HAL open science

Démarche d'appréciation du risque d'excrétion de Coxiella burnetii dans les troupeaux caprins laitiers dans le sud-est de la France

Carole Forfait-Dubuc, Elodie Rousset, Maxime Marois, Jean-Luc Champion, Philippe Dufour, Enric Zerhaoui, Richard Thiéry, Philippe Sabatier

To cite this version:

Carole Forfait-Dubuc, Elodie Rousset, Maxime Marois, Jean-Luc Champion, Philippe Dufour, et al.. Démarche d'appréciation du risque d'excrétion de Coxiella burnetii dans les troupeaux caprins laitiers dans le sud-est de la France. Epidémiologie et Santé Animale, 2009, 55, pp.117-136. hal-03508588

HAL Id: hal-03508588

https://hal.inrae.fr/hal-03508588

Submitted on 3 Jan 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/350327582

DEMARCHE D'APPRECIATION DU RISQUE D'EXCRETION DE COXIELLA BURNETII DANS LES TROUPEAUX CAPRINS LAITIERS DANS LE SUD-EST DE LA FRANCE

Article · December 2009

CITATIONS
6

READS
44

8 authors, including:

Carole Forfait
French National Institute for Agriculture, Food, and Environment (INRAE)
24 PUBLICATIONS **191** CITATIONS

SEE PROFILE

Jean-Luc Champion
French National Institute for Agriculture, Food, and Environment (INRAE)
11 PUBLICATIONS **343** CITATIONS

SEE PROFILE

Richard Thiéry
Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et d…
220 PUBLICATIONS **3,344** CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Project Q fever: diagnosis epidemiology and control View project

Project Centre Hospitalier Territorial de Nouvelle Calédonie View project

All content following this page was uploaded by Carole Forfait on 23 March 2021.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

DEMARCHE D'APPRECIATION DU RISQUE D'EXCRETION DE *COXIELLA BURNETII* DANS LES TROUPEAUX CAPRINS LAITIERS DANS LE SUD-EST DE LA FRANCE *

Carole Dubuc-Forfait [1], **Elodie Rousset** [2], **Jean Luc Champion** [3], **Maxime Marois** [3], **Philippe Dufour** [2], **Enric Zerhaoui** [2], **Richard Thiéry** [2] et **Philippe Sabatier** [1]

RESUME

La fièvre Q est une zoonose due à *Coxiella burnetii*. Le risque de transmission de cette bactérie est plus important par voie aérienne ou par contact étroit avec des ruminants infectés. Une enquête en élevages caprins laitiers a montré la fréquence élevée du portage asymptomatique de la fièvre Q dans le Sud-Est de la France. En 2006 et 2008 respectivement, 13/14 et 24/28 troupeaux étaient séropositifs. De plus, l'excrétion de la bactérie par voie vaginale a été détectée dans 7/9 de ces troupeaux : 5% à 100% des chèvres étaient excrétrices. En combinant les données d'âge et de sérologie des chèvres, une analyse en composantes principales a permis de réaliser une typologie sur les niveaux de circulation de l'infection intra-élevage. Cette typologie a présenté une bonne corrélation avec le niveau d'excrétion à l'échelle du troupeau (prenant en compte fréquence et quantité). Ces résultats sont encourageants en vue d'utiliser cette typologie pour repérer les troupeaux excréteurs, et ainsi évaluer un risque d'exposition à *C. burnetii* pour d'autres élevages mais aussi pour la population humaine.

Mots-clés : *Coxiella burnetii*, caprin, humain, risque, analyse en composantes principales (ACP), typologie.

SUMMARY

Q fever is a zoonosis due to *Coxiella burnetii*. Transmission of this bacterium takes place mostly by air or by close contact with infected ruminants. An investigation in dairy goat herds in the South East of France showed a high frequency of Q fever asymptomatic carriage. Seropositivity was found in 13/14 and 24/28 herds in 2006 and 2008, respectively. Moreover, bacterial shedding by the vaginal route was detected in 7/9 of these herds : 5% to 100% of the goats were found to be shedders. By combining data on age and serology of the goats, a PCA made it possible to develop a typology of intra-herd infection circulation intensity. A good correlation was found between this typology and the intensity of shedding within a herd (taking into account frequency and quantity). These encouraging results suggest that this typology may be used to identify shedding herds, and thus to evaluate the risk of *C. burnetii* contamination other herds and the human population, may be exposed to.

Keywords : *Coxiella burnetii*, Goats, Human, Hazard, Principal Component Analysis (PCA), Typology.

---

* Texte de la communication orale présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA-AESA, 4-5 juin 2009

[1] Equipe EPSP, TIMC-IMAG, UMR 5525, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile. France

[2] LERPRA,Unité pathologie des ruminants, AFSSA, 105, Route des Chappes, BP 111, 06902 Sophia-Antipolis, France

[3] Groupement de défense sanitaire 04, 66 boulevard Gassendi BP 117. 04004 Digne les Bains cedex, France

I - INTRODUCTION

La fièvre Q (« Query fever ») est une zoonose, causée par la bactérie *Coxiella burnetii*, présente dans tous les pays du globe où elle a été recherchée, excepté la Nouvelle Zélande [Maurin et Raoult, 1999]. La plupart des mammifères, les oiseaux et certains arthropodes (tiques) peuvent être infectés. La fièvre Q est d'ailleurs classée par l'OIE (Office international des épizooties) parmi les maladies communes à plusieurs espèces [Rousset *et al*., 2008]. Les réservoirs majeurs sont les ruminants d'élevage, ils représentent la source la plus souvent identifiée d'infection humaine et à l'origine des épidémies incluant le plus grand nombre de patients. *C. burnetii* est capable de coloniser divers organes des ruminants mais a un tropisme préférentiel pour l'utérus et les glandes mammaires. Les femelles infectées excrètent des bactéries dans les produits de mises bas, le lait et les fèces. De plus, *C. burnetii* a la capacité de passer à un stade de survie (ou dormance), présentant des caractéristiques de spores bactériennes. La résistance de *C. burnetii* dans le milieu extérieur, en particulier à la dessiccation, concourt à contaminer l'environnement pendant des périodes prolongées [Maurin et Raoult, 1999 ; Babudieri, 1959]. Les bactéries résistantes peuvent alors être à l'origine de la contamination de l'homme, la voie respiratoire étant le mode d'infection le plus habituel [Tissot-Dupont, 2007 ; Rodolakis *et al*., 2004].

L'infection humaine est asymptomatique dans plus de la moitié des cas, mais induit une séroconversion. Sinon, elle peut provoquer des symptômes très divers et non spécifiques, ce qui rend difficile le diagnostic clinique [Million *et al*., 2009]. Les manifestations cliniques peuvent apparaître en tant que fièvre Q aiguë, faisant suite la primo-infection, ou bien chronique, correspondant à une recrudescence de symptômes des mois ou des années après l'infection [Tissot-Dupont, 2007]. Le diagnostic fait appel à la sérologie [Tissot-Dupont *et al*., 1994] et de plus en plus à la PCR sur sérum lors de la phase précoce [Ughetto *et al*., 2009].

Le temps d'incubation est généralement de 10 à 17 jours [Million *et al*., 2009]. Lors de la phase aiguë, un syndrome pseudo-grippal touche de l'ordre de 40% des individus infectés. Seuls 5% des cas connaissent des complications telles que des hépatites, des pneumopathies ou encore des méningo-encéphalites et nécessitent une hospitalisation [Million *et al*., 2009]. Les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées ou ayant une pathologie cardiaque présentent des facteurs de risque aggravants [Tissot-Dupont *et al*., 2007 ; Rodolakis *et al*., 2004 ; Maurin et Raoult, 1999]. Chez ces sujets, *C. burnetii* est capable de se multiplier malgré la réponse déclenchée par la primo-infection, que celle-ci soit symptomatique ou non. Lorsque le système immunitaire est incapable de contrôler l'infection, une forme chronique se développe. Entre 1 et 5% des infections évoluent vers une forme chronique quelques mois ou bien plusieurs années après la primo-infection [Million, 2009]. Les formes chroniques les plus sévères sont représentées par les endocardites car elles peuvent être mortelles. Chez la femme enceinte, la fièvre Q peut entraîner des anomalies diverses de la grossesse (fausses couches spontanées, morts fœtales *in utero*, malformations, accouchements prématurés). De plus, les grossesses suivantes peuvent aussi être affectées. Un syndrome de fatigue anormale est également associé à la fièvre Q chronique. Le traitement à l'aide d'antibiotiques est efficace mais peut durer plusieurs années.

En Europe, on assiste à une augmentation de l'incidence de la maladie et du nombre d'épidémies. Par exemple en Allemagne, l'incidence moyenne annuelle de la fièvre Q est passée de 0,8 par million d'habitants entre 1979 et 1989 à 1,4 par million d'habitants entre 1990 et 1999 [Hellenbrand *et al.*, 2001]. Aux Pays-Bas, les épidémies qui se succèdent dans la Province Noord Brabant suscitent de fortes inquiétudes [Schimmer *et al.,* 2009 ; Schimmer *et al.,* 2008]. Le secteur a compté 168 cas en 2007, plus de 1000 cas en 2008 et déjà près de 1500 cas en 2009 alors que 93 cas avaient été rapportés sur la période 1997-2006. La zone à risque comprend une forte densité d'élevages caprins laitiers, et, certaines fermes ayant connu, en 2007, des vagues d'avortements dus à la fièvre Q ont été incriminées dans l'émergence de l'épidémie.

