGILENT TECHNOLOGIES®)
- Bioanalyzer 2100 (AGILENT TECHNOLOGIES®)
- Logiciel sur PC (2100 Expert (version : B.02.05.SI360))
- Pipette monocanal 1-20 (EPPENDORF®)
- Vortex avec adaptateur pour LabChips
- Chip Priming Station et tournevis
- Chronomètre
- Micro-centrifugeuse  $\geq 13000$  g
- Microtubes à 1,5 ml
- Bac à glace

#### ○ Réactifs

- Aliquot d'ADN Ladder 6000 dénaturé à 150 ng/ $\mu$ l
- Aliquot d'eau ADNase-free commerciale
- Gel filtré
- Agent intercalant

#### ○ Technique

##### a. Préparation du mélange gel-intercalant

- Filtrer le gel : mettre 550  $\mu$ l de gel dans une unité de filtration et centrifuger 10 min à 1500 g à température ambiante.
- Noter la date sur le tube et conserver à +4°C.
- Prélever 65  $\mu$ l de gel filtré dans un tube 0.5 ml ADNase-free.
- Vortexer l'intercalant pendant 10 secondes et centrifuger brièvement.
- Ajouter 1  $\mu$ l d'intercalant aux 65  $\mu$ l de gel filtré, bien vortexer et centrifuger 10 min à 13000 g à température ambiante.

**b. Décontamination des électrodes**

- Remplir une LabChip de lavage avec 350 µl de décontaminant de type « ANase-Away » (pipetter dans n'importe quel puits, les puits communiquent entre eux).
- La placer dans le Bioanalyzer, fermer le couvercle et attendre 1min.
- Remplir une autre LabChip de lavage avec 350 µl d'eau ADNase-free.
- La placer dans le Bioanalyzer, fermer le couvercle et attendre 1 min.
- Garder ces LabChips de lavage pour répéter le lavage après l'analyse.
- A la fin, les vider en les secouant en position retournée et les ranger dans un emballage ADNase-free.
- Remplacer les LabChips de lavage lors de l'ouverture d'un nouveau kit.

**c. Préparation des échantillons et du ladder**

- Décongeler les échantillons d'ADN et le Ladder et les garder sur la glace.

**d. Réglage de la Chip Priming Station**

- Régler le support de remplissage de la LabChip (Chip Priming Station) : ergot en C sur le socle, ergot en haut sur le support de la seringue.

**e. Réglage de la Chip Priming Station**

- Placer une LabChip neuve sur le socle de la Chip Priming Station
- Pipetter 9 µl de mélange gel-intercalant dans le puits G.
- Placer le piston de la seringue sur 1 ml et fermer la Chip Priming Station.
- Abaisser rapidement le piston jusqu'à ce qu'il soit bloqué.
- Attendre 30 secondes exactement et libérer le piston.
- Attendre 5 secondes puis le faire remonter le piston lentement jusqu'à la graduation 1 ml.

- Ouvrir la Chip Priming Station.
- Pipetter 9µl de mélange gel-intercalant dans les 2 autres puits G.

#### **f. Chargement des échantillons**

- Pipetter 5 µl de marqueur de migration dans le puits « échelle » et dans les 12 puits échantillons.
- Pipetter 1µl de Ladder dans le puits « échelle ».
- Pipetter 1µl d'ADN dans chacun des 12 puits échantillons.
- Placer la LabChip à plat dans l'adaptateur du Vortex.
- Vortexer la LabChip 1 min à 2000 rpm.
- Lancer l'analyse dans les 5 min après chargement.

#### **g. Démarrage de l'analyse**

- Allumer le Bioanalyzer 2100, le PC et ouvrir le logiciel 2100 Expert (version : B.02.05.SI360).
- Placer la LabChip dans le Bioanalyzer (une seule position possible).
- Vérifier la bonne connexion entre l'instrument et le PC (image de l'instrument puis image de la LabChip apparaissent en clair)
- Lancer l'analyse en cliquant sur START.
- Eviter les vibrations de l'appareil pendant le run.

#### **○ Lecture et interprétation**

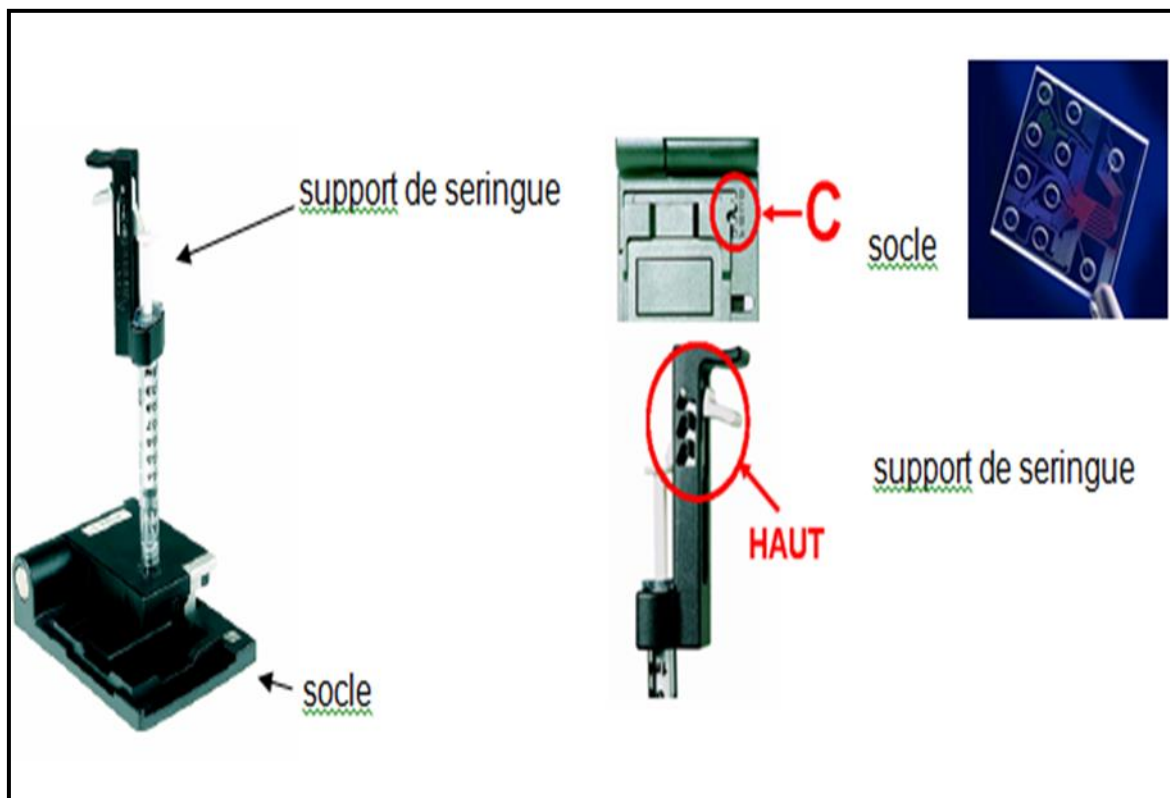
- Les molécules d'ADN sont séparées en fonction de leur taille dans un système d'électrophorèse capillaire microfluidique et. L'ADN se lie à l'intercalant présent dans le gel.
- La fluorescence de l'intercalant est détectée grâce à un laser rouge.



« Agitateur pour LabChip AGILENT »



« Bioanalyser pour LabChip »



« Lapchip Priming Station »

### Propriétés des loci de la technique MLVA

Locus	Taille (pb)	Nombre de répétition	Séquence des primers	
			L	R
ms1	182–198	3-4	GGCTCATTCAATTTTAGCTTCG	AACGTGGGGAAGTTTGTATTT
ms3	217–229	6-7	TTGTCGATAAATCGGGAACTT	CACTGGGAAAAGGAGAAAAAGA
ms7	734–1112	5-8	CTCTTAGCCATCGCTTACCACT	AACGAAAATTGGTTTGCATTTT
ms12	570-1200	4,7-9	GAAAATTGGTTTGCCTCTG	CCTTCTCCCAAGAAGTTTAGCC
ms20	384-528	14-15, 18-19, 22	CTGAAACCAGTCTTCCCTCAAC	CTTTATCTTGGCCTCGCCCTTC
ms21	210-222	5-6	AGCATCTGCCTTCTCAAGTTTC	TGGGAGGTAGAAGAAAAGATGG
ms22	246-257	6-7	GGGGTTTGAACATAGCAATACC	CAATATCTCTTTCTCCCGCATT
ms26	109-244	2,4-5,11	AGAATCAAACCTGCAAAACCTT	TTGATTATTTTGACTTCGCTGGT
ms30	197–215	5-6	ATTCCTCGACATCAACGTCTT	AGTCGATTTGGAAACGGATAAA
ms36	474-601	7,15,17,21	GAAACCAGTCTTCCCTCAACAG	ATAACCGTCATCGTCACCTTCT
ms23	122-157	3,5,8	GGACAAAATCAATAGCCCGTA	GAAAACAGAGTTGTGTGGCTTC
ms24	204-344	7-13, 27	ATGAAGAAAGGATGGAGGGACT	GATAGCCTGGACAGAGGACAGT
ms27	264-282	2-5	TTTTGAGTAAAGGCAACCCAAT	CAAACGTCGCACTAACTCTACG
ms28	258-288	3-8	TAGCAAAGAAATGTGAGGATCG	ATTGAGCGAGAGAATCCGAATA
ms31	161-182	2-5	GGGCATCTAATCGAGATAATGG	TTTGAGAAAATTTTGGGTGCTT
ms33	227-1600	4, 6-9	TAGGCAGAGGACAGAGGACAGT	ATGGATTTAGCCAGCGATAAAA
ms34	192-252	2-5, 7-12	TGACTATCAGCGACTCGAAGAA	TCGTGCGTTAGTGTGCTTATCT

## APPENDICE H

### Résultats obtenus en ELISA et PCRq

**Tableau 11.5** : Description des avortements selon les observations des éleveurs

<b>Critères</b>		<b>Pourcentage (%)</b>
<b>Présence d'avortements</b>	présent	90
	absent ou rare	10
<b>Espèces atteintes</b>	bovine	10
	ovine	56
	caprine	34
<b>Stade</b>	aux alentours des mise-bas	55
	au début	20
	variables	25
<b>Saison</b>	printemps ou automne	70
	variable	30
<b>Allure</b>	en série	53
	sporadique	20
	variables	27
<b>Symptômes associés</b>	rétections placentaires	60
	métrites	30
	autres	10

**Tableau 11.6** : Mesures hygiéniques appliquées face aux avortements

<b>Mesures sanitaires</b>	<b>Pourcentage (%)</b>	
<b>Appel systématique du vétérinaire</b>	oui	55
	non	44
<b>Isolement des femelles ayant avorté</b>	oui	27
	non	73
<b>Présence de box d'agnelage</b>	oui	10
	non	90
<b>Destruction des placentas et des enveloppes foétales</b>	oui	71
	non	29
<b>Distribution des placentas aux carnivores de la ferme</b>	oui	5
	non	95
<b>Usage des vêtements de protection</b>	oui	30
	non	70
<b>Introduction de nouveaux animaux sans aucune mesure sanitaire</b>	oui	35
	non	65

**Tableau 11.7** : Connaissances générales des éleveurs sur les maladies abortives et zoonotiques

<b>Mesures sanitaires</b>	<b>Pourcentage (%)</b>	
<b>Connaissance des maladies abortives</b>	oui	55
	non	44
<b>Connaissance des maladies zoonotiques</b>	oui	52
	non	48



**Tableau 11.8 : Séroprévalence par wilaya**

Wilaya	Cheptels			Individus		
	Testés	Positifs	%	Testés	Positifs	%
<b>MEDEA</b>	17	9	52,2	133	18	13,5
<b>DJELFA</b>	2	2	100	17	2	11,8
<b>AIN DEFLA</b>	3	2	66,7	21	3	14,3
<b>BORDJ</b>	2	1	50	13	2	15,4
<b>BOUARERIDJ</b>						
<b>CONSTANTINE</b>	3	2	66,7	17	2	11,8
<b>BISKRA</b>	2	1	50	26	5	19,2
<b>Total</b>	29	17	58,6	227	32	14,1

Tableau 11.9 : Séroprévalence avec caractéristiques des élevages

Elevages	Caractéristiques			Type	Animaux		%
	Antécédents d'avortements	Taille	Composition		Testés	Positifs	
A1	oui	>100	mixte	transhumant	12	0	0
A2	non	≤100	ovin	transhumant	5	0	0
A3	oui	≤100	ovin	transhumant	7	3	43
A4	oui	≤100	mixte	transhumant	8	4	50
A5	oui	≤100	mixte	transhumant	9	0	0
A6	oui	>100	ovin	transhumant	10	3	30
A7	oui	>100	ovin	transhumant	16	2	12,5
A8	oui	≤100	mixte	transhumant	5	0	0
A9	non	>100	mixte	transhumant	9	0	0
A10	non	≤100	ovin	transhumant	5	1	20
A11	non	≤100	mixte	transhumant	7	0	0
A12	oui	≤100	ovin	transhumant	6	0	0
A13	oui	≤100	mixte	transhumant	8	1	12,5
A14	non	≤100	mixte	transhumant	5	1	20
A15	oui	≤100	ovin	transhumant	6	2	33,4
A16	non	≤100	mixte	transhumant	7	0	0
A17	non	≤100	ovin	transhumant	8	1	12,5
B1	oui	≤100	mixte	sédentaire	7	1	14,3
B2	oui	≤100	mixte	sédentaire	6	1	16,7
B3	non	≤100	ovin	sédentaire	4	0	0
C1	oui	≤100	mixte	sédentaire	7	1	14,3
C2	oui	≤100	mixte	sédentaire	8	2	25
C3	non	≤100	mixte	sédentaire	6	0	0
D1	non	≤100	ovin	transhumant	8	1	12,5
D2	non	>100	ovin	transhumant	9	1	11,1
E1	oui	>100	ovin	transhumant	20	5	25
E2	non	≤100	ovin	sédentaire	6	0	0
F1	non	≤100	ovin	sédentaire	7	2	28,2
F2	non	≤100	ovin	sédentaire	6	0	0

**Tableau 11.10** : Séroprévalence selon différents critères à l'échelle des troupeaux

Critères		Cheptels		
		Testés	Positifs	%
<b>Antécédents d'avortements</b>	avec	15	12	80
	sans	14	6	42,8
<b>Composition</b>	ovine	14	10	25
	mixte	15	7	46,7
<b>Taille</b>	≤100	23	13	56,5
	>100	6	4	66,7
<b>Type d'élevage</b>	sédentaire	9	5	55,6
	transhumant	20	12	60
<b>Climat</b>	Méditerranéen	6	5	83,3
	aride ou semi-aride	23	12	47,6

**Tableau 11.11** : Séroprévalence selon différents critères à l'échelle individuelle

Critères		Animaux		
		Testés	Positifs	%
<b>Espèces</b>	ovine	187	26	13,9
	caprine	40	6	15
<b>Symptômes</b>	avortement	167	27	16,2
	mise-bas	60	5	8,3
<b>Age</b>	primipares	70	14	20
	multipares	157	18	10,3

Tableau 11.12 : Valeurs de Densité Optique par élevage

Elevages	Animaux		Valeur de Densité Optique		
	Testés	Positifs	Moyenne	Ecart type	Intervalle de confiance
A1	12	0	10	9,1	4,2-15,7
A2	5	0	16,8	8,6	6,1-27,5
A3	7	3	25,8	23	4,5-47,0
A4	8	4	54,1	56,2	7,1-101,0
A5	9	0	7,8	5,7	3,5-12,2
A6	10	3	34,2	41,8	4,3-64,1
A7	16	2	13,2	18	3,7-22,8
A8	5	0	-3	4,3	2,4-8,4
A9	9	0	5,5	8,7	1,2-12,2
A10	5	1	23	13,4	6,4-39,6
A11	7	0	7,2	8,7	0,9-15,3
A12	6	0	4,5	10,9	6,9-15,9
A13	8	1	13,3	22,9	5,8-32,5
A14	5	1	24,5	22,5	3,5-52,5
A15	6	2	43	34,7	6,6-79,4
A16	7	0	9,6	11,1	0,7-19,9
A17	8	1	20,6	32,5	6,5-47,8
B1	7	1	4,7	5,2	3,6-12,9
B2	6	1	37,2	68,7	26,3-100,8
B3	4	0	16,4	20,6	5,3-38,0
C1	7	1	13,9	20	4,6-32,4
C2	8	2	24,6	21,1	7,0-42,2
C3	6	0	-0,3	3,4	3,9-3,3
D1	8	1	13,6	17,1	0,5-26,7
D2	9	1	20,5	19,5	4,2-36,8
E1	20	5	34,7	92,4	8,5-78,0
E2	6	0	12,1	7,1	4,6-19,6
F1	7	2	38	41,3	0,2-76,2
F2	6	0	20,5	14,4	5,4-35,6

**Tableau 11. 13 : Excrétion bactérienne par wilaya**

Wilaya	Cheptels			Individus		
	Testés	Positifs	%	Testés	Positifs	%
<b>MEDEA</b>	17	9	53	133	19	14,3
<b>DJELFA</b>	3	1	34	22	1	4,5
<b>AIN DEFLA</b>	3	2	67	21	10	47,6
<b>CONSTANTINE</b>	4	2	50	25	6	24
<b>BORDJ</b>	2	2	100	13	10	77
<b>BOUARERIDJ</b>						
<b>BISKRA</b>	2	2	100	26	2	7,7
<b>SIKDA</b>	2	2	100	14	8	57
<b>EL BAYADH</b>	2	1	50	13	1	7,7
<b>Total</b>	35	21	60	267	57	21,3

