

LA FIÈVRE Q : PROBLÉMATIQUES ET RISQUES SANITAIRES

Q FEVER: PROBLEMS AND HEALTH RISKS

Par Élodie ROUSSET⁽¹⁾, Véronique DUQUESNE, Pierre RUSSO et Richard THIÉRY
(communication présentée le 21 décembre 2006)

RÉSUMÉ

La fièvre Q est une zoonose causée par *Coxiella burnetii*. Les ruminants domestiques sont les réservoirs principaux à l'origine de la contamination de l'homme car les femelles infectées excrètent la bactérie dans les produits de mises bas, le lait et les fèces. Plusieurs études contribuent à décrire l'évolution naturelle de l'excrétion bactérienne par les ruminants domestiques. Un avis de l'AFSSA a présenté un état des lieux sur les risques de la fièvre Q et sur les mesures raisonnées et applicables dans les troupeaux ovins, bovins et caprins infectés (Rodolakis *et al.* 2004). Les recherches vétérinaires visent à limiter la contamination de l'environnement et de la population. L'enjeu actuel majeur est de déterminer les meilleures démarches de diagnostic et de mettre en œuvre des plans de maîtrise. La vaccination apparaît être un moyen de lutte primordial contre la fièvre Q. Un vaccin inactivé de phase I, dont l'efficacité préventive a été démontrée expérimentalement, peut être employé depuis 2004 en France. Les études en cours permettront une évaluation de ce vaccin dans les élevages.

Mots-clés : fièvre Q, *Coxiella burnetii*, ruminant, santé publique.

SUMMARY

Q fever is a zoonosis caused by Coxiella burnetii. Domestic ruminants are the main reservoirs for human contamination, as infected female ruminants shed the bacteria in parturition products, milk and faeces. Several studies describe the natural evolution of bacterial shedding by domestic ruminants. AFSSA proposed recommendations on Q fever risks and on reasoned measures applicable to infected sheep, cattle, and goat herds (Rodolakis et al. 2004). Veterinary researches for the disease are designed to limit the contamination of the environment and of the population. The major challenge is to determine the best diagnostic strategies and to implement control programs. Vaccination appears to be the best way to combat Q fever. A phase I inactivated vaccine, whose preventive efficacy has been experimentally demonstrated, is authorised in France since 2004. Several research teams and professional organisations are currently evaluating the benefit of this vaccine in herds.

Key words: Q fever, *Coxiella burnetii*, ruminant, public health.

(1) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, AFSSA Sophia-Antipolis.

INTRODUCTION

La fièvre Q est à la fois une zoonose et une maladie du bétail. Les réservoirs principaux étant les ruminants domestiques, les filières bovine, ovine, caprine et laitière sont soucieuses de la qualité sanitaire de leurs produits et du risque de contamination de l'environnement et de la population. La fièvre Q est connue depuis longtemps par les scientifiques. Pourtant, elle demeure une affection préoccupante et extrêmement difficile à maîtriser dans les élevages. Son épidémiologie est complexe et sa distribution est assez généralisée. Les praticiens vétérinaires se sentent démunis et les gestionnaires sont confrontés à de grandes difficultés pour mettre en place des actions efficaces.

L'incidence de cette infection bactérienne en santé publique est sous-estimée. Elle est rarement une Maladie à Déclaration Obligatoire (MDO) au plan national dans la plupart des pays. En France par exemple, la fièvre Q est une maladie professionnelle du régime général et du régime agricole mais n'est pas recherchée systématiquement. De plus, les médecins généralistes ont du mal à orienter le diagnostic rapidement, par méconnaissance mais surtout du fait de la grande variabilité des manifestations cliniques. Pourtant grâce à la sérologie, le diagnostic des patients malades est fiable et le traitement, même s'il est long et très contraignant, est efficace. Néanmoins, un nouveau problème émerge : des souches de *C. burnetii* résistantes à la doxycycline (Vibramycine®), principal antibiotique employé, ont été mises en évidence récemment (Rolain *et al.* 2005). Le seul vaccin existant est le vaccin australien Q-Vax® (CSL Ltd²). La vaccination préventive n'est réalisable que pour les individus n'ayant jamais été en contact avec l'agent de la fièvre Q, ce qui apparaît inapproprié en France où la prévalence est plutôt élevée.

Fin 2004, le groupe d'experts en Santé Animale de l'AFSSA a rendu un avis sur l'évaluation des outils de gestion des risques en élevage de ruminants (Rodolakis *et al.* 2004). Ce rapport a notamment permis de disposer d'un état des lieux exhaustif sur les connaissances et d'identifier les pistes de recherches prioritaires. L'objet de cette revue est de situer les caractéristiques de l'agent causal, de l'infection animale et des modalités de transmission, et de faire le point sur l'actualité des problématiques vétérinaires, plus particulièrement en France, au travers des actions menées pour améliorer le contrôle de la fièvre Q, sur les outils de diagnostic disponibles et les moyens de lutte envisagés dans les élevages.

APERÇU SUR LA FIÈVRE Q

Agent causal

L'agent responsable de la fièvre Q a été identifié en Australie entre 1935 et 1938 (McDade 1990). Suite à sa découverte, les études ont porté sur tous les aspects sur lesquels les chercheurs se penchent encore aujourd'hui. Une première synthèse détaillée, intégrant l'analyse de plus de 560 publications scientifiques, avait été éditée en 1959 (Babudieri 1959).

(2): Commonwealth Serum Laboratories.