En France, la fréquence de la maladie n'est pas connue avec précision car la fièvre Q n'est pas une maladie à déclaration obligatoire. Elle est en revanche une maladie professionnelle à la fois du régime général (tableau N° 53B) et du régime agricole (tableau N° 49B) pour les métiers reliés à l'élevage de ruminants. Le taux d'attaque a été estimé, à partir des études

séroépidémiologiques hors épidémie, à un cas pour 1 000 habitants par an [Tissot-Dupont, 2007 ; Raoult *et al.,* 2000]. Autour de l'étang de Berre (Bouches-du-Rhône), l'incidence cumulée de 1990-1995 a été estimée à 35,4 pour 100 000 habitants, à proximité d'une région où l'élevage ovin est particulièrement développé [Tissot-Dupont *et al.*, 1999]. Dans la région Centre, la séroprévalence de la fièvre Q s'est élevée à plus de 70% au sein de populations impliquées dans l'élevage caprin [Thibon *et al.,* 1996]. Dans l'Indre-et-Loire, département rural à tradition d'élevage caprin, une étude descriptive rétrospective des cas humains entre 2003 et 2005 accompagnée d'un sondage volontaire de 156 élevages caprins en 2005 a montré une répartition géographique très proche des cas humains et des élevages caprins infectés [Chaillon *et al.*, 2008]. Ces dernières années, plusieurs épisodes humains ont touché le quart Sud-Est : Briançon (Hautes-Alpes) en 1996 [Carrieri *et al.*, 2002 ; Armengaud *et al.,* 1997], Montoison (Drôme) en 2000 [Rey *et al.,* 2003], la vallée de Chamonix en 2002 [Tissot-Dupont *et al.*, 2007 ; Rey *et al.*, 2005] et Florac (Lozère) en 2007 [Goirand *et al.*, 2009]. Lors des ces épidémies, les sources d'infection humaine restent souvent non identifiées, bien que les moutons et les chèvres soient plus fréquemment impliqués que les autres espèces. Les sources de contamination sont surtout représentées par les placentas et liquides fœtaux lors des mises bas, celles-ci étant généralement saisonnées chez les petits ruminants [Raoult *et al.,* 2000 ; Caron *et al.*, 1998]. Des avortements de fièvre Q ne sont pas forcément repérés dans les élevages suspectés [Goirand *et al.*, 2009 ; Rey *et al.*, 2005]. Mais la transmission peut être liée à divers contacts directs ou indirects avec des produits contaminés, par exemple dans les abattoirs ou lors de manipulations de fumier [Tissot-Dupont, 2007 ; Berri *et al.*, 2003 ; Rey *et al.*, 2003]. De plus, le vent et le temps sec peuvent jouer un rôle majeur dans la dissémination d'aérosols contaminés sur de longues distances [Tissot-Dupont, 2007 ; Tissot-Dupont *et al.*, 2004].

Les animaux infectés ne manifestent généralement aucun symptôme [Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005 ; Rodolakis *et al.*, 2004 ; Rousset *et al.*, 2001 ; Maurin et Raoult, 1999 ; Lang, 1990]. Néanmoins, des épisodes d'avortements, incluant des morts néonatales, des mises bas prématurées ou la naissance d'animaux chétifs, peuvent survenir et être massifs chez les brebis et les chèvres [Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005 ; Rodolakis *et al.*, 2004 ; Rousset *et al.,* 2001]. Globalement chez les petits ruminants, la fièvre Q est considérée comme une des causes principales des avortements de nature infectieuse. En France, elle est souvent recherchée parallèlement à la surveillance des avortements d'origine brucellique [Nicollet *et al.*, 2007]. Mais, l'incidence clinique au niveau régional ou national n'est pas connue précisément. Généralement, les femelles se remettent rapidement et les mises bas suivantes sont normales. Par contre, l'excrétion de *C. burnetii* peut continuer lors des saisons de mises bas ultérieures à un épisode abortif [Rousset *et al.*, 2007 ; Berri *et al.,* 2007 ; Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005]. L'excrétion de *C. burnetii* par les animaux fait toujours l'objet de recherches en termes de voies, de fréquence, de charge et de dynamique. Si plusieurs études récentes ont fortement contribué à mieux connaître l'excrétion bactérienne au sein des élevages cliniquement affectés, celles en élevages asymptomatiques sont rares. La prévalence de la fièvre Q a longtemps été appréciée par des enquêtes sérologiques [Arricau-Bouvery et Rodolakis, 2005 ; Rodolakis *et al.*, 2004 ; Rousset *et al.*, 2001 ; Lang, 1990]. Cependant, la diversité des techniques sérologiques utilisées rend les travaux difficilement comparables. De plus, l'interprétation des données sérologiques est complexe car des animaux excréteurs, donc infectés, sont trouvés séronégatifs [Rousset *et al.*, 2009 ; Guatteo *et al.*, 2007].

Dans des départements du Sud-Est de la France, les Groupements de Défense Sanitaire ont noté une augmentation de vagues abortives causées par la fièvre Q depuis 2003 dans les troupeaux caprins laitiers, pour la majorité des producteurs de fromages au lait cru. Compte tenu des inquiétudes des éleveurs, les GDS ont proposé à leurs adhérents une aide dans la gestion de troupeaux caprins cliniquement affectés par la fièvre Q. Pour cela, des études ont été conduites en collaboration avec l'INRA et l'AFSSA [Berri *et al.*, 2007 ; Berri *et al.*, 2005 ; Champion *et al.*, 2004]. Des études sont actuellement réalisées sur l'intérêt de la vaccination dans ce type d'élevage [Rousset *et al.,* 2008]. Ainsi, des connaissances ont été apportées sur des élevages dits « cliniques ». En revanche, aucune donnée n'était disponible sur les élevages apparemment non affectés par la fièvre Q.

Une enquête d'épidémiologie descriptive a donc été entreprise dans les élevages sans antécédent clinique significatif de fièvre Q

dans ce secteur. Une première étape a été conduite en 2006, elle a porté sur 14 troupeaux et a été fondée sur des données sérologiques individuelles. L'enquête a été répétée en 2008 en incluant un département voisin à des fins de comparaisons. Cette seconde étape a concerné 28 troupeaux, dont cinq étaient communs à l'étude de 2006. Elle a été fondée sur des données de PCR sur lait de mélange et des données individuelles à la fois de sérologie et de PCR sur écouvillons vaginaux. Les données sérologiques ont toutes été obtenues mais celles d'excrétion en 2008 n'ont été réalisées qu'en partie pour le moment. Les objectifs de cette étude étaient d'estimer la prévalence de la fièvre Q caprine dans ce secteur et d'élaborer une approche simple d'analyse pour apprécier l'importance de la circulation et de l'excrétion de *C. burnetii* au sein de ces élevages. Cette approche a été étudiée :

- en évaluant à l'échelle de l'individu, les associations possibles entre les données de sérologie et d'excrétion vaginale mesurée par PCR, puis
- à l'échelle du troupeau, en réalisant une typologie fondée sur la sérologie individuelle et l'âge des animaux, et confrontée au niveau d'excrétion.

II - MATERIELS ET METHODES

1. DEMARCHE ET POPULATION DE REFERENCE

L'étude a été conduite selon une démarche d'épidémiologie descriptive dans un secteur du Sud-Est de la France. Elle a été réalisée en 2 phases :

- une première phase exploratoire en 2006 dans un département, intitulé A, fondée sur des données de sérologies individuelles,
- une seconde phase, en 2008, ciblant à la fois le département A et un département voisin, intitulé B, comprenant également des données individuelles de PCR sur sécrétions vaginales et de PCR sur lait de mélange du troupeau.

La population d'étude était constituée des troupeaux caprins d'au moins 25 têtes. Il s'agit de troupeaux laitiers, et plus précisément fromagers fermiers au lait cru. Le nombre de ce type d'élevages dans chaque département ciblé connaît de légères fluctuations annuelles. D'après les données informatisées de SIGAL (système d'information de la DGAL) au 30 janvier 2007, les départements A et B comptaient respectivement 5 578 et 3 587 chèvres laitières et 96 (dont 76 de plus de 25 têtes) et 57 (dont 50 de plus de 25 têtes) troupeaux caprins. Dans les troupeaux d'au moins 25 têtes, la moyenne du nombre de chèvres (sans les chevrettes) était de 72 (maximum à 280) pour le département A et de 69 (maximum à 276) pour le département B.

2. SELECTION DE TROUPEAUX SANS SIGNE APPARENT DE FIEVRE Q

En l'absence de connaissance préalable sur la prévalence de la fièvre Q, il a été choisi d'enquêter sur 20% des troupeaux. Il a été pris en compte la répartition des différentes fourchettes de tailles et des zones où la concentration en caprins était plus importante. Les informations chiffrées mais aussi géographiques ont été extraites de la base de données SIGAL.

Le recrutement a reposé sur le volontariat des éleveurs en lien avec les GDS. L'absence d'antécédents d'avortements de fièvre Q a été vérifiée auprès des éleveurs. De plus, les éleveurs ne devaient pas avoir mis en place de vaccination contre la fièvre Q. Cet historique des troupeaux remontait à 5 années au moins.

En 2006, 15 troupeaux caprins laitiers ont été sélectionnés dans le département A (tableau 1). Ils ont été identifiés par les codes A1 à A15. En 2008, 28 troupeaux caprins laitiers ont été sélectionnés dans les deux départements (tableau 1). Dix étaient localisés dans le département A, dont cinq élevages étaient communs à l'étude de 2006. Ils ont été identifiés par les numéros 1 à 10. Les 18 autres étaient situés dans le département B. Ils ont été identifiés par les lettres A à R.

Tableau 1

Échantillonnage établi en fonction des différentes tailles des troupeaux présents dans le secteur de chacune des deux années de l'étude

Nombre total de chèvres	Nombre de troupeaux sélectionnés		Nombre de chèvres sélectionnées	
	Année 2006	Année 2008	Année 2006	Année 2008
> 200	2	1	28	55
< 200 et > 100	4	5	27	51
< 100 et > 40	7	21	25	44
< 40 et > 25	2	1	20	31

3. SELECTION DES CHEVRES

3.1. ENQUETE DE PREVALENCE SEROLOGIQUE

Le nombre d'animaux à étudier a été calculé en fonction de l'effectif total de chaque exploitation sélectionnée d'après Toma *et al*. [Toma *et al*., 2001]. Ces tailles d'échantillon permettent théoriquement de mettre en évidence au moins un animal positif dans un troupeau, avec un niveau de certitude de 95%, et en admettant que le test soit sensible à 100%. Le plan de sondage, présenté dans le tableau 1, a été établi de façon à pouvoir théoriquement détecter une séroprévalence intra-troupeau minimale de :

- 10% lors de l'enquête exploratoire en 2006,
- 5 % lors du second sondage en 2008.

De plus, l'échantillonnage des animaux était aléatoire et stratifié selon les trois classes d'âges suivantes : les jeunes âgées d'une année (primipares), les chèvres adultes âgées de deux à quatre ans et celles de plus de quatre ans. Les informations sur les effectifs des troupeaux et les dates de naissance des animaux à prélever ont été recueillis.

