

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

THESE DE DOCTORAT

En sciences vétérinaires

Spécialité : Sciences vétérinaires

**ÉTUDE EPIDEMIOLOGIQUE DES AVORTEMENTS DUS A
COXIELLA BURNETII, *CHLAMYDIA ABORTUS* ET *TOXOPLASMA
GONDII* CHEZ LA VACHE LAITIERE DANS LA REGION DE LA
MITIDJA EN ALGERIE.**

Par

Mme. DJELLATA Nadia

Devant le jury composé de :

M. LAFRI	Professeur,	U. BLIDA 1	Président
K. AIT OUDHIA	Professeur,	ENSV ALGER	Examineur
D. KHELEF	Professeur,	ENSV ALGER	Examineur
S A. ABDELHADI	Professeur,	U.TIARET	Examineur
R. KAIDI	Professeur,	U.BLIDA 1	Promoteur
C. HANZEN	Professeur,	U.LIEGE (Belgique)	Co Promoteur

Résumé

En Algérie, la prévalence des causes d'avortements des élevages bovins laitiers que celles-ci soient d'origine infectieuse ou non infectieuse a été peu étudiée. Cette étude concerne une analyse sérologique réalisée dans le laboratoire de biotechnologie animale liée à la reproduction (Institut des sciences vétérinaires, Université Blida 1), à l'aide d'un test ELISA (méthode immuno-enzymatique), de prélèvements sanguins issus de 368 vaches ayant avorté provenant de 124 élevages dans la région de la Mitidja durant la période allant de 2014 à 2016 et complétée par un formulaire d'enquête visant à identifier, par une régression logistique unie puis multivariée, des facteurs associés à un risque augmenté ou diminué d'exposition à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*. Les séroprévalences individuelles obtenues ont été respectivement de 8,4 % (31/368) pour *C. burnetii* et de 12,2 % (45/368) pour *C. abortus*. Pour *T. gondii*, la séroprévalence individuelle était de 13,8 % (51/368) avec comme facteurs associés à un risque augmenté d'exposition individuelle, le quatrième mois de gestation (OR = 22,68 ; IC 95 % : 1,38 – 392,97) et le cinquième mois de gestation (OR = 25,51 ; IC 95 % : 1,47 – 442,11). Les autres facteurs identifiés par la régression logistique multivariée sont tous des facteurs associés à un risque diminué d'exposition. Ils concernent l'année de visite en 2015 (OR = 0,0006 ; IC 95 % : 0,000004 – 0,12) et en 2016 (OR = 0,0005 ; IC 95 % : 0,000002 – 0,13), l'insémination artificielle (OR = 0,15 ; IC 95 % : 0,05 – 0,44) pour *C. burnetii* ; l'hiver (OR = 0,39 ; IC 95 % : 0,15 – 1,00), le printemps (OR = 0,45 ; IC 95 % : 0,20 – 0,97) et l'insémination artificielle (OR = 0,27 ; IC 95 % : 0,13 – 0,56) pour *C. abortus* ; le nombre de gestations (OR = 0,38 ; IC 95 % : 0,16 – 0,92) pour *T. gondii*. La séroprévalence obtenue à l'échelle du troupeau a été respectivement de 16,1 % (20/124) pour *C. burnetii* et 29,8 % (37/124) pour *C. abortus* et *T. gondii*. À l'échelle des troupeaux, les facteurs associés à un risque augmenté d'exposition à *C. abortus* et *T. gondii* concernent respectivement la pratique du déparasitage (OR = 3,89 ; IC 95 % : 1,53 – 9,89) et le forage personnel comme source d'abreuvement (OR = 7,50 ; IC 95 % : 2,11 – 26,69). Pour *C. burnetii*, l'année de visite en 2015 (OR = 0,02 ; IC 95 % : 0,0008 – 0,65) et en 2016 (OR = 0,01 ; IC 95 % : 0,0003 – 0,36), l'insémination artificielle (OR = 0,21 ; IC 95 % :

0,06 – 0,69), et l'éradication des rongeurs (OR = 0,19 ; IC 95 % : 0,06 – 0,57) sont des facteurs de diminution du risque d'exposition.

Mots clés : Algérie – Avortement – *Chlamydia abortus* – *Coxiella burnetii* – *Toxoplasma gondii* – Facteur de risque – Facteur protecteur – Prévalence – Test ELISA.

Summary

In Algeria, research into the prevalence of different causes of abortion in dairy cattle, whether of infectious or non-infectious origin, has been little studied. The present study concerns a serological analysis, using an ELISA test, of blood samples taken from 368 aborted cows from 124 farms in the region of Mitidja and supplemented by a survey form aimed at identifying, by a single and multivariate logistic regression, risk factors or protectors of exposure to *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* and *Toxoplasma gondii*. The individual séroprévalence obtained were respectively 8.4% (31/368) for *Coxiella burnetii* and 12.2% (45/368) for *Chlamydia abortus*. For *Toxoplasma gondii* it was 13.8% (51/368) with risk factors identified at the individual level, the 4th (OR = 22.68, 95% CI: 1.38-392.97) and the 5th month of pregnancy (OR = 25.51, 95% CI: 1.47-442.11). The other factors identified by multivariate logistic regression are all protective factors. They refer to the year of visit in 2015 (OR = 0.0006, 95% CI: 0.000004-0.12) and in 2016 (OR = 0.0005, 95% CI: 0.000002-0.13) and artificial insemination (OR = 0.15, 95% CI: 0.05-0.44) for *Coxiella burnetii*, winter (OR = 0.39, 95% CI: 0.15-1.00) and spring (OR = 0.45, 95% CI: 0.20-0.97) and artificial insemination (OR = 0.27, 95% CI: 0.13-0.56) for *Chlamydia abortus*; and third pregnancy (OR = 0.38, 95% CI: 0.16-0.92) for *Toxoplasma gondii*. Séroprévalence at the flock level was 16.1% (20/124) for *Coxiella burnetii* and 29.8% (37/124) for *Chlamydia abortus* and *Toxoplasma gondii*, respectively. At the herd scale, the risk factors for exposure to *Chlamydia abortus* and *Toxoplasma gondii* are deworming (OR = 3.67, 95% CI: 0.48-9.08) and personal drilling as a source of drinking water (OR = 7.50, 95% CI: 2.11-26.69) respectively. For *Coxiella burnetii*, the year of visit in 2015 (OR = 0.02, 95% CI: 0.0008-0.65) and in 2016 (OR = 0.01, 95% CI: 0.0003-0, 36), artificial insemination (OR = 0.21, 95% CI: 0.06-0.69), and rodent eradication (OR = 0.19, 95% CI: 0.06-0, 57) exert protective effects.

Key words: Séroprévalence, *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus*, *Toxoplasma gondii*, ELISA test, bovine abortion, risk factor, protective factor, Algeria.

ملخص

في الجزائر تعتبر الدراسات حول انتشار و أسباب الإجهاض سواء كانت معدية او غير معدية في مزارع الأبقار الحلوب قليلة جدا مما أدى إلى التطرق إلى دراسة معمقة تتمثل في تحليل مصلي لعينات دم مأخوذة من 368 بقرة أجهضت من قبل منتشرة على 124 مزرعة باستخدام تقنية (فحص مناعي - إنزيمي) ELISA ، و من اجل تحديد تأثير العوامل الخارجية ولقد استكملت الدراسة السالفة الذكر نموذج مسح يهدف إلى تحديد ، بواسطة الانحدار اللوجستي الموحد والمتعدد المتغيرات ، العوامل المرتبطة بزيادة أو انخفاض خطر التعرض ل *Coxiella burnetii* ، *Chlamydia abortus* و *Toxoplasma gondii* . كانت السلالات الفردية التي تم الحصول عليها 8.4% على التوالي (368/31) لـ *C. Burnetii* و 12.2% (368/45) لـ *C. abortus* . بالنسبة إلى *T. gondii* ، كان الانتشار المصلي الفردي 13.8% (368/51) مع العوامل التالية المرتبطة بزيادة خطر التعرض الفردي ، الشهر الرابع من الحمل ($OR = 22.68$ ، $95\% CI: 1 - 392.97$) والشهر الخامس من الحمل ($OR = 25.51$ ، $95\% CI: 1.47 - 442.11$) . ومن العوامل الأخرى التي حددها الانحدار اللوجستي المتعدد كلها مرتبطة مع انخفاض مخاطر التعرض. تشير إلى سنة الزيارة في عام 2015 ($OR = 0.0006$ ، $95\% CI: 0.000004 - 0.12$) وفي 2016 ($OR = 0.0005$ ، $95\% CI: 0.000002 - 0.13$) ، والتلقيح الاصطناعي ($OR = 0.15$ ، $95\% CI: 0.05 - 0.44$) لـ *C. abortus* البورنيتية. الشتاء ($OR = 0.39$ ، $95\% CI: 0.15 - 1.00$) ، الربيع ($OR = 0.45$ ، $95\% CI: 0.20 - 0.97$) والتلقيح الصناعي ($OR = 0.27$ ، $95\% CI: 0.0 - 56.13$) لـ *C. burnetii* المجهضة. عدد حالات الحمل ($OR = 0.38$ ، $95\% CI: 0.0 - 92.16$) لـ *T. gondii* . كان الانتشار المصلي على مستوى القطيع 16.1% (124/20) لـ *C. burnetii* و 29.8% (124/37) لـ *C. abortus* و *T. gondii* ، على التوالي. على نطاق القطيع ، ترتبط العوامل المرتبطة بزيادة خطر التعرض للإصابة بـ *C. Abortus* و *T. gondii* بالتخلص من الديدان ($OR = 3.89$ ، $95\% CI: 1.53 - 9.89$) ، على التوالي. والحفر كمصدر للشرب ($OR = 7.50$ ، $95\% CI: 2 - 26.69$) . بالنسبة إلى *C. burnetii* ، سنة الزيارة في عام 2015 ($OR = 0.02$ ، $95\% CI: 0.0008 - 0.65$) وفي عام 2016 ($OR = 0.01$ ، $95\% CI: 0 - 0.0003$) ، التلقيح الصناعي ($OR = 0.21$ ، $95\% CI: 0.06 - 0.69$) ، والقضاء على القوارض ($OR = 0.19$ ، $95\% CI: 0 - 0.06$) . هي العوامل التي تقلل من خطر التعرض.

كلمات البحث: الجزائر - الإجهاض - *Chlamydia abortus* - *Coxiella burnetii* - *Toxoplasma gondii* - عامل خطر - عامل وقائي - انتشار - ELISA.

Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté et la patience pour pouvoir terminer ce modeste travail.

A l'issue de ce travail, je tiens à adresser mes vifs remerciements à toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce mémoire.

A Monsieur Le Professeur Rachid KAIDI

De l'université de Blida 1

Directeur de cette thèse pour avoir encadré ce travail

Avec toute ma gratitude et mon respect les plus sincères.

A Monsieur Le Professeur Christian HANZEN

De l'université de Liège

Co- Directeur de cette thèse pour votre aide si précieuse

Avec toute ma gratitude et mon respect les plus sincères.

A Monsieur Le Professeur Claude SEAGERMAN

De l'université de Liège

Pour avoir su me guider

Avec toute ma gratitude et mon respect les plus sincères.

A Monsieur Le Professeur Mohamed LAFRI

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Respectueux hommages.

A Madame Le Professeur Khatima AIT OUDHIA

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner cette thèse

Respectueux hommages.

A Monsieur Le Professeur Djamel KHELEF

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner cette thèse

Respectueux hommages.

A Monsieur Le Docteur Si Amer ABDELHADI

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner cette thèse

Respectueux hommages.

Dédicaces

A la lumière de ma vie, mes deux anges MOHAMED et MAYA

Merci pour votre patience et votre compréhension

A mes très chers parents

Qui n'ont pas cessé un jour de croire en moi, de m'encourager et de me soutenir
dans les moments les plus difficiles

Merci du fond du cœur.

A mon époux Abdelkrim

A ma sœur Amel et mon frère Samir

Pour les bons moments passés ensemble

A toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce
mémoire

Table des matières

INTRODUCTION	16
CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES AVORTEMENTS BOVINS	19
1.1.Définition et quantification de l'avortement.....	19
1.2.Conduite à tenir lors d'avortement bovin.....	20
1.2.1.L'anamnèse.....	20
1.2.1.1.La contagiosité.....	20
1.2.1.2.Les voies de contagion.....	21
1.2.1.3.Le moment d'apparition.....	21
1.2.1.4.La symptomatologie clinique.....	23
1.2.1.5.La saison.....	24
1.2.1.6.Les caractéristiques macroscopiques de l'avorton et du placenta.....	24
1.2.2.Les prélèvements.....	24
1.3.Difficulté du diagnostic étiologique des avortements bovins.....	26
1.4.Les principaux facteurs responsables d'avortement dans l'espèce bovine.....	27
1.4.1.Les Agents biologiques.....	27
1.4.1.1.Les Bactéries.....	27
1.4.1.2.Les Virus.....	31
1.4.1.3.Les champignons.....	33
1.4.1.4.Les Levures.....	34
1.4.1.5.Les Protozoaires.....	34
1.4.2.Epidémiologie.....	36
1.4.3.Les Causes non-biologiques.....	38
1.4.3.1.Facteurs Nutritionnels (Alimentaires).....	38
1.4.3.2.Facteurs Chimiques.....	39
1.4.3.3.Facteurs Physiques.....	39
1.4.3.4.Facteurs Génétiques.....	39
1.4.3.5.Facteurs iatrogènes.....	40
CHAPITRE 2 : LA FIEVRE Q	41
2.1.Introduction.....	41
2.2.Caractéristiques de <i>Coxiella burnetii</i>	41
2.1.Symptomatologie de la fièvre Q chez les bovins.....	42
2.1.1.Le système génital.....	42

2.1.2.Le placenta.....	44
2.1.3.Le fœtus.....	44
2.1.4.Autres symptômes	45
2.2.Epidémiologie.....	45
2.2.1.Données de Prévalence	45
2.2.2.Facteurs de risque de <i>Coxiella burnetii</i> chez les bovins.....	51
2.3.Excrétion	52
2.3.1.Les voies d'excrétion.....	52
2.3.2.Facteurs de variation de l'excrétion.....	53
2.4.Voies de transmission	53
2.5.Diagnostic de la Fièvre Q.....	54
2.5.1.Méthodes de diagnostic direct.....	54
2.5.1.1.Isolement de <i>Coxiella burnetii</i>	55
2.5.1.2.La recherche bactériologique (bactérioscopie).....	55
2.5.1.3.L'Immunohistochimie.....	56
2.5.1.4.La réaction de polymérase en chaîne (Polymérase Chain Réaction, PCR).....	56
2.5.2.Méthodes de diagnostic indirect.....	57
2.5.2.1.Fixation du complément	57
2.5.2.2.Immunofluorescence indirecte	57
2.5.2.3.Micro agglutination	57
2.5.2.4.Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	58
2.5.3.Choix du protocole ou la démarche diagnostic à entreprendre	58
2.5.3.1.Avortement isolé	58
2.5.3.2.Avortements en série	59
2.5.3.3.Dépistage de la circulation de <i>Coxiella burnetii</i> au sein d'un troupeau	61
2.5.3.4.Le diagnostic de la fièvre Q chez les ruminants	62
2.6.Conclusion	63
CHAPITRE 3 : LA CHLAMYDIOSE BOVINE.....	64
3.1.Introduction	64
3.2.Caractéristiques de <i>Chlamydia abortus</i>	64
3.3.Symptomatologie de la Chlamydie chez les bovins.....	65
3.3.1.Le système génital	65
3.3.2.Autres organes.....	66

3.4.Epidemiologie.....	66
3.4.1.Données de prévalence	66
3.4.2.Facteurs de risque de <i>Chlamydia abortus</i> chez les bovins.	70
3.5.Excrétion	71
3.5.1.Voies d'excrétion	71
3.5.2.Facteurs de variations de l'excrétion	71
3.6.Diagnostic de <i>Chlamydia abortus</i>	72
3.6.1.Le diagnostic direct	72
3.6.2.Le diagnostic indirect	73
3.7.Conclusion	75
CHAPITRE 4 : LA TOXOPLASMOSE BOVINE	76
4.1.Introduction	76
4.2.Caractéristiques et cycle de multiplication de <i>Toxoplasma gondii</i>	76
4.3.Symptomatologie de la toxoplasmose chez les bovins	78
4.4.Epidemiologie.....	79
4.4.1.Données de prévalence	79
4.4.2.Facteurs de risques de <i>Toxoplasma gondii</i>	84
4.5.Diagnostic de <i>Toxoplasma gondii</i>	85
4.5.1.Diagnostic sérologique	85
4.5.2.Diagnostic parasitologique	87
4.5.3.Etude étiologique des avortements	88
4.6.Conclusion	89
CHAPITRE 5 : PREVALENCE DE COXIELLA BURNETII, CHLAMYDIA ABORTUS ET TOXOPLASMA GONDII CHEZ LES VACHES AVORTEES DANS LA REGION DE LA MITIDJA	90
5.1.Introduction	90
5.2.Matériel et méthodes.....	91
5.2.1.Données générales	91
5.2.2.Analyses sérologiques	92
5.2.3.Analyses statistiques.....	94
5.3.Résultats et Discussion.....	95
5.3.1.Résultats de la prévalence individuelle apparente et réelle de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	95
5.3.1.1.Prévalence individuelle apparente	95

5.3.1.2.Prévalence individuelle réelle.....	98
5.3.2.Résultats de prévalences apparente et réelle du troupeau de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	100
5.3.2.1.Prévalence apparente du troupeau.....	100
5.3.2.2.Prévalence réelle du troupeau	104
5.3.3.Discussion.....	106
CHAPITRE 6 : ETUDE DES FACTEURS DE RISQUES ASSOCIES A LA SEROPREVALENCE DE COXIELLA BURNETII, CHLAMYDIA ABORTUS ET TOXOPLASMA GONDII CHEZ LES VACHES AVORTEES DANS LA REGION DE LA MITIDJA.....	110
6.1.Introduction	110
6.2.Matériel et méthodes.....	111
6.2.1.Méthodes statistiques	112
6.3.Résultats	113
6.3.1.Résultats de l'approche individuelle	113
6.3.1.1.Caractéristiques générales des vaches avortées.....	113
6.3.1.2.Résultats de l'analyse Univariée ($P < 0,20$) à l'échelle individuelle	115
6.3.1.3.Résultats de l'analyse multivariée à l'échelle individuelle ($P \leq 0,05$).....	118
6.3.2.Résultats de l'approche troupeau.....	120
6.3.2.1.Caractéristiques des troupeaux.....	120
6.3.2.2.Résultats de l'analyse univariée à l'échelle des troupeaux ($p < 0,20$).....	122
6.3.2.3.Résultats de l'Analyse multivariée à l'échelle des troupeaux	124
6.4.Discussion.....	126
DISCUSSION GENERALE	129
CONCLUSION	136
RECOMMANDATIONS	137
APPENDICE	138
A. LISTE DES SYMBOLES.....	138
B : Les Annexes.....	140
Annexe 1 : Histogrammes de fréquence du nombre de femelles en âge de reproduction [A] et du nombre d'avortements cliniques observés [B] durant la période d'étude	140
Annexe 2 : Résultats détaillés par élevage des nombres de femelles en âge de reproduction et d'avortements cliniques observés durant la période de l'étude ainsi	

que les nombres de résultats positifs, douteux et négatifs par pathogène recherché.....	141
Annexe 3: Composition des kits ELISA et mode opératoire.....	143
Annexe 4:Questionnaire relatif aux données générales des Troupeaux étudiés .	145
Annexe 5 : Questionnaire relatif aux données propres à la vache avortée	147
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	148

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Aide à l'estimation de l'âge du fœtus.....	23
Tableau 1.2 : épidémiologie des avortements.....	37
Tableau 2.1 : Caractéristiques de <i>Coxiella burnetii</i> selon son variant antigénique.....	42
Tableau 2.2 : Prévalence de la fièvre Q chez les ruminants domestiques en Europe.....	46
Tableau 2.3 : Prévalences de <i>Coxiella burnetii</i> à l'échelle individuelle chez les bovins selon la technique de laboratoire utilisée et la nature du prélèvement.....	48
Tableau 2.4 : Prévalences de <i>Coxiella burnetii</i> à l'échelle du troupeau chez les bovins selon la technique de laboratoire utilisée.....	50
Tableau 2.5 : Détermination du type d'infection à <i>Coxiella burnetii</i> selon les valeurs des titres en IgG anti-phase I ou II, et selon la présence d'IgM.....	54
Tableau 3.1 : Prévalences de <i>Chlamydia abortus</i> à l'échelle individuelle chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement.....	68
Tableau 3.2 : Prévalences de <i>Chlamydia abortus</i> à l'échelle du troupeau chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement.....	70
Tableau 4.1 : Prévalences de <i>Toxoplasma gondii</i> à l'échelle individuelle chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement.....	82
Tableau 4.2 : Prévalences de <i>Toxoplasma gondii</i> à l'échelle du troupeau chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement.....	84
Tableau 5.1 : Seuils d'interprétation du kit Elisa pour <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> , <i>Toxoplasma gondii</i>	94
Tableau 5.2 : Résultats de l'Analyse individuelle des 368 sérums bovins avortés par technique Elisa pour <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	95
Tableau 5.3 : Séroprévalences individuelles apparentes des anticorps contre <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	98
Tableau 5.4 : Séroprévalences individuelles réelles des anticorps contre <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	99

Tableau 5.5 : Résultats de l'Analyse des 124 troupeaux par la technique Elisa pour <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	100
Tableau 5.6 : Séroprévalences apparentes de troupeaux de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	103
Tableau 5.7 : Séroprévalences réelles des 124 troupeaux étudiés pour <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	104
Tableau 6.1 : Résultats descriptifs des caractéristiques des 368 vaches ayant avortées.....	114
Tableau 6.2 : Résultats de l'analyse univariée à l'échelle individuelle de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	116
Tableau 6.3 : Résultats de l'analyse multivariée par régression logistique à l'échelle individuelle des facteurs de risque associés à <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	119
Tableau 6.4 : Caractéristiques des 124 élevages audités.....	121
Tableau 6.5 : Résultats de l'analyse univariée à l'échelle du troupeau de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	123
Tableau 6.6 : Résultats de la régression logistique multivariée à l'échelle du troupeau pour les facteurs de risque recherches associés à <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	125

Liste des Figures

Figure 2.1 : Démarche diagnostique préconisée par l'ACERSA lors de suspicion de fièvre Q et lorsque la réalisation de 2 PCR quantitatives est possible.....	60
Figure 2.2 : Grille d'interprétation des résultats de PCR sur lait de tank et séroprévalence dans le cadre de la mise en évidence d'une circulation de fièvre Q au sein d'un troupeau bovin.....	61
Figure 5.1 : la zone d'étude « région de la Mitidja ».....	91
Figure 5.2 : Histogramme du Nombre de sérums douteux pour les trois pathogènes recherchés par Elisa.....	96
Figure 5.3 : Histogramme du Nombre de sérums positifs et Fortement positifs pour les trois pathogènes recherchés par Elisa.....	97
Figure 5.4 : Histogramme de la Séroprévalence individuelle apparente de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	98
Figure 5.5 : Histogramme de la Séroprévalence individuelle réelle de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	99
Figure 5.6 : Histogramme du nombre de troupeaux douteux pour les trois pathogènes recherchés.....	101
Figure 5.7 : Histogramme du nombre de troupeaux positifs et Fortement positifs pour les trois pathogènes recherchés.....	102
Figure 5.8 : Histogramme de la séroprévalence apparente des 124 troupeaux pour <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i>	103
Figure 5.9 : Histogramme de la répartition simultanée de <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Chlamydia abortus</i> et <i>Toxoplasma gondii</i> dans les 124 élevages étudiés.....	104
Figure 5.10 : Histogramme de la séroprévalence réelle des 124 troupeaux étudiés à l'encontre de <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Coxiella burnetii</i> et <i>Chlamydia abortus</i>	105

INTRODUCTION

Les avortements bovins d'origine infectieuse sont considérés comme l'une des principales causes de pertes économiques dont les conséquences sont très importantes, se traduisant par la diminution de la production laitière, la perte de veau, l'augmentation de l'intervalle entre vêlages, les frais d'entretien des animaux non productifs, les frais obligatoires lors d'application des traitements (interventions vétérinaires) réalisés pendant les suivis et éventuellement la reconstitution des cheptels la réforme prématurée de l'animal voire la perte du cheptel. Lorsqu'ils sont d'origine zoonotique telle que la brucellose, ils constituent par ailleurs un risque pour la santé publique [1]. L'avortement d'une vache dans un élevage doit toujours conduire le praticien à évoquer les maladies abortives, vu le pourcentage non négligeable des avortements provoqués par les agents infectieux (bactéries, virus, parasites, champignons) [2, 3], et dont la recherche et l'identification deviennent de plus en plus des tâches difficiles. Les avortements sont caractérisés par la difficulté d'un diagnostic étiologique, la multiplicité des facteurs responsables en fonction de l'environnement dans lequel les animaux vivent, la non-spécificité liée à l'espèce, la diversité des signes cliniques associés et l'absence relative de lésions pathognomoniques dont ils s'accompagnent.

Le diagnostic de la cause de l'avortement passe par l'anamnèse, l'examen clinique et l'observation de lésions. Mais ceci ne conduit souvent qu'à des suspicions de maladie étant à l'origine de l'avortement : pour pouvoir déterminer avec certitude cette cause, il faut le plus souvent réaliser des examens complémentaires. Malgré toutes ces démarches mises en place pour diagnostiquer l'origine d'un avortement, 50 % des avortements n'ont pas d'origine identifiée [4]. Les principales raisons de la difficulté à trouver la cause des avortements sont : la diversité des causes abortives, l'autolyse des lésions fœtales ou lésions peu visibles, facteurs génétiques et / ou toxiques non détectables et l'absence de signes cliniques annonciateurs d'avortement.

En Algérie, il existe peu de données sur l'épidémiologie et la prévalence des maladies infectieuses abortives chez les bovins excepté la brucellose vue que

c'est une zoonose à déclaration obligatoire et qui fait partie d'un programme national. Selon l'organisation mondiale de la santé « OMS », les bactéries sont considérées comme la première cause infectieuse de l'avortement. Les principaux germes responsables d'avortement chez les bovins sont *Brucella*, *Chlamydia abortus*, *Coxiella burnetii* [5]. Le peu de données concerne la séroprévalence et l'étiologie des différents agents infectieux chez les bovins en Algérie telle que la Chlamydie [6], la fièvre Q [7], la Toxoplasmose [6], la Rhinotrachéite infectieuse [8] et la brucellose [9, 10].

En Algérie, seule la brucellose est considérée comme maladie abortive chez les bovins, le reste des germes ne sont pas considérés à l'heure actuelle comme abortifs et ne font pas parties des maladies à déclaration obligatoire. Dans ce contexte, la présente étude s'est intéressé à la recherche de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* chez les vaches avortées et leurs éventuelle responsabilité quant à l'induction des avortements vu qu'il a été démontrés par des études précédentes leurs présences chez les bovins laitiers en Algérie [6, 7, 8].

La détermination et l'interprétation des valeurs de la prévalence des différents germes infectieux impliqués dans les cas d'avortements bovins différents en fonction des techniques et tests utilisés dans le laboratoire ainsi que du contexte de l'étude. En effet, il existe des techniques communes à la recherche de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* exemple la PCR (*Polymérase Chain Réaction*), le test ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) ou le test d'immunofluorescence indirecte. Cependant, il existe des techniques plus spécifiques à la recherche de *Coxiella burnetii* (test de fixation du complément), *Chlamydia abortus* (test de fixation du complément, test de précipitation en gel d'Agar, test indirect d'hémagglutination) et *Toxoplasma gondii* (test d'agglutination direct, test d'agglutination après immunocapture, test de coloration de Sabin-Feldman, test indirect d'hémagglutination) [11, 12, 13].

L'objectif de la présente étude est la recherche de la séroprévalence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* par l'utilisation de la technique d'Elisa, et leurs degrés d'implication dans le processus des avortements bovins en Algérie et l'identification des différents facteurs de risques associés.

Le présent document comporte deux parties : la première constitue une revue bibliographique s'intéressant aux différentes notions générales des avortements bovins, les agents abortifs en générale et particulièrement *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*. La seconde partie ; s'intéresse à la recherche de la prévalence et les facteurs de risque associés à l'exposition aux germes recherchés à l'échelle individuelle et du troupeau. Ces deux parties sont représentées en six chapitres :

CHAPITRE 1 : Généralités sur les avortements bovins.

CHAPITRE 2 : La Fièvre Q.

CHAPITRE 3 : La Chlamydiose bovine.

CHAPITRE 4 : La Toxoplasmose bovine.

CHAPITRE 5 : Prévalence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* chez les vaches avortées dans la région de la Mitidja.

CHAPITRE 6 : Etude des facteurs de risques associés à la séroprévalence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* chez les vaches avortées dans la région de la Mitidja.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LES AVORTEMENTS BOVINS

1.1. Définition et quantification de l'avortement

D'un **point de vue légal** et d'après le Décret français du 24 décembre 1965: "Est considéré comme avortement, l'expulsion d'un fœtus ou d'un veau, né mort, ou succombant dans les 48 heures après la naissance". D'un **point de vue biologique**, l'avortement correspond à l'interruption de la gestation entre le 42^{ème} et le 260^{ème} jour suivi ou non de son expulsion. Avant le 42^{ème} jour de gestation, il s'agit de mortalité embryonnaire et entre 260 et 285 jours, la mise-bas est considérée comme prématurée [14, 15, 16].

L'avortement peut être **clinique** avec mise en évidence par l'éleveur ou le vétérinaire de l'avorton et de ses annexes [17], ou **subclinique** en l'absence d'observation de l'avorton et ses annexes mais sur base du diagnostic d'absence d'involution utérine complète, d'un constat de gestation négatif ou d'un retour en chaleurs ayant suivi un constat de gestation positif [18, 19].

La fréquence est le nombre de fois qu'un évènement se produit dans une population pendant un intervalle de temps déterminé (année, mois ou période à risque). On distingue la fréquence absolue (nombre d'évènements) et relative (nombre d'évènements rapportés à l'effectif de la population concerné par la pathologie à savoir le nombre d'animaux gestants : elle s'exprime en %). Pour la facilité, cette fréquence d'avortements peut être calculée par le rapport (multiplié par 100) entre le nombre d'animaux qui ont avorté et le nombre d'animaux qui ont accouché normalement durant la période considérée (année, mois.) [19].

La fréquence des avortements dans l'espèce bovine est éminemment variable selon les continents, pays, régions et les contextes d'élevage. Il est classiquement admis qu'elle est comprise entre 3 et 6 % [15, 19].

1.2. Conduite à tenir lors d'avortement bovin

Dans la majorité des pays, compte tenu de ses conséquences sur la santé animale et humaine, l'avortement est une maladie à déclaration obligatoire. L'éleveur doit donc en informer son vétérinaire qui devra procéder à la collecte des commémoratifs cliniques de l'animal concerné et de l'élevage et procéder à des prélèvements [20, 21]. Le vétérinaire sera également tenu d'informer les services sanitaires de la région.

1.2.1. L'anamnèse

Elle sera aussi complète que possible. Les éléments ainsi rassemblés permettront d'orienter le diagnostic qui ne sera confirmé que par des analyses complémentaires de laboratoire. Elle tiendra compte des caractéristiques épidémiologiques des avortements [21]. Ces caractéristiques sont :

1.2.1.1. La contagiosité

D'une manière générale, on peut considérer que les agents responsables entraînent rarement une fréquence élevée d'avortements dans un troupeau. Ces derniers ne se manifesteront donc habituellement que de manière sporadique. La brucellose et la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR), surtout si cette infection virale se manifeste dans des troupeaux non vaccinés constituent des exceptions. Il faut également noter que la présence d'autres espèces animales telles que les carnivores domestiques et les rongeurs peuvent contribuer à disséminer des agents responsables tels que le *Leptospire*, le *Toxoplasma*, le *Neospora* ou le *Sarcocyste* [19, 21].

On remarquera également que certains agents pathogènes sont des commensaux voire des parasites obligés du tractus génital (*Actinomyces pyogènes*, *Campylobacter fetus*, *Haemophilus*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Tritrichomonas*) ou des muqueuses oculaires ou nasales (*Actinomyces pyogènes*) [15, 19].

Enfin, il n'est pas inutile que divers agents étiologiques peuvent être responsables d'anthropozoonose: brucellose, fièvre Q, listériose, leptospirose, toxoplasmose.

1.2.1.2. Les voies de contagion

La voie oro-nasale est une voie privilégiée. Cela pose le problème de la qualité de conservation des aliments (Listériose, Leptospirose, Champignons, Levures) et de leur contamination potentielle par des animaux domestiques ou des rongeurs (les protozoaires) ou par les sécrétions génitales après un avortement [15, 19].

Certains agents responsables peuvent également être transmis par la voie vénérienne. Ainsi en est-il du virus de la diarrhée virale bovine (BVD), du *Campylobacter fetus*, de la *Chlamydia*, du *Leptospire*, de la vulvo-vaginite pustuleuse infectieuse (IPV), du *Trichomonas*. Ces caractéristiques rendent plus nécessaires le degré d'hygiène de l'insémination artificielle et la monte naturelle [21].

Dans certains cas la transmission transplacentaire est également observée (*BVD*, *Toxoplasmose*, *Néosporose*). Cette voie induit l'apparition possible de porteurs chroniques dans la descendance des animaux atteints [21].

Il faut également signaler la transmission de la fièvre Q par les tiques.

1.2.1.3. Le moment d'apparition

La détermination du moment de l'avortement constitue une première démarche importante qui permettra au praticien d'orienter le diagnostic ou la recherche complémentaire requise. Dans la majorité des cas, l'expulsion de l'avorton sera observée au cours du dernier tiers de la gestation. Cette règle souffre d'exceptions. Ainsi, les avortements sont-ils observés quel que soit le stade de gestation en cas d'infection par *Haemophilus somnus*. Ils le sont davantage au cours de la première moitié de la gestation après une infection par le *BVD*, le *Trichomonas foetus* ou le *Toxoplasma gondii*. Ils le sont au cours du deuxième tiers en cas d'infection par *Candida*, *Neospora* ou *Campylobacter fetus*. Cette répartition ne revêt qu'une valeur indicative [4, 21]. On ne peut se prévaloir que de périodes pendant les quelles l'expulsion de l'avorton est habituellement observée. Cela ne signifie donc pas que ces périodes soient identiques à celles pendant lesquelles l'agent pathogène a exercé son effet délétère. Il peut en effet y avoir de larges variations dans les périodes d'incubation entre agents pathogènes et pour un même agent pathogène. Sur le plan pratique, cette observation pose par

exemple le problème de l'interprétation des analyses sérologiques réalisées. La caractérisation du stade de gestation se fera dans certains cas sur base de la détermination de l'âge fœtal. Il peut être estimé grâce à la mesure de la longueur comprise entre la base de la tête et base de la queue selon la formule de Richardson $X = 2,5Y + 52,5$ où Y est la longueur du fœtus de la base de la tête à la base de la queue et X le nombre de mois de gestation [22, 21]. Indirectement, l'âge du fœtus peut également être déterminé par l'identification de ses différentes structures et caractéristiques (tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Critères d'estimation de l'âge du fœtus [22, 23, 24, 25, 26, 27].

Age (mois)	Taille	Longueur (CRL) (cm)	Poids	Caractères morphologiques
1		1	0,6 g	Bourgeons des ergots visibles
2	Souris	6 à 8	8 à 30 g	Paupières couvrant les globes oculaires Scrotum et clitoris présents Apparition des ébauches des onglons et des cornes
3	Rat	13 à 15	200 à 400 g	Poils sur les lèvres, le menton et les paupières Compartiments gastriques distincts
4	Petit chat	23	1 à 2 kg	Léger duvet sur les paupières et autour du mufle Oreilles nettement détachées Onglons développés Premières incisives perceptibles Apparition de la pigmentation sur la tête
5	Gros chat	37	3 à 4 kg	Cils sur les paupières Testicules dans le scrotum Bourgeons mammaires Extension de la pigmentation à tout le corps sauf sur les extrémités des membres Extension des poils sur la tête
6	Petit chien	40 à 60	5 à 10 kg	Poils dans le conduit auditif, sur les bourgeons des cornes le bout de la queue et le mufle
7	Chien moyen	55 à 75	8 à 18 kg	Extension des poils (duvet) à tout le corps y compris les extrémités Longs poils sur l'extrémité de la queue Extension de la pigmentation à tout le corps y compris les membres
8	Gros chien	60 à 85	15 à 25 kg	Poils courts sur tout le corps Fin duvet sur le ventre et la face interne des membres Incisives non sorties
9		85	20 à 50 kg	Poils longs sur tout le corps Molaires et incisives sorties

CRL : Longueur base de la tête-base de la queue.

Les données de longueur et de poids sont indicatives, des différences pouvant être observées entre les races.

1.2.1.4. La symptomatologie clinique

L'avortement est loin d'être le symptôme dominant. Ce sera le cas néanmoins lors d'une infection par *Brucella* ou *Leptospira*. L'infection peut également se traduire par des atteintes inflammatoires du tractus génital (germes à transmission vénérienne) ou des systèmes : respiratoire (*IBR*, *Haemophilus*), digestif (*BVD*,

Salmonella, *Listéria*), nerveux (*Néosporose*) ou mammaire (*Leptospirose*). Ces symptômes ne constituent pas nécessairement des prodromes d'un avortement. Il faut également préciser que la naissance de veaux chétifs ou présentant des retards de croissance peut être symptomatique de l'un ou l'autre agent étiologique et en particulier du *BVD*, et de la leptospirose [28].

1.2.1.5. La saison

L'augmentation de la fréquence des avortements pendant la période hivernale, saison d'ouverture des silos, peut faire penser à la Listériose ou à une infestation par des champignons et des levures [19].

1.2.1.6. Les caractéristiques macroscopiques de l'avorton et du placenta

Il est bien difficile de poser un diagnostic étiologique sur la base de l'examen macroscopique de l'avorton et du placenta. L'avorton sera habituellement autolysé [21]. Il présentera des lésions cutanées en cas d'infestation par les champignons. Le placenta ne présentera des lésions typiques qu'en cas d'atteinte par les champignons ou les toxoplasmes (zones de calcification). La rétention sera habituelle mais plus nette lors d'infestation par les champignons [19, 28].

1.2.2. Les prélèvements

On réalise des prélèvements pour la recherche dans un premier temps de la brucellose, au minimum un prélèvement sanguin sur tube sec et un prélèvement de cotylédons fœtaux. Dans un deuxième temps et si l'accord de l'éleveur est obtenu il peut demander la recherche d'autres agents infectieux pouvant être à l'origine de l'avortement. Les prélèvements sont, dans l'idéal, le placenta et l'avorton entier mais, la plupart du temps, l'avorton n'est pas retrouvé. Et, dans l'incapacité d'envoyer le placenta, il faut envoyer trois écouvillons vaginaux [28].

En France, selon le protocole commun Meuse Meurthe et Moselle, la démarche du diagnostic différentiel des avortements des bovins prend compte à fois les causes infectieuses et non infectieuses, la partie sur les causes infectieuses est basée sur un travail réalisé au niveau national (Groupe de travail pour le diagnostic différentiel des avortements chez les bovins de la commission

nationale) réunissant les GDS (groupement de défense sanitaire), GTV (groupement technique vétérinaire), laboratoires, ...[21].

Le plan entrepris par le protocole commun Meuse Meurthe et Moselle lors d'apparition des avortements en séries est mis en place selon les situations. On distingue deux, soit des avortements rapprochés dans le temps sur une période courte (2 avortements sur moins de 30 jours) ; soit des avortements plus espacés sur une période plus longue (Pour les troupeaux de moins de 100 femelles mises à la reproduction : dès le troisième avortement sur une période maximale de 9 mois, Pour les troupeaux de plus de 100 femelles mises à la reproduction : 4% ou 3 avortements associé à un avortement par tranche supplémentaire de 30 femelles mises à la reproduction sur une période maximale de 9 mois) [29].

Le plan avortements en séries comporte 4 étapes [29] :

Une enquête épidémiologique (audit d'élevage et fiche commémorative des femelles avortées) et séro-virologique dite de **1^{ère} intention** (dans un premier temps la recherche de la Fièvre Q ; La Néosporose ; La Diarrhée Virale Bovine), ces analyses seront réalisées sur la dernière vache avortée idéalement au cours des 48H suivant l'avortement ou au plus tard pendant les 15 jours suivants [30, 31], et sur 6 vaches à problèmes (vaches à problème de reproduction dans les 4 mois précédents : vaches à non délivrance, à métrite notamment récurrente, à retour en chaleur et en complétant, si nécessaire, pour 3 vaches maximum sur 6 avec des animaux du même lot ne présentant pas de problème dont si possible 3 primipares). Pour la dernière vache ayant avortée, les prélèvements seront : un Ecouvillon endocervical, du liquide stomacal de l'avorton, du placenta, des organes de l'avorton (rate, foie) et un prélèvement sanguin sur tub sec pour la vache avortée ainsi que pour les 6 vaches présentant des problèmes de reproduction [30, 31, 32, 33].

Des analyses effectuées de manière obligatoire sur la mère et l'avorton: Si d'autres avortements surviennent après la mise en place du protocole, en plus de la recherche de la Fièvre Q, la Néosporose, et du BVD ; on recherchera la salmonellose, la listériose et les origines mycosiques [28].

Une enquête sérologique dite de 2^{ème} intention: cette dernière est enclenchée, si les premières analyses (analyses 1^{ère} intention) n'ont pas permis de conclure, il

peut être réalisé d'autres recherches ; Dans ce cas le choix des maladies à rechercher doit alors être ajusté à l'échelon local voire de l'élevage (contexte épidémiologique, historique, impact réel de l'agent abortif recherché, ...) : ceci est laissé à l'appréciation du vétérinaire qui suit l'évolution de la situation au sein de l'élevage. Dans ce cas de figure, la recherche de la chlamydie, la leptospirose, l'IBR, Les maladies à tiques telles que Lyme, Ehrlichiose ou Anaplasmose (*Anaplasma Marginale*) est préconisée et réalisés sur la dernière vache ayant avortée et sur les 6 vaches a problèmes préalablement sélectionnées. Un prélèvement de sang sur tube sec sera effectué [28, 31]. En l'absence de diagnostic posé, il faut penser à explorer les maladies réglementées ou à déclaration obligatoires telles que la fièvre catarrhale ovine (FCO), voire le Schmallenberg (maladies non réglementée mais d'actualité). Cependant, d'autres pathologies telles que *Anaplasma Marginale*, Toxoplasmose ne pourront être analysées qu'en dernier recours, leur implication directe dans les avortements de bovins étant extrêmement limité [21, 31].

Des analyses des causes non infectieuses : L'enquête épidémiologique doit permettre de dégager des facteurs de risques et/ou d'avoir des présomptions sur des causes possibles d'avortement d'origine non infectieuse. Ceci concernera principalement l'eau d'abreuvement (forage, puits), la mortalité élevée observée dans l'élevage du a une poly carences en Cuivre (Cu), en Zinc (Zn), en Sélénium (Se), et en Iode (I). Et les origines alimentaires (mycotoxines, l'ergot de seigle, phytoestrogènes) ou les polluants (nitrates) [19].

1.3. Difficulté du diagnostic étiologique des avortements bovins

Il est classiquement admis qu'un diagnostic étiologique d'avortement n'est posé que dans 10 à 37 % des cas [19]. Il faut y voir plusieurs raisons.

La première est imputable à leur diversité. Les agents responsables d'avortements sont en effet de nature biologique tels les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons et les levures ou non biologique comme les facteurs nutritionnels, chimiques, physiques, génétiques ou iatrogènes. Chacun d'entre eux présente des caractéristiques de résistance, de transmission, de pathogénie, de manifestations cliniques et anatomopathologiques et de moment d'apparition qui dans un certain nombre de cas sont encore loin d'être précisées. Par ailleurs, les

facteurs responsables d'avortement ne sont habituellement pas spécifiques d'une espèce animale. De plus, leur effet pathogène dépend de l'environnement géographique, nutritionnel ou de gestion des animaux qu'ils concernent. L'avortement ne constitue pas nécessairement le seul, voire le plus important, signe d'une infection ou infestation. On rappellera également que les lésions macroscopiques induites chez la mère ou l'avorton sont rarement pathognomoniques. Enfin, il convient de noter que l'identification d'un germe dans un fœtus ne permet pas de conclure de manière absolue à son rôle étiologique [28, 31].

1.4. Les principaux facteurs responsables d'avortement dans l'espèce bovine

Les causes d'avortement sont multiples [19]. On distingue classiquement les causes biologiques (bactéries, virus, protozoaires, champignons) [34, 35] et des causes non biologiques (alimentation, facteurs physiques, chimiques, génétiques iatrogènes) [35]. Selon leur nature, ils peuvent concerner l'individu ou le troupeau.

1.4.1. Les Agents biologiques

1.4.1.1. Les Bactéries

Dans la majorité des cas, les avortements causés par des bactéries se manifestent de manière sporadique. Ils se répartissent en deux groupes. Le premier concerne des germes ubiquitaires qui ne sont habituellement pas responsables de pathologies chez l'animal adulte : *Actinomyces pyogènes*, *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Streptococcus spp.* Ils représentent 61 % des cas d'avortements bactériens. Ne se propageant pas d'un animal à l'autre, ils n'entraînent généralement pas de problèmes à l'échelle du troupeau et leur identification peut de ce fait être considérée comme d'importance mineure. Le second groupe est représenté par les bactéries qui sont pathogènes pour l'animal adulte : *Brucella*, *Leptospira*, *Pasteurella*, *Salmonella*, *Haemophilus somnus* [2]. Leur contagiosité les rend responsables de problèmes au niveau du troupeau [35, 36, 37].

La fréquence de la Brucellose, pathologie à déclaration obligatoire due à *Brucella abortus* a considérablement diminué depuis la mise en place de plans d'éradication (maladie à déclaration obligatoire) et le recours à l'insémination

artificielle. L'avortement en est le signe clinique habituel (80 % des animaux exposés au germe avortent) [38]. Il est habituellement observé après le 5^{ème} mois de gestation au terme d'une période d'incubation de 2 semaines à plusieurs mois. Il s'accompagne habituellement de rétention placentaire et de métrites et donc d'une élimination du germe pendant 3 semaines environ [19, 20, 37]. Cette pathologie peut parfois se traduire par des boiteries, des mammites, des lymphadénites et des orchites [38]. L'infection se transmet surtout par voie orale. L'identification de la bactérie (liquides stomacaux, poumons du fœtus, placenta, sécrétions utérines, lait) est indispensable à la confirmation du diagnostic. La brucellose est une anthroozoonose (fièvre ondulante) à déclaration obligatoire.