L'agent bactérien, *Coxiella burnetii*, présente des caractéristiques similaires à celles des Rickettsies : bactérie à Gram négatif, de très petite taille dans le monde bactérien, intracellulaire et pouvant être véhiculée par les tiques. Néanmoins phylogénétiquement, cette bactérie est classée dans un groupe très éloigné du genre *Rickettsia* : *C. burnetii* est proche du genre *Legionella* et est la seule espèce de son genre (tableau 1).

| <i>Coxiella burnetii</i> | |
|---------------------------|-----------------------------|
| Règne | Bactérie |
| Embranchement (ou Phylum) | Proteobacteria |
| Classe (ou Groupe) | <i>Proteobacteria Gamma</i> |
| Ordre | <i>Legionellales</i> |
| Famille | <i>Coxiellaceae</i> |
| Genre | <i>Coxiella</i> |
| Espèce | <i>C. burnetii</i> |

Tableau 1 : Classification taxonomique actuelle de la bactérie *Coxiella burnetii* (Adapté du Bergey's manual of Systematic Bacteriology, 2th ed, 2003).

La bactérie *C. burnetii* est intracellulaire, elle se multiplie exclusivement à l'intérieur d'une cellule. Les principales cellules cibles sont les macrophages localisés dans les tissus (lympe et ganglions lymphatiques, rate, foie, poumons...) et les monocytes circulant du sang (Baca & Paretsky 1983).

D'une part, cette vie intracellulaire dans une niche protégée et la division asymétrique des cellules infectées sont à la base de la persistance de *C. burnetii* chez l'hôte. D'autre part, la bactérie semble apte à induire la mort programmée (ou apoptose) des macrophages (Zamboni & Rabinovitch, 2004). De nouveaux macrophages phagocytent les débris des macrophages morts et peuvent alors être infectés par *Coxiella*. Ce phénomène conduit à favoriser l'infection (Gao & Kwai, 2000).

Le lipopolysaccharide (LPS) exposé à la surface des bactéries est un antigène immunodominant. Ce LPS est soumis à une variation de phase, observée *in vitro* et causée par une délétion de gènes dans le chromosome, donc irréversible. Le LPS complet de phase I devient un LPS incomplet (ou tronqué) de phase II.

Seule la forme portant un LPS de phase I présente un fort pouvoir infectieux. Une population homogène de bactéries en phase II est avirulente et ne peut pas être retrouvée dans un organisme hôte. Cet antigène n'est donc pas utilisé pour le sérotypage de souches. En revanche, la recherche des anticorps peut être réalisée contre l'une ou les deux formes antigéniques.

Plusieurs formes morphologiques de *C. burnetii* ont été décrites (Heinzen *et al.* 1999; Coleman *et al.* 2004). Ces formes sont de grande (LCV, « Large Cell Variant ») ou de petite taille (SCV,

«*Small Cell Variant*»; SDC, «*Small Dense Cell*»; SPL, «*Spore Like Particle*»).

Elles sont associées à différents stades du cycle de développement de *C. burnetii*: multiplication plus ou moins active et dormance. Un cycle de développement comparable est connu chez quelques rares autres bactéries à Gram négatif, telles que *Chlamydomphila*, *Anaplasma* et *Rickettsiella*. D'autres termes qualifient les petites formes (corps élémentaires, corps initiaux...). La pseudo-spore de *C. burnetii* est une forme petite et compacte. La paroi est épaisse, *a priori* sans LPS de surface. Elle est retrouvée à l'intérieur de la cellule infectée ou en condition extracellulaire.

Cet état végétatif (ou dormance) confère à la bactérie une résistance élevée et une persistance durable dans l'environnement et dans certains tissus de l'hôte. Comme les spores des bactéries à Gram positif, cette forme est apte à se multiplier à nouveau si elle se retrouve dans des conditions favorables (Coleman *et al.* 2004). Formes les plus probables à l'origine de la plupart des infections naturelles, elles sont donc d'une importance cruciale en prophylaxie d'hygiène.

Ces dernières années, l'accessibilité à la séquence complète du génome d'une souche de référence (Seshadri *et al.* 2003) a suscité un essor considérable des recherches utilisant les outils de la biologie moléculaire. Actuellement, plusieurs autres souches sont en cours de séquençage (www.tigr.org). Ces connaissances sont essentielles pour le développement de vaccins et d'outils de diagnostic, y compris pour le typage des souches.

Infection chez les animaux

La fièvre Q peut atteindre un grand nombre d'espèces animales, domestiques et sauvages, notamment les mammifères (ruminants, chiens, chats, lapins, petits rongeurs), les oiseaux et les arthropodes (Lang 1990). L'OIE (Office International des Épidémiologies) classe la fièvre Q dans la liste B des maladies multi-espèces (Rousset *et al.* 2004).

Les ruminants domestiques sont considérés comme le réservoir principal de l'infection (Lang 1990; Arricau-Bouvery & Rodolakis, 2005). La fièvre Q a été mise en évidence sur notre territoire durant les années 1970-80 (Rousset *et al.* 2001). Au plan épidémiologique, le taux d'infection des animaux ou des cheptels est très variable

Lors de la contamination, les macrophages sont les premières cellules infectées. À la faveur d'une dissémination par le sang et le système lymphatique, d'autres organes peuvent être infectés.

L'infection est généralement persistante dans l'organisme. Elle sera inapparente ou clinique en fonction de l'équilibre entre la virulence de la bactérie et les défenses de l'hôte. En l'occurrence, un état immunodéprimé favorise l'expression du pouvoir pathogène de la bactérie. Chez les mammifères femelles, la bactérie possède un tropisme privilégié pour l'utérus et les glandes mammaires.