3.2. ETUDE DE L'EXCRETION BACTERIENNE

Parmi les animaux choisis dans chaque élevage, 18 animaux ont été pris au hasard au sein des trois classes d'âge (6 primipares, 6 chèvres de deux à quatre ans et 6 de plus de quatre ans), pour être soumis aux prélèvements individuels de mucus vaginal, conjointement aux prises de sang.

Un lait de mélange a été collecté le même jour dans chaque élevage.

4. PRELEVEMENTS

Les prélèvements sanguins, vaginaux et de laits de mélange ont été effectués un mois, au maximum, après la fin du pic des mises bas de chacun des troupeaux sélectionnés, généralement en mars-avril. Tous les prélèvements ont été acheminés à 4°C au laboratoire d'analyse sous 24 h.

4.1. SANG

Un volume de 5 mL de sang a été prélevé en tube sec. Les sérums ont été récupérés après centrifugation des échantillons de sang puis congelés à –20°C.

4.2. LAIT DE MELANGE

Un volume d'environ 5 mL de lait de mélange a été collecté en flacon stérile additionné d'un conservateur (bromopol) après avoir pris soin de bien brasser l'ensemble du lait dans le tank. A réception, les laits ont été congelés à –80 °C.

4.3. MUCUS VAGINAL

Des écouvillons stériles secs de 10 cm ont été introduits à l'intérieur du vagin et frottés énergiquement contre les parois de façon à récupérer le maximum de cellules de la muqueuse. Les échantillons ont été congelés à -80° C au laboratoire d'analyses.

5. ANALYSES DE LABORATOIRE

5.1 DETECTION DES ANTICORPS ANTI-*C. BURNETII* PAR ELISA

Les sérums ont été analysés à l'aide du coffret ELISA nommé « Ruminant serum Q fever » selon les recommandations du fournisseur (LSI, Lissieu, France). Ce test utilise un antigène préparé à partir d'une souche ovine de *C. burnetii*. Des sérums de contrôle internes négatifs et positifs ont été inclus dans chaque essai en accord avec la norme NFU 47-019 du COFRAC. Les valeurs des échantillons et du contrôle positif du coffret sont corrigées en soustrayant la valeur du contrôle négatif du coffret. Les résultats sont exprimés en pourcentage de densité optique (%DO) par rapport à la valeur corrigée du contrôle positif du coffret. Le taux d'anticorps en %DO est ainsi calculé :

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

Le seuil de positivité de 40%DO indiqué dans le protocole du fabricant a été utilisé. Le statut séronégatif (« SERO -») est attribué aux animaux donnant un résultat inférieur à 40%DO. Pour cette étude, un résultat supérieur à 100%DO a été considéré fortement positif (« SERO ++ »). Les animaux avec un taux compris entre 40 et 100 %DO ont été classés « SERO + ».

5.2. DETECTION ET QUANTIFICATION DE L'ADN DE *C. BURNETII* PAR PCR EN TEMPS REEL

Le coffret PCR « TaqVet » (LSI, Lissieu, France) a été utilisé pour analyser les échantillons de lait et de mucus vaginal. Dans cette technique, une paire d'amorces et une sonde TaqMan ciblent spécifiquement la séquence d'insertion *IS1111* du génome de *C. burnetii*. Un gène codant pour la glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase (GAPDH), ubiquitaire pour les cellules eucaryotes de ruminants, est parallèlement détecté dans les échantillons testés de façon à vérifier l'absence d'inhibition de PCR. En cas de non détection de ce gène témoin positif interne, l'échantillon est dilué et analysé une seconde fois. Le nombre de bactéries est déterminé par interpolation par rapport aux résultats obtenus à l'aide d'une gamme interne d'ADN génomique. Cette dernière a été préparée à partir de bactéries de la souche Nine Mile produites sur culture cellulaire (L929), purifiées et dénombrées.

Les écouvillons vaginaux ont été repris avec 500 µL de tampon PBS (Phosphate Buffer Saline). L'ADN total a été ensuite extrait à partir des échantillons à l'aide d'un coffret commercial Dneasy® Blood and Tissue (QIAgen). A partir de 200 µl de suspension vaginale ou 200 µl de lait, un volume de 100 µL d'ADN est obtenu. La réaction PCR est réalisée sur 5 µL d'ADN à l'aide d'un appareil de PCR en temps réel (« ABIprism 7500 Real-time PCR », Applied Biosystems). Des témoins négatifs sont inclus : un témoin tous les 10 échantillons à tester à l'étape d'extraction ADN et un témoin pour chaque série d'analyses par PCR.

Les résultats par l'appareil de PCR sont rendus en nombre de copies de génomes bactériens, calculés à partir de huit standards d'ADN inclus dans chaque essai. Les résultats sont ensuite exprimés en nombre de bactéries par écouvillon vaginal ou par ml de lait. La zone de quantification est comprise entre 100 et 10^9 bactéries par unité de prélèvement. Un résultat négatif peut être obtenu pour les prélèvements contenant moins de 100 (ou 2 $\log_{10}$) bactéries, correspondant à moins d'1 bactérie par réaction de PCR. Au plan qualitatif, un résultat donnant moins de 2 $\log_{10}$ bactéries est considéré négatif dans cette étude.

Les étapes susceptibles de comporter un risque d'exposition à la présence de bactéries infectieuses ont été réalisées sous poste de sécurité microbiologique de classe II dans un laboratoire confiné de niveau L3.

6. ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 2.0.0).

6.1. COMPARAISON DES RESULTATS SEROLOGIQUES

Les proportions des résultats sérologiques ont été comparées en fonction de l'année d'étude ou du département en utilisant un test du Khi 2.

6.2. CARACTERISATION DES FREQUENCES ET DES NIVEAUX D'EXCRETION

Le test non paramétrique de Kruskall-Wallis a été utilisé pour analyser les résultats d'excrétion. En effet, la distribution des résultats d'excrétion, fournis en bactéries par

mL de lait ou par écouvillon vaginal, ne suit pas une loi normale, y compris après transformation en logarithme de base 10.

Le test du Khi2 d'indépendance et le test de McNemar ont été employés pour les analyses de comparaison de deux fréquences sur des échantillons dépendants.

Le calcul de l'Odds Ratio (OR) a été réalisé avec la méthode de Miettinen pour l'intervalle de confiance.

6.3. ANALYSE DES TYPOLOGIES D'ELEVAGES VIS-A-VIS DE LA FIEVRE Q

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée en considérant les paramètres quantitatifs suivants pour chaque troupeau : la moyenne des taux sérologiques en %DO, le pourcentage d'animaux séropositifs, la moyenne des âges des chèvres séropositives et l'âge de la plus jeune chèvre séropositive.

III - RESULTATS

1. DESCRIPTION DE L'ECHANTILLON ETUDIE

En 2006, 14 troupeaux caprins laitiers ont été recrutés dans le département A car un éleveur a du se désister. Cet échantillon couvrait 20% (14/76) de la population du secteur. La moyenne du nombre de chèvres de ces troupeaux était de 95 animaux (les effectifs variant de 25 à 250).

En 2008, la population cible comprenait 28 élevages, soit 22% (28/126) de la population totale. La moyenne de l'effectif de chèvres de ces troupeaux était de 90 (46 à 287 animaux). L'échantillon n'a pas été respecté pour deux élevages du département A : l'élevage n° 7 avec 10 sérums au lieu de 51 et 10 écouvillons vaginaux au lieu de 18, et l'élevage n° 2 avec 12 sérums au lieu de 31.

Au total, 1 416 chèvres ont pu être analysées en sérologie dont 359 en 2006 et 361 en 2008 dans le département A ainsi que 696 dans le département B. De plus, 504 de ces chèvres ont fait l'objet d'un prélèvement vaginal. Les analyses par PCRq ont été réalisées pour les 168 chèvres de 9 troupeaux du département A, l'élevage n° 7 a été écarté. Les analyses sont en cours pour les 18 troupeaux du département B. Enfin, tous les laits de mélange ont été obtenus, excepté pour l'élevage n° 3. Les analyses PCRq ont été réalisées pour ceux du département A en 2008 (excepté le n° 7).

2. SEROPREVALENCE DE LA FIEVRE Q CHEZ LES ELEVAGES CAPRINS LAITIERS

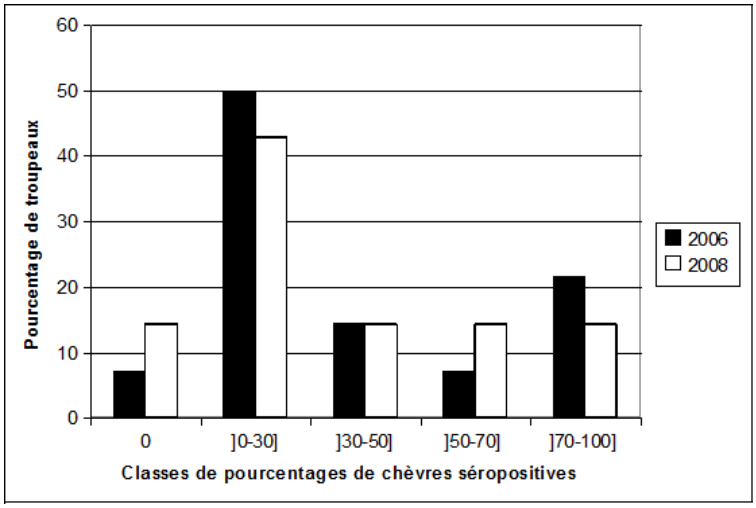
2.1. RESULTATS A L'ECHELLE DU TROUPEAU

Une séroprévalence élevée a été observée parmi les élevages caprins laitiers sans antécédent abortif associé à la fièvre Q. Au total, 88% (37/42) des élevages sondés en 2006 et 2008 possédaient au moins un animal séropositif. Une proportion de plus de 30% de chèvres séropositives a été observée pour 43% des élevages à la fois en 2006 (6/14) et en 2008 (12/28). De plus, compte tenu de l'échantillon de chèvres testées, les cinq élevages dans lesquels toutes les chèvres ont été trouvées séronégatives ne peuvent pas être considérés strictement séronégatifs. Dans le département A, en 2006, 1/14 élevages (7%) a présenté des résultats entièrement séronégatifs. Dans cet élevage (A12), on estime que moins de 10% des chèvres étaient séropositives avec un risque de 5% d'après l'échantillonnage effectué. En 2008, tous les résultats ont été trouvés séronégatifs dans un seul troupeau également sur les 10 étudiés (10%). Cet élevage (n° 4) comprenait théoriquement moins de 5% de séropositifs d'après le nombre de chèvres testées et l'effectif total. Dans le département B, en 2008, 3/18 troupeaux (17%) étaient séronégatifs. D'après l'échantillonnage, ces résultats suggèrent une séropositivité de moins de 5% au sein de ces trois troupeaux (A, G et H).

