



République Algérienne Démocratique Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Etude de la Séroprévalence de l'infection à Coxiella burnetii chez l'espèce ovine de la région de Tébessa

Présenté par :

Melle. BOUAKAL Khaoula Melle. MESBAHI Samra

Devant le jury:

<i>Dr. BELBEL.Zaineb</i>	<i>MCB</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>President</i>
<i>Melle .SMAALI.Sawsen</i>	<i>MCB</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Ms. BENLAKHAL.Amar</i>	<i>MAA</i>	<i>U. de Tébessa</i>	<i>ENCADREUR</i>

Date de soutenance : 17/06/2019 A 14:30h

Note :

Mention :

Remerciements

Tout d'abord, on tient à remercier le bon Dieu le tout Puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Nous voulons avant tout exprimer notre gratitude à notre encadreur M. Amar Benlakhhal pour avoir accepté de nous encadrer, dans cette étude. Nous la remercions pour son implication, son soutien, et ses encouragements au long de ce travail.

Aux membres du jury :

Président du jury: BELBEL Zaineb

Examinatrice: SMAALI Sawsen

Un merci à tous les enseignants qui ont contribué au succès de notre stage et qui ont contribué à la rédaction de cette mémoire.

Dédicaces

A ma mère

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur tu es une source inépuisable de tendresse, de patience. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père

Tu es le meilleur. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme, En témoignage de brut des années de sacrifices, d'encouragement et de prières. Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de tous vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un des tes rêves. Puisse dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

Aucun mot, aucune phrase peut exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération que je porte pour vous. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance, j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes sœurs : Raounak, Faten

Je vous dédis chères sœurs ce travail en guise de gratitude et de remerciement, je n'oublierais jamais vos encouragements et vos soutiens

Dédicaces

A mes frères : Aymen, Tarek

Vous êtes un cadeau du ciel. Quoique je dise, je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour vous. Je vous remercie, pour votre support, vos dévouements et indéfectible soutien, et je vous dédie ce travail pour tous les moments qu'on a pu partager ensemble.

A mes tantes et oncles, leurs époux et épouses, mes cousins, cousines et toute la famille

Que ce travail soit le témoin de toute mon affection et mon attachement.

A mon binôme : Mesbahi Samra, et mes amis : Merah Moufida, limami meriem, Mebarki nawel, Gerfi Rima, Z·Youcef islem, DJ· Hakim.

Nous avons partagé les bons et les mauvais moments durant toute la période d'étude, puisse notre amitié durée éternellement. Toutes les expressions aussi descriptibles qu'elles soient, ne pourraient témoigner l'affection et les sentiments de l'amour que je vous porte.

B·Khaoula

Dédicaces

A ma mère

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur tu es une source inépuisable de tendresse, de patience. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père

Tu es le meilleur. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme, En témoignage de brut des années de sacrifices, d'encouragement et de prières. Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de tous vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un des tes rêves. Puisse dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

Aucun mot, aucune phrase peut exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération que je porte pour vous. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance, j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes sœurs : basma, hadil

Je vous dédis chères sœurs ce travail en guise de gratitude et de remerciement, je n'oublierais jamais vos encouragements et vos soutiens

Dédicaces

A mes frères : zakaria, oussema, mouhamed

Vous êtes un cadeau du ciel. Quoique je dise, je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour vous. Je vous remercie, pour votre support, vos dévouements et indéfectible soutien, et je vous dédie ce travail pour tous les moments qu'on a pu partager ensemble.

A mes tantes et oncles, leurs époux et épouses, mes cousins, cousines et toute la famille

Que ce travail soit le témoin de toute mon affection et mon attachement.

A mon binôme :BOUAKAL Khaoula, et mes amis.

MESBAHI Samra

الملخص

حمى كي (Q) هي مرض حيواني المنشأ عالمي التوزيع. ينجم عن بكتيريا ذات تموضع داخل خلوي صارم، كوكسيلا برنيتي (*Coxiella burnetii*). المجترات الاليفة هي المصدر الرئيسي للبكتيريا. أجريت دراسة عرضية في ولاية تبسة شرق الجزائر. لتحديد الانتشار المصلي للأجسام المضادة لـ *Coxiella burnetii*، ولتقييم ارتباط المصلية الإيجابية ببعض عوامل الخطر المفترضة. ما مجموعه 184 مصلا جمعت من 23 قطيعا ؛ تم اختبارها باستخدام تقنية ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). قدر الانتشار المصلي الفردي بـ 38.04% (95% CI 34.44-48.53%) ، و 22 قطيعا من اصل 23 قطيعا بها على الأقل حالة مصلية إيجابية واحدة. نموذج الانحدار اللوجستي أحادي المتغير اثبت ارتباطا كبير بين الإيجابية المصلية الفردية ووجود الإجهاض في اخر حمل (OR = 1.923 ، $p = 0.04$). هذه النتائج تثبت الانتشار الواسع للأجسام المضادة للكوكسيلا بيرنيتي عند الأغنام في منطقة تبسة. يوصى بشدة بإجراء دراسات أخرى لفهم انتشار المرض الذي تسببه هذه البكتيريا بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية : كوكسيلا برنيتي, حمى كي, اغنام, الانتشار المصلي, اجهاض, تبسة

Resumé

La fièvre Q est une zoonose bactérienne de répartition mondiale ; causée par une bactérie intracellulaire stricte, *Coxiella burnetii*. Les ruminants domestiques sont le principal réservoir de la bactérie. Une étude transversale a été menée au niveau la wilaya de Tébessa à l'Est Algérien ; pour déterminer la séroprévalence des anticorps anti-*Coxiella burnetii*, et pour évaluer l'association de séropositivité avec certains facteurs de risque putatifs. Un total de 184 sérums provenant de 23 élevages; ont été testés par l'utilisation d'un kit ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). La séroprévalence individuelle apparentée est estimée à 38.04% (IC 95% 34.44%–48.53%), et 22 troupeaux sur 23 ont eu au moins un cas séropositif. Le modèle de régression logistique univarié a été révélée que le facteur présence d'avortement en dernière gestation a une association significative avec la séropositivité individuelle (OR=1,923, p=0, 04). La fréquence des anticorps anti-*C. burnetti* est très élevée chez l'espèce ovine dans la région de Tébessa. D'autres études sont fortement recommandées afin de mieux comprendre l'épidémiologie de maladie causée par cette bactérie.

Mots clés: *Coxiella burnetii*, Fièvre Q, ELISA, Ovine, Séroprévalence, Avortement, Tébessa.

Partie expérimentale

Q fever is a cosmopolitan bacterial zoonosis; caused by a strict intracellular bacteria, *Coxiella burnetii*. Domestic ruminants are the main reservoir of these bacteria. A cross-sectional study was conducted in Tébessa, an Algerian eastern province ; to investigate the seroprevalence of antibodies anti-*Coxiella burnetii*, and to determine the potential risk factors that may be associated with seropositivity. A total of 184 sera from 23 farms; were tested by the use of an ELISA kit (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). An apparent individual seroprevalence of 38.04% (95% CI 34.44% -48.53%) was recorded, and 22 herds out of 23 have at least one seropositive animal. The univariate logistic regression analysis showed that the presence of abortion in the latest pregnancy have a significative association with the individual seropositivity (OR = 1.923, $p = 0.04$). The frequency of antibodies anti-*C. burnetii* is very high in the ovine specie in Tébessa province. Other studies should be conducted to better understand the epidemiology of disease caused by these bacteria.

Keywords : *Coxiella burnetii*, Q fever, ELISA, Ovine, Seroprevalence, Abortion, Tébessa.