Les troubles de la reproduction constituent le principal tableau clinique et le taux d'avortements dans les élevages ovin et caprin peut avoir un impact économique sévère. Une multiplication importante de *C. burnetii* se produit dans le placenta: les cotylédons placentaires et les zones intercotylédonaires présentent des lésions plus ou moins marquées.

Excrétion bactérienne par les ruminants domestiques

Les femelles infectées excrètent la bactérie par les produits de la parturition et les sécrétions vaginales, par le lait et par les fèces. Ces dernières années, les recherches, principalement françaises, ont contribué à mieux connaître ces trois voies d'excrétion, mais il est encore difficile de tirer des conclusions sur l'évolution de l'excrétion de *C. burnetii* par chaque espèce de ruminants (Arricau-Bouvery & Rodolakis, 2005).

La bactérie est généralement retrouvée dans le lait pendant plus de temps chez les bovins (13 mois) que chez les petits ruminants (trois mois chez la chèvre et huit jours chez la brebis) (Berri *et al.* 2005; Arricau-Bouvery & Rodolakis, 2005). Toutefois dans un élevage, la bactérie était encore présente dans le lait d'une chèvre, à un taux de 10^3 bactéries/mL, 16 mois après la mise-bas (J.L. Champion *et al.* données non publiées). Cette chèvre en lactation longue avait effectué une pseudogestation.

Un épisode d'avortements dus à la fièvre Q dans un élevage signe *a fortiori* un nombre élevé d'animaux excréteurs. Sur 242 vaches, dans 31 élevages en période post-abortive, la même proportion de 45 % excrétaient la bactérie par au moins une des trois voies, qu'elles aient avorté ($n = 46$) ou non ($n = 196$) (Guatteo *et al.* 2006). Sur 280 vaches issues de cinq élevages infectés de manière chronique, et suivies durant six mois, ce taux était de 23 % (Beaudeau *et al.* 2006). Il ne serait cependant pas corrélé à l'intensité des signes cliniques: par exemple, dans un élevage caprin, il était de 28 % dans le mois suivant un épisode de 30 % d'avortements causés par *Coxiella*, puis de 94 % lors de la saison de mise-bas suivante, alors que 9 % des femelles seulement avaient avorté ou délivré des mort-nés (Berri *et al.* 2006).

L'analyse du lait de tank a été utilisée pour permettre une surveillance des élevages bovins aux États-Unis (Kim *et al.* 2005). Une prévalence 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* par le lait semble plus fréquente chez les bovins que chez les petits ruminants.

La charge bactérienne d'un placenta est souvent très élevée: une concentration de 10^9 bactéries/g de tissu a été mesurée dans le placenta d'une brebis sans qu'il y ait eu d'avortement (Welsh *et al.* 1951; Babudieri 1959). Kim *et al.* (2005) 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 a été estimée entre 10^1 et 10^4 bactéries/mL et était stable durant les cinq semaines pour chacune des vaches. Beaudeau *et al.* (2006) ont détecté une concen-

tration moyenne de 10^4 bactéries/mL dans le lait, de 10^3 bactéries/mL dans les sécrétions vaginales et assez faible dans les matières fécales. 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, de 3 et de 19 % (Beaudeau *et al.* 2006). Lorsqu'une vache excrétrait 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, de 21 et de 24 % (Guatteo *et al.* 2006), 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.

Modalités de transmission chez les animaux

La voie respiratoire est le mode de transmission le plus habituel : l'inhalation de 10 bactéries peut provoquer une infection. Les mises-bas génèrent un risque maximal de diffusion de la bactérie. Une fois excrétées, les pseudo-spores sont capables de persister dans l'environnement plus de 100 jours (Welsh *et al.* 1957; Babudieri 1959) et peuvent être transportées par le vent sous forme d'aérosols sur une distance de plus de 40 km (Tissot-Dupont *et al.* 2004).

Chez les ruminants, la transmission par voie transplacentaire n'a pas forcément lieu. Des données expérimentales montrent que si les tissus d'avortons et de mort-nés sont bien infectés (65 % des rates et 92 % des foies), ce n'est pas le cas pour les nouveau-nés viables dont les mères étaient infectées (Arricau-Bouvery *et al.* 2005). Néanmoins, les jeunes peuvent s'infecter rapidement après leur naissance. Récemment, nous avons observé que 24 % ($n = 41$) de chevrettes, issues de 4 élevages différents, excrétaient un nombre significatif de bactéries par la voie vaginale (plus de 100 bactéries par écouvillon), alors qu'elles n'étaient âgées que de quatre à six mois (J.L. Champion *et al.*, données non publiées).

Les centres d'insémination s'interrogent sur la possibilité de transmission par le sperme. La transmission sexuelle a été démontrée chez des animaux de laboratoire et il a été possible, à partir d'une semence de taureau naturellement infecté, d'isoler la bactérie par inoculation à la souris (Kruszewska & Tylewska-Wierzbanska 1997).

La transmission inter-animale de la fièvre Q par les tiques est considérée mineure ou conséquente selon les pays. Enfin, la voie orale doit être un mode important. Par exemple, on suppose que les animaux se contaminent par léchage ou ingestion des produits de la parturition.

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

Transmission à l'homme

Comme pour les animaux, la voie aérienne est le mode de transmission prédominant. Le risque de contamination humaine concerne principalement les populations exposées dans les élevages de ruminants et aux activités annexes.