**Tableau 11.14** : Excrétion bactérienne avec caractéristiques des élevages

Elevages	Caractéristiques			Type	Animaux		%
	Antécédents d'avortements	Taille	Composition		Testés	Positifs	
A1	oui	>100	mixte	transhumant	12	0	0
A2	non	≤100	ovin	transhumant	5	2	40
A3	oui	≤100	ovin	transhumant	7	4	57
A4	oui	≤100	mixte	transhumant	8	0	0
A5	oui	≤100	mixte	transhumant	9	0	0
A6	oui	>100	ovin	transhumant	10	0	0
A7	oui	>100	ovin	transhumant	16	0	0
A8	oui	≤100	mixte	transhumant	5	1	20
A9	non	>100	mixte	transhumant	9	2	22,2
A10	non	≤100	ovin	transhumant	5	4	80
A11	non	≤100	mixte	transhumant	7	3	43
A12	oui	≤100	ovin	transhumant	6	1	16,7
A13	oui	≤100	mixte	transhumant	8	1	12,5
A14	non	≤100	mixte	transhumant	5	1	20
A15	oui	≤100	ovin	transhumant	6	0	0
A16	non	≤100	mixte	transhumant	7	0	0
A17	non	≤100	ovin	transhumant	8	0	0
B1	oui	≤100	mixte	sédentaire	7	0	0
B2	oui	≤100	mixte	sédentaire	6	3	50
B3	non	≤100	ovin	sédentaire	4	0	0
B4	oui	≤100	mixte	sédentaire	8	3	37,5
C1	oui	≤100	mixte	sédentaire	7	7	100
C2	oui	≤100	mixte	sédentaire	8	3	37,5
C3	non	≤100	mixte	sédentaire	6	0	0
D1	non	≤100	ovin	transhumant	8	0	0
D2	non	>100	ovin	transhumant	9	1	11
D3	non	≤100	ovin	transhumant	5	0	0
E1	oui	>100	ovin	transhumant	20	1	5
E2	non	≤100	ovin	sédentaire	6	1	16,7
F1	non	≤100	ovin	sédentaire	7	6	85,7
F2	non	≤100	ovin	sédentaire	6	4	66,7
G1	non	≤100	ovin	sédentaire	8	5	62,5
G2	oui	≤100	ovin	sédentaire	6	3	50
H1	non	≤100	ovin	transhumant	7	0	0
H2	oui	≤100	ovin	transhumant	6	1	16,7

**Tableau 11.15** : Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle des troupeaux

Critères		Cheptels		
		Testés	Positifs	%
<b>Antécédents d'avortements</b>	avec	18	11	61
	sans	17	10	58,8
<b>Composition</b>	ovin	20	9	60
	mixte	15	12	60
<b>Taille</b>	≤100	24	17	70,8
	>100	11	5	45,5
<b>Type d'élevage</b>	sédentaire	12	8	66,7
	transhumant	23	13	56,5
<b>Climat</b>	Méditerranéen	9	6	66,7
	aride ou semi-aride	26	15	54,2

**Tableau 11.16** : Excrétion bactérienne selon différents critères à l'échelle individuelle

Critères		Animaux		
		Testés	Positifs	%
<b>Espèces</b>	ovine	224	44	19,6
	caprine	43	13	30,2
<b>Symptômes</b>	avortements	197	41	20,9
	mise-bas	70	16	23
<b>Age</b>	primipares	82	15	19,5
	multipares	185	42	22,1

**Tableau 11.17 : Quantités bactériennes excrétées par élevage**

Elevages	Animaux		Valeur de quantités bactériennes		
	Testés	Positifs	Moyenne (log10)	Ecart type	Intervalle de confiance
A1	12	0	0	0	0
A2	5	2	1,1	1,51	0,77-2,97
A3	7	4	2,15	2,67	0,32-4,62
A4	8	0	0	0	0
A5	9	0	0	0	0
A6	10	0	0	0	0
A7	16	0	0	0	0
A8	5	1	0,28	0,63	0,50-1,07
A9	9	2	0,31	0,62	0,17-0,79
A10	5	4	1,71	0,97	0,51-2,92
A11	7	3	0,66	0,84	0,12-1,44
A12	6	1	0,3	0,73	0,47-1,07
A13	8	1	0,71	2	0,96-2,37
A14	5	1	0,66	1,48	1,18-2,50
A15	6	0	0	0	0
A16	7	0	0	0	0
A17	8	0	0	0	0
B1	7	0	0	0	0
B2	6	3	1,02	1,41	0,16-2,19
B3	4	0	0	0	0
B4	8	3	1,33	1,47	0,21-2,88
C1	7	7	2,15	0,46	1,72-2,57
C2	8	3	0,58	0,85	0,14-1,29
C3	6	0	0	0	0
D1	8	0	0	0	0
D2	9	1	0,44	1,33	0,58-1,47
D3	5	0	0	0	0
E1	20	1	0,07	0,32	0,08-0,22
E2	6	1	0,54	1,32	0,85-1,92
F1	7	6	4,78	2,83	2,17-7,40
F2	6	4	3,36	2,68	0,55-6,17
G1	8	5	1,33	1,13	0,38-2,27
G2	6	3	2,14	2,93	0,94-5,21
H1	7	0	0	0	0
H2	6	1	0,73	1,8	1,15-2,62



**Tableau 11.18** : Diagnostic de confirmation de la fièvre Q

Espèces	Animaux		
	Testés	Positifs	%
Ovine	162	11	6,8
Caprine	35	0	0

**Tableau 11.19** : Résultats obtenus ELISA et PCRq à l'échelle des troupeaux

Elevages	Animaux	ELISA		PCRq	
	Testés	Positifs	%	Positifs	%
A1	12	0	0	0	0
A2	5	0	0	2	40
A3	7	3	43	4	57
A4	8	4	50	0	0
A5	9	0	0	0	0
A6	10	3	30	0	0
A7	16	2	12,5	0	0
A8	5	0	0	1	20
A9	9	0	0	2	22,2
A10	5	1	20	4	80
A11	7	0	0	3	43
A12	6	0	0	1	16,7
A13	8	1	12,5	1	12,5
A14	5	1	20	1	20
A15	6	2	33,4	0	0
A16	7	0	0	0	0
A17	8	1	12,5	0	0
B1	7	1	14,3	0	0
B2	6	1	16,7	3	50
B3	4	0	0	0	0
C1	7	1	14,3	7	100
C2	8	2	25	3	37,5
C3	6	0	0	0	0
D1	8	1	12,5	0	0
D2	9	1	11,1	1	11
E1	20	5	25	1	5
E2	6	0	0	1	16,7
F1	7	2	28,2	6	85,7
F2	6	0	0	4	66,7

**Tableau 11.20** : Concordance entre ELISA et PCRq à l'échelle individuelle

<b>Catégories</b>	<b>Effectifs</b>
ELISA(+) PCRq(+)	7
ELISA(+) PCRq(-)	25
ELISA(-) PCRq(+)	37
ELISA(-) PCRq(-)	158

**Tableau 11.21** : Concordance des résultats d'excrétion bactérienne suivant les 3 classes sérologiques

<b>Catégories</b>	<b>Animaux excréteurs</b>	<b>Moyennes d'excrétion (log10)</b>	<b>Ecart-type</b>
ELISA(-)	38	3,03	1,5
ELISA(+)	5	2,77	2,7
ELISA(++)	2	4,77	4,7

Tableau 11.22 : Résultats obtenus en ELISA et PCRq par élevage

Elevages	Date du prélèvement	N°	Espèce	Age	Commé -moratif	Technique ELISA				Technique PCRq				
						Date d'analyse	DO (%)	Résultat	Moyenne	Date d'analyse	Ct	Nb. de bactérie	Résultat	Moyenne (en log10)
<b>Code : A1</b> <b>Wil. : MEDEA</b> <b>Aa : oui</b> <b>Pc : oui</b> <b>Te : transhumant</b> <b>E : &gt; 100</b>	21/10/11	A1-1	Ov.	4 ans	Av. 6 j.	18001012	17	NEGATIF	m : 10 $\sigma$ : 9,1 IC : $\pm$ 5,7	23001012	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
	21/10/11	A1-2	Ov.	4 ans	Av. 7 j.	18/01/12	10,9	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-3	Ov.	4 ans	Av. 8 j.	18/01/12	15,4	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-4	Ov.	5 ans	Av. 8 j.	18/01/12	2	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-5	Ov.	3 ans	Av. 7 j.	18/01/12	10,1	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-6	Ov.	3 ans	Av. 8 j.	18/01/12	32,8	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-7	Cp.	4 ans	Av. 7 j.	18/01/12	0,8	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-8	Cp.	5 ans	Mb. 0j.	18/01/12	4,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-9	Ov.	5 ans	Mb. 0j.	18/01/12	7,5	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-10	Ov.	2 ans	Mb. 0j.	18/01/12	9,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-11	Ov.	2 ans	Av. 5j.	18/01/12	-0,9	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	21/10/11	A1-12	Ov.	2 ans	Mb. 7j.	18/01/12	9,8	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code : A2</b> <b>Wil. : MEDEA</b> <b>Aa : non</b> <b>Pc : non</b> <b>Te : transhumant</b> <b>E : <math>\leq</math>100</b>	22/10/11	A2-1	Ov.	2 ans	Av. 6j	18/01/12	26	NEGATIF	m : 16,8 $\sigma$ : 8,6 IC : $\pm$ 10,7	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 1,1 $\sigma$ : 1,51 IC : $\pm$ 0,74
	22/10/11	A2-2	Ov.	4 ans	Av. 2j.	18/01/12	18,8	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	22/10/11	A2-3	Ov.	4 ans	Av. 7j.	18/01/12	9,9	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	10/03/12	A2-4	Ov.	5 ans	Av. 7j.	27/03/13	23,3	NEGATIF		29/03/13	35,03	6,55E+02	POSITIF	
	22/03/12	A2-5	Ov.	6 ans	Av. 7j.	27/03/13	5,9	NEGATIF		29/03/13			POSITIF	
									35,51	4,85E+02				
<b>Code : A3</b>	22/10/11	A3-1	Ov.	6 ans	Av. 7j.	18/01/12	47,9	POSITIF+		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	

<b>Wil</b> : MEDEA	22/10/11	A3-2	Ov.	5 ans	Av. 4j.	18/01/12	57,8	POSITIF+	m : 25,8	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 2,15
<b>Aa</b> : oui	22/10/11	A3-3	Ov.	4 ans	Mb. 0j.	18/01/12	12,3	NEGATIF	$\sigma$ : 23	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	$\sigma$ : 2,67
<b>Pc</b> : non	10/03/12	A3-4	Ov.	4 ans	Av. 4j.	27/03/13	41,8	POSITIF +	IC : $\pm$ 21,2	29/03/13	38,68	6,60E+01	POSITIF	IC : $\pm$ 1,93
<b>Te</b> : transhumant	10/03/12	A3-5	Ov.	4 ans	Mb. 6j.	27/03/13	12,1	NEGATIF		29/03/13	35,94	3,69E+02	POSITIF	
<b>E</b> : $\leq$ 100	10/03/12	A3-6	Ov.	4 ans	Av. 4j.	27/03/13	-3,1	NEGATIF		29/03/13	18,29	2,48E+07	POSITIF	
	10/03/12	A3-7	Ov.	5 ans	Av. 7j.	27/03/13	11,5	NEGATIF		29/03/13	33,43	1,80E+03	POSITIF	
<b>Code</b> : A4	28/10/11	A4-1	Ov.	3 ans	Av. 15j.	18/01/12	110,7	POSITIF++		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : MEDEA	28/10/11	A4-2	Ov.	4 ans	Av. 15j.	18/01/12	77,4	POSITIF+	m : 54,1	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : oui	28/10/11	A4-3	Ov.	4 ans	Av. 12j.	18/01/12	15,1	NEGATIF	$\sigma$ : 56,2	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc</b> : oui	28/10/11	A4-4	Ov.	5ans	Mb. 0j.	18/01/12	7,5	NEGATIF	IC : $\pm$ 47	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te</b> : transhumant	28/10/11	A4-5	Ov.	5 ans	Mb. 0j.	18/01/12	-2,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>E</b> : $\leq$ 100	28/10/11	A4-6	Cp.	3 ans	Av. 10j.	18/01/12	-2,5	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	28/10/11	A4-7	Cp.	4 ans	Av. 8j.	18/01/12	137,7	POSITIF++		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	28/10/11	A4-8	Cp.	4 ans	Av. 8j.	18/01/12	89,1	POSITIF+		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : A5	29/10/11	A5-1	Ov.	2 ans	Av. 7j.	18/01/12	12,4	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : MEDEA	29/10/11	A5-2	Ov.	2 ans	Av. 8j.	18/01/12	11	NEGATIF	m : 7,8	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : oui	29/10/11	A5-3	Ov.	2 ans	Av. 6 j.	18/01/12	4,2	NEGATIF	$\sigma$ : 5,7	23/01/012	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc</b> : oui	29/10/11	A5-4	Ov.	5 ans	Av. 6 j.	18/01/12	4,5	NEGATIF	IC : $\pm$ 4,3	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te</b> : transhumant	29/10/11	A5-5	Ov.	4 ans	Av. 5 j.	18/01/12	3,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>E</b> : $\leq$ 100	29/10/11	A5-6	Ov.	4 ans	Mb. 4j.	18/01/12	18,3	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	29/10/11	A5-7	Ov.	4 ans	Mb. 5j.	18/01/12	11,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	29/10/11	A5-8	Cp.	5 ans	Av. 7j.	18/01/12	3,8	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	29/10/11	A5-9	Cp.	3 ans	Av. 4j.	18/01/12	1,1	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : A6	05/11/11	A6-1	Ov.	2 ans	Av. 2 j.	18/01/12	79,9	POSITIF+		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : MEDEA	05/11/11	A6-2	Ov.	6 ans	Av. 2 j.	18/01/12	18,8	NEGATIF	m : 34,2	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : oui	05/11/11	A6-3	Ov.	3 ans	Av. 6 j.	18/01/12	4,3	NEGATIF	$\sigma$ : 41,8	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	

<b>Pc</b> : non <b>Te</b> : transhumant <b>E</b> : > 100	05/11/11	A6-4	Ov.	2 ans	Av. 9 j.	18/01/12	122,8	POSITIF++	IC : ± 30,1	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A6-5	Ov.	3 ans	Av. 9 j.	18/01/12	67,3	POSITIF+		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A6-6	Ov.	4 ans	Mb. 0 j.	18/01/12	0,7	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A6-7	Ov.	4 ans	Av. 3 j.	18/01/12	29,7	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A6-8	Ov.	5 ans	Av. 2 j.	18/01/12	4,2	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A6-9	Ov.	6 ans	Mb. 0 j.	18/01/12	2,7	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A6-10	Ov.	6 ans	Av. 10 j.	18/01/12	11,2	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : A7 <b>Wil</b> : MEDEA <b>Aa</b> : oui <b>Pc</b> : non <b>Te</b> : transhumant <b>E</b> : > 100	05/11/11	A7-1	Ov.	2 ans	Av. 2j.	18/01/12	2,5	NEGATIF	m : 13,2 σ : 18 IC : ± 9,5	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
	05/11/11	A7-2	Ov.	2 ans	Av. 8j.	18/01/12	8,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A7-3	Ov.	5 ans	Av. 7j.	18/01/12	2,2	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A7-4	Ov.	4 ans	Av. 8j.	18/01/12	-2,5	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A7-5	Ov.	3 ans	Av. 2j.	18/01/12	-1,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A7-6	Ov.	6 ans	Mb. 0j.	18/01/12	-0,8	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/11/11	A7-7	Ov.	4 ans	Mb. 7j.	18/01/12	10,4	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/11/11	A7-8	Ov.	4 ans	Av. 2j.	18/01/12	35,2	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/11/11	A7-9	Ov.	4 ans	Av. 5j.	18/01/12	1,4	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/11/11	A7-10	Ov.	5 ans	Av. 4j.	18/01/12	10,1	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/11/11	A7-11	Ov.	6 ans	Av. 15j.	18/01/12	22,7	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/11/11	A7-12	Ov.	3 ans	Av. 15j.	18/01/12	7,5	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/11/11	A7-13	Ov.	3 ans	Av. 3j.	18/01/12	-1,6	NEGATIF		23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : A8 <b>Wil</b> : MEDEA <b>Aa</b> : oui <b>Pc</b> : oui	06/11/11	A7-15	Ov.	5 ans	Mb. 2j.	18/01/12	57,8	POSITIF+	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF		
	06/11/11	A7-16	Ov.	2 ans	Mb. 1j.	18/01/12	43,9	POSITIF+	23/01/12	Nd.	Nd.	NEGATIF		
	01/03/12	A8-1	Cp.	2 ans	Av. 3j.	15/11/12	2,5	NEGATIF	m : -3 σ : 4,3	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
01/03/12	A8-2	Cp.	2 ans	Av. 3j.	15/11/12	-2,7	NEGATIF	13/11/12		37,11	2,50E+01	POSITIF		
01/03/12	A8-3	Cp.	4 ans	Av. 2j.	15/11/12	-9,3	NEGATIF	13/11/12		Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,28	