Les cas d'avortements dus à la Salmonellose sont à caractère sporadique et rencontrés surtout chez les génisses pendant le dernier tiers de la gestation [36, 39]. L'avortement est généralement précédé d'une entérite parfois aiguë ou d'une hépatite. La gestation quand a elle peut aussi se terminer par la naissance de veaux mort-nés hébergeant des salmonelles [20].

La Chlamydiose (*Chlamydia abortus*) est considérée comme pathogène dans de nombreuses espèces animales dont la vache mais surtout la brebis et la chèvre (*Chlamydia psittaci*). Ce germe (rickettsie) est une bactérie intracellulaire obligé dont la transmission se fait surtout par voie orale mais aussi vénérienne ou par inhalation. L'avortement fait suite à une placentite chronique. Le diagnostic est difficile car l'image de la bactérie n'est pas typique et sa présence se traduit parfois par des troubles intestinaux bénins s'accompagnant d'une sérologie positive [19, 20, 40].

La Listériose est le plus souvent due à *Listeria monocytogenes*. Sa présence a été démontrée dans le sol, les matières fécales, l'eau, les ensilages mal conservés et le tube digestif de divers vertébrés et invertébrés. L'avortement s'observe le plus souvent au cours des trois semaines suivant la mise en service d'un ensilage et concerne le dernier trimestre de la gestation. Il se manifeste sous forme sporadique. A la différence des avortements provoqués par d'autres bactéries, l'avortement du au genre *Listeria* est plus fréquemment précédé et/ou suivi de signes cliniques tels que la diarrhée, des troubles nerveux (encéphalite), de la métrite et de l'amaigrissement. Il s'accompagne également plus fréquemment de

réétention placentaire. On se souviendra que la *Listeria* peut être responsable de zoonose dans l'espèce humaine (avortement, septicémie, encéphalite) [20, 41].

Les Ureaplasmes (*Ureaplasma diversum* : hydrolyse de l'urée à la différence des *mycoplasmes*) et les *mycoplasmes* (*Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovis*) ont été occasionnellement rendus responsables d'avortements sporadiques (*M. bovis*, *Ureaplasma*) au cours de la deuxième moitié de la gestation et d'infertilité suite à l'inflammation du tractus génital (vaginite, cervicite, métrite, salpingite: *M. bovis*, *Ureaplasma*) qu'ils induisent [35]. Leur implication est rendue difficile par le fait qu'ils peuvent être naturellement présents dans les voies génitales du mâle et de la femelle, que leur pouvoir pathogène varie entre les souches et que leur conservation dans les prélèvements est difficile [19].

Le genre Leptospire interrogans est responsable d'avortement en cas d'infection chronique [2]. Il s'observe au cours des deux derniers trimestres de la gestation [35]. L'infection peut également se traduire par la naissance de veaux chétifs [20]. Etant donné la longue période d'incubation, les animaux présentent le plus souvent une séroconversion avant l'avortement, aussi, le prélèvement qui sera couplé est de peu d'utilité. Cette pathologie est transmissible à l'homme chez qui elle peut entraîner de la méningite et une pathologie hépatorénale. La vaccination constitue la principale méthode d'éradication [42].

La Vibriose ou Campylobactériose est due à une bactérie Gram négative, spécifique aux bovins, le *Campylobacter fetus venerealis* provoque que très rarement des troubles de la gestation chez les bovins [35]. Le mâle est habituellement un porteur asymptomatique tandis que la femelle subit davantage les conséquences cliniques d'une infection qui se traduit surtout par une inflammation locale du tractus génital, de l'infertilité et de la mortalité embryonnaire et moins souvent (10% des cas) par un avortement [43, 44] entre le 4^{ème} et le 6^{ème} mois de gestation selon la vitesse de multiplication des germes [45, 46]. L'identification du germe dans les sécrétions génitales du mâle ou de la femelle est indispensable pour confirmer le diagnostic. Elle s'avère cependant difficile puisque requérant des conditions particulières de milieux de culture et de tension en oxygène. Des prélèvements répétés seront souvent nécessaires. Le fœtus ne présente aucune lésion caractéristique. Le placenta est œdémateux et à l'aspect du cuir [20]. L'insémination artificielle constitue la principale mesure pour

éradiquer le problème. Dans le cas contraire, la vaccination annuelle sera d'application [19].

La Fièvre Q est due à une rickettsie *Coxiella burnetii*, très résistante dans le milieu extérieur, transmissible à l'homme. C'est donc une zoonose, observée dans le monde entier, cette pathologie se rencontre plus fréquemment dans les zones tropicales que tempérées et chez ces dernières plus fréquemment dans les zones méditerranéennes que les autres. Sa dispersion est assurée par les tiques mais aussi par les animaux sauvages. Il peut donc y avoir une distribution saisonnière assurée également par des accouchements groupés. L'infestation se fait le plus souvent par inhalation de poussières, voire au travers d'une lésion cutanée. La voie orale est décrite mais rare. L'homme est le seul être vivant capable de développer des signes cliniques (fièvre, maux de tête, signes de pneumonie ...). L'animal, est en général un porteur asymptomatique à l'exception toutefois de l'avortement ou de l'accouchement prématuré, situations privilégiant la dispersion des Coxielles dans le milieu extérieur via les liquides amniotiques ou allantoïdiens, le placenta, le lait, l'urine, les matières fécales. Ce germe est très résistant dans le milieu extérieur et provoque chez les bovins mais surtout chez les ovins et caprins des accouchements prématurés ou des avortements asymptomatiques [19, 20, 40, 47].

Diverses bactéries ont été occasionnellement identifiées dans les avortons et les placentas : *Actinomyces pyogènes*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus licheniformis* ; *Escherichia. Coli*, *Fusobacterium necrophorum*, *Haemophilus somnus*, *Nocardia asteroides*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Serratia narcescens*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Yersinia pseudotuberculosis* [2, 35]. Les avortements s'observent quel que soit le stade de gestation mais le plus souvent dans sa deuxième moitié. Ils ne sont pas précédés de signes spécifiques. Ils s'accompagnent ou non de rétention placentaire. Les germes impliqués vivent dans l'environnement de l'animal et peuvent être identifiés normalement dans des avortons. Ils ne seront rendus responsables de l'avortement qu'après les avoir identifiés en culture pure dans les prélèvements réalisés en présence de lésions inflammatoires le plus souvent au niveau des poumons et du placenta et en l'absence d'autres causes possibles [19].

1.4.1.2. Les Virus

Les conséquences d'une infection virale dépendent du stade de gestation auquel l'infection a été contractée. Le plus souvent au cours des deux premiers trimestres, l'infection se traduira par une mortalité embryonnaire ou fœtale, l'avortement proprement dit pouvant s'observer selon un délai variable [2, 48]. Il en résulte l'expulsion d'un fœtus qui sera le plus souvent autolysé. Une infection contractée au cours du dernier trimestre, s'accompagnera d'une réponse immunitaire suffisante pour permettre au fœtus de naître à terme ou si la réponse immunitaire est excessive d'induire un état de stress chez le fœtus qui dans ce cas sera expulsé prématurément. Dans ce second cas l'autolyse ne sera pas systématiquement observée.

L'herpès virus de type 1 (BoHV-1) constitue la principale cause d'avortement en Amérique du Nord [49]. Il est également responsable de vulvo-vaginite, de balanoposthite, de pathologies respiratoires, de conjonctivite et d'encéphalomyélite [48, 50]. La manifestation clinique (respiratoire vs génitale) dépendra la plus souvent de la voie de contamination (intra nasale vs vénérienne y compris le matériel d'insémination). Comme d'autres virus du groupe, le *BoHV1* peut demeurer à l'état latent chez l'animal et être réactivé lors de stress (transports, parturition) ou de traitements aux corticoïdes. Ce virus est sensible à la plupart des désinfectants mais peut survivre plusieurs jours dans l'environnement. La maladie peut être contrôlée par la vaccination au moyen de vaccins marqués (vaccins vivants atténués et vaccins inactivés) qui permettent le diagnostic différentiel entre des animaux vaccinés et des animaux atteints par une souche sauvage. Quoique observé pendant toute la gestation, l'avortement survient le plus souvent au cours de sa deuxième moitié, quelques jours à plusieurs mois après une contamination ou une manifestation respiratoire voire l'injection d'un vaccin vivant, ce qui explique l'absence habituelle de symptômes chez l'animal lors de l'avortement [51, 52]. L'exposition au virus d'un troupeau indemne peut se traduire par l'avortement de 25 à 60 % des animaux gestants. Les avortements plus sporadiques se rencontreront dans les troupeaux vaccinés. L'infection contractée au cours des 15 premiers jours suivant une insémination peut également entraîner une mortalité embryonnaire précoce résultant soit d'une nécrose lutéale, l'embryon étant protégé jusqu'au 8^{ème} ou 9^{ème} jour par sa

pellucide ou plus tard d'une cytolysse trophoblastique [48]. Le virus ne pourra être rendu responsable de l'avortement qu'une fois isolé ou son antigène identifié dans les tissus tels que le placenta (tissu de prédilection surtout si le fœtus est autolysé), le foie, la rate, les poumons ou les reins. Chez le fœtus, les anticorps ne sont que rarement détectés étant donné sa mort rapide après l'infection [19, 20, 35].

L'infection par le virus de la maladie des muqueuses (*pestivirus*) se traduit cliniquement de différentes manières [20, 53]. Le plus fréquemment, l'exposition d'un animal immunocompétent au virus n'engendre qu'une légère fièvre et leucopénie (manifestation subclinique). La manifestation clinique concerne davantage les animaux immunocompétents, âgés de 6 mois à 2 ans. Elle est rarement mortelle mais entraîne un pourcentage élevé de morbidité dans le troupeau: léthargie, anorexie, fièvre, écoulements nasaux, diarrhée, érosions buccales, chute de production laitière [53]. La virémie dure une quinzaine de jours, période pendant laquelle le virus est excrété dans le milieu extérieur. Les animaux exposés présentent plusieurs semaines après l'exposition une séroconversion. L'infection du fœtus par une souche non-cytopathogène au cours des 4 premiers mois de la gestation se traduit par la naissance d'un veau vivant mais qui sera infecté de manière persistante. Chétifs, présentant un retard de croissance, la plupart d'entre eux meurent au cours des 6 voire 12 premiers mois. Certains néanmoins peuvent atteindre l'âge adulte et se reproduire. Leur descendance sera infectée également de manière persistante. La transmission de l'infection se fait par voie orale, respiratoire, transplacentaire ou vénéérienne.

En pratique, l'infection d'un troupeau par le *BVD* entraîne un risque majeur à savoir l'infection de l'embryon ou du fœtus. Ses conséquences sont de nature diverse selon le stade de gestation puisqu'en effet elles dépendent de la présence ou non de la capacité pour le fœtus de présenter ou non une réaction immunitaire, celle-ci étant acquise entre le 120^{ème} et le 150^{ème} jour de gestation, la période critique étant le 125^{ème} jour de gestation. Le diagnostic de la maladie des muqueuses présupposera la collecte d'informations de troupeau (identification du problème de reproduction, introduction de nouveaux animaux, plan de vaccination, symptomatologie, groupes d'animaux atteints...). La recherche d'*anticorps* dans le sang maternel est possible mais n'offre que peu de valeur diagnostique à moins

d'une augmentation significative de leur concentration ou de leur absence. La coexistence de lésions macroscopiques et du virus doit être considérée comme pathognomonique. L'infection sera contrôlée par élimination après dépistage des infectés chroniques persistants et par le recours à la vaccination virale [19, 20, 35, 53].

L'infection du fœtus par le virus de la Blue Tongue (22 sérotypes identifiés) demeure exceptionnelle. Elle concerne surtout les états du sud et de l'ouest des USA [35]. Ce virus est transmis par un arthropode: *Culicoides varripennis*. Contractée avant le 150^{ème} jour de gestation, elle se traduit par de la momification, de l'avortement ou la naissance de veaux présentant des lésions du système nerveux central (hydrocéphalie) ou plus caractéristique, un excès de développement de la muqueuse sur les incisives [19].

Comme d'autres virus de la famille des Bunyavirus, le Virus Akabane est responsable de lésions congénitales, de momification ou d'avortements [2, 54]. Ces virus sont transmis par des tiques et des moustiques [55].

1.4.1.3. Les champignons

Une vingtaine d'espèces de champignons a été rendue responsables de 2 à 20 % des cas d'avortements chez les bovins. Elles sont moins fréquemment responsables d'avortements dans les espèces ovine, caprine. Elles sont ubiquistes dans l'environnement. Deux familles de champignons sont fréquemment impliquées dans les avortements chez les bovins: les mucoracées et les aspergillacées [35]. Au nombre des premiers, il faut surtout mentionner les genres *Absidia*, *Mortierella*, *Rhizomucor* et *Rhizopus*, *Penicillium*, *Exopholia* et *Wangiella* tandis qu'au nombre des seconds il faut surtout citer *Aspergillus fumigatus* et dans une moindre mesure *A. flavus*, *A. terreus* et *A. nidulans*. *A. fumigatus* serait responsable de 60 à 80 % des avortements dus à des champignons [19, 56].

Les avortements par les champignons présentent plusieurs caractéristiques épidémiologiques: ils sont le plus souvent sporadiques (un à deux animaux concernés) [2], se manifestent avec une fréquence élevée au cours de l'hiver voire du printemps surtout si l'été a été pluvieux, ils récidivent de manière importante

d'une année à l'autre dans des étables peu aérées et humides. Ils concernent rarement plus de 10 % des animaux gestants. L'avortement se manifeste le plus souvent au cours du dernier trimestre de la gestation. Il ne s'accompagne pas de signes prémonitoires. L'expulsion du fœtus s'observe le plus souvent dans les 24 premières heures. L'examen du placenta est essentiel. La rétention du placenta est commune et le plus souvent très adhérente, le cotylédon maternel pouvant être expulsé en même temps que le placenta surtout en cas d'infection par les mucoracées. Le cotylédon est dense, jaunâtre, nécrosé tandis que les zones intercotylédonnaires sont épaissies et présentent un aspect semblable à du cuir. Les voies respiratoires et digestives seraient les principales voies d'entrée des champignons et levures [19].

1.4.1.4. Les Levures

Organismes unicellulaires, les genres *Candida* et *Torulopsis* sont responsables d'avortements entre le 5^{ème} et le 6^{ème} mois de gestation. Une placentite nécrosante est le plus souvent observée [19].

1.4.1.5. Les Protozoaires

Les avortements dus à des protozoaires impliquent les genres *Tritrichomonas foetus*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis* et *Neospora spp*, ces trois dernières espèces faisant partie de la famille des Sarcocystidae [2, 35]. Les membres de cette famille présente la particularité de se reproduire de manière sexuée dans le tube digestif de l'hôte définitif et de manière asexuée dans les tissus de l'hôte intermédiaire [20, 28, 57, 58].

Le *Tritrichomonas foetus* est l'agent responsable de la trichomoniose. Sa symptomatologie est comparable à celle de la vibriose. Essentiellement transmis par voie vénérienne, ce parasite obligé du tractus génital mâle (smegma préputial, prépuce, pénis, portion distale de l'urètre) ou femelle (vagin, utérus et oviductes) entraîne le plus souvent de l'infertilité et de la mortalité embryonnaire et plus rarement un pyomètre post-coïtal et de l'avortement le plus souvent au cours des 5 premiers mois de gestation [46, 59]. Il n'existe pas de diagnostic immunologique sérologique. L'identification d'anticorps dans le mucus cervico-vaginal est

néanmoins possible mais le test n'est pas commercialisé. La maladie peut être en partie contrôlée par la vaccination [60] mais surtout par l'éradication des animaux infectés et le recours à l'insémination artificielle [19, 20, 35, 57, 58].

Neosporum caninum est un protozoaire qui se transmet chez la vache par voie orale mais surtout par voie transplacentaire. Les vaches se contaminent en consommant des aliments souillés par les matières fécales des chiens [20]. Le plus souvent asymptomatique, l'infection peut néanmoins se traduire comme chez le chien par des signes neuromusculaires (myosites, encéphalomyélites). L'avortement est la principale manifestation clinique d'une infection à *Neosporum caninum* chez les bovins [61]. Il se manifeste de manière isolée ou revêtent un caractère épidémique (> 10 % d'avortements en 6 à 8 semaines) [57] ou endémique (5 % d'avortements au cours de plusieurs années consécutives) [20, 58]. Il survient entre le 4^{ème} et le 6^{ème} mois de gestation sans manifestations prodromiques [62, 63]. L'avorton ne présente habituellement pas de signes cliniques majeurs. Il peut être modérément ou complètement autolysé. Les nouveau-nés infectés pendant la gestation présentent un déficit pondéral. On rappellera que la seule détection d'anticorps spécifiques chez un animal qui a avorté ne permet pas de poser un diagnostic de certitude. Elle doit s'accompagner d'un diagnostic histopathologique sur le fœtus.

La Toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*) est une anthrozoonose qui affecte de nombreuses espèces animales et sauvages dont surtout la chèvre et la brebis mais plus rarement les bovins et les chevaux. L'infection se traduit le plus souvent soit par des avortements ou des pertes néonatales. La plupart des ruminants se contaminent en consommant des matières fécales de chat (hôte définitif) ou des aliments contaminés par celles-ci. Habituellement, l'avortement ne s'accompagne d'aucune manifestation macroscopique typique [19, 20, 57, 58]. L'identification du toxoplasme est plutôt difficile. L'examen sérologique est possible, les anticorps persistent chez le fœtus 35 jours après l'infection mais plus longtemps chez la mère, seule une sérologie négative permettra d'exclure la toxoplasmose. La prévention consistera surtout à éviter que les chats ne consomment les placentas, avortons ou carcasses des animaux.

Les avortements provoqués par les Sarcocystes (*Sarcocystis cruzi*, *S.hirsuta*, *S.hominis*) sont le plus souvent sporadiques et peu fréquents [35]. L'avortement est dit épizootique [19, 58].

1.4.2. Epidémiologie

Les caractéristiques épidémiologiques des principales maladies abortives chez les bovins sont présentées dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2 : épidémiologie des avortements [20,41, 47, 64].

Pathologie	Sources	Mode de Transmission	Taux D'avortement
Brucellose	Porteurs (à vie), fœtus, annexes, eaux fœtales, lochies, lait, locaux infectés	Pénétration par toutes les muqueuses	Enzootique à épizootique
Salmonellose	Porteurs sains (à vie), malades, fèces, urines, lait, milieu extérieur (oiseau)	Portage digestif Pénétration digestive	Sporadique parfois enzootique
Chlamydirose	Fœtus, annexes, sécrétions utérines, lochies, lait, locaux infectés, milieu extérieur	Pénétration par toutes les muqueuses (Voie aérosol+++ / Voie sexuelle ---)	5%
Listériose	Portage digestif (ensilage, lait)	Pénétration par toutes les muqueuses (Voie digestive+++)	Sporadique
Leptospirose	Porteurs sains, malades, urines, lait (3 mois), contenu utérin	Pénétration par toutes les muqueuses, piqûres, plaies cutanées	Sporadique parfois enzootique
Vibriose (Campylobactériose)	Taureau et vache infecté (prépuce, vagin, utérus) Portage digestif	Transmission coïtale, Pénétration digestive	Sporadique chez les femelles
Fièvre Q	Fœtus, annexes, sécrétions utérines, lochies, milieu extérieur, tiques, urines, excréments	Pénétration par toutes les muqueuses, piqûres de tiques	Enzootique
Rhinotrachéite Bovine (IBR)	Porteurs sains (à vie), malades, fèces, urines, lait, contenu utérin, semence	Pénétration par toutes les muqueuses. Risque de transmission par insémination et transfert d'embryon	Sporadique à épizootique
Maladie des Muqueuses (BVD)	Porteurs sains, IPI, Malades. Fèces, urines, lait, contenu utérin, semence	Pénétration par toutes les muqueuses Risque de transmission par semence (insémination)	Sporadique à enzootique
Trichomonose	Taureau et vache porteurs (Pénis, vagin et utérus)	Transmission coïtale	5%
Néosporose	Aliments et eau souillé par ookystes	Voie orale ou Voie verticale	Enzootique
Toxoplasmose	Aliments et eau souillés par ookystes	Muqueuse digestive et respiratoire	Rares

1.4.3. Les Causes non-biologiques

1.4.3.1. Facteurs Nutritionnels (Alimentaires)

Diverses publications ont rapporté des avortements imputables à la consommation par les animaux d'une trop grande quantité de protéines hautement dégradables (herbe jeune, herbe pâturée trop rapidement après addition d'engrais). De même, l'avortement peut être observé chez des animaux débilisés ou consommant des rations connues pour leur faible apport en bêta carotène, en sélénium ou en iode. La consommation de certaines espèces végétales a également été rendu responsable d'avortement à tous les stades de la gestation par leurs toxines tuant les fœtus, tel que l'Astragale (légumineuse : *Astragalus lentiginosis*, *Astragalus pubentissimus*) [65], l'ergot de seigle (*Claviceps purpurea*), la grande cigüe (*Conium maculatum*) [66], la verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*), le trèfle semeur (*Trifolium subterraneum*) la lampourde glouteron (*Xanthium strumarium*), le radis sauvage (*Raphanus raphanistrum*), le sorgho (*Sorghum almum*), les diverses variétés de pins (*Pinus ponderosa*, *Pinus cubensis*, *Pinus radiata*) [67] ou le cyprès (*Cupressus macrocarpa*) dont la consommation en grandes quantités de ses aiguilles et feuilles entre la fin de l'automne et le début du printemps (*Pinus ponderosa*) peut provoquer un avortement au cours du dernier trimestre de la gestation [67, 68].

Les Phyto œstrogènes sont des substances dont la structure chimique ressemble à celle de l'œstradiol (hormone participant au déclenchement des chaleurs), elles sont retrouvés en quantité importante dans l'herbe jeune et sont produites naturellement par certaines légumineuses comme la luzerne, le trèfle, le dactyle et les fétuques [69]. Le trèfle renferme du coumarol transformé en dicoumarol par l'ensilage [20]. Il peut en résulter en cas d'intoxication des troubles de la coagulation et des saignements excessifs. Un fourrage riche en phytoœstrogènes peut conduire à des troubles de la reproduction telle que la mortalité embryonnaire et les avortements.

Les mycotoxines sont des substances produites par une grande variété de moisissures (> 200) se développant sur différents types d'aliments bruts ou transformés (céréales, oléo-protéagineux, fruits) dans des situations écologiques très diverses. Les mycotoxines constituent un groupe de substances présentant

notamment des activités mutagènes cancérogènes, tératogènes immunogènes et oestrogéniques. Seules certaines ont été identifiées : l'aflatoxine, la zéaralénone produites par le *Fusarium moniliforme*, l'ochratoxine produite par l'*Aspergillus ochraceus* ou le *Penicillium viridicatum* et la staphybotrytoxine [70]. Elles affectent les animaux d'élevage consommant des aliments contaminés. Les vaches laitières hautes productrices et les animaux à l'engraissement dont la croissance est rapide sont plus sensibles aux effets des mycotoxines que les animaux peu productifs. De plus, le stress lié à la production amplifie leurs effets.

1.4.3.2. Facteurs Chimiques

L'intoxication par les nitrates réduits en nitrites dans le rumen est possible en cas d'épandages mal conduits en période de croissance rapide de plantes telles que le dactyle, le ray-grass, les crucifères et les trèfles, espèces connues pour concentrer aisément les nitrates [71, 72]. L'avortement résulte de l'anoxie fœtale, conséquence de la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine [19, 20]. Le rôle des pesticides est possible mais n'a pas été formellement reconnu.

1.4.3.3. Facteurs Physiques

La palpation manuelle de l'utérus entre le 35^{ème} et le 60^{ème} jour de gestation, l'insémination ou l'irrigation d'un utérus gestant, la présence de jumeaux [73], le transport, les interventions chirurgicales, la torsion de l'utérus et le déplacement du cordon ombilical, l'hyperthermie prolongée [20, 74], la mauvaise conformation des bâtiments d'élevage (sols glissants, coups de cornes, couloirs étroits...) constituent autant de facteurs pouvant être responsables d'avortements [19].

1.4.3.4. Facteurs Génétiques

La présence de gènes létaux a été démontrée. Certains d'entre eux seraient responsables de la formation de môles hydatiformes. De même, l'inbreeding (consanguinité) a été reconnu pour augmenter les mortalités embryonnaires et les avortements [19].

1.4.3.5. Facteurs iatrogènes

Diverses substances sont connues pour leur effet abortif : œstrogènes en début de gestation, les corticoïdes en fin de gestation associés ou non à une prostaglandine [20], les prostaglandines naturelles ou synthétiques entre le 5^{ème} et le 150^{ème} jour de gestation, les emménagogues, les purgatifs, la phénothiazine, les dérivés du benzimidazole (albendazole) qui peuvent engendrer des malformations ou des anomalies de développement du fœtus [20, 75].

CHAPITRE 2

LA FIEVRE Q

2.1. Introduction

Observée pour la première fois en 1937, la fièvre Q (Q pour Queensland, région d'Australie ou Q pour Query c'est-à-dire question puisque la cause ne fut pas à l'époque identifiée) connaît actuellement une distribution mondiale à l'exception de la Nouvelle-Zélande [76] et de la Polynésie française [77, 78]. Encore appelée Fièvre de l'Olympe, Fièvre des 7 jours, Grippe balkanique, Pneumonie de Crête, Maladie de Derrick et Burnet, ou encore Nine mile creek fever, elle concerne l'espèce humaine mais également bovine, ovine et caprine. La maladie est imputable à *Coxiella burnetii*, bactérie appartenant au phylum des Proteobacteria, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Legionellales*, famille des *Coxiellaceae* et espèce *burnetii*. Le genre *Coxiella* comprend également l'espèce *cheraxi* [79] et des organismes semblables à *Coxiella burnetii* retrouvés chez les tiques et les oiseaux [80].

2.2. Caractéristiques de *Coxiella burnetii*

Coxiella burnetii est une petite bactérie intracellulaire obligatoire [81] de 0,2 à 0,4 µm de largeur et de 0,4 à 1µm de longueur, aérobic stricte, pléomorphe, avec une paroi semblable à celle des bactéries Gram négatives [82] se multipliant exclusivement à l'intérieur des macrophages, à un pH acide compris entre 4 et 5 [76], des monocytes et des trophoblastes [83]. Son existence chez les amibes libres a également été décrite [84] ainsi que sa persistance dans les adipocytes murins [85].

Cette vie intracellulaire et la division asymétrique des cellules infectées sont à la base de la persistance de *Coxiella burnetii* chez l'hôte. La bactérie semble apte à induire la mort programmée (ou apoptose) des macrophages [86]. De nouveaux macrophages phagocytent les débris des macrophages morts et peuvent alors

être infectés par *Coxiella burnetii*. Ce phénomène conduit à favoriser la continuité de l'infection [87].

Coxiella burnetii existe sous différentes formes morphologiques (variants de petite et de grande taille, pseudo spore) qui sont associées à différents stades du cycle de son développement (multiplication plus ou moins active et dormance) et sont à l'origine de sa résistance exceptionnelle dans le milieu extérieur.

Comme les enterobactériacées, le lipopolysaccharide de surface (LPS) de *Coxiella burnetii* présente deux phases dites lisse (phase I) et rugueuse (Phase II). La phase I est plus virulente et présente un plus grand pouvoir immunogène que la phase II. A l'inverse, la phase II a un pouvoir de pénétration intracellulaire plus important [88].

Tableau 2.1 : Caractéristiques de *Coxiella burnetii* selon son variant antigénique [89].

	Colonie	LPS	Virulence	Pouvoir immunogène	Capacité à pénétrer dans les cellules
Phase I	Lisse	Complet	++	++	+
Phase II	Rugueuse	Incomplet	+	+	++

LPS : Lipopolysaccharique de surface.

2.1. Symptomatologie de la fièvre Q chez les bovins

L'infection par *Coxiella burnetii* est généralement enzootique, majoritairement inapparente. L'OIE (Office International des Épizooties) classe la fièvre Q dans la liste B des maladies multi espèces [90]. Par rapport aux ovins et caprins, les bovins présentent des symptômes moins clairs. Cette différence serait imputable à des variations entre les souches de *Coxiella*, des techniques d'élevage et au caractère saisonnier des mises-bas chez les petits ruminants [91, 92].

2.1.1. Le système génital

L'avortement dû à *Coxiella burnetii* survient à tout stade de gestation mais plus fréquemment dans sa deuxième moitié entre le 6^{ème} et le 9^{ème} mois de gestation occasionnelle [93]. Lors de la primo-infection d'un troupeau, on observe une

vague d'avortements sur des animaux pour la première fois en contact avec le germe. Puis l'enzootie évolue de façon cyclique, le nombre d'avortements diminue et ne concerne plus que les primipares. Les gestations suivantes ne semblent pas être perturbées. On peut également avoir des mortinatalités, des mises-bas prématurées, la naissance de veaux prématurés et chétifs, des métrites [94], de l'infertilité et des retours en chaleurs tardifs plus fréquents [93, 95].

A la suite de l'avortement, outre la charge bactérienne du placenta est souvent très élevée [96]. Les bactéries sont excrétées durant plusieurs mois par les sécrétions génitales, le lait, l'urine et les matières fécales [97, 98]. Les travaux de Kim et al (2005) [99] réalisés aux États-Unis ont permis une surveillance des élevages bovins basée sur l'analyse du lait de tank. Une prévalence de *Coxiella burnetii* de plus de 90% a été rapportée pendant trois ans de suite. Dans les élevages dont le lait de tank était positif, le taux de femelles excrétrices était de 20 à 30%. L'excrétion de *Coxiella burnetii* par le lait semble plus fréquente chez les bovins que chez les petits ruminants.

Selon les travaux de Guatteo et al. 2006 [98], un épisode d'avortements dû à la fièvre Q dans un élevage bovin indique un nombre élevé d'animaux excréteurs. Une étude menée sur 242 vaches, appartenant à 31 élevages ayant subi des épisodes d'avortements, la même proportion de 45% excrétaient la bactérie par au moins une des trois voies précédemment cités, qu'elles aient avorté (n= 46) ou non (n= 196). Par contre, ce taux d'excrétion était de 23% selon une autre étude menée par Beaudeau et al (2006) [100] qui ont réalisé un suivi durant six mois sur 280 vaches issues de cinq élevages infectés de manière chronique par *Coxiella burnetii* [100].

Afin de déterminer la charge bactérienne de *Coxiella burnetii* dans le lait, Kim et al (2005) [99] ont suivi le niveau d'excrétion dans le lait chez 5 vaches, tous les jours pendant sept jours, puis une fois par semaine pendant quatre semaines. La concentration obtenue était entre 10^1 et 10^4 bactéries/ml ; caractérisé par une stabilité durant les cinq semaines pour chacune des vaches. Des études similaires entreprises par Beaudeau et al. 2006 [100], ont fait ressortir des concentrations moyennes de 10^4 bactéries/ml dans le lait, de 10^3 bactéries/ml dans les sécrétions vaginales et assez faibles dans les matières fécales [100]. Aucune comparaison n'a été rapportée entre les animaux appartenant à des élevages cliniquement atteints

et à des élevages chroniquement infectés, mais on s'attendrait à une charge excrétée plus massive dans les premiers, lors d'épisodes cliniques.

Les trois voies d'excrétion peuvent être observées dans un même élevage. Dans les élevages infectés de manière chronique, les taux de femelles excrétrices par la voie vaginale, par les fèces et par le lait étaient respectivement de 9,5, 3 et 19% [100]. Lorsqu'une vache excréta par deux voies de manière concomitante, la combinaison mucus vaginal lait était la plus fréquente. Dans les élevages atteints cliniquement, les taux observés étaient respectivement de 19, 21 et 24% [98], et lors d'excrétion par deux voies, la combinaison était le plus souvent mucus vaginal-fèces. Dans ces deux études, la plupart des vaches excrétaient par une seule des trois voies et aucune voie prédominante n'a été identifiée.

2.1.2. Le placenta

Chez la vache, *Coxiella burnetii* a un tropisme privilégié pour l'utérus et les glandes mammaires [96]. Il en résulte une colonisation du placenta par les bactéries. Le fœtus ne présente habituellement pas de lésions typiques. Par contre le placenta sera épaissi, œdémateux ou gélatineux, parfois autolysé. Il présente des plaques blanchâtres, crayeuses surtout dans les zones intercotylédonnaires [96], ces dernières pouvant être oedématisées et épaissies, avec parfois un exsudat jaunâtre [101]. Le mucus présente une couleur violacée ou marron. Dans certains cas, les cotylédons sont nécrosés et les membranes sont épaissies et solides. Ces aspects ne sont cependant pas spécifiques d'une atteinte par *Coxiella burnetii* [102]. Au niveau microscopique, on peut observer une placentite, une vasculite placentaire mise en évidence par une hyperhémie, ou encore une thrombose [95, 101].

2.1.3. Le fœtus

Les lésions fœtales ne sont pas spécifiques d'une atteinte par *Coxiella burnetii* [102]. Selon les travaux de Neikov (1987) [103], des lésions nécrotiques sur le foie, les reins, les glandes surrénales et certains nœuds lymphatiques ont été constatés chez des fœtus ovins issus d'avortements par la fièvre Q. Il a également mis en évidence une méningo-encéphalite lymphocytaire [103]. Par contre selon Rousset et al (2000) [101], L'avorton est souvent normal, mais en raison du délai

entre la mort du fœtus et l'avortement, il peut parfois être autolysé ou momifier. On peut quelque fois observer une congestion du foie.

2.1.4. Autres symptômes

La voie de pénétration étant le plus souvent aérienne, on a pu observer des bronchopneumonies, avec de la toux, souvent compliquées de pasteurellose [104]. Les symptômes cardiaques sont très rares en dehors de l'infection expérimentale. Il en va de même pour les symptômes digestifs, tels que des gastro-entérites. Lors d'infection expérimentale réalisée par inoculation de *Coxiella burnetii* par voie intradermique sur 12 génisses âgées de 8 à 11 mois; la maladie a évolué en deux phases : En phase aiguë, il y a apparition d'une hyperthermie marquée et d'une pneumonie dans les 24-48 heures suivant l'inoculation. En phase chronique apparaissent des avortements (2/11) ou de l'infécondité (3/11). Certaines génisses ont présenté des lésions myocardiques (myocardite) et pulmonaires [105].

2.2. Epidémiologie

2.2.1. Données de Prévalence

La fièvre Q est une maladie très répandue au niveau mondial [76]. Chez les ruminants, les méthodologies et la définition des seuils de positivité utilisés sont très différentes. Ces données ne sont donc qu'indicatives [106].

En Europe (Tableau 2.2), la plupart des études de prévalence ont été réalisées par analyse de la présence d'ADN de *Coxiella burnetii* dans les laits de tanks. Les études récentes montrent une prévalence comprise entre 38 et 70% [107, 108, 109, 110, 111]. *Coxiella burnetii* constitue avec *Neospora caninum* et le virus de la BVD, l'un des trois principaux agents abortifs des ruminants en France [29]. La prévalence sérologique apparente de *Coxiella burnetii* serait de 20% à titre individuel et de 37,7% à l'échelle des troupeaux [106].

Tableau 2.2 : Prévalence de la fièvre Q chez les ruminants domestiques en Europe [112].

Pays	Espèce	Année	Prévalence (%)
Allemagne	Bovin	1985	2,5 à 10,8
	Ovin	1972	26
	Caprin	1972	20
Grande Bretagne	Bovin	1999	21
Italie	Bovin	1965-1971	2,3 à 13,4
	Ovin	1983	13 à 55
Hongrie	Bovin	1979	50 cas
	Ovin	1979	13 à 32
Suisse	Bovin	1983	6,6
	Ovin	1995	38
URSS	bovin	1985	4

En Afrique, la séroprévalence de *Coxiella burnetii* a fait l'objet de 51 études chez les humains et les animaux entre 1965 et 2012. Ces études concernent 15 pays principalement d'Afrique du Nord, d'Afrique occidentale et d'Afrique centrale. Ces études sur la séroprévalence de *Coxiella burnetii* ont révélé sa présence chez $\leq 13\%$ des bovins et 11 à 33% des petits ruminants, tandis que la séroprévalence humaine était en général inférieure à 8% [113]. Selon l'étude réalisée par Kelly et al (1993) [114], les taux de positivité aux anticorps anti-*Coxiella burnetii* recherché par immunofluorescence indirecte (IFI) chez les bovins au Zimbabwe était de 39%.

Aux Etats-Unis, la surveillance des élevages bovins laitiers vis-à-vis de la fièvre Q a été établie sur la base de l'analyse du lait de tank. Une prévalence de détection de l'ADN de *Coxiella burnetii* de plus de 90% a été rapportée pendant 3 années successives [99]. L'étude menée par Pearson et al (2014) [115] basée sur l'étude du génotypage et réalisée sur un faible nombre d'échantillons, a permis la détection de l'ADN de *Coxiella burnetii* dans 96% des échantillons de laits bovins testés aux Etats-Unis [115]. D'autres études de la séroprévalence ont révélé une grande variation entre les espèces avec une séroprévalence individuelle plus importante rencontrée chez les chèvres (41,6%), suivie par les moutons (16,5%)

et les bovins (3,4%) [116]. Selon Hatchette et al (2002) [117], le taux de positivité des bovins à *Coxiella burnetii* était de 24% en IFI (Boarbi et al. 2016) [78].

Les valeurs de la prévalence de *Coxiella burnetii* au sein des élevages bovins varient en fonction du contexte des différentes études entreprises, la nature des échantillons prélevés et plus important la technique de laboratoire utilisé pour cette analyse. Ainsi différentes études ont été réalisées temps sur le plan individuel que du troupeau pour permettre de valoriser le degré d'implication de *Coxiella burnetii* dans les différents troubles de reproduction rencontrés chez les bovins particulièrement les avortements en utilisant différentes techniques de laboratoire.

Sur le plan individuel (tableau 2.3), la valeur de la prévalence moyenne de *Coxiella burnetii* par la technique ELISA sur des échantillons de sérums est de 18,6%, contre 12,1% valeur obtenue en utilisant la technique IFAT (test anticorps fluorescence indirecte) également sur des échantillons de sérums. L'analyse par PCR sur les échantillons de placenta a fait ressortir une valeur moyenne de 9%.

La recherche de *Coxiella burnetii* dans le lait individuel a fait elle aussi l'objet de plusieurs études et dont les valeurs obtenus différés selon la technique utilisée. Ainsi, par PCR la valeur moyenne est de 5,1% contre 9,1% par ELISA.

Sur le plan troupeau (tableau 2.4), les valeurs de la prévalence moyenne de *Coxiella burnetii* réalisée sur les laits de tank différents selon la technique utilisée. Ainsi par ELISA la prévalence moyenne était de 61,1% contre 37,4% par PCR.

Tableau 2.3 : Prévalences de *Coxiella burnetii* à l'échelle individuelle chez les bovins selon la technique de laboratoire utilisée et la nature du prélèvement entre 2002 et 2017.

Pays	Période d'étude	Type	N	Na	Technique utilisée	NEP	P (%)	référence
Algérie	2013	V	92	S	ELISA	22	23,9	[6]
Chine	/	V	1140	S	ELISA	381	33,4	[118]
Equateur	2008-2010	B	2668	S	ELISA	336	12,6	[119]
Bengladesh	2014-2015	V	81	S	ELISA	5	6,2	[120]
Mongolie	2013-2014	V	1016	S	ELISA	253	24,9	[121]
Turquie	/	V	350	S	ELISA	52	14,9	[122]
Kenya	/	V	955	S	ELISA	100	10,5	[123]
Chine	2008-2010	V	80	S	ELISA	0	0	[3]
Iran	2014	V	120	S	ELISA	1	0,8	[124]
Soudan	2015-2016	V	244	S	ELISA	73	29,9	[125]
Ile de la réunion	2011-2012	V	245	S	ELISA	29	11,8	[126]
Italie	/	Va	650	S	ELISA	292	44,9	[127]
Kenya	2012	V	248	S	ELISA	222	89,5	[128]
Suède	2008-2009	V	1537	S	ELISA	126	8,2	[129]
Turquie	/	V	200	S	ELISA	40	20	[130]
Danemark	2012	V	800	S	ELISA	76	9,5	[131]
Afghanistan	2012-2013	V	344	S	ELISA	18	5,2	[132]
Arabie Saoudite	/	V	45	S	ELISA	0	0	[133]
Cote d'Ivoire	2012-2014	V	633	S	ELISA	88	13,9	[134]
Italie	/	Vt	600	S	ELISA	132	22	[127]
Moyenne			12048	S	ELISA	2246	18,6	
Turquie	/	V	350	L	ELISA	36	10,3	[122]
Corée	2015	V	210	L	ELISA	15	7,1	[135]
Moyenne			560	L	ELISA	51	9,1	
Iran	2016	F	60	P	PCR	15	25	[136]
Portugal	2009-2013	V	24	P	PCR	5	20,8	[137]
Turquie	2009-2011	F	102	P	PCR	4	3,9	[138]

Chine	2008-2010	F	80	P	PCR	0	0	[3]
Moyenne			266	P	PCR	24	9,0	
Téhéran	/	V	150	L	PCR	18	12	[139]
Turquie	/	V	350	L	PCR	5	1,4	[122]
Arabie Saoudite	/	V	38	L	PCR	11	28,9	[133]
Pologne	/	V	119	L	PCR	1	0,8	[140]
Iran	2010	V	70	L	PCR	12	17,1	[141]
Iran	2014-2015	V	100	L	PCR	5	5	[142]
île de la Réunion	2011-2012	V	245	L	PCR	3	1,2	[126]
Moyenne			1072	L	PCR	55	5,1	
Bengladesh	2014-2015	TI	24	TI	PCR tr	0	0	[120]
île de la Réunion	2011-2012	V	245	MV	PCR tr	2	0,8	[126]
Turquie	/	V	200	S	IFAT	44	22	[130]
Corée du sud	/	V	1224	S	IFAT	129	10,5	[143]
Moyenne			1424	S	IFAT	173	12,1	
Canada	2000-2001	V	75	S	MIF	18	24	[117]

Type « V : vache, F ; fœtus, TI : tiques, Va : vache avortée, Vt : vache témoin ». **N** : nombre d'échantillons analysés, **P (%)** : prévalence, **Na** : nature de l'échantillon « S : sérum, P : placenta, L : lait, MV : mucus vaginal, TI : tiques », **NEP** : Nombre d'échantillons positifs. **Techniques utilisées** : « IFAT : test anticorps fluorescence indirecte, PCR : La Polymérase Chain Réaction, PCRtr : La Polymérase Chain Réaction temps réel, ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay, MIF : micro immunofluorescence ».

Tableau 2.4 : Prévalences de *Coxiella burnetii* à l'échelle du troupeau chez les bovins selon la technique de laboratoire utilisée entre 2013 et 2016.

Pays	Période d'étude	Type	N	Na	Technique utilisée	NEP	P (%)	référence
Equateur	2008-2010	T	368	L	ELISA	181	46,9	[119]
Iran	2014	T	10	L	ELISA	1	10	[124]
Corée	2015	T	7	L	ELISA	4	57,1	[135]
Portugal	2013	T	90	L	ELISA	55	61,1	[144]
Portugal	2009-2013	T	45	L	ELISA	17	37,8	[145]
Danemark	2008	T	100	L	ELISA	59	59	[146]
Pays bas	/	T	301	L	ELISA	246	81,6	[147]
Moyenne			921	L	ELISA	563	61,1	
Chine	/	T	19	L	PCR	16	84	[118]
Iran	/	T	100	L	PCR	5	5	[148]
Inde	2011	T	316	L	PCR tr	193	60,8	[149]
Ile de la réunion	2011-2012	T	46	L	PCR	21	45,6	[126]
Portugal	2009-2013	T	45	L	PCR	9	20	[145]
Italie	2011-2013	T	344	L	PCR	138	40,1	[150]
Pays bas	/	T	301	L	PCR	56	18,8	[147]
Moyenne			1171	L	PCR	438	37,4	

Type : T : troupeau, **N** : nombre d'échantillons analysés, **Na** : nature de l'échantillon « S : sérum, L : lait », **P (%)** : prévalence ; **NEP** : Nombre d'échantillons positifs. **Techniques utilisées** : « PCR : La Polymérase Chain Réaction, PCRtr : La Polymérase Chain Réaction temps réel, ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay ».

2.2.2. Facteurs de risque de *Coxiella burnetii* chez les bovins

Diverses études ont permis d'identifier plusieurs facteurs de risque d'une infection à *Coxiella burnetii* à l'échelle individuelle et de troupeau (Tableaux 2.3 et 2.4). Ainsi, la prévalence de *Coxiella burnetii* est plus élevée chez les bovins adultes (≥ 2 ans) [131, 151, 152, 153, 154, 155] que chez les jeunes (≤ 2 ans). En Afghanistan, la séroprévalence est plus élevée chez les bovins âgés de plus d'un an [132], en Equateur chez les bovins âgés de plus de 3 ans [119], en Côte d'Ivoire chez les bovins dont l'âge été compris entre 5 et 8 ans [134], en Corée chez les vaches âgées de plus de 8 ans [135]. De même, elle est plus élevée chez la vache au cours du 3^{ème} trimestre de la gestation (60.8%).

Chez les vaches avortées (44,9%) et particulièrement si l'avortement a été enregistré en automne (79,4%) [127]. A l'inverse, aucune association entre le stade de gestation et les prévalences de positivité à *Coxiella burnetii* n'a pu être démontrée par García-Ispierto et al (2011) [156]. Selon certaines études, la race Holstein serait davantage exposée à *Coxiella burnetii* que d'autres races [151, 153].