Les taux de séroprévalence étaient très variables selon les élevages. La répartition selon cinq classes de pourcentages de chèvres séropositives est présentée sur la figure 1. En 2008 par exemple, une proportion équivalente de troupeaux (14%) a présenté 0% ou plus de 70% des animaux séropositifs.

Figure 1

Évolution de la répartition de cinq classes de pourcentages de chèvres séropositives parmi les 42 troupeaux sondés en 2006 et 2008

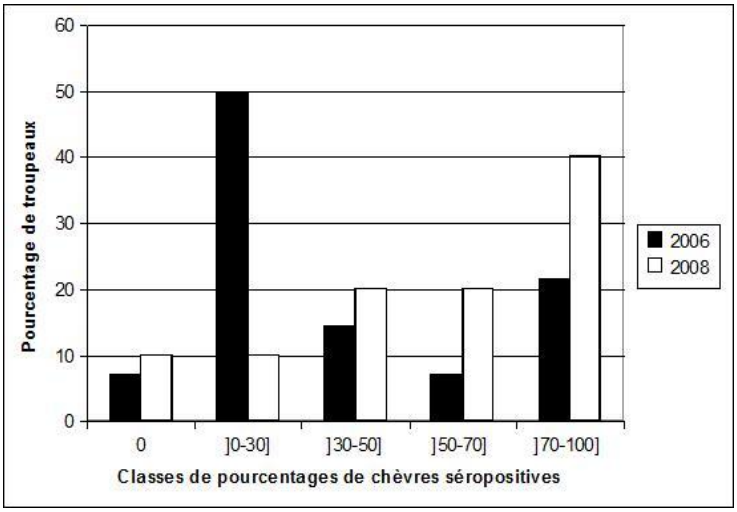


Les pourcentages de troupeaux étaient similaires en 2006 et 2008 à l'intérieur de chaque classe de séropositivité. En effet, la différence entre les pourcentages de troupeaux en 2006 et 2008 n'excédaient pas 7% et aucune différence significative n'a été observée pour les différentes classes (0, p=0,159 ;]0-30], p=0,375 ;]30-50], p=1 ;]50-70], p=0,159 et >70%, p=0,257). Ces résultats suggèrent une situation stable des troupeaux vis-à-vis de la fièvre Q.

Néanmoins, afin de mieux caractériser la situation de la fièvre Q caprine dans le département A, l'évolution de 2006 à 2008 a été étudiée en comparant les résultats des 14 et 10 troupeaux respectivement sondés dans ce secteur (figure 2).

Figure 2

Évolution de la répartition de cinq classes de pourcentages de chèvres séropositives parmi les 24 troupeaux sondés en 2006 et 2008 dans le département A



Contrairement à la situation décrite pour l'ensemble des résultats sérologiques (figure 1), un changement a été observé de 2006 à 2008 dans le département A (figure 2). En effet, le pourcentage de troupeaux ayant plus de 70% d'animaux séropositifs a connu une augmentation de près de 20%. Cette différence était significative (p=0,007). En comparaison en 2008, les taux de troupeaux fortement séropositifs étaient respectivement de 0% et de 40% dans les départements B et A.

2.2. RESULTATS A L'ECHELLE DE L'ANIMAL

Les résultats sérologiques individuels des chèvres sont présentés dans la figure 3. Au total, 36% et 32% des chèvres se sont révélées séropositives sur 359 et 1 057 sérums analysés respectivement en 2006 et 2008.

Les différences de pourcentages de chèvres par classe d'interprétation des résultats sérologiques n'excédaient pas 9% et n'étaient pas significatives avec des valeurs p de 0,654 ; 0,490 et 0,180 respectivement pour les SERO -, SERO + et SERO ++.

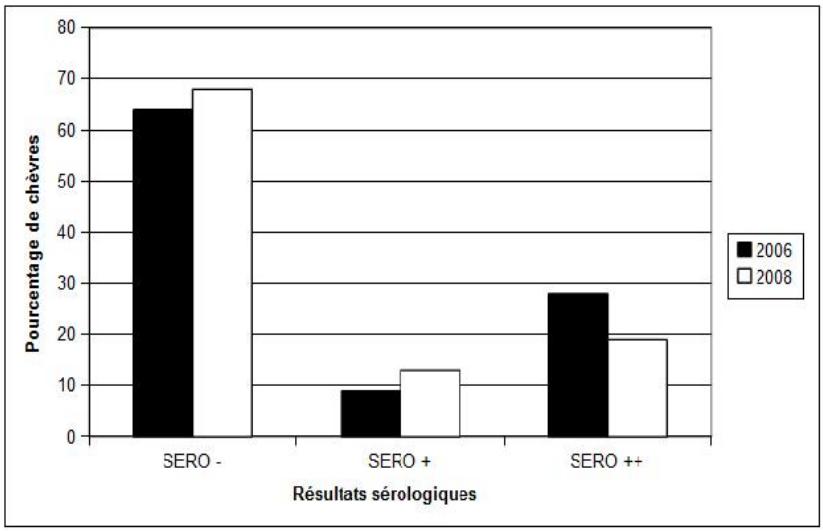
Les résultats obtenus dans les deux départements A et B lors de l'enquête en 2008 ont été comparés (figure 4).

Les résultats du département A ont révélé 45% d'animaux séronégatifs alors que le département B en comptait 80%. Ces proportions sont significativement différentes (Khi2=24,661, $p=6,8.10^{-7}$). De même, la différence était nettement significative entre les proportions d'animaux fortement séropositifs (SERO ++), avec près de 35% dans le département A et 10% dans le département B (Khi2=17,64 ; $p=4,8.10^{-5}$).

De plus, le département A comportait 36% de chèvres séropositives en 2006 (figure 3) contre 55% en 2008 (figure 4). Une différence significative a été montrée concernant cette augmentation de la séropositivité animale de près de 20% pour une période de deux ans (p=0,010).

Figure 3

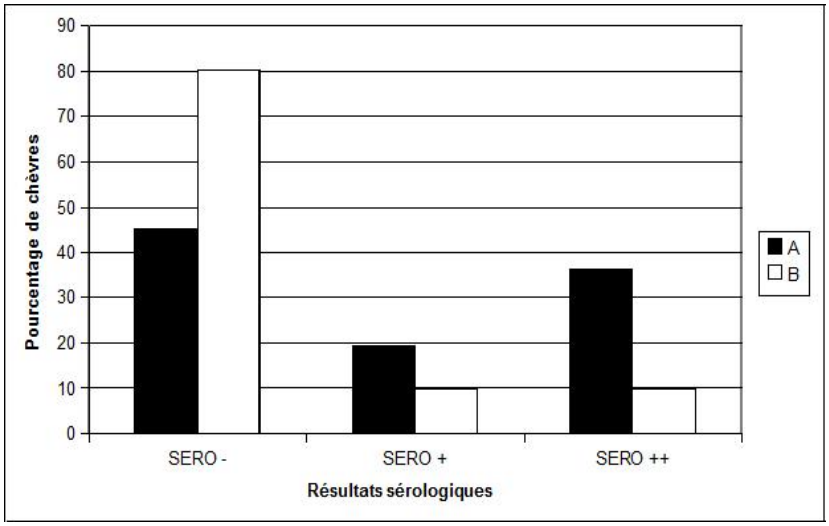
Distribution des résultats sérologiques parmi les 1 416 chèvres sondées en 2006 et 2008



SERO - : séronégatif au seuil de 40%DO ; séropositif SERO + : entre 40 et 100%DO et SERO ++ : au seuil de 100%DO.

Figure 4

Distribution par département des résultats sérologiques parmi les 1 057 chèvres sondées en 2008



SERO - : séronégatif au seuil de 40%DO ; séropositif SERO + : entre 40 et 100%DO et SERO ++ : au seuil de 100%DO.

3. RELATION ENTRE LES RESULTATS SEROLOGIQUES ET L'EXCRETION A L'ECHELLE DE L'ANIMAL

3.1. RESULTATS QUALITATIFS

La mise en évidence par PCR de l'excrétion de *C. burnetii* a été achevée pour neuf élevages du département A. Au total, les résultats ont été obtenus pour les deux types de prélèvements concomitants réalisés chez 158 chèvres. Une analyse a été effectuée sur cette première série de données afin de décrire les éventuelles relations entre les résultats de PCR et sérologiques (tableau 2).

Ces résultats montrent que 26% (17/65) des animaux séronégatifs et 72% (67/93) des séropositifs (incluant les classes SERO + et SERO ++) étaient excréteurs. Réciproquement, 20% (17/84) des animaux excréteurs étaient séronégatifs et 80% (67/84) étaient séropositifs.

Un test de Khi2 d'indépendance réalisé sur la table de contingence obtenue a permis d'affirmer l'absence d'indépendance entre les résultats sérologiques et ceux de l'excrétion ($p=2,3.10^{-8}$). Cette dépendance entre les variables indique que les résultats PCR-positifs sont significativement plus fréquents dans les classes séropositives. De plus, la sérologie et la PCR étant deux méthodes d'analyse distinctes et les données issues des mêmes animaux étant appariées, un test non paramétrique de McNemar a été appliqué. En regroupant les résultats sérologiques positifs, aucune différence significative n'a été montrée entre les résultats positifs ou négatifs donnés par les deux méthodes d'analyse (p=0,222). Enfin, l'Odds Ratio a été calculé de façon à quantifier l'association entre les résultats PCR-positifs avec les résultats séropositifs par rapport aux résultats séronégatifs. Une association positive et nettement significative a été obtenue (OR=7,28 [3,67 ; 14,43]).

Ainsi, la proportion de chèvres à la fois séronégatives et excrétrices est élevée, mais une association globale forte existe entre les résultats positifs de sérologie et de PCR.