<b>Te</b> : transhumant	01/03/12	A8-4	Cp.	4 ans	Av. 1j.	15/11/12	-4,5	NEGATIF	IC : ± 5,4	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	σ : 0,63
<b>E</b> : ≤100	01/03/12	A8-5	Cp.	4 ans	Mb. 2j.	15/11/12	-1,2	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	IC : ± 0,79
<b>Code</b> : A9 <b>Wil</b> : MEDEA <b>Aa</b> : non <b>Pc</b> : oui <b>Te</b> : transhumant <b>E</b> : > 100	19/09/12	A9-1	Ov.	2 ans	Av. 6j.	15/11/12	9,9	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	19/09/12	A9-2	Ov.	2 ans	Av. 4j.	15/11/12	1	NEGATIF	m : 5,5	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,31
	19/09/12	A9-3	Ov.	6 ans	Mb. 2j.	15/11/12	1,1	NEGATIF	σ : 8,7	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	σ : 0,62
	19/09/12	A9-4	Ov.	6 ans	Mb. 0j.	15/11/12	-2,7	NEGATIF	IC : ± 6,8	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	IC : ± 0,14
	19/09/12	A9-5	Ov.	3 ans	Mb. 4j.	15/11/12	15,4	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	20/09/12	A9-6	Ov.	3 ans	Mb. 2j.	15/11/12	2,3	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	20/09/12	A9-7	Ov.	5 ans	Mb. 5j.	15/11/12	14,3	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	20/09/12	A9-8	Ov.	5 ans	Mb. 2j.	15/11/12	-7,8	NEGATIF		13/11/12	36,67	3,34E+01	POSITIF	
	20/09/12	A9-9	Cp.	2 ans	Av. 0j.	15/11/12	16,4	NEGATIF		13/11/12	37,63	1,77E+01	POSITIF	
<b>Code</b> : A10 <b>Wil</b> : MEDEA <b>Aa</b> : non <b>Pc</b> : non <b>Te</b> : transhumant <b>E</b> : ≤100	20/09/12	A10-1	Ov.	3 ans	Mb. 3j.	15/11/12	19,5	NEGATIF		13/11/12	34,57	1,33E+02	POSITIF	
	20/09/12	A10-2	Ov.	3 ans	Mb. 1j.	15/11/12	17,6	NEGATIF	m : 23	13/11/12	33,57	2,56E+02	POSITIF	m : 1,71
	20/09/12	A10-3	Ov.	2 ans	Mb. 4j.	15/11/12	46,2	POSITIF+	σ : 13,4	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	σ : 0,97
	12/03/13	A10-4	Ov.	6 ans	Mb. 7j.	27/03/13	11,7	NEGATIF	IC : ± 16,6	29/03/13	37,89	1,09E+02	POSITIF	IC : ± 1,2
	12/03/13	A10-5	Ov.	5 ans	Av. 7j.	27/03/13	19,9	NEGATIF		29/03/13			POSITIF	
										38,06	9,75E+01			
<b>Code</b> : A11 <b>Wil</b> : MEDEA <b>Aa</b> : non <b>Pc</b> : oui <b>Te</b> : transhumant <b>E</b> : ≤100	10/03/13	A11-1	Ov.	2 ans	Av. 3j.	27/03/13	3,6	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	10/03/13	A11-2	Ov.	2 ans	Mb. 8j.	27/03/13	20,5	NEGATIF	m : 7,2	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	10/03/13	A11-3	Cp.	4 ans	Av. 8j.	27/03/13	8,8	NEGATIF	σ : 8,7	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,66
	10/03/13	A11-4	Cp.	4 ans	Mb. 7j.	27/03/13	-3,2	NEGATIF	IC : ± 6,1	04/04/13	37,89	4,58E+01	POSITIF	σ : 0,84
	10/03/13	A11-5	Ov.	5 ans	Av. 5j.	27/03/13	12,3	NEGATIF		04/04/13	39,53	1,58E+01	POSITIF	IC : ± 0,54
	10/03/13	A11-6	Ov.	6 ans	Mb. 7j.	27/03/13	-3,4	NEGATIF		04/04/13	37,63	5,44E+01	POSITIF	
	10/03/13	A11-7	Ov.	6 ans	Av. 7j.	27/03/13	11,7	NEGATIF		04/04/13			NEGATIF	
										Nd.	Nd.			
<b>Code</b> : A12 <b>Wil</b> : MEDEA <b>Aa</b> : oui <b>Pc</b> : non	11/03/13	A12-1	Ov.	5 ans	Av. 1j.	27/03/13	-1,9	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	11/03/13	A12-2	Ov.	4 ans	Av. 6j.	27/03/13	-2,8	NEGATIF	m : 4,5	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	11/03/13	A12-3	Ov.	6 ans	Mb. 8j.	27/03/13	-2,5	NEGATIF	σ : 10,9	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,3



<b>E : ≤100</b>	10/09/13	A16-5	Ov.	5 ans	Mb. 1j.	25/11/13	20,3	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	10/09/13	A16-6	Ov.	5 ans	Av. 5j.	25/11/13	12,9	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	10/09/13	A16-7	Ov.	5 ans	Mb. 3j.	25/11/13	26,2	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code : A17</b> <b>Wil : MEDEA</b> <b>Aa : non</b> <b>Pc : non</b> <b>Te : transhumant</b> <b>E : ≤100</b>	12/09/13	A17-1	Ov.	4 ans	Av. 4j.	25/11/13	98,1	POSITIF+		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	A17-2	Ov.	4 ans	Av. 8j.	25/11/13	16,6	NEGATIF	m : 20,6	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
	12/09/13	A17-3	Ov.	3 ans	Av. 5j.	25/11/13	22	NEGATIF	σ : 32,5	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	A174	Ov.	3 ans	Av. 5j.	25/11/13	1	NEGATIF	IC : ± 14,1	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	A17-5	Ov.	2 ans	Av. 2j.	25/11/13	-0,7	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	A17-6	Ov.	5 ans	Mb. 1j.	25/11/13	10,1	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	A17-7	Ov.	5 ans	Mb. 2j.	25/11/13	17,2	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	A17-8	Ov.	3 ans	Av. 2j.	25/11/13	0,6	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code : B1</b> <b>Wil : CONSTANTINE</b> <b>Aa : oui</b> <b>Pc : oui</b> <b>Te : sédentaire</b> <b>E : ≤100</b>	24/01/13	B1-1	Ov.	2 ans	Av. 3j.					29/03/13	36,00	3,55E+02	POSITIF	
	24/01/13	B1-2	Ov.	2 ans	Mb. 3j.			Non testés		29/03/13	35,54	4,77E+02	POSITIF	m : 1,02
	24/01/13	B1-3	Ov.	3 ans	Av. 3j.					29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	σ : 1,41
	24/01/13	B1-4	Ov.	2 ans	Mb. 4j.					29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	IC : ± 0,86
	24/01/13	B1-5	Ov.	4 ans	Av. 4j.					29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	03/02/13	B1-7	Cp.	4 ans	Av. 4j.					29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	03/02/13	B1-8	Cp.	4 ans	Av. 5j.					29/03/13	34,70	8,08E+02	POSITIF	
	<b>Code : B2</b> <b>Wil : CONSTANTINE</b> <b>Aa : oui</b> <b>Pc : oui</b> <b>Te : sédentaire</b> <b>E : ≤100</b>	05/04/12	B2-1	Cp.	5 ans	Av. 1j.	15/11/12	18,1	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF
05/04/12		B2-2	Cp.	4 ans	Av. 1j.	15/11/12	3,2	NEGATIF	m : 37,2	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
12/04/12		B2-3	Ov.	4 ans	Av. 1j.	15/11/12	13,5	NEGATIF	σ : 68,7	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
12/04/12		B2-4	Ov.	3 ans	Av. 1j.	15/11/12	3,6	NEGATIF	IC : ± 11,2	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
12/04/12		B2-5	Ov.	3 ans	Av. 2j.	15/11/12	25	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
12/04/12		B2-7	Ov.	2 ans	Av. 4j.	15/11/12	192	POSITIF++		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	



<b>Code : B3</b>	04/04/12	B3-1	Ov.	2 ans	Av. 2j.	15/11/12	3,7	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil : CONSTANTINE</b>	04/04/12	B3-2	Ov.	2 ans	Av. 2j.	15/11/12	24,4	NEGATIF	m : 16,4	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 1,33
<b>Aa : oui</b>	04/04/12	B3-3	Ov.	2 ans	Av. 2j.	15/11/12	53,8	POSITIF+	$\sigma : 20,6$	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	$\sigma : 1,47$
<b>Pc : oui</b>	25/02/13	B3-4	Ov.	2 ans	Av. 7j.	27/03/13	13,2	NEGATIF	IC : $\pm 11,1$	29/03/13	35,82	3,98E+02	POSITIF	IC : $\pm 1,12$
<b>Te : sédentaire</b>	25/02/13	B3-5	Cp.	2 ans	Av. 4j.	27/03/13	6,2	NEGATIF		29/03/13	34,61	8,57E+02	POSITIF	
<b>E : <math>\leq 100</math></b>	25/02/13	B3-6	Cp.	3 ans	Av. 4j.	27/03/13	-3,2	NEGATIF		29/03/13	36,31	2,93E+02	POSITIF	
<b>Code : B4</b>	05/09/12	B4-1	Ov.	5 ans	Av. 13j.	15/11/12	7,4	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Wil : CONSTANTINE</b>	05/09/12	B4-2	Ov.	4 ans	Av. 14j.	15/11/12	1,8	NEGATIF	m : 4,7	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Aa : non</b>	05/09/12	B4-3	Ov.	4 ans	Av. 15j.	15/11/12	10,4	NEGATIF	$\sigma : 5,2$	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc : non</b>	05/09/12	B4-4	Ov.	4 ans	Av. 15j.	15/11/12	-1	NEGATIF	IC : $\pm 1,1$	13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te : sédentaire</b>														
<b>E : <math>\leq 100</math></b>														
<b>Code : C1</b>	24/12/12	C1-1	Ov.	2 ans	Av. 0j.	27/03/13	17,7	NEGATIF		29/03/13	38,43	7,69E+01	POSITIF	
<b>Wil : AIN DEFLA</b>	24/12/12	C1-2	Ov.	3 ans	Av. 1j.	27/03/13	-0,8	NEGATIF	m : 13,9	29/03/13	36,87	2,06E+02	POSITIF	m : 2,15
<b>Aa : oui</b>	24/12/12	C1-3	Ov.	2 ans	Mb. 2j.	27/03/13	1,5	NEGATIF	$\sigma : 20$	29/03/13	39,76	3,33E+01	POSITIF	$\sigma : 0,46$
<b>Pc : oui</b>	30/12/12	C1-4	Cp.	3 ans	Av. 1j.	27/03/13	52,7	POSITIF +	IC : $\pm 9,3$	29/03/13	37,79	1,15E+02	POSITIF	IC : $\pm 0,43$
<b>Te : sédentaire</b>	30/12/12	C1-5	Cp.	4 ans	Av. 2j.	27/03/13	25,2	NEGATIF		29/03/13	36,48	2,63E+02	POSITIF	
<b>E : <math>\leq 100</math></b>	30/12/12	C1-6	Cp.	5 ans	Mb. 4j.	27/03/13	-2,3	NEGATIF		29/03/13	34,55	8,90E+02	POSITIF	
	30/12/12	C1-7	Ov.	5 ans	Mb. 4j.	27/03/13	3,3	NEGATIF		29/03/13	38,57	7,07E+01	POSITIF	
<b>Code : C2</b>	26/12/12	C2-1	Ov.	5 ans	Av. 2j.	27/03/13	-0,8	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil : AIN DEFLA</b>	26/12/12	C2-2	Ov.	6 ans	Av. 2j.	27/03/13	1,5	NEGATIF	m : 24,6	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,58
<b>Aa : oui</b>	26/12/12	C2-3	Ov.	4 ans	Av. 5j.	27/03/13	25,3	NEGATIF	$\sigma : 21,1$	04/04/13	35,99	1,58E+02	POSITIF	$\sigma : 0,85$
<b>Pc : oui</b>	26/12/12	C2-4	Cp.	4 ans	Av. 4j.	27/03/13	52,9	POSITIF +	IC : $\pm 17,6$	04/04/13	39,87	1,26E+01	POSITIF	IC : $\pm 0,44$
<b>Te : sédentaire</b>	26/12/12	C2-5	Cp.	4 ans	Mb. 5j.	27/03/13	30,8	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>E : <math>\leq 100</math></b>	05/01/13	C2-6	Cp.	3 ans	Av. 3j.	27/03/13	3,3	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	05/01/13	C2-7	Cp.	3 ans	Av. 3j.	27/03/13	46,8	POSITIF +		04/04/13	39,37	1,75E+01	POSITIF	
	05/01/13	C2-8	Ov.	3 ans	Mb. 2j.	27/03/13	37	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code : C3</b>	05/01/13	C3-1	Ov.	2 ans	Av. 4j.	27/03/13	-0,1	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	

<b>Wil</b> : AIN DEFLA	05/01/13	C3-2	Ov.	2 ans	Av. 4j.	27/03/13	-0,7	NEGATIF	m :-0,3	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : non	05/01/13	C3-3	Cp.	2 ans	Mb. 5j.	27/03/13	-2,3	NEGATIF	$\sigma$ : 3,4	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc</b> : oui	05/01/13	C3-4	Cp.	2 ans	Av. 5j.	27/03/13	6,3	NEGATIF	IC : $\pm$ 4,2	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te</b> : sédentaire	10/01/13	C3-5	Cp.	3 ans	Av. 4j.	27/03/13	-2,4	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>E</b> : $\leq 100$	10/01/13	C3-6	Cp.	3 ans	Mb. 4j.	27/03/13	-2,8	NEGATIF		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : D1	06/03/12	D1-1	Ov.	2 ans	Av. 1j.					13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : DJELFA	06/03/12	D1-2	Ov.	6 ans	Av. 1j.	Non testés				13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : non	06/03/12	D1-3	Ov.	5 ans	Av. 1j.					13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc</b> : non	03/03/12	D1-4	Ov.	5 ans	Av. 3j.					13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te</b> : transhumant	03/03/12	D1-5	Ov.	2 ans	Av. 3j.					13/11/12			NEGATIF	
<b>E</b> : $\leq 100$											Nd.	Nd.		
<b>Code</b> : D2	06/09/13	D2-1	Ov.	2 ans	Av. 8j.	25/11/13	24,4	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : DJELFA	06/09/13	D2-2	Ov.	3 ans	Av. 7j.	25/11/13	1,9	NEGATIF	m : 20,5	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : non	06/09/13	D2-3	Ov.	3 ans	Av. 5j.	25/11/13	31,1	NEGATIF	$\sigma$ : 19,5	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc</b> : non	06/09/13	D2-5	Ov.	2 ans	Mb. 7j.	25/11/13	15,1	NEGATIF	IC : $\pm$ 16,3	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te</b> : transhumant	06/09/13	D2-6	Ov.	5 ans	Mb. 4j.	25/11/13	61,6	POSITIF+		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>E</b> : $\leq 100$	06/09/13	D2-7	Ov.	4 ans	Mb. 4j.	25/11/13	19,4	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	06/09/13	D2-8	Ov.	2 ans	Mb. 4j.	25/11/13	8,2	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : D3	12/09/13	D3-1	Ov.	5 ans	Mb. 4j.	25/11/13	11,9	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : DJELFA	12/09/13	D3-2	Ov.	5 ans	Av. 5j.	25/11/13	5	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Aa</b> : non	12/09/13	D3-3	Ov.	5 ans	Av. 5j.	25/11/13	1,2	NEGATIF	m : 13,6	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,44
<b>Pc</b> : non	12/09/13	D3-4	Ov.	5 ans	Av. 4j.	25/11/13	48,6	POSITIF+	$\sigma$ : 17,1	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	$\sigma$ : 1,33
<b>Te</b> : sédentaire	12/09/13	D3-5	Ov.	5 ans	Av. 7j.	25/11/13	-3,4	NEGATIF	IC : $\pm$ 13,1	18/11/13	35,54	9,80E+03	POSITIF	IC : $\pm$ 1,03
<b>E</b> : $> 100$	12/09/13	D3-6	Ov.	5 ans	Av. 5j.	25/11/13	1,1	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	D3-7	Ov.	5 ans	Av. 5j.	25/11/13	9,5	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	

	12/09/13	D3-8	Ov.	4 ans	Av. 8j.	25/11/13	33,8	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	12/09/13	D3-9	Ov.	4 ans	Av. 8j.	25/11/13	14,4	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code : E1</b> <b>Wil : BISKRA</b> <b>Aa : oui</b> <b>Pc : non</b> <b>Te : transhumant</b> <b>E : &gt; 100</b>	27/08/12	E1-1	Ov.	2 ans	Av. 7j.	15/11/12	397,2	POSITIF+++	m : 34,7 σ : 92,4 IC : ± 26,2	13/11/12	37,11	2,49E+01	POSITIF	m : 0,07 σ : 0,32 IC : ± 0,15
	27/08/12	E1-2	Ov.	2 ans	Av. 20j.	15/11/12	34,6	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-3	Ov.	2 ans	Av. 20j.	15/11/12	72,2	POSITIF+		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-4	Ov.	2 ans	Av. 22j.	15/11/12	118,6	POSITIF++		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-5	Ov.	2 ans	Av. 4j.	15/11/12	42,8	POSITIF+		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-6	Ov.	2 ans	Av. 14j.	15/11/12	-10,4	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-7	Ov.	2 ans	Av. 10j.	15/11/12	-11	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-8	Ov.	2 ans	Av. 15j.	15/11/12	-10,9	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-9	Ov.	2 ans	Av. 14j.	15/11/12	-10,7	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-10	Ov.	2 ans	Av. 7j.	15/11/12	-10,1	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-11	Ov.	2 ans	Av. 5j.	15/11/12	-10,8	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-12	Ov.	2 ans	Av. 14j.	15/11/12	-11,2	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-13	Ov.	2 ans	Av. 4j.	15/11/12	-10,9	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-14	Ov.	2 ans	Av. 12j.	15/11/12	3,5	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-15	Ov.	2 ans	Av. 6j.	15/11/12	35,5	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-16	Ov.	2 ans	Av. 3j.	15/11/12	18,4	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-17	Ov.	2 ans	Av. 8j.	15/11/12	61,6	POSITIF +		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-18	Ov.	2 ans	Av. 1j.	15/11/12	1,9	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	27/08/12	E1-19	Ov.	2 ans	Av. 0j.	15/11/12	-0,7	NEGATIF		13/11/12	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code : E2</b>	25/10/13	E2-1	Ov.	2 ans	Av. 2j.	25/11/13	18,1	NEGATIF	m : 12,1 σ : 7,1 IC : ± 7,5	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,54 σ : 1,32 IC : ± 1,38
<b>Wil : BISKRA</b>	25/10/13	E2-2	Ov.	2 ans	Av. 4j.	25/11/13	19,2	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Aa : non</b>	25/10/13	E2-3	Ov.	3 ans	Av. 4j.	25/11/13	7,7	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc : non</b>	25/10/13	E2-4	Ov.	3 ans	Mb. 5j.	25/11/13	3,6	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	