Cette séroprévalence augmente avec la densité des animaux dans l'élevage [129, 147] et donc indirectement avec la taille du troupeau [151, 152, 155], la présence de tiques, agent vecteur de *Coxiella burnetii* [147, 157], lors de cohabitation de bovins avec des ovins [134, 147, 158], après l'introduction de nouveaux bovins dans l'élevage [123, 152], en l'absence de quarantaine [126, 146, 151], après l'augmentation de rotations de bovins entre élevages (≥ 2 [147]) ; (≥ 4 [129, 131]) ou lors de non-respect de règles de biosécurité [146] (partage d'équipements avec d'autres fermes, contact des bovins avec des personnes étrangères à la ferme, recours à l'insémination artificielle assurée par un non professionnel). Selon Paul et al (2012) [151], les vaches laitières élevées en stabulation libre ont plus de risque d'être séropositives (OD=1,8, IC 95% = 1 à 3) que celles en stabulation entravée. Elle est plus fréquente lors d'identification simultanée de *Chlamydia abortus* [137].

Elle dépend également des conditions climatiques. Ainsi au Kenya une séroprévalence individuelle de 10,5% a été associée à des précipitations de 100 mm [123]. En Suède une séroprévalence de 8,2% été associée à des

précipitations >26mm [129]. Selon l'étude de Cardinale et al (2014) [126] menée dans l'île de la Réunion, la prévalence de *Coxiella burnetii* est plus élevée dans les fermes qui sont exposées aux vents dominants ainsi que les fortes rafales de vents et à des températures élevées, cette constatation rejoint celle de Nusinovici et al (2015) [129] en Suède. De même, l'augmentation du temps passé à l'intérieur est positivement corrélée à celle de la prévalence d'animaux séropositifs [158, 159].

2.3. Excrétion

2.3.1. Les voies d'excrétion

Suite à la mise-bas ou l'avortement, la sécrétion de *Coxiella burnetii* est très importante dans le placenta et les annexes fœtales [105]. La bactérie a été retrouvée dans 50% des échantillons de mucus vaginal prélevé chez des vaches appartenant à des troupeaux atteints de fièvre Q [160]. La détection d'ADN par la méthode de PCR en temps réel de *Coxiella burnetii* dans 1550 échantillons de mucus vaginal prélevé chez 280 vaches appartenant à 5 élevages sur une période de 6 mois de suivi. Une vache était considérée comme excrétrice à un moment donné si au moins un des résultats de PCR était positif. *Coxiella burnetii* a été mise en évidence dans 9,5%, des échantillons de mucus vaginal [98]. Selon Saegerman et al (2010) [161], la durée de sécrétion de *Coxiella burnetii* reste indéterminée dans le mucus vaginal. Elle serait de 110 jours chez la vache [162].

La sécrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait de bovin semble intermittente et de durée variable allant de 13 mois [161] jusqu'à deux ans dans un troupeau [162]. La mise en évidence d'une relation entre l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait et l'apparition de signes cliniques n'a pas été démontrée. Ainsi, certaines femelles avortent sans excréter dans le lait, tandis que d'autres, qui ont apparemment mis bas normalement, peuvent excréter pendant plusieurs mois voire pendant plusieurs lactations [40], avec une intensité de 10 à 20 bactéries /ml chez les bovins [163]. Enfin, il apparaît que l'excrétion de la bactérie dans le lait est plus fréquente et de durée plus longue chez les bovins et les caprins, que chez les ovins [164]. Selon les travaux de Guatteo et al (2006) [98], l'analyse de 1550 échantillons de lait issu de troupeaux atteints de fièvre Q par PCR; *Coxiella burnetii* a été mise en évidence dans 19,2% des échantillons de lait.

Selon les travaux de Saegerman et al (2010) [161], la durée maximale d'excrétion de *Coxiella burnetii* dans les fèces est de 14 jours. Cette voie entraîne la contamination de la litière, dans laquelle *Coxiella burnetii* peut persister durant près de deux ans, et qui constitue alors une source de contamination par inhalation d'aérosols [47]. L'analyse par PCR de 1550 échantillons de fèces de bovins appartenant à des troupeaux atteints de fièvre Q, analysés a révélé la mise en évidence de *Coxiella burnetii* dans 2,7% des échantillons [98].

Selon l'étude de Kruszewska et Tylewska-Wierzbanska en 1997 [165] portant sur la possibilité de la transmission vénérienne chez les bovins, *Coxiella burnetii* a été retrouvée dans le sperme de taureaux séropositifs adhérant à la surface des spermatozoïdes [165].

2.3.2. Facteurs de variation de l'excrétion

Selon l'étude de Guatteo et al (2005) [166], le facteur âge joue un rôle dans le nombre d'animaux excréteurs. Ainsi 66% des primipares excrètent la bactérie dans le lait, contre 59% des animaux âgés de cinq ans, et 29% des animaux de dix ans [166]. Selon l'étude menée par Behymer et al (1977) [167], l'application d'un traitement antibiotique à base de chlortétracycline à la dose de 8mg/Kg par jour, au cours du tarissement et pendant trente jours, a permis de stopper l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait chez une vache infectée chronique et excrétrice [167]. Pour des raisons économiques, on limite généralement le traitement à une ou deux injections en fin de gestation, ce qui est insuffisant pour supprimer l'excrétion, sauf lorsqu'elle est associée à une vaccination avec un vaccin adjuvé, composé de bactéries en phase II [168]. Ce vaccin n'est toutefois pas efficace pour limiter l'excrétion lorsqu'il est utilisé seul.

2.4. Voies de transmission

La transmission de *Coxiella burnetii* se fait principalement par la voie aérienne grâce à l'inhalation de poussières contaminées, mais aussi par ingestion d'aliments souillés par les produits d'avortement, mais ça reste moins fréquent que la transmission par les aérosols et les piqûres de tiques [89] et enfin par voie vénérienne [165].

Suite à l'infection, une immunité se met en place rapidement. Ainsi, les IgM apparaissent après 2 semaines et disparaissent en quelques mois, tandis que les IgG apparaissent quant à elles quelques jours plus tard et peuvent persister des années [81]. L'infection aiguë par *Coxiella burnetii* est caractérisée par un taux très important d'IgG anti-phase II, et un taux faible d'IgG anti-phase I, on peut également trouver des IgM. Lorsque la valeur du titre d'IgG anti-phase II est supérieure à 200, on considère que l'on est confronté à une infection aiguë [81].

Par contre, l'infection chronique est suspectée lorsque la valeur du titre d'IgG anti-phase I est supérieure à 800, et elle est confirmée lorsque celui-ci est supérieur à 1600 (tableau 2.5) [81].

Tableau 2.5 : Détermination du type d'infection à *Coxiella burnetii* selon les valeurs des titres en IgG anti-phase I ou II, et selon la présence d'IgM [81].

Type d'infection à <i>Coxiella burnetii</i>		Titre IgG anti-phase I	Titre IgG anti-phase II	Présence d'IgM
Infection aiguë		Plus faible	Important	Possible
Infection chronique	suspectée	> 800	/	/
	confirmée	>1600	/	/

2.5. Diagnostic de la Fièvre Q

Les symptômes cliniques n'apportent qu'une suspicion d'une exposition à *Coxiella burnetii* [169]. La confirmation de la fièvre Q ne peut être apportée que par un examen de laboratoire.

2.5.1. Méthodes de diagnostic direct

Ces méthodes de diagnostic sont basées principalement, soit sur la recherche et l'isolement de *Coxiella burnetii*, soit sur la mise en évidence des antigènes de *Coxiella burnetii*, ou de l'ADN bactérien. Pour la recherche bactériologique, trois méthodes très différentes sont disponibles : isolement et culture d'une souche bactérienne, coloration des bactéries et détection de l'ADN bactérien [90].

2.5.1.1. Isolement de *Coxiella burnetii*

L'isolement de *Coxiella burnetii* se fait de différentes façons et cela est fonction du degré de contamination du prélèvement. Lors d'avortement (haut degré de contamination), il est possible d'isoler et de cultiver *Coxiella burnetii*, à partir d'un écouvillon vaginal, d'un broyat de placenta non souillé, ou du fœtus.

Si le prélèvement est fortement contaminé, ce qui est souvent le cas pour le placenta, le mucus vaginal, les matières fécales ou encore le lait, la mise en évidence de *Coxiella burnetii* nécessite l'inoculation d'un broyat de tissus à des animaux de laboratoire (souris ou cobayes) par voie intra péritonéale. Vingt et un jours après inoculation, on prélève du sérum de ces animaux, et on recherche la présence d'anticorps anti-*Coxiella burnetii*. Si la recherche s'avère positive, l'animal est sacrifié, et une suspension de sa rate est inoculée sur culture cellulaire [170].

L'intérêt de la technique d'isolement et recherche de *Coxiella burnetii* est qu'elle autorise une détection précoce de la maladie aiguë et permet de collecter des souches bactériennes et de tester leur sensibilité aux antibiotiques [82].

2.5.1.2. La recherche bactériologique (bactérioscopie)

La recherche bactériologique de *Coxiella burnetii* est basée principalement sur la mise en évidence du germe après coloration. Réalisable à partir de frottis ou calques de cotylédons placentaires, d'organes d'avorton ou encore de prélèvements vaginaux. Le prélèvement doit être réalisé de manière stérile, et acheminé au laboratoire le plus rapidement possible afin d'éviter toute contamination. Il existe plusieurs techniques de coloration, mais à cause du caractère acido-alcool-résistant de la bactérie ; la plus employée est la coloration de Stamp, mais les colorations de Ziehl-Neelsen modifiée, Gimenez, Giemsa et Koster modifiée peuvent également être utilisées [171].

Malgré la petite taille de *Coxiella burnetii* (0,2-0,4µm de largeur x 0,4-1µm de longueur) qui peut la rendre difficile à repérer, sa présence en grand nombre facilite sa mise en évidence [172].

Les avantages de la bactérioscopie sont la rapidité, la facilité d'exécution et le coût faible. Cependant, elle manque de spécificité, puisqu'il faut différencier *Coxiella burnetii* de *Chlamydia abortus* ou *Brucella abortus* [172]. De plus, la sensibilité est faible et liée à la qualité du prélèvement [170].

2.5.1.3. L'Immunohistochimie

Le principe de la technique de l'Immunohistochimie est la mise en évidence des antigènes de *Coxiella burnetii* par immunofluorescence ou immunoperoxydase sur les échantillons prélevés. L'échantillon prélevé sera mis en incubation avec des anticorps polyclonaux (préparés sur lapin préalablement infecté par *Coxiella burnetii*) et des anti-Immunoglobulines G de lapin associé à une enzyme de type peroxydase, ou un fluorochrome [173]. Par la suite, on éliminera le surplus des réactifs. La réaction colorée est obtenue grâce à l'activité de la peroxydase ou à la révélation du fluorochrome ce qui va permettre de localiser les antigènes de *Coxiella burnetii* dans les tissus. Malgré la diminution de la spécificité de l'Immunohistochimie à cause de l'utilisation d'anticorps polyclonaux, cette technique reste plus spécifique et plus sensible que la bactérioscopie, elle permet également une évaluation des lésions histologiques dues à l'infection [174].

2.5.1.4. La réaction de polymérase en chaîne (Polymérase Chain Réaction, PCR)

La détection spécifique de *Coxiella burnetii* par PCR (polymérase *Chain réaction*) est une méthode de choix pour les analyses en médecine vétérinaire. Elle permet de mettre en évidence la bactérie, avec une sensibilité importante, dans un grand nombre d'échantillons différents [96].

Cette méthode est très sensible et très spécifique. En effet, une seule *Coxiella burnetii* peut être mise en évidence dans 1 ml de lait de vache [175]. Pour la spécificité, cette dernière est liée au choix des amorces. Elle est rapide à mettre en œuvre, et la PCR quantitative à l'avantage de permettre une quantification de la charge bactérienne dans l'échantillon [176]. Cependant, elle est très sensible aux contaminations, et détecte aussi bien l'ADN des bactéries vivantes que des bactéries mortes, ce qui peut générer des échantillons faussement positifs.

2.5.2. Méthodes de diagnostic indirect

Les méthodes de diagnostic indirectes ont pour principe la mise en évidence du passage de *Coxiella burnetii* dans l'organisme. On peut rechercher les anticorps anti-*Coxiella burnetii* dans le sérum ou dans le lait. Parmi ces méthodes, on citera la technique de fixation du complément, l'Elisa (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et la micro agglutination.

2.5.2.1. Fixation du complément

Actuellement, En médecine vétérinaire la technique de la réaction de fixation du complément (FC) est considérée comme une technique de référence de l'OIE [172]. Sur la base de l'utilisation des antigènes exogènes, le principe de la technique repose sur la mise en évidence du complément fixé aux anticorps qui se développent suite à l'infection. Cependant, cette technique manque de sensibilité [12].

2.5.2.2. Immunofluorescence indirecte

Le sérum à tester est mis en contact avec l'antigène préparé à partir de la bactérie, lui-même fixé sur un support. Si des anticorps sont présents dans le sérum, un immun complexe se forme. Cet immun complexe est alors mis en contact avec un anticorps anti-*Coxiella burnetii* en excès, marqué par une substance fluorescente, puis la lecture se fait, après incubation et lavage, avec un microscope à fluorescence de Zeiss, mesurant l'incidence des rayons ultra-violet [177]. La définition du titre est basée sur la dernière dilution qui donne une fluorescence spécifique de 50% [178]. En médecine vétérinaire, cette technique n'est utilisée que dans le cadre de la recherche.

2.5.2.3. Micro agglutination

Le sérum à tester est mis en contact avec un antigène de phase II de *Coxiella burnetii*. Après incubation et ajout d'un chromogène, on observe la formation d'agglutinats au microscope afin d'établir le diagnostic. Cette technique est toutefois peu utilisée en raison de ses conditions d'utilisation très strictes, de son

manque de fiabilité, et du fait qu'il faut des antigènes en très grande quantité [179].

2.5.2.4. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Le principe de la technique Elisa est la recherche des anticorps totaux, dirigés contre les phases I et II de *Coxiella burnetii*.

L'antigène de *Coxiella burnetii* est fixé à un support, et mis en contact avec l'échantillon à tester. On ajoute ensuite un conjugué anti-immunoglobuline qui est marqué à la peroxydase, puis un chromogène. Celui-ci se colore au contact de la peroxydase. En cas de présence d'anticorps dans le sérum à tester, il se forme un immun complexe, reconnu par le conjugué, qui colore le chromogène par le biais de la peroxydase. Après incubation et lavage, on mesure la densité optique de la réaction colorée induite, par lecture au spectrophotomètre, à la longueur d'onde de 492 nm. L'ELISA est plus sensible que la réaction de fixation du complément, mais aussi plus spécifique. C'est une technique d'emploi et de lecture simples, qui est en outre automatisable. Le seuil de positivité de l'ELISA sera fonction du kit utilisé. Il faut se conformer aux recommandations du fabricant [180].

2.5.3. Choix du protocole ou la démarche diagnostic à entreprendre

2.5.3.1. Avortement isolé

Lors d'avortement isolé, l'analyse PCR (Polymérase Chain Réaction) individuelle sur mucus vaginal, placenta ou contenu stomacal du fœtus semble être la plus appropriée. Du fait que l'excrétion concomitante de *Coxiella burnetii* dans le mucus vaginal et dans le lait n'est pas systématique d'une part et d'autre part, la vache qui excrète la bactérie dans le lait ne prouve en aucun cas l'implication de *Coxiella burnetii* dans l'avortement; dans ce cas, le prélèvement de lait n'apporte rien de plus. Les animaux excréteurs n'étant pas toujours séropositifs, la sérologie individuelle présente également un intérêt limité [181].

2.5.3.2. Avortements en série

Lorsque les avortements se répètent dans un troupeau, il convient de réaliser des analyses de PCR individuelles du placenta, du mucus vaginal et/ou du contenu stomacal du fœtus chez toutes les femelles ayant avorté au cours des huit jours précédents [180]. A ces analyses PCR, on associera des sérologies individuelles sur tous les animaux qui ont présenté des troubles de la reproduction au cours des quatre derniers mois, tels que des avortements, des métrites ainsi que des retours en chaleur tardifs ou décalés [181].

Selon l'association pour la certification de la santé animale en élevage «ACERSA», la suspicion clinique de fièvre Q doit venir dès que l'on est face à une série d'avortements [180]. On parle d'avortements en série dans deux cas :

- Lorsque le troupeau compte moins de 100 vaches : on considère que les avortements sont répétés lorsqu'il y a au moins deux avortements en un mois ou au moins trois avortements durant la période de mise-bas.
- Lorsque le troupeau compte plus de 100 vaches : on considère que les avortements sont répétés quand au moins 4% des vaches ont avorté dans l'année [182].

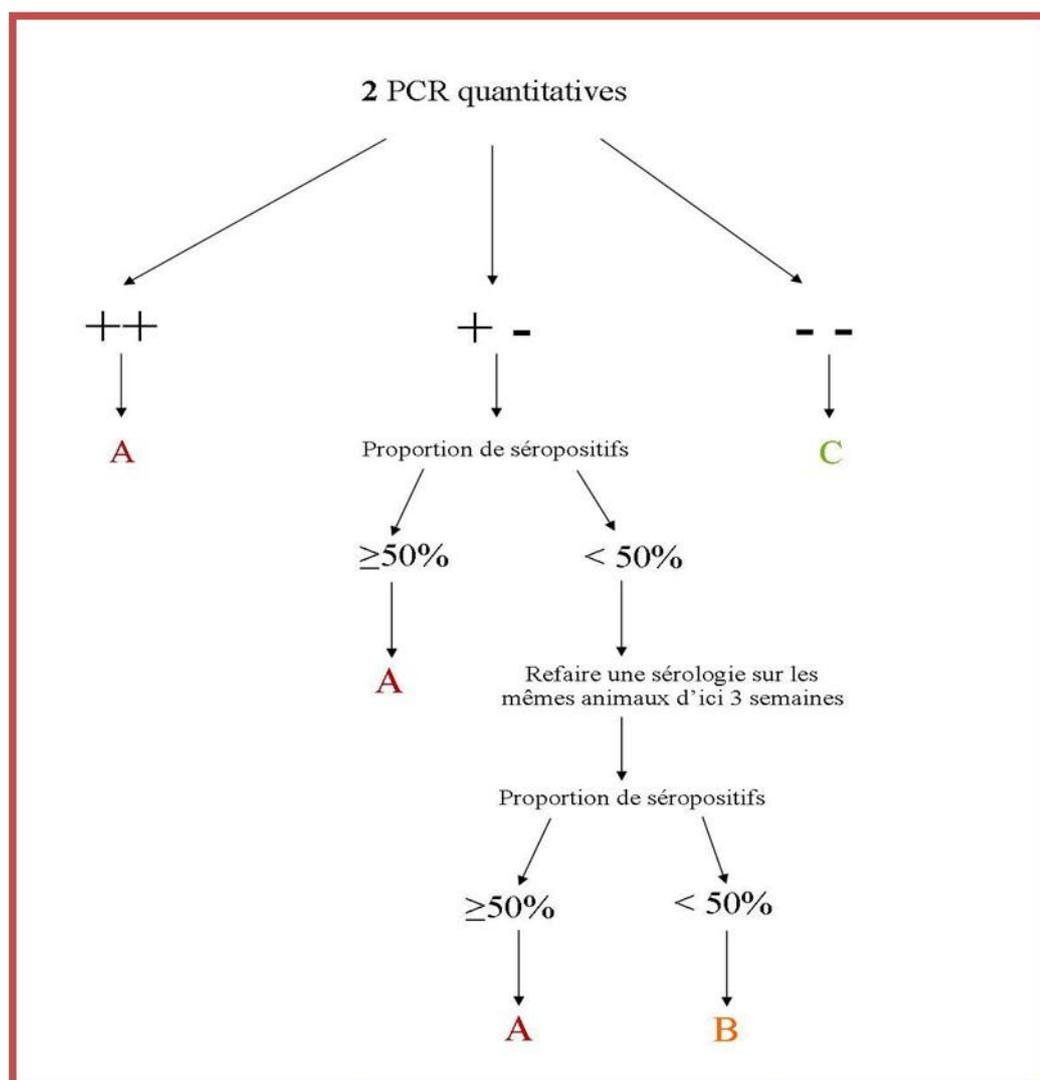
Interprétation des résultats

- Seuil de positivité de la PCR quantitative : si le nombre de bactéries *Coxiella burnetii* $\geq 10^4$ /g de placenta ou d'écouvillon.
- Si la PCR est positive sur les organes du fœtus ou sur son contenu stomacal, on considère que la seule présence de *Coxiella burnetii* dans l'avorton montre son implication dans l'avortement, et ce quelle que soit la quantité de bactéries mises en évidence [180].

Selon les résultats des 2 PCR, il faudra ou non prendre en compte des résultats de la sérologie. Les analyses sérologiques se feront sur au moins 6 animaux, dont au moins 3 primipares. Les vaches prélevées devront avoir présenté des problèmes reproducteurs (métrite, retours en chaleur tardifs ou décalés) depuis moins de 4 mois ou un avortement depuis plus de 15 jours [180]. Le seuil de positivité de l'ELISA sera fonction du kit utilisé. Il faut se conformer aux

recommandations du fabricant [180]. Suite à l'interprétation des résultats d'analyse, on pourra attribuer à l'élevage le statut A, B ou C (figure 2.1).

- Le **statut A** : cheptel considéré comme cliniquement atteint de fièvre Q.
- Le **statut B** : cheptel pour lequel l'implication de la fièvre Q dans les avortements est incertaine. Il s'agit d'un cas isolé de fièvre Q mais on ne peut pas exclure la fièvre Q à l'échelle du troupeau.



- Le **statut C** : cheptel indemne de la fièvre Q, cette dernière n'est pas à l'origine de la série d'avortements survenus dans l'élevage.

Figure 2.1 : Démarche diagnostique préconisée par l'ACERSA lors de suspicion de fièvre Q et lorsque la réalisation de 2 PCR quantitatives est possible [180].

2.5.3.3. Dépistage de la circulation de *Coxiella burnetii* au sein d'un troupeau

La réalisation d'une PCR sur lait de tank associé à des sérologies individuelles sur un échantillon composé pour moitié de primipares, et moitié de multipares. Par exemple pour un troupeau composé d'une quarantaine de vaches laitières, on réalisera la sérologie sur cinq primipares et cinq multipares [181]. La démarche diagnostic est représentée dans la figure 2.2.

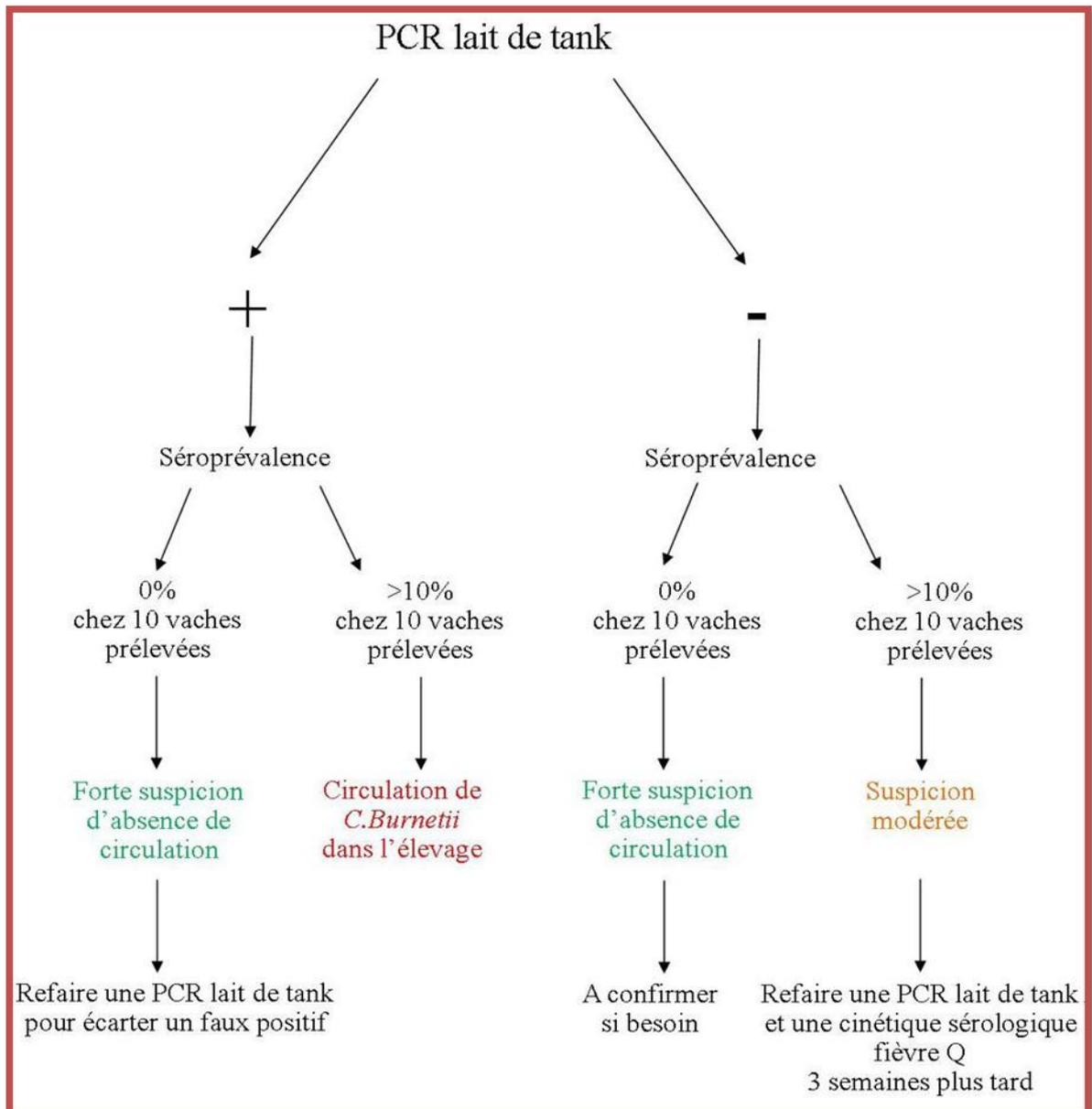


Figure 2.2 : Grille d'interprétation des résultats de PCR sur lait de tank et séroprévalence dans le cadre de la mise en évidence d'une circulation de fièvre Q au sein d'un troupeau bovin [181].

2.5.3.4. Le diagnostic de la fièvre Q chez les ruminants

Le test de fixation du complément (FC) comme test de détection de la fièvre Q chez les ruminants est encore utilisé par certains laboratoires, mais les tests les plus courants sont le test ELISA et la technique PCR en temps réel «real-time PCR». Selon les études de Rousset et al (2007) [96] ; Horigan et al (2011) [183], la technique de fixation du complément contrairement à l'ELISA manque de sensibilité dans la recherche et la détection des anticorps *anti-Coxiella burnetii* [96, 183]. Par contre chez les bovins et selon l'étude de Natale et al (2012) [184], la technique de fixation du complément présentait une meilleure corrélation avec le statut excréteur de l'animal que les résultats du test ELISA [184].

Il existe différents types d'antigènes utilisés dans les kits commerciaux d'ELISA dont la spécificité et la sensibilité de ces différents tests ELISA est fonction de la souche de *Coxiella burnetii* utilisée pour détecter les anticorps, ces antigènes sont issus soit [78]:

- de la souche « Nine Mile », isolée d'une tique (IDEXX-Q Fever Antibody Test kit R).
- d'une souche isolée de bovin (ID Vet-ID Screen Q fever indirect multispecies ELISAR), utilisé dans le cas de la présente étude.
- d'une souche isolée d'un ovin européen (Progenus/LSI-LSIVET Ruminant Milk/ Sérum Q Fever R).

Selon une étude comparative chez les ruminants, le test ELISA utilisant un antigène ovin présentait une performance comparable à celle utilisant l'antigène Nine Mile et meilleure que celle utilisant un antigène bovin [183]. Ces résultats sont contradictoires avec ceux réalisés aux Etats-Unis qui ne montrent pas une meilleure sensibilité du test ELISA utilisant la souche ovine européenne [185].

Du fait que le test ELISA est automatisable et présente une sensibilité meilleure que la technique de fixation du complément, le test ELISA est une méthode de choix pour beaucoup de laboratoires [78].

Les tests ELISA spécifiques de phase sont réalisés en utilisant des plaques contenant des antigènes spécifiques de la phase I ou II de la souche Nine Mile. Cette sérologie spécifique de phase permet une estimation de l'excrétion potentielle de *Coxiella burnetii* avant même la mise-bas, ainsi que l'obtention de

résultats valables pour la détermination de la phase de l'infection [186, 187]. L'utilisation de ce test ELISA spécifique n'est pas très répandue ce qui est probablement dû à un manque de validation de cette méthode.

Bien que les tests sérologiques mettent en évidence la présence d'anticorps, ils ne permettent pas de distinguer si l'animal est malade (infection active ou ancienne) ou vacciné. Pour réaliser le diagnostic de troupeau, le test ELISA et la technique PCRtr sont utilisés sur le lait de grand mélange [188].

2.6. Conclusion

La fièvre Q est une zoonose causée par *Coxiella burnetii*, bactérie Gram- dotée d'une grande résistance dans le milieu extérieur. *Coxiella burnetii* présente un tropisme génital. Cliniquement elle se traduit par de l'avortement et des infections utérines. Les prévalences moyennes individuelles de *Coxiella burnetii* dans des sérums de bovins sont comprises entre 12,1% et 18,6% valeurs obtenues respectivement avec l'IFAT et l'ELISA. Par contre sur le lait individuel, la prévalence de *Coxiella burnetii* variée entre 5,1% et 9,1% respectivement par les techniques PCR et ELISA. Par contre, à l'échelle du troupeau, la prévalence moyenne de *Coxiella burnetii* dans le lait du troupeau est comprise entre 37,4% et 61,1% valeur obtenue respectivement par PCR et ELISA.

CHAPITRE 3

LA CHLAMYDIOSE BOVINE

3.1. Introduction

La Chlamydie est une maladie infectieuse due à des bactéries du genre *Chlamydia*. Elle peut affecter les ovins, les caprin, les bovins et certains oiseaux (on parle alors de psittacose). Chez les bovins, elle entraîne l'apparition de nombreuses pathologies telles que l'avortement [189], la polyarthrite [190], l'encéphalomyélite, la kératoconjonctivite [191], la pneumonie, l'entérite, l'hépatite, la vaginite, l'endométrite, l'infertilité [192, 193] et la mammite chronique [194].

L'avortement est le symptôme le plus fréquemment observé. Il entraîne de lourdes conséquences économiques [189, 195]. Les avortements peuvent résulter d'une infection à *Chlamydia pecorum*, à *Chlamydia psittaci* mais, essentiellement à *Chlamydia abortus* (correspondant au sérovar 1 de *Chlamydia psittaci*). Ils apparaissent le plus souvent en fin de gestation. On notera que *Chlamydia pecorum* peut se retrouver normalement dans les intestins.

3.2. Caractéristiques de *Chlamydia abortus*

Chlamydia abortus est la principale variété responsable d'avortements [192, 196]. Elle présente un tropisme pour le placenta des ruminants (bovins, caprins et ovins). Elle entraîne un avortement dans le dernier tiers de la gestation [20, 189] et des mortalités néonatales. C'est une bactérie intracellulaire obligatoire, gram négatif de petite taille (20-1500nm) appartenant au Phylum: *Chlamydiae*, Ordre: *Chlamydiales*, Famille: *Chlamydiaceae*, Genre: *Chlamydia*, Espèce: *Chlamydia abortus* [195, 197, 198]. Elle se multiplie uniquement dans le cytoplasme de cellules eucaryotes et possède la capacité de synthétiser de l'ATP par elle-même et se réplique uniquement dans des cellules vivantes [196]. *Chlamydia abortus* possède deux formes morphologiques: la forme infectieuse extracellulaire appelé corps élémentaire de petite de taille (200 à 300 nm) et la forme reproductive intracellulaire appelé corps réticulé résultant de la transformation du corps

élémentaire lors de sa pénétration à l'intérieur de la cellule cible. Ce corps réticulé est métaboliquement actif et peut se répliquer. En règle générale, la réplication se poursuit jusqu'à 72 heures après l'infection [196].

Vu que la voie orale constitue la principale voie de contamination de *Chlamydia abortus*, la bactérie se multiplie au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse gastro-intestinale, provoquant l'apparition de troubles digestifs. L'invasion de la *lamina propria* de l'intestin grêle, va entraîner le passage de la bactérie dans la circulation sanguine et lymphatique, provoquant une bactériémie primaire donnant accès à une colonisation de différents organes, dont principalement l'utérus, entraînant l'apparition d'avortements chez la femelle gravide principalement les primipares et les femelles nouvellement introduite dans le cheptel [189, 199]. Cet effet abortif résulte soit de l'atteinte directe du fœtus ou de l'inflammation de l'utérus le rendant non viable à la survie du fœtus [192].

3.3. Symptomatologie de la Chlamydie chez les bovins

3.3.1. Le système génital

Chez la vache, les avortements dus à *Chlamydia abortus* surviennent sous forme sporadique durant le dernier trimestre de la gestation 45 à 120 jours après l'infection [20, 189, 195, 200], sans signe clinique précurseur. Des mises-bas prématurées ou la naissance de veaux chétifs ont également été observées. Les génisses ou les animaux récemment introduits dans le troupeau seraient davantage concernés par ces avortements [20, 189].

D'autres symptômes ont également été rapportés. Ils sont la conséquence directe ou indirecte de l'avortement. Ils consistent en mortinatalités, naissance de veaux faibles, rétentions placentaires, métrites, endométrites, vaginites, infertilité [192, 193, 201, 202, 203]. Des contaminations par le sperme ont été observées, chez le mâle, ont été décrits des orchio-épididymites aiguës ou chroniques [20].

Les lésions placentaires lors d'infection par *Chlamydia abortus* consistent en placentite (69% des cas) nécrosante et/ou purulente et en vasculite (11% des cas) [189]. Les lésions observées sur le fœtus sont non spécifiques.

3.3.2. Autres organes

Selon les cas, les animaux atteints peuvent présenter de la kératoconjonctivite, une hépatite, une entérite, de la pneumonie, une encéphalomyélite, de la polyarthrite, une mammite chronique, de l'infertilité, des veaux faibles et une augmentation de la mortalité [190, 191, 192, 193, 194, 201].

3.4. Epidémiologie

La prévalence de *Chlamydia abortus* a fait l'objet de nombreuses recherches, elle serait responsable de 6,5 à 20% des avortements dans l'espèce bovine [4]. Elle a été associée à diverses pathologies de la reproduction bovine Amérique du Nord, Europe de l'Ouest et de l'Est, en Afrique du Sud et en Asie.

3.4.1. Données de prévalence

En Europe, la présence du genre *Chlamydia* (*psitacci*, *abortus* et *pecorum*) a été confirmée dans le sperme, les lavages préputiaux et les fèces [204] et au niveau de la muqueuse vaginale [197]. Ce tropisme vaginal n'a pas été confirmé par d'autres études menées en Suisse, en Suède et en Autriche [189, 200, 201, 202]. En Hongrie, la séroprévalence serait de 12,6% [205]. Lors d'avortements, une étude portugaise a confirmé la prévalence plus élevée du genre *abortus* (87,3%), que *psitacci* (7,6%) ou *pecorum* (5,1%) tant chez les grands que les petits ruminants [206]. *Chlamydia psittaci* serait présente de manière physiologique dans le tube digestif et *Chlamydia Pecorum* serait d'avantage présent chez les petits ruminants [206]. En Suède, la prévalence de *Chlamydia abortus* dans les troupeaux bovins laitiers serait très faible (0,4%) [201].

En Afrique, les données sur la prévalence de *Chlamydia* est plus fréquente chez les ovins et les caprins par rapport aux bovins. La recherche de la séroprévalence de *Chlamydia abortus* chez les bovins au nord de l'Afrique a été recherchée ces dernières années en Tunisie par (Barkallah et al (2014) [207] et Elandalousi et al (2015) [208] ou la séroprévalence était comprise entre 4,6 et 37,1%). En Algérie, la séroprévalence était comprise entre 0 et 9,6% [6, 209] dans le cadre d'enquête séroépidémiologique sur les causes infectieuses d'avortements bovins.

En Algérie, la séroprévalence de *Chlamydia abortus* varie selon les études de 0% à 9,6% [6, 209]. La technique utilisée influence fortement le résultat de la sérologie (sensibilité et spécificité). L'étude menée par Dechicha et al (2010) [209] dans 64 sérums de vaches analysés par le test de fixation du complément a fait ressortir une séroprévalence de 9,6% [209].

En Asie plus précisément en Chine, une étude récente menée par Sun (2015)[210] visant la recherche de la séroprévalence de *Chlamydia abortus* sur 4487 sérums de bovins appartenant à 134 troupeaux laitiers par le test de l'hémagglutination indirecte a fait ressortir une séroprévalence individuelle de l'ordre de 11,92% (535 / 4487) et une prévalence troupeau de 37,31% (50 / 134) touchant principalement les troupeaux dont la taille est comprise entre 100-150 bovins. La positivité a été observée chez les bovins dont l'âge est ≥ 6 ans, les femelles par rapport aux males, et les vaches avec antécédents de mortalité embryonnaire et d'avortements [210].

Aux Etats-Unis, la recherche de la séroprévalence de *Chlamydia abortus* a été effectué chez 40 sérums et échantillons de veaux ainsi que chez les 40 mères de ces derniers par la technique PCR et ELISA; il en ressort que chez les veaux la prévalence de *Chlamydia abortus* été de l'ordre de 61% et de 20% chez les mères [211]. La présence de *Chlamydia pecorum* et de *Chlamydia abortus* serait plus élevée que celle de *Chlamydia psittaci* [211]. Par contre, au Mexique la prévalence de *Chlamydia abortus* obtenue auprès de 271 sérums de vaches par la technique ELISA serait de 0,73% [212], résultat se rapprochant de celui retrouvé au Costa Rica par Salazar (2015) [213] auprès de 608 sérums de vaches par la même technique à savoir l'ELISA et qui a obtenu une séroprévalence de *Chlamydia abortus* de l'ordre de 0,5% [213].

Il existe différents techniques utilisées pour la recherche de *Chlamydia abortus*.

Sur le plan individuel (tableau 3.1), la valeur moyenne de la prévalence de *Chlamydia abortus* sur des échantillons de sérums varie selon la technique utilisée. Ainsi elle est de 11% et 11,5% respectivement par PCR et ELISA ; 12,5% par IHA (hémagglutination indirect) et 23,2% par FC (test de fixation du complément). la recherche de *Chlamydia abortus* par PCR sur des fragments de

placenta et dans des écouvillons vaginaux a permis de faire ressortir respectivement les valeurs suivantes: 22% et 21,8%.

Sur le plan troupeau (tableau 3.2), la valeur moyenne de la prévalence de *Chlamydia abortus* réalisée sur les laits de tank par la technique ELISA est de 59,2%.

Tableau 3.1 : Prévalences de *Chlamydia abortus* à l'échelle individuelle chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement (2001 à 2015).

Pays	Période d'étude	type	Na	N	Technique utilisée	NEP	P(%)	référence
Belgique	2009-2010	V	S	1849	ELISA	78	4,2	[214]
Irlande	/	B	S	2000	ELISA	95	4,75	[215]
Albanie	2010-2011	V	S	185	ELISA	75	40,5	[216]
France	/	Va	S	100	ELISA	4	10	[217]
Tunisie	2012	V	S	148	ELISA	55	37,1	[208]
Algérie	2013	V	S	92	ELISA	0	0	[6]
Jordanie	2007	V	S	671	ELISA	127	18,9	[218]
Taiwan	/	V	S	672	ELISA	345	71,4	[219]
Turquie	/	V	S	225	ELISA	0	0	[220]
USA	/	V	S	40	ELISA	8	20	[211]
Costa Rica	2012	V	S	608	ELISA	3	0,5	[213]
Mexique	/	V	S	271	ELISA	2	0,73	[212]
Moyenne				6861	ELISA	792	11,5	
Suisse	2003-2004	V	P	235	PCR	55	22,1	[189]
Hongrie	/	Va	P	111	PCR	14	12,6	[205]
Taiwan	/	V	P	31	PCR	14	45,2	[219]
Moyenne				377	PCR	83	22	
Tunisie	2010-2012	V	E	150	PCR tr	27	18	[207]
Portugal	2005-2009	V	E	43	PCR	15	34,8	[206]
Moyenne				193	PCR	42	21,8	
France	/	Va	S	100	PCR	0	0	[217]
Tunisie	2010-2012	V	S	150	PCR tr	7	4,66	[207]
USA	/	Vx	S	40	PCR	25	61	[211]

Moyenne				290	PCR	32	11	
Tunisie	2010-2012	V	L	150	PCR tr	0	0	[207]
Pologne	/	V	S	1333	FC / ELISA	257	19,3	[221]
Pologne	2014-2015	V	S	900	FC / ELISA	271	30,1	[222]
Algérie	/	V	S	64	FC	6	9,6	[209]
Moyenne				2297	FC	534	23,2	
Chine	2009-2010	V	S	400	IHA	29	7,25	[223]
Chine	2013-2014	V	S	4487	IHA	535	11,9	[210]
Chine	2009-2010	V	S	875	IHA	156	17,8	[224]
Moyenne				5762	IHA	720	12,5	
Inde	2002-2011	V	S	430	AGPT	20	4,65	[225]
Suisse	2003-2004	V	P	235	Histochimie	149	63,4	[189]

Type «V : vache, B : bovins, Vx : veaux, T: troupeau, Va : vache avortée». P (%) : prévalence, N : nombre d'échantillons analysés, Na : nature de l'échantillon «S: sérum, L : lait, E : écouvillons vaginaux, P : échantillon de placenta» ; NEP : nombre d'échantillons positifs, P: prévalence.

Techniques utilisées «PCR: La Polymérase Chain Réaction, PCRtr : La Polymérase Chain Réaction en temps réel, ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay, TFC : test de fixation du complément, AGPT: test de précipitation par le gel Agar, IHA : hémagglutination indirect test».

Tableau 3.2 : Prévalences de *Chlamydia abortus* à l'échelle du troupeau chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement (2012 à 2015).

Pays	Période d'étude	type	Na	N	Technique utilisée	NEP	P(%)	référence
Irlande	/	T	L	100	ELISA	57	57	[215]
Jordanie	2007	T	L	62	ELISA	39	66,3	[218]
Moyenne				162	ELISA	96	59,2	
Pologne	2014- 2015	T	L	317	TFC / ELISA	84	26,5	[222]
Chine	2013- 2014	T	L	134	IHA	50	37,3	[210]

Type : T: troupeau, N: nombre d'échantillons analysés, Na : nature de l'échantillon «L : lait»; NEP : nombre d'échantillons positifs, P : prévalence ; Techniques utilisées «ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay, TFC : test de fixation du complément, IHA : hémagglutination indirect test».

3.4.2. Facteurs de risque de *Chlamydia abortus* chez les bovins.

Une analyse plus spécifique des articles relatifs à la prévalence de *Chlamydia abortus* a permis d'identifier plusieurs facteurs de risque. Ainsi, elle serait plus élevée chez les bovins âgés de plus de 5 voire 8 ans [210, 218, 223, 224] et davantage les vaches en 5^{ème} lactation que celles en 1^{ère} ou 2^{ème} lactation [223, 224]. Elle concerne davantage les femelles que les mâles [210].

La séroprévalence dépend de la taille du troupeau. En Belgique une prévalence de 4,2% a été rencontrée au sein des troupeaux dont l'effectif était supérieur à 120 bovins [214]. En Chine, une prévalence de 11,9% est rencontrée dans les troupeaux avec un effectif compris entre 100 et 15 bovins [210]. A l'inverse, en Jordanie, une prévalence de l'ordre de 18,9% a été associée à des troupeaux dont l'effectif était inférieur à 50 bovins [218].

Une prévalence de 11,9% a été observée chez des vaches ayant manifesté une mortalité embryonnaire ou un avortement [210].

3.5. Excrétion

3.5.1. Voies d'excrétion

La présence de *Chlamydia abortus* a été démontrée dans les sécrétions nasales, oculaires ou vaginales, les sécrétions utérines, le sperme, le lait, les urines, les matières fécales et la salive [189, 197, 204, 226, 227]. Mais surtout lors d'avortement, dans l'avorton et le placenta [228]. Elle y persiste durant plusieurs jours voire plusieurs mois dans le milieu extérieur.

3.5.2. Facteurs de variations de l'excrétion

L'infection par *Chlamydia abortus* se transmet par voie orale suite à l'ingestion de matières virulentes [228] ou par voie respiratoire suite à leur inhalation (les aérosols). La transmission vénérienne par la saillie est également possible [210][203]. La voie extra génitale est envisageable. La transmission par piqûres d'insectes ou par injections a également été décrite mais sans pour autant être prouvé [40].

La cohabitation entre bovins et ovins peut représenter un risque de transmission de *Chlamydia abortus*. En effet il existe un risque de transmission de l'infection des ovins aux bovins par épandage de fumier de troupeaux ovins atteints sur des pâturages sur le quels peuvent pâturer les bovins.

La transmission congénitale est suspectée cependant l'étude de Jee et al (2004) [211] tend à supposer que les veaux s'infectent après la naissance aux cours des premiers de semaines de vie.

Une réponse immunitaire s'installe rapidement chez les jeunes animaux contaminés. On ignore cependant s'ils demeurent des porteurs chroniques [203]. Chez la vache qui a avorté, un taux élevé d'anticorps peut se maintenir longtemps sans signes cliniques à l'exception toutefois d'une possible infertilité si l'animal est soumis à une seconde infection [192].

3.6. Diagnostic de *Chlamydia abortus*

3.6.1. Le diagnostic direct

L'examen microscopique après coloration (Giemsa, Stamp ou Ziehl-Neelsen) est une méthode peu sensible et peu spécifique, la confusion avec *Brucella* et *Coxiella* étant possible. L'isolement de la bactérie implique des conditions de conservation et de transport optimales.

L'utilisation de techniques de détection des antigènes peut améliorer la spécificité et la sensibilité du diagnostic comme lorsqu'on utilise des anticorps monoclonaux spécifiques couplés à l'isothiocyanate de fluorescéine [Immunofluorescence (IF), Fluorescent Antibody Test (FAT)] ou à la phosphatase alcaline [Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)]. Cette technique présente l'avantage de détecter dans les échantillons, les Chlamydiae vivantes ou mortes. L'utilisation d'anticorps polyclonaux, souvent dirigés contre le lipopolysaccharide LPS, ne permet pas d'identifier l'espèce de Chlamydiae mais peut fausser le diagnostic car le lipopolysaccharide LPS porte des antigènes communs avec d'autres bactéries Gram négatives. Il faut prendre en compte aussi les tissus qui pourraient être utilisés pour préparer les échantillons. Par exemple, lors d'avortement chez les ruminants, les échantillons les plus utilisés sont préparés à partir de membranes placentaires, de cotylédons ou à partir d'écouvillons vaginaux prélevés au moment de l'avortement ou du liquide gastrique ou du poumon des fœtus avortés [226].