Dans l'état actuel des connaissances, la contamination par la voie alimentaire reste encore controversée car la dose infectieuse requise est assez méconnue. Cependant, cette voie suscite certaines précautions pour protéger les consommateurs (Rodolakis *et al.* 2004). Des études anciennes ont montré qu'une séroconversion était possible après ingestion de lait cru contaminé, par des personnes volontaires, en l'absence de tout symptôme. D'autres produits alimentaires devraient être considérés. En effet, une équipe japonaise a mis en évidence la présence de Coxielles dans des œufs du commerce, qui se sont avérées infectieuses après inoculation à la souris (Tatsumi *et al.* 2006).

CONTRÔLE VÉTÉRINAIRE

Faits marquants de la fièvre Q en France

La fièvre Q a suscité des inquiétudes en tant que zoonose vers la fin des années 1990. D'un côté, le Centre National de Référence (CNR) mettait en exergue le problème sanitaire de la fièvre Q en France (Fishbein & Raoult 1992; Armengaud *et al.* 1997; Tissot-Dupont *et al.* 1999; Maurin & Raoult 1999; Raoult *et al.* 2000). De l'autre, les filières ovine et caprine soulevaient le manque de moyens pour contrôler les cheptels et la qualité de leurs produits.

À partir de 1998, plusieurs organismes vétérinaires se sont investis dans un programme de recherches financé par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). L'issue majeure de ces travaux a été l'obtention d'une Autorisation Transitoire d'Utilisation (ATU) en 2004 pour le vaccin Coxevac® (CEVA, Hongrie).

Les recherches effectuées par l'INRA, en relation avec les industriels, ont permis la mise sur le marché français, de nouveaux outils de diagnostic vétérinaire, depuis deux à trois ans. La détection moléculaire par PCR est de plus en plus utilisée. Néanmoins, des problèmes liés à la sérologie subsistent.

Ces dernières années, la fièvre Q connaît un regain d'intérêt encore plus soutenu. Tout d'abord, au cours de l'été 2002, une épidémie humaine majeure de fièvre Q est survenue dans la vallée de Chamonix (Rousset *et al.* 2003; Rey *et al.* 2005). L'enquête a révélé le manque de moyens pour gérer cette situation de crise, comme cela avait été déjà le cas lors d'un épisode humain plus discret à Montoisson en 2001 (Rey *et al.* 2003).

Mais cette enquête a été exemplaire dans le sens où une réelle dynamique au plan national a été générée. La Direction Générale de la Santé (DGS) et la DGAL ont travaillé de manière concertée. La DGAL a ensuite saisi l'AFSSA pour l'appréciation et la gestion du risque de la fièvre Q (Rodolakis et al. 2004).

Depuis 2006, à la demande des professionnels et de la DGAL, un groupe de travail sur la fièvre Q est piloté par l'Association pour la Certification de la Santé Animale en Élevage (ACERSA). Il a pour mission d'étudier comment établir un cahier des charges de la maîtrise de la fièvre Q en France, dans les élevages (bovins, ovins, caprins) confrontés à des cas cliniques. Dans ce cadre, le coût, l'aspect pratique de mise en œuvre sur le terrain et le niveau de garantie doivent être définis.

Plusieurs pays européens ont progressivement rejoint les actions menées conjointement par l'AFSSA et la Veterinary Laboratory Agency (VLA) en Angleterre. Une première rencontre a eu lieu dans le cadre d'échanges sur les « zoonoses orphelines » en 2002. Depuis début 2006, sept pays européens participent au réseau d'excellence « MedVetNet » (www.medvetnet.org), financé par l'Union Européenne, pour permettre une meilleure harmonisation des réflexions et des moyens sur la fièvre Q.

Outils pour la recherche de la fièvre Q chez les ruminants

Outils sérologiques

Deux techniques dominent actuellement le diagnostic sérologique : la fixation du complément (FC) et l'ELISA. D'après les données dont l'AFSSA Sophia-Antipolis dispose en tant qu'organisateur des Essais Inter-Laboratoires d'Aptitude (EILA) en sérologie pour la fièvre Q, le test FC est de moins en moins utilisé dans les laboratoires départementaux d'analyses, au profit de la technique ELISA. Le test FC est peu sensible. Les résultats obtenus par ELISA sont plus précis et l'automatisation de la technique est possible (Rousset et al. 2007).

Trois tests commerciaux ELISA sont disponibles en France. Les laboratoires de diagnostic sur le terrain sont confrontés à une diversité de tests, dont les résultats sont fréquemment divergents. Ces tests sont capables de détecter les anticorps contre un mélange de bactéries de phase I et de phase II. D'après nos résultats préliminaires, la spécificité des trois tests est de 100 %. En revanche, le test utilisant une souche de terrain présente une sensibilité supérieure et permet une détection nettement plus précoce de l'infection. Pour ce test, les seuils recommandés par le fabricant semblent bien définis (E. Rousset, données non publiées).