<b>Te</b> : sédentaire	25/10/13	E2-5	Cp.	3 ans	Av. 5j.	25/11/13	5,9	NEGATIF		18/11/13	39,7	1,70E+03	POSITIF	
<b>E</b> : ≤100	25/10/13	E2-6	Cp.	5 ans	Av. 5j.	25/11/13	18,3	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : F1 <b>Wil</b> : BBA <b>Aa</b> : non <b>Pc</b> : non <b>Te</b> : sédentaire <b>E</b> : ≤100	1/11/13	F1-1	Ov.	2 ans	Av. 5j.	25/11/13	15,9	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	1/11/13	F1-2	Ov.	2 ans	Av. 5j.	25/11/13	123,9	POSITIF++	m : 38	18/11/13	21,44	1,31E+08	POSITIF	m : 4,78
	1/11/13	F1-3	Ov.	3 ans	Av. 5j.	25/11/13	53,9	POSITIF+	σ : 41,3	18/11/13	23,41	3,48E+07	POSITIF	σ : 2,83
	1/11/13	F1-4	Ov.	3 ans	Av. 8j.	25/11/13	28,6	NEGATIF	IC : ± 37,8	18/11/13	35,51	9,99E+03	POSITIF	IC : ± 2,59
	1/11/13	F1-5	Ov.	3 ans	Av. 8j.	25/11/13	5,8	NEGATIF		18/11/13	39,93	5,12E+02	POSITIF	
	1/11/13	F1-6	Ov.	5 ans	Mb. 2j.	25/11/13	30,7	NEGATIF		18/11/13	31,31	1,69E+05	POSITIF	
	1/11/13	F1-7	Ov.	5 ans	Mb. 2j.	25/11/13	7,2	NEGATIF		18/11/13	29,04	7,86E+05	POSITIF	
<b>Code</b> : F2 <b>Wil</b> : BBA <b>Aa</b> : non <b>Pc</b> : non <b>Te</b> : sédentaire <b>E</b> : ≤100	1/11/13	F2-1	Ov.	4 ans	Av. 0j.	25/11/13	13,9	NEGATIF		18/11/13	27,95	5,62E+06	POSITIF	
1/11/13	F2-2	Ov.	5 ans	Av. 1j.	25/11/13	25,8	NEGATIF	m : 20,5	18/11/13	34,54	1,93E+04	POSITIF	m : 3,36	
1/11/13	F2-3	Ov.	3 ans	Av. 2j.	25/11/13	7,3	NEGATIF	σ : 14,4	18/11/13	32,28	8,84E+04	POSITIF	σ : 2,68	
1/11/13	F2-4	Ov.	3 ans	Mb. 3j.	25/11/13	32	NEGATIF	IC : ± 14,9	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	IC : ± 2,81	
1/11/13	F2-5	Ov.	4 ans	Av. 7j.	25/11/13	40	NEGATIF		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF		
1/11/13	F2-6	Ov.	4 ans	Av. 7j.	25/11/13	4	NEGATIF		18/11/13	Nd.	1,50E+03	POSITIF		
<b>Code</b> : G1 <b>Wil</b> : SKIKDA <b>Aa</b> : oui <b>Pc</b> : non <b>Te</b> : sédentaire <b>E</b> : ≤100	12/11/12	G1-1	Ov.	3 ans	Mb. 4j.	Non testés				29/03/13	37,65	1,26E+02	POSITIF	
	12/11/12	G1-2	Ov.	3 ans	Av. 1j.	Non testés				29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 1,33
	12/11/12	G1-3	Ov.	2 ans	Av. 2j.	Non testés				29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	σ : 1,13
	19/11/12	G1-4	Ov.	2 ans	Av. 4j.	Non testés				29/03/13	33,29	1,97E+03	POSITIF	IC : ± 0,95
	19/11/12	G1-5	Ov.	2 ans	Av. 8j.	Non testés				29/03/13	18,19	2,65E+07	POSITIF	
	19/11/12	G1-6	Ov.	3 ans	Mb. 8j.	Non testés				29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : G2 <b>Wil</b> : SKIKDA	04/10/13	G2-1	Ov.	2 ans	Mb. 4j.	Non testés				29/03/13	36,44	2,70E+02	POSITIF	
	04/10/13	G2-2	Ov.	2 ans	Mb. 5j.	Non testés				29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	04/10/13	G2-3	Ov.	4 ans	Mb. 4j.	Non testés				29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	

<b>Aa</b> : non	04/10/13	G2-4	Ov.	3 ans	Av. 1j.		29/03/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 2,14
<b>Pc</b> : non	10/10/13	G2-5	Ov.	3 ans	Av. 2j.		29/03/13	36,83	2,12E+02	POSITIF	$\sigma$ : 2,93
<b>Te</b> : sédentaire	10/10/13	G2-6	Ov.	3 ans	Av. 5j.		29/03/13	36,46	2,66E+02	POSITIF	IC : $\pm$ 1,2
<b>E</b> : $\leq 100$	10/10/13	G2-7	Ov.	4 ans	Av. 4j.		29/03/13	38,93	5,62E+01	POSITIF	
	10/10/13	G2-8	Ov.	2 ans	Av. 2j.		29/03/13	39,28	4,50E+01	POSITIF	
<b>Code</b> : H1	26/01/13	H1-1	Ov.	2 ans	Av. 2j.	Non testés	04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : EL BAYADH	26/01/13	H1-2	Ov.	3 ans	Mb. 2j.		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	Nd.
<b>Aa</b> : non	26/01/13	H1-3	Ov.	4 ans	Mb. 3j.		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Pc</b> : non	26/01/13	H1-4	Ov.	2 ans	Av. 3j.		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Te</b> : transhumant	26/01/13	H1-5	Ov.	3 ans	Av. 2j.		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>E</b> : $\leq 100$	28/01/13	H1-6	Ov.	3 ans	Av. 1j.		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
	28/01/13	H1-7	Ov.	2 ans	Av. 1j.		04/04/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Code</b> : H2	06/05/13	H2-1	Ov.	5 ans	Av. 3j.	Non testés	18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	
<b>Wil</b> : EL BAYADH	06/05/13	H2-2	Ov.	5 ans	Mb. 3j.		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	m : 0,73
<b>Aa</b> : oui	06/05/13	H2-3	Ov.	4 ans	Av. 4j.		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	$\sigma$ : 1,8
<b>Pc</b> : non	08/05/13	H2-4	Ov.	3 ans	Av. 1j.		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	IC : $\pm$ 0,42
<b>Te</b> : transhumant	08/05/13	H2-5	Ov.	2 ans	Av. 2j.		18/11/13	34,14	2,53E+04	POSITIF	
<b>E</b> : $\leq 100$	08/05/13	H2-6	Ov.	3 ans	Av. 3j.		18/11/13	Nd.	Nd.	NEGATIF	

## APPENDICE I

### Proportion d'animaux atteints selon le nombre de troupeaux

Nombre d'animaux du troupeau	Proportion d'animaux atteints au dessus duquel on souhaie repérer l'infection du troupeau (en %)								
	10	15	20	25	30	35	40	45	50
10	10		7		6		4		4
20	15	12	10	8	7	6	5	5	4
30	18	14	11	9	7	6	5	5	4
40	20	15	11	9	8	6	6	5	4
50	22	15	12	9	8	7	6	5	4
60	23	16	12	10	8	7	6	5	4
70	23	16	12	10	8	7	6	5	4
80	24	16	12	10	8	7	6	5	4
90	24	17	13	10	8	7	6	5	4
100	25	17	13	10	8	7	6	5	4
150	26	17	13	10	8	7	6	5	4
200	27	18	13	10	8	7	6	5	4
250	27	18	13	10	8	7	6	5	4
300	27	18	13	10	8	7	6	5	4
350	27	18	13	10	8	7	6	5	4
400	27	18	13	10	8	7	6	5	4
450	28	18	13	10	8	7	6	5	4
500	28	18	13	10	8	7	6	5	4

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Chabane, M., "L'Algérie otage de ses hydrocarbures : obligation de réformes, urgence d'une reconversion", Cahiers de la Méditerranée, V. 81, (2010), 319-330.
2. Scott, P.R., Sargison, N.D. and Wilson, D.J., "The potential for improving welfare standards and productivity in United Kingdom sheep flocks using veterinary flock health plans", Veterinary Journal, V. 173, (2007), 522-531.
3. Angelakis, E., et Raoult, D., "Emergence of Q fever", Iranian Journal of Public Health, V. 40, n°3, (2011), 1-18.
4. Rodolakis, A., "Chlamydie et Fièvre Q, similitudes et différences entre ces deux zoonoses", Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants, V. 13, (2006), 395-402.
5. Rousset, E., "Epidémiologie de la fièvre Q animale. Situation en France", Médecine et Maladies Infectieuses, V. 31, n°2, (2001), 233-246.
6. Thomas, D.R., Salmon, R.L., Kench, S.M., Meadows, D., Coleman, T.J., Morgan-Capner, P. and Morgan, K.L., "Zoonotic illness : determining risks and measuring effects of the association between current animal exposure and a history of illness in a well characterized rural population", Journal of Epidemiology and Community Health, V. 48, (1994), 151-155.
7. Office International des Epizooties (OIE), "Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2009. Chapter 2.1.12", Edition de l'OIE, Paris, (2010), 13 p.
8. Derrick, E.H., "Q fever, new fever entity : clinical features, diagnosis and laboratory investigation", Medical Journal of Australia, V. 2, (1937), 281-293.
9. Burnet, F.M. et Freeman, M., "Experimental studies on the virus of "Q" fever", Medical Journal of Australia, V. 2, (1937), 299-305.
10. Noguchi, H., "A filter-passing infectious agent obtained from *Dermacentor andersoni*", Journal of Experimental Medicine, V. 44, (1926), 1-10.

11. Davis, G.E. et Cox, H.R., "A filter-passing infectious agent isolated from ticks, I: Isolation from *Dermacentor andersoni*, reactions in animals, and filtration experiments", Public Health Reports, V. 53, (1938), 2259-2267.
12. Cox, H.R., "Studies of a filter-passing infectious agent isolated from ticks, V: Further attempts to cultivate in cellfree media. Suggested classification", Public Health Reports, V. 54, (1939), 2171-2178.
13. Dyer, R.E., "A filter-passing infectious agent isolated from ticks, IV: Human infection", Public Health Reports, V. 53, (1939), 2277-2283.
14. Philip, C.B., "Comments on the name of the Q fever organism", Public Health Reports, V. 63, (1948), 58.
15. Kaplan, M.M. et Bertagna, P., "The geographical distribution of Q fever", Bulletin of the World Health Organisation, V. 13, (1955), 829-860.
16. Babudieri, B., "Q fever : a zoonosis", Advanced Veterinary Sciences, V. 5, (1959), 82-154.
17. Spicer, A.J., "Military significance of Q fever : A review", Journal of Royal Society of Medicine, V. 71, (1978), 762-767.
18. Guatteo, G., Seegers, H., Taurel, A.F., Joly, A. and Beaudeau, F., "Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants : A critical review", Veterinary Microbiology, V. 149, (2011), 1-16.
19. Cabassi, C.S., Taddei, S., Donofrio, G., Ghidini, F., Piancastelli, C., Flammini, C.F. and Cavarani, S., "Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northern Italy", New Microbiologica, V. 29, (2006), 211-214.
20. Berri, M., Laroucau, K. and Rodolakis, A., "The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction", Veterinary Microbiology, V. 72, (2000), 285-293.
21. Rousset, E., Berri, M., Durand, B., Dufour, P., Prigent, M., Delcroix, T., Touratier, A. and Rodolakis, A., "*Coxiella burnetii* shedding routes and antibody response after outbreaks of Q fever-induced abortion in dairy goat herds", Applied Environmental Microbiology, V. 75, n°2, (2009), 428-433.



22. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC), "Panel with Representatives from the Netherlands, France, Germany, United Kingdom, United States of America. Risk assessment on Q fever", ECDC Technical Report, 40 p.
23. Khaled, H., Dahmani, A., Bennadji, A., Bouyoucef, A. and Rahal, K., "Séroprévalence apparente de la fièvre Q chez les ovins de la région de Ksar El Boukhari", *Pratique vétérinaire*, V. 13, (2012), 12-16.
24. Duma, N., "Rickettsioses et chlamydioses au Hoggar (République Algérienne): Sondage épidémiologique", *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, V. 77, (1984), 278-283.
25. Rekiki A., Thabti F., Dlissi I., Russo P., Sanchis R., Pepin M. and Hammami A., "Enquête sérologique sur les principales causes d'avortements infectieux chez les petits ruminants en Tunisie", *Revue de Médecine Vétérinaire*, V. 156, n°7, (2005), 395-401.
26. Hamzy El Idrissi A., Manyari A. and Benkirane A. "Fréquence des avortements infectieux des ovins au Maroc (régions des Zaer et du Moyen Atlas", *Actes de l'Institut Agronomique et Vétérinaire*, V. 15, n°4, (1995), 11-14.
27. Mazyad, S.A. et Hafez, A.O., "Q Fever (*Coxiella burnetii*) among man and farm animals in North Sinai. Egypt", *Journal of Egyptian Society of Parasitology*, V. 37, (2007), 135-142.
28. Garcia-Pérez, A.L., Astobiza, I., Barandika, J.F., Atxaerandio, R., Hurtado, A. and Juste, R.A., "Investigation of *Coxiella burnetii* occurrence in dairy sheep flocks by bulk-tank milk analysis and antibody level determination", *Journal of Dairy Science*, V. 92, n°4, (2009), 1581-1584.
29. Ruiz-Fons, F., Astobiza, I., Barandika, J.F., Hurtado, A., Atxaerandio, R., Juste, R.A., and García-Pérez, A.L., "Seroepidemiological study of Q fever in domestic ruminants in semi-extensive grazing systems". *BMC Veterinary Research*, V. 20, n°6, (2010), 1.

30. Masala, G., Porcu, R., Sanna, G., Chessa, G., Cillara, G., Chisu, V. and Tola, S., "Occurrence, distribution, and role in abortion of *Coxiella burnetii* in sheep and goats in Sardinia, Italy", *Veterinary Microbiology*, V. 99, (2004), 301-305.
31. Cetinkaya, B., Kalender, H., Ertas, H.B., Muz, A., Arslan, N., Ongör, H. and Gurçay, M., "Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey", *Veterinary Record*, V. 146, (2000), 131-136.
32. Ongör, H., Cetinkaya, B., Karahan, M., Açık, M.N., Bulut, H. and Muz, A., "Detection of *Coxiella burnetii* by immunomagnetic separation-PCR in the milk of sheep in Turkey", *Veterinary Record*, V. 154, (2004), 570-572.
33. Kennerman, E., Rousset, E., Gölcü, E. and Dufour, P., "Seroprevalence of Q fever (coxiellosis) in sheep from the Southern Marmara Region, Turkey", *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, V. 33, n°1, (2010), 37-45.
34. Cekani, M., Papa, A., Kota, M., Velo, E. and Berxholi, K., "Report of a serological study of *Coxiella burnetii* in domestic animals in Albania", *Veterinary Journal*, V. 175, (2008), 276-278.
35. Psaroulaki, A., Hadjichristodoulou, C., Loukaides, F., Soteriades, E., Konstantinidis, A., Papastergiou, P., Ioannidou, M.C. and Tselentis, Y., "Epidemiological study of Q fever in humans, ruminant animals, and ticks in Cyprus using a geographical information system", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, V. 25, (2006), 576-586.
36. Pape, M., Bouzalas, E.G., Koptopoulos, G.S., Mandraveli, K., Arvanitidou-Vagiona, M., Nikolaidis, P. and Alexiou-Daniel, S., "The serological prevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in sheep and goats in northern Greece", *Clinical Microbiology and Infection*, V. 15, n°2, (2009), 146-147.
37. Maltezou H.C. et Raoult D., "Q fever in children", *Lancet Infectious Diseases*, V. 2, (2002), 686-691.
38. Lacheheb, A. et Raoult, D., "Seroprevalence of Q-fever in Algeria", *Clinical Microbiology and Infection*, V. 15, n°2, (2009), 167-168.
39. Letaief, A.O., Yacoub, S., Dupont, H.T., Le Cam, C., Ghachem, L., Jemni, L. and Raoult, D., "Seroepidemiological survey of rickettsial infections among

blood donors in central Tunisia”, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, V. 89, n°3, (1995), 266-268.