L'identification rapide et spécifique des Chlamydiae a été améliorée par la mise au point de la Polymérase Chain Réaction (PCR). Cette méthode a permis de détecter 6 fois plus d'animaux excréteurs par voie vaginale que l'isolement sur la culture cellulaire [229]. La plupart des méthodes de PCR classiques, pour le diagnostic des Chlamydiae, utilise des amorces dans l'opéron ribosomal d'ARN (16S/23S), ou dans le gène ompA [230]. D'autres gènes sont proposés également pour la PCR classique comme omp2 ou pmp [230]. Tandis que, la PCR classique peut seulement confirmer la présence ou l'absence d'une bactérie pathogène, la PCR en temps réel (quantitative) permet en plus, de quantifier l'agent dans les échantillons en utilisant la fluorescence. La mesure de la fluorescence à chaque cycle de PCR peut se faire par des marquages fluorescents spécifiques de l'ADN double brin (SYBER GREEN) ou par deux sondes spécifiques du produit

d'amplification portant chacune un marqueur fluorescent (Light Cycler). La quantification permet aussi l'élimination des bruits de fond (bandes non spécifiques) qui sont produites par un nombre de cycles élevés en PCR 69 classique (35-50 cycles) [232]. Différentes amorces ont été proposées pour la PCR quantitative pour le diagnostic des Chlamydiae dans le gène ribosomal 23S [230, 233], le gène ompA [234, 235] et le gène incA [236]. En plus de la sensibilité et la rapidité, l'utilisation des amorces spécifiques de plusieurs gènes par PCR classique ou quantitative (PCR multiplex) a permis de rechercher plusieurs agents pathogènes simultanément. Néanmoins, la présence de faux positifs ou de faux négatifs constitue un des inconvénients potentiels de la PCR pour la détection des microorganismes. Les faux positifs, sont dus notamment à la contamination des prélèvements par les produits des réactions de PCR précédentes, ce qui implique l'utilisation d'équipements spéciaux ou de locaux spécifiques pour éviter ces contaminations par des aérosols. Les faux négatifs sont essentiellement dus à la présence d'inhibiteurs (ex. les échantillons de fèces). L'addition de contrôle interne dans la réaction de PCR permet de les détecter. Dans certains cas, la seule identification de l'espèce bactérienne n'est pas suffisante, des informations complémentaires sur la sous-espèce, le sérotype ou le génotype et certains facteurs de virulence peuvent être nécessaires. Récemment, la technologie des microarrays a ouvert de nouvelles possibilités particulièrement utiles pour le diagnostic des maladies infectieuses [232]. Les microarrays permettent de tester sur les échantillons d'ADN, un grand nombre de sondes qui peuvent être dérivées des fragments polymorphes de gènes et/ou de différentes régions génomiques. Sachse et ses collègues ont développé deux microarrays : une pour la détection et la différenciation des espèces de Chlamydiae et des espèces de *Chlamydia* en utilisant des sondes dérivées de l'espace intergénique 16s/23s, et l'autre pour différencier les différents génotypes de *Chlamydia psittaci* en utilisant des sondes d'hybridation dérivées des domaines variables (2 et 4) du gène ompA [232, 237].

3.6.2. Le diagnostic indirect

La détection des anticorps chez les animaux infectés par les Chlamydiae a deux buts; la confirmation de la présence ou l'absence de l'infection et la détermination du statut immunitaire de l'animal après la vaccination. Il y a plusieurs méthodes de

diagnostic indirect de Chlamydiae, mais le choix dépend de la situation épidémiologique chez l'espèce animale infectée. Les animaux d'une même espèce peuvent être infectés par différentes espèces de Chlamydiae et présenter les mêmes signes cliniques par exemple, *Chlamydia abortus* et *Chlamydia pecorum* chez les ruminant et *Chlamydia pecorum* et *Chlamydia pneumoniae* chez les koalas [232].

La technique de fixation du complément (FC) a été largement utilisée dans les laboratoires vétérinaires. Pendant plus de 50 ans, le test FC a été utilisé pour le diagnostic sérologique de la chlamydie abortive. Il a été recommandé par le bureau international des épizooties pendant très longtemps [238]. Une version automatisée (Seramat) de FC a été récemment développée. Les résultats corrélaient bien avec ceux des essais réalisés manuellement [239]. Cependant, le test de FC manque de spécificité car son antigène se compose principalement de LPS, qui est commun à toutes les espèces de la famille *Chlamydiaceae*.

La technique de Micro-Immuno-Fluorescence (MIF) était beaucoup plus utilisée pour le typage des souches que pour le dépistage des Chlamydiae. Elle est généralement sensible et spécifique mais elle exige un examen au microscope, ce qui rallonge considérablement le temps de lecture et augmente le coût du diagnostic vétérinaire et n'est pas compatible avec l'analyse d'un grand nombre de sérums.

Le test ELISA est plus spécifique et plus sensible que le CFT surtout quand il utilise un antigène spécifique. Plusieurs test ELISA ont été proposés pour le diagnostic de la chlamydie abortive en utilisant un extrait protéique total des corps élémentaires CE ou du LPS purifié [240]. Pour augmenter la spécificité du sérodiagnostic, un test ELISAr (recombinant ELISA) a été développé en utilisant des antigènes recombinants comme le LPS [241], la MOMP [242]. Les MOMP recombinantes entières de *Chlamydia abortus* et *Chlamydia pecorum* ont été également proposées pour un test ELISA spécifique d'espèce. Un test ELISAc (compétition) a été développé en utilisant des anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre la MOMP dont la fixation est empêchée par la présence des anticorps de sérum positifs. Cependant, l'inhibition dépend de la quantité et de la qualité des anticorps du test de compétition, qui pourraient identifier des épitopes linéaires ou conformationels de la MOMP [243]. Une étude

a comparé plusieurs tests ELISA utilisés pour le diagnostic de *Chlamydia abortus* chez les moutons et en particulier, pour examiner les faux positifs qui peuvent être dus à la présence des souches de *Chlamydia pecorum* chez les animaux sains. Le test ELISA utilisant la protéine Omp90-4 recombinante, une protéine de la famille des Pmps, a été le plus spécifique et le plus sensible [244]. En comparant tous les kits commerciaux utilisés, le kit le plus spécifique et le plus sensible est le kit Pourquoiier qui a été développé par l'INRA-Nouzilly et l'Institut Pourquoiier (Montpellier, France) et qui utilise un fragment spécifique de Pmps (80-90 kDa) de *Chlamydia abortus* [243]. Pendant ces dernières années, plusieurs kits ELISA ont été développés pour le diagnostic sérologique spécifique de *Chlamydia abortus* mais il est toujours nécessaire : I) de trouver une méthode pour différencier sérologiquement les animaux vaccinés avec le vaccin vivant des animaux infectés par *Chlamydia abortus* et II) de développer un antigène spécifique de *Chlamydia pecorum* pour distinguer les animaux infectés par *Chlamydia pecorum* des animaux infectés par d'autres espèces de *Chlamydia* [232].

3.7. Conclusion

La Chlamydie est une maladie infectieuse due à des bactéries du genre *Chlamydia*. Elle peut affecter les ovins, les caprins, les bovins et certains oiseaux. C'est une bactérie intracellulaire obligatoire, gram négatif de petite taille. *Chlamydia abortus* présentant un tropisme pour le placenta des ruminants, l'avortement en constitue la principale manifestation clinique. Il apparaît sous forme sporadique au cours du dernier trimestre de gestation généralement 45 à 120 jours après l'infection, sans signe clinique précurseur. La principale voie d'infection est la voie orale ou respiratoire. En cas d'avortement, un taux élevé d'anticorps peut se maintenir longtemps sans signes cliniques. Les valeurs moyennes de la prévalence de *Chlamydia abortus* chez les bovins varient en fonction du statut individuel ou du troupeau, de la nature des échantillons (sérums, fragments de placenta, écouvillons vaginaux et lait) et des différentes techniques utilisées (ELISA, PCR, FC, IHA). La prévalence individuelle varie de 11% à 23,2%, alors que celle du troupeau est de l'ordre de 59,2%.

CHAPITRE 4

LA TOXOPLASMOSE BOVINE

4.1. Introduction

Toxoplasma gondii a été isolé pour la première fois sur un petit mammifère du désert tunisien (*Ctenodactylus gundi*). L'implication du chat dans son cycle de développement a été mise en évidence en 1970 [245]. La toxoplasmose est une anthroponose qui touche différentes espèces animales domestiques (brebis et chèvre plus que vache et jument) et sauvages (cougar, puma, jaguar mais aussi les canards et la chouette, les petits rongeurs et les mammifères marins tels les belugas, les éléphants de mer, les dauphins et les loutres de mer [246]. Elle se traduit le plus souvent par des avortements et/ou des mortalités. Elle se transmet par voie horizontale (consommation d'aliments souillés par le chat et ses excréments) et verticale (voie transplacentaire) [247]. Le cycle de reproduction de *Toxoplasma gondii* implique un hôte définitif (chat) et d'hôtes intermédiaires (hommes, ruminants, la volaille) [248].

4.2. Caractéristiques et cycle de multiplication de *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii est un protozoaire appartenant au phylum *Apicomplexa*, classe *Sporozoasida*, sous-classe *Coccidiasina*, Ordre *Eucoccidiorida*, Sous-ordre *Eimeriorina*, Famille *Sarcocystidae*, Sous-famille *Toxoplastinae*, Genre et espèce *Toxoplasma gondii*. Le *Toxoplasma gondii* est un parasite intracellulaire obligatoire qui comporte trois stades infectieux: le Tachyzoïte, le Bradyzoïte et le Sporozoïte [249].

Le Tachyzoïte mesure 6 à 8µm de long sur 3 à 4µm de large. Il peut se multiplier toutes les 5 à 10 heures selon les souches dans tous les types cellulaires d'un hôte intermédiaire et dans les cellules épithéliales non-intestinales d'un hôte définitif [249].

Le Bradyzoïte correspond au stade de multiplication lente (état de quiescence). Il se multiplie sous la forme de kystes tissulaires. Les kystes sont intracellulaires de

forme sphérique mesurant de 5 μ m à 100 μ m et comportant deux à plusieurs centaines voire milliers de bradyzoïtes au métabolisme adapté à une vie quiescente [250]. La variation de forme et de taille des kystes dépend du tissu hôte. Ainsi, chez les ruminants, on trouve plus de kystes dans les tissus musculaires que dans le cerveau [251]. A la mort de la cellule et donc du kyste, les bradyzoïtes se libèrent dans le milieu extracellulaire avec des conséquences variables selon l'état immunitaire de l'hôte. Si le système immunitaire est efficace, certains toxoplasmes seraient détruits par le système immunitaire avant de pouvoir pénétrer dans de nouvelles cellules, d'autres pourraient se réfugier dans des cellules voisines et donner de nouveaux kystes. La persistance de ces kystes entretient une immunité cellulaire qui prévient en principe toute réinfection.

Le Sporozoïte présent dans les oocystes sporulés est l'élément infectant résultant de la reproduction sexuée dans les cellules épithéliales du chat et d'autres félidés. Les oocystes non sporulés (10 à 12 μ m de diamètre) émis dans les fèces de chat contiennent une masse unique, le sporoblaste. Après sporogonie, 2 sporocystes contenant chacun 4 sporozoïtes sont présents dans les oocystes sporulés. Les sporozoïtes sont peu différents en microscopie optique et électronique des autres stades infectants. Ils sont capables également de pénétrer activement dans les cellules des hôtes intermédiaires, par un processus légèrement différent de celui des tachyzoïtes [252].

Le cycle de *Toxoplasma gondii* nécessite la présence d'hôtes intermédiaires (mammifères, oiseaux, hommes) et définitifs (chats et d'autres félidés). Ce dernier passe par deux phases, l'une asexuée qui se déroule chez l'hôte intermédiaire et caractérisé par la pénétration des toxoplasmes à l'intérieur des cellules de l'intestin grêle via l'ingestion d'aliments souillés ; ce qui aura pour conséquence le développement de nombreuses générations de toxoplasmes par multiplication asexuée. La phase sexuée se déroule chez l'hôte définitif et plus précisément dans l'épithélium digestif du chat et de quelques autres félidés [249, 253]. Les hôtes intermédiaires du *Toxoplasma gondii* abritent, probablement pendant toute la durée de leur vie, les kystes intra tissulaires contenant des centaines de bradyzoïtes. Lorsque les hôtes intermédiaires servent de proies à des félidés, chats ou félidés sauvages, se produit, dans leurs cellules épithéliales intestinales, après une phase de multiplication asexuée par schizogonie, une transformation

des formes asexuées du toxoplasme en gamétocytes mâles et femelles (gamétogonie) suivie d'une fécondation. Cette dernière conduit à la formation d'oocystes non sporulés (non infectieux) excrétés dans les fèces des félidés 3 à 5 jours après l'infection (en cas d'ingestion de kystes) et pendant 7 à 15 jours. Dans le milieu extérieur, ces oocystes deviennent infectieux en 1 à 5 jours après un processus appelé sporogonie qui permet la formation des sporozoïtes. Les oocystes sporulés peuvent, à leur tour, rester quiescents pendant plus d'une année dans le sol avant d'infecter un nouvel hôte intermédiaire ou un félidé.

Chez l'hôte intermédiaire, après ingestion des oocystes, leur paroi se rompt dans l'intestin, les sporozoïtes libérés pénètrent dans les cellules épithéliales intestinales, se transforment en tachyzoïtes qui se disséminent rapidement dans tous les organes par l'intermédiaire des monocytes/macrophages sanguins et lymphatiques. Après une parasitémie brève, les parasites s'enkystent dans les tissus, en particulier les muscles striés et le cerveau, sources de contamination de l'hôte définitif. Ces kystes présents dans les tissus des hôtes intermédiaires sont également source de contamination pour un nouvel hôte intermédiaire (mammifères carnivores ou omnivores, ou oiseaux carnassiers). Après une phase de multiplication active du parasite sous forme de tachyzoïtes, ces hôtes hébergeront à leur tour des kystes toxoplasmiques quiescents.

4.3. Symptomatologie de la toxoplasmose chez les bovins

La toxoplasmose se traduit le plus souvent par un avortement chez les petits ruminants (brebis et chèvres) et de l'uvéïte chez le chat. Chez les bovins, la toxoplasmose est cliniquement inapparente ou peu symptomatique [254]. Il existe un risque de transmission fœtale mais celui-ci semble beaucoup plus faible que chez le mouton ou la chèvre [255]. Suite à une infestation naturelle, les bovins ne présentent le plus souvent aucun symptôme. En cas d'avortement, le placenta est épaissi et présente des taches blanches focales de nécrose milliaire de petite dimension mais bien visible (2-3mm) avec une tendance à la calcification des villosités cotylédonaires [256]. Le fœtus présente des épanchements séro-sanguinolents dans les cavités splanchniques et des lésions inflammatoires dans divers tissus et organes: foie, poumon, rein, myocarde, encéphale. A ces lésions inflammatoires s'ajoutent des lésions nécrotiques plus ou moins calcifiées [256].

L'induction expérimentale de la toxoplasmose chez les bovins est difficile. L'avortement n'est pas systématique. Elle provoque l'apparition d'un syndrome fébrile avec une hyporexie marquée après une période de trois à sept jours et chez le veau, l'apparition de la diarrhée et de la détresse respiratoire. Lors d'inoculation expérimentale de veaux, *Toxoplasma gondii* a été retrouvé dans le cerveau, les poumons, le foie, les reins, la rate, la glande salivaire, les testicules, le thymus, l'intestin grêle, le diaphragme et de nombreux ganglions lymphatiques. Au bout de 18 à 38 jours, ils ne persistent plus que dans les nœuds lymphatiques [257].

4.4. Epidémiologie

L'isolement de *Toxoplasma gondii* est particulièrement difficile [258] et notamment dans les parties comestibles des animaux [259]. Son excrétion par le lait est peu probable, son élimination se faisant essentiellement par les arrière-faix et les écoulements utérins faisant suite à un avortement. Sa transmission est tout à la fois verticale (transplacentaire) et horizontale (consommation d'animaux infectés ou d'aliments souillés par des oocystes) [247, 251].

Suite à une infestation par *Toxoplasma gondii* et après la fin de la phase aiguë, l'organisme développe une immunité dite acquise, elle est de nature à la fois cellulaire et humorale (IgM, IgG). L'identification des IgG (dye test, l'immunofluorescence indirecte, hémagglutination indirecte, agglutination sur latex et agglutination directe modifiée) s'observe 6 à 14 jours après l'inoculation [258]. Il semble que le titre en anticorps soit plus faible chez les veaux que les vaches. La souche inoculée et la voie d'inoculation n'ont pas d'influence sur la cinétique des anticorps [258].

4.4.1. Données de prévalence

La sensibilité et la spécificité différente des tests sérologiques utilisés pour la recherche de la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* chez les bovins rendent difficile l'interprétation des résultats de la littérature. Ainsi, le dye test considéré comme la méthode de référence dans l'espèce humaine, apparaît très peu spécifique chez les bovins [258]. De son côté, l'hémagglutination indirecte a également une sensibilité et une spécificité assez faible. Le test d'agglutination

directe modifiée est le test sérologique le plus sensible et le plus spécifique chez les bovins.

De nombreuses études relatives à la recherche de la prévalence de *Toxoplasma gondii* ont été menées sur les différents continents.

En Europe, la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* en Pologne a variée de 3,1% [260] à 15,9% [140] ; au sud de l'Espagne 83,3% [261] ; en République Tchèque 9,7% [262] et en Estonie 18,6% [263].

En France, la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* chez les bovins varie de 7,6% à 69% (54% [264], 69% [265], 7,6% [254], 27% [266]). Une recherche plus récente de la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* menée dans la région champagne Ardennes auprès de 1329 sérums de bovins laitiers et allaitants appartenant à 24 troupeaux choisies de manière aléatoire parmi 900 troupeaux adhérents au groupement de défense sanitaire, a fait ressortir une séroprévalence individuelle de 7,6% (101/1329) et une séroprévalence de troupeau de l'ordre de 87,5% (21/24) en utilisant la technique d'agglutination modifiée avec un titre seuil de 24. La présente étude a fait ressortir que la prévalence la plus élevée a été constaté chez les vaches âgées et dans les troupeaux de petite taille avec présence de chats [267]. Ce résultat rejoint celui retrouvé au Portugal 7,5% (prévalence individuelle) [268] et en Serbie 76,3% (prévalence du troupeau) et ayant utilisé la même technique à savoir le test d'agglutination modifié [269].

En Afrique, peu de données sur la prévalence de *Toxoplasma gondii* chez les bovins. En Algérie la valeur de la prévalence de *Toxoplasma gondii* a variée au cours de la même année de 3,92% par le test anticorps fluorescence indirecte [270] à 15,21% par ELISA [6] contre 12% en Tunisie chez bovins âgés de plus de 3 ans [271] et en Egypte des valeurs de 28,2% par ELISA, 29,2% par le test d'agglutination par le latex modifié et 23,6% par l'application des deux technique en même temps [272]. Au Sénégal une prévalence de 12,6% par le test d'agglutination directe haute sensibilité [273] ; au Nigéria, une prévalence de 13,81% par ELISA [274] ; au Soudan une séroprévalence individuelle de 13,3% par ELISA [275] contre 40,9% par le test d'agglutination du latex [276] et une prévalence troupeau de l'ordre de 44,8% [275].

En Asie et en fonction des différentes méthodes utilisées, la séroprévalence individuelle de *Toxoplasma gondii* chez les bovins a varié de 0% à 43,5% [210, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285].

En Amérique La valeur de la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* chez les bovins a varié selon les différentes méthodes utilisées ; en Argentine de 8% [286] à 91% [287] ; au Brésil elle a varié de 17,5% [288] ; à 83,4% [289] ; à 5,3% [290].

Les valeurs moyennes de la prévalence de *Toxoplasma gondii* au sein des élevages bovins varient en fonction du contexte des différentes études entreprises, la nature des échantillons prélevés et plus important la technique de laboratoire utilisé pour cette analyse. Ainsi différentes études ont été réalisées temps sur le plan individuel que du troupeau pour permettre de valoriser le degré d'implication de *Toxoplasma gondii* dans les différents troubles de reproduction rencontrés chez les bovins particulièrement les avortements en utilisant différentes techniques de laboratoire.

Sur le plan individuel (tableau 4.1), la valeur de la prévalence moyenne de *Toxoplasma gondii* sur des échantillons de sérums de bovins varie de 7,2% par la technique d'IHAT «test d'hémagglutination indirect» à 29% par LAT «test d'agglutination du latex modifié». La recherche de la prévalence de *Toxoplasma gondii* par PCR sur les échantillons de placenta a fait ressortir une valeur moyenne de 3,5% contre 5,3% dans des échantillons de lait individuel toujours par PCR.

Sur le plan troupeau (tableau 4.2), La prévalence moyenne de *Toxoplasma gondii* recherché dans les laits de tank par la méthode ELISA est de 84,1%.

Tableau 4.1 : Prévalences de *Toxoplasma gondii* à l'échelle individuelle chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement (1984 à 2017).

pays	Période d'étude	type	N	Na	Technique utilisée	NEP	P (%)	Référence
Brésil	2013	V	1789	S	ELISA	1492	83,4	[289]
Antilles	/	V	148	S	ELISA	4	2,7	[291]
Pologne	/	V	4033	S	ELISA	127	3,1	[260]
République tchèque	2009	V	546	S	ELISA	53	9,7	[262]
Espagne	/	V	504	S	ELISA	420	83,3	[261]
Soudan	/	B	181	S	ELISA	24	13,3	[275]
Algérie	2013	V	92	S	ELISA	14	15,2	[276]
Egypte	/	V	301	S	ELISA	85	28,2	[272]
Nigéria	2012	BB	210	S	ELISA	29	13,8	[274]
Iran	2010-2012	Va	85	S	ELISA	5	5,9	[284]
Chine	2011	V	1040	S	ELISA	133	12,8	[283]
Pakistan	2012	V	400	S	ELISA	79	19,75	[282]
Moyenne			9329	S	ELISA	2465	26,4	
Iran	2011-2012	V	200	L	ELISA	6	3	[280]
Pologne	/	V	119	L	PCR	10	15,9	[140]
Iran	2011-2012	V	200	L	PCR	7	3,5	[280]
Moyenne			319	L	PCR	17	5,3	
Chine	2011	V	66	T	PCR	9	13,6	[283]
Argentine	1999-2007	V	666	T	PCR	0	0	[286]
Suisse	/	BB	406	T	PCR tr	19	4,7	[292]
Suisse	/	Vx	47	T	PCR tr	14	29,8	[292]
Moyenne			1185	T	PCR	42	3,5	
Serbie	2002-2003	V	611	S	TAM	466	76,3	[269]
France	/	V	1329	S	TAM	101	7,6	[267]
Portugal	2008-2010	BB	161	S	TAM	12	7,50	[268]
Inde	/	V	60	S	TAM	16	26,66	[285]
Tunisie	2010-2012	BB	25	S	TAM	3	12	[271]
Argentine	2004	BB	90	S	TAM	13	14,4	[287]

Moyenne			2276	S	TAM	611	26,8	
Tanzanie	2003-2004	V	655	S	LAT	24	3,6	[293]
Soudan	2012-2014	V	1216	S	LAT	497	40,9	[276]
Egypte	/	V	301	S	LAT	88	29,2	[272]
Pakistan	/	V	200	S	LAT	87	43,5	[281]
Inde	/	V	60	S	LAT	10	16,66	[285]
Moyenne			2432	S	LAT	706	29	
Iran	/	V	2000	S	IHAT	0	0	[277]
Chine	2013-2014	V	4487	S	IHAT	470	10,47	[210]
Moyenne			6487	S	IHAT	470	7,2	
Iran	2004-2005	V	290	S	IFAT	0	0	[279]
Argentine	2004	BB	90	S	IFAT	82	91	[287]
Brésil	2011	BB	121	S	IFAT	21	17,4	[288]
Brésil	2015	BB	1000	S	IFAT	53	5,3	[290]
Moyenne			1501	S	IFAT	156	10,4	
Turquie	/	Va	234	S	SFDT	37	15,81	[61]
Turquie		VG	323	S	SFDT	101	31,36	[61]
Canada	/	V	1759	S	SFDT	309	17	[294]
Moyenne			2316	S	SFDT	447	19,3	
Estonie	2012-2013	V	4020	S	TAD	748	18,6	[263]
Vietnam	1995	V	200	S	TAD	21	10,5	[278]
Moyenne			4220	S	TAD	769	18,2	
France	/	V	198	S	ADHS	54	27	[266]

Type «V : vache, B: bovin, BB : bovins de boucherie, Vx : veaux, Va: vache avortée, VG : vache gestante», **N**: nombre d'échantillons, **Na**: nature de l'échantillon «S: sérum, T: tissu, L: lait». **NEP**: nombre d'échantillons positifs, **P**: prévalence. **Technique utilisée** «TAD: Test d'agglutination direct, ADHS: agglutination directe haute sensibilité, IFAT: test anticorps fluorescence indirecte, PCR: La Polymérase Chain Réaction, TAM: Test d'agglutination modifié, LAT: test d'agglutination du latex modifié, ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay, SFDT: test de coloration Sabin-Feldman, IHAT: test d'hémagglutination indirect ».

Tableau 4.2: Prévalences de *Toxoplasma gondii* à l'échelle du troupeau chez les bovins selon la technique utilisée et la nature du prélèvement (2009 à 2015).

Pays	Période d'étude	type	N	Na	Technique utilisée	NEP	P (%)	Référence
Sud de l'Espagne	/	T	72	L	ELISA	72	100	[261]
Soudan	/	T	29	L	ELISA	13	44,8	[275]
Moyenne			101	L	ELISA	85	84,1	
Estonie	2012-2013	T	227	L	TAD	159	70,4	[263]
Tanzanie	2003-2004	T	130	L	LAT	17	13	[293]
France	/	T	24	L	TAM	21	87,5	[267]
Algérie	/	T	41	L	IFAT	5	12,19	[270]

Type «T: troupeau», **N**: nombre d'échantillons, **Na**: nature de l'échantillon «L: lait». **NEP**: nombre d'échantillons positifs, **P**: prévalence. **Technique utilisée**: «TAD: Test d'agglutination direct, IFAT: test anticorps fluorescence indirecte, TAM: Test d'agglutination modifié, ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay indirect, LAT: test d'agglutination du latex modifié.

4.4.2. Facteurs de risques de *Toxoplasma gondii*

L'âge de l'animal serait [61, 267, 268, 271, 275, 281, 282, 290] ou non [210] selon les études considéré comme un facteur de risque. Au Soudan, la séroprévalence individuelle de *Toxoplasma gondii* de (13,3% par ELISA) serait plus élevée chez les jeunes bovins [275]. Pour d'autres auteurs elle serait plus importante chez les bovins plus âgés (>3 ans [271], >5 ans [274], > 4ans [210, 282, 288]). Alors que l'influence du sexe semble peu démontrée [275, 282].

Une séroprévalence plus élevée a été observée chez des femelles gestantes (31,3%) que chez les femelles ayant avorté (15,81%) [61]. L'inverse a été constaté lors d'une étude menée dans un abattoir brésilien [290].

Taille du troupeau: la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* est plus élevée dans les troupeaux de petite taille avec un effectif total <10 [260, 261, 267, 269]. Par contre les études de Schoonman et al (2010) [293] et Sun et al (2015) [210]

montrent que la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* est plus importante dans les troupeaux à grand effectif. La prévalence obtenue par Sun et al (2015) était de 10,47% principalement dans les élevages > 100 vaches [210].

La contamination de l'eau d'abreuvement par des matières fécales ou des urines de chat et donc d'une manière plus générale la mauvaise hygiène du troupeau [282], voire la présence de chats dans l'exploitation [210, 267, 282, 290] permettent la transmission de *Toxoplasma gondii* aux bovins [210].

4.5. Diagnostic de *Toxoplasma gondii*

4.5.1. Diagnostic sérologique

Le diagnostic immunologique de la toxoplasmose chez l'animal est basé sur la détection d'anticorps (IgG principalement). La recherche d'autres isotypes d'anticorps (IgM) ou d'antigène circulant a été proposée chez le chat mais elle est peu appliquée à d'autres espèces animales [295]. Les techniques sérologiques utilisées chez l'animal sont identiques à celles décrites chez l'homme, mais plusieurs d'entre-elles présentent d'importantes limites [254].

3.4.1.1. Détection des IgG

Le dye-test est la technique historique et de référence en médecine humaine. Les avantages de cette technique sont sa grande spécificité et sa bonne sensibilité. Néanmoins, elle nécessite la manipulation de matériels infectant et une grande technicité. Cette méthode n'est donc plus utilisée en routine, mais seulement dans le cadre de certaines recherches et comme technique de référence avec un seuil de sensibilité de 4 UI/ml. En outre, elle n'est pas applicable chez les bovins en raison de son manque de fiabilité. On observe des faux positifs, dus à des anticorps naturels de type IgM, et des faux négatifs, dus à la disparition rapide des anticorps lytiques [296]. Ce test reste valable pour les autres espèces animales. Son utilisation est cependant peu fréquente en pratique courante [254].

L'hémagglutination indirecte: Dans la pratique vétérinaire, ce test est très peu utilisé, car sa sensibilité (titre très faible) et sa spécificité (réaction croisée entre coccidies) sont faibles [254].

Le test d'agglutination sur latex: le principe du test est simple, il s'agit de billes de latex qui sont placés avec des antigènes solubles. Au contact du sérum à tester

on observe une agglutination. Le test est simple à réaliser, mais la sensibilité chez les ruminants est relativement faible. De nombreux kits commerciaux reposent sur ce test (FUMOUCHE « Toxolates », BIORAD « Pastorex Toxo », ...). Ce test souffre des mêmes défauts que l'hémagglutination indirecte [254].

Le test de fixation du Complément : ce test est rarement utilisé, car il est très complexe, non standardisé et surtout il n'est ni sensible, ni spécifique [254, 258].

L'agglutination directe modifiée (MAT) : appelé aussi Agglutination Directe à Haute Sensibilité (ADHS), elle a été initialement proposée pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose chez l'homme, puis utilisée chez l'animal [254]. L'antigène est une suspension de tachyzoïtes trypsinés puis formolés ; la réaction est réalisée sur des dilutions de sérums. Ce test présente plusieurs intérêts : simplicité de réalisation, bonne sensibilité et spécificité, et possibilité d'être réalisé pour de nombreuses espèces animales [296]. Ce test est largement employé dans des études de dépistage et de prévalence sur de très nombreuses espèces de la faune domestique ou sauvage [246, 297]. A l'heure actuelle, cette technique paraît la meilleure en terme de sensibilité [298], bien que des toxoplasmes aient été retrouvés par bio-essai chez le chat chez des animaux (notamment des oiseaux) dont la sérologie était négative en agglutination directe [246].

L'immunofluorescence indirecte: La technique est bien standardisée, cependant elle est moins sensible que le dye test (seuil de sensibilité de 8 UI/ml). Elle est toutefois utilisée fréquemment chez l'homme, avec des kits commerciaux (BIOMERIEUX « Toxo-spot IF », BIOMERIEUX « Antigène Toxolyophilisé ») [254]. Chez les animaux, elle est également utilisable mais des différences de sensibilité peuvent être observées selon les seuils utilisés et les espèces. Cette technique est limitée par la nécessité d'utiliser un conjugué spécifique d'espèce ; elle est peu adaptée aux enquêtes de séroprévalence [299].

Les techniques ELISA ont été proposées pour la recherche d'anticorps anti-*Toxoplasma gondii* chez les bovins, les moutons et les chevaux [300]. Récemment, il a été rapporté l'intérêt de la détermination de l'avidité des IgG par test ELISA (utilisant la protéine SAG1 comme antigène) dans le diagnostic d'infection toxoplasmique chez le mouton [300] ; cependant cette technique reste limitée en raison de son coût (par rapport au prix d'une brebis par exemple).

Comme pour l'immunofluorescence, les techniques ELISA nécessitent l'emploi d'un conjugué spécifique pour chaque espèce animale et ne sont donc pas applicables à toutes les espèces. Toutefois, il existe des ELISA utilisant un conjugué anti-ruminant permettant ainsi son application pour le diagnostic chez les moutons [254].

3.4.1.2. Détection des IgM

Comme les IgM apparaissent et disparaissent plus précocement que les IgG, leur dosage est intéressant pour diagnostiquer une infestation récente évolutive. L'existence d'IgM non spécifiques provoquant une réaction croisée et l'existence d'un phénomène de compétition avec les IgG qui cachent les sites des IgM expliquent que les premières techniques mises au point n'étaient pas valables. Il existe aujourd'hui des techniques (Immuno Sorbent Agglutination Assay, ELISA double sandwich, ...) très sensibles et spécifiques [254, 258].

4.5.2. Diagnostic parasitologique

Examen direct

L'étude histologique peut être réalisée sur les prélèvements de tissus animaux pour la mise en évidence de tachyzoïtes ou de kystes. Des colorations par immunohistochimie peuvent être alors utilisées. La difficulté réside dans le diagnostic différentiel entre *Toxoplasma gondii* et d'autres protozoaires très proches, à savoir *Neospora caninum* et *Sarcocystis neurona*, responsables de pathologies similaires chez de nombreux animaux. Toutefois, une amélioration de la qualité d'anticorps permet de limiter voire d'exclure toute réaction croisée (au moins vis-à-vis de *Neospora caninum*) [254, 258].

Bio essai

La souris et le chat peuvent être employés pour des bio-essais. La technique utilisant la souris est la même que celle employée pour le diagnostic chez l'homme. Sa sensibilité est bonne, avec un seuil de détection de 1 kyste de *Toxoplasma gondii* pour 100 grammes de tissus prélevés chez des ruminants naturellement infectés [258]. Le bio essai sur le chat est rarement utilisé en pratique courante. L'inoculation d'un chat indemne de toxoplasmose (vérification

par la sérologie) est faite par ingestion. L'infection du chat, témoin de la présence de toxoplasmes dans le produit inoculé, est attestée par la présence d'oocystes éliminés dans les fèces dès le 3ème jour post-inoculation [258]. Il semblerait que le bio-essai sur le chat soit plus sensible que sur la souris, car la quantité de matériel administrée au chat peut être plus importante et le chat élimine des oocystes même lorsque l'inoculum parasitaire est faible [296, 298].

Culture cellulaire

Cette technique n'est pas utilisée pour le diagnostic chez l'animal car la sensibilité du bio essai chez la souris est supérieure à celle de la culture cellulaire ; une étude fait cependant état de cette technique pour l'isolement de *Toxoplasma gondii* chez des loutres de mer [299].

Biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire (PCR) ont été récemment employées pour la détection d'ADN dans les tissus animaux et sur différents types de produits pathologiques (organes ou liquides biologiques). La PCR a été évaluée dans des infections expérimentales chez le mouton et proposée dans le cadre du diagnostic étiologique des avortements chez les ovins et chez les bovins, permettant notamment la distinction avec *Neospora caninum* [254]. Un intérêt futur pour les techniques de PCR multiplexe voire de bio-puces est à considérer.

Les tissus les plus utiles pour la recherche de toxoplasmes par ces diverses méthodes sont le cœur et le cerveau dans un contexte de dépistage systématique ou le placenta et les produits d'avortements dans le contexte de la recherche étiologique d'un avortement [254, 258].

4.5.3. Etude étiologique des avortements

En cas d'avortements survenant dans un troupeau, la recherche de *Toxoplasma gondii* est rarement effectuée. L'étude histologique est parfois réalisée et présente l'avantage de donner un résultat rapide. La détection de tachyzoïtes ou de kystes peut être difficile et le diagnostic différentiel avec *Neospora caninum* en cas d'avortement chez les bovins est impossible. Le bio-essai à partir des avortons ou du placenta, jamais réalisé en pratique courante, serait le seul moyen d'établir le diagnostic spécifique de toxoplasmose. La PCR est encore récente dans cette

application ; elle présente l'avantage d'être sensible et spécifique [254]. En fait, lors d'avortements survenant dans un troupeau de brebis, la toxoplasmose représente un diagnostic d'exclusion (après élimination de la brucellose, de la chlamydie et de la fièvre Q). La sérologie avec recherche des IgM peut s'avérer intéressante dans le cadre du dépistage de la toxoplasmose abortive des petits ruminants car elle permet d'identifier une éventuelle infection récente. Lors d'avortements dans un troupeau de bovins, la recherche étiologique n'est pratiquement jamais réalisée [258].

4.6. Conclusion

La toxoplasmose est une anthroponose qui concerne davantage les petits que les grands ruminants. L'agent responsable, *Toxoplasma gondii*, est un protozoaire intracellulaire, appartenant à l'ordre des Coccidies. Il présente 3 formes infestantes : tachyzoïtes (forme de multiplication rapide dans les phases aiguës de l'infection); bradyzoïtes (au sein de kystes latents dans les tissus) et sporozoïtes (au sein des oocystes). Le cycle de reproduction de *Toxoplasma gondii* implique un hôte définitif (chat) et des hôtes intermédiaires (hommes, ruminants, la volaille).

La toxoplasmose se traduit le plus souvent par un avortement chez les petits ruminants (brebis et chèvres) et de l'uvéïte chez le chat. Chez les bovins, la toxoplasmose est cliniquement inapparente ou peu symptomatique. Elle peut être responsable d'avortements et/ou des mortalités. Il existe un risque de transmission fœtale mais celui-ci semble beaucoup plus faible que chez le mouton ou la chèvre. Elle se transmet par voie horizontale (consommation d'aliments souillés par les excréments du chat) et verticale (voie transplacentaire). Les bovins présentent des taux de séroprévalence relativement faibles. Sur le plan individuel, la valeur de la prévalence moyenne de *Toxoplasma gondii* sur des échantillons de sérums de bovins varie de 7,2% par la technique d'IHAT «test d'hémagglutination indirect» à 29% par LAT «test d'agglutination du latex modifié». La recherche de la prévalence de *Toxoplasma gondii* par PCR sur les échantillons de placenta a fait ressortir une valeur moyenne de 3,5% contre 5,3% dans des échantillons de lait individuel toujours par PCR. Sur le plan troupeau, la prévalence moyenne de *Toxoplasma gondii* recherchée dans les laits de tank par la méthode ELISA est de 84,1%. L'agglutination directe modifiée est actuellement la meilleure technique de diagnostic sérologique.

CHAPITRE 5

PREVALENCE DE *COXIELLA BURNETII*, *CHLAMYDIA ABORTUS* ET *TOXOPLASMA GONDII* CHEZ LES VACHES AVORTEES DANS LA REGION DE LA MITIDJA

5.1. Introduction

En Algérie, seule la brucellose est considérée comme maladie abortive chez les bovins [301], le reste des germes ne sont pas considérés à l'heure actuelle comme abortifs. Dans ce contexte, la présente étude s'est intéressé à la recherche de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* chez les vaches avortées et leurs éventuelle responsabilité quant à l'induction des avortements.

De nombreuses études ont caractérisé, la plupart du temps au moyen d'un test ELISA, la séroprévalence individuelle et de troupeaux associés à une exposition à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et/ou *Toxoplasma gondii*. De ces études, il ressort que la séroprévalence individuelle varie de 0,8 à 89,5 % pour *Coxiella burnetii* [124, 128], de 0,73 à 51,3 % pour *Chlamydia abortus* [212, 219] et de 2,7 à 83,4 % pour *Toxoplasma gondii* [261, 291]. La séroprévalence de troupeaux varie, quant à elle, de 10 à 81,6 % pour *Coxiella burnetii* [124, 147], de 57 à 66,3 % pour *Chlamydia abortus* [215, 218] et de 44,8 à 100 % pour *Toxoplasma gondii* [261, 275].

Les données citées ci-dessus illustrent l'importance de ces pathologies chez les bovins. Néanmoins, l'implication de ces germes zoonotiques dans les avortements a été très peu étudiée dans le contexte algérien. Aussi, il nous a paru intéressant d'évaluer la prévalence d'exposition à ces trois germes zoonotiques dans des cas d'avortements bovins à l'échelle individuelle et de troupeau à l'aide de tests ELISA. L'utilisation du test ELISA a été privilégiée vu qu'il est sensible, spécifique, fiable et applicable au dépistage à grande échelle. Il permet de suspecter un contact entre l'animal et l'agent infectieux (exposition), sans pour autant incriminer forcément cet agent comme responsable de l'avortement. Seule la mise en

évidence de l'agent infectieux dans l'avorton et les produits annexes, par exemple par le biais de la méthode PCR, permettra d'imputer la responsabilité de l'agent dans l'avortement.

5.2. Matériel et méthodes

5.2.1. Données générales

L'étude a été réalisée entre les mois d'octobre 2014 et juin 2016. Elle concerne 368 cas d'avortements cliniques chez 52 génisses et 316 vaches provenant de 124 élevages dont le dépistage de la brucellose et de la tuberculose est réalisé de manière systématique et situés dans le nord de l'Algérie (plaine de la Mitidja) [302]. Cet échantillon représente environ 1 % des génisses et vaches présentes dans la région. Le nombre de femelles en âge de reproduction détenues par élevage et le nombre d'avortements enregistrés durant la période d'étude était respectivement compris entre 4 et 180 et entre 1 et 21, en fonction du troupeau considéré (Annexe 1).

La région de la Mitidja est située dans le nord de l'Algérie et composée des wilayas de Blida, Alger, Tipaza et Boumerdès (Figure 5.1). C'est une grande plaine agricole connue pour la production d'agrumes et de vignes. D'une superficie de 1 400 km², elle s'étend sur une longueur de 100 km et une largeur de 5 à 20 km avec une altitude moyenne de 50 m. Le climat est méditerranéen avec une influence continentale (le sirocco en été), des hivers pluvieux et doux et des étés chauds et secs. La population animale est composée approximativement de 67 000 bovins (dont 34 000 vaches), 155 000 ovins (dont 61 500 brebis), 26 000 caprins (dont 12 000 chèvres) et 700 équins (dont 120 juments) [303].

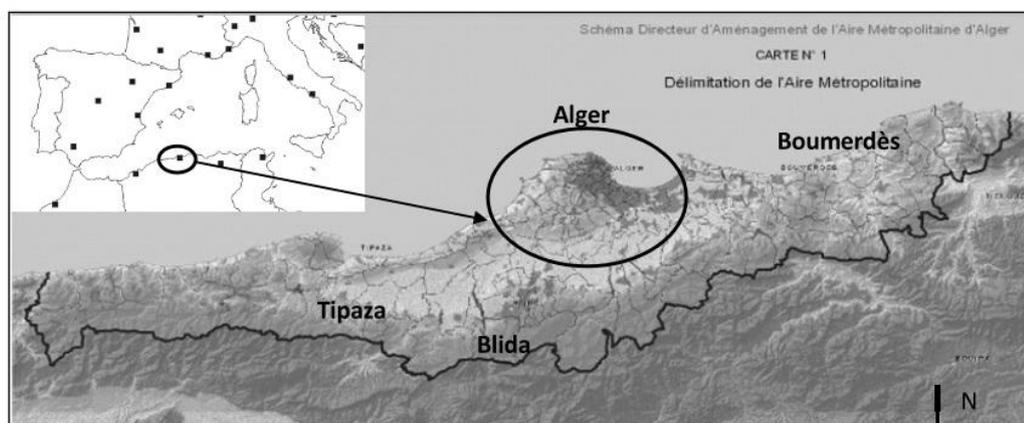


Figure 5.1 : la zone d'étude « région de la Mitidja » [302].

La détection d'un avortement clinique étant seulement possible par l'éleveur à partir du troisième mois de gestation, seule la déclaration des avortements observés au-delà de cette période a été considérée dans cette étude.

Ces 368 femelles bovines laitières appartiennent à 124 élevages bovins laitiers sélectionnés sur base de leur vocation bovine laitière uniquement, leur pratique du dépistage de la brucellose et la tuberculose (statut infectieux de l'élevage connu), la présence d'au moins d'un cas d'avortement bovin de plus de trois mois observé au cours des deux derniers mois et la volonté de l'éleveur de coopérer.

5.2.2. Analyses sérologiques

Chaque vache ayant avorté a fait l'objet d'un prélèvement de 5 ml de sang, réalisé par un vétérinaire, au niveau de la veine caudale au moyen d'un tube sec de type Vacutainer. Les prélèvements ont été réalisés dans un délai maximum de deux mois après la déclaration de chaque avortement ; ce qui réduit les chances de trouver des anticorps à un taux très faible. Les prélèvements ont ensuite été acheminés au laboratoire de biotechnologie animale de l'université Blida 1 dans une glacière à une température de + 4°C puis centrifugés pendant 5 min à 3 000 tours par minute. Les sérums ont été recueilli grâce à une micropipette et mis dans des eppendorff d'une capacité de 1.5 ml puis conservés à une température de – 20°C jusqu'au moment de la réalisation des tests sérologiques. A noté que toutes les étapes du laboratoire en commençant par la préparation des sérums jusqu'à l'analyse sérologique par ELISA ont été réalisés par la doctorante elle-même.

La présence d'anticorps *anti-Coxiella burnetii*, *anti-Chlamydia abortus* et *anti-Toxoplasma gondii* a été détectée au moyen de kits ELISA (IDVET, Montpellier, France). Le kit utilisé pour la recherche des anticorps *anti-Coxiella burnetii* est le kit ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species utilisant une souche *Coxiella burnetii* phases I et II, isolée en France à partir du placenta d'un avortement bovin. Les spécificité et sensibilité diagnostiques annoncées de ce test par le producteur sont respectivement de 100 % (IC 95 % : 98,49 – 100) et 100 % (IC 95 % : 88,65 – 100). Celui utilisé pour la recherche des anticorps *anti-Chlamydia abortus* est le kit ID Screen® *Chlamydia abortus* Indirect Multi-species utilisant un antigène synthétisé issu de la Momp (Major outer membrane protein) présentant une

spécificité pour *Chlamydia abortus*. Les spécificité et sensibilité diagnostiques annoncées de ce test par le producteur sont respectivement de 100 % (IC 95 % : 93,38 – 100) et 70 % (IC 95 % : 53,5 – 83,4). La recherche des anticorps *anti-Toxoplasma gondii* dans le sérum bovin a été réalisée au moyen du kit ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species utilisant l'antigène P30 spécifique de *Toxoplasma gondii*. Les spécificité et sensibilité diagnostiques annoncées de ce test par le producteur sont respectivement de 99,42 % (IC 95 % : 98,5– 99,7) et 98,36 % (IC 95 % : 95,29 – 99,44).