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est rarement utilisée en diagnostic vétérinaire en France. Toutefois, le test de référence du CNR peut être employé pour certaines études. La particularité de ce test est d'être capable de donner plusieurs résultats

| Titre anticorps Phase II | | Titre anticorps Phase I | Interprétation |
|--------------------------|------|-------------------------|-------------------------------|
| IgG | IgM | IgG | |
| < 200 | | | Absente ou ancienne |
| > 200 | > 50 | | Aiguë (avec ou sans symptôme) |
| | | > 1600 | Chronique |

Tableau 2 : Grille d'interprétation des résultats obtenus par immunofluorescence indirecte (IFI) de phases I et II au Centre National de Référence (CNR) de Marseille (Adapté de la publication de Tissot et al. 1994). Les résultats sont donnés en titres anticorps de types IgG et IgM dirigés contre la phase I et la phase II de *C. burnetii*. Les anticorps IgG anti-phase II sont présents tout au long de l'infection. Des traces d'anticorps en IgG anti-phase II en absence d'IgM indique une infection qui peut remonter jusqu'à 10 ans. Un titre supérieur à 50 en IgM signe une primo-infection (fièvre Q aiguë). Un titre élevé d'anticorps anti-phase I signe une forme chronique de la maladie. Ce test permet de distinguer la fièvre Q aiguë de la fièvre Q chronique et ainsi, d'adapter et suivre le traitement du patient, et de surveiller les personnes à risques et/ou suspectées d'avoir été exposées à l'agent de la fièvre Q.

tats sur un même sérum (tableau 2). L'adaptation aux ruminants de ce test est en cours à l'AFSSA Sophia-Antipolis. Les résultats préliminaires (chez les caprins) indiquent que le stade de l'infection peut être déterminé en fonction du rapport des titres en anticorps de types IgM/IgG anti-phase II (E. Rousset, données non publiées).

Outils bactériologiques

Trois méthodes très différentes sont possibles : isolement et culture d'une souche, coloration des bactéries et détection de l'ADN bactérien (Rousset et al. 2004 ; Rodolakis et al. 2004).

La détection spécifique de *C. burnetii* par PCR (« polymerase chain reaction ») 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 (tissus, laits, fromages...).

Plusieurs tests sont actuellement à la disposition des laboratoires départementaux. Ils permettent non seulement l'amplification

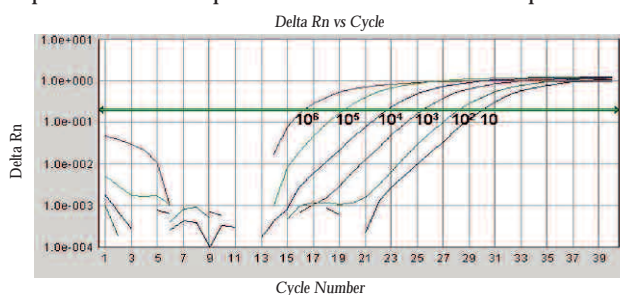


Figure 1 : Résultats bruts obtenus par PCR en temps réel sur une gamme d'ADN extrait de bactéries de *Coxiella burnetii* purifiées et dénombrées (10^6 à 10^1 bactéries par PCR). Les courbes représentent l'augmentation de la fluorescence émise au cours des cycles d'amplification. Cette fluorescence est spécifique de la cible et directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés. Plus l'apparition de la fluorescence est précoce, plus le nombre de cycles d'amplification pour visualiser cette fluorescence est faible, et plus la quantité de germes dans l'échantillon est importante. Grâce à une gamme de bactéries dénombrées, les résultats peuvent être exprimés en nombre de bactéries par gramme de tissu, par écouvillon ou par ml.

de gènes spécifiques de *C. burnetii*, signant la présence de l'agent, mais également la quantification de la bactérie. La technique de PCR dite en "temps réel" est de plus en plus utilisée. Une sonde fluorescente spécifique du gène ciblé permet de suivre l'évolution de la réaction (figure 1).

Les gènes ciblés ont été nombreux au cours de ces dernières années, mais celui qui est le plus utilisé est le transposon *IS1111a*. Plusieurs copies de cette séquence sont présentes au sein du génome de *Coxiella*, ce qui permet d'augmenter la sensibilité de la méthode. Récemment, une étude a montré que le nombre de *IS1111a* pouvait varier de 7 à 110 copies en fonction des isolats (Klee *et al.* 2006). Si l'utilisation de ce gène cible augmente la sensibilité des méthodes de détection, elle pourrait devenir une source d'erreur lorsqu'une quantification absolue est nécessaire.

Diagnostic clinique

En cas d'avortement, le recours à un diagnostic différentiel est essentiel. Les prélèvements de choix sont ceux issus de l'avortement (placenta, écouvillons vaginaux, tissus d'avorton). La détection directe de *C. burnetii* par PCR quantitative est conseillée, de manière à comparer la charge de *C. burnetii* par rapport aux autres pathogènes abortifs recherchés. Le seuil de 10^4 bactéries par gramme de tissu ou par écouvillon a été retenu récemment par le groupe de travail de l'ACERSA pour établir le diagnostic de la fièvre Q en cas d'avortement chez les ruminants. La sérologie peut être utilisée en complément. Des recommandations détaillées devraient être prochainement publiées par l'ACERSA.

Dépistage

Un grand nombre de pays se sont intéressés à estimer la prévalence dans des zones limitées, souvent suite à la survenue de foyers cliniques humains (Lang 1990; Maurin & Raoult 1999; Arricau-Bouvery & Rodolakis 2005). À l'exception de la Nouvelle Zélande (Hilbink *et al.* 1993), aucun pays n'a réalisé une surveillance animale au plan national, fort probablement en raison du manque de méthodologies standardisées (échantillonnage, techniques,...).