Tableau 2

Table de contingence des résultats d'excrétion bactérienne selon les trois classes de résultats sérologiques chez 158 chèvres testées en 2008

PCR \ Sérologie	Séro -	Séro +	Séro ++
-	48	16	10
+	17	27	40
Total	65	43	50

A titre de comparaison, ces résultats ont été confrontés à ceux trouvés chez deux troupeaux cliniquement affectés. Les techniques d'analyses étaient les mêmes, mais le protocole de prélèvements était différent. En effet, un suivi longitudinal a été conduit durant trois ans suite à des avortements dus à la fièvre Q. Les prélèvements vaginaux ont été réalisés le jour de la mise bas et non dans le mois suivant le pic de mises bas. Les prises de sang ont été réalisées dans le mois suivant le pic de mises bas. Les résultats de l'excrétion vaginale ont pu être mis en relation avec les résultats sérologiques de 186 chèvres (tableau 3).

Tableau 3

Table de contingence des résultats d'excrétion bactérienne selon les trois classes de résultats sérologiques chez deux troupeaux avec problèmes de fièvre Q

PCR \ Sérologie	Séro -	Séro +	Séro ++
-	48	3	6
+	35	30	64
Total	83	33	70

L'excrétion vaginale de *C. burnetii* a été détectée chez 42% (35/83) des animaux séronégatifs et 91% (94/103) des séropositifs (SERO + et SERO ++). Ces résultats sont différents de ceux trouvés dans les troupeaux asymptomatiques que ce soit pour les animaux séronégatifs (42% contre 26%, p=0,025) ou séropositifs (91% contre 72%, p=0,001).

Un test de Khi2 d'indépendance ne pouvait être réalisé que dans la mesure où les deux catégories de sérologies positives étaient regroupées de façon à réaliser l'analyse sur un effectif au moins égal à 5. Ce test a montré que les résultats en sérologie et en excrétion n'étaient pas indépendants ($p=5,2.10^{-10}$). De plus, l'Odds Ratio concernant l'excrétion des séropositifs par rapport aux séronégatifs était de 11,28 [5,36 ; 23,76].

L'association entre les résultats positifs de sérologie et de PCR est donc également significativement élevée. On remarque aussi que les animaux non excréteurs sont rares dans les classes des séropositifs. Cependant, les résultats tendent à montrer que la proportion de séronégatifs excréteurs peut être encore plus élevée que dans les élevages asymptomatiques.

3.2. RESULTATS QUANTITATIFS

Une quantité maximale de $9,06.10^{8}$ bactéries par écouvillon vaginal a été obtenue parmi les chèvres des neuf élevages du département A. Après transformation des mesures de PCRq en $\log_{10}$, la moyenne de l'excrétion vaginale des chèvres a été calculée. Ces moyennes en fonction de leur résultat sérologique étaient de 1,06 (σ=1,68) pour les séronégatives (SERO -), 2,36 (σ=2,07) pour les séropositives (SERO +) et 2,90 $\log_{10}$ (σ=1,63) pour les séropositives (SERO ++) (tableau 4). La différence globale entre les trois moyennes était significative (Kruskal-Wallis, $p=2,8.10^{-7}$). Les moyennes ont été également comparées deux à deux à l'aide de la méthode d'ajustement de Bonferroni

permettant de corriger les valeurs de p. Les résultats ont montré une différence significative entre les moyennes d'excrétion des chèvres SERO - et SERO ++ ($p=2,8.10^{-7}$) et également entre celles des SERO - et des SERO + (p=0,001). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les moyennes des SERO + et des SERO ++ (p=0,271).

Ainsi, les niveaux d'excrétion tendent à être plus faibles dans la classe des séronégatifs et d'un niveau équivalent dans les deux classes de séropositifs. La moyenne de bactéries excrétée par les animaux séropositifs était comprise entre 2 et 3 $\log_{10}$, tandis qu'elle était proche de 1 $\log_{10}$ chez les séronégatifs, ce qui est assimilable à un résultat négatif.

Chez les chèvres excrétrices en revanche, les moyennes d'excrétion selon leurs résultats sérologiques n'étaient pas significativement différentes. Les moyennes d'excrétion en fonction des classes de résultats sérologiques ont donné les valeurs suivantes : 3,58 (σ=1,19) pour les SERO -, 3,59 (σ=1,58) pour les SERO + et 3,52 $\log_{10}$ (σ=1,11) pour les SERO ++ (tableau 4).

A nouveau, les résultats ont été rapprochés de ceux obtenus dans le cas de deux troupeaux étudiés après des problèmes d'avortements liés à la fièvre Q. Un écouvillon vaginal pouvait contenir plus de 9 $\log_{10}$ de bactéries. L'excrétion moyenne des chèvres en fonction de leur résultat sérologique était de 1,75 $\log_{10}$ pour les SERO- (σ=1,30), 2,87 $\log_{10}$ (σ=1,31) pour les SERO + et 3,78 $\log_{10}$ (σ=2,54) pour les SERO ++ (tableau 4). Un test non paramétrique de Kruskal-Wallis appliqué à ces moyennes globales a révélé une différence significative ($p=3,0.10^{-9}$). La comparaison 2 à 2 des moyennes a été réalisée avec la méthode d'ajustement de Bonferroni. Les résultats ont montré que les différences étaient significatives entre les moyennes d'excrétion des SERO - et des SERO ++ ($p=1,1.10^{-8}$) et entre celles des séronégatives et des SERO + ($p=3,5.10^{-4}$). Mais les moyennes des SERO + et des SERO ++ n'étaient pas significativement différentes (p=0,327).

Parmi les résultats obtenus uniquement chez les chèvres excrétrices, les moyennes d'excrétion en fonction des trois niveaux sérologiques étaient de 2,99 $\log_{10}$ (σ=0,64) pour les SERO -, 3,27 $\log_{10}$ (σ=0,91) pour les SERO + et 4,40 $\log_{10}$ (σ=2,32) pour les SERO ++ (tableau 4). Contrairement à ce qui a été obtenu dans les troupeaux sans avortement, une différence significative globale a été trouvée entre les moyennes (Kruskal-Wallis, $p=6,0.10^{-4}$).

Les résultats dans le cadre de cette comparaison indiquent donc que les niveaux d'excrétion étaient similaires chez les chèvres excrétrices appartenant aux neuf élevages asymptomatiques testés une année alors qu'ils étaient différents selon les classes de sérologie pour les deux élevages « cliniques » testés trois années de suite.

D'après l'ensemble de ces résultats, la proportion de séronégatifs excréteurs est importante. Toutefois, l'outil de sérologie semble présenter un potentiel pour évaluer un risque d'excrétion global dans les élevages sans antécédent clinique de fièvre Q si l'interprétation est envisagée pour un nombre représentatif d'animaux du troupeau et non au niveau individuel.

Tableau 4

Moyenne des charges bactériennes excrétées en fonction des trois classes de résultats sérologiques chez toutes les chèvres ou uniquement les excrétrices provenant de troupeaux sans ou avec problèmes de fièvre Q

Catégorie de troupeaux vis-à-vis de la fièvre Q clinique	Quantité moyenne dans le mucus vaginal mesurée par PCRq en $\log_{10}$/écouvillon vaginal (écart-type σ)					
	Toutes les chèvres			Chèvres excrétrices		
	Séro -	Séro +	Séro ++	Séro -	Séro +	Séro ++
Sans antécédent	1,06 (1,68)	2,36 (2,07)	2,90 (1,63)	3,58 (1,19)	3,59 (1,58)	3,52 (1,11)
Avec problème	1,75 (1,30)	2,87 (1,31)	3,78 (2,54)	2,99 (0,64)	3,27 (0,91)	4,40 (2,32)

4. RELATION ENTRE LES RESULTATS SEROLOGIQUES ET L'EXCRETION A L'ECHELLE DU TROUPEAU

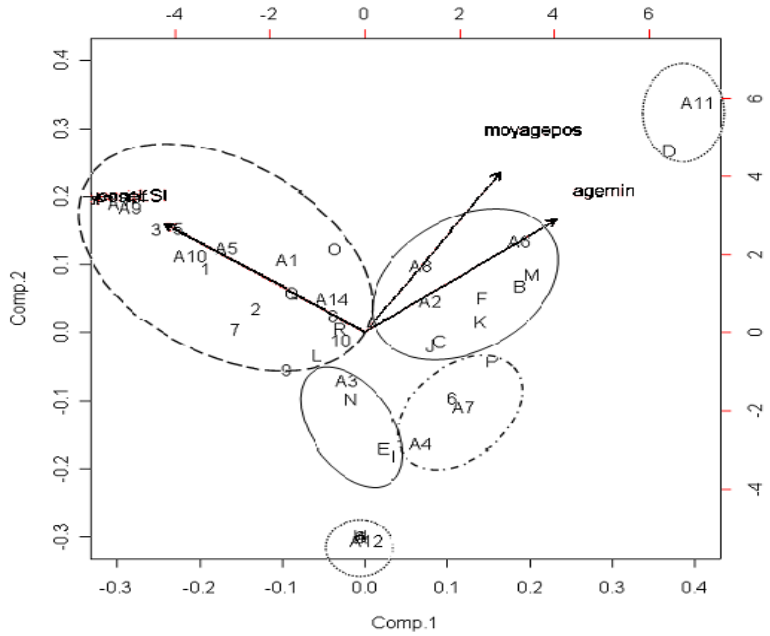
4.1. ELABORATION D'UNE TYPOLOGIE FONDEE SUR LA SEROLOGIE ET L'AGE DES ANIMAUX

Un résultat sérologique positif sur un animal indique que celui-ci a été en contact avec l'agent de la fièvre Q, mais ne permet pas de conclure à une infection récente ou latente. Par contre, l'âge de l'animal infecté constitue une variable pour expliquer le(s) moment(s) de passage(s) de l'infection. Ainsi, la distribution des résultats sérologiques selon trois classes d'âge a permis de visualiser un premier classement de profils d'infection pour chaque élevage (résultats non montrés).

Afin de mettre en exergue ces ressemblances et différences globales observées, nous avons procédé à une analyse multi-factorielle. Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur l'ensemble des 42 troupeaux sondés (figure 5). L'analyse a été effectuée à partir des quatre variables suivantes par troupeau : la moyenne des taux en %DO, le pourcentage d'animaux séropositifs, la moyenne des âges des animaux séropositifs et l'âge du plus jeune animal séropositif.