Concernant la composition des kits ELISA utilisés pour la présente étude ainsi que le mode opératoire, ils sont mentionnés en annexe (Annexe 3).

❖ Validation du test et interprétation des résultats

Le test est validé si :

- ✓ La valeur moyenne de la densité optique des contrôles positifs (DOcp) est supérieure à 0.350 pour *Toxoplasma gondii*, *Coxiella burnetii* et *Chlamydia abortus*.
DOcp > 0.350
- ✓ Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs (DOcp) et la moyenne des contrôles négatifs (DOcn) est :
 - Supérieur à 3 pour *Coxiella burnetii* et *Chlamydia abortus*
DOcp/DOcn > 3.
 - Supérieur à 3.5 pour *Toxoplasma gondii* **DOcp/DOcn > 3,5.**

Ces deux conditions étant réunies, une mesure des densités optiques des échantillons testés à une longueur d'onde de 450 nm a été réalisée. Les pourcentages S/P (*sample* [pour échantillon] / *positive* [pour sérum de contrôle positif]) ont été calculés en appliquant l'équation 1 et interprétés selon la notice du fabricant des tests ELISA (Tableau 5.1).

$$\frac{S}{P} \% = \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ contrôle positif}} \times 100 \quad (\text{Équation 1})$$

Un élevage a été considéré comme séropositif si au moins une vache appartenant à cet élevage était séropositive. La séroprévalence a été calculée en divisant le nombre de sérums sérologiquement positifs et douteux sur le nombre total des sérums analysés.

Tableau 5.1: Seuils d'interprétation du kit Elisa pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus*, *Toxoplasma gondii*.

Interprétation	<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Chlamydia abortus</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
Infection aigue	/	/	S/P ≥ 200%
Fortement positif	S/P > 80%	/	/
Positif	50% < S/P ≤ 80%	S/P ≥ 60%	50% ≤ S/P < 200%
Douteux	40% < S/P ≤ 50%	50% < S/P < 60%	40% < S/P < 50%
Négatif	S/P ≤ 40%	S/P ≤ 50%	S/P ≤ 40%

S/P : Sample (échantillon testé) / Positive (échantillon témoin positif)

5.2.3. Analyses statistiques

La séroprévalence apparente (PA) est le nombre de vaches ou de troupeaux positifs et douteux par rapport au nombre total (positif+douteux+négatif) de vaches ou de troupeaux.

$$PA = (P+D) / (P+D+N)$$

Pour les valeurs de prévalence apparente, spécificité et sensibilité des différents tests ELISA, une variable uniforme tenant compte des valeurs extrêmes de l'intervalle de confiance 95% a été utilisée et un modèle de simulation stochastique (1000 simulations Monte Carlo) a été mis en œuvre sous @Risk 7.5.2 [304] afin d'estimer la prévalence réelle assortie d'un intervalle de confiance (IC) à 95% en utilisant l'équation 1.

Le taux de prévalence réelle (PR) individuelle et de troupeau de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* a été estimée au départ du taux de prévalence apparente (PA) calculé dans cette étude (c'est-à-dire la séroprévalence) et des valeurs de spécificité (Sp) et sensibilité (Se) diagnostiques individuelles annoncées par le producteur des kits, en utilisant la formule de Rogan et Gladen [305] :

$$PR = \frac{PA + Sp - 1}{Se + Sp - 1} \quad (\text{Equation 2})$$

5.3. Résultats et Discussion

Dans la région d'étude et pour une population de 3245 vaches laitières, le taux d'avortement bovin rapporté à l'échelle individuelle a été estimé à 11,3%, prévalence élevée comparée à celle rapporté par Givens et Marley (2008) [15] qui varié de 3 à 6 %.

5.3.1. Résultats de la prévalence individuelle apparente et réelle de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

5.3.1.1. Prévalence individuelle apparente

Le Tableau 5.2 présente les résultats obtenus du statut des 368 sérums sanguins de vaches avortées par technique ELISA et cela a l'encontre des trois germes recherchés à savoir: *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

Tableau 5.2 : Résultats de l'Analyse individuelle des 368 sérums bovins avortés par technique Elisa pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

statut	<i>Coxiella burnetii</i>		<i>Chlamydia abortus</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%
Négatif	337	91,6	323	87,8	317	86,1
Douteux	6	1,6	11	3	13	3,5
Positif	12	3,3	34	9,2	38	10,3
Fortement positif	13	3,5	/	/	/	/
Total	368	100%	368	100%	368	100%

N : nombre ; %: pourcentage.

Il en ressort que :

➤ Nombre de sérums Doubteux

En se référant aux seuils d'interprétation fixés par le fabricant des kits ELISA utilisés par la présente étude (**Tableau 5.1**), les sérums testés étaient considérés douteux pour *Coxiella burnetii* et *Toxoplasma gondii* si $40\% < S/P \leq 50\%$, tandis que pour *Chlamydia abortus* si $50\% < S/P < 60\%$.

Ainsi, sur les 368 sérums testés, 6 étaient considérés douteux pour *Coxiella burnetii* soit 1,6%, 11 pour *Chlamydia abortus* soit 3% et 13 pour *Toxoplasma gondii* soit 3,5% (Tableau 5.2) (Figure 5.2).

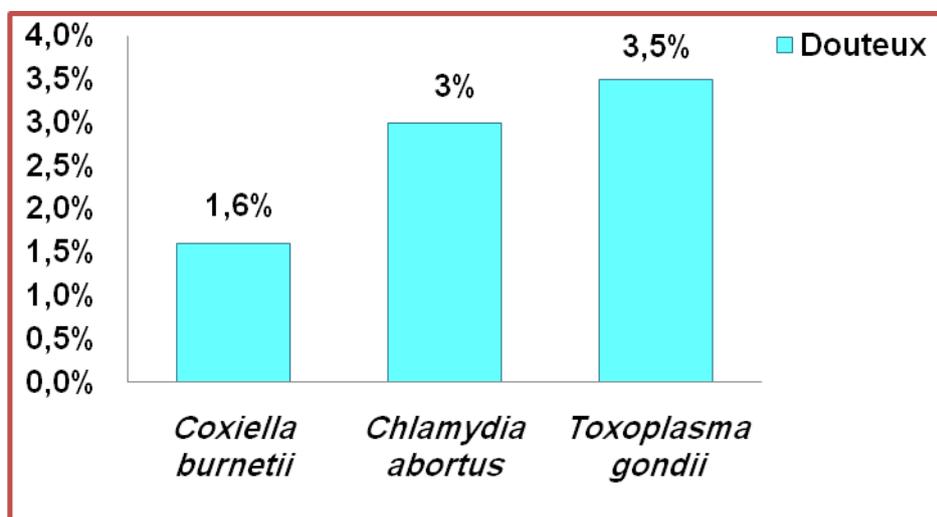


Figure 5.2 : Histogramme du Nombre de sérums douteux pour les trois pathogènes recherchés par Elisa.

➤ Nombre de sérums Positifs, Fortement positif et infection aigue

En se référant aux seuils d'interprétation fixés par le fabricant des kits ELISA utilisés par la présente étude (Tableau 5.1), les sérums testés étaient considérés positifs pour *Coxiella burnetii* si $50\% < S/P \leq 80\%$, pour *Chlamydia abortus* si $S/P \geq 60\%$; et pour *Toxoplasma gondii* si $50\% \leq S/P < 200\%$.

Le statut «**Fortement positif**» a été mentionné uniquement pour *Coxiella burnetii* si $S/P > 80\%$. Quant au statut «**infection aigue**» il a été rattaché uniquement à *Toxoplasma gondii* si $S/P \geq 200\%$.

Ainsi, sur les 368 sérums testés, 12 étaient considérés positifs pour *Coxiella burnetii* soit 3,3%, 34 pour *Chlamydia abortus* soit 9,2% et 38 pour *Toxoplasma gondii* soit 10,3% (Tableau 5.2) (Figure 5.3).

Pour ce qui est du statut «Fortement positif» de *Coxiella burnetii*, il en ressort 13 sérums fortement positifs soit 3,5%. Par contre, pour *Toxoplasma gondii* aucun sérum n'a présenté un statut d'infection aigue avec une $S/P \geq 200\%$ soit 0% (Tableau 5.2) (Figure 5.3).

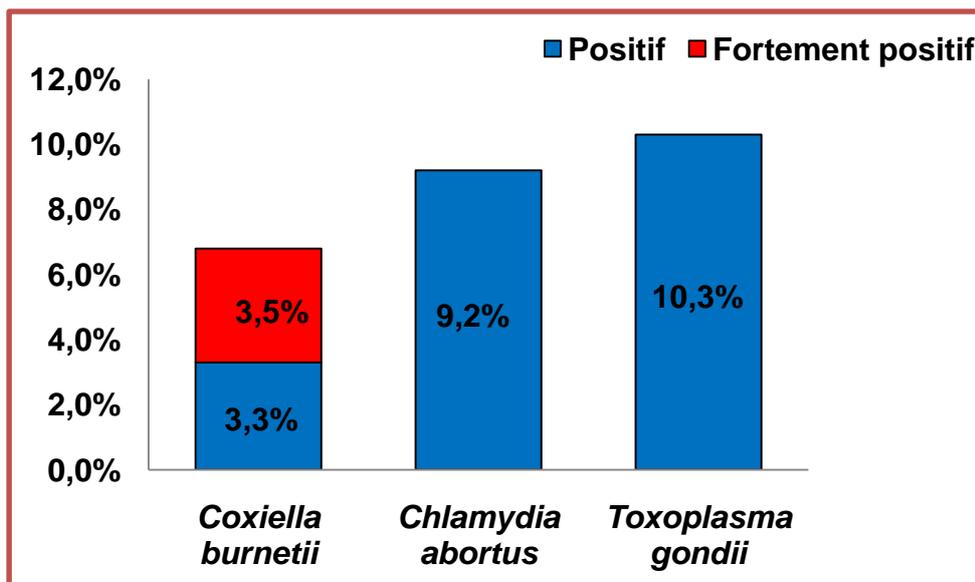


Figure 5.3 : Histogramme du Nombre de sérums positifs et Fortement positifs pour les trois pathogènes recherchés par Elisa.

➤ Calcul de la Séroprévalence individuelle Apparente

La séroprévalence individuelle apparente (PA) est le nombre de vaches positives et douteuses par rapport au nombre total (positive+douteuse+négative) de vaches.

La séroprévalence individuelle **apparente** (résultats positifs et douteux) de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* a été respectivement de **8,4%** (31/368) (**IC 95% : 5,8 à 11,7**), **12,2%** (45/368) (**IC 95% : 9,0 à 16,0**) et **13,8%**(51/368) (**IC 95% : 10,5 à 17,8**) (**tableau 5.3**) (**Figure 5.4**) (Annexe 2). Aucune vache n'a présenté simultanément des anticorps *anti-Coxiella burnetii* et/ou *anti-Chlamydia abortus* et/ou *anti-Toxoplasma gondii*.

Tableau 5.3 : Séroprévalences individuelles apparentes des anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

statut	<i>Coxiella burnetii</i>		<i>Chlamydia abortus</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%
Douteux	6	1,6	11	3,0	13	3,5
Positif	12	3,3	34	9,2	38	10,3
Fortement positif	13	3,5	/	/	/	/
Total	368	100%	368	100%	368	100%
Taux de prévalence individuelle apparente (intervalle de confiance 95%) = (P+D) / (P+D+N)		8,4% (5,8-11,7)		12,2% (9,0-16,0)		13,8% (10,5-17,8)

P : positif ; D : douteux ; N : négatif ; N : nombre ; % : pourcentage.

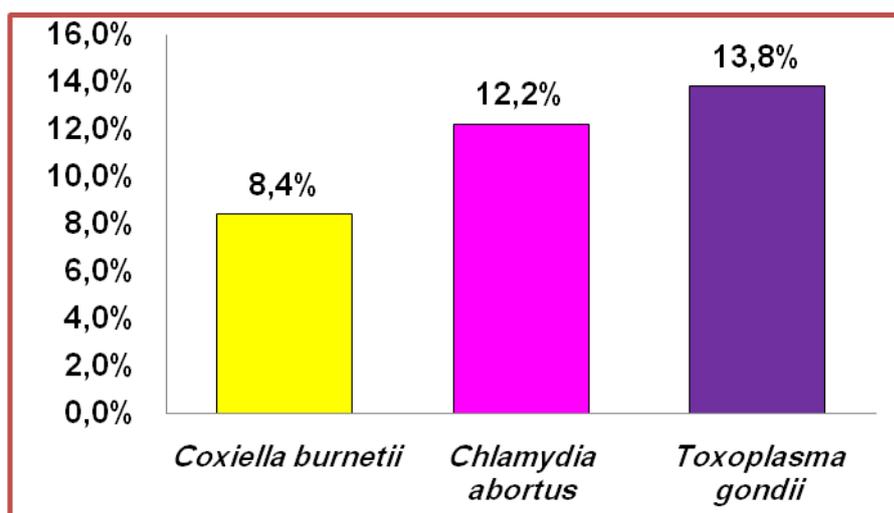


Figure 5.4 : Histogramme de la Séroprévalence individuelle apparente de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

5.3.1.2. Prévalence individuelle réelle

Le taux de prévalence réelle (PR) individuelle de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* a été estimé à partir du taux de prévalence apparente (PA) calculé dans cette étude (c'est-à-dire la séroprévalence) et des valeurs de spécificité (Sp) et sensibilité (Se) diagnostiques individuelles annoncées par le producteur des kits, en utilisant la formule de Rogan et Gladen

[304] (Équation 2).

Les taux de prévalence **réelle** individuelle de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* ont été estimés respectivement à **8,5%** (IC 95 % : 5,33 – 11,78), **17,7 %** (IC 95 % : 11,17– 25,97) et **13,7 %** (IC 95 % : 10,04 – 17,45) (Tableau 5.4 ; Figure 5.5).

$$PR = \frac{PA + Sp - 1}{Se + Sp - 1} \quad (\text{Equation 2})$$

Tableau 5.4 : Séroprévalences individuelles réelles des anticorps contre *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

statut	<i>Coxiella burnetii</i>		<i>Chlamydia abortus</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%
Douteux	6	1,6	11	3,0	13	3,5
Positif	12	3,3	34	9,2	38	10,3
Fortement positif	13	3,5	/	/	/	/
Taux de prévalence individuelle réelle (intervalle de confiance 95%, équation 2)	8,5% (5,33 – 11,78)		17,7 % (11,17– 25,97)		13,7 % (10,04– 7,45).	

N : nombre ; % : pourcentage.

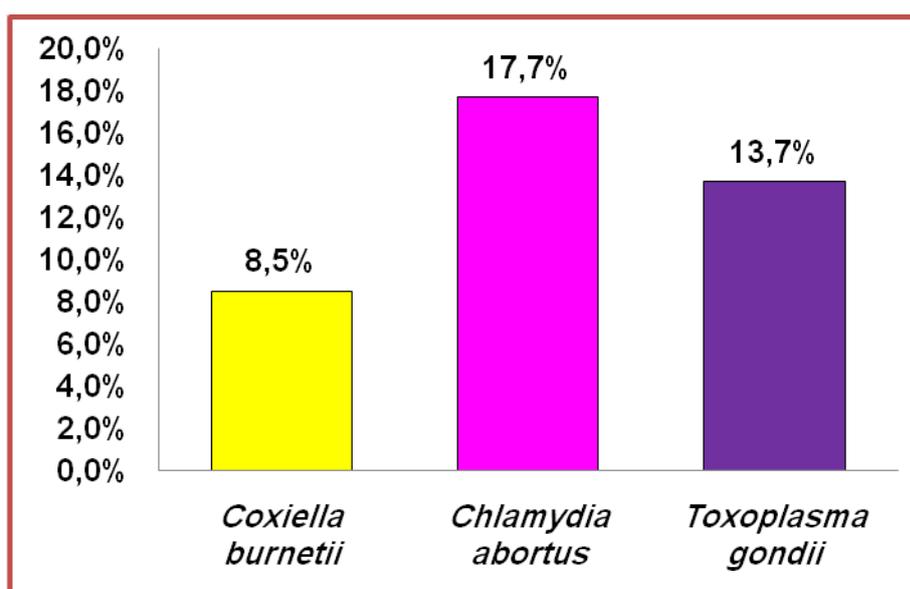


Figure 5.5 : Histogramme de la Séroprévalence individuelle réelle de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

5.3.2. Résultats de prévalences apparente et réelle du troupeau de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

5.3.2.1. Prévalence apparente du troupeau

Le **Tableau 5.5** présente les résultats obtenus du statut des 124 troupeaux par la technique ELISA et cela a l'encontre des trois germes recherchés à savoir: *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

Un élevage a été considéré comme séropositif si au moins une vache appartenant à cet élevage était séropositive.

Tableau 5.5 : Résultats de l'Analyse des 124 troupeaux par la technique Elisa pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

statut	<i>Coxiella burnetii</i>		<i>Chlamydia abortus</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%
Négatif	104	83,9	87	70,2	87	70,2
Douteux	3	2,4	6	4,8	9	7,3
Positif	8	6,5	31	25	28	22,5
Fortement positif	9	7,3	/	/	/	/
Total	124	100%	124	100%	124	100%

N : nombre ; **%**: pourcentage.

Il en ressort que :

➤ Nombre de troupeaux Doubteux

Un élevage a été considéré comme Doubteux si au moins une vache appartenant à cet élevage était Doubteuse avec absence de statut positif au sein du même élevage pour le pathogène recherché.

Ainsi, sur les **124** troupeaux étudiés, **3** étaient considérer douteux pour *Coxiella burnetii* soit **2,4%**, **6** pour *Chlamydia abortus* soit **4,8%** et **9** pour *Toxoplasma gondii* soit **7,3%** (**Tableau 5.5**) (**Figure 5.6**).

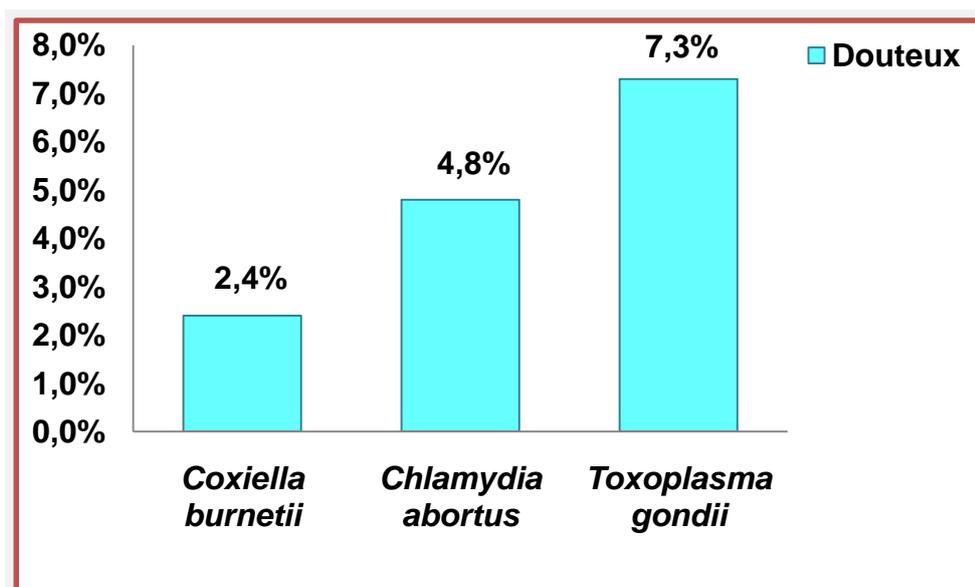


Figure 5.6 : Histogramme du nombre de troupeaux douteux pour les trois pathogènes recherchés.

➤ Nombre de troupeaux Positifs, Fortement positif et infection aigue

Un élevage a été considéré comme positif, fortement positif ou présentant une infection aigue si au moins une vache appartenant à cet élevage était respectivement positive, fortement positive ou présentant une S/P \geq 200% lors d'infection aigue pour le pathogène recherché.

Ainsi, sur les **124** troupeaux étudiés, **8** étaient considérés positifs pour *Coxiella burnetii* soit **6,5%**, **31** pour *Chlamydia abortus* soit **25%** et **28** pour *Toxoplasma gondii* soit **22,5%** (**Tableau 5.5**) (**Figure 5.7**).

Pour ce qui est du statut «Fortement positif» de *Coxiella burnetii*, il en ressort **9** troupeaux fortement positifs soit **7,3%**. Par contre, pour *Toxoplasma gondii* aucun troupeau n'a présenté un statut d'infection aigue soit **0%** (**Tableau 5.5**) (**Figure 5.7**).

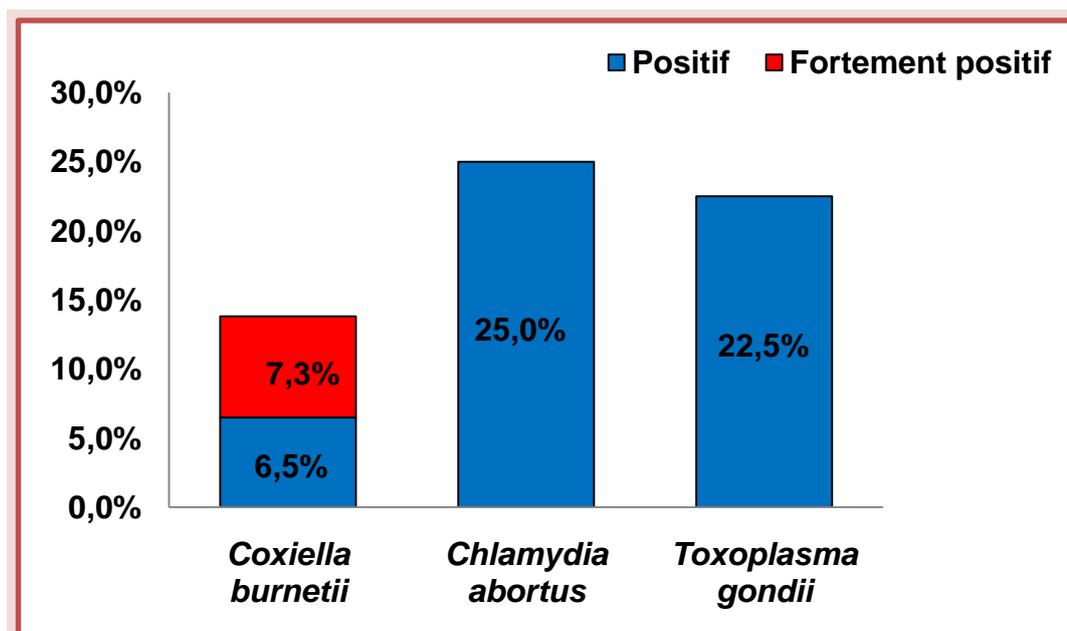


Figure 5.7 : Histogramme du nombre de troupeaux positifs et Fortement positifs pour les trois pathogènes recherchés.

➤ Calcul de la Séroprévalence Apparente des 124 troupeaux étudiés

La séroprévalence apparente (PA) est le nombre de troupeaux positifs et douteux par rapport au nombre total (positif + douteux + négatif) de troupeaux.

Un troupeau a été considéré comme séropositif (résultat positif et douteux) si au moins une vache appartenant à cet élevage était séropositive.

Les taux de séroprévalence **apparente** des troupeaux obtenues ont été pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* respectivement de **16,1% (20/124) (IC 95% : 10,1 à 23,8)**, **29,8% (37/124) (IC 95% : 21,9 à 38,7)** et **29,8% (37/124) (IC 95% : 21,9 à 38,7) (Tableau 5.6) (Figure 5.8)**.

Tableau 5.6 : Séroprévalences apparentes de troupeaux de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

statut	<i>Coxiella burnetii</i>		<i>Chlamydia abortus</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%
Douteux	3	2,4	6	4,8	9	7,3
Positif	8	6,5	31	25,0	28	22,5
Fortement positif	9	7,3	/	/	/	/
Taux de prévalence troupeau apparente (intervalle de confiance 95%) = (P+D) / (P+D+N)	16,1 (10,1-23,8)		29,8 (21,9-38,7)		29,8 (21,9-38,7)	

P : positif ; D : douteux ; N : négatif ; N : nombre ; % : pourcentage.

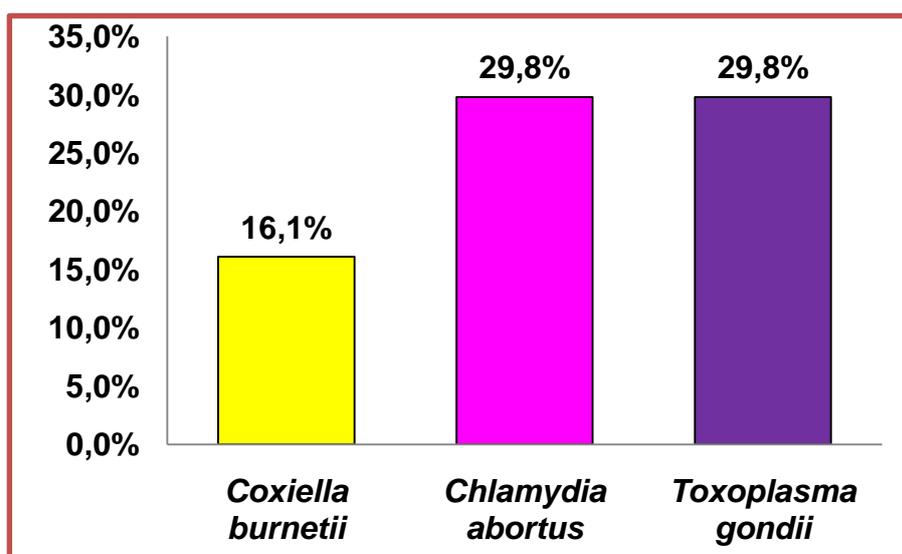


Figure 5.8 : Histogramme de la séroprévalence apparente des 124 troupeaux pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

L'analyse de la répartition des réponses sérologiques vis-à-vis des trois germes recherchés a montré la présence simultanée d'anticorps *anti-Toxoplasma gondii*, *anti-Chlamydia abortus* et *anti-Coxiella burnetii* dans **0,8 %** des élevages ; d'anticorps *anti-Toxoplasma gondii* et *anti-Chlamydia abortus* dans **2,4 %** des élevages et d'anticorps *anti-Toxoplasma gondii* et *anti-Coxiella burnetii* dans **0,8 %**

des élevages. On notera l'absence d'élevage comprenant simultanément des anticorps anti-*Coxiella burnetii* et anti-*Chlamydia abortus* (Figure 5.9).

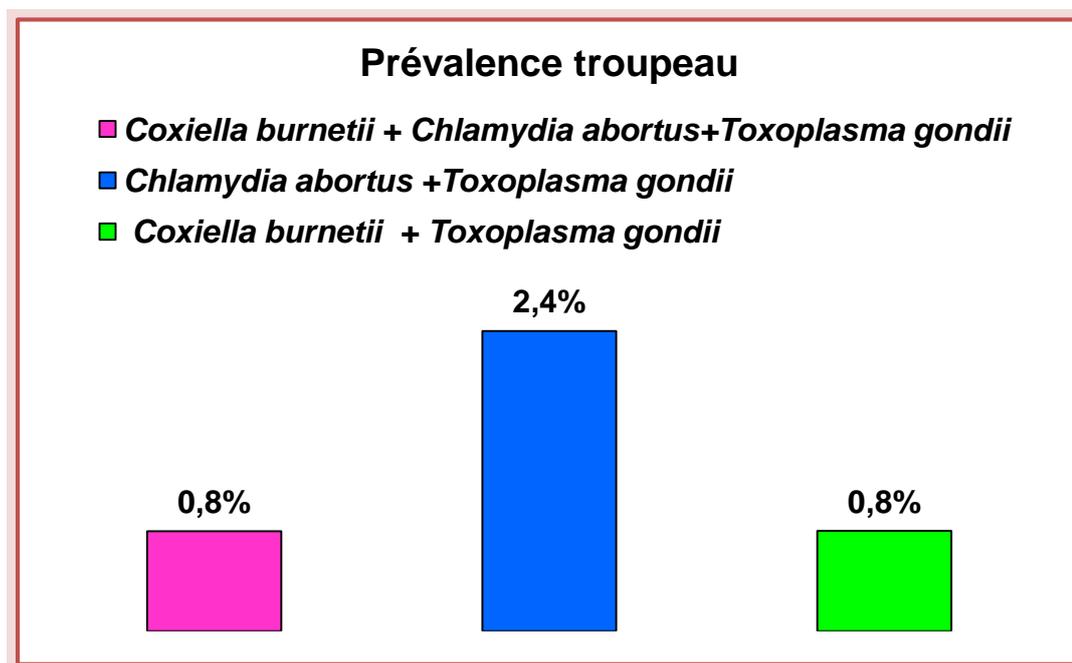


Figure 5.9 : Histogramme de la répartition simultanée de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* dans les 124 élevages étudiés.

5.3.2.2. Prévalence réelle du troupeau

Les séroprévalences réelles de troupeaux des anticorps *anti-Coxiella burnetii*, *anti-Chlamydia abortus* et *anti-Toxoplasma gondii* ont été respectivement de **6,5 %** (8/124) ; **25 %** (31/124) et **22,5 %** (28/124). Les résultats ont été par ailleurs fortement positif pour les anticorps *anti-Coxiella burnetii* dans **7,3 %** (9/124) des troupeaux (Tableau 5.7) (Figure 5.10).

Tableau 5.7 : Séroprévalences réelles des 124 troupeaux étudiés pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

statut	<i>Coxiella burnetii</i>		<i>Chlamydia abortus</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%
Douteux	3	2,4	6	4,8	9	7,3
Positif	8	6,5	31	25,0	28	22,5
Fortement positif	9	7,3	/	/	/	/
Prévalence troupeau réelle		13,8%		25%		22,5%

N : nombre ; % : pourcentage.

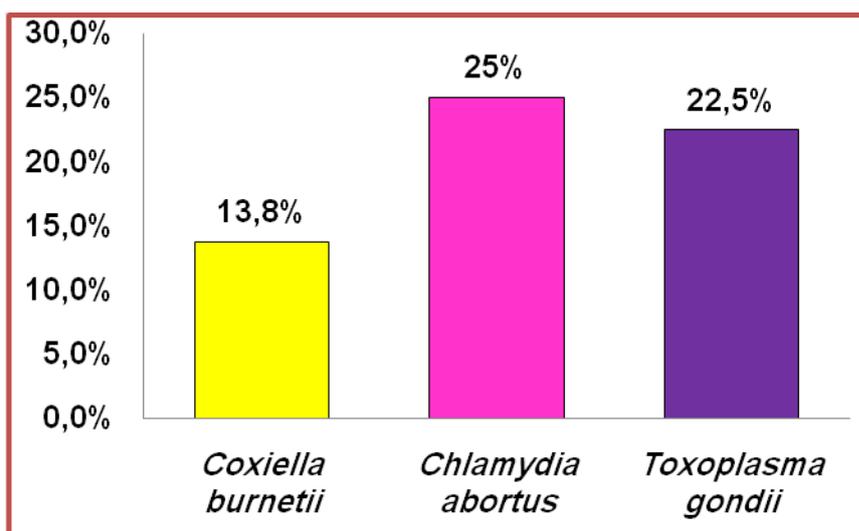


Figure 5.10 : Histogramme de la séroprévalence réelle des 124 troupeaux étudiés à l'encontre de *Toxoplasma gondii*, *Coxiella burnetii* et *Chlamydia abortus*.

5.3.3. Discussion

- *Coxiella burnetii*

La séroprévalence individuelle apparente de *Coxiella burnetii* a été estimée à **8,4%**. Elle est **supérieure** à celle mise en évidence par Trans-PCR en Turquie où la recherche d'ADN de *Coxiella burnetii* a été réalisée au niveau du contenu abomasal au sein de la caillette de fœtus avortés provenant de 102 bovins (3,9% : [138]). Cependant, elle reste **inférieure** à celle obtenue en Iran par PCR où la recherche d'ADN de *Coxiella burnetii* a été effectuée sur des échantillons de tissus provenant de 60 fœtus avortés (25 % : [136]). Cette différence peut être expliquée par la divergence des techniques utilisées ainsi que le matériel biologique (contenu abomasal et fragments de tissus de fœtus avorté).

La prévalence obtenue (8,4%) est **inférieure** aux valeurs observées par Elisa dans diverses études réalisées :

- dans la région de Tiaret en Algérie où une prévalence de 23,9 % a été obtenue lors d'une étude réalisée sur 92 vaches appartenant à 40 fermes et ayant subi un avortement [6],
- en Tunisie où une prévalence de 16,2 % a été rapportée dans le cadre d'une enquête séroépidémiologique chez 148 vaches avortées appartenant à 9 troupeaux dont les prélèvements sérologiques ont été réalisés entre le mois de mars et mai 2012 [208],
- en Italie, une prévalence de 44,9 % a été signalée chez 650 bovins avortés et cela dans le cadre de la recherche de la circulation de *Coxiella burnetii* au sein des élevages bovins et son implication dans les épisodes d'avortement ; avec des prévalences significativement plus élevées en fin de gestation ($p < 0,002$) et en automne ($p < 0,001$) [127],
- en Chine où une prévalence de 11,6 % a été retenue parmi 564 sérums de bovins avec des antécédents d'avortements et appartenant à 29 fermes à vocation laitière [306].

Malgré l'utilisation de la même technique d'analyse « ELISA », le même support à savoir des sérums de vaches avortées, des différences de séroprévalence ont été notées pouvant être expliquée dans certains cas par le faible nombre de

vaches avortées, de troupeaux visés, les conditions et la saison de réalisation des prélèvements, le délai entre la survenue de l'avortement et la réalisation des prélèvements sérologique comparé à la présente étude.

La séroprévalence de troupeaux de *Coxiella burnetii* est de **16,1%**, valeur inférieure à celle de 22% retrouvée par Agag et al (2016) dans la région de Bejaia en Algérie au sein de 11 élevages parmi 50 élevages ayant servi à l'étude et visant la mise en évidence de la circulation de *Coxiella burnetii* par Elisa au sein des troupeaux bovins et son implication dans l'apparition des différents troubles de la reproduction principalement les avortements, les métrites, les retentions placentaires [7]. Par contre, elle se rapproche de celle de 13,4% retrouvée en Lettonie obtenue par PCR sur 252 laits de troupeaux [307] et de 15,6% au Bangladesh par Elisa sur 111 laits de troupeaux [308], différence due au contexte des études cités, à l'utilisation de la PCR qui est une technique plus précise que l'ELISA et la recherche de la prévalence sur des laits de troupeaux.

Par rapport à la cinétique des anticorps de *Coxiella burnetii* et pour une meilleure interprétation des résultats de la sérologie, on aurait souhaité réalisé un second prélèvement à 15 jours d'intervalles (séroconversion), mais malheureusement le refus catégorique des éleveurs nous a empêchés.

- *Chlamydia abortus*

La séroprévalence individuelle apparente obtenue de *Chlamydia abortus* a été estimée à **12,2%**, valeur **égale** à celle rapportée en Hongrie (12,6%) dont le but était de rechercher l'importance de *Chlamydia abortus* dans les avortements des ruminants domestiques. Utilisant la méthode PCR, la recherche de l'ADN de *Chlamydia abortus* a été réalisée sur 85 échantillons de cotylédons provenant de cas d'avortements [205]. Notre résultat se rapproche de celui rapporté en Suisse (11,9%) dont l'identification de l'ADN de *Chlamydia abortus* a été confirmée dans 41 échantillons sur 343 placentas de bovins avortés par PCR [309]. Bien que le recours par les études citées à la technique de la PCR, notre résultat est pratiquement similaire.

Par contre, La séroprévalence individuelle de *Chlamydia abortus* (12,2%) obtenue par Elisa est nettement **inférieure** à celle obtenue :

- En Tunisie (37,1%) par Elisa sur 148 sérums bovins avortés (55/148) [208],

- A Taiwan sur des sérums de vaches avortées par Elisa (71,4%) (45/63), et dans des écouvillons vaginaux par PCR (45,2%) (14/31) [219],
- Au Portugal ou des examens réalisés par PCR sur 43 échantillons composés des écouvillons vaginaux, de placenta et d'organes de fœtus avortés ont identifié une prévalence de 34,9 % (15/43) [206],
- En Chine ou une prévalence de *Chlamydia abortus* de 18,2% a été observée chez les vaches laitières avortées contre 16,7% chez les vaches laitières non avortées par le test indirect d'hémagglutination (TIH) réalisé sur un totale de 875 échantillons de sérums, en notant que les bovins laitiers de sept ans avaient la plus forte séroprévalence (35,4%) [224].

Cette différence entre notre résultats et ceux des études citées peut être expliqué par la technique utilisée (PCR, ELISA, TIH), le matériel biologique utilisé (sérums, écouvillons vaginaux, fragments de placenta et organes de fœtus), le nombre d'échantillons et de sérums analysés (erreurs lors de manipulation), l'âge des animaux avortés et le contexte comparatif [vaches avortées VS vaches témoins (vaches non avortées avec aucun problèmes de reproduction apparent)] réalisé par certaines études citées si dessus.

La séroprévalence de troupeau de *Chlamydia abortus* obtenue a été de **29,8%**, valeur nettement inférieure à celle de 66,7% retenus par analyse de sérums par test Elisa et appartenant à 6 troupeaux de bovins parmi 9 troupeaux (6/9) objet de l'étude menée en Tunisie [208], rapportant ainsi l'influence du nombre des animaux et troupeaux ainsi que la cohabitation entre bovins et ovins sur la valeur de la séroprévalence obtenue comparée à notre étude ou le nombre de troupeaux était nettement supérieur (124) avec absence totale d'ovins et caprins dans ces derniers.

- *Toxoplasma gondii*

La séroprévalence individuelle apparente de *Toxoplasma gondii* a été estimée à **13,8%**. Dans le même contexte à savoir la recherche et l'implication de *Toxoplasma gondii* comme agent abortif chez les bovins. Nos résultats sont **similaires** à ceux obtenus au Soudan qui ont analysé par Elisa 181 sérums de vaches ayant présentées des troubles de la reproduction (13,3%) (24/181) [275].

A l'ouest de l'Algérie, Abdelhadi et al [6] ont rapporté une séroprévalence de *Toxoplasma gondii* comme agent abortif de 15,2% (14/92).

Cependant, nos résultats (13,8%) obtenues sont supérieurs à ceux rapportés en Iran (5,9%) (5/85) lors d'une étude visant l'évaluation de la séroprévalence par ELISA des infections à *Neospora caninum* et à *Toxoplasma gondii* dans des sérums de bovins avortés. Une différence significative a été trouvée entre l'infection par *Toxoplasma gondii* et le type de bovins ruraux ($p = 0,05$) par rapport aux bovins laitiers industriels [284].

Par contre, elle est inférieure à celle constatée lors d'une étude réalisée en Argentine où une prévalence de 24.2% a été retenue par PCR après examens d'avortons où l'ADN des fœtus était extrait principalement des tissus du SNC. Le cœur, le foie, les muscles et / ou le placenta ont été traités lorsque le tissu nerveux n'était pas disponible [286].

Ces différences dans les valeurs des prévalences individuelles de *Toxoplasma gondii* sont liées aux techniques utilisées [PCR (recherche d'ADN de *Toxoplasma gondii*), ELISA (recherche des anticorps en réponse à *Toxoplasma gondii*)] ; au support sur lequel les tests ont été réalisés [sérums, organes d'avortons (cerveau, foie, rate, cœur)] ; le choix des animaux (animaux avortés, animaux présentant des troubles de la reproduction).

La séroprévalence apparente de troupeau de *Toxoplasma gondii* a été estimée à **29,8%** ; valeur nettement inférieure à celle rapportée au Soudan lors d'une étude similaire recherchant l'éventuelle implication de *Toxoplasma gondii* dans les cas d'avortements bovins rencontrés dans 29 troupeaux de bovins laitiers repartis en deux régions (44,8%) (13/29) [275].

CHAPITRE 6

ETUDE DES FACTEURS ASSOCIES A UN RISQUE AUGMENTE OU DIMINUE D'EXPOSITION A *COXIELLA BURNETII*, *CHLAMYDIA ABORTUS* ET *TOXOPLASMA GONDII* CHEZ LES VACHES AVORTEES DANS LA REGION DE LA MITIDJA

6.1. Introduction

A l'échelle individuelle, les séroprévalences apparentes de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* ont été respectivement de **8,4%**, **12,2%** et **13,8%**. Aucune vache n'a présenté simultanément des anticorps *anti-Coxiella burnetii* et/ou *anti-Chlamydia abortus* et/ou *anti-Toxoplasma gondii*. Cependant, à l'échelle du troupeau, les taux de séroprévalence apparente obtenues ont été pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* respectivement de **16,1%**, **29,8%** et **29,8%**.

Les facteurs associés à un risque augmenté d'exposition à *Coxiella burnetii* et rapportés dans la littérature sont l'augmentation de l'âge des animaux [274], l'automne [147], la race Holstein [274], l'augmentation du nombre d'animaux dans l'élevage, la présence de tiques [215], la cohabitation de bovins avec des ovins [215], l'introduction de nouveaux bovins dans l'élevage [124], l'absence de quarantaine [275], l'augmentation des rotations de bovins entre élevages [125, 261] et le non-respect des règles de biosécurité en matière d'équipement ou d'insémination artificielle [151]. L'augmentation de l'âge des animaux [127], de la taille des troupeaux [126] ou les cas d'avortements antérieurs [127] ont été reconnus comme facteurs associés à un risque augmenté d'exposition à *Chlamydia abortus*. Enfin, selon différentes études, l'âge des animaux, la contamination de l'eau d'abreuvement et la présence de chats dans l'exploitation constituent des facteurs associés à un risque augmenté d'exposition à *Toxoplasma gondii* [127].

Les données citées ci-dessus illustrent l'importance de ces pathologies chez les bovins. Aussi, il nous a paru intéressant de chercher différents facteurs associés à un risque augmenté ou diminué d'exposition aux trois pathogènes considérés.

6.2. Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée entre les mois d'octobre 2014 et juin 2016. Elle concerne 368 cas d'avortements provenant de 124 élevages déclarés indemnes de brucellose et de tuberculose et situés dans le Nord de l'Algérie (plaine de la Mitidja) et dont les caractéristiques générales de la zone d'étude ont été citées dans le chapitre précédant (Chapitre 5). Cet échantillon représente environ 1% des génisses et vaches présentes dans la région.

La collecte des données nécessaires à l'étude des facteurs de risque a été réalisée au moyen de deux questionnaires par entretien direct (entretien de type directif). Le premier concerne les données générales de l'élevage (Annexe 4) et le second les caractéristiques plus spécifiques à chaque bovin avorté à plus de trois mois de gestation, au cours des deux mois précédant la visite (Annexe 5).

Lors de la déclaration par l'éleveur d'un cas d'avortement observé à plus de trois mois de gestation, une visite de l'élevage a été réalisée dans 124 troupeaux laitiers qui étaient sur base d'un dépistage régulier, indemnes de brucellose et de tuberculose. Elle a permis de collecter les données nécessaires à l'évaluation des facteurs de risque ou de protection en regard de l'exposition à trois causes d'avortements étudiées. Ces données concernent l'année de la visite de l'élevage (2014, 2015 ou 2016), le nombre de bovins, le nombre de femelles, le type de stabulation (libre, entravée ou semi-entravée¹), la pratique du pâturage (oui, non), le mode de reproduction (insémination artificielle ou saillie naturelle), la saison de l'avortement (printemps, été, automne, hiver), les conditions de conservation des aliments (bonne, mauvaise, moyenne), la source d'abreuvement (conduite communale, citerne, forage², puits, ruisseau), le déparasitage ou non des animaux, l'application ou non d'un plan de contrôle des rongeurs et autres nuisibles, la fréquence estimée des avortements, l'achat ou non de nouveaux

¹ Animal qui est confiné à l'intérieur du bâtiment d'élevage lors de la traite par exemple et pendant la nuit, et à l'extérieur pour le pâturage ou en air de repos.

²La différence entre un forage et un puit est lié à la profondeur ; le forage est profond, alors que le puit est superficiel.

animaux au cours des 12 derniers mois et les vaches qui ont avorté sur base de l'identification de l'avorton (avortement clinique) ou du retour en chaleurs de l'animal après une confirmation de la gestation (avortement subclinique).

Les données individuelles concernent l'âge de l'animal (année), la race (Holstein, Montbéliarde, Fleckveik, Brune de l'atlas), la saison de l'avortement (été, automne, hiver, printemps), le stade de gestation au moment de l'avortement (mois), le numéro de gestation, la gémellité (le nombre de fœtus) (oui, non), le mode de reproduction utilisé (insémination artificielle vs naturelle), la manifestation d'un avortement ou non avant l'avortement en cause.

6.2.1. Méthodes statistiques

L'identification statistique des facteurs associés à un risque augmenté ou diminué d'exposition aux trois pathogènes d'intérêt a été effectuée en utilisant STATA / SE Acad. 14.2 [310] (Stata Corp., Collège Station, Texas, États-Unis d'Amérique). Dans une première étape, un modèle à effets mixtes à plusieurs niveaux a été utilisé pour prendre en compte l'éventuel niveau « troupeaux » comme effet aléatoire. Comme l'effet aléatoire n'a pas été observé, une régression logistique a été utilisée pour modéliser les probabilités qu'un animal soit séropositif ou douteux en fonction des facteurs associés à un risque augmenté ou diminué d'exposition aux pathogènes étudiés. L'identification initiale des facteurs potentiels associés à un risque augmenté ou diminué d'exposition pour les trois maladies étudiées a été effectuée dans un premier temps au moyen d'une régression univariée. Dans un second temps, une régression logistique multivariée incluant toutes les variables ayant une valeur de $P < 0,20$ à l'analyse univariée a été utilisée. Enfin, dans le modèle multivariée initial, les variables non significatives ($P > 0,05$) ont été supprimées dans une approche pas à pas (à partir de la variable la moins significative, c'est-à-dire la variable avec la valeur de P la plus élevée). À chaque étape, un test de rapport de vraisemblance a permis de comparer les modèles complexe et simplifié. Lorsqu'il n'y avait pas de différence significative entre ceux-ci, le modèle simplifié a été retenu. Les corrélations entre variables ayant passé l'analyse univariée n'ont pas été testées car elles n'avaient pas de pertinence biologique.