40. Ben Arab, N., Znazen, A., Lahiani, N., Maaloul, I., Hammami, A. and Ben Jemaa, M., “Particularités épidémiocliniques de la fièvre Q à Sfax (Tunisie) : étude de 55 cas”, Médecine et Maladies Infectieuses, V. 38, (2008), 179-181.
41. Meskini, M., Beati, L., Benslimane A. and Raoult, D., “Seroepidemiology of rickettsial infections in Morocco”, European Journal of Epidemiology, V. 11, (1995), 655-660.
42. Niang, M., Parola, P., Tissot-Dupont, H., Baidi, L., Brouqui, P. and Raoult, D., “Prevalence of antibodies to *Rickettsia conorii*, *Rickettsia africae*, *Rickettsia typhi* and *Coxiella burnetii* in Mauritania”, European Journal of Epidemiology, V. 14, (1998), 816-817.
43. European Food Safety Authority (EFSA), “Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). Scientific opinion on Q Fever”, EFSA Journal, V. 8, n°5, (2010), 114 p.
44. Tissot-Dupont, H., Raoult, D., Brouqui, P., Janbon, F., Peyramond, D., Weiller, P.J., Chicheportiche, C., Nezri, M. and Poirier, R., “Epidemiologic features and clinical presentation of acute Q fever in hospitalized patients : 323 French cases”, American Journal of Medicine, V. 93, n°4, (1992), 427-434.
45. Hellenbrand, W., Breuer, T. and Petersen, L., “Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999”, Emerging Infectious Diseases, V. 7, n°5, (2001), 789-796.
46. Aitken, I.D., “Clinical aspects and prevention of Q fever in animals”, European Journal of Epidemiology, V. 5, n°4, (1989), 420-424.
47. Lang, G.H., “Coxiellosis (Q fever in animals)”, In: Marie TJ (ed) Q fever- the disease”, V. 1, CRC Press, Boca Raton. Florida, (1990), 24-48.
48. Woldehiwet, Z., “Q fever (coxiellosis) : epidemiology and pathogenesis”, Research in Veterinary Science, V. 77, (2004), 93-100.
49. Buhariwalla, F., Cann, B. and Marrie, T.J., “A dog-related outbreak of Q fever”, Clinical Infectious Diseases, V. 23, (1996), 753-755.

50. Marrie, T.J., Durant, H., Williams, J.C., Mintz, E. and Waag, D.M., "Exposure to parturient cats : a risk factor for acquisition of Q fever in Maritime Canada", *Journal of Infectious Diseases*, V. 158, (1988), 101-108.
51. Lapointe, J.M., Gulland, F.M., Haines, D.M., Barr, B.C. and Duigan, P.J., "Placentitis due to *Coxiella burnetii* in a Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*)", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, V. 11, (1999), 541-543.
52. Hirai, K. et To, H., "Advances in the understanding of *Coxiella burnetii* infection in Japan", *Journal of Veterinary Medicine Science*, V. 60, (1998), 781-790.
53. Rodolakis, A., "Q fever, state of art : Epidemiology, diagnosis and prophylaxis", *Small Ruminant Research*, V. 62, (2006), 121-124.
54. Durand, M.P., "L'excrétion lactée et placentaire de *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, chez la vache. Importance et prévention", *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*", V. 177, (1993), 935-945.
55. Berri, M., Crochet, D., Santiago, S. and Rodolakis, A., "Spread of *Coxiella burnetii* infection in a flock of sheep after an episode of Q fever", *Veterinary Record*, V. 157, n°23, (2005), 737-740.
56. Ho, T., Htwe, K.K., Yamasaki, N., Zhang, G.Q., Ogawa, M., Yamaguchi, T., Fukushi, H. and Hirai, K., "Isolation of *Coxiella burnetii* from dairy cattle and ticks, and some characteristics of the isolates in Japan", *Microbiology and Immunology*, V. 39, (1995), 663-671.
57. Nelder, M.P., Lloyd, J.E., Loftis, A.D. and Revees, W.K., "*Coxiella burnetii* in Wild-caught Filth Flies", *Emerging Infectious Diseases*, V. 14, n°8, (2008), 1002-1004.
58. Kruszewska, D. et Tylewska-Wierzbanowska, S., "Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen", *Research in Veterinary Science*, V. 62, (1997), 299-300.
59. Alsaleh, A., Fieni, F., Rodolakis, A., Bruyas, J.F., Roux, C., Larrat, M., Chatagnon, G. and Pellerin, J.L., "Can *Coxiella burnetii* be transmitted by embryo transfer in goats?", *Theriogenology*, V. 80, n°6, (2013), 571-575.

60. Alsaleh, A., Fieni, F., Moreno, D., Rousset, E., Tainturier, D., Bruyas, J.F. and Pellerin, J.L., "Risk of *Coxiella burnetii* transmission via embryo transfer using in vitro early bovine embryos", *Theriogenology*, V. 81, n°6, (2014), 849-853.
61. Maurin, M. et Raoult, D., "Q fever", *Clinical Microbiology and Infection Revue*, V. 12, (1999), 518-553.
62. Marrie, T.J., "Q fever. Bacterial Infections of Humans : Epidemiology and Control", Abrutyn E, Brachman PS Edition, Springer, Philadelphia, (2009), 643-660.
63. Raoult, D., Fenollar, F. and Stein, A., "Q fever during pregnancy : Diagnosis, treatment, and follow-up", *Archives of Internal Medicine*, V. 162, (2002), 701-704.
64. Eklund C.M., Parker R.R. and Lackman D.B., "Case of Q fever probably contracted by exposure to ticks in nature", *Public Health Reports*, V. 62, n°39, (1947), 1413-1416.
65. Anonyme, "Editorial Comment on Q fever transmitted by blood transfusion – United States", *Canadian Diseases Weekly Report*, V. 3, (1977), 210.
66. Gerth, H.J., Leidig, U. and Reimenschneider T., "Q fever epidemic in an institute of human pathology", *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, V. 107, n°37, (1982), 1391-1395.
67. Raoult, D. et Stein, A., "Q fever during pregnancy, a risk for the mother, for the fetus and for the obstetrician", *New England Journal of Medicine*, V. 330, (1994), 371.
68. Milazzo, A., Hall, R., Storm, P.A., Harris, R.J., Winslow, W. and Marmion, B.P., "Sexually transmitted Q fever", *Clinical Infectious Diseases*, V. 33, (2001), 399-402.
69. Dupuis, G., Peter, O., Pedroni, D. and Petite, J., "Aspects cliniques observés lors d'une épidémie de 415 cas de fièvre Q", *Schweiz Medecine Wochenschr*, V. 115, n°24, (1985), 814-818.
70. Manfredi, S.T., Rezza, G., Scagnelli, M., Rigoli, R., Rassu, M., De Lalla, F., Pellizzer, G.P., Tramarin, A., Bettini, C., Zampieri, L., Belloni, M., Pozza, E.D., Marangon, S., Marchioretto, N., Togni, G., Giacobbo, M., Todescato, A. and

Binkin, N., "Investigation of a Q-fever outbreak in northern Italy", *European Journal of Epidemiology*, V. 12, n°4, (1996), 403-408.

71. Rey, S., Denetiere, G. and Rousset, E., "Epidémie de fièvre Q dans la vallée de Chamonix (Haute-Savoie) Juin-septembre 2002", *Portail d'Information sur les Etudes Régionales en Observation de la Santé, ARS Rhône-Alpes*, (2005), 64p.
72. Tissot-Dupont, H., Amadei, M.A., Nezri, M. and Raoult D. "Wind in November, Q fever in December", *Emerging Infectious Diseases*, V. 10, (2004), 1264-1269.
73. Smith, D.L., Ayres, J.G., Blair, I., Burge, P.S., Carpenter, M.J., Caul, E.O., Couplands, B., Desselberger, U., Evans, M., Farrell, I.D., Hawker, J.I., Smith, E.G. and Wood, M.J., "A large Q fever outbreak in the West Midlands : clinical aspects", *Respiratory Medicine*, V. 87, (1993), 509-516.
74. Crowther, R.W. et Spicer, A.J., "Abortion in sheep and goats in Cyprus caused by *Coxiella burnetii*", *Veterinary Record*, V. 99, (1976), 29-30.
75. Palmer, N.C., Kierstead, M., Key, D.W., Williams, J.C., Peacock, M.G. and Vellend, H., "Placentitis and Abortion in Goats and Sheep in Ontario Caused by *Coxiella burnetii*", *Canadian Veterinary Journal*, V. 24, n°2, (1983), 60-61.
76. Rousset E., Eon L., Russo P., Pepin M. and Aubert M., "La fièvre Q : épidémiologie d'une zoonose", *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires*, V. 17, (2002), 81-87.
77. Schmeer, N., Wieda, J., Frost, J.W., Herbst, W., Wess, R. and Krauss, H., "Diagnosis, differential diagnosis and control of bovine Q fever in a dairy herd with infertility", *Tierärztliche Umschau*, V. 4, 1987, 287-296.
78. Muskens, J., van Maanen, C. and Mars, M.H., "Dairy cows with metritis : *Coxiella burnetii* test results in uterine, blood and bulk milk samples", *Veterinary Microbiology*, V. 147, (2011), 186-191.
79. Sanford, S.E., Josephson, G.K. and MacDonald, A., "*Coxiella burnetii* (Q fever) abortion storms in goat herds after attendance at an annual fair", *Canadian Veterinary Journal*, V. 35, (1994), 376-378.

80. Bildfell, R.J., Thomson, G.W., Haines, D.M., Macewen B.J. and Smart, N., "Coxiella burnetii infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, V.12, (2000), 419-425.
81. Raoult, D., Laurent, J.C. and Mutilod, M., "Monoclonal antibodies to *Coxiella burnetii* for antigenic detection in cell cultures and in paraffin-embedded tissues", *American Journal of Clinical Pathology*, V. 101, (1995), 318-320.
82. Raoult, D., "New rickettsial pathogens", *International Journal of Clinical Practice*, V. 115, (2000), 79-87.
83. Raoult, D., Marrie, T.J. and Mege, J.L., "Natural history and pathophysiology of Q fever", *Lancet Infectious Diseases*, V. 5, (2005), 219-226.
84. Levy, P.Y., Carrieri, P. and Raoult, D., "*Coxiella burnetii* pericarditis : Report of 15 cases and review", *Clinical Infectious Diseases*, V. 29, (1999), 393-397.
85. Marmion, B.P., Shannon, M., Maddocks, I., Storm, P. and Penttila, I., "Protracted debility and fatigue after acute Q fever", *The Lancet*, V. 347, (1996), 977.
86. Foucault, C., Lepidi, H., Poujet-Abadie, J.F., Granel, B., Roblot, F., Ariga, T. and Raoult, D. "Q fever and lymphadenopathy : report of four new cases and review", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, V. 23, n°10, (2004), 759-764.
87. Lim, K.C.L. et Kang, J.Y., "Q fever presenting as gastroenteritis", *Medical Journal of Australia*, V. 1, (1980), 327.
88. Cardellach, F., Font, J., Agusti, A.G., Ingelmo, M. and Balcells, A., "Q fever and hemolytic anemia", *Journal of Infectious Diseases*, V. 148, (1983), 769.
89. Sawyer, L.A., Fishbein, D.B. and McDade, J.E., "Q fever : current concepts", *Revue of Infectious Diseases*, V. 9, (1987), 935-946.
90. Fenollar, F., Fournier, P., Carrieri, M.P., Habib, G., Messina, T. and Raoult, D. "Risk factors and prevention of Q fever endocarditis", *Clinical Infectious Diseases*, V. 33, (2001), 312-316.

91. Brouqui, P., Tissot-Dupont, H., Drancourt, M., Berland, Y., Etienne, J., Leport, C., Goldstein, F., Massip, P., Micoud, M., Bertrand, A. and Raoult, D. "Chronic Q Fever. Ninety-two cases from France, including 27 cases without endocarditis", *Archives of Internal Medicine*, V. 153, (1993), 642-648.
92. Ayres, J.G., Smith, E.G. and Flint, N., "Protracted fatigue and debility after acute Q fever", *The Lancet*, V. 347, (1996), 978.
93. Drancourt, M. et Raoult, D., "Sequence-based identification of new bacteria : a proposition for creation of an orphan bacterium repository", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 43, (2005), 4311-4315.
94. Baca O.G. et Paretzky, D., "Q fever and *Coxiella burnetii* : a model for host-parasite interaction", *Microbiology Revue*, V. 47, (1983), 127-149.
95. Zuber, M., Hoover, T.A. and Court, D.L. "Analysis of a *Coxiella burnetii* gene product that activates capsule synthesis in *Escherichia coli* : requirement for the heat shock chaperone DnaK and the two-component regulator, RcsC", *Journal of Bacteriology*, V. 177, (1995), 4238-4244.
96. Willems, H., Jager, C. and Baljer, G., "Physical and genetic map of the obligate intracellular bacterium *Coxiella burnetii*", *Journal of Bacteriology*, V. 180, (1998), 3816-3822.
97. Beare, P.A., Unsworth, N., Andoh, M., Voth, D.E., Omsland, A., Gilk, S.D., Williams, K.P., Sobral, B.W., Kupko, J.J., Porcella, S.F., Samuel, J.E. and Heinzen, R.A., "Comparative genomics reveal extensive transposon-mediated genomic plasticity and diversity among potential effector proteins within the genus *Coxiella*", *Infection and Immunity*, (2009), 642-656.
98. Seshadri, R., Paulsen, I.T., Eisen, J.A., Read, T.D., Nelson, K.A., Nelson, D.A., Ward, N.L., Tettelin, H., Davidsen, T.M., Beanan, M.G., 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. and Heidelberg, F.J., "Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*", *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, V. 100, (2003), 5455-5460.



99. Nguyen, S.V. et Hirai. K. "Differentiation of *Coxiella burnetii* isolates by sequence determination and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of isocitrate dehydrogenase gene", FEMS Microbiology Letters, V. 180, (1999), 249-254.
100. Samuel, J.E., Frazier, D. and Mallavia, L.P., "Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*", Infection and Immunity, V.49, (1983), 775-779.
101. Thompson, H.A. et Suhan, M.L., "Genetics of *Coxiella burnetii*", FEMS Microbiology Letters, V. 145, (1996), 139.
102. Valkova, D. et Kazar, J., "A new plasmid (QpDV) common to *Coxiella burnetii* isolates associated with acute and chronic Q fever", FEMS Microbiology Letters, V. 125, (1995), 275.
103. McCaul, T.F. et Williams, J.C., "Developmental cycle of *Coxiella burnetii* : structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations", Journal of Bacteriology, V. 147, (1981), 1063-1076.
104. Coleman, S.A., Fischer, E.R., Howe, D., Mead, D.J. and Heinzen, R.A., "Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation", V. 186, n°21, (2004), 7344-7352.
105. McCaul, T.F., "The developmental cycle of *Coxiella burnetii*", In: Williams JC, Thompson HA, editors. Q fever : the biology of *Coxiella burnetii*. CRC Press, Boca Raton, Florida, (1991), 223-258.
106. Vavrekova, M., Ciampor, F. and Lukacova, M., "Electron-Microscopic Study of the Effect of Various Extractants on the Morphology of *Coxiella burnetii*", Folia Microbiologica, V. 37, n°2, (1992), 87-92.
107. Hackstadt, T., "Biosafety concerns and *Coxiella burnetii*", Trends in Microbiology, V. 4, (1996), 341-342.
108. Vodkin, M.H. et Williams, J.C., "Overlapping deletion in two spontaneous phase variants of *Coxiella burnetii*", Journal of General Microbiology, V. 132, (1986), 2587-2594.

109. Vishwanath, S. et Hackstadt, T., "Lipopolysaccharide phase variation determines the complement-mediated serum susceptibility of *Coxiella burnetii*", *Infection and Immunity*, V. 56, (1988), 40-44.
110. Shramek, S. et Meyer, N., "Different sugar compositions of lipopolysaccharides isolated from phase I and pure phase II cells of *Coxiella burnetii*", *Infection and Immunity*, V. 38, n°1, (1982), 53-57.
111. Toman, R., Garidel, P., Andrä, J., Slaba, K., Hussein, A., Koch M.H.J. and Brandenburg, K., "Physicochemical characterization of the endotoxins from *Coxiella burnetii* strain Priscilla in relation to their bioactivities", *BMC Biochemistry*, V. 5, (2004), 1.
112. Family-Pigné, D., Mouchet, B., Lousteau, V., Borie, M.F., Deforges, L., Lesprit, P. and Godeau, B., "Atteinte hépatosplénique de la maladie des griffes du chat : à propos de deux observations chez l'immunocompétent", *La revue de Médecine Interne*, V. 27, n°10, 772-775.
113. Heinzen, R.A., Scidmore, M.A., Rockey, D.D. and Hackstadt, T., "Differential interaction with endocytic and exocytic pathways distinguish parasitophorous vacuoles of *Coxiella burnetii* and *Chlamydia trachomatis*", *Infection and Immunity*, V. 64, (1996), 796-809.
114. Miller, J.D., Curns, A.T. and Thompson, H.A., "A growth study of *Coxiella burnetii* Nine Mile Phase I and Phase II in fibroblasts", *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, V. 42, (2004), 291-297.
115. Raoult, D., Vestris, G. and Enea, M., "Isolation of 16 strains of *Coxiella burnetii* from patients by using a sensitive centrifugation cell culture system and establishment of the strains in HEL cells", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 28, (1990), 2482-2484.
116. Beron, W., Gutierrez, M.G., Rabinovitch, M. and Colombo, M.I., "*Coxiella burnetii* localizes in a Rab7-labelled compartment with autophagic characteristics", *Infection and Immunity*, V. 70, (2002), 5816-5821.
117. Romano P.S., Gutierrez, M.G., Beron, W., Rabinovitch, M. and Colombo, M.I., "The autophagic pathway is actively modulated by phase II *Coxiella*

- burnetii* to efficiently replicate in the host cell”, Cellular Microbiology, V. 9, (2007), 891-909.
118. Thompson, H.A., “Relationship of the physiology and composition of *Coxiella burnetii* to the *Coxiella*-host cell interaction, In Biology of *Rickettsial* Diseases” V. 2, Walker, DH, Edition, Boa Raton, Florida, (1988), 51-78.
119. Afseth G. et Mallavia L.P., “Copy number of the 16S rRNA gene in *Coxiella burnetii*, European Journal of Epidemiology, V. 13, (1997), 729-731.
120. Hackstadt, T. et Williams, J.C., “Biochemical stratagem for obligate parasitism of eukaryotic cells by *Coxiella burnetii*”, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, V. 78, (1981), 3240-3244.
121. Paretsky, D., Consigli, R.A. and Downs, C.M., “Studies on the physiology of *Rickettsiae*. III. Glucose phosphorylation and hexokinase activity in *Coxiella burnetii*”, Journal of Bacteriology, V. 83, 538-543.
122. Gilk, S.D., Beare, P.A. and Heinzen, R.A., “*Coxiella burnetii* expresses a functional  $\delta 24$  sterol reductase”, Journal of Bacteriology, V. 192, (2010), 6154-6159.
123. Howe, D. et Heinzen, R.A., “*Coxiella burnetii* inhabits a cholesterol-rich vacuole and influences cellular cholesterol metabolism”, Cellular Microbiology, V. 8, (2006), 496-505.
124. Ransom, S.E. et Huebner, R.J., “Studies of the resistance of *Coxiella burnetii* to physical and chemical agents”, American Journal of Hygiene, V. 53, (1951), 110-119.
125. Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R. and Winn, J.F., “Airborne transmission of Q fever : the role of parturition in the generation of infective aerosols”, Annals of the New York Academy of Sciences, V. 70, (1958), 528-540.
126. Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R. and Winn, J.F., “ Q fever in California IV : Occurrence of *Coxiella burnetii* in the placenta of naturally infected sheep”, Public Health Reports, V. 66, (1951), 1473-1477.