Figure 5

Premier plan factoriel de l'analyse en composantes principales (ACP) de 42 troupeaux réalisée sur les résultats de sérologie et l'âge des animaux testés



Variables quantitatives par troupeau : « moyLSI », moyenne des taux sérologiques en %DO ; « X.LSIpos », pourcentage d'animaux séropositifs ; « moyagepos », moyenne des âges des animaux séropositifs ; « agemin », âge du plus jeune animal séropositif.

Plan factoriel formé par un couple de composantes principales : Comp 1, composante 1 ; Comp 2, composante 2.

Cercles des corrélations figurés par les traits : ·····, type 1 ; - · - · - ·, type 2 ; ———, type 3 ; - - - - -, type 4.

L'information transcrite dans le premier plan factoriel réalisé a montré quatre types de cercles de corrélation avec une séparation en deux pour les types 1 et 3. Considérant les liaisons avec les axes des variables, des hypothèses ont été élaborées et ont permis de définir les profils de circulation d'infection intra-élevage suivants :

- Le type 1 regroupe sept élevages trouvés soit séronégatifs (A12, n° 4, A, G et H), soit avec environ 5% d'animaux séropositifs âgés (A11 et D). Le type 1 paraît signer

une absence de circulation de l'infection ou une circulation faible. Les animaux séropositifs n'étant pas jeunes, cette circulation faible correspond probablement à une extinction de l'infection au sein de l'élevage ;

- Les quatre élevages A4, A7, P et n° 6 ont été distingués dans le type 2. La proportion d'animaux séropositifs est d'environ 5% et ce sont des animaux plutôt jeunes. La circulation de l'infection au sein de l'élevage est considérée faible et correspondrait à une phase d'arrivée de l'infection ;
- Pour le type 3, la séroprévalence est d'au moins 10%. Les animaux séropositifs sont plutôt moyennement séropositifs. La répartition selon les âges des animaux séropositifs suggère deux sous-types :
  - Le type 3a comprend les six élevages A3, E, I, N, J et C. Toutes les classes d'âges sont touchées, la circulation de l'infection est considérée moyenne,
  - Le type 3b regroupe les sept élevages A2, A6, A8, B, F, K et M. Les animaux séropositifs sont plutôt âgés (>4 ans), la circulation de l'infection apparaît faible, voire en évolution vers le type1 ;
- Le type 4 rassemble 18 élevages dans un même cercle (A1, A5, A9, A10, A14, A15, L, O, Q, R, n° 1, n° 2, n° 3, n° 5, n° 7, n° 8, n° 9 et n° 10). Plus de 40% des animaux sont séropositifs, les taux sérologiques individuels sont plutôt forts et tous les âges sont touchés. Une circulation importante de l'infection semble donc représentée pour le type 4.

4.2. DESCRIPTION DE LA DYNAMIQUE DE TYPES D'ELEVAGES A DEUX ANS D'INTERVALLE

Considérant un schéma théorique dans un troupeau, la circulation de l'infection peut être absente ou plus ou moins active conformément aux étapes d'apparition, d'augmentation, de pic ou plateau et d'extinction. Les types définis à l'issue de l'ACP devraient suivre *a priori* l'ordre suivant : 1, 2, 3a, 4, 3b, 1. Le suivi de 5 troupeaux en 2006 puis 2008 a permis d'étudier l'évolution de certains types de circulation de l'infection (tableau 5).

Tableau 5

Mise en relation des résultats des neuf élevages testés en excrétion en 2008 avec la typologie déterminée à partir de la sérologie et l'âge des animaux

Identification Élevage en 2008	Proportion d'excrétrices en %	Quantité moyenne dans le mucus vaginal en log_{10} /écouvillon (écart-type σ)	Quantité dans le lait en bactéries/ml	Type en 2008	Type en 2006	Identification Elevage en 2006[c]
n° 1	72	2,75 (1,79)	159	4	ND	ND
n° 2	0 [a]	0,16 (0,46)	0	4	ND	ND
n° 3	100	3,36 (0,80)	ND	4	2	A4
n° 4	5	0,26 (0,85)	0	1	1	A11
n° 5	100	3,41 (0,60)	3922	4	3b	A2
n° 6	0 [b]	0,28 (0,67)	0	2	1	A12
n° 8	76	2,99 (1,95)	808	4	4	A5
n° 9	64	2,12 (1,78)	221	4	ND	ND
n° 10	44	2,08 (2,72)	95	4	ND	ND

ND : non déterminé.

[a] 2 chèvres dont l'écouvillon contenait moins de 2 log_{10} bactéries ;
[b] 3 chèvres dont l'écouvillon contenait moins de 2 log_{10} bactéries.
[c] 5 élevages communs aux 2 années d'étude

De 2006 à 2008, des deux élevages de type 1 (A11 et A12), l'un est resté au type 1 (n° 4) et l'autre est passé au type 2 (n° 6). Un élevage de type 2 avec 5% de séropositifs (A4) a connu une évolution de l'infection directement vers un type 4 avec plus de 70% de séropositifs (n° 3). La transmission intra-élevage totale peut donc avoir lieu en deux ans. Enfin, l'élevage A5-n° 8 a persisté dans le type 4.

Toutefois, l'élevage A2 est passé d'un type 3b, où les animaux séropositifs avaient plus de 4 ans, à un type 4 où toutes le classes d'âges étaient touchées (n° 5). Il semble que cet élevage ait connu une réactivation de l'infection.

Globalement, l'évolution des types a suivi le cheminement théorique d'une infection. Néanmoins, les types 3b et 1 apparaissent sensibles à une recrudescence de la circulation de l'infection.

4.3. CORRELATION ENTRE LA TYPOLOGIE ET L'EXCRETION

Une étude descriptive sur la concordance entre la typologie déterminée et les résultats d'excrétion de *C. burnetii* a été abordée à l'aide des données de PCRq obtenues pour neuf élevages du département A en 2008 (tableau 5).

Un seul élevage sur les neuf était de type 1 (n° 4). Il a été trouvé séronégatif. Il comportait un animal excréteur sur les 18 testés. Cependant, la moyenne de l'excrétion par chèvre, calculée à partir des résultats de toutes les chèvres testées, paraît négligeable (0.26 $\log_{10}$). Cet élevage ne semble donc pas constituer un risque de contamination de l'environnement au moment du sondage. En revanche, ce résultat est important car il montre que des troupeaux trouvés séronégatifs, selon l'échantillonnage représentatif utilisé, ne sont pas forcément indemnes. Dans ce cas précis, une séropositivité de moins de 5% avait été estimée d'après l'échantillonnage.

Un seul élevage était de type 2 (n° 6). Son statut en excrétion était négatif, même si des quantités de bactéries inférieures à 2 $\log_{10}$ par écouvillon ont été détectées chez 3 des 18 chèvres testées. Cet élevage ne semblait donc pas non plus représenter un risque de transmission à d'autres individus au moment de l'enquête.

A l'exception de l'élevage n° 2, tous les élevages de type 4 ont présenté une proportion importante de chèvres excrétrices (au minimum 44%). Les moyennes globales d'excrétion de ces six troupeaux étaient comprises entre 2,08 et 3,41 $\log_{10}$ par chèvre, ce qui correspond aux moyennes les plus élevées parmi les neuf troupeaux considérés. Ces élevages sont donc des élevages à risque significatif de transmission. Dans le cas de l'élevage n° 2, les résultats ne sont pas concordants : le statut est négatif en excrétion pour un élevage de type 4. Toutefois, l'échantillonnage est critiquable. En effet, 12 sérums au lieu de 31 avaient été obtenus.

La présence de *C. burnetii* a été observée dans cinq laits sur les huit analysés, avec un des cinq laits contenant 95 bactéries/ml à la limite du seuil de positivité retenu. Les élevages correspondants étaient tous de type 4. Les 3 autres laits ont été trouvés négatifs et correspondaient aux élevages n° 2 dont l'échantillonnage n'était pas celui attendu, n° 4 et n° 6, respectivement de types 4, 1 et 2.

IV - DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette enquête transversale conduite en élevages caprins dans deux départements, comptant près 10 000 chèvres laitières et plus de 130 exploitations, a révélé une situation endémique vis-à-vis de la fièvre Q. Au total, 88% des 42 élevages étudiés présentaient au moins un résultat séropositif. Chez 43% d'entre eux, plus de 30% de chèvres ont été trouvées séropositives.

Les taux de séroprévalence des troupeaux étaient échelonnés de 0% à 97%. Les taux les plus élevés et les plus faibles étaient répartis de façon équivalente parmi les 28 troupeaux testés en 2008 dans les 2 départements. De fortes variabilités ont souvent été observées au travers d'enquêtes sur la fièvre Q chez les ruminants [Rousset *et al.*, 2001 ; Rodolakis *et al.*, 2004].

Les facteurs favorisant la transmission, que ce soit à l'intérieur d'un élevage ou entre élevages, sont méconnus. En dehors des facteurs de l'hôte, ces facteurs seraient liés aux pratiques d'élevage, aux conditions climatiques et à la topographie géographique ou bien aux caractéristiques des souches de *C. burnetii*. *A priori*, les taux et les périmètres de transmission sont multi-factoriels et donc très variables.

L'étude des résultats par département a suggéré une situation plus inquiétante dans le département A avec une augmentation significative en deux ans de la séroprévalence animale de 36% à 55% (p=0,01). De plus, la proportion de troupeaux avec un taux de séropositivité au dessus de 70% est passé de 21% à 40% (p=0,007). Le département B a été étudié uniquement en 2008, mais ne semblait pas présenter d'indicateurs d'incidence aussi élevés. La séroprévalence de l'infection animale a été estimée à 20% et aucun élevage fortement séropositif n'a été repéré. Ces éléments sont concordants avec les observations par les GDS d'une augmentation des épisodes abortifs chez les caprins dans le département A.