6.3. Résultats

6.3.1. Résultats de l'approche individuelle

6.3.1.1. Caractéristiques générales des vaches avortées

Les caractéristiques générales des 368 vaches avortées sont représentées dans le tableau 6.1.

La majorité des vaches avortées de notre étude sont âgées de 6 à 8 ans (**51,6 %**) et dont l'avortement concernait majoritairement des vaches en 2^{ème} ou 3^{ème} lactation (**72,8%**), ce qui suggère un retard dans la mise a la reproduction des vaches laitières en Algérie. La plus part des vaches avortées étés de race Holstein (**53,2 %**). Une minorité d'entre elles (**9,5 %**) ont avorté en été. La majorité des avortements (**28 %**) ont été observés au cours du 6^{ème} mois de gestation et gestantes d'un seul foetus (**92,1 %**) après une insémination artificielle (**83,7 %**) et ayant vèlées normalement avant sans antécédents d'avortements (**80,7 %**).

Tableau 6.1 : Résultats descriptifs des caractéristiques des 368 vaches ayant avortées.

paramètres	variables	Nombre de vaches / %
Année de visite	2014	21 (5,7%)
	2015	184 (50%)
	2016	163 (44,3%)
Age animal	≤ 3 ans	43 (11,7%)
	4 - 5 ans	135 (36,7%)
	6 - 8 ans	190 (51,6%)
Race	Holstein	196 (53,3 %)
	MB	120 (32,6%)
	FLV	32 (8,7%)
	BA	20 (5,4%)
Saison d'avortement	Eté	35 (9,5%)
	Automne	120 (32,6%)
	Hivers	86 (23,4%)
	Printemps	127 (34,5%)
mois de gestation	3 mois	29 (7,9%)
	4 mois	60 (16,3%)
	5 mois	52 (14,1%)
	6 mois	103 (28,0%)
	7 mois	84 (22,8%)
	8 mois	40 (10,9%)
numéro de gestation	1 ère	52 (14,13%)
	2 ème	121 (32,9%)
	3 ème	147 (39,9%)
	4 ème	44 (11,95%)
	5 ème	4 (1,08%)
Gémellité	oui	29 (7,88%)
	non	339 (92,11%)
Mode de reproduction	IA	308 (83,69%)
	SN	60 (16,30%)
Antécédents d'avortements	oui	71 (19,29%)
	non	297 (80,7%)
total		368 (100%)

6.3.1.2. Résultats de l'analyse Univariée (P<0,20) à l'échelle individuelle

Les résultats de l'analyse univariée des différents facteurs de risques recherchés à l'échelle individuelle sont présentés dans le **tableau 6.2**.

Pour **Coxiella burnetii**, les variables significatives au seuil de P<0,20 retenues sont :

- Les saisons : **estivales** [été (**p= 0,14**)] et **hivernales** [hiver (**p=0,053**)],
- L'année de la visite du troupeau : (2015, 2016) [**2015 (p<0,001)**, **2016 (p<0,001)**],
- Mois de gestation : les **7^{ème}** (**p= 0,1**) et **8^{ème}** (**p=0,16**) mois de gestation,
- Numéro de gestation : les **3^{ème}** (**p=0,09**) et **5^{ème}** (**p=0,06**) gestation,
- La reproduction par insémination artificielle **IA (p<0,001)**,
- La manifestation d'un avortement antérieurement (**p=0,15**).

Pour **Chlamydia abortus**, les variables significatives au seuil de P<0,20 sont :

- Les saisons **estivales** [été (**p= 0,18**)], **hivernales** [hiver (**p=0,04**)], et **printanière** [printemps (**p=0,07**)],
- Mois de gestation : les **6^{ème}** (**p= 0,12**), **7^{ème}** (**p= 0,11**) et **8^{ème}** (**p= 0,045**) mois de gestation,
- La reproduction par insémination artificielle **IA (p < 0,001)**.

Pour **Toxoplasma gondii**, les variables significatives au seuil de P<0,20 sont :

- La race Holstein pie rouge **HPR (p= 0,19)**,
- Mois de gestation : Le **4^{ème}** (**p= 0,04**), **5^{ème}** (**p= 0,03**) et **7^{ème}** (**p= 0,19**) mois de gestation,
- Numéro de gestation : les **2^{ème}** (**p= 0,04**), **3^{ème}** (**p= 0,01**) et **7^{ème}** (**p= 0,19**) gestation,
- La reproduction par insémination artificielle **IA (p = 0,04)**.

Tableau 6.2 : Résultats de l'analyse univariée (P<0,20) à l'échelle individuelle de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

Germe	Variable	Catégorie	Odds ratio (95% CI)	P-value
<i>Coxiella burnetii</i>	saison	Automne	Référence	-
		Eté	2,28 (0,76-6,78)	0,14
		Hiver	0,13 (0,016-1,03)	0,053
		Printemps	1,36 (0,58-3,19)	0,477
	Année de la visite	2014	Référence	-
		2015	0,11 (0,04-0,33)	<0,001
		2016	0,12 (0,04-0,34)	<0,001
	Mois de gestation	3 mois	Référence	-
		4 mois	0,53 (0,032-8,80)	0,657
		5 mois	0,92 (0,08-10,53)	0,943
		6 mois	1,72 (0,20-14,94)	0,621
		7 mois	5,70 (0,72-45,30)	0,1
		8 mois	4,63 (0,53-40,77)	0,167
	Numéro de la gestation	1	Référence	-
		2	5,10 (0,64-40,57)	0,214
		3	5,80 (0,75-45,01)	0,093
		4	3,73 (0,37-37,23)	0,262
		5	17 (0,84-343,66)	0,065
	Mode de reproduction	SN	Référence	-
		IA	0,22 (0,10-0,49)	<0,001
Antécédents d'avortement	Non	Référence	-	
	Oui	1,81 (0,80-4,13)	0,156	
<i>Chlamydia abortus</i>	Saison	Automne	Référence	-
		Eté	0,42 (0,12-1,49)	0,18
		Hiver	0,39 (0,16-0,97)	0,04
		Printemps	0,51 (0,24-1,06)	0,07
	Mois de gestation	3 mois	Référence	-
		4 mois	2,82 (0,13-60,84)	0,51
		5 mois	6,68 (0,36-122,75)	0,2

		6 mois	9,55 (0,55-165,32)	0,12
		7 mois	10,47 (0,60-182,01)	0,11
		8 mois	19,00 (1,06-339,13)	0,045
	Mode de reproduction	SN	Référence	-
		IA	0,25 (0,13-0,50)	<0,001
Toxoplasma gondii	Race de l'animal	BA	Référence	-
		FLV	1,12 (0,28-4,45)	0,88
		HPN	0,59 (0,18-1,95)	0,39
		HPR	0,36 (0,08-1,63)	0,19
		MB	0,66 (0,20-2,21)	0,5
	Mois de gestation	3 mois	Référence	-
		4 mois	21,47 (1,23-375,04)	0,04
		5 mois	22,42 (1,30-387,59)	0,03
		6 mois	5,92 (0,33-104,87)	0,23
		7 mois	6,99 (0,39-123,98)	0,19
		8 mois	3,61 (0,17-78,05)	0,41
	Numéro de la gestation	1	Référence	-
		2	0,43 (0,19-0,96)	0,04
		3	0,34 (0,15-0,77)	0,01
		4	0,68 (0,26-1,80)	0,44
		5	0,33 (0,02-6,44)	0,46
	Mode de reproduction	SN	Référence	-
		IA	3,51 (1,06-11,66)	0,04

6.3.1.3. Résultats de l'analyse multivariée à l'échelle individuelle ($P \leq 0,05$)

Les résultats de l'analyse multivariée ($P \leq 0,05$) des différents facteurs de risques recherchés à l'échelle individuelle sont présentés dans le **tableau 6.3**.

Pour **Coxiella burnetii**:

- aucun des facteurs étudiés par le modèle de régression logistique multivariée ne s'est révélé être un facteur associé à un risque augmenté d'exposition à *Coxiella burnetii*.
- Cependant, l'**année de visite** en 2015 (OR = 0,0006 ; IC 95% : 0,000004 - 0,12 ; $P = 0,006$) et en 2016 (OR = 0,0005 ; IC 95% : 0,000002 - 0,13 ; $P = 0,007$), et la **pratique de l'insémination artificielle** (OR = 0,15 ; IC 95% : 0,05 - 0,44 ; $P = 0,001$) étaient des facteurs associés à un risque **diminué** d'exposition à *Coxiella burnetii*.

Pour **Chlamydia abortus** :

- L'**hiver** (OR = 0,39; IC 95% : 0,15 - 1,00 ; $P = 0,05$), le **printemps** (OR = 0,45; IC 95% : 0,20 - 0,97 ; $P = 0,04$) et la **pratique de l'insémination artificielle** (OR = 0,27; IC 95% : 0,13 - 0,56 ; $P < 0,001$) se sont révélés être des facteurs associés à un risque **diminué** d'exposition à *Chlamydia abortus*.

Pour **Toxoplasma gondii** :

- Le **4^{ème}** (OR = 22,68 ; IC 95% : 1,38 - 392,97; $P = 0,03$) et le **5^{ème} mois de gestation** (OR = 25,5 ; IC 95% : 1,47 - 442,11 ; $P = 0,03$) se sont révélés être des facteurs associés à un risque **augmenté** d'exposition.
- Par contre, la **troisième lactation** est un facteur associé à un risque **diminué** d'exposition à *Toxoplasma gondii* (OR = 0,38 ; IC 95 % : 0,16 – 0,92 ; $P = 0,03$).

Tableau 6.3 : Résultats de l'analyse multivariée par régression logistique à l'échelle individuelle des facteurs de risque associés à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* ($p \leq 0,05$).

Germe	variable	catégorie	OR (95% CI)	P- value
<i>Coxiella burnetii</i>	Année	2014	référence	-
		2015	0,0006 (0,000004-0,12)	0,006
		2016	0,0005 (0,000002-0,13)	0,007
	Mode de reproduction	SN	référence	-
IA		0,15 (0,05-0,44)	0,001	
<i>Chlamydia abortus</i>	saison	automne	référence	-
		hiver	0,39 (0,15-1,01)	0,05
		printemps	0,45 (0,20-0,97)	0,04
	Mode de reproduction	SN	référence	-
IA		0,27 (0,13-0,56)	<0,001	
<i>Toxoplasma gondii</i>	Mois de gestation	3 mois	référence	-
		4 mois	22,68 (1,38-392,97)	0,03
		5 mois	25,51 (1,47-442,11)	0,03
	Numéro de gestation	1	référence	-
3		0,38 (0,16-0,92)	0,03	

6.3.2. Résultats de l'approche troupeau

6.3.2.1. Caractéristiques des troupeaux

L'analyse descriptive des différentes caractéristiques et de gestion des 124 élevages étudiés (Tableau 6.4) révèle que: 100% (124/124) des élevages pratiquent le dépistage régulier de la brucellose et de la tuberculose ; que 59,7% (74 /124) réalisent un déparasitage régulier des animaux (1 fois / 6 mois) et que 72,6% (90/124) appliquent un plan de lutte dirigé contre les rongeurs et les autres nuisibles (une fois / an).

La présence des chats et chiens a été constaté dans 100% des élevages visités. Ces animaux ont accès aux aliments destinés aux bovins dans 77,4% (96/124) des élevages. Les conditions de conservation des aliments ont été qualifiées de moyenne dans 52,4% (65/124) des élevages, la présence visible de moisissures ayant été observée chez 12,1% d'entre eux (15/124).

La majorité des élevages (83,1% : 103/124) ont opté pour une stabulation semi-entravée, les animaux ont accès à un pâturage dans 63,1% (79/124) des cas, et 49,2% (61/124) utilisés l'eau acheminé par les citernes (eau de la rivière, ruisseau, eau des sources naturelles) comme source d'abreuvement des bovins. La reproduction des vaches était assurée dans respectivement 54,8% (68/124) ; 12,9% (16/124) et 32,3% (40/124) des cas par insémination artificielle contre, saillie naturelle et un modèle mixte.

La totalité des élevages ont été confrontés à au moins un cas d'avortement au cours des 12 mois précédant la visite, ces cas concernant à la fois les vaches nées dans les fermes que les vaches achetées au marché ou dans d'autres fermes soit un taux de 55,6% (69/124). La majorité des élevages (68,5% : 85/124) ont introduit de nouveaux bovins au cours des 12 derniers mois; sans application de la mise en quarantaine recommandé dans un tel cas (0%, 0/124).

En cas d'avortement, respectivement 50,8% (63/124), 11,3% (14/124) et 37,9% (47/124) des éleveurs pratiquent l'incinération et l'enfouissement de l'avorton, le donnent aux chiens ou le jettent aux ordures. Dans 51,6% (64/124) des cas, le chien et chat avait accès aux arrières faix et à l'avorton. La majorité des éleveurs (86,3% : 107/124) font appel au vétérinaire en cas d'avortement.

Tableau 6.4: Caractéristiques des 124 élevages audités.

Paramètres	Variables	Nombre / %
Année de visite	2014	1 (0,8%)
	2015	60 (48,4%)
	2016	63 (50,8%)
Type de stabulation	libre	7 (5,6 %)
	entravée	14 (11,4 %)
	semi-entravée	103 (83 %)
Accès au pâturage	Oui	79 (63,7 %)
	Non	45 (36,3 %)
Mode de reproduction	IA	68 (54,8 %)
	SN	16 (12,9 %)
	IA+SN	40 (32,3 %)
Conservation des aliments	Bonne	55 (44,4 %)
	Mauvaise	4 (3,2 %)
	Moyenne	65 (52,4 %)
Moisissures sur les fourrages	Oui	15 (12,1 %)
	Non	109 (87,9 %)
Accès aux aliments par des carnivores domestiques	Oui	96 (77,4 %)
	non	28 (22,6 %)
Source d'abreuvement	Puits	35 (28,2 %)
	Citerne	61 (49,2 %)
	Conduite communale	9 (7,3 %)
	Forage personnel	19 (15,3 %)
Déparasitage des animaux	Oui	74 (59,7 %)
	Non	50 (40,3 %)
Lutte contre les rongeurs	Oui	90 (72,6 %)
	Non	34 (27,4 %)
Devenir de l'avorton	Incineration et refouillement	63 (50,8 %)
	Donner au chien	14 (11,3 %)
	jeter aux ordures	47 (37,9 %)
Origine des avortées	Nées à la ferme	33 (26,6 %)
	Achetées (étranges)	22 (17,7 %)
	Nées et achetées	69 (55,6 %)
Achat de bovins depuis <12 mois	Oui	85 (68,5 %)
	Non	39 (31,5 %)
Accès au placenta et à l'avorton par des chiens et/ou des chats.	Oui	64 (51,6 %)
	Non	60 (48,4 %)
Appel du vétérinaire en cas d'avortement	Oui	107 (86,3 %)
	Non	17 (13,7 %)

6.3.2.2. Résultats de l'analyse univariée à l'échelle des troupeaux ($p < 0,20$)

Les résultats de l'analyse univariée ($p < 0,20$) des différentes variables recherchés pour *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* sont présentés dans le tableau 6.5.

Pour *Coxiella burnetii*, les variables retenues par le modèle logistique de la régression univariée sont :

- L'année de visite du troupeau (2015, 2016) [**2015(p=0,09)**, **2016 (p=0,1)**],
- La reproduction par insémination artificielle **IA (p=0,01)**,
- La mauvaise conservation des aliments (**p= 0,09**),
- L'application d'un plan de contrôle des rongeurs (**p=0,004**).

Pour *Chlamydia abortus*, les variables retenues par le modèle logistique de la régression univariée sont :

- L'année de visite du troupeau **2016 (p= 0,15)**,
- le **forage personnel** comme source d'abreuvement (**p= 0,14**),
- Le déparasitage des animaux (**p= 0,002**),
- Le contrôle des rongeurs et autres nuisibles (**p = 0,07**).

Pour *Toxoplasma gondii*, les variables retenues par le modèle logistique de la régression univariée sont :

- La stabulation **semi-entravée (p= 0,18)**,
- Le **forage personnel (p= 0,002)** et la **citerne (p= 0,1)** comme source d'abreuvement.

Tableau 6.5 : Résultats de l'analyse univariée à l'échelle du troupeau de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* (p<0,20).

Germe	Variable	Catégorie	Odds ratio (95% CI)	P-value
<i>Coxiella burnetii</i>	Année de la visite	2014	Référence	-
		2015	0,06 (0,002-1,62)	0,095
		2016	0,065 (0,002-1,72)	0,1
	Mode de reproduction	IA + SN	Référence	-
		IA	0,26 (0,09-0,76)	0,01
		SN	0,61 (0,15-2,55)	0,5
	Conservation de l'aliment	Moyenne	Référence	-
		Bonne	1,22 (0,45-3,32)	0,7
		Mauvaise	6,22 (0,78-49,93)	0,09
	Contrôle des rongeurs et autres nuisibles	Non	Référence	-
Oui		0,23 (0,09-0,63)	0,004	
<i>Chlamydia abortus</i>	Année de visite	2014	Référence	-
		2015	0,21 (0,008-5,34)	0,34
		2016	0,09 (0,003-2,31)	0,15
	Source d'abreuvement	Puits	Référence	-
		Citerne	1,53 (0,59-3,98)	0,39
		Conduite communale	0,96 (0,17-5,60)	0,97
		Forage personnel	2,45 (0,74-8,19)	0,14
	Plan de déparasitage	Non	Référence	-
		Oui	4,19 (1,66-10,55)	0,002
	Contrôle des rongeurs et autres nuisibles	Non	Référence	-
Oui		2,45 (0,92-6,55)	0,07	
<i>Toxoplasma gondii</i>	Type de stabulation	Libre	Référence	-
		Entravée	6,43 (0,30-138,25)	0,24
		Semi-entravée	7,13 (0,40-128,52)	0,18
	Source d'abreuvement	Puits	Référence	-
		Citerne	2,51 (0,84-7,51)	0,1
		Conduite communale	2,57 (0,56-16,07)	0,2
	Forage personnel	8,25 (2,22-30,69)	0,002	

6.3.2.3. Résultats de l'Analyse multivariée à l'échelle des troupeaux

Les résultats de l'analyse multivariée ($p \leq 0,05$) par régression logistique des différents facteurs associés à un risque augmenté ou diminué à l'encontre de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* recherchés à l'échelle du troupeau sont présentés dans le tableau 6.6.

- À l'échelle du troupeau, le **déparasitage des animaux** et l'**utilisation d'un forage personnel** comme source d'abreuvement se sont révélés être des facteurs associés respectivement à un risque **augmenté** d'exposition à ***Chlamydia abortus*** (OR = 3,89 ; IC 95% : 1,53 - 9,08; ***P* = 0,005**) et ***Toxoplasma gondii*** (OR = 7,50 ; IC 95% : 2,11 - 26,69; ***P* < 0,001**).

- En ce qui concerne ***Coxiella burnetii***, aucun facteur associé à un risque **augmenté** d'exposition n'a été identifié par l'analyse de la régression logistique multivariée. Par contre, les facteurs analysés suivants étaient associés à un risque **diminué** d'exposition à ce pathogène : l'**année de visite en 2015** (OR = 0,02 ; IC 95% : 0,0008 - 0,65; ***P* = 0,027**) et en **2016** (OR = 0,01 ; IC 95% : 0,0003 - 0,36; ***P* = 0,011**), l'**insémination artificielle** pratiquée par un vétérinaire ou un technicien-inséminateur formé (OR = 0,21; IC 95% : 0,06 - 0,69; ***P* = 0,01**) et l'**application d'un plan de contrôle des rongeurs et autres nuisibles** (OR = 0,19 ; IC 95% : 0,06 - 0,57; ***P* = 0,003**).

Tableau 6.6 : Résultats de la régression logistique multivariée à l'échelle du troupeau pour les facteurs de risque recherches associés à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* ($p \leq 0,05$).

Germe	Variable	Catégorie	Odds ratio (95% CI)	P-value
<i>Coxiella burnetii</i>	Année de la visite	2014	Référence	-
		2015	0,02 (0,0008-0,65)	0,027
		2016	0,01 (0,0003-0,36)	0,011
	Mode de reproduction	SN	Référence	-
		IA	0,21 (0,06-0,69)	0,01
	Contrôle des rongeurs	Non	Référence	-
Oui		0,19 (0,06-0,57)	0,003	
<i>Chlamydia abortus</i>	Plan de déparasitage	Non	Référence	-
		Oui	3,89 (1,53 - 9,89)	0,005
<i>Toxoplasma gondii</i>	Source d'abreuvement	puits	Référence	-
		Forage personnel	7,50 (2,11-26,69)	<0,001

6.4. Discussion

➤ *Coxiella burnetii*

Aucun facteur étudié au niveau individuel ou de troupeau ne s'est révélé être associé à risque augmenté d'exposition à *Coxiella burnetii* lors d'avortement. La prévalence à l'échelle individuelle et du troupeau de cet agent étiologique a été respectivement moindre durant les années 2015 (OD = 0,0006 / OD = 0,02) et 2016 (OD = 0,0005 / OD = 0,01) qu'en 2014. Il n'est pas impossible de penser que l'augmentation des précipitations moyennes en 2015/2016 (422 mm) par rapport à 2014 (285 mm) ainsi que les conditions venteuses (sirocco) de notre zone d'étude en soient responsables [311]. Ce risque diminué d'exposition à *Coxiella burnetii* lié à l'augmentation des précipitations s'oppose aux observations d'une étude menée au Kenya qui constate une séroprévalence individuelle de 10.5% associée à des précipitations de 100 mm [123], et à celle menée en Suède qui rapporte une séroprévalence de 8.2% et qui été associée à des précipitations supérieures à 26mm [129]. A l'île de la Réunion la prévalence de *Coxiella burnetii* est plus élevée dans les fermes qui sont exposées aux vents dominants et à des températures élevées [126]. A noté également le rôle important de vecteur joué par les tiques dans la transmission de *Coxiella burnetii* et l'éventuelle relation de ces dernières avec les conditions climatiques.

La pratique de l'insémination artificielle par un vétérinaire ou un technicien formé constitue un facteur associé à un risque diminué d'exposition à *Coxiella burnetii* et ce, à la fois au niveau individuel (OD = 0,15 / P = 0.001) et de troupeau (OD = 0,21 / P = 0.01). Une observation inverse a été rapportée au Danemark, où la prévalence de *Coxiella burnetii* s'est avérée plus élevée dans les troupeaux (lait de grand mélange) et dont l'insémination artificielle était pratiquée par une autre personne qu'un technicien de l'insémination artificielle à savoir l'éleveur (92 %: OD = 7.7, IC95 % = 2.1 à 17.0) que dans ceux recourant à la saillie naturelle (54%) [146]. Une autre étude menée au Danemark n'a fait ressortir aucune association significative entre le renforcement de mesures hygiéniques lors de l'insémination artificielle et la séropositivité du lait de réservoir dans des troupeaux de vaches laitières [151].

À l'échelle du troupeau, la mise en place de mesures visant à éradiquer les

rongeurs et autres nuisibles a été mise en relation avec une plus faible exposition à *Coxiella burnetii* et donc à réduire le risque d'avortements (OD=0,19 / p= 0.003). L'acide désoxyribonucléique de *Coxiella burnetii* a déjà été trouvé chez des rats bruns (*Rattus norvegicus*) et des rats noirs (*Rattus rattus*) se trouvant dans des élevages de bovins aux Pays-Bas [312]. Le rat est considéré comme un hôte potentiel de *Coxiella burnetii* et dès lors, l'excrétion de la bactérie est susceptible de souiller des aliments destinés aux bovins. Cette association a été également observée aux Pays-Bas où, dans des élevages de chèvres laitières une association significative a été retenue entre le statut positif à *Coxiella burnetii* et les signes de présence de rongeurs (souris, rats) dans l'ensilage ou la litière au cours des 12 derniers mois (OD=4,3) [313].

➤ *Chlamydia abortus*

À l'échelle individuelle, l'hiver (OD = 0,39 / p = 0,05) et le printemps (OD=0,45 / p=0,04) ont été identifiés comme des facteurs associés à un risque diminué d'exposition à *Chlamydia abortus*. Ce résultat s'oppose à celui rapporté au Mexique où le risque d'avortement en général est apparu plus élevé durant les périodes pluvieuses et venteuses de l'hiver que durant la saison sèche dans des élevages de vaches croisées à viande [314]. Toutefois, l'augmentation de la prévalence des avortements en période hivernale a également été rapportée en Irlande [315].

Le recours à l'insémination artificielle a été identifié comme un facteur associé à un risque diminué d'exposition à *Chlamydia abortus* (OR= 0.27 / p= < 0.001). Cette observation rejoint celle constatée lors d'une étude menée en Allemagne [197] où le recours à la saillie naturelle constituait un facteur de risque imputable à la présence fréquente de *Chlamydia abortus* chez les taureaux atteints de vésiculite [316] ou même cliniquement sains [204]. Ces derniers peuvent s'infecter et constituer des vecteurs de la chlamydie, le risque d'avortement étant 6,6 fois supérieur chez les vaches séropositives [193].

À l'échelle du troupeau, la pratique du déparasitage des animaux a été identifié comme un facteur associé à un risque augmenté (OD = 3,89 / p = 0.005) d'exposition à *Chlamydia abortus* en contribuant à augmenter le risque d'avortements. Il est possible que cet effet à première vue paradoxal soit

imputable au fait que l'activité antimétabolique des benzimidazoles puisse être responsable de malformations ou d'anomalies de développement du fœtus conduisant à leur expulsion [75].

➤ *Toxoplasma gondii*

À l'échelle individuelle, les 4^{ème} (OR=22,68 / p=0.03), et 5^{ème} mois de gestation (OR= 25,51 / p=0.03) ont été identifiés comme des facteurs associés à un risque augmenté d'exposition à *Toxoplasma gondii*. Ceci est à mettre en relation avec le fait que l'avortement à *Toxoplasma gondii* s'observe entre le 1^{er} et le 6^{ème} mois de gestation, soit un mois environ après une contamination initiale [317]. Toutefois, ce n'est qu'à partir du troisième mois de gestation que l'éleveur est susceptible de rapporter des avortements cliniques.

Une réduction du risque d'exposition à *Toxoplasma gondii* lors de la troisième gestation a été constaté (OD=0,38 / p=0,03), ce qui suggère le développement d'une immunité acquise. Selon les auteurs, la séroprévalence de *Toxoplasma gondii* est plus élevée chez les bovins de moins d'un an [275] que chez les bovins plus âgés : > 4 ans [210], > 5 ans [274]. Ce développement possible d'une immunité contribuerait à réduire le risque d'avortement. Notons toutefois que notre étude ne concerne pas les jeunes animaux.

A l'échelle du troupeau, le forage personnel comme source d'abreuvement était un facteur associé à un risque augmenté d'exposition à *Toxoplasma gondii* (OD=7,5 / p< 0,001). En effet, l'eau peut être contaminée par des oocystes de *Toxoplasma gondii* provenant des matières fécales ou des urines de chats infectés [210, 318]. En Algérie, les chats sont fréquemment rencontrés dans les élevages pour lutter contre l'infestation des rongeurs ce qui augmente le risque d'avoir leurs déchets contaminer l'alimentation, l'ensilage et les sources d'eau. Par ailleurs, les chats ont pour habitude d'enterrer leurs excréments ce qui rend le sol contaminé pour longtemps car les oocystes de *Toxoplasma gondii* peuvent survivre deux ans dans le sol. Cette contamination par l'eau d'abreuvement a également été rapportée en République populaire de Chine (P<0,005) [210], et au Brésil par deux études différentes l'une à Rio de Janeiro, (OD=2,15 / p=0,02) [318] et l'autre à l'île Fernando de Noronha (OD= 8,36/ P<0,001) [319].

DISCUSSION GENERALE

Cette étude avait pour principaux objectifs d'établir les prévalences de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* par la technique Elisa et d'identifier les facteurs associés à un risque augmenté ou diminué d'exposition aux trois germes recherchés chez les vaches laitières avortées dans la région de la Mitidja en Algérie.

Les germes identifiés comme responsables d'avortements chez les bovins à l'échelle individuelle ou du troupeau ont été déjà mis en évidence en Algérie par différentes techniques (*Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* [6], *Coxiella burnetii* [7], le virus de la Rhinotrachéite infectieuse bovine [8], la Brucellose [9, 10, 320]). La technique ELISA utilisée dans le cadre de notre étude offre l'avantage de donner des résultats plus spécifiques et plus sensibles à un moindre coût. Par ailleurs, elle nous a permis d'étudier les facteurs de risque et de protection associés à la positivité, au niveau du troupeau et des individus, dans cette région d'étude, en Algérie. Les données collectées et analysées dans le cadre de ce mémoire ont permis d'apporter quelques réponses et de soulever de nouvelles hypothèses épidémiologiques pour les avortements dus à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

Cette étude a été basée sur la participation volontaire d'éleveurs de bovins laitiers dans la région de la Mitidja. Elle ne peut donc être considérée comme exhaustive. De nombreux éleveurs n'ont pas souhaité collaborer à cette étude. La raison doit vraisemblablement en être trouvée dans la peur de résultats éventuellement positifs et des conséquences que ceux-ci risquaient d'entraîner en termes de réforme du cheptel ou de la mise en application de mesures sanitaires trop contraignantes.

L'échantillon de 52 génisses et 316 vaches provenant de 124 élevages déclarés indemnes de brucellose et de tuberculose représente environ 1% des génisses et vaches présentes dans la région, échantillons très petit mais cependant suffisant pour en réaliser une étude statistique.

Bilan des résultats sérologiques

Les prévalences de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* obtenues dans la présente étude sont comparables à celles d'autres études nationales ou étrangères. Considérant les nombreuses similitudes de gestion d'élevage entre les diverses régions du pays ainsi que les mouvements très probables et fréquents de bovins entre ces élevages, ces résultats peuvent probablement être généralisés à l'ensemble de l'Algérie, fournissant ainsi une base de données intéressantes à employer à cette échelle pour des études futures.

Le diagnostic d'avortement implique la collecte de données épidémiologiques, cliniques mais finalement seul le laboratoire peut apporter la confirmation de l'agent responsable, les autres informations offrant un moyen d'orienter adéquatement le diagnostic probable.

D'une manière générale, le diagnostic de laboratoire est réalisé à partir soit de l'avorton, soit du placenta, soit du sang de la mère. La qualité du résultat dépend néanmoins de celle des prélèvements, de leur conservation et du moment de leur réalisation par rapport à l'effet pathogène du germe éventuellement impliqué.

Dans notre étude, les analyses sérologiques ont été pratiquées sur un seul prélèvement réalisé après l'apparition de l'avortement. L'analyse sérologique d'un seul prélèvement présente un intérêt limité. L'idéal eut été de réaliser des analyses sérologiques sur 2 voire 3 prélèvements de sérums réalisés avant et après la survenue de l'avortement afin de mieux apprécier l'évolution de la réponse en anticorps et la séroconversion. Ce suivi sérologique apporte plus d'éléments sur le rôle éventuel de l'agent pathogène. Il n'est cependant réalisable que si l'on dispose des moyens temporels et matériels nécessaires. L'interprétation des analyses sérologiques aurait pu être améliorée par la mesure des titres en anticorps sur une dizaine de vaches par élevage, au même stade de gestation et n'ayant pas subi d'avortement, faute d'acceptation de l'éleveur, cette mesure n'a pas été réalisée.

L'interprétation des résultats, implique de prendre en compte les caractéristiques des tests sérologiques utilisés, leur sensibilité, leur spécificité. Ainsi, pour la Fièvre Q, la Chlamydie et la Toxoplasmose, nous avons réalisés les tests sérologiques

sur des kits Elisa ® d'ID.VET; utilisant respectivement une souche *Coxiella burnetii* phase I et II isolé d'un placenta d'un avortement bovin, un antigène synthétisé issu de la Momp (Majeur outer membrane protein) présentant une spécificité pour *Chlamydia abortus* et un antigène P30 spécifique de *Toxoplasma gondii*.

Les résultats des analyses sérologiques ont révélés la présence de la fièvre Q, La Chlamydie et la Toxoplasmose dans les élevages bovins laitiers algériens, et leurs éventuelles implications dans les avortements bovins. À l'échelle individuelle, la séoprévalence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* était respectivement de 8,4%, 12,2 % et 13,8%.

À l'échelle du troupeau, la séoprévalence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* était respectivement 16,1%, 29,8 % et 29,8%, prévalences assez élevées. L'analyse de la répartition des réponses sérologiques à l'encontre des trois germes recherchés a montré la présence simultanée d'anticorps *anti-Toxoplasma gondii*, *anti-Chlamydia abortus* et *anti-Coxiella burnetii* dans 0,8% des élevages ; d'anticorps *anti-Toxoplasma gondii* et *anti-Chlamydia abortus* dans 2,4% des élevages et d'anticorps *anti-Toxoplasma gondii* et *anti-Coxiella burnetii* dans 0,8% des élevages. En effet, dans un troupeau, les infections abortives sont souvent associées ; elles peuvent avoir un effet pathogène de manière indépendante ou en synergie. Ainsi, des titres d'anticorps élevés contre l'agent de la Fièvre Q peuvent être associés à des traces sérologiques d'une ou plusieurs autres maladies abortives, la Chlamydie en particulier [321].

En définitive, notre étude a montré que la Fièvre Q, la Chlamydie et la Toxoplasmose peuvent être considérées comme des maladies abortives importantes dans les élevages bovins laitiers dans la région de la Mitidja vus les prévalences importantes et non négligeables obtenus par la présente étude.

Notre étude est la première à avoir en Algérie analyser les facteurs de risque et de protection associés à la positivité de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* chez les vaches laitières avortées.

Des analyses par régression logistique uni et multivariée tant à l'échelle individuelle et du troupeau nous ont permis d'identifier plusieurs facteurs associés

à un risque augmenté ou diminué d'exposition à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

L'année de visite (2015/2016), l'utilisation de l'insémination artificielle, l'application d'un plan d'éradication des rongeurs, la 3^{ème} gestation, l'hiver et le printemps se sont révélés être des facteurs associés à un risque diminué à l'exposition des vaches à de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*. A l'inverse, l'application d'un plan de déparasitage des bovins pour *Chlamydia abortus*, le forage personnel comme source d'abreuvement des animaux et le 4^{ème} et 5^{ème} mois de gestation sont apparus être des facteurs associés à un risque augmenté d'exposition à *Toxoplasma gondii* lors d'avortement.

L'étude des facteurs associés à des risques augmentés ou diminués identifiés mériterait d'être poursuivie à plus grande échelle.

La caractérisation du statut sérologique a été réalisée par la méthode ELISA, méthode reconnue pour sa qualité diagnostique [322], sa rapidité de réalisation et ses sensibilités et spécificité élevées [82]. Il aurait été intéressant d'évaluer également le statut excrétoire par la méthode PCR sur les laits de mélange voire d'effectuer une recherche d'ADN sur les avortons [323]. Cela n'a pas été possible pour des raisons pratiques de terrain (surtout l'indisponibilité des avortons).

Les tests ELISA employés dans cette étude ont permis d'identifier quatre statuts sérologiques «négatif», «douteux», «positif» et «fortement positif» pour *Coxiella burnetii*, trois statuts pour *Chlamydia abortus* «négatif», «douteux», «positif» et quatre statuts «négatif», «douteux», «positif» et «infection aigue» pour *Toxoplasma gondii*. Plutôt que d'effectuer des analyses ordinales basées sur ces différentes interprétations du fabricant, nous avons opté pour la création de deux catégories à savoir «positif» et «négatif». Cette décision a été essentiellement basée sur les objectifs de l'étude destinée à établir les prévalences des trois germes et des facteurs associés à des risques augmentés ou diminués à la positivité des troupeaux et des individus lors d'avortements. Ainsi, nous devons donc déterminer comment classer les résultats «douteux», «fortement positif» et «infection aigue» dans les deux classes positives et négatives.

Concernant les résultats «fortement positifs» et «infection aigue», il était évident que ceux-ci étaient catégorisés «positifs». L'analyse des résultats «douteux»,

pouvait se faire selon trois options. La première consistait à les exclure des analyses, la seconde à les considérer comme négatifs et la troisième à les considérer comme positifs. Concernant la première option, en excluant ces troupeaux / individus au statut « douteux », d'une part la représentativité de l'échantillon par rapport à la population générale aurait possiblement été affectée, d'autre part, la taille d'échantillons disponibles pour les analyses sérologiques aurait été diminuée, affectant ainsi la puissance statistique associée aux analyses des facteurs associés à des risques augmentés ou diminués. Cette option n'a donc pas été retenue. Quant au choix entre la seconde et la troisième proposition, d'un côté, nous avons observé qu'au sein de certains troupeaux bovins démontrant au minimum un résultat ELISA «douteux» pour un germe accompagné par un résultat «positif» ou «douteux» pour un autre germe. Et d'un autre côté, il faut également prendre en considération que suivant l'infection par *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*, les vaches avortées du troupeau ne sont pas toutes au même stade de séroconversion ; certaines étant au début et d'autres vers la fin présentant sans doute des taux d'anticorps inférieurs. Considérant tous ces éléments, il nous semblait pertinent et adéquat d'interpréter les résultats ELISA au statut «douteux» comme «positifs».

L'identification statistique des facteurs associés à des risques augmentés ou diminués a été effectuée en utilisant STATA / SE Acad. 14.2 [310]. Dans une première étape, un modèle à effets mixtes à plusieurs niveaux a été utilisé pour prendre en compte l'éventuel niveau "troupeaux" comme effet aléatoire. Comme l'effet aléatoire n'a pas été observé, une régression logistique a été utilisée pour modéliser les probabilités qu'un animal soit séropositif ou douteux en fonction des facteurs potentiels associés à des risques augmentés ou diminués d'exposition étudiés. L'identification initiale des facteurs potentiels associés à des risques augmentés ou diminués pour les 3 maladies étudiées a été effectuée dans un premier temps au moyen d'une régression univariée. Dans un second temps, une régression logistique multivariée incluant toutes les variables ayant une valeur de $P < 0,20$ à l'analyse univariée a été utilisée. Enfin, dans le modèle multivariée initial, les variables non significatives ($P > 0,05$) ont été supprimées dans une approche pas à pas (à partir de la variable la moins significative, c'est-à-dire la variable avec la valeur de P la plus élevée). À chaque étape, un test de rapport de

vraisemblance a permis de comparer les modèles complexe et simplifié. Lorsqu'il n'y avait pas de différence significative entre ceux-ci, le modèle simplifié a été retenu.

La contamination humaine par *Coxiella burnetii* se fait par contact direct avec des animaux infectés mais le plus souvent par inhalation d'aérosols ou de poussières contaminées présentes notamment dans les produits de mise bas et les déjections des animaux infectés, et dans une moindre mesure. La présence de la bactérie dans les élevages étudiés et donc vraisemblablement dans le lait de réservoir soulève ainsi la question à l'égard du risque posé par la consommation de lait cru et de ses dérivés chez les humains. Comme il a toutefois été soulevé que la voie digestive ne jouait probablement pas un rôle très important dans la transmission de la bactérie [163], le risque potentiel de transmission entre bovins et hommes par cette voie semble mineur. Néanmoins, le risque d'une transmission par voie aérosol suite à un contact avec les bovins infectés demeure. Puisqu'ici on fait face à une maladie zoonotique, cela soulève évidemment la question de l'attribution de la responsabilité du risque et de la prévention de l'infection chez les humains. Notre étude ne propose évidemment aucune réponse concrète à cette question, mais soulève pertinemment cette question. Puisque les réservoirs principaux de la bactérie pour l'homme sont les ruminants domestiques, les intervenants au niveau de la santé animale, tels que les éleveurs, les vétérinaires et le personnel d'abattoir devraient agir pour planifier et mettre en œuvre des interventions pour prévenir la transmission entre les animaux et les hommes.

Chlamydia abortus représente un danger pour les femmes enceintes chez lesquelles elle peut être à l'origine d'une fièvre accompagnée de céphalées et de nausées et, surtout, de la naissance de prématurés, d'avortements et de mortinatalités. Les femmes enceintes doivent donc éviter tout contact avec les bovins confirmés contaminés par *Chlamydia abortus*.

La Toxoplasmose se traduit par une infection le plus souvent bénigne chez les sujets immunocompétents. Les formes graves sont avant tout observées en cas de contamination congénitale et chez les patients immunodéprimés. En cas de contamination en cours de grossesse, il existe un risque de transmission materno-foetale (29%) et de toxoplasmose congénitale. Ce risque augmente avec l'âge de la grossesse au moment de la contamination maternelle, atteignant 80% à la fin

du dernier trimestre. Les manifestations cliniques de la toxoplasmose congénitale sont très diverses (neurologiques, oculaires, principalement) et de gravité variable en fonction du moment de la contamination ; les lésions oculaires ont un potentiel évolutif imprévisible [254]. Chez les malades immunodéprimés (principalement : SIDA, greffe de moelle) les localisations cérébrales et oculaires sont les plus fréquentes et le plus souvent mortelles sans traitement.

Il ne faut pas perdre de vue que la Toxoplasmose est une zoonose grave pour la femme enceinte. Sa principale voie d'infestation pour la femme est l'ingestion de viande peu ou pas cuite. La viande bovine est particulièrement sujette à une telle préparation. Il est donc important de pouvoir limiter l'infestation des bovins. A ce titre, des mesures globales de prévention doivent être prises, afin d'améliorer la maîtrise sanitaire des exploitations pour une meilleure prévention de cette zoonose.

➤ Difficultés rencontrées

Tout au long de notre étude nous avons été confrontés à diverses difficultés à savoir

- l'accès difficile à certains élevages parfois très isolés.
- le refus de nombreux éleveurs de participer à l'étude par crainte des conséquences possibles pour leurs élevages.
- le manque qualitatif ou quantitatif de données rétrospectives sur l'animal avorté.

CONCLUSION

Les avortements bovins sont à l'origine de nombreuses pertes économiques pour les éleveurs mais présentent aussi des risques zoonotiques, c'est pourquoi il semble important d'en trouver l'étiologie exacte. En traitant la cause précise de l'avortement on pourra diminuer leur incidence.

Cette étude a permis de confirmer la présence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* chez les vaches laitières avortées dans le nord de l'Algérie, d'en estimer les prévalences à l'échelle individuelle et du troupeau et d'identifier les principaux facteurs potentiels associés à des risques augmentés ou diminués à l'égard de cette positivité. Les principales conclusions qui en ressortent sont les suivantes :

- ✓ L'infection par *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* est très commune chez les bovins laitiers en Algérie ;
- ✓ A l'échelle du troupeau, le choix du forage comme source d'abreuvement, et l'application du plan de déparasitage des animaux d'élevage semblent représenter des facteurs associés à des risques augmentés de la positivité respectives pour *Toxoplasma gondii* et *Chlamydia abortus* ;
- ✓ A l'échelle individuelle, le 4^{ème} et 5^{ème} mois de gestation représente également des facteurs associés à des risques augmentés associés à la positivité de *Toxoplasma gondii* ;
- ✓ L'insémination artificielle, la saison d'hiver et de printemps, la 3^{ème} gestation et l'application d'un plan de contrôle des rongeurs et autres nuisibles ont joués un rôle protecteur (facteur associé à un risques diminué) à l'échelle individuelle et du troupeau vis-à-vis de la positivité à *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*.

La caractérisation de la prévalence de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii* ainsi que l'identification de facteurs de risque ou de protection associés à cette exposition constituent une première étape intéressante pour la mise de place de recommandations visant à réduire la fréquence des avortements.

RECOMMANDATIONS

- La poursuite de la présente étude par la réalisation d'enquêtes épidémiologiques à plus large échelle associées à l'identification plus spécifiques des germes impliqués par PCR.
- La mise en place et l'utilisation des micropuces contenant des brins d'ADN spécifiques aux germes abortifs.
- La maîtrise des avortements bovins en Algérie implique le respect par l'éleveur et le vétérinaire des recommandations habituellement formulées en cette matière à savoir : l'isolement de l'animal avorté du reste du troupeau, l'application de la mise en quarantaine lors d'introduction de nouveaux bovins, l'élimination du fumier, le nettoyage et la désinfection de l'étable et du matériel contaminé, l'application d'un plan de lutte contre les rongeurs et autres nuisibles, la surveillance quant à l'accès des chats et chiens dans les troupeaux, l'examen clinique de l'animal, la notation des signes observés, la réalisation de prélèvements sur la vache, l'avorton et le placenta et la déclaration du cas aux autorités compétentes.
- Il serait souhaitable de pouvoir mettre en place une approche fédérée avec les groupements vétérinaires et les laboratoires vétérinaires et humains. Un inventaire de leurs capacités diagnostiques serait souhaitable pour pouvoir optimiser le diagnostic étiologique des avortements. Le cas échéant, le financement de ces laboratoires devrait être renforcé.
- La vulgarisation des causes d'avortements et de leurs facteurs de risque et de protection auprès des éleveurs et des vétérinaires constitue également une démarche essentielle pour de limiter l'importance des avortements. L'édition de plaquettes de vulgarisation pourrait être envisagée.
- L'augmentation des ressources destinées au fonds agricole pour dédommager les éleveurs en cas de décision de réforme des animaux pour raisons sanitaires devrait être un incitant majeur les invitant à déclarer les avortements. Ce fonds permettrait également de mettre en place des plans de vaccination contre la fièvre Q notamment ou encore de financer des plans d'éradication des rongeurs et de contrôle des carnivores domestiques.

APPENDICE A.