La situation épidémiologique a été approchée surtout par la séroprévalence. La séropositivité signifie que l'animal a été en contact avec l'agent de la fièvre Q depuis plus ou moins longtemps. À l'inverse, la PCR détecte la présence immédiate de *C. burnetii* dans les échantillons. À part une étude sur des laits de tank bovins aux États-Unis (Kim *et al.* 2005), le dépistage des animaux et/ou des cheptels excréteurs est rarement mis en œuvre. Il est important de noter qu'une nette sous-estimation du nombre réel d'excréteurs bovins est obtenue si une seule voie d'excrétion est prise en compte (Guatteo *et al.* 2006; Beaudou *et al.* 2006). Des résultats similaires seront prochainement rapportés chez les caprins (E. Rousset, données non publiés).

Cas du lait cru

En France, la réglementation interdit la commercialisation du lait cru et de ses dérivés provenant d'élevages atteints de

fièvre Q (Arrêté du 8 août 1985 et Note de service DGA/N2004-8055 du 10 février 2004). La réglementation française impose la pasteurisation du lait (pasteurisation basse à 72 °C pendant 15 secondes donnant lieu à 11 réductions décimales de *C. burnetii*). Cette mesure ne peut être levée tant que le lait de l'élevage est contaminé par la bactérie. Une analyse répétée à 15 jours d'intervalle est recommandée. La pasteurisation du lait peut être arrêtée si deux résultats négatifs en PCR sont obtenus (Note de la DGA du 10 février 2004). Pour l'instant, aucun seuil minimal de contamination n'a été défini.

La valeur informative de la PCR est encore insuffisante pour les produits laitiers. Il est en effet difficile d'assurer que le prélèvement n'a pas été contaminé par l'environnement et la technique détecte la présence d'ADN de bactéries aussi bien mortes que vivantes.

Un test de viabilité rapide apparaît crucial pour évaluer le taux de bactéries viables dans le lait cru et dérivés, mais aussi les procédures de décontamination (traitement du fumier, destruction des placentas, microbicides en L3,...). Des projets dans ce sens, pilotés par différentes équipes françaises, ont vu récemment le jour.

Vers des outils de typage des souches

Le typage des souches et isolats de *C. burnetii* est fondamental pour la mise en relation des différents isolats présents dans les infections naturelles et pour la compréhension des voies de transmission. En situation épidémique, ce type d'outil permet d'identifier une source de contamination et donc, de pouvoir prendre les mesures appropriées.

En 1990, les premiers profils en champ pulsé sont apparus (Heinzen *et al.* 1990). Vingt profils différents ont pu être observés après une digestion de l'ADN par l'enzyme de restriction NotI. Cette méthode, nécessitant l'isolement de la souche et sa purification, n'est pas un outil facile à développer pour cet agent, contrairement aux bactéries poussant sur support inerte. La comparaison des profils n'est pas toujours aisée. La présence de plasmides (quatre types différents) chez *Coxiella burnetii*, a permis de définir cinq groupes (I à V). Certains groupes sont plutôt rencontrés chez des isolats de patients atteints de la forme aiguë de la maladie (groupes I, II et III), les autres chez des patients ayant une forme chronique (Valkova & Kazar 1995). Une autre hétérogénéité limitée a été également observée sur un certain nombre de gènes testés (Zhang *et al.* 1997; Sekeyova *et al.* 1999; Nguyen & Hirai 1999). Récemment, à partir des données obtenues par le séquençage entier du génome de *C. burnetii*, une méthode basée sur l'analyse de régions répétées en tandem (VNTR, « variable number tandem repeats ») et une autre basée sur le séquençage de régions intergéniques (MST, « multispacer sequence typing ») ont permis l'étude plus fine de certaines souches (Seshadri *et al.* 2003; Glazunova *et al.* 2005; Svraka *et al.* 2006; Arricau-Bouvery *et al.* 2006).

Dans le but de mener les études sur le typage, une échantillonnage est nécessaire. À l'initiative de l'AFSSA Sophia-

Antipolis, un réseau de collecte de prélèvements potentiellement positifs en *C. burnetii* est en train de se constituer. À ce jour, plus d'une vingtaine de laboratoires départementaux, répartis sur le territoire français, est susceptible de contribuer à ce réseau.

Moyens de lutte disponibles chez les ruminants

Mesures d'hygiène et traitement

Les mesures visent les différentes sources potentielles de contamination, notamment en cas d'avortement ou de foyer excréteur avéré (Rodolakis *et al.* 2004). À l'heure actuelle, les mesures d'hygiène sont proposées au cas par cas, sans réelle garantie d'efficacité. Néanmoins, une liste exhaustive des mesures sera prochainement proposée par l'ACERSA.

Un traitement antibiotique visant à diminuer l'excrétion de la bactérie par les femelles infectées est souvent pratiqué, mais son efficacité reste à démontrer. La possible émergence d'une antibiorésistance à la doxycycline, liée à la pression antibiotique chez le bétail, a été évoquée (Rolain *et al.* 2005).

Vaccination

Un vaccin de Phase II a été élaboré contre la fièvre Q des bovins et ovins et mis sur le marché en 1982. Dans les pays de l'Est, les Slovaques ont mis en place un programme de vaccination de grande ampleur chez les bovins dans les années 1970 et 80 (Serbezov *et al.* 1999). Ce vaccin, constitué de bactéries en phase I inactivées, a été évalué et comparé au vaccin disponible en

France (Arricau-Bouvery *et al.* 2005). Dans les conditions expérimentales, le vaccin de phase I protège efficacement les chèvres contre l'avortement. Aucun prélèvement de lait n'a été retrouvé positif chez les 12 chèvres du lot vacciné avec le vaccin de phase I, puis éprouvé avec *C. burnetii*. Les excréctions vaginales et fécales ont été considérablement réduites en durée et en charge bactérienne. En revanche le vaccin de phase II s'est révélé à la fois non protecteur et sans effet sur l'excrétion.