La mise en évidence par PCR de l'excrétion de *C. burnetii* par voie vaginale a été achevée pour les neuf élevages du département A prélevés en 2008 et dont un seul était entièrement séronégatif. Au total, 78% des troupeaux (7/9) présentaient au moins un animal positif par PCR. Une proportion de 53% de chèvres (84/158) excrétait *C. burnetii* par voie vaginale avec une charge supérieure à 2 $\log_{10}$ bactéries par écouvillon. En termes de charge bactérienne excrétée, les moyennes d'excrétion par écouvillon vaginal de chèvre étaient généralement au dessus de 2 $\log_{10}$ dans les différents élevages. La moyenne maximale était de 3,41 $\log_{10}$ ($\pm$ 0,60) dans un élevage où toutes les chèvres testées étaient positives par PCR. Ces valeurs apparaissent faibles, elles correspondent aux minima mesurés en élevages au moment d'un épisode abortif du à la fièvre Q [Rousset *et al.*, 2007 ; Nicollet *et al.*, 2007]. Mais, si *C. burnetii* est expérimentalement infectieuse à l'unité, la dose infectante dans l'environnement n'est pas connue. Néanmoins, la prévalence de chèvres excrétrices dans le département A apparaît élevée alors qu'elle est *à priori* sous-estimée compte tenu du protocole pratiqué sur un seul type de voie d'excrétion, la voie vaginale, à un seul moment, qui de plus est décalé d'un mois du pic de mise bas. Concernant le moment de l'enquête, il a été montré expérimentalement que 100% des chèvres, qui avaient été inoculées par *C. burnetii*, excrétaient des bactéries par voie vaginale le jour de la mise bas ou l'avortement [Arricau-Bouvery *et al.*, 2005]. Selon les individus, l'excrétion a persisté de 1 à 5 semaines dans les sécrétions vaginales. La voie vaginale peut représenter la voie prédominante mais uniquement le jour de la parturition. Au sein de 8 troupeaux de chèvres, 15 et 30 jours après un épisode abortif du à la fièvre Q, l'excrétion dans les sécrétions vaginales a été mise en évidence respectivement chez 40% et 14% des femelles qui avaient avorté et chez 20% et 11% de celles qui avaient mis-bas à terme [Rousset et al., 2009]. Cette même étude a rapporté des taux d'excrétrices de 70% parmi les femelles ayant avorté et de 53% parmi celles sans problème lorsque les trois voies (vaginale, fécale et lactée) étaient analysées aux deux moments. L'absence fréquente d'excrétion concomitante de *C. burnetii* a été également montrée au sein de troupeaux bovins affectés cliniquement par la fièvre Q. Dans cette étude, parmi les excréteurs, 65% excrétaient par une seule des trois voies [Guatteo *et al.*, 2006].

Ainsi, les analyses réalisées dans ces élevages, apparemment non affectés par la fièvre Q, ont révélé que la plupart pouvait néanmoins décharger des bactéries dans l'environnement, et constituer par conséquent un risque d'exposition à *C. burnetii* pour d'autres animaux et élevages mais aussi pour la population humaine.

La gestion sanitaire de la fièvre Q chez les ruminants est difficile notamment en raison du manque de connaissance préalable du statut de l'élevage [De Crémoux *et al.*, 2007 ; Rodolakis *et al.*, 2004]. Bien que la transmission de *C. burnetii* semble particulièrement multi-factorielle, il est nécessaire d'élaborer une démarche d'appréciation du risque d'exposition à *C. burnetii*.

La PCR est la méthode de choix pour le diagnostic abortif [De Crémoux *et al.*, 2007 ; Nicollet *et al.*, 2007]. Cependant, l'excrétion par les animaux pouvant être intermittente et suivre des voies différentes, la mise en évidence de troupeaux excréteurs ou non excréteurs est complexe. Cela implique de mettre en place un protocole lourd en multipliant les prélèvements sur un nombre suffisant d'animaux et de manière suivie dans le temps [Rousset *et al.*, 2009a ; Guatteo *et al.*, 2006 ; Rodolakis *et al.*, 2004].

Au plan technique également, la sérologie utilisée seule présente aussi des inconvénients. Dans des précédentes études menées sur des troupeaux avec avortements, la sérologie individuelle n'était pas apparue comme un bon indicateur de l'excrétion des animaux. En effet, des animaux trouvés séronégatifs peuvent être excréteurs. Dans l'étude précédemment citée concernant huit élevages caprins, une proportion de 25% de chèvres séronégatives a été observée parmi les celles trouvées excrétrices par voie vaginale, fécale ou lactée [Rousset *et al*., 2009]. Dans notre étude, l'excrétion bactérienne a été observée chez 20% (17/84) des animaux séronégatifs. Les pourcentages ne doivent pas être comparés d'une étude à l'autre car les protocoles de prélèvements et techniques de laboratoire sont différents. Néanmoins, des proportions fortes d'animaux séronégatifs et excréteurs sont à chaque fois observées. Les écouvillons étant prélevés directement sur l'animal, il est peu probable que le nombre important de résultats PCR-positifs non retrouvés en sérologie soit strictement liés à une contamination par des aérosols. A moins qu'aucun des tests sérologiques utilisés ne soit suffisamment sensible, la réponse sérologique chez les ruminants apparaît insuffisamment décrite et rend l'analyse des données difficile.

Il est donc important de mieux caractériser la relation entre données sérologique et d'excrétion pour aider à réaliser des plans d'échantillonnage raisonnés et interprétables, voire standardisés.

Ainsi, dans cette étude conduite chez des chèvres issues de troupeaux sans problème connu de fièvre Q, les résultats individuels en sérologie et en excrétion vaginale ont été rapprochés. Les analyses statistiques n'ont pas montré de différence significative sur l'ensemble des résultats appariés, soit positifs soit négatifs, obtenus par les deux méthodes de détection. De plus, l'Odds Ratio concernant l'excrétion des séropositifs par rapport aux séronégatifs était de 7,28 [3,67 ; 14,43]. L'association globale était donc nettement élevée, alors qu'à l'échelle de l'individu, une proportion forte de chèvres était à la fois séronégatives et excrétrices.

En prenant en compte toutes les chèvres échantillonnées du troupeau, l'excrétion moyenne par chèvre en fonction des classes de leur résultat sérologique était de 1,06 $\log_{10}$ pour les SERO -, 2,36 $\log_{10}$ pour les séropositives SERO + et 2,90 $\log_{10}$ pour les séropositives SERO ++. Les niveaux d'excrétion étaient significativement plus faibles dans la classe des séronégatifs et d'un niveau équivalent dans les deux classes de séropositifs. Au plan quantitatif, une association globale a donc été aussi montrée.

L'utilisation des résultats de la sérologie individuelle a ensuite été reprise dans le cadre d'une réflexion à l'échelle du troupeau et de son excrétion globale en vue de mettre en œuvre un protocole applicable pour repérer les troupeaux excréteurs, donc à risque de transmission. Ainsi, une typologie fondée sur la sérologie individuelle et l'âge des animaux reflétant un niveau de circulation de l'infection dans le troupeau a pu être réalisée. A l'aide d'une ACP, quatre types de niveau de circulation d'infection intra-élevages ont été définis.

Le type 4 représente le type où la circulation de l'infection semble être la plus intense. La confrontation de la typologie aux résultats d'excrétion en notre possession, ceux de neuf troupeaux, a donné des résultats prometteurs. Les élevages avec les fréquences d'excréteurs et des quantités excrétées moyennes par chèvre les plus élevées étaient de type 4. De plus, les cinq troupeaux pour lesquels les bactéries ont été détectées dans le lait de mélange étaient tous classés en type 4 par la typologie. Ainsi, le type 4 semblerait être le type le plus à risque concernant l'excrétion dans l'environnement. A l'inverse, le type 1 regroupe les élevages dans lesquels la circulation de l'infection semble absente ou en voie d'extinction. Ce type a pu être attribué à un seul élevage des neuf testés en excrétion. Or, l'excrétion globale calculée dans cet élevage n'était pas nulle. De plus, la seule chèvre trouvée excrétrice était âgée d'environ deux ans. Ce résultat montre que si la circulation de l'infection pour le type 1 est la plus basse parmi les types définis, ce type ne peut en aucun cas être assimilé à une catégorie indemne de fièvre Q. Par ailleurs, un élevage de type 1 présente un risque de ré-émergence de la fièvre Q compte tenu de la fréquence et de la contagiosité de *C. burnetii*. Il pourrait être recommandé *à minima* aux éleveurs de vacciner ce type d'élevages. Plus largement, cette démarche de typologie pourrait contribuer à la mise en place des mesures sanitaires préventives et défensives. Des travaux supplémentaires sont toutefois nécessaires. Les 18 élevages du département B testés en 2008 devraient permettre d'enrichir la typologie de manière à conforter ou non cette corrélation avec le niveau d'excrétion.

Enfin, l'évolution d'un type à un autre a pu être étudiée de manière préliminaire à l'aide des données issues de cinq troupeaux suivis à deux ans d'intervalle. Nous avons remarqué que la dynamique peut être assez rapide ; un troupeau avec 5% d'animaux positifs peut évoluer en deux ans vers un type 4 associé à un niveau d'excrétion global élevé. Cette étude nous a également permis de constater que des troupeaux de type 4 pouvaient persister avec une circulation importante de l'infection pendant au moins deux ans. La typologie, sous l'angle de sa dynamique semble donc être une étude à approfondir en vue de disposer d'un outil de prédiction de l'évolution de l'infection. Pour cela, des prélèvements ont été effectués en 2009 dans des élevages de différents types en 2008. Un outil de prédiction du stade d'infection des élevages pourrait contribuer à plusieurs champs de la fièvre Q, tels que l'épidémio-surveillance, l'étude des scénarios de transmission entre troupeaux ou l'évaluation de l'efficacité de mesures sanitaires.