LISTE DES SYMBOLES

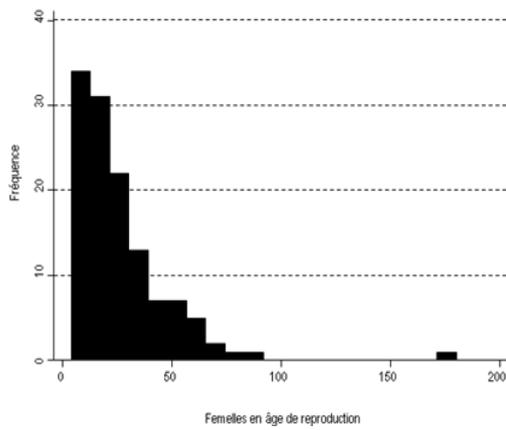
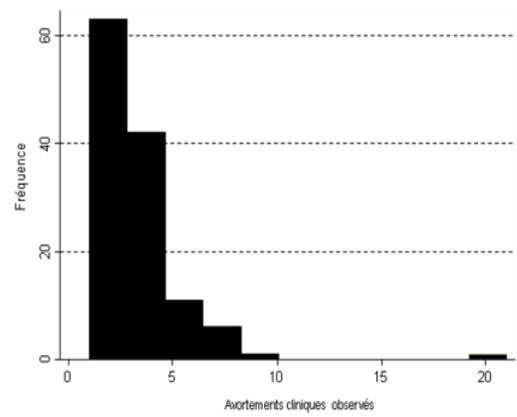
- **ACERSA** : Association pour la certification de la santé animale en élevage
- **ADHS**: Agglutination directe haute sensibilité
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **AGPT** : Test de précipitation par le gel Agar
- **ATP** : Adénosine triphosphate
- **BHV1** : Herpes virus bovin 1
- **BVD** : Diarrhée virale bovine
- **CE** : Corps élémentaire
- **Cu** : Cuivre
- **Elisa** : enzyme-linked immunosorbent assay (méthode immun enzymatique)
- **FAT** : Fluorescence Antibody test
- **FC** : Fixation du complement
- **FCO** : Fièvre catarrhale ovine
- **GDS** : Groupement de défense sanitaire
- **GTV** : Groupement technique vétérinaire
- **I** : Iode
- **IBR** : Rhinotrachéite infectieuse bovine
- **IC** : Intervalle de confiance
- **IFAT** : Test anticorps fluorescence indirecte
- **IFI** : Immunofluorescence indirecte
- **IGG** : Immunoglobuline G
- **IGM** : Immunoglobuline M
- **IHA** : Hémagglutination indirecte test
- **IPV** : Vulvovaginite pustuleuse infectieuse
- **LAT**: Test d'agglutination du latex modifié
- **LPS** : Lipopolysaccharide de surface
- **MIF** : Micro immunofluorescence
- **Momp** : Major outer membrane protein
- **nm** : Nanomètre
- **OIE** : Office internationale des épizooties

- **Omp2** : Outer membrane protein 2
- **OmpA** : Outer membrane protein A
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **OR** : Odds Ratio
- **PCR** : Réaction en chaîne par polymérase
- **PCRtr** : Réaction en chaîne par polymérase en temps réel
- **Pmp** : Polymorphic membrane protein
- **Pmps** : Polymorphic membrane protein
- **S/P** : Sample (échantillon testé) / Positive (échantillon témoin positif)
- **SAG1** : Surface antigène 1
- **Se** : Sélénium
- **SFDT**: Test de coloration Sabin-Feldman
- **TAD**: Test d'agglutination direct
- **TAM**: Test d'agglutination modifié
- **UI/ml** : Unité internationale / millilitre
- **Zn** : Zinc

APPENDICE B

Annexe 1

Histogrammes de fréquence du nombre de femelles en âge de reproduction [A] et du nombre d'avortements cliniques observés [B] durant la période d'étude

[A]**[B]**

Annexe 2

Résultats détaillés par élevage des nombres de femelles en âge de reproduction et d'avortements cliniques observés durant la période de l'étude ainsi que les nombres de résultats positifs, douteux et négatifs par pathogène recherché

Élevage		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Nb. femelles en âge de production		180	10	13	5	9	8	37	45	39	44	50	56	65	48	63	8	15	5	13	13	4	7	4	8	11	6	5	4	13	35	31	
Nb. avortements		21	1	1	1	1	1	7	7	6	8	9	5	6	5	7	1	3	1	2	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	4	3	
% avortements		12	10	8	20	11	13	19	16	15	18	18	9	9	10	11	13	20	20	15	15	50	14	25	25	18	17	20	50	15	11	10	
<i>Coxiella burnetii</i>	P	6							2	1										1	1												
	D	2																				1											
	N	13	1	1	1	1	1	7	5	5	8	9	5	6	5	7	1	3	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2	4	3	
<i>Chlamydia abortus</i>	P	1									1						1									1	1				1	2	
	D															1																	
	N	20	1	1	1	1	1	7	7	6	8	8	5	6	5	6	1	2	1	2	2	2	1	1	2	1		1	2	2	3	1	
<i>Toxoplasma gondii</i>	P	2												2											1			1					
	D																																
	N	19	1	1	1	1	1	7	7	6	8	9	5	4	5	7	1	3	1	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1	2	4	3	

Élevage		32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	
Nb. femelles en âge de production		45	60	25	82	32	49	22	42	23	28	32	20	17	22	13	9	29	8	24	16	30	48	19	22	26	20	18	20	15	5	32	
Nb. avortements		3	4	2	5	4	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2	1	3	2	3	4	4	7	4	3	5	2	3	3	1	1	3	
% avortements		7	7	8	6	13	8	14	7	9	7	6	10	12	14	15	11	10	25	13	25	13	15	21	14	19	10	17	15	7	20	9	
<i>Coxiella burnetii</i>	P																							1	1	3					1		
	D																																
	N	3	4	2	5	4	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2	1	3	2	3	4	4	7	3	2	2	2	3	3	1		3	
<i>Chlamydia abortus</i>	P		1	1			1	1		1		1	1	1		1					1						1			1			
	D				2																1												
	N	3	3	1	3	4	4	2	2	2	1	2	1	1	2	2		3	2	3	2	3	6	4	3	5		3	3		1	3	
<i>Toxoplasma gondii</i>	P	2		1			1		1	1	1				2			1					1										
	D					1																											
	N	1	4	1	5	4	2	3	2	1	1	1	2	2	1	1	1	2	2	3	4	4	6	4	4	2	5	2	3	3	1	1	3

Élevage		63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	
Nb. femelles en âge de production		18	15	23	15	10	11	13	39	14	23	42	12	18	52	17	9	27	15	32	8	10	33	60	6	70	7	12	18	35	24	28	
Nb. avortements		2	3	2	2	2	1	2	4	2	3	6	1	2	5	1	1	3	2	4	1	1	3	6	1	5	1	4	2	3	3	3	
% avortements		11	20	9	13	20	9	15	10	14	13	14	8	11	10	6	11	11	13	13	13	10	9	10	17	7	14	33	11	9	13	11	
<i>Coxiella burnetii</i>	P																							1						1	1		
	D																																
	N	2	3	2	2	2	1	2	4	2	3	6	1	2	5	1	1	3	2	4	1	1	3	6		5	1	4	2	2	2	3	
<i>Chlamydia abortus</i>	P									1	1						1		1					1					1				
	D										1													1					1				
	N	2	3	2	2	2	1	2	4	2	2	4	1	2	5	1	1	2	2	3	1	1	3	4	1	5	1	4		3	3	3	
<i>Toxoplasma gondii</i>	P				1				1	1		1					1		1	1		1				3							1
	D																																
	N	2	3	2	1	2	1	2	3	1	3	5	1	2	5	1		3	1	3	1		3	5	1	2	1	4	2	3	3	2	

Élevage		94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	
Nb. femelles en âge de production		17	42	19	25	21	12	66	7	17	32	29	6	56	25	8	15	13	29	12	7	21	43	28	16	11	61	26	86	38	6	28	
Nb. avortements		2	4	2	3	3	1	8	1	2	4	3	1	4	3	1	2	1	3	1	1	2	3	2	2	1	4	3	5	3	1	3	
% avortements		12	10	11	12	14	8	12	14	12	13	10	17	7	12	13	13	8	10	8	14	10	7	7	13	9	7	12	6	8	17	11	
<i>Coxiella burnetii</i>	P	1													1	1												1			1		
	D																																
	N	1	4	2	3	3	1	8	1	2	4	3	1	4	2		2	1	3	1	1	2	3	2	2	1	3	2	5	1	1	3	
<i>Chlamydia abortus</i>	P		2			2				1			1					1									1						
	D																																
	N	2	2	2	3	1	1	8	1	1	4	3		4	3	1	2		3	1	1	2	3	2	2		4	3	5	3	1	2	
<i>Toxoplasma gondii</i>	P							2			2				1								2					2					
	D																																
	N	2	4	2	3	3	1	6	1	2	2	3	1	4	2	1	1	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1	3	3	3	1	3	

Nb. : nombre

P : nombre de femelle(s) avortée(s) positive(s)

D : nombre de femelle(s) avortée(s) douteuse(s)

N : nombre de femelle(s) avortée(s) négative(s)

Annexe 3

Composition des kits ELISA et mode opératoire

❖ La composition des kits est la suivante :

- Microplaques sensibilisées avec un antigène (*Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et *Toxoplasma gondii*) contenant chacune 96 puits répartis en 12 colonnes (1-12) et 8 lignes (A-H).
- Conjugué concentré (10X) (stocké à 5°C (± 3° C).
- Contrôle positif (stocké à 5°C ± 3° C).
- Contrôle négatif (stocké à 5°C ± 3° C).
- Tampon de dilution 1 (stocké entre +2°C et +26°C)
- Tampon de dilution 2 (stocké entre +2°C et +26°C)
- Solution de lavage concentrée (20X).
- Solution de révélation (stockés à 5°C ± 3° C).
- Solution d'arrêt (H₂SO₄ 0,5 M).

❖ Mode opératoire

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante (21°C ± 5°C) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex.
2. Distribuer 90 µl de tampon de dilution 1 dans chaque puits.
3. Distribuer :
 - 10 µl de contrôle négatif dans les cupules A1 et B1.
 - 10 µl de contrôle positif dans les cupules C1 et D1.
 - 10 µl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.
4. Incuber 45 min ± 4 min à 21°C (±5°C).
5. Vider les puits. En utilisant le laveur automatique, laver 3 fois chaque cupule avec environs 300 µl de solution de lavage. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.
6. Préparer le conjugué 1X en diluant le conjugué 10x au 1/10^{ème} en tampon de dilution 2.
7. Distribuer 100 µl de conjugué 1X dans chaque cupule.
8. Incuber 30 min ± 3 min à 21°C (±5°C).
9. Vider les puits. En utilisant le laveur automatique, laver 3 fois chaque cupule avec environs 300 µl de solution de lavage.

10. Distribuer 100 µl de solution de révélation dans chaque cupule.
11. Incuber 15 min ± 2 min à 21°C (±5°C) à l'obscurité.
12. Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
13. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm grâce au lecteur ELISA.

Pour les trois kits ELISA utilisés pour la recherche des anticorps anti-*Coxiella burnetii*, anti- *Toxoplasma gondii* et anti-*Chlamydia abortus* le principe était le même :

- Les cupules sont sensibilisées avec de l'extrait antigénique spécifique du germe recherché.
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques des germes recherchés, s'ils sont présents, forment un complexe antigènes- anticorps.
- Après lavage, un conjugué anti-espèce marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.
- Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).
- La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester:
 - ✓ En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.
 - ✓ En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

Annexe 4

Questionnaire relatif aux données générales des Troupeaux étudiés

- **Elevage No:** Propriétaire : Mr date de visite :
- **Effectif totale :** Vaches Génisses Taureaux
- **Animaux en :** Lactation Tarissement Lactation/ Tarissement
- **Race :** HPN HPR BA MB FLV
- **Type de stabulation :** Libre Entravée Semi Entravée
- **Animaux au pâturage :** Oui Non
- **Les vêlages sont répartis selon :** Saison Toute l'année
- **L'insémination des génisses se fait selon :** Age Poids Saison
- **L'insémination des vaches est réaliser par :** IA SN IA+SN
 - Si la saillie est naturelle par : Propre Taureau Taureau Etranger
- **Nature de l'alimentation distribuée:**.....
- **Qualité de conservation de l'alimentation :** Bonne Mauvaise
- **Présence de moisissures visible sur les fourrages :** Oui Non
- **Présence de chiens dans l'élevage :** Oui Non
 - Si oui, accès de chiens aux aliments distribués : Oui Non
- **Source d'abreuvement :** Puits Citernes CC Ruisseau Etang
- **Statut sanitaire des animaux est connu :** Oui Non
Si oui, précisez la pathologie identifiée :.....
- **Application d'un plan de lutte contre les nuisibles et les rongeurs :**
Oui Non
- **Présence d'avortement au sein de votre élevage :** Oui Non
- **Conduite à tenir vis-à-vis de l'avorton :**

Annexe 5Questionnaire relatif aux données propres à la vache avortée

- **Date présumé de l'avortement** : .../...../....
- **Date de la dernière insémination artificielle ou saillie naturelle** : /....
/....
- **Age de la vache** : 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10+ ans.
- **Race** : Holstein, Montbéliarde, Fleckveik, Brune de l'atlas.
- **Saison de l'avortement** : été, automne, hiver, printemps.
- **Numéro de gestation** : 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10+.
- **Stade de gestation présumé** : 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 mois.
- **Nature de la gestation** : gémellaire non gémellaire
- **Gestation obtenue après** : SNIA SN+IA
- **La vache concernée a-t-elle avorté au cours des gestations précédentes** : Oui non

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Thurmond M.C., Picanso J.P.**, A surveillance system for bovine abortion. *Prev Vet Med.*, 8 (1) (1990), 41-53. doi.org/10.1016/0167-5877(90)90021-9.
2. **Yoo. HS.**, Infectious causes of reproductive disorders in cattle. *Journal of reproductive and development*, Vol.56, (2010)., S53-S60.
3. **Yang N., Cui X., Qian W., Yu S., Liu Q.S.**, Survey of nine abortifacient infectious agents in aborted bovine fetuses from dairy farms in Beijing, China, by PCR. *Acta Vet Hung.*, 60(1), (2012)., 83-92. Doi: 10.1556/AVet.2012.007.
4. **Anderson, M.L.**, Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology*. Vol. 68, 3, (2007), pp. 474-486.
5. **OMS.** Organisation Mondiale de la Santé. guide pour la sélection et l'acquisition du matériel et des accessoires. (2010).
6. **Abdelhadi F.Z., Abdelhadi S.A., Niar. A., Benallou. B., Meliani. S., Smail N.L., Mahmoud D.**, Abortions in Cattle on the Level of Tiaret Area (Algeria). *Global Veterinaria* 14 (5)., (2015)., p 638-645. ISSN 1992-6197. © IDOSI Publications, 2015. DOI: 10.5829/idosi.gv.2015.14.05.93224.
7. **Agag S., Kaidi R., Khelef D.**, Séroprévalence de la fièvre Q chez les bovins de la région de Bejaia (Algérie). *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 69(4)., (2016)., 155-159. doi: 10.19182/remvt.31200.
8. **Achour H.A., Moussa A.**, Serological and virological studies on the infectious bovine rhinotracheitis in Algeria.1: *Zentralbl Veterinarmed B Jun*; 43(4) ; (1996)., 251-6.
9. **Aggad H., Boukraa L.**, Prevalence of bovine and human brucellosis in western Algeria: comparison of screening tests. *East Mediterr Health J.*, 12., (2006) ; 119–128.
10. **Kardjadj M.**, The epidemiology of cattle abortion in Algeria. *Trop Anim Health Prod* 50 ; (2018) ; 445–448. DOI 10.1007/s11250-017-1430-5.
11. **Longbottom D., Fairley S., Chapman S., Psarrou E., Vretou E., Livingstone M.**, Serological Diagnosis of Ovine Enzootic Abortion by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with a Recombinant Protein Fragment of the Polymorphic Outer Membrane Protein POMP90 of *Chlamydophila abortus*. *J Clin Microbiol.*, 40(11), (2002); 4235-4243. doi: 10.1128/JCM.40.11.4235-4243.2002.

12. **Porter S.R., Czaplicki G., Mainil J., Guatteo R., Saegerman C.**, Q Fever: current state of knowledge and perspectives of research of a neglected zoonosis. *Int J Microbiol.*, (2011), 248418. doi: 10.1155/2011/248418.
13. **Quan L., Ze-Dong ., Si-Yang H., Xing-Quan Z.**, Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasit Vectors*, **8**, (2015); 292. doi: 10.1186/s13071-015-0902-6.
14. **Badinand F., Bedouet J., Cosson J.L., Hanzen Ch., Vallet A.**, Lexique des termes de physiologie et pathologie et performances de reproduction chez les bovins. *Ann.Méd.Vét.*, (2000), 144, 289 – 301.
15. **Givens M.D., Marley M.S.D.**, Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*. (2008) ; 70 : 270 – 285.
16. **Guatteo R.**, Les avortements infectieux chez les bovins vers une démarche standardisée. Autun, 27ème journée technique du GTV Bourgogne. (2012) ; pp. 4-16.
17. **Nicollet P.H., Le Drean E.**, Evolution du diagnostic lors d'avortements infectieux chez les bovins . Journée bovine Nantaise, Nantes, (2007).
18. **Forar A.L., Gay J.M., Hancock D.D., Gay C.C.**, Fetal loss frequency in ten Holstein dairy herds. *Theriogenology*, 45,(1996),1505-1513.
19. **Hanzen Ch.**, Pathologies : Les pathologies de la gestation chez les ruminants (Université de Liège, VETE2078-1 : Gestion de la santé et des productions des ruminants). (2016)., <http://hdl.handle.net/2268/70605>.
20. **Tainturier D., Fieni F., Bruyas J.F., Battut I.**, Etiologie des avortements chez la vache. *Point Vét.*, 1997, 28(183), 1231-1238.
21. **Berthelot X., Picard-Hagen N.**, L'origine infectieuse des avortements en élevage bovin, LE NOUVEAU PRATICIEN VÉTÉRINAIRE. élevages et santé. Vol 2/ n° 11. (décembre / février 2009); 479.
22. **Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W.**, Arthur's veterinary reproduction and obstetrics, 8th edition., (2001) ; Londres : W.B. Saunders.
23. **Roberts S.J.**, Veterinary obstetrics and genital diseases, theriogenology, 3rd ed., Woodstock, VT : published by the author. (1986) ; p. 19.
24. **Youngquist S., Threlfall W.** Current Therapy in Large Animal Theriogenology (Second Edition). (2007). ISBN: 978-0-7216-9323-1.
25. **Barone R.**, Anatomie comparée des mammifères domestiques, tome 4. (2001), Paris : Vigot.

26. **Chavatte-Palmer P.**, Diagnostic de gestation et suivi du fœtus. Le Point Vétérinaire, numéro spécial reproduction des ruminants: gestation, néonatalogie et post-partum. (2006), pp. 12-17.
27. **Kirkbrides's.**, Diagnosis of abortion and neonatal loss in animals 4^{ème} edition, Edited by Bradley L. Njaa, Wiley-Blackwell (2012). Site consulté en ligne : http://www.die-fruchtbare_kuh.ch/fileadmin/traechtigkeit/fr/28.html.
28. **Aubadie-Ladrix M.**, Diagnostic des avortements infectieux non brucelliques chez les bovins. Bulletin des GTV – Hors Serie ; (2010).
29. **GDS France, SNGTV.**, Le protocole national de diagnostic différentiel des avortements chez les bovins., (2013) ; version 30/01/2013. [Citation : 21 septembre 2013.] http://idele.fr/fileadmin/medias/Documents/2013_01_0_PlanAvtsBVS0_Doc_de_synthese.pdf.
30. **Nicollet P.H.**, Les examens complémentaires lors d'avortements infectieux non brucelliques chez les ruminants. Bulletin des GTV- N° 48., (avril 2009).
31. **Joly A., Leperlier I.**, Prélèvements et interprétation des résultats lors d'avortements d'origine infectieuse chez les bovins. Bulletin des GTV - N° 48., (avril 2009).
32. **Cabell E.**, Bovine abortion: aetiology and investigations. In Practice, (2007); 29: 455 – 463.
33. **Le Drean E.**, Taux d'élucidation des avortements au laboratoire. Journées GTV, (2008) : 971 – 977.
34. **Khodaram-Tafti A., Ikede B.O.**, A retrospective study of sporadic bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada from 1990 to 2001. *Can. Vet. J.*, 46(7), (2005), 635-637.
35. **Givens M.D.**, A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. *Theriogenology* ;66., (2006) ; 648–654. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.021>.
36. **Kirkbride C.A.**, Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest.*, (1992); 4:175–80.
37. **Barr B.C., Anderson M.L.**, Infectious diseases causing bovine abortion and fetal loss. *Vet. Clinics North Amer. Food Anim. Pract.*, (1993), 9, 343-368.
38. **Xavier M.N., Paixao T.A., Poester F.P., Lage A.P., Santos R.L.**, Pathological, immunohistochemical and bacteriological study of tissues and milk

- of cows and fetuses experimentally infected with *Brucella abortus*. J.COMP. (2009) ; 140 : 149 – 157.
- 39. Veling J., van Zijderveld F.G., van Bommel A.M., Barkema H.W., Schukken Y.H.**, Evaluation of three newly developed enzymz- linked immunosorbent assays and two agglutination tests for detecting Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin infection in dairy cattle. J Clin Microbio ; 38 ; (2000) : 4402 – 4407.
- 40. Rodolakis A.**, Chlamydirose et fièvre Q : agents d'avortements et zoonoses ? *Point Vét.*, (1994), 26, 845-850.
- 41. Millemann Y., Remy D., Brugere-Picoux J.**, La listériose des ruminants 1- Etiologie, pathogénie et épidémiologie. *Point Vét.*, 2000, 31(208), 313-316.
- 42. Bolin C.A., Thiermann A.B., Handsaker A.L., Foley J.W.**, Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine on Leptospira interrogans serovar hardjo type hardjo-bovis infection of pregnant cattle. Am J Vet Res; (1989) ;50:161–5.
- 43. Campero C.M., Anderson M.L., Walker R.L., Blanchard P.C., Brabano L., Chiu P., Martinez A., Combessies G., Bardon J.C., Cordeviola J.**, Immunohistochemical identification of Campylobacter fetus in natural cases of bovine and ovine abortions. J Vet Med B ; 52.,(2005): 238 – 141.
- 44. Van Bergen M.A.P., Linnane S., van Putten J.P.M., Wagennar J.A.**, Global detection and identification of Campylobacter fetus subsp. venerealis. Rev Sci Tech off Int Epiz ; 24., (2005) : 1017 – 1026.
- 45. Peter D.**, Bovine venereal diseases. In: Youngquist RS, editor. Current therapy in large animal theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders Company; (1997) ; p. 355–63.
- 46. Bon Durant R.H.**, Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the role of vaccines in their control. Vet Clin N Am Food Anim Pract ; (2005) ;21:383–408.
- 47. Guatteo R., Beaudeau F., Rodolakis A.**, Infection des bovins par *Coxiella burnetii*. *Point Vét.*, (2005), 36(259), 24-28.
- 48. Barr B.C., BonDurant R.H.**, Viral diseases of the fetus. In: Youngquist RS, editor. Current therapy in large animal theriogenology. PA, Philadelphia: W.B. Saunders; (1997) ; p. 373–82.

- 49. Kirkbride. C.A.**, Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest.*, (1992) ;4:374–9.
- 50. Nandi S., Kumar M., Manohar M., Chauhan R.S.**, Bovine herpes virus infection in cattle. *Animal Health Res Rev* ; 10 ; (2009) : 85 – 98.
- 51. Galiero G., Giordanelli M.P., Fraulo P.**, Infectious bovine rhinotrachitis (IBR). Serum epidemiological survey in buffali herds of southern Italy. *Babalus-Bubalis* ; 7 ; (2001) : 69-74.
- 52. Johannes A.K., Malcolm B., Martin B., Pierre K., Myriam P., Gerard J.W., Van Oirschot J.T.**, Evaluation of tests for antibodies against bovine herpesvirus 1 performed in national reference laboratories in Europe: *Vet Microbiol* ; 102 ; (2004) : 169-181.
- 53. Kirkland P.D., McGowan M.R.**, The impact of bovine pestivirus infection in the periparturient period. In : *Le nouveau Peripartum, compte rendu du congrès de la société française de buiatrie*. Paris, France, 25-26 ; (Novembre 1998) ; Toulouse : Navetat H-Schelcher F-SFB, 41 49.
- 54. Kurogi H., Hwang I.J., Takahashi E., Sato K., Satoda K., Goto Y., Omari T., Matumata M.**, Congenital abnormalities in newborn calves after inoculation of pregnant cows with Akabane virus. *Infect Immun* ; 17 ; (1977) : 338 – 343.
- 55. Sugiyama I., Shimizu E., Nogami S., Suzuki K., Miura Y., Sentsui H.**, Serological survey of arthropod-borne viruses among wild boars on Japan. *J Vet Med Sci* ; (2009) ; 71 : 1059 – 1061.
- 56. Walker R.**, Mycotic bovine abortion. In *Current therapy in large animal theriogenology*. Youngquist R.S. WB Saunders Company, (1997), 389-391.
- 57. Anderson M.L., Barr B.C., Conrad P.A.**, Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Vet. Clin. North Amer.*, (1994) ,10,439-461.
- 58. Bourdoiseau G.**, Avortement d'étiologie parasitaire chez les bovins. *Point Vét.*, (1997), 28(183), 1245-1250.
- 59. Owen Rae D., Crews J.E.**, *Tritrichomonas foetus* : *Vet Clin Food anim* , 22 ; (2006) : 595-611.
- 60. Anderson M.L., BonDurant R.H., Corbeil R.R., Corbeil L.B.**, Immune and inflammatory responses to reproductive tract infection with *Tritrichomonas foetus* in immunized and control heifers. *J Parasitol.*, (1996) ;82:594–600.
- 61. Yildiz K., Kul O., Babur C., Kilic S., Gazyagci A.N., Celebi B., Guran S.**, Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion

- rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. *Veterinary Parasitology* 164 (2009) 306–310. <https://doi.org/10.1016/j.vet.par.2009.06.004>.
- 62. Dubey J.P., Schares G.**, Diagnosis of bovine neosporosis . *Vet Parasitol* ; 140 ; (2006) : 1 – 34.
- 63. Reichel M.P., Ellis J.T.**, Neospora caninum- how close are we to development of an efficacious vaccine that prevents abortion in cattle? *Int J Parasitol* ; 39 ; (2009) : 1173 – 1187.
- 64. Journel C., Tainturier D., Chatagnon G.**, Néosporose bovine : devenir de l'infection horizontale. *Point Vét.*, 36(261) ; (2005), 70-74.
- 65. Frohne D., Pfänder H.J.**, *Poisonous plants, 2nd edition*. Londres : Mansonpublishing., (2005).
- 66. Bunch T.D., Panter K.E., James L.F.**, Ultrasound studies of the effects of certain poisonous plants on uterine function and fetal development in livestock. *Journal of animal Science*. (mai 1992) , Vol. 70, 5, pp. 1639-1643.
- 67. Stegelmeier B.L., Gardner D.R., James L.F., Panter K.E., Molyneux, R.J.**, The toxic and abortifacient effects of ponderosa pine. *Veterinary Pathology*. 33 ; (1996) , Vol. 33, 1, pp. 22-28.
- 68. Norton J.H., Campbell R.S.F.**, Non infectious causes of bovine abortions. *Veterinary Bulletin*. n°12 vol 60 ; (1990) , pp. 1137-1141.
- 69. Constant F., Guillomot M.**, Formation et fonctionnement du placenta des bovidés. *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial reproduction des ruminants: gestation, néonatalogie et post-partum ; (2006) , pp. 6-11.
- 70. Burgat V., Guerre P., Bailly J.D., Benard, G.**, Excrétion lactée des mycotoxines: quels risques pour le consommateur? *Revue de Médecine vétérinaire* ; 151 ; (2000) , Vol. 151, 7, pp. 7-22.
- 71. Klooster.**, On the pathogenesis of abortion in acute nitrite toxicosis of pregnant dairy cows. *Theriogenology*; 30 ; (1990) : 1075-1090.
- 72. Yeruha., Sholsberg., Liberboim.**, Nitrate toxicosis in beef and dairy cattle herds due to contamination of drinking water and whey. *Vet Human Toxicol*; 39 ; (1997) : 296-297.
- 73. Lopez-Gatius, F.**, Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology* ;(Mars 2005) , pp. 1298-1307.

- 74. Bonnefoy J.M., Noordhuizen J.,** Maîtriser le stress thermique chez la vache laitière ; *Bulletin des GTV* ; n°60 ; (Juillet 2011), pp. 77-85.
- 75. Enriquez B., Beugnet P.,** Les intoxications des ruminants par les antiparasitaires externes et les anthelminthiques. *Le Point Vétérinaire*, 29, (1998) ; 113-120.
- 76. Maurin M., Raoult D.,** Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 12 ; (1999) : 518–553. PMID:10515901.
- 77. Musso D., Brout J., Parola P., Raoult D., Fournier P.E.,** Absence of antibodies to *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., *Ehrlichia* spp. and *Coxiella burnetii* in Tahiti, French Polynesia. *BMC Infect. Dis.* 14; (2014) : 255. doi:10.1186/1471-2334-14-255. PMID: 24885466.
- 78. Boarbi S., Fretin D., Mori M.,** *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, article de synthèse. *Can. J. Microbiol.* 62 ; (2016) : 102-122. dx.doi.org/10.1139/cjm-2015-0551.
- 79. Tan C.K., Owens L.,** Infectivity, transmission and 16S rRNA sequencing of a rickettsia, *Coxiella cheraxi* sp. nov., from the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* ; *Dis. Aquat. Organ.* 41; (2000): 115–122. doi:10.3354/dao041115. PMID:10918979.
- 80. Duron O., Noel V., McCoy K.D., Bonazzi M., Sidi-Boumedine K., Morel O.,** The recent evolution of a maternally inherited endosymbiont of ticks led to the emergence of the Q fever pathogen, *Coxiella burnetii*. *PLoS Pathog.* 11 ; (2015): e1004892. doi:10.1371/journal.ppat.1004892. PMID:25978383.
- 81. Grosjean J., Clavé D., Archambaud M., Pasquier C.,** Bactériologie et virologie pratique, 2ème édition révisée (2011). Bruxelles : De boeck.
- 82. Fournier P.E., Marrie T.J., Raoult, D.,** Diagnosis of Q fever. *J. Clin. Microbiol* ; 36., (1998) : 1823–1834. PMID:9650920.
- 83. Ben Amara A., Ghigo E., Le Priol Y., Lepolard C., Salcedo S.P., Lemichez E.,** *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, replicates within trophoblasts and induces a unique transcriptional response. *PLoS One*, 5 ; (2010): e15315. doi:10.1371/journal.pone.0015315. PMID:21179488.
- 84. La Scola B., Raoult D.,** Survival of *Coxiella burnetii* within free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Clin. Microbiol. Infect.* 7 ; (2001) : 75–79. doi:10.1046/j.1469-0691.2001.00193.x. PMID: 11298146.

- 85. Bechah Y., Verneau J., Ben Amara A., Barry A.O., Lepolard C., Achard V.,** Persistence of *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, in murine adipose tissue. PLoS One, 9 ; (2014) :e97503. doi:10.1371/journal.pone.0097503. PMID:24835240.
- 86. Zamboni D.S., Rabinovitch M.,** Phagocytosis of apoptotic cells increases the susceptibility of macrophages to infection with *Coxiella burnetii* phase II through down-modulation of nitric oxide production. Infect Immun. 72 ; (2004) : 2075-2080.
- 87. Gao L.Y., Kwaik Y.A.,** The modulation of host cell apoptosis by intracellular bacterial pathogens. Trends Microbiol. 8 ; (2000) : 306-313.
- 88. Mege J.L., Maurin M., Capo C., Raoult D.,** *Coxiella burnetii*: the query fever bacterium. A modèle of immune subversion by a strictly intracellular microorganism. FEMS Microbiol. Rev. 19 (4) ; (1997) : 209-217.
- 89. Guatteo R., Seegers H., Joly A., Remy D., Beaudeau F.,** Diagnostic et prévention de l'infection par *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q. *Bulletin des GTV.*, 48, (2009) : pp. 41-51.
- 90. Rousset E., Russo P., Pépin M., Aubert M.F.,** Q fever. fifth edition ; (2004) : 387-398.
- 91. Agerholm J.S.,** *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals ; a critical review. Acta Vet.Scand. 55 ; (2013): 13. doi:10.1186/1751-0147-55-13. PMID:23419216.
- 92. Saegerman C., Speybroeck N., Dal Pozzo F., Czaplicki G.,** Clinical indicators of exposure to *Coxiella burnetii* in dairy herds. Transbound. Emerg. Dis. 62(1) ; (2013) : 46–54. Doi: 10.1111/ tbed.12070. PMID:23480126.
- 93. Rousset E., Eon L., Russo P., Pepin M., Aubert M.,** La fièvre Q : épidémiologie d'une zoonose. Bull. GTV (17) ; (2002) : 81-87.
- 94. Tainturier D.,** Métrites en série chez la vache, provoquées par la fièvre Q. Recueil Med. Vet. 163 ; (1987) : 195-198.
- 95. Bildfell R. J., Thomson G. W., Haines D. M., Macewen B. J., Smart N.,** *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. J. Vet. Diagn. Invest. 12 ; (2000) : 419-425.
- 96. Rousset E., Duquesne V., Russo P., Thiery R.,** La fièvre Q : problématiques et risques sanitaires. Bull. Acad. Vet. France Tome 160, (2007);107. Disponible

auhttp://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/47874/AVF_2007_2_107.pdf?sequence=1.

97. **Arricau-Bouvery N., Rodolakis A.**, Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet. Res.* 36 ; (2005) : 327–349. doi:10. 1051/vetres:2005010. PMID:15845229.
98. **Guatteo R., Beaudou F., Berri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H.**, Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.* 37 ; (2006): 827–833. doi:10.1051/vetres:2006038. PMID:16973121.
99. **Kim S.G., Kim E.H., Lafferty C.J., Dubovi E.**, *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. *Emerg Infect Dis.* 11; (2005) : 619-621.
100. **Beaudou F., Guatteo R., Seegers H.**, Voies d'excrétion de *Coxiella burnetii* par la vache laitière : implication pour le dépistage et la maîtrise de l'infection en élevage. *Epidémiol et santé anim.* 49 ; (2006) : 1-4.
101. **Rousset E., Russo P., Pepin M., Raoult D.**, La fièvre Q : une zoonose encore mystérieuse. *Bull. GTV* (7) ; (2000) : 139-143.
102. **Lefèvre P. C., Blancou J., Chermette R., Uilenberg G.**, Infectious and parasitic diseases of livestock. Paris, Cachan : Tec & Doc Lavoisier ; (2010).
103. **Neïkov P.**, Pathomorphological studies of aborted fetuses from sheep infected with *R. burnetii*. *Veterinarnomeditsinska nauki.*, Vol. 24, 1, (1987), pp. 36-43.
104. **Stein A., Raoult D.**, Pigeon pneumonia in Provence: a bird-borne Q fever outbreak. *Clin. Infect. Dis.* 29 (3) ; (1999) : 617-620.
105. **Plommet M., Capponi M., Gestin J., Renoux, G.**, Fièvre Q expérimentale des bovins. *Annales de recherche vétérinaire*, (1973) ; pp. 325-346.
106. **Guatteo R., Seegers H., Taurel A.F., Joly A., Beaudou F.**, Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: A critical review. *Veterinary Microbiology.* vol 149, (2011) ; pp. 1-16.
107. **Muskens J., van Engelen E., van Maanen C., Bartels C., Lam T.J.**, Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Vet. Rec.* 168 ; (2011): 79. doi:10.1136/vr.c6106. PMID:21257587.
108. **Astobiza I., Ruiz-Fons F., Pinero A., Barandika J.F., Hurtado A., Garcia-Perez A.L.**, Estimation of *Coxiella burnetii* prevalence in dairy cattle in intensive

- systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. *J. Dairy Sci.* 95 ; (2012) : 1632–1638. doi:10.3168/jds.2011-4721. PMID: 22459811.
- 109. Gyuranecz M., Denes B., Hornok S., Kovacs P., Horvath G., Jurkovich V.,**Prevalence of *Coxiella burnetii* in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12 ; (2012) : 650–653. doi:10.1089/vbz.2011.0953. PMID:22651386.
- 110. Valergakis G.E., Russell C., Grogono-Thomas R., Bradley A.J., Eisler M.C.,** *Coxiella burnetii* in bulk tank milk of dairy cattle in south-west England. *Vet. Rec.* 171; (2012): 156, 151-152. doi: 10.1136/vr.100908. PMID:843608.
- 111. Vicari N., Faccini S., Ricchi M., Garbarino C., Decastelli L., Boldini M.,** Occurrence of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk from northwestern Italy. *Vet. Rec.* 172 ; (2013) : 687. Doi: 10. 1136/vr.101423. PMID: 23709093.
- 112. Paiba G. A., Green L. E., Lloyd G., Patel D., Morgan K. L.,**Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* (Q fever) in bulk tank milk in England and Wales. *Vet. Rec.* 144 ; (1999) : 519- 522
- 113. Vanderburg S., Rubach M.P., Halliday J.E., Cleaveland S., Reddy E.A., Crump, J.A.,** Epidemiology of *Coxiella burnetii* infection in Africa: a OneHealth systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8 ; (2014): e2787. doi:10.1371/journal.pntd.0002787. PMID:24722554.
- 114. Kelly P. J., Matthewman L. A., Mason P. R., Raoult D.,** Q fever in Zimbabwe. A review of the disease and the results of a serosurvey of humans, cattle, goats and dogs. *S. Afr. Med. J.* 83 (1) (1993) : 21-25.
- 115. Pearson T., Hornstra H.M., Hilsabeck R., Gates L.T., Olivas S.M., Birdsell D.M.,**High prevalence and two dominant host-specific genotypes of *Coxiella burnetii* in U.S. milk. *BMC Microbiol.* 14 ; (2014): 41. doi:10.1186/1471-2180-14-41. PMID:24533573.
- 116. McQuiston J.H., Childs J.E.,** Q fever in humans and animals in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2 ;(2002):179–191. doi:10.1089/15303660260613747. PMID:12737547.
- 117. Hatchette T., Campbell N., Whitney H., Hudson R., Thomas J.M.,**Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in selected populations of domestic ruminants in Newfoundland. *Can Vet J* Volume 43(5): 363-364., (May 2002).

118. **El-Mahallawy H., Kelly P., Zhang J., Yang Y., Zhang H., Wei L., Mao Y., Yang Z., Zhang Z., Fan W., Wang C.,** High seroprevalence of *Coxiella burnetii* in dairy cattle in China. *Trop Anim Health Prod* (2016) 48:423–426. DOI 10.1007/s11250-015-0968-3.
119. **Carbonero A., Guzmán L T., Montano K., Torralbo A., Arenas-Montes A., Luis R. S.,** *Coxiella burnetii* seroprevalence and associated risk factors in dairy and mixed cattle farms from Ecuador. *Preventive Veterinary Medicine* 118 (2015) 427–435.
120. **Chakrabarty A., Bhattacharjee P.K., Sarker R.R., Rahman A.K.M.A., Henning K., Neubauer H., Rahman M.S.,** Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in cattle, black bengal goats and ticks in bangladesh. *bangl. j. vet. med.* (2016). 14 (1): 65-68 issn: 1729-7893 (print), 2308-0922 (online).
121. **Cong W., Meng G.F., Shan X.F., Sun W.W., Kang Y.H., Chen L., Wang W.L., Qian A I.,** Vector-borne and zoonotic diseases. volume 15, number 8, (2015) ; maryannliebert, inc. doi: 10.1089/vbz.2015.1789.
122. **Gulmez Saglam A., Sahin M.,** *Coxiella burnetii* in samples from cattle herds and sheep flocks in the Kars region of Turkey. *Veterinari Medicina*, 61, (2016) (1): 17–22. doi: 10.17221/8678-vetmed.
123. **Wardrop N.A., Thomas L.F., Cook E.A.J., de Glanville W.A., Atkinson P.M., Wamae C.N.,** The Séro-epidemiology of *Coxiella burnetii* in Humans and Cattle, Western Kenya: Evidence from a Cross-Sectional Study. *PLoS Negl Trop Dis.*, 10(10) (2016) , e0005032. doi: 10.1371/journal.pntd.0005032.
124. **Edalati-Shokat H., Abbasi-Doulatshahi E., Hajian-Bidar H., Gharekhani J., Rezaei A.A.,** Q fever in domestic ruminants: A Seroepidemiological survey in Hamedan, Iran. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(1) (2015) , 589-596. ISSN: 2319-7706.
125. **Hussien M.O., Enan K.M., Alfaki S.H., Gafar R.A., Taha K.M., El Hussein A.R.M.,** Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in Dairy Cattle and Camel in Sudan. *Int J Infect. Inpress(Inpress)* (2016) :e42945. doi: 10.17795/iji.42945.
126. **Cardinale E., Esnault O., Beral M., Naze F., Michault A.,** Emergence of *Coxiella burnetii* in Ruminants on Reunion Island? Prevalence and Risk Factors. *PLoS Negl Trop Dis.*, 8(8) (2014), e3055. doi:10.1371/journal.pntd.0003055.

127. **Cabassi C.S., Taddei S., Donofrio G., Ghidini F., Piancastelli C., Cesidio F., Cavirani F.S.**, Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northern Italy. *New Microbiologica*, 29(3) (2006), 211-214. PMID: 17058789.
128. **Nakeel M.J., Arimi S.M., Kitala P.K., Nduhiu G., Njenga J.M., Wabacha J.K.**, A Sero-epidemiological Survey of Brucellosis, Q-Fever and Leptospirosis in Livestock and Humans and Associated Risk Factors in Kajiado County-Kenya. *Trop Dis* ; (2016) , 4:3.<http://dx.doi.org/10.4172/2329-891X.1000215>. *Trop Dis* Volume 4 • Issue 3 • 1000215. ISSN:2329-891X JTD, an open access journal.
129. **Nusinovici S., Frössling J., Widgren S., Beaudeau F., Lindberg A.**, Q fever infection in dairy cattle herds: increased risk with high wind speed and low precipitation. *Epidemiol. Infect.*, 143(15) (2015), 3316–3326. doi: 10.1017/S0950268814003926.
130. **Parin U., Kaya O.**, Detection of *Coxiella burnetii* prevalence in bovine, ovine and caprine herds. *Ankara Üniv Vet FakDerg*, 62,(2015); 177-181, 2015.
131. **Paul S., Jens F., Agger., Jørgen S., Agerholm B., Markussen.**, Prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* seropositivity in Danish beef and dairy cattle at slaughter adjusted for test uncertainty. *Preventive Veterinary Medicine*. Volume 113, Issue 4, (1 March 2014) , Pages 504–511.
132. **Akbarian Z., Ziay G., Schauwers W., Noormal B., Saeed I., Qanee A.H.**, Brucellosis and *Coxiella burnetii* Infection in Householders and Their Animals in Secure Villages in Herat Province, Afghanistan: A Cross-Sectional Study. *PLoS Negl Trop Dis* 9(10) (2015) : e0004112. doi:10.1371/journal.pntd.0004112.
133. **Mohammed O.B., Abdulrahman A., Riyadh J., Aljumaah S., Alshaikh MA., Sawsan A., Omer A., Mansour N A., Hussein F.**, *Coxiella burnetii*, the causative agent of Q fever in Saudi Arabia: molecular detection from camel and other domestic livestock. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. Volume 7, Issue 9, (September 2014) , Pages 715–719.
134. **Kanouté Y.B., Biégo G., Gragnon., Schindler CH., Bonfoh B., Esther Schelling E.**, Epidemiology of brucellosis, Q Fever and Rift Valley Fever at the human and livestock interface in northern Côte d'Ivoire. *Acta Tropica*. Volume 165, (January 2017) , Pages 66–75.

135. **Na H.M., Bae S.Y., Koh B., Park J.S., Seo Y.J., Jeong H.J., Park J.Y., Park S.D., Kim E.S., Kim Y.H.**, Prevalence of antibody titers for *Coxiella burnetii* in cattle in Gwangju area, Korea. *Korean J Vet Serv*, (2016) , 39(2), 125-129. ISSN 1225-6552, eISSN 2287-7630.
136. **Abiri Z., Khalili M., Rad M., Sharifi H.**, Detection of *Coxiella burnetii* in Aborted Fetuses of Cattle and Sheep Using Polymerase Chain Reaction Assay in Mashhad City, Iran. *Int J Enteric Pathog.*, 4(1) (2016), e33170. doi: 10.17795/ijep33170.
137. **Cumbassá A., Barahona M.J., Cunha M.V., Azórin B., Fonseca C., Rosalino L.M., Tilburg J., Hagen F., Santos A.S., Botelho A.**, *Coxiella burnetii* DNA detected in domestic ruminants and wildlife from Portugal. *Veterinary Microbiology* 180 (2015) 136–141.
138. **Günaydin E., Müştak H.K., Sareyyüpoğlu B., ATA Z.**, PCR Detection of *Coxiella burnetii* in Fetal Abomasal Contents of Ruminants. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, 21(1) (2015), 69-73. doi: 10.9775/kvfd.2014.11729.
139. **Ahmadizadeh C., Moosakhani F., Jamshidian M.**, Detection and Identification of *Coxiella burnetii* in Milk Cattles of Tehran Province. *Advances in BioResearch. Adv. Biores.*, Vol 6 (4) (July 2015) : 48-52. ©2015 Society of Education, India. Print ISSN 0976-4585; Online ISSN 2277-1573. Journal's URL: <http://www.soeagra.com/abr.html>. CODEN: ABRDC3. ICV 7.20 [Poland].
140. **Cisak E., Zając V., Sroka J., Sawczyn A., Kloc A., Dutkiewicz J., Wójcik-Fatla A.**, Foodborne Pathogens and Disease. (January 2017), ahead of print. doi:10.1089/fpd.2016.2203.
141. **Kargar M., Rashidi A., Doosti A., Najafi A., Ghorbani-Dalini S.**, The Sensitivity of the PCR Method for Detection of *Coxiella burnetii* in the Milk Samples. *Zahedan J Res Med Sci.* (2015 June) ; 17(6):e988. DOI: <http://sx.doi.org/10.17795/zjrms988>.
142. **Nasehfar A., Bonyadian M., Boroujeni R.K., Esfahani M.M., Kazemeini H., Shahraki M.M.**, Prevalence of *Coxiella burnetii* by Nested PCR in Bovine Bulk Milk Samples in Central Zone of Iran. *American. Adv. J. Biol. Sci* :11 (2015):29-33.