127. Scott, G.H., McCaul, T.F. and Williams, J.C., "Inactivation of *Coxiella burnetii* by gamma irradiation", *Journal of General Microbiology*, V. 135, n°12, (1989), 3263-3270.
128. Yeaman, M.R., Roman, M.J. and Baca, O.G., "Antibiotic susceptibilities of two *Coxiella burnetii* isolates implicate in distinct clinical syndromes", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, V. 33, (1989), 1052-1057.
129. Arricau-Bouvery, N. et Rodolakis, A., "Is Q fever an emerging or reemerging zoonosis ?", *Veterinary Research*, V. 36, (2005), 327-349.
130. Baumgartner, W., Dettinger, H. and Schmeer, N., "Spread and distribution of *Coxiella burnetii* in C57BL/6J (H-2b) and Balb/cJ (H-2d) mice after intraperitoneal infection", *Journal of Comparative Pathology*, V. 108, (1993), 165-184.
131. Baca, O.G., Klassen, D.A. and Aragon, A.S., "Entry of *Coxiella burnetii* into host cells", *Acta Virologica*, V. 37, (1993), 143-155.
132. Voth, D.E., Howe, D. and Heinzen, R.A., "*Coxiella burnetii* inhibits apoptosis in human THP-1 cells and monkey primary alveolar macrophages", *Infection and Immunity*, V. 75, (2007), 4263-4271.
133. Meconi, S., Jacomo, V., Boquet, P., Raoult, D., Mege, J.L. and Capo, C. "*Coxiella burnetii* induces reorganization of the actin cytoskeleton in human monocytes", *Infection and Immunity*, V. 66, (1998), 5527-5533.
134. Heinzen, R.A., Howe, D., Mallavia, L.P., Rockey, D.D. and Hackstadt, T., "Developmentally regulated synthesis of an unusually small, basic peptide by *Coxiella burnetii*", *Molecular Microbiology*, V. 22, n°1, (1996), 9-19.
135. Rousset, E., Duquesne, V., Russo, P. and Thiery, R., "Fièvre Q : problématiques et risques sanitaires", *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, V. 160, (2007), 107-114.
136. Baca, O., Roman, M., Glew, R., Christner, R., Buhler, J. and Aragon, A., "Acid phosphatase activity in *Coxiella burnetii* : a possible virulence factor", *Infection and Immunity*, V. 61, (1993), 4232-4239.

137. Akporiaye, E.T. et BACA, O.G., "Superoxide production and superoxide dismutase and catalase activities in *Coxiella burnetii*", *Journal of Bacteriology*, V. 154, (1983), 520-523.
138. Omsland, A. et Heinzen, R.A., "Life on the Outside : The rescue of *Coxiella burnetii* from its host cell", V. 65, (2011), 111-128.
139. Thompson, H.A., Bolt, C.R., Hoover, T. and Williams, J.C., "Induction of heat-shock proteins in *Coxiella burnetii*", *Annals of the New York Academy of Sciences*, V. 590, (1990), 127-135.
140. Macellaro, A., Tujulin, E., Hjalmarsson, K. and Norlander, L., "Identification of a 71-Kilodalton Surface-Associated Hsp70 Homologue in *Coxiella burnetii*", *Infection and Immunity*, V. 66, n°12, (1998), 5882-5888.
141. Sánchez, J., Souriau, A., Buendía, A.J., Arricau-Bouvery, N., Martínez, C.M., Salinas, J., Rodolakis, A. and Navarro, J.A., "Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats : a histopathological and immunohistochemical study", *Journal of Comparative Pathology*, V. 135, (2006), 108-115.
142. Bildfell, R.J., Thomson, G.W., Haines, D.M., McEwen, B.J. and Smart, N., "*Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, V. 12, (2000), 419-425.
143. Touratier, A., Baurier, F., Beaudeau, F., Bendali, F., Buret, Y., De Crémoux, R., Dion, F., Dufour, B., Joly, A., Languille, J., Nicollet, P., Rodolakis, A., Thiéry, R., Simon, J.L., Angot, M. H. and Dufour, A., "Comment faire le diagnostic d'un élevage cliniquement atteint de fièvre Q ?", *Recueil des Journées Nationales des GTV*, Nantes, (2007), 147-155.
144. Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Hennig, K., Ziller, M., Niemczuck, K., Roest, H.I.J. and Thiéry, R., "Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of Q-fever in animals in the European Union", *EFSA Scientific Report on Question No EFSA-Q-2009-00511.*, (2010), 48 p.
145. Vorobeychikov, E., Vasilenko, A., Tokarevich, N., Yakovleva, L. and Nikolaev, B., "Evaluation of low concentration aerosol for infecting humans

- with the Q fever pathogen”, *Annals of the New York Academy of Sciences*, V. 1063, (2005), 466-470.
146. Rodolakis, A., Berri, M., Héchard, C., Caudron, C., Souriau, A., Bodier, C.C., Blanchard, B., Camuset, P., Devillechaise, P., Natorp, J.C., Vadet, J.P. and Arricau-Bouvery, N., “Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds”, *Journal of Dairy Science*, V. 90, n°12, (2007), 5352-5360.
147. Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Lechopier, P. and Rodolakis, A., “Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats : excretion routes”, *Veterinary Research*, V. 34, (2003), 423-433.
148. Champion, J.L., Forfait, C., Rodolakis, A. and Rousset, E., “Excrétion vaginale de *C. burnetii* chez la chèvre”, *Recueil des Journées Nationales des GTV*, Nantes, V. 27, (2004), 123-130.
149. Grist, N.R., “The persistence of Q fever infection in a dairy herd”, *Veterinary Record*, V. 71, (1959), 839-841.
150. Schaal, E.H., “Udder colonization with *Coxiella burnetii* in cattle Q fever”, *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, V. 89, (1982), 411-414.
151. Zhang, G., Nguyen, S., To, H., Ogawa, M., Hotta, A., Yamaguchi, T., Kim, H., Fukushi, H. and Hirai, K. “Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples”, *Journal of Clinical Microbiology*, V. 36, (1997), 77-80.
152. Humphries, R.C. et Hinrichs, D.J., “Role for antibody in *Coxiella burnetii* infection”, *Infection and Immunity*, V. 31, (1981), 641-645.
153. Kubes, M., “Induction of tumor necrosis factor alpha in murine macrophages with various strains of *Coxiella burnetii* and their lipopolysaccharides”, *Acta Virologica*, V. 50, (2006), 93-99.
154. Zamboni, D.S., Campos, M.A., Torrecilhas, A.C., Kiss, K., Samuel, J.E., Golenbock, D.T., Lauw, F.N., Roy, C.R., Almeida, I.C. and Gazzinelli, R.T., “Stimulation of toll-like receptor 2 by *Coxiella burnetii* is required for macrophage production of pro-inflammatory cytokines and resistance to infection”, *Journal of Biological Chemistry*, V. 279, n°52, (2004), 54405-54415.

155. Dellacasagrande, J., Capo, C., Raoult, D. and mege, J.L., "IFN-gamma-mediated control of *Coxiella burnetii* survival in monocytes : the role of cell apoptosis and TNF", *Journal of Immunology*, V. 162, n°2, (1999), 2259-2265.
156. Ghigo, E., Capo, C., Raoult, D. and mege, J.L., "Interleukin-10 stimulates *Coxiella burnetii* replication in human monocytes through tumor necrosis factor down-modulation : role in microbicidal defect of Q fever", *Infection and Immunity*, V. 69, n°4, (2001), 2345-2352.
157. Voth D.E. et Heinzen, R.A., " Sustained activation of Akt and Erk1/2 is required for *Coxiella burnetii* antiapoptotic activity", *Infection and Immunity*, V. 77, n°1, (2008), 205-213.
158. Richlo, A. et Pospesil, R., "On the morphology and pathogenesis of experimental Q-fever in the guinea pig", *Pathologia et Microbiologia*, V. 23, (1960), 489-503.
159. Perrin T.K., et Bergtson, I.A., "The histopathology of experimental Q fever in mice", *Public Health Reports*, V. 57, (1942), 790-794.
160. Stoenner, H.G. et Lackman, D.B., "The biologic properties of *Coxiella burnetii* isolated from rodents collected in Utah", *American Journal of Hygiene*, V. 71, (1960), 45-48.
161. Gonder, G.C., Kishimoto, R. A., Kastello, M.D. and Pederson, C.E.J., "Cynomolgus monkey model for experimental Q fever infection", *Journal of Infectious Diseases*, V. 139, n°2, (1979), 191-196.
162. Fournier, P.E., Marrie, T.J. and Raoult, D., "Diagnosis of Q fever", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 36, (1998), 1823-1834.
163. Sanchis, R., Russo P., Calamel, M. and Pépin, M., "Diagnostic différentiel des avortements infectieux des petits ruminants. In: Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants, Rodolakis A. and Nettleton P., Edition l'Espace Vétérinaire, Casablanca, (1997), 25-34.
164. Klee, S.R., Tyczka, J., Ellerbrok, H., Franz, T., Linke, S., Baljer, G. and Appe, B., "Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*", *BMC Microbiology*, V. 6, (2006), 2.

165. Thiele, D., Willems, H. and Krauss, H., "The 16S/23S ribosomal spacer region of *Coxiella burnetii*", European Journal of Epidemiology, V. 10, (1994), 421-426.
166. Frazier, M., Mallavia, L., Samuel, J. and Baca, G., "DNA probes for the identification of *Coxiella burnetii* strains, in Rickettsiology : Current Issues and Perspectives", Annals of the New York Academy of Sciences, V. 590, (1990), 445-458.
167. Yuasa, Y., Yoshiie, K., Tkasaki, T., Yoshida, H. and Oda, H., "Retrospective survey of chronic Q fever in Japan by using PCR to detect *Coxiella burnetii* DNA in paraffin-embedded clinical samples", Journal of Clinical Microbiology, V. 34, (1996), 824-827.
168. Belàk, S. et Thorén, P., "Molecular diagnosis of animal diseases : some experiences over the past decade", Expert Review of Molecular Diagnostics, V. 1, n°4, (2001), 434-443.
169. Viljoen G.J. et Luckins, A.G., "The role of nuclear technologies in the diagnosis and control of livestock diseases -a review", V. 44, (2012), 1341-1366.
170. Sawyer, J., Wakeley, P., West D., Fearnley, C., Anderson, S., Flowers, M., Webster, K., Errington, J. and Williams, R., "Practical experiences of moving molecular diagnostics into routine use at the Veterinary Laboratories Agency", Developmental Biology, V. 126, (2006), 89-97.
171. Abd-Elsalem, K.A., "Bioinformatic tools and guideline for PCR primer design", African Journal of Biotechnology, V. 2, n°5, (2003), 91-95.
172. Roux, K.H., "Optimization and troubleshooting in PCR in : PCR methods and applications", Cold spring Harbor laboratory, (1995), 5185-5194.
173. Huijsmans, C.J., Schellekens, J.J., Wever, P.C., Toman, R., Savelkoul, P.H., Janse, I. and Hermans, M.H., "SNP-genotyping of a *Coxiella burnetii* outbreak in the Netherlands", Applied Environmental Microbiology, V. 77, n°6, (2011), 2051-2057.
174. Denison, A.M., Thompson, H.A. and Massung, R.F., "IS1111 insertion sequences of *Coxiella burnetii* : characterization and use for repetitive element



- PCR-based differentiation of *C. burnetii* isolates”, *BMC Microbiology* V. 7, (2007), 91.
175. Beare, P.A., Unsworth, N., Andoh, M., Voth, D.E., Omsland, A., Gilk, S.D., Williams, K.P., Sobral, B.W., Kupko, J.J., Porcella, S.F., Samuel, J.E. and Heinzen, R.A., “Comparative genomics reveal extensive transposon-mediated genomic plasticity and diversity among potential effector proteins within the genus *Coxiella*”, *Infection and Immunity*, V. 77, (2006), 642-656.
176. Arricau-Bouvery, N., Hauck, Y., Bejaoui, A., Frangoulidis, D., Bodier, C.C., Souriau, A., Meyer, H., Neubauer, H., Rodolakis, A. and Vergnaud, G., “Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing”, *BMC Microbiology*, V. 6, (2006), 38.
177. Svraka, S., Toman, R., Skultety, L., Slaba, K. and Homan, W.L., “Establishment of a genotyping scheme for *Coxiella burnetii*”, *FEMS Microbiology Letters*, V. 254, (2006), 268-274.
178. Glazunova, O., Roux, V., Freylikman, O., Sekeyova, Z., Fournous, G., Tyczka, J., Tokarevich, N., Kovacava, E., Marrie, T.J. and Raoult, D., “*Coxiella burnetii* genotyping”, *Emerging Infectious Diseases*, V. 11, (2005), 1211-1217.
179. Andoh, M., Nagaoka, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H. and Hirai, K., “Comparison of Japanese isolates of *Coxiella burnetii* by PCR-RFLP and sequence analysis”, *Microbiology and Immunology*, V. 48, (2004), 971-975.
180. Zhang, G.Q., To, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H. and Hirai, K., “Differentiation of *Coxiella burnetii* by sequence analysis of the gene (com1) encoding a 27-kDa outer membrane protein”, *Microbiology and Immunology*, V. 41, (1997), 871-877.
181. Aarts, H.J., Boumedine, K.S., Nesme, X. and Cloeckert, A., “Molecular tools for the characterisation of antibiotic-resistant bacteria”, *Veterinary Research*, V. 32, (2001), 363-380.
182. Rustscheff, S., Norlander, L., Macellaro, A., Sjosted, A., Vene, S. and Carlsson, M., “A case of fever acquired in Sweden and isolation of the

- probable etiological agent, *Coxiella burnetii* from an indigenous source”, Scandinavian Journal of Infectious Diseases, V. 32, (2000), 605-607.
183. Sekeyova, Z., Roux V. and Raoult, D., “Intraspecies diversity of *Coxiella burnetii* as revealed by com1 and mucZ sequence comparison”, FEMS Microbiology Letters, V. 180, (1999), 61-67.
184. Jager, C., Willems, H., Thiele, D. and Baljer, G., “Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates”, Epidemiology and Infection, V. 120, (1998), 157-164.
185. Hendrix, L.R., Samuel, J.E., and Mallavia, L.P., “Differentiation of *Coxiella burnetii* isolates by analysis of restriction-endonuclease digested DNA separated by SDS-PAGE”, Journal of General Microbiology, V. 137, (1991), 269-276.
186. van Belkum, A., “Tracing isolates of bacterial species by multilocus variable number of tandem repeat analysis (MLVA)”, FEMS Immunology and Medical Microbiology, V. 41, n°1, (2007), 22-27.
187. Scola, B.L., “Current laboratory diagnosis of Q fever”, Seminars in Pediatric Infectious Diseases, V. 13, n°4, (2002), 257-262.
188. Berri, E., Rousset, E., Chamion, J.L. and Rodolakis, A., “Evolution de l’infection et de l’excrétion dans le lait de *Coxiella burnetii* au sein d’un élevage caprin atteint de fièvre Q abortive”, Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants, V. 11, (2004), 325-328.
189. Kittelberger, R., Mars, J., Wibberley, G., Sting, R., Henning, K., Horner, G.W., Garnett, K.M., Hannah, M.J., Jenner, J.A., Piggott, C.J. and O’Keefe, J.S., “Comparison of the Q-fever complement fixation test and two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies against *Coxiella burnetii* (Q-fever) in ruminants : recommendations for use of serological tests on imported animals in New Zealand”, New Zealand Veterinary Journal, V. 57, n° 5, (2009), 262-268.
190. Guigno, D., Coupland, B., Smith, E.G., Farrell, I.D., Desselberger, U. and Caul, E.O., “Primary humoral antibody response to *Coxiella burnetii*, the

- causative agent of Q Fever”, *Journal of Clinical Microbiology*, V. 30, (1992), 1958-1967.
191. Guatteo, R., Joly, A., Rodolakis, A., Cochonneau, D., Sarradin, P., Seegers, H., Remmy, D. and Beaudeau, F., “Prévention de l’excrétion de *Coxiella burnetii* à l’aide d’un vaccin dit phase I (Coxevac® en troupeaux bovines laitiers infectés)”, *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*, V. 15, (2008), 59-62.
192. Berri, M., Rousset, E., Champion, J.L., Russo, P. and Rodolakis, A., “Goats may experience reproductive failures and shed *Coxiella burnetii* at two successive parturitions after a Q fever infection”, *Research in Veterinary Science*, V. 83, (2007), 47-52.
193. Association pour la Certification de la Santé Animale en Elevages (ACERSA), “Proposition de plan de maîtrise de la fièvre Q dans les élevages cliniquement atteints”, *Rapport adopté par le Comité d’experts ACERSA*, (2007), 38 p.
194. Agence Nationale de la Sécurité Sanitaire de l’Alimentation, de l’Environnement et du Travail (ANSES), “Fièvre Q : Rapport sur l’évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants”, *Rapport adopté par le Comité d’experts spécialisé «Santé animale»*, le 8 juin 2004, (2004), 88 p.
195. Manfredi, S., Rezza, G., Scagnelli, M., Rigoli, R., Rassa, M., De Lalla, F., Pellizzer, G.P., Tramarin, A., Bettini, C., Zampieri, L., Belloni, M., Pozza, E.D., Marangon, S., Marchioretto, N., Togni, G., Giacobbo, M., Todescato, A. and Binkin, N., “Investigation of a Q-fever outbreak in northern Italy”, *European Journal of Epidemiology*, V. 12, n°4, (1996), 403-408.
196. Schmeer, N., Muller, P., Langel, J., Krauss, H., Frost, J.W. and Wieda J., “Q fever vaccines for animals”, *Revue Médicale Suisse*, V. 267, (1987), 79-88.
197. Ackland, J.R., Worswick, D.A., Marmion, B.P., “Vaccine prophylaxis of Q fever. A follow-up study of the efficacy of Q-Vax (CSL) 1985-1990”, *Medical Journal of Australia*, V. 160, n°11, (1994), 704-708.