En conclusion, les élevages caprins « non cliniques » du département A sont majoritairement porteurs et excréteurs de *C. burnetii*. Cette excrétion répandue est cohérente avec l'impact observé sur la santé des troupeaux dans ce secteur. Pour la première fois à notre connaissance, une typologie des élevages vis-à-vis de la fièvre Q a été élaborée. Cette typologie fondée sur les données de sérologie et d'âge des animaux est réalisable facilement à un coût raisonnable. Ce dépistage sérologique *post-partum* peut être pratiqué parallèlement aux campagnes de prophylaxie de maladies réglementées. La typologie construite semble donc être un outil important à explorer en termes de risque d'excrétion à l'échelle du troupeau. La typologie pourrait permettre de repérer les troupeaux excréteurs ou à risque de devenir excréteurs et par conséquent offrir la capacité d'évaluer un risque de contamination de l'environnement et de transmission. La réalisation de typologies serait notamment pertinente dans le cadre des investigations vétérinaires lors de la survenue d'épidémies humaines, où les résultats doivent être rendus rapidement. Toutefois, cette typologie a été définie sur un secteur donné. Si elle était confirmée par les résultats à venir, elle ne serait applicable que dans le contexte épidémiologique où elle aura été validée. Enfin, ces travaux apportent des éléments nouveaux relatifs à l'évaluation de l'exposition des éleveurs à l'agent de la fièvre Q, notamment dans un souci de santé publique. Dans ce sens, elle nous a permis de mettre en place, en partenariat avec la MSA (Mutualité Sociale Agricole), une enquête sérologique auprès des populations en contact direct et habituel avec les élevages de cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

Armengaud A., Kessalis N., Desenclos J. C., Maillot E., Brousse P., Brouqui P., Tixier-Dupont H., Raoult D., Provensal P., Obadia Y. - Une épidémie urbaine de fièvre Q, Briançon, France, mars - juin 1996. *Euro Surveill.*, 1997, **2**, 12-13 (www.eurosurveillance.org).

Arricau-Bouvery N., Rodolakis A. - Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet. Res.*, 2005, **36**, 327-349.

Arricau-Bouvery N., Souriau A., Bodier C., Dufour P., Rousset E., Rodolakis A. - Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine*, 2005, **23**, 4392-4402.

Babudieri B. - Q fever: a zoonosis. *Adv. Vet. Sci.*, 1959, **5**, 82-154.

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

Berri M., Rousset E., Héchard C., Champion J.L., Dufour P., Rodolakis A. - Progression of Q fever and *Coxiella burnetii* shedding in milk after an outbreak of enzootic abortion in a goat herd. *Vet. Rec.*, 2005, **150**, 548-549.

Berri M., Rousset E., Champion J.L., Arricau-Bouvery N., Russo P., Pepin M., Rodolakis A. - Ovine manure used as garden fertiliser as a suspected source of human Q fever. *Vet. Rec.*, 2003, **153**, 269-270.

Caron F., Meurice J.C., Ingrand P., Bourgoin A., Masson P., Roblot P., Patte F. - Acute Q fever pneumonia. *Chest*, 1998, **114**, 808-813.

Carrieri M.P., Tissot-Dupont H., Rey D., Brousse P., Renard H., Obadia Y., Raoult D. - Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2002, **21**, 17-21.

Chaillon A., Bind J.L., Delaval J., Haguenoer K., Besnier J.M., Choutet P. - Epidemiological aspects of human Q fever in Indre-et-Loire between 2003 and 2005 and comparison with caprine Q fever. *Méd. Mal. Infect.*, 2008, **38**, 215- 24.

Champion J.L., Forfait C., Rodolakis A., Rousset E. - Le suivi de fièvre Q dans trois élevages caprins laitiers. *Bull. GTV*, 2004, **27**, 51-58.

De Crémoux R., Baurier F., Beaudeau F., Bendali F., Buret Y., Dion F., Dufour B., Joly A., Languille J., Nicollet P., Rodolakis A., Simon J.L., Thiéry R., Touratier A., Angot M.H., Dufour A. - Moyens de maîtrise de la fièvre Q. Mesures sanitaires et médicales. Journées Nationales des GTV, Nantes, 2007, 157-167.

Goirand L., King L., Colardelle C., Duquesne V., Daurat G., Cicchelero V., de Valk H. - Investigation de cas groupés de fièvre Q. Florac, Lozère, 2007. 69 pages, Ed. INVS, Saint Maurice, 2009 (www.invs.sante.fr).

Guatteo R., Beaudeau F., Joly A., Seegers H. - *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Vet. Res.*, 2007, **38**, 849–860.

Guatteo R., Beaudeau F., Berri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H. - Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.*, 2006, **37**, 827-833.

Hellenbrand W., Breuer T., Petersen L. - Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001, **7**, 789-796.

Lang G.H. - Coxiellosis (Q Fever) in animals. *In :* Q fever, **Vol. 1**, The Disease. Marrie T.J. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, 1990, 23-48.

Maurin M., Raoult D. - Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999, **12**, 518-553.

Million M., Lepidi H., Raoult D. - Fièvre Q: actualités diagnostiques et thérapeutiques. *Med. Mal. Infect.*, 2009, **39**, 82-94.

Nicollet P., Valognes A. - Actualité en matière de diagnostic vétérinaire de la fièvre Q. *Bull. Acad. Vét*. France. 2007, **160**, 290-295 (www.academie-veterinaire-defrance.org).

Raoult D., Tissot-Dupont H., Foucault C., Gouvernet J., Fournier P.E., Bernit E., Stein A., Nesri M., Harle J.R., Weiller P.J. - Q fever 1985-1998 : clinical and epidemiologic features of 1 383 infections. *Medicine (Baltimore)*. 2000, **79**, 109-123.

Rey S., Dennetiere G., Rousset E., Aubert M., Struggar S., Languille J., Tissot-Dupont H., Vaillant V. - Epidémie de fièvre Q dans la vallée de Chamonix (Haute-Savoie), juin-septembre 2002. 64 pages, Ed. INVS, Saint Maurice, 2005 (www.invs.sante.fr).

Rey S., Viannez-Gaide A.M., Saviuc P., Vaillant V., Valenciano M., Capek I. - Investigation sur des cas groupés de fièvre Q. Montoison, Drôme, 2000. 44 pages, Ed. INVS, Saint Maurice, 2003 (www.invs.sante.fr).

Rodolakis A., Aubert M., Arricau-Bouvery N., Rousset E., Delcroix T., Dufour B., La Vieille S., Tissot-Dupont H., Languille J., Tosi J.C., Hattenberger A.M., Eliaszewicz M., Vannier P. - Fièvre Q: rapport sur l'évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants, 44 pages, Ed. Comité d'experts spécialisé «Santé animale» de l'AFSSA, 2004 (http://www.afssa.fr/Documents/SANT-Ra-fievreQ.pdf).

Rousset E., Berri M., Durand B., Dufour P., Prigent M., Delcroix T., Touratier A., Rodolakis A. - *Coxiella burnetii* shedding routes and antibody response after outbreaks of Q fever-induced abortion in dairy goat herds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, **75**, 428- 433.

Rousset E., Durand B., Champion J.L., Prigent M., Dufour P., Forfait C., Marois M., Gasnier T., Duquesne V, Thiéry R. - Efficacité d'un vaccin de phase 1 sur la diminution de l'excrétion vaginale de *Coxiella burnetii* dans un troupeau de chèvres cliniquement infecté. *Renc. Rech. Rum.*, 2008 (http://www.journees3r.fr/).

Rousset E., Duquesne V., Russo P., Aubert M. - Q fever. *In :* Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). Vallat B., Edwards S. (Ed.), OIE, Paris, 2008, 292-303 (http://www.oie.int/Eng/Normes/Mmanual/A_summry.htm).

Rousset E., Duquesne V., Russo P., Thiéry R. - La fièvre Q: problématiques et risques sanitaires. *Bull. Acad. Vét. France*, 2007, **160**, 107-114 (www.academie-veterinaire-defrance.org).

Rousset E., Russo P., Pépin M., Raoult D. - Epidémiologie de la fièvre Q animale. Situation en France. *Méd. Mal. Infect.*, 2001, **31**, 233- 246.

Schimmer B., Dijkstra F., Vellema P., Schneeberger P. M., Hackert V., ter Schegget R., Wijkmans C., van Duynhoven Y., van der Hoek W. - Sustained intensive transmission of Q fever in the South of the Netherlands. *Euro Surveill.*, 2009, **14**, 1-3 (www.eurosurveillance.org).

Schimmer B., Morroy G., Dijkstra F., Schneeberger P.M., Weers-Pothoff G., Timen A., Wijkmans C., Van Der Hoek W. - Large ongoing Q fever outbreak in the South of Netherlands, 2008. *Euro Surveill.*, 2008, **13**, 1-3 (www.eurosurveillance.org).

Thibon M., Villiers V., Souque P., Dautry-Varsat A., Duquesnel R., Ojcius D.M. - High incidence of *Coxiella burnetii* markers in a rural population in France. *Eur. J. Epidemiol.*, 1996, **12**, 509- 513.

Tissot-Dupont H. - La fièvre Q humaine. *Bull. Acad. Vét. France*, 2007, **160**, 297-302 (www.academie-veterinaire-defrance.org).

Tissot-Dupont H, Vaillant V., Rey S., Raoullt D. - Role of sex, age, previous valve lesion, and pregnancy in the clinical expression and outcome of Q fever after a large outbreak. *Clin. Infect. Dis.*, 2007, **44**, 232-237.

Tissot-Dupont H., Amadei M.A., Nezri M., Raoult D. - Wind in November, Q fever in December. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, **10**, 1264-1269.

Tissot-Dupont H., Torres S., Nezri M., Raoult D. - Hyperendemic focus of Q fever related to sheep and wind. *Am. J. Epidemiol.*, 1999, **150**, 67-74.

Tissot-Dupont H., Thirion X., Raoult D. - Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 1994, **1**, 189-196.

Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénet J.J., Ellis P., Moutou F., Louza A. - Chapitre III: Les enquêtes en épidémiologie descriptive. *In :* Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. (Ed.), AEEMA, Maisons-Alfort, 2001, 111-113.

Ughetto E., Gouriet F., Raoult D., Rolain J.M. - Three years experience of real-time PCR for the diagnosis of Q fever. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2009, Online.

Remerciements

Nous tenons à remercier Michel Kouji et ses collaborateurs pour leur investissement de qualité, ainsi qu'Aurélie Del Cont pour sa contribution technique rigoureuse d'une partie des analyses de PCRq. Egalement, cette étude n'aurait pu voir le jour sans les éleveurs qui collaborent avec les GDS et l'AFSSA Sophia-Antipolis depuis plusieurs années, nous tenons à les remercier sincèrement pour leur soutien et leur disponibilité. Enfin, nous souhaitons remercier tout particulièrement Benoit Durand, épidémiologiste à l'AFSSA Maisons-Alfort, pour son aide dans l'élaboration du plan d'échantillonnage de l'enquête sérologique.

View publication stats