143. **Lyyo K.S., Kim D., Jang H.G., Lee S.J., Park M.Y., Hahn T.W.**, Vector-Borne and Zoonotic Diseases. (January 2017) , ahead of print. doi:10.1089/vbz.2016.1977.
144. **Pimenta L., Alegria N., Anastácio S., Sidi-Boumedine K., da Silva G., Rabiço A., Simões J.**, Prevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in Portuguese dairy cattle herds. Trop Anim Health Prod (2015) 47:227–230. DOI 10.1007/s11250-014-0679-1.
145. **Anastacio S., Carolino N., Sidi-Boumedine K., da Silva G J.**, Q Fever Dairy Herd Status Determination Based on Serological and Molecular Analysis of Bulk Tank Milk. Transboundary and Emerging Diseases. 63 (2016) e293–e300.
146. **Agger J F., Paul S., Christoffersen A.B., Agerholm J.S.**, Risk factors for *Coxiella burnetii* antibodies in bulk tank milk from Danish dairy herds. Acta Vet Scand., (2013) ; 55, 80. doi: 10.1186/1751-0147-55-80.
147. **Van Engelen N., Schotten B., Schimmer J L A., Hautvast G., van Schaik Y.T.H.P. van Duijnhoven.**, Prevalence and risk factors for *Coxiella burnetii* (Q fever) in Dutch dairy cattle herds based on bulk tank milk testing. Preventive Veterinary Medicine. Volume 117, Issue 1, (1 November 2014) , Pages 103–109. doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.08.016.
148. **Borji S., Jamshidi A., Khanzadi S., Razmyar J.**, Detection of *Coxiella burnetii* and sequencing the IS1111 gene fragment in bulk tank milk of dairy herds. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology. Vol. 6, No. 2, (2014), 21-28.
149. **Bauer A., Olivas S., Cooper M., Hornstra H., Keim. P, Pearson T., April Johnson A J.**, Estimated herd prevalence and sequence types of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from commercial dairies in Indiana. BMC Veterinary Research (2015) 11:186. DOI 10.1186/s12917-015-0517-3.
150. **Valla G., Bizzarri D., Ferrari G., Bussacchini M.**, Prevalence of *Coxiella burnetii* in bulk milk in herds of dairy cows and possible correlation with Italian reproductive problems. Large Animal Review . (2014) ; Vol.20 No.2 pp.51-56 ref.15.
151. **Paul S., Agger J.F., Markussen B., Christoffersen A.B., Agerholm J.S.**, Factors associated with *Coxiella burnetii* antibody positivity in Danish dairy

- cows. *Preventive veterinary medicine*, 107(1) (2012), 57-64.
doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.05.015.
152. **Alvarez J., Pérez A., Mardones F.O., Perez-Sancho M., García-Seco T., Pages E., Mirat F., Diaz R., Carpintero J., Dominguez L.**, Epidemiological factors associated with the exposure of cattle to *Coxiella burnetii* in the Madrid region of Spain. *Veterinary journal* 194(1) (2012) : 102-107.
 153. **McCaughey C., Murray L.J., McKenna J.P., Menzies F.D., McCullough S J., O'Neill H.J., Wyatt D.E., Cardwell C.R., Coyle P.V.**, *Coxiella burnetii* (Q fever) seroprevalence in cattle. *Epidemiology and infection* 138(1): (2010) ; 21-27.
 154. **Böttcher J., Vossen A., Janowetz B., Alex M., Gangl A., Randt A., Meier N.**, Insights into the dynamics of endemic *Coxiella burnetii* infection in cattle by application of phase-specific ELISAs in an infected dairy herd. *Veterinary microbiology* 151(3) (2011) : 291-300.
 155. **Ryan E.D., Kirby M., Collins D.M., Sayers R., Mee J.F., Clegg T.**, Prevalence of *Coxiella burnetii* (Q fever) antibodies in bovine serum and bulk-milk samples. *Epidemiology and infection* 139(9) (2011) : 1413-1417.
 156. **García-Ispuerto I., Almeria S., López-Gatius F.**, *Coxiella burnetii* seropositivity is highly stable throughout gestation in lactating high-producing dairy cows. *Reproduction in domestic animals* 46(6) (2011) : 1067-1072.
 157. **Cantas H., Muwonge A., Sareyyupoglu B., Yardimci H., Skjerve E.**, Q fever abortions in ruminants and associated on-farm risk factors in northern Cyprus. *BMC veterinary research* 7 (2011) : 13.
 158. **Taurel A.F., Guatteo R., Joly A., Seegers H., Beaudou F.**, Seroprevalence of Q fever in naturally infected dairy cattle herds. *Preventive veterinary medicine* 101(1-2) (2011) : 51-57.
 159. **Capuano F., Landolfi M.C., Monetti D.M.**, Influence of three types of farm management on the seroprevalence of Q fever as assessed by an indirect immunofluorescence assay. *The veterinary record* 149(22) (2001) : 669-671.
 160. **Guatteo R., Beaudou F., Joly A., Seegers H.**, *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Veterinary research.*, Vol. 38, (2007) ; pp. 849-860.
 161. **Saegerman C., Czaplicki G., Porter S.R.**, La fièvre Q : actualités épidémiologiques. *Le Point Vétérinaire*. n°304 ; (2010) . pp. 23-29.

- 162. Arricau-bouvery N., Souriau A., Lechopier P., Rodolakis A.,** Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats : excretion routes. Vet. Res. 34 (2003) : 423-433.
- 163. Durand M P.,** L'excrétion lactée et placentaire de *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q chez la vache, importance et prévention. Bull. Acad. Nat. Med. 177 (1993) : 935-946.
- 164. Rodolakis A.,** Agents abortifs des ruminants et santé publique. Un vaccin en phase I protégerait mieux contre la fièvre Q. Point Vet. (2004), Vol. 35 (244) : 12-13.
- 165. Kruszezwska D., Tylewska-Wierzbanowska S.,** Isolation of *Coxiella burnetii*. Bull. Semen. Res. Vet. Sci. 62 (3) (1997) : 299-300.
- 166. Guatteo R., Beaudéau F., Rodolakis A.,** Fièvre Q chez les bovins. Infection des bovins par *Coxiella burnetii*. Point Vet Vol 36 (259) (2005) : 24-28.
- 167. Behymer D.E., Ruppanner R., Riemann H.P., Biberstein E.L., Franti C. E.,** Observation on chemotherapy in cows chronically infected with *Coxiella burnetii* (Q fever). Folia Vet. Lat. 7 (1977) : 64-70.
- 168. Woernle H., Limouzin C., Muller K., Durand M.P.,** Fièvre Q bovine. Effets de la vaccination et de l'antibiothérapie sur l'évolution clinique et l'excrétion de *Coxiella* dans le lait et les sécrétions utérines. Bull. Acad. Vet. de France 58 (1985) : 91-100.
- 169. Saegerman C., Speybroeck N., Dal Pozzo F., Czaplicki G.,** Clinical indicators of exposure to *Coxiella burnetii* in dairy herds. Transbound Emerg Dis. (2015), 62(1), 46-54.
- 170. Anonyme.,** Fièvre Q : Rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) sur l'évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants. (2004) ; 88p.
- 171. Sanchis R.,** Diagnostic direct des avortements infectieux des petits ruminants. Rev. Med. Vet. 133 (1982) : 351-356.
- 172. Anonyme.,** Q fever. Organisation Mondiale de la santé animale (OIE). Manual of diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. (2004) Part II, Section II, Chap. II, 2.10 1178p.

- 173. Baumgartner W., Dettinger H., Schmeer N.,** Spread and distribution of *Coxiella burnetii* in C57BL/6J (H-2b) and Balb/cJ (H-2d) mice after intraperitoneal infection. *J. Comp. Pathol.* 108 (1993) : 165-184.
- 174. Van moll P., Baumgartner W.,** Immunocytochemical demonstration of *Coxiella burnetii* antigen in the fetal placenta of naturally infected sheep and cattle. *J. Comp. Pathol.* 109 (1993) : 295-301.
- 175. Willems H., Thiele D., Frölich-ritter M., Krauss H.,** Detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk using the PCR. *J. Vet. Med. B.* 41 (1995) : 580-587
- 176. Brennan R E., Samuel JE.,** Evaluation of *Coxiella burnetii* antibiotic susceptibilities by Real-Time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 41 (2003) : 1869-1874.
- 177. Raoult D., Brouqui P.,** Les rickettsioses. Monographie de l'encyclopédie médicochirurgicale. Elsevier ed. Paris (1998) : 23-55.
- 178. Davoust B., Raoult D., Toulze M., Louboutin-croc JP.,** Fièvre Q ovine : sondage sérologique. *Revue Med. Vet.* 7 (1986) : 521-524.
- 179. Field P., Mitchell J., Santiago A., Dickeson D., Chan S.W., Murphy A., Cuzzubbo A., Devine P.,** Comparison of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay with immunofluorescence and complement fixation tests for detection of *Coxiella burnetii* (Q fever) Immunoglobulin M. *J. Clin. Microbiol.* 38 (4) (2000) : 1645-1647.
- 180. ACERSA.,** Association pour la certification de la santé animale en élevage. *Proposition de plan de maîtrise de la fièvre Q dans les élevages cliniquement atteints (2007).*
- 181. Guatteo R., Joly A., Beaudeau F.,** Fièvre Q: quels prélèvements, chez quelles vaches? *Le Point Vétérinaire.* n°260, (Novembre 2005), pp. 40-42.
- 182. Gueneau E., Pelletier C.,** *Du côté du laboratoire d'analyses: que pouvez-vous faire?* Autun 27ème journée technique des GTV Bourgogne (2012) . pp. 18-26.
- 183. Horigan M.W., Bell M M., Pollard T R., Sayers A R., Pritchard G C.,** Q fever diagnosis in domestic ruminants: comparison between complement fixation and commercial enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Vet. Diagn. Invest.* 23 (2011):924–931. doi:10.1177/1040638711416971. PMID:21908348.
- 184. Natale A., Bucci G., Capello K., Barberio A., Tavella A., Nardelli S.,** Old and new diagnostic approaches for Q fever diagnosis: correlation among

- serological(CFT,ELISA)andmolecularanalyses.Comp.Immunol.Microbiol.Infect. Dis.35(2012)(:375–379. doi:10.1016/j.cimid.2012.03.002.PMID:22463984.
- 185. Emery M.P., Ostlund E.N., Aitlchou M., BallinJ.D., McFarlingD., McGonigle L.** *Coxiella burneti* serology assays in goat abortion storm. J. Vet. Diagn. Invest. 26 (2014) : 141–145. Doi: 10.1177/1040638713517233. PMID: 24532695.
- 186. Sting R., Molz K., Philipp W., Bothe F., Runge M., GanterM.,**Quantitative real-time PCR and phase specific serology are mutually supportive in Q fever diagnostics in goats. Vet.Microbiol. 167 (2013) : 600–608. doi:10.1016/j.vetmic.2013.09.015. PMID:24095624.
- 187. Lucchese L., Capello K., Barberio A., Zuliani F., Stegeman A., Ceglie L.,** IFAT and ELISA phase I/phase II as tools for the identification of Q fever chronic milk shedders in cattle. Vet. Microbiol. 179(1–2) (2015) : 102–108. doi:10.1016/j.vetmic. 2015.02.010. PMID:25769644.
- 188. Rodolakis A.,** Q fever in dairy animals. Ann. N. Y. Acad. Sci. (2009) ;1166 : 90–93. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04511.x. PMID: 19538267.
- 189. Borel N., Thoma R., Spaeni P., Weilenmann R., Teankum K., Brugnera E., Zimmermann D.R., Vaughan L., Pospischil A.***Chlamydia*-related abortions in cattle from Graubunden, Switzerland. *Vet Pathol.*, 43(5) (2006), 702-708. doi: 10.1354/vp.43-5-702.
- 190. Twomey D.F., Griffiths P.C., Hignett B.C., Martin T.P.,** Suspected chlamydial polyarthritis in a calf in the UK. *Veterinary Record* 152, (2003), 340. *Veterinarian* 30, 437–448.
- 191. OtterA., Twomey D.F., Rowe N.S., Tipp J W., McElligott W.S., Griffiths P.C., O'Neill P.,** Suspected chlamydial keratoconjunctivitis in British cattle. *Veterinary Record* 152 (2003), 787–788.
- 192. Degraives F.J., Kim T.Y., Jee J.B., Schlapp T., Hehnen H.R., Kaltenboeck B.,** Reinfection with *Chlamydia abortus* by uterine and indirect cohort routes reduces fertility in cattle preexposed to *Chlamydia abortus*. *Infection and Immunity*. 2538-2545 (mai 2004) , Vol. 72, 5.
- 193. Wehrend A., Failing K., Hauser B., Jäger C., Bostedt H.,** Production, reproductive and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tracts antigens in dairy herds with fertility disorders.

Theriogenology,63(3)(2005),923-930.

doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.009.

194. **Biesenkamp-Uhe C., Li Y., Hehnen H.R., Sachse K., Kaltenboeck B.**, Therapeutic *Chlamydomydia abortus* and *C. pecorum* vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with *Chlamydomydia* infection. *Infection and Immunity* 75 (2007), 870–877.
195. **Reinhold P., Sachse K., Kaltenboeck B.**, Chlamydiaceae in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens? *The Veterinary Journal* 189 (2011) 257–267.
196. **Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Fitzpatrick E.S., Fanning S., Hartigan P.J.**, *Veterinary microbiology and microbial disease, second edition*. Ames : Wiley-Blackwell, (2011).
197. **Kemmerling K., Müller U., Mielenz M., Sauerwein H.**, *Chlamydomydia* species in dairy farms: Polymerase chain reaction prevalence, disease association, and risk factors identified in a cross-sectional study in western Germany. *J. Dairy Sci.*, 92(9) (2009), 4347-4354. doi: 10.3168/jds.2009-2051.
198. **Wheelhouse N., Longbottom D.**, Endemic and emerging chlamydial infections of animals and their zoonotic implications. *Transboundary and Emerging Diseases* 59 (2012), 283–291.
199. **Tainturier D., Fieni F., Bruyas JF., Battut I.**, Conduite à tenir devant un avortement dans un élevage bovin. *Le point V2T*.28. (1997) (183), 1239-1243.
200. **Ruhl S., Casson N., Kaiser C.**, Evidence for Parachlamydia in bovine abortion. *Vet Microbiol* (2009) ;135:169-174.
201. **Godin A C., Björkman C., Englund S., Johansson K E., Niskanen R., Alenius S.**, Investigation of *Chlamydomydia* spp. in dairy cows with reproductive disorders. *Acta Veterinaria Scandinavica*. (2008), Vol. 50, 39.
202. **Petit T., Spergser J., Aurich J.**, Prevalence of Chlamydiaceae and Mollicutes on the genital mucosa and serological findings in dairy cattle. *Vet Microbiol* (2008) ;127:325-333.
203. **Kaltenboeck B., Hehnen H R., Vlagenov A.**, Bovine *Chlamydomydia* spp. infection: do we underestimate the impact on fertility? *Veterinary Research Communication*. (2005), 29 (supplement 1), pp. 1-15.
204. **Kauffold J., Henning K., Bachmann R., Hotzel H., Melzer F.**, The prevalence of chlamydiae of bulls from six bull studs in Germany. *Anim.*

- Reprod. Sci.*, 102(1-2) (2007), 111-121. doi: <http://dx.DI.org/10.1016/j.anireprosci.2006.10.013>.
- 205. Kreizinger Z., Szeredi L., Bacsadi A., Nemes C., Sugár L., Varga T., Sulyok K.M, Szigeti A., Ács K., Tóbiás E., Borel N., Gyuranecz M.,** Occurrence of *Coxiella burnetii* and Chlamydiae species in abortions of domestic ruminants and in wild ruminants in Hungary, Central Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27(2) (2015), 206- 210. doi: 10.1177/1040638714563566 jvdi.sagepub.com.
- 206. Tavares Clemente M.L., Bragança Barahona M.J., Capela Andrade M.F., Botelho A.R., Vicari N.,** Diagnosis by PCR-REA of *Chlamydia* species infections in late-term abortions of domestic ruminants. *Vet Rec.*, 168(23), (2011) ; 619. doi: 10.1136/vr.d889.
- 207. Barkallah A, Gharbi Y., Ben Hassena A., Ben Slima A., Mallek Z., Gautier M., Greub G., Gdoura R., Fendri I.,** Survey of Infectious Etiologies of Bovine Abortion during Mid- to Late Gestation in Dairy Herds. *PLOS ONE* ; www.plosone.org. Volume 9 ; (2014) ; Issue 3 ; e91549.
- 208. Elandalousi R.B., Ghram A., Maaroufi A., Mnif W.,** Séroprévalence des maladies abortives zoonotiques chez les ruminants au nord de la Tunisie. *Research Fr.*, 2, (2015) ; 1419. doi.org/10.13070/rs.fr.2.1419.
- 209. Dechicha A.S., Gharbi I., Kebbal S., Chatagnon G., Tainturier D., Ouzrout R., Guetarni D.,** Serological survey of etiological agents associated with abortion in two Algerian dairy cattle breeding farms *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* Vol. 2 (1) (2010) ; pp. 001-005, January, 2010 Available online at <http://www.academicjournals.org/JVMAH> © 2010 Academic Journals.
- 210. Sun W.W., Meng Q.F., Cong W., Shan X.F., Wang C.F., Qian A.D.,** Herd-level prevalence and associated risk factors for *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Chlamydia abortus* and bovine viral diarrhoea virus in commercial dairy and beef cattle in eastern, northern and northeastern China. *Parasitol Res.*, 114(11) (2015), 4211-4218. doi: 10.1007/s00436-015-4655-0.
- 211. Jee J.B., Fred J., Degraes., Kim T.Y., Kaltenboeck B.,** High Prevalence of Natural *Chlamydia* Species Infection in Calves. *Journal of Clinical Microbiology*, (Dec, 2004), p. 5664–5672. 0095-1137/04/\$08.000 DOI:

10.1128/JCM.42.12.5664–5672.2004 Copyright © 2004, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

- 212. Praga-ayala A.R., Montes de oca-Jiménez R., Ortega-santana C., Salem A.Z.M., Cubillos-Godoy V., Fernández-rosas P., Humberto G., Salazar M.,** Low seroprevalence of *Chlamydia abortus* in dairy cows of hot environment in southern of Mexico. *Life Science Journal* (2014) ;11(11).
- 213. Salazar L.F., Herrera J.M., Zúñiga J.J.R., Dolz G.,** *Chlamydia abortus* in Dairy Farms in Costa Rica. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 5(4) (2015),179-185. ISSN: 2090-6277/2090-6269/ © 2015 JAVR. <http://advetresearch.com/index.php/avr/index>.
- 214. Yin L., Schautteet K., Kalmar I., Bertels G., Van Driessche E., Czaplicki G., Borel N., Longbottom D., Fretin D., Dispas M., Vanrompay D.,** Prevalence of *Chlamydia abortus* in Belgian ruminants. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 83, (2014), 164-170. <http://vdt.ugent.be/sites/default/files/artikel2.pdf>.
- 215. Wilson K., Sammin D., Harmeyer S., Nath M., Livingstone M., Longbottom D.,** Seroprevalence of chlamydial infection in cattle in Ireland. *The Veterinary Journal*, 193 (2) (2012), 583-585, doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.12.018.
- 216. Juma A., Cera L., Boci J., Haxha L., Kreizinger Z., Gyuranecz M., Koleci X.,** Serological investigation on *Chlamydia abortus* infection in cattle from Albania. *Albanian j. agric. sci.* (2013) ; 12 (1): 99-102.
- 217. Nicollet P.H., Maingourd C., Charollais P.,** Evaluation des méthodes diagnostiques utilisées lors d'avortements non brucelliques chez les Ruminants. Recherche de *Chlamydia spp*, *Coxiella burnetii* et *Toxoplasma gondii* en Deux Sèvres et en Vienne sur une série de 150 avortements bovins, ovins et caprins. (2004). *Renc. Rech. Ruminants*, 2004, 11.
- 218. Talafha A.Q., Ababneh M.M., Ababneh M.M., Al-Majali A.M.,** Prevalence and risk factors associated with *Chlamydia abortus* infection in dairy herds in Jordan. *Trop Anim Health Prod.*, 44(8),(2012) ; 1841-1846. doi 10.1007/s11250-012-0146-9.
- 219. Wang F., Shieh H., Liao Y K.,** Prevalence of *Chlamydia abortus* infection in domesticated ruminants in Taiwan. *J. Vet. Med. Sci.*, 63(11) (2001), 1215-1220. PMID: 11767056.

- 220. Ozturk D., Kale M., Pehlivanoglu F., Hasircioglu S., Turutoglu H.,** Evaluation for Some Bacterial and Viral Abortions of Dairy Cattle Farms in Burdur District of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 18 (2) (2012) : 255-258, 2012.
- 221. Niemczuk K.,** Prevalence of antibodies against *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* in cattle in Poland. a preliminary report. *Bull Vet Inst Pulawy* 49 (2005), 293-297.
- 222. Szymańska-Czerwińska M., Niemczuk K.,** Preliminary study in range of prevalence *Chlamydia* spp. in the Polish cattle population. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety* Volume 1, Issue 3, (2015). UDC 619:616.98:579.882.11:636.22/.28(438).
- 223. Zhou D.H., Zhao F.R., Xia H.Y., Xu M.J., Huang S.Y., Song H.Q., Zhu X Q.,** Seroprevalence of Chlamydial infection in dairy cattle in Guangzhou, southern China. *Irish Veterinary Journal* (2013), 66:2. <http://www.irishvetjournal.org/content/66/1/2>.
- 224. Liu Q.Y., Xu M.J., Fu J.H., He X.H., Shi D.S., Cui K.Q., Guan S., Wang Y.N.,** Séroprévalence of *Chlamydia* infection in dairy cattle in subtropical southern China. *African journal of microbiology research.*, 7(19) (2013) , 2010-2013. doi: 10.5897/AJMR 12.295. ISSN 1996-0808.
- 225. Chahota S., Gupta B., Bhardwaj P., Malik S., Verma., Sharma M.,** Seroprevalence studies on animal chlamydiosis amongst ruminants in five states of India. *Veterinary World*, (2015) ; EISSN: 2231-0916 Available at www.veterinaryworld.org/Vol.8/January-2015/15.pdf.
- 226. Longbottom D., Coulter L.J.,** Animal chlamydioses and zoonotic implications. *J Comp Pathol* (2003) ;128:217-244.
- 227. Reinhold P., Jaeger J., Liebler-Tenorio E.,** Impact of latent infections with *Chlamydia* species in young cattle. *Vet J* (2008) ;175:202-211.
- 228. Ward.,** Chlamydial infection in animals, *Chlamydia abortus* in ruminants: epidemiology. (2003). Available from internet: URL: http://www.chlamydiae.com/restricted/docs/infections/vet_cabortus_epidemiol. Asp.
- 229. Sykes J.E., Studdert V.P., Browning G.F.,** Comparison of the polymerase chain reaction and culture for the detection of feline *Chlamydia psittaci* in untreated and doxycycline-treated experimentally infected cats. *J Vet Intern Med.* 13 (1999), 146-52.

- 230. Everett K.D.E., Andersen A.A.**, Identification of nine species of the Chlamydiaceae using PCR-RFLP. *Int J Syst Bacteriol.* (1999) ;49: 803–13
- 231. Hartley J.C., Stevenson S., Robinson A.J., Littlewood J.D., Carder C., Cartledge J., Clark C., Ridgway G.L.**, Conjunctivitis due to *Chlamydomphila felis* (*Chlamydia psittaci* feline pneumonitis agent) acquired from a cat: case report with molecular characterization of isolates from the patient and cat. *J Infect.* 43 (2001), 7-11.
- 232. Sachse K., Vretou E., Livingstone M., Borel N., Pospischil A., Longbottom D.** Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Vet Microbiol* 135 (2009), 2–21.
- 233. Ehricht R., Slickers P., Goellner S., Hotzel H., Sachse K.**, Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies. *Molecular and Cellular Probes* 20 (2006), 60–63.
- 234. Geens T., Desplanques A., Van Loock M., Bonner B.M., Kaleta E.F., Magnino S., Andersen A.A., Everett K.D., Vanrompay D.**, Sequencing of the *Chlamydomphila psittaci* *ompA* gene reveals a new genotype, E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method. *J Clin Microbiol* 43 (2005), 2456–2461.
- 235. Pantchev A., Sting R., Bauerfeind R., Tyczka J., Sachse K.**, New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydomphila psittaci* and *Chlamydomphila abortus* from tissue samples. *Vet J* 181 (2009), 145–150.
- 236. Menard A., Clerc M., Subtil A., Megraud F., Bébéar C., de Barbeyrac B.**, Development of a real-time PCR for the detection of *Chlamydia psittaci*. *J Med Microbiol* 55 (2006), 471–473.
- 237. Sachse K., Hotzel H., Slickers P., Ellinger T., Ehricht R.**, DNA microarray based detection and identification of *Chlamydia* and *Chlamydomphila*. *Molecular and Cellular Probes* 19 (2005), 41–50.
- 238. O.I.E.**, Manual of standards for diagnostic tests and vaccines., World Organisation for Animal Health Éditeurs, OIE, (2000).
- 239. Magnino S., Haag-Wackernagel D., Geigenfeind I., Helmecke S., Dovc A., Prukner-Radovic´ E., Residbegovic´ E., Ilieski V., Laroucau K.**, Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: review of data and focus on public health implications. *Vet Microbiol* 135 (2009), 54–67.

- 240. Jones G.E., Low J C., Machell J., Armstrong K.,** Comparison of five tests for the detection of antibodies against chlamydial (enzootic) abortion of ewes. *Vet Rec.* 141 (1997), 164-8.
- 241. Griffiths P.C., Plater J.M., Horigan M.W., Rose M.P., Venables C., Dawson M.,** Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by comparative inclusion immunofluorescence assay, recombinant lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay, and complement fixation test. *Journal of Clinical Microbiology* 34 (1996), 1512–1518.
- 242. Kaltenboeck B., Heard D., Degraeves F.J., Schmeer N.,** Use of synthetic antigens improves detection by enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies against abortigenic *Chlamydia psittaci* in ruminants. *Journal of Clinical Microbiology* 35 (1997), 2293–2298.
- 243. Vretou E., Radouani F., Psarrou E., Kritikos I., Xylouri E., Mangana O.,** Evaluation of two commercial assays for the detection of *Chlamydia abortus* antibodies. *Vet Microbiol* (2007).
- 244. McCauley L.M., Lancaster M.J., Young P., Butler K.L., Ainsworth C.G.,** Comparison of ELISA and CFT assays for *Chlamydia abortus* antibodies in ovine sera. *Aust Vet J.* 85 (2007), 325-8.
- 245. Dubey J.P., Miller N.L., Frenkel J.K.,** *Characterization of the new fecal form of Toxoplasma gondii.* *Journal of Parasitology*, (1970). 56(3): p. 447-456.
- 246. Dubey J.P., Zarnke R., Thomas N.J., Wong S.K., Van Bonn W., Briggs M., Davis J.W., Ewing R., Mense M., Kwok O.C.H., Romand S., Thulliez P.,** *Toxoplasma gondii, Neospora canis, Sarcocystis neurona, and Sarcocystis canis-like infections in marine mammals.* *Vet Parasitol.* (2003) ;116:275-296.
- 247. Shin D.W., Cha D.Y., Hua Q.J., Cha G.H., Lee Y.H.,** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection and characteristics of seropositive patients in general hospitals in Daejeon, Korea. *Korean J Parasitol* 47 (2009) :125–130.
- 248. Dubey J.P.,** *Toxoplasmosis; a waterborne zoonosis.* *Veterinary Parasitology*, (2004).126: p. 57-72.
- 249. Dubey J.P., Lindsay D.S., Speer C.A.,** *Structures of Toxoplasma gondii tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts.* *Clinical Microbiology Reviews*, (1998). 11(2): p. 267-299.

250. **Tomavo S.**, The differential expression of multiple isoenzyme forms during stage conversion of *Toxoplasma gondii*: an adaptive developmental strategy. *Int J Parasitol.* (2001);31:1023-31.
251. **Dubey J.P.**, *Bradyzoite-induced murine toxoplasmosis : stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of Toxoplasma gondii.* *Journal of Eukaryotic Microbiology*, (1997). 44(6): p. 592-602.
252. **Speer C.A., Clark S., Dubey J.P.**, Ultrastructure of the oocysts, sporocysts, and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* (1998) ;84:505-12.
253. **Ajioka J.W, Soldati D.**, *Toxoplasma molecular and cellular biology.* Horizon Bioscience, (2007) ; Norfolk, pp xii–xviii.
254. **AFSSA.**, *Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation.* (2005), <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Ra-Toxoplasmose.pdf>.
255. **Canada N.**, *Isolation of viable Toxoplasma gondii from naturally infected aborted bovine fetuses.* *Journal of Parasitology*, (2002). 88(6): p. 1247-1248.
256. **Dubey J.P.**, *Toxoplasmosis of animals and humans*, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton. (2010) ; ISBN 978-1-4200-9236-3.
257. **Esteban-Redondo I., et al.**, *Detection of T. gondii in tissues of sheep and cattle following oral infection.* *Veterinary Parasitology*, (1999). 86: p. 155-171.
258. **Dubey J.P., Beattie C.P.**, *Toxoplasmosis of animals and man.* (1988), Boca Raton, Fla. (USA): CRC Press.
259. **Gottstein B., et al.**, *Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland.* *International Journal for Parasitology*, (1998). 28: p. 679-691.
260. **Holec-Gašior L., Drapała D., Dominiak-Górski B., Kur J.**, Epidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection among cattle in Northern Poland. *Ann Agric Environ Med.* (2013) ; 20(4): 653–656.
261. **Garcia-Bocanegra I., Cabezón O., Hernández E., Martínez-Cruz M.S., Martínez-Moreno A., Martínez-Moreno J.**, *Toxoplasma gondii* in Ruminant Species (Cattle, Sheep, and Goats) from Southern Spain. *Journal of Parasitology*, 99(3) (2013), 438-440. doi.org/10.1645/12-27.1.
262. **Bártová E., Sedlak K., Budíková M.**, A study of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibody seroprevalence in healthy cattle in the Czech

- Republic. *Ann Agric Environ Med.* (2015); 22(1): 32–34. doi: 10.5604/12321966.1141365.
- 263. Tajel M.,** *Toxoplasma gondii* seroprevalence in cattle in estonia. master thesis in veterinary medicine. (2015) ; estonian university of life sciences .Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences.
- 264. Roger F., Prunaux O., Guignard A.,** *La toxoplasmose bovine et caprine à l'île de Réunion: résultats d'une enquête sérologique.* *Revue de Médecine Vétérinaire*, (1991). 142: p. 143-146.
- 265. Cabannes A., Lucchese F., Hernandez J.C.,** *Enquête séro-épidémiologique sur Toxoplasma gondii chez les ovins, bovins et félins dans le département de la Gironde.* *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, (1997). 15: p. 11-22.
- 266. Rozette L., Dumètre A., Couque C.Y., Dardé M.L.,** Seroprevalence de la toxoplasmose chez des ovins et des bovins en haute-vienne. *Epidémiol. et santé anim.*, (2005), 48, 97-99.
- 267. Gilot-Fromont E., Aubert D., Belkilani S., Hermitte P., Gibout O., Geers R., I. Villena I.,** Landscape, herd management and within-herd seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in beef cattle herds from Champagne-Ardenne, France. *Veterinary Parasitology*. Volume 161, Issues 1–2, (6 April 2009), Pages 36–40.
- 268. Lopes A.P., Dubey J.P., Neto F., Rodrigues A., Martins T., Rodrigues M., Luís Cardoso L.,** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. *Veterinary Parasitology* 193 (2013) 266–269.
- 269. Klum I., Djurkovic´-Djakovic O., Katic´-Radivojevic S., Nikolic A.,** Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. *Veterinary Parasitology* 135 (2006), 121–131.
- 270. Dechicha A.S., Bachi F., Gharbi I., Gourbdji E., Baazize- Ammi D., Brahim-Errahmani M., Guetarni D.,** Sero-epidemiological survey on toxoplasmosis in cattle, sheep and goats in Algeria. *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 10(20), pp. 2113-2119, (14 May, 2015). DOI: 10.5897/AJAR2015.9575 . Article Number: 89329E552963. ISSN 1991-637X.

271. **Lahmar I., Lachkhem A., Slama D., Sakly W., Haouas N., Gorcii M., Pfaff A.W., Candolfiand E., Babba H.,** Prevalence of Toxoplasmosis in Sheep, Goats and Cattle in Southern Tunisia. *Journal of Bacteriol Parasitol*, (2015), 6:5. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9597.1000245>.
272. **Fereig R.M., Hassan Y.A.H., Mahmoud., Samy G.A., AbouLaila M.M.R., Abdel-Wahab A., Osman S.A., Zidan S.A., El-Khodary S.A., Mohamed AE.A., Nishikawa Y.,** Seroprevalence and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in farm animals in different regions of Egypt. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 3–4 (2016) 1–6.
273. **Davoust B., Mediannikov O., Roqueplo C., Perret C., Demoncheaux J.P., Sambou M., Guillot J., Blaga R.,** Enquête de séroprévalence de la toxoplasmose animale au Sénégal. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* (2014). DOI 10.1007/s13149-014-0403-4.
274. **Onyiche T.G., Oluwafemi Ademola E.I.,** Séroprévalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cattle and pigs in Ibadan, Nigeria. *J Parasit Dis*, 39(2) (2015), 309–314. doi 10.1007/s12639-013-0350-1.
275. **Elfahal A.M., Elhassan A.M., Hussein M.O., Enan K.A., Musa A.B., El Hussein A.M.,** Séroprévalence of *Toxoplasma gondii* in Dairy Cattle with Reproductive Problems in Sudan. *ISRN Vet Sci*, (2013), 895165. doi: 10.1155/2013/895165.
276. **Abdella M.I., Ali Ismail A., Angara T.E.E.,** Analysis of Risk Factors Associated with Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Dairy Animals from Khartoum State, Sudan. *Sudan Journal of Science and Technology* (2015) 16(1):19-28.
277. **Hashemi-Fesharki R.,** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. *Veterinary Parasitology* 61 ; (1996) ; 1-3.
278. **Huong L.T.T., Ljungström B.L., Uggla A., C Björkman C.,** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Veterinary Parasitology*. Volume 75, Issue 1, (15 February 1998), Pages 53–57.
279. **Sharif M., Gholami S.H., Ziaei H., Daryani A., Laktarashi B., Ziapour S.P., Rafiei A., M. Vahedi M.,** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. *The Veterinary Journal* 174 (2007) 422–424.

- 280. Dehkordi F.S., Borujeni M.R.H., Rahimi E., Abdizadeh R.,**Detection of *Toxoplasma gondii* in Raw Caprine, Ovine, Buffalo, Bovine, and Camel Milk Using Cell Cultivation, Cat Bioassay, Capture ELISA, and PCR Methods in Iran. *food borne pathogens and disease* Volume 10, Number 2, (2013) ^a Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/fpd.2012.1311.
- 281. Tasawar Z., Shafiq Z., HussainLashari M., Aziz F.,** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Cattle, Punjab, Pakistan. *Global Veterinaria* 11 (5): 681-684, 2013 ISSN 1992-6197 © IDOSI Publications, (2013) ;DOI: 10.5829/idosi.gv.2013.11.5.76214.
- 282. Ahmad N, QayyumM.,** Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis in large ruminants in northern Punjab, Pakistan. *J Infect DevCtries*(2014) ; 8(8):1022-1028. doi:10.3855/jidc.4405.
- 283. Ge W., Sun H., Wang Z., Xu P., Wang W., Mu G., Wei F., Liu Q.,** Prevalence and Genotype of *Toxoplasma gondii* Infection in Cattle from Jilin Province, Northeastern China. *VECTOR-BORNE AND ZOONOTIC DISEASES* Volume 14, Number 6, (2014) Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/vbz.2013.1516.
- 284. Gharekhani J.,**Séroprévalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in aborted cattle in Hamedan, Iran. *J. Adv. Vet. Anim. Res.*, 1(2) (2014), 32-35. doi: 10.5455/javar.v1i2p32-35.
- 285. Minakshi K., Prabhat C.S.,** Sero-prevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle from assam.*International Journal of Recent Scientific Research*. Vol. 6, Issue, 3, pp.3223-3225, (March, 2015).ISSN: 0976-3031.
- 286. Moore D.P., Regidor-Cerrillo J., Morrell E., Poso M.A., Cano D.B., Leunda M.R., Linschinky L., Odeon's A.C., Odriozola E., Ortega-Mora L.M & Campero C.M.,** The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 156(3-4) (2008), 163-167. doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.06.020.
- 287. MoréG., Basso W., Bacigalupe D., Venturini M.C., Venturini L.,**Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitol Res* (2008) 102:671–675 DOI 10.1007/s00436-007-0810-6.
- 288. Santos L., Damé M.C.F., Beatris G.,Cademartori., da Cunha Filho N.A, da R. Farias N.A., Ruas J.L.,** Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii*

- in water buffaloes and meat cattle in Rio Grande do Sul State, southern Brazil. *Acta Parasitologica*, (2013), 58(3), 334–336; ISSN 1230-2821.
- 289. Da Silva J.B., de Santana Castro G.N., dos Santos P.N., da Fonseca A.H., da Silva Lima D.H., dos Anjos Bom Jardim H., Ados Santos Belo Reis A., de Oliveira Soares S., Barbosa J.D.,** Detection of a high prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in cattle in Northern and Midwestern Brazil. *Rev. Salud Anim. Vol. 37 No. 1 (ene.-abr.) (2015) : 52-56 ISSN: 2224-4700.*
- 290. De Souza., Rocha J.B., Soares V.E., Oliveira M., Magalhães Pereira C., Ferraudo A.S., Cruz B.C., Pires Teixeira W.F., Felippelli G., Giquelin Maciel W., Goncalves Junior W.A., da Costa A.J., Zanetti Lopes W.D.,** Spatial distribution and risk factors for *Toxoplasma gondii* seropositivity in cattle slaughtered for human consumption in Rondônia, North region, Brazil. *Veterinary Parasitology* 226 (2016) 145–149.
- 291. Sharma R., Mcmillan M., Tiwari K., Chikweto A., Thomas D., Bhaiyat M.I.,** Seroprevalence of *Toxoplasma Gondii* and *Neospora Caninum* Infection in Cattle in Grenada, West Indies. *Global Journal of Medical Research: G Veterinary Science and Veterinary Medicine* Volume 14 Issue 2 Version 1.0 Year (2014) ; Type: Double Blind Peer Reviewed International Research Journal Publisher: Global Journals Inc. (USA) Online ISSN: 2249-4618 & Print ISSN: 0975-5888.
- 292. Berger-Schocha A.E., Herrmann D.C., Schares G., Müller N., Bernet D., Gottstein B., Freya C.F.,** Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. *Veterinary Parasitology* 177 (2011) 290–297.
- 293. Schoonman L.B., Wilsmore T., Swai E.S.,** Sero-epidemiological investigation of bovine toxoplasmosis in traditional and smallholder cattle production systems of Tanga Region, Tanzania. *Trop Anim Health Prod* (2010) 42: 579. doi:10.1007/s11250-009-9460-2.
- 294. Tizard R., Harmeson J., Lai C.H.,** The Prevalence of Serum Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Ontario Mammals. *Can. J. comp. Med.* Volume 42 (1984).

- 295. Lappin M.R., Cayatte S., Powell C.C., Gigliotti A., Cooper C., Roberts S.M.**, Detection of *Toxoplasma gondii* antigen-containing immune complexes in the serum of cats. *Am J Vet Res.* (1993) ;54:415-419.
- 296. Dubey J.P., Desmonts G., McDonald C., Walls K.W.**, Serologic evaluation of cattle inoculated with *Toxoplasma gondii*: comparison of Sabin-Feldman dye test and other agglutination tests. *Am J Vet Res.* (1985) ;46:1085-1088.
- 297. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M.**, *Toxoplasma gondii* : from animals to humans, *Int J Parasitol.* (2000) ;30:1217-1258.
- 298. Dubey J.P.**, Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. *Vet Parasitol.* (1996) ;64:65-70.
- 299. Miller M.A., Gardner I.A., Packham A., Mazet J.K., Hanni K.D., Jessup D., Estes J., Jameson R., Dodd E., Barr B.C., Lowenstine L.J., Gulland F.M., Conrad P.A.**, Evaluation of an indirect fluorescent antibody test (IFAT) for demonstration of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sea otter (*Enhydra lutris*). *J Parasitol.* (2002) ;88:594-599.
- 300. Wyss R., Sager H., Muller N., Inderbitzin F., Konig M., Audige L., Gottstein B.**, The occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* as regards meat hygiene. *Schweiz ArchTierheilkd.* (2000) ;142:95-108.
- 301. Sifi M.**– Décret exécutif n° 95-66 du 22 ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables. *JORA*, (1995), **012**, 8 pp. Disponible en ligne : www.qualilab.dz/documents/VIANDES/3-MALADIES_ANIMALES/3-MALADIES_ANIMALES.pdf (consulté le 5 avril 2019).
- 302. Djellata-Benabderrahmane, A. et Berezowska-Azzag, E.** Attraction des investissements et exigences de localisation des activités métropolitaines à Alger, *Géographie Économie et Société*, (2017) (19/4), 458-512.
- 303. MADR.**, Statistiques Agricoles (Série B) (2009), page 62. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- 304. @Risk 7.5.2** (© Palisade Corporation, Ithaca, NY)
- 305. Rogan W.J. & Gladen B.**, Estimating prevalence from the results of a screening test. *Am. J. Epidemiol.* (1978), **107** (1), 71–76. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a112510.

- 306. Hong-Bo N.I., Si-Guo L.I.U., JIANG H.F., WANG C.R., QIAN A.D.,** Séroprévalence of Q fever in dairy cows in northeastern China. *African Journal of Microbiology Research*, 5(23) (2011), 3964-3967. Available online: <http://www.academicjournals.org/ajmr> .
- 307. Boroduske A., Trofimova J., Kibilds J., Papule U.,** *Coxiella burnetii* (Fever Q) infection in dairy cattle and associated risk factors in Latvia. *Epidemiology & Infection*, 147(10) (2017), 2011-2019. doi.org/10.1017/S0950268817000838.
- 308. Arifur Rahman M.D., Mahbub A.M., Aminul Islam M.D., Fazlul Haque Bhuiyan A.K., Anisur Rahman A.K.M.,** Serological and Molecular Evidence of Q Fever in Domestic Ruminants in Bangladesh. *Vet Med Int.*, (2016), 9098416. doi: 10.1155/2016/9098416.
- 309. Blumer S., Greub G., Waldvogel A., Hassig M., Thoma R., Tschuor A., Pospischil A., Borel N.,** *Waddlia*, *Parachlamydia* and *Chlamydiaceae* in bovine abortion. *Vet Microbiol.*, 152(3-4) (2011), 385-393. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.05.024.
- 310. Stata Corp.,** Collège Station, Texas, États-Unis.
- 311.** site internet: <http://www.infoclimat.fr>.
- 312. Reusken C., van der Plaats R., Opsteegh M., de Bruin A. & Swart A.–** *Coxiella burnetii* (Q fever) in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* at livestock farms and urban locations in the Netherlands; could *Rattus* spp. Represent reservoirs for (re)introduction? *Prev. Vet. Med.*, (2011). **101** (1-2), 124–130. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.05.003. 311
- 313. Schimmer B., Lutikholt S., Hautvast J.L., Graat E. A., Vellema P. & van Duynhoven Y. T.,** Séroprévalence and risk factors of Q fever in goats on commercial dairy goat farms in the Netherlands, 2009-2010. *BMC Veterinary Research*, 7(1) (2011), 81. doi.org/10.1186/1746-6148-7-81.
- 314. Segura-Correa J.C., Segura-Correa V.M.,** Prevalence of abortion and stillbirth in a beef cattle system in Southeastern Mexico. *Trop Anim Health Prod.*, 41(8) (2009), 1773-1778. doi: 10.1007/s11250-009-9376-x.
- 315. Mee J.F., Berry D.P., Cromie A.R.,** Prevalence of, and risk factors associated with, perinatal calf mortality in pasture-based Holstein-Frisian cows. *Animal*, 2(4) (2008), 613–620. Doi: 10.1017/S1751731108001699.
- 316. Storz J., Carrol E.J., Ball L. & Faulkner L.C.–** Isolation of a psittacosis agent (*Chlamydia*) from semen and epididymis of bulls with seminal vesiculitis

- syndrome. *Am.J. Vet. Res.*, (1968). **29** (3), 549–555. Disponible en ligne : [www.semanticscholar.org/paper/Isolation-of-a-psittacosis-agent-\(Chlamydia\)-from-Storz-Carroll/b4d02ca8d89ec4884f303307e87048acc710c3fd](http://www.semanticscholar.org/paper/Isolation-of-a-psittacosis-agent-(Chlamydia)-from-Storz-Carroll/b4d02ca8d89ec4884f303307e87048acc710c3fd) (consulté le 6 juillet 2018).
- 317. Fajardo H.V., D'ávila S., Bastos R.R., Cyrino C.D., Detoni M., Garcia J.L., das Neves L.B., Nicolau J.L., Reis Amendoeira M.R.**, Séroprévalence and risk factors of toxoplasmosis in cattle from extensive and semi-intensive rearing systems at Zona da Mata, Minas Gerais state, Southern Brazil. *Parasites & Vectors*, 6, (2013), 191. doi: 10.1186/1756-3305-6-191.316
- 318. Albuquerque G.R., Munhoz A.D., Teixeira M., Flausino W., Medeiros S.M. & Lopes C.W.G.**, Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in dairy cattle, State of Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(4) (2011), 287-290. doi.org/10.1590/S0100-736X2011000400003.
- 319. Magalhaes F.J.R., Ribeiro-Andrade M., Mota de Alcantara A., Pinheiro Júnior J.W., José de Sena M., Porto W.J.N., da Costa Vieira R.F., Mota R.A.**, Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol. Jaboticabalv.*, 25(4) (2016), 511-515. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612016051>.
- 320. Derdour S.Y., Hafsi F., Azzag N., Tennah S., Laamari A., China B., Ghalmi F.**, Prevalence of the main infectious causes of abortion in dairy cattle in Algeria. *J Vet Res* 61,(2017) ; 337-343, 2017. DOI:10.1515/jvetres-2017-0044.
- 321. Coche B.**, La fièvre Q bovine en France. Aspects pratiques et importance de la sérologie. *Point Vet.*, (1981), **12** (56), 95-100.
- 322. Guatteo R., Beaudeau F., Joly A., Seegers H.**, Performances of an ELISA applied to serum and Milk for the detection of antibodies to *Coxiella burnetii* in dairy cattle. *Revue de médecine vétérinaire* 158(5) (2007) : 250-252.
- 323. Klee S. R., Tyczka J., Ellerbrok H., Franz T., Linke S., Baljer G., Appel B.**, Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. *BMC microbiology* 6(1) (2006) : 2.