198. Berri, M., Souriau, A., Crosby, M. and Rodolakis, A., "Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock", *Veterinary Microbiology* V. 85, (2002), 55-60.
199. Roest, H.I., Tilburg J.J., van der Hoek W., Vellema P., van Zijderveld F.G., Klaassen C. H. and Raoult D., "The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection", *Epidemiology and Infection*, V. 139, (2010), 1-12.
200. Benslimani, A., Fennolar, F., Lepidi, H. and Raoult, D., "Bacterial zoonoses and infective endocarditis, Algeria", *Emerging Infectious Diseases*, V. 11, (2005), 216-224.
201. Boudjemaa, A., "Etude de la fièvre Q chez les bovins : enquête sérologique dans les wilaya de Annaba et El Taref", Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Docteur Vétérinaire, CU El Taref, (1987).
202. Dechicha, A., Rahal, K., Guetarni, D., Bencharif, D. and Tainturier, D., "Avortement en élevage bovin. Séro-prévalence dans la Mitidja", *Recueil des XIV<sup>èmes</sup> Congrès National Vétérinaire*, Alger, (2003).
203. Bouaziz, O. et Tainturier, D., "Enquête sérologique des maladies abortives chez la vache", *Proceeding des IV<sup>èmes</sup> Journées Internationales de Médecine Vétérinaire*, Constantine, (2009).
204. Dubreuil, P. et Arsenault, J., "Les avortements chez les petits ruminants", *Le Médecin Vétérinaire du Québec*, V. 33, (2003), n°1, 6-9.
205. Menzies, P.I., "Vaccination programs for reproductive disorders of small ruminants", *Animal Reproduction Science*, V. 130, (2012), 162-172.
206. Garcia-Vallve, S., Palau, J. and Romeu A., "Horizontal gene transfer in glycosyl hydrolases inferred from codon usage in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*", *Molecular Biology and Evolution*, V. 16, n°9, (1999), 1125-1134.
207. Benson, G., "Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences", *Nucleic Acids Research*, V. 27, n°2, (1999), 573-580.
208. Yahiaoui, W.I., Afri-Bouzebda, F., Bouzebda, Z. and Dahmani, A., "Sondage sérologique de la fièvre Q chez les ovins par la méthode ELISA

et prévalence des avortements dans la région de Ksar El Boukhari (Algérie)”, *Tropicultura*, V. 32, n°1, (2013), 22-27.

209. Boukhalfa, N., Khaled, H., Merdja, S. and Bouyoucef, A., “Etude sérologique de la chlamydiae abortive des petits ruminants dans la région centre de l’Algérie”, *Recueil des XII<sup>èmes</sup> Journées Internationales de Médecines Vétérinaires*, Alger, (2014).
210. Benkirane, A., Jabli, N. and Rodolakis, A., “Fréquence d’avortement et séroprévalence des principales maladies infectieuses abortives ovines dans la région de Rabat (Maroc)”, *Annales de Recherches Vétérinaires*, V. 21, (1990), 267-273.
211. Maiga, S., “Small ruminant morbidity and mortality in the delta of Niger, Mali”, *Small Ruminants Research*, V. 9, (1992), 181-188.
212. Rattner, D., Rivière J. and Bearman J.E., “Factors affecting abortion, stillbirth and kid mortality in the Goat and Yaez (Goat × Ibex)”, *Small Ruminants Research*, V.13, (1994), 33-40.
213. Yilmaz, H., Cripps, P.J., Turan, N., Ozgur, N.Y., Greenc, L.E., Anil, M.H., Ilgaz A. and Morgan, K.L., “A postal survey of abortion in Turkish sheep”, *Small Ruminants Research*, V. 45, (2002), 151-158.
214. Khammassi-Khabou, M., Hammami S., Cherif A. and Majok, A., “Séroprévalence des majeures maladies infectieuses causant l’avortement chez les petits ruminants. Durabilité des systèmes d’élevage des petits ruminants en Tunisie : une approche de santé animale et marketing”, *International Livestock Research Institute*, V. 17, (2009), 5-24.
215. Spilovska, S., Reterova, K., Kovakova, D., Bobakova, M. and Dubensky, P., “The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovak”, *Veterinary Parasitology*, V. 164, (2009), 320-323.
216. Holt, H.R., Eltholth, M.M., Hegazy, Y.M., El Tras, W.F., Tayel, A.A. and Guitian, J., “*Brucella spp.* infection in large ruminants in an endemic area of Egypt : cross-sectional study investigating seroprevalence, risk factors and

livestock owner's knowledge, attitudes and practices (KAPs)", BMC Public Health, V.11, (2011), 341.

217. van der Hoek, W., Dijkstra, F., Schimmer, B., Schneeberger, P.M., Vellema, P., Wijkmans, C., Terscheget, R., Hackert, V. and van Duynhoven, Y., "Q fever in the Netherlands : an update on the epidemiology and control measures", Eurosurveillance Editorial Team, V. 15, 19520.
218. Clark, R.G., Fenwick, S.G., Nicol, C.M., Marchant, R.M., Swanney, S., Gill, J. M.J., Holmes, D., Leyland, M. and Davies, P.R., "*Salmonella Brandenburg* emergence of a new strain affecting stock and humans in the South Island of New Zealand", New Zealand Veterinary Journal, V. 52, (2004), 26-36.
219. Longbottom, D. et Livingstone, M., "Vaccination against man and animals", Veterinary Journal, V. 171, n°2, (2006), 263-275.
220. Cagiola, M., Severi, G., Forti, K., Menichelli, M., Papa, P., De Giuseppe, A. and Pasquali, P., "Abortion due to *Salmonella enterica* serovar Abortusovis (S. Abortusovis) in ewes is associated to a lack of production of IFN- $\gamma$  and can be prevented by immunization with inactivated S. *Abortusovis* vaccine", Veterinary Microbiology, V. 127, (2007), 330-337.
221. Mannering, S.A., West, D.M., Fenwick, S.G., Marchant, R.M., Perkins, N.R. and O'Connell, K., "Pulsed-field gel electrophoresis typing of *Campylobacter fetus subsp. fetus* isolated from sheep abortions in New Zealand", New Zealand Veterinary Journal, V. 52, (2004), 358-363.
222. Wagner, M., Melzner, D., Bagò, Z., Winter, P., Egerhacher, M., Schilcher, F., Zangana, A. and Schoder, D., "Outbreak of clinical listeriosis in sheep : evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans", Journal of Veterinary Medicine, V. 52, (2007), 278-283.
223. Dorjee, S., Heuer, C., Jackson, R., West, D.M., Collins-Emerson, J.M., Midwinter, A.C. and Ridlerab A.L., "Prevalence of pathogenic *Leptospira spp.* in a sheep-only abattoir in New Zealand", New Zealand Veterinary Journal, V. 56, (2008), 164-170.

224. Porten, K., Rissland, J., Tigges, A., Broll, S., Hopp, W., Lunemann, M., van Treeck, U., Kimmig, P., Brockmann, S.O., Wiening, S.W., Hellenbrand, W. and Buchholz, U., "A super-spreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers' market in Germany", *BMC Infectious Diseases*, V. 6, (2006), 147.
225. Bilal, N.E., Jamjoom, G.A., Bobo, R.A., Aly, O.F.M. and El-Nashar, N.M., "Brucellosis in the Asir region of Saudi Arabia", *Saudi Medical Journal*, V. 12, (1991), 37-41.
226. Kang'ethe E.K., Ekuttan, C.E., Kimani, V.N. and Kiragu, M.W., "Investigation into the prevalence of bovine brucellosis and the risk factors that predispose humans to infection among urban dairy farming households in Dagoretti Division, Nairobi, Kenya", *East African Medical Journal*, V. 84, (2007), 76-86.
227. Schwartz, S.H., "Are there universal aspects in the structure and contents of human values?", *Journal of Social Issues*, V. 50, n°4, (1994), 19-45.
228. Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Bénét, J.J., Shaw, A., Moutou, F., and Louza, A. "Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. Edité par l'Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des maladies Animales, Maisons-Alfort, Paris, 2001, 696 p.
229. Horigan, W.M, Bell, M.M., Pollard, T.R., Sayers, A.R., and Pritchard, G.C., "Q fever diagnosis in domestic ruminants: comparison between complement fixation and commercial enzyme-linked immunosorbent assays", *Journal of Veterinary Diagnosis Investigation*, V. 23, (2011), 924-931.
230. Nicollet, P. et Valognes, A., "Current review of Q fever diagnosis in animals", *Bulletin De l'Académie Vétérinaire de France*, V.160, n°4, (2007), 289-295.
231. Hilbert, A., Schmoock, G., Lenzko, H., Moog, U., Diller, R., Fröhlich, A., Hoffmann, L., Horner, S., Elschner, M., Tomaso, H., Henning, H., Neubauer, H. and Sprague, L.D., "Prevalence of *Coxiella burnetii* in clinically healthy German sheep flocks", *BMC Research Notes*, V. 5, (2012), 152.

232. Anastácio, S., Tavares, N., Carolino, N., Sidi-Boumedine, K., and Da Silva, G.J., "Serological evidence of exposure to *Coxiella burnetii* in sheep and goats in central Portugal", *Veterinary Microbiology*, V. 167, (2013), 500-507.
233. van den Brom, R., Lievaart-Peterson, K., Luttikholt, S., Peperkamp, K., Wouda, W. and Vellema, P., "Abortion in small ruminants in the Netherlands between 2006 and 2011", *Tijdschr Diergeneeskd*, V. 137, n°7, (2012), 450-457.
234. Georgiev, M., Afonso, A., Neubauer, H., Needham, H., Thiery, R., Rodolakis, A., Roest, H., Stark, K., Stegeman, J., Vellema, P., van der Hoek, W. and More, S. "Q fever in humans and farm animals in four European countries, 1982 to 2010", *Eurosurveillance Editorial Team*, V. 18, n°8, (2013), 1-13.
235. Asadi, J., Kafi, M. and Khalili, M., "Seroprevalence of Q fever in sheep and goat flocks with a history of abortion in Iran between 2011 and 2012", *Veterinaria Italiana*, V. 49, n°2, (2012), 163-168.
236. Schimmer, B., Luttikholt, S., Hautvast, J.L., Graat, E.A., Vellema, P. and Duynhoven, Y.T., " Seroprevalence and risk factors of Q fever in goats on commercial dairy goat farms in the Netherlands, 2009-2010", *BMC Veterinary Research*, V. 7, (2011), 81.
237. Capuano, F., Landolfi, M.C. and Monetti, D.M. "Influence of three types of farm management on the seroprevalence of Q fever as assessed by an indirect immunofluorescence assay", *Veterinary Research*, V.149, n°22, (2001), 669-671.
238. Gilsdorf, A., Kroh, C., Grimm, S., Jensen, E., Wagner-Wiening, C. and Alpers, K., "Large Q fever outbreak due to sheep farming near residential areas. Germany, 2005", *Epidemiology and Infection*, V. 136, (2008), 1084-1087.
239. Schulze, K., Schwalen, A., Klein, R.M., Thomas, L., Leschke, M. and Strauer, B.E., "A Q fever pneumonia epidemic in Dusseldorf", *Pneumologie*, V. 50, n°7, (1996), 469-73.



240. Melnicáková, J., Lukáčová, M., Howe, D., Heinzen, R.A. and Barák, I., "Identification of *Coxiella burnetii* RpoS-dependent promoters", *Annals of the New York Academy of Sciences*, V. 990, (2003), 591-595.
241. Schelling, E., Diguimbaye, C., Daoud, S., Nicolet, J. and Zinsstag, J., "Séroprévalence des maladies zoonotiques chez les pasteurs nomades et leurs animaux dans le Chari-Baguirmi au Tchad", *Médecine Tropicale*, V. 64, (2004), 474-477.
242. Sidibe S.S., Coulibaly, K.W., Dakouo, M., Tarnagda, Z., Sery, A., Niang, M., Traore, K., Nantoume, H., Diarra, S. and Seyni, H. "Fièvre Q chez les petits ruminants au Mali, Résultats d'une enquête sérologique", *Revue des Elevages et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, V. 66, n°1, (2013), 11-18.
243. Vaidya, V.M., Malik, S.V.S., Bhilegaonkar, K.N., Rathore, R.S., Kaur, S. and Barbuddhe, S.B., "Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders", *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, V. 33, (2010), 307-321.
244. Chaillon, A., Bind, J.L., Delaval, J., Haguenoer, K., Besnier, J.M. and Choutet, P., "Epidemiological aspects of human Q fever in Indre-et-Loire between 2003 and 2005 and comparison with caprine Q fever", *Médecine et Maladies Infectieuses*, V. 38, (2008), 215-224.
245. Hatchette, T., Hudson, R., Schlech, W., Campbell, N., Hatchette, J., Ratnam, S., Donovan, C. and Marrie, T., "Caprine-associated Q fever in Newfoundland", *Canada Communicable Disease Report*, V. 26, n°3, (2001), 17-19.
246. Dubuc-Forfait, C., Rousset, E., Champion, J.L., Marois, M., Dufour, P., Zerhaoui, E., Thiéry, R. and Sabatier, P., "Démarche d'appréciation du risque d'excrétion de *Coxiella burnetii* dans les troupeaux caprins laitiers dans le sud-est de la France", *Epidémiologie et Santé Animale*, V. 55, (2009), 117-136.
247. Astobiza, I., Barandika, J.F., Hurtado, A., Juste, R.A. and García-Pérez, A.L., "Kinetics of *Coxiella burnetii* excretion in a commercial dairy sheep

- flock after treatment with oxytetracycline”, *Veterinary Journal*, V. 184, n°2, (2010), 172-175.
248. Račić, I., Špičić, S., Galov, A., Duvnjak, S., Zdelar-Tuk, M., Vujnović, A., Habrun, B. and Cvetnić, Ž., “Identification of *Coxiella burnetii* genotypes in Croatia using multi-locul VNTR analysis”, *Veterinary Microbiology*, V., 173, (2014), 340-347.
249. Clemente, L., Barahona, M.J., Andrade, M.F. and Botelho, A., “Diagnosis by PCR of *Coxiella burnetii* in aborted fetuses of domestic ruminants in Portugal”, *Veterinary Record*, V.164, (2009), 373-374.
250. Pritchard, G.C., Smith, R.P., Errington, J., Hannon, S., Jones, R.M. and Mearns, R., “Prevalence of *Coxiella burnetii* in livestock abortion material using PCR”, *Veterinary Record*, V. 169, n°15, (2011), 391.
251. Alsaleha, A., Pellerin, J.L., Rodolakis, A., Larrata, M., Cochonneau, D., Bruyas, J.F. and Fieni, F., “Detection of *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, in oviducts and uterine flushing media and in genital tract tissues of the non pregnant goat”, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, V. 34, (2011), 355-360.
252. Kersh, G.J., Fitzpatrick, K.A., Self, J.S., Priestly, R.A., Kelly, A. G., Lash, R.R., Marsden-Haug, N., Nett, R.J., Bjork, A., Massung, R.F. and Anderson, A.D., “Presence and persistence of *Coxiella burnetii* in the environments of goat farms associated with a Q fever outbreak”, *Applied and Environmental Microbiology*, V. 79, n°5, (2013), 1697-1703.
253. Panaiotov, S., Ciccozzi, M., Brankova, N., Levterova, V., Mitova-Tiholova, M., Amicosante, M., Rezza, G., and Kantardjiev, T., “An outbreak of Q fever in Bulgaria”, *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, V. 45, (2009), 83-86.
254. Diskin, M.G. et Morris, D.G., “Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants”, *Reproduction in Domestic Animals*, V. 43, n°2, (2008), 260-267.
255. Givens, M.D. et Marley, M.S., “Infectious causes of embryonic and fetal mortality”, *Theriogenology*, V. 70, (2008), 270-285.