La démonstration de l'efficacité du vaccin de phase I contre l'avortement et l'excrétion de *C. burnetii* constitue un progrès majeur. À présent, la vaccination est mise à l'épreuve dans les conditions du terrain. Une diminution progressive de la pression bactérienne dans les troupeaux est attendue. Cependant, ces études en élevages sont longues.

CONCLUSION

La lutte contre la fièvre Q, zoonose « orpheline », requiert encore des efforts considérables. L'enjeu majeur est de déterminer l'intérêt d'une prophylaxie vaccinale par rapport à des mesures simples et à l'évolution naturelle de l'infection. La mise en commun des expertises et des connaissances obtenues est nécessaire. À l'heure actuelle, l'implication des différentes structures concernées (professionnels de l'élevage, vétérinaires, laboratoires d'analyses, laboratoires de recherche) dénote d'une volonté importante d'améliorer la maîtrise de la fièvre Q. Plusieurs groupes de travail et projets vont dans ce sens en France et en Europe.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à adresser leurs remerciements tout particulièrement à Jean Luc Champion pour sa précieuse collaboration sur les études en élevage, Philippe Dufour et Myriam Prigent pour leur importante contribution technique à l'AFSSA Sophia-Antipolis, ainsi qu'à Josée Vaissaire pour ses observations sur la rédaction de cet article.

BIBLIOGRAPHIE

- Armengaud, A., Kessalis, N., Desenclos, J.-C., Maillot, E., Brousse, P., Brouqui, P., Tissot-Dupont, H., Raoult, D., Provencal, P., Obadia, Y., Renard, H., 1997. Épidémie urbaine de fièvre Q à Briançon. Mars à juin 1996. Enquête cas/témoins. *Eurosurveillance* 2: 1-11.
- Arricau-Bouvery, N., Hauck, Y., Bejaoui, A., Frangoulidis, D., Bodier, C.C., Souriau, A., Meyer, H., Neubauer, H., Rodolakis, A., Vergnaud, G., 2006. Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. *BMC Microbiol.* 6: 38.
- Arricau-Bouvery, N., Rodolakis, A., 2005. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet Res.* 36: 327-349.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Bodier, C., Dufour, P., Rousset, E., Rodolakis, A., 2005. Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine* 23: 4392-4402.
- Babudieri, B., 1959. Q fever: a zoonosis. *Adv Vet Sci*; 5: 82-154.
- Baca, O.G., Paretzky, D., 1983. Q fever and *Coxiella burnetii*: a model for host-parasite interactions. *Microbiol Rev.* 47: 127-149.
- Beaudeau, F., Guatteo, R., Seegers, H., 2006. 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: 1-4.
- Berri, M., Rousset, E., Champion, J.-L., Russo, P., Rodolakis, A., 2006. Goats may experience reproductive failures and shed *Coxiella burnetii* at two successive parturitions after a Q fever infection (accepté pour publication). *Res Vet Sci.*
- Berri, M., Rousset, E., Héchar, C., Champion, J.-L., Dufour, P., Rodolakis, A., 2005. Progression of Q fever and *Coxiella burnetii* shedding in milk after an outbreak of enzootic abortion in a goat herd. *Vet Rec.* 150: 548-549.
- Coleman, S.A., Fischer, E.R., Howe, D., Mead, D.J., Heinzen, R.A., 2004. Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *J Bacteriol.* 186: 7344-7352.
- Fishbein, D.B., Raoult, D., 1992. A cluster of *Coxiella burnetii* infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. *Am J Trop Med Hyg.* 47: 35-40.
- Gao, L.Y., Kwak, Y.A., 2000. The modulation of host cell apoptosis by intracellular bacterial pathogens. *Trends Microbiol.* 8: 306-313.