256. Gibbens, N., "Schmallenberg virus : a novel viral disease in Europe", *Veterinary Record*, V. 170, n°2, (2012), 58.
257. Parisi, A., Fracalvieri, R., Cafiero, M., Miccolupo, A., Padalino, I., Montagna, C., Capuano, F. and Sottili, R., "Diagnosis of *Coxiella burnetii*-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR", *Veterinary Microbiology*, V. 118, (2006), 101-106.
258. Kampen, A.H., Hopp, P., Grøneng, G.M., Melkild, I., Urdahl, A.M., Karlsson, A.C. and Tharaldsen, J., "No indication of *Coxiella burnetii* infection in Norwegian farmed ruminants", *BMC Veterinary Research*, V. 8, (2012), 59.
259. Borel, N., Thoma, R., Spaeni, P., Weilenmann, R., Teankum, K., Brugnera, E., Zimmermann, D.R., Vaughan, L. and Pospischil, A., "*Chlamydia*-related abortions in cattle from Graubunden, Switzerland", *Veterinary Pathology*, V. 43, n°5, (2006), 702-708.
260. Szeredi, L., Jánosi, S., Tenk, M., Tekes, L., Bozsó, M., Deim, Z. and Molnár, T., "Epidemiological and pathological study on the causes of abortion in sheep and goats in Hungary (1998–2005)", *Acta Veterinaria Hungarica*, V. 54, (2006), 503-515.
261. Longbottom, D., Entrican, G., Wheelhouse, N., Brough, H. and Milne, C., "Evaluation of the impact and control of enzootic abortion of ewes", *Veterinary Journal*, V. 195, n°2, (2013), 257-259.
262. Mobini, S., Heath, A.M. and Pugh, D.G., "Theriogenology of sheep and goats. In: Pugh DG, editor. *Sheep and goat medicine*", Saunders Company, Philadelphia, (2002), 129-186.
263. Yumuk, Z. et O'Callaghan, D., "Brucellosis in Turkey -an overview", *International Journal of Infectious Diseases*, V., 16, (2012), 228-235.
264. Refai, M., "Incidence and control of brucellosis in the Near East region", *Veterinary Microbiology*, V., 90, n°2, (2002), 81-110.
265. Wouda, W. et Derksen, D.P., "Abortion and stillbirth among dairy goats as a consequence of *Coxiella burnetii*", *Tijdschr Diergeneeskd*, V. 132, n°23, (2007), 908-911.

266. De Crémoux, R., Baurier, F., Beaudeau, F., Bendali, F., Buret, Y., Dion, F., Dufour, B., Joly, A., Languille, J., Nicollet, P., Rodolakis, A., Simon, J.L., Thiéry, R., Touratier, A., Angot, M.H. and Dufour, A., "Moyens de maîtrise de la fièvre Q. Mesures sanitaires et médicales", Recueil des Journées Nationales des GTV, Nantes, (2007), 157-167.
267. Kovacova, E., Sixl, W., Stunzner, D., Urvolgyi J. and Kazar, J., "Serological examination of human and animal sera from six countries of three continents for the presence of rickettsial antibodies", European Journal of Epidemiology, V.12, (1998), 85-89.
268. Chmielewski, T., Sidi-Boumedine, K., Duquesne, V., Podsiadly, E., Thiéry, R. and Tylewska-Wierzbanowska, S., "Molecular epidemiology of Q fever in Poland", Polish Journal of Microbiology, V. 58, n°1, (2009), 9-13.
269. Tilburg, J.J., Rossen, J.W., van Hannen, E.J., Melchers, W.J., Hermans, M.H., van de Bovenkamp, J., Roest, H.J., De Bruin, A., Nabuurs-Franssen, M.H., Horrevorts, A.M. and Klaassen, C.H., "Genotypic Diversity of *Coxiella burnetii* in the 2007-2010 Q Fever Outbreak Episodes in The Netherlands", Journal of Clinical Microbiology, V. 50, n°3, (2012), 1076-1078.
270. Tilburg, J.J.H.C., Roest, H.I.J., Nabuurs-Franssen, M.H., Horrevorts, A.M. and Klaassen, C.H.W., "Genotyping reveals the presence of a predominant genotype of *Coxiella burnetii* in consumer milk products", Journal of Clinical Microbiology, V. 50, n°6, (2012), 2156-2158.
271. Astobiza, I., Tilburg, J.J., Piñero, A., Hurtado, A., García-Pérez, A.L., Nabuurs-Franssen, M.H. and Klaassen, C.H. "Genotyping of *Coxiella burnetii* from domestic ruminants in northern Spain", BMC Veterinary Research, V.8, (2012), 241.
272. Sulyok, K.M., Hornok, S., Abichu, G., Erdélyi, K. and Gyuranecz, M., "Identification of Novel *Coxiella burnetii* Genotypes from Ethiopian Ticks", (2014), PLoS ONE, V. 9, n°11, 1-9.
273. Piñero, A., Barandika, J.F., García-Pérez, A.L. and Hurtado, A., "Genetic diversity and variation over time of *Coxiella burnetii* genotypes in dairy cattle

and the farm environment”, *Infection, Genetic and evolution*, V. 31, (2015), 231-235.

274. Roest, H.I.J., Ruuls, R.C., Jeroen Tilburg, J.H.C., Nabuurs-Franssen, M.H., Klaassen, C.H.W., Vellema, P., van den Brom, R., Dercksen, D., Wouda, W., Spierenburg, M.A.H., van der Spek, A.N., Buijs, R., de Boer, A.J., Willemsen, P.T.J. and van Zijderveld, F.G., “Molecular Epidemiology of *Coxiella burnetii* from Ruminants in Q Fever Outbreak, the Netherlands”, *Emerging Infectious Diseases*, V. 17, n°4, (2011), 668-675.
275. Roest, H.I.J., van Solt, C.B., Tilburg, J.J.H.C., Klaassen, C.H.W., Hovius, E.K., Roest, F.T.F., Vellema, P., van den Brom, R. and van Zijderveld, F.G., “Search for possible additional reservoirs for human Q fever, the Netherlands”, *Emerging Infectious Diseases*, V. 19, n°5, (2013), 834-835.
276. Mori, M., Boarbi, S., Michel, P., Bakinahe, R., Rits, K., Wattiau, P. and Fretin, D., “In vitro and in vivo infectious potential of *Coxiella burnetii* : A study on Belgian livestock isolates”, *PLoS ONE*, V. 8, n°6, (2013), 1-9.
277. Boarbi, S., Mori, M., Rousset, E., Sidi-Boumedine, K., van Esbroeck, M. and Fretin, D., “Prevalence and molecular typing of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk in Belgian dairy goats, 2009-2013”, *Veterinary Microbiology*, V. 170, (2014), 117-124.
278. Atschemdi, K.A., “Impact des variations climatiques sur le prix des moutons sur le marché de gros de Djelfa (Algérie)”, *Cahiers Agricultures*, V. 17, n°1, (2008), 29-37.
279. Schouls, L.M., van der Heide, H.G., Vauterin, L., Vauterin, P. and Mooi, F.R., “Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of Dutch *Bordetella pertussis* strains reveals rapid genetic changes with clonal expansion during the late 1990s”, *Journal of Bacteriology*, V. 186, (2004), 5496-5505.
280. Top, J., Schouls, L.M., Bonten, M.J.M. and Willems, R.J.L., “Multiple-locus, variable-number tandem repeat analysis, a novel typing scheme to study the genetic relatedness and epidemiology of *Enterococcus faecium* isolates”, *Journal of Clinical Microbiology*, V. 42, (2004), 4503-4511.

281. Prigent, M., Rousset, E., Yang, E., Thiery, R. and Sidi-Boumedine, K., "Validation study for using lab-on-chip technology for *Coxiella burnetii* multi-locus-VNTR-analysis (MLVA) typing. application for studying genotypic diversity of domestic ruminants' strains in France", *Microbobe and Infection*, (2015), (in press).
282. Pattengale, N.D., Alipour, M., Bininda-Emonds, O.R., Moret, B.M. and Stamatakis, A., "How many bootstrap replicates are necessary ?", *Journal of Computational Biology*, V. 17, n°3, (2010), 337-354.
283. Sobral, D., Le Cann, P., Gerard, A., Jarraud, S., Lebeau, B., Loisy-Hamon, F., Vergnaud, G. and Pourcel, C. "High-throughput typing method to identify a non-outbreak-involved *Legionella pneumophila* strain colonizing the entire water supply system in the town of Rennes, France", *Applied and Environmental Microbiology*, V. 77, n°19, (2011), 6899-6907.
284. Hoelzer, K., Soyer, Y., Rodriguez-Rivera, L.D., Cummings, K.J., McDonough, P.L., Schoonmaker-Bopp, D.J., Root, P., Dumas, N.B., Warnick, L.D., Gröhn, Y. T., Wiedmann, M., Baker, K.N.K., Besser, T.E.D., Hancock, D., and Davis, M.A., "The prevalence of multidrug resistance is higher among bovine than human *Salmonella enterica* serotype newport, Typhimurium, and 4,5,12:i:- Isolates in the United States but differs by serotype and geographic region", *Applied and Environmental Microbiology*, V. 76, n°17, (2010), 5947-5959.
285. Sekse, C., Sunde, M., Lindstedt, B.A., Hopp, P., Bruheim, T., Cudjoe, K.S., Kvitle, B. and Urdahl, A.M., "Potentially Human-Pathogenic *Escherichia coli* O26 in Norwegian Sheep Flocks", *Applied and Environmental Microbiology*, V. 77, n°14, (2011), 4949-4958.
286. Malachowa, N., Sabat, A., Gniadkowski, M., Krzyszton-Russjan, J., Empel, J., Miedzobrodzki, J., Kosowska-Shick, K., Appelbaum, P.C. and Hryniewicz, W., "Comparison of Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis with Pulsed-Field Gel Electrophoresis, spa Typing, and Multilocus Sequence Typing for Clonal Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 43, n°7, (2005), 3095-3100.

287. Her, M., Kang, S.I., Cho, D.H., Cho, Y.S., Hwang, I.Y., Heo, Y.R., Jung, S.C. and Yoo, H.S., "Application and evaluation of the MLVA typing assay for the *Brucella abortus* strains isolated in Korea", *BMC Microbiology*, V. 9, (2009), 230.
288. Whitehead, H., "SOCPROG programs : analyzing animal social structures", *Behavioral Ecology and Sociobiology*, V. 63, (2009), 765-778.
289. Sidi-Boumedine, K., Duquesne, V., Prigent, M., Yang, E., Joulien, A., Thiery, R. and Rousset, E., "Impact of *IS1111* insertion on the MLVA genotyping of *Coxiella burnetii*", *Microbobe and Infection*, (2015), (in press).
290. Santos, A.S., Tilburg, J.J., Botelho, A., Barahona, M.J., Nuncio, M.S., Nabuurs-Franssen, M.H. and Klaassen, C.H., "Genotypic diversity of clinical *Coxiella burnetii* isolates from Portugal based on MST and MLVA typing", *International Journal of Medical Microbiology*, V. 302, n°6, (2012), 253-256.
291. Klaassen, C.H.W., Nabuurs-Franssen, M.H., Tilburg, J.J.H.C., Hamans, M.A.W.M. and Horrevorts, A.M., "Multigenotype Q Fever Outbreak, the Netherlands", *Emerging Infectious Diseases*, V.15, n°4, (2009), 613-614.
292. Frangoulidis, D., Walterg, M.C., Antwerpen, M., Zimmermann, P., Janowitz, B., Alex, M., Böttcher, J., Henning, K., Hilbert, A., Ganter, M., Runge, M., Münsterkötter, M., Splettstoesser, W.D. and Hanczaruka, M., "Molecular analysis of *Coxiella burnetii* in Germany reveals evolution of unique clonal clusters", *International Journal of Medical Microbiology*, V. 304, (2014), 868-876.
293. Nübel, U., Dordel, J., Kurt, K., Strommenger, B., Westh, H., Shukla, S.K., Zemlicková, H., Leblois, R., Wirth, T., Jombart, T., Balloux, F. and Witte, W., "A timescale for evolution, population expansion, and spatial spread of an emerging clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", *PLoS Pathogens*, V.6, n°4, (2010), 1-12.
294. Ochman, H., Elwyn, S. Moran, N.A., "Calibrating bacterial evolution", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America PNAS*, V.96, n°22, 12638-12643.

295. Pérez-Losada, M., Crandall, K.A., Zenilman, J. and Viscidi, R.P., "Temporal trends in gonococcal population genetics in a high prevalence urban community", *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, V. 7, n°2, (2007), 271-278.
296. Sokurenko, E.V., Hasty D.L. and Dykhuizen, D.E., "Pathoadaptive mutations: gene loss and variation in bacterial pathogens", *Trends in Microbiology*, V.7, (1999), 191-195.
297. Lenski, R.E., Winkworth, C.L. and Riley, M.A., "Rates of DNA sequence evolution in experimental populations of *Escherichia coli* during 20,000 generations", *Journal of Molecular Evolution*, V. 56, n°4, (2003), 498-508.
298. Ochman, H., "Neutral mutations and neutral substitutions in bacterial genomes", *Molecular Biology and Evolution*, V. 20, n°12, (2003), 2091-2096.
299. Lenski, R.E. and Travisano, M., "Dynamics of adaptation and diversification: a 10,000-generation experiment with bacterial populations", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America PNAS*, V.91, n°15, 6808-6814.
300. Ziebuhr, W., Ohlsena, K., Karchb, H., Korhonenc, T. and Hackera, J., "Evolution of bacterial pathogenesis", *Cellular and Molecular Life Sciences*, V. 56, (1999), 719-728.
301. González-Casanova, A. Aguirre-von-Wobeser, E., Espín, G., Servín-González, L., Kurt, N., Spanò, D., Blath, J. and Soberón-Chávez, G., "Strong seed-bank effects in bacterial evolution", *Journal of Theoretical Biology*, V. 356, (2014), 62-70.
302. Coffey, L.L., Forrester, N., Tsetsarkin, K., Vasilakis, N. and Weaver, S.C., "Factors shaping the adaptive landscape for arboviruses : implications for the emergence of disease", *Future microbiology*, V. 8, n°2, (2013), 155-176.
303. Weaver, S.C., "Evolutionary influences in arboviral disease", *Current Topics in Microbiology and Immunology*, V.299, (2006), 285-314.
304. Zhang, G., Russell-Lodrigue, K.E., Andoh, M., Zhang, Y., Hendrix, L.R. and Samuel, J.E., "Mechanisms of Vaccine-Induced Protective Immunity against



- Coxiella burnetii* Infection in BALB/c Mice”, Journal of Immunology, V.179, (2007), 8372-8380.
305. Godfroid, J., Scholz, H.C., Barbier, T., Nicolas, C., Wattiau, P., Fretin, D., Whatmore, A.M., Cloeckert, A., Blasco, J.M., Moriyon, I., Saegerman, C., Muma, J.B., Al Dahouk, S., Neubauer, H. and Letesson, J.J., “Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21<sup>st</sup> century”, Preventive Veterinary Medicine, V. 102, (2011), 118-131.
306. Kazar, J., Lesny, M., Propper, P., Valkova, D. and Brezina, R., “Comparison of virulence for guinea pigs and mice of different *Coxiella burnetii* phase I strains”, Acta Virologica, V. 37, (1993), 437-448.
307. Cardinale, E., Esnault, O., Beral, M., Naze, F. and Michault, A., “Emergence of *Coxiella burnetii* in Ruminants on Reunion Island? Prevalence and Risk Factors”, PLoS Neglected Tropical Diseases, V. 8, n°8, (2014), 1-8.
308. Martinov, S., “Contemporary state of the problem Q fever in Bulgaria”, Biotechnology and Biotechnological Equipment, V. 21, n°3, (2007), 353-361.
309. Henning, K., Hotzel, H., Peters, M., Welge, P., Popps, W. and Theegarten, D., “Unanticipated outbreak of Q fever during a study using sheep, and its significance for further projects”, Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift Journal, V. 22, (2009), 13-19.
310. Reintjes, R., Hellenbrand, W., and Düsterhaus, A., “Q-Fieber Ausbruch in Dortmund im Sommer 1999”, Gesundheitswesen, V. 62, n°11, (2000), 609-614.
311. Griffin, J.M., Haahes, T., Lynch, K., Salman, M.D., McCarthy, J. and Hurley, T., “The association of cattle husbandry practices, environmental factors and farmer characteristics with the occurrence of chronic bovine tuberculosis in dairy herds in the Republic of Ireland”, Preventive Veterinary Medicine, V. 17, (1993), 145-160.
312. Cleland, P.C.P., Baldock, F.C. and Gleeson, L.J., “Questionnaire survey of foot and mouth disease (FMD) and of FMD control by vaccination in villages in northern Thailand”, Scientific and Technical Review – OIE, V. 14, n°3, (1995), 567-575.

313. Carrieri, M.P., Tissot-Dupont, H., Rey, D., Brousse, P., Renard, H., Obadia, Y. and Raoult, D., "Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, V. 21, n°1, (2002), 17-21.
  314. Medic, A., Dzelalija, B., Polic, V.P., Marjan, I.G., Turkovic, I. and Gilic, V., "Q fever epidemic among employees in a factory in the suburb of Zadar. Croatia", *Croatian Medical Journal*, V. 46, (2005), 315-319.
  315. Fournier, P.E., Dubourg, G. and Raoult, D., "Clinical detection and characterization of bacterial pathogens in the genomics era", *Genome Medicine*, V. 6, (2014), 114.
  316. Hall, L., "Are point mutations or DNA rearrangements responsible for the restriction fragment length polymorphisms that are used to type bacteria ?", *Microbiology*, V. 140, (1994), 197-204.
  317. van Belkum, A., Tassios, P.T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N.K., Fussing, V., Green, J., Feil, E., Gerner-Smidt, P., Brisse, S. and Struelens, M., "Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology", *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, V. 13, n°3, (2007), 1-47.
- .