- Glazunova, O., Roux, V., Freylikman, O., Sekeyova, Z., Fournous, G., Tyczka, J., Tokarevich, N., Kovacava, E., Marrie, T.J., Raoult, D., 2005. *Coxiella burnetii* genotyping. Emerg Infect. Dis. 11: 1211-1217.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Berri, M., Rodolakis, A., Joly, A., Seegers, H., 2006. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet Res. 37: 827-833.
- Heinzen, R.A., Hackstadt, T., Samuel, J.E., 1999. Developmental biology of *Coxiella burnetii*. Trends Microbiol. 7: 149-154.
- Heinzen, R.A., Stiegler, G.L., Whiting, L.L., Schmitt, S.A., Mallavia, L.P., Frazier, M.E., 1990. Use of pulsed field gel electrophoresis to differentiate *Coxiella burnetii* strains. Ann N. Y. Acad Sci. 590: 504-513.
- Hilbink, F., Penrose, M., Kovacova, E., Kazar, J., 1993. Q fever is absent from New Zealand. Int J Epidemiol. 22: 945-949.
- Kim, S.G., Kim, E.H., Lafferty, C.J., Dubovi, E., 2005. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. Emerg Infect Dis. 11: 619-621.
- Klee, S.R., Tyczka, J., Ellerbrok, H., Franz, T., Linke, S., Baljer, G., Appel, B., 2006. Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. BMC Microbiol. 6: 1-8.
- Kruszezka, D., Tylewska-Wierzbanska, S., 1997. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. Res Vet Sci. 62: 299-300.
- Lang, G.H., 1990. Coxiellosis (Q fever) in animals. In *Q fever, the disease*, vol 1, chapter 2 (ed. T.J. Marrie), pp 23-48. CRC press, Boca Raton.
- Maurin, M., Raoult, D., 1999. Q Fever. Clin Microbiol Rev. 12: 518-553.
- McDade, J.E., 1990. Historical aspects of Q fever. 5-21.
- Nguyen, S.V., Hirai, K., 1999. Differentiation of *Coxiella burnetii* isolates by sequence determination and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of isocitrate dehydrogenase gene. FEMS Microbiol Lett. 180: 249-254.
- Raoult, D., Tissot-Dupont, H., Foucault, C., Gouvernet, J., Fournier, P.E., Bernit, E., Stein, A., Nesri, M., Harle, J.-R., Weiller, P.J., 2000. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. Med. (Baltimore) 79: 109-123.
- Rey, S., Aubert, M., Denetière, G., Devalk, H., Duncat, J., Languille, J., Rousset, E., Strugar, S., Tissot-Dupont, H., Vaillant, V., 2005. Épidémie de fièvre Q (Chamonix, Haute-Savoie), juin-septembre 2002. Rapport de l'Institut de Veille Sanitaire 1-64.
- Rey, S., Vianez-Gaide, A.M., Saviuc, P., Vaillant, V., Valenciano, M., Capek, I., 2003. Investigation sur des cas groupés de fièvre Q (Montoisson, Drôme). Rapport de l'Institut de Veille Sanitaire 1-44.
- 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., 2004. Fièvre Q: Rapport sur l'évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants. [Adopté par le Comité d'experts spécialisé «Santé animale» de l'AFSSA]. Rapport de l'AFSSA 1-88.
- Rolain, J.-M., Lambert, F., Raoult, D., 2005. Activity of Telithromycin against thirteen new isolates of *C. burnetii* including three resistant to Doxycycline. Ann N. Y. Acad Sci. 1063: 252-256.
- Rousset, E., Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Huard, C., Rodolakis, A., Pépin, M., Aubert, M., 2003. Les modalités de transmission de la fièvre Q à l'homme. Bulletin épidémiologique de l'AFSSA 7: 1-3.
- Rousset, E., Russo, P., Pépin, M., Aubert, M.F., 2004. Q fever. fifth edition: 387-398.
- Rousset, E., Russo, P., Pépin, M., Raoult, D., 2001. Épidémiologie de la fièvre Q animale. Situation en France. Med Mal Infect. 31: 233-246.
- Rousset, E., Durand, B., Berri, M., Dufour, P., Prigent, M., Russo, P., Delcroix, T., Touratier, A., Rodolakis, A., Aubert, M. F., 2007. Comparative diagnostic potential of three serological tests for abortive Q fever in goat herds (accepted pour publication). Veterinary Microbiology.
- Sekeyova, Z., Roux, V., Raoult, D., 1999. Intraspecies diversity of *Coxiella burnetii* as revealed by com1 and mucZ sequence comparison. FEMS Microbiol Lett. 180: 61-67.
- Serbezov, V.S., Kazar, J., Novkirishki, V., Gatcheva, N., Kovacova, E., Voynova, V., 1999. Q fever in Bulgaria and Slovakia. Emerg Infect Dis. 5: 388-394.
- Seshadri, R., Paulsen, I. T., Eisen, J. A., Read, T. D., Nelson, K. E., Nelson, W. C., Ward, N. L., Tettelin, H., Davidsen, T.M., Beanan, M.J., Deboy, R.T., Daugherty, S. C., Brinkac, L. M., Madupu, R., Dodson, R.J., Khouri, H. M., Lee, K. H., Carty, H. A., Scanlan, D., Heinzen, R. A., Thompson, H.A., Samuel, J. E., Fraser, C. M., Heidelberg, J. F., 2003. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. Proc Natl Acad Sci. U S A 100: 5455-5460.
- Svraka, S., Toman, R., Skultety, L., Slaba, K., Homan, W.L., 2006. Establishment of a genotyping scheme for *Coxiella burnetii*. FEMS Microbiol Lett. 254: 268-274.
- Tatsumi, N., Baumgartner, A., Qiao, Y., Yamamoto, I., Yamaguchi, K., 2006. Detection of *Coxiella burnetii* in Market Chicken Eggs and Mayonnaise. Ann N. Y. Acad Sci. 1078: 502-505.
- Tissot-Dupont, H., Amadei, M.A., Nezri, M., Raoult, D., 2004. Wind in November, Q fever in December. Emerg Infect. Dis. 10: 1264-1269.
- Tissot-Dupont, H., Torres, S., Nezri, M., Raoult, D., 1999. Hyperendemic focus of Q fever related to sheep and wind. Am J Epidemiol; 150: 67-74.
- Valkova, D., Kazar, J., 1995. A new plasmid (QpDV) common to *coxiella burnetii* isolates associated with acute and chronic Q fever. FEMS Microbiol Lett. 125: 275-280.
- Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R., Winn, J.F., 1951. Q fever in California. IV. Occurrence of *Coxiella burnetii* in the placenta of naturally infected sheep. Public Health Rep. 66: 1473-1477.
- Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R., Winn, J.F., 1957. Air-borne transmission of Q fever: the role of parturition in the generation of infective aerosols. Ann N. Y. Acad Sci. 70-71: 528-540.
- Zamboni, D.S., Rabinovitch, M., 2004. 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: 2075-2080.
- Zhang, G.Q., To, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K., 1997. Differentiation of *Coxiella burnetii* by sequence analysis of the gene (com1) encoding a 27-kDa outer membrane protein. Microbiol Immunol. 41: 871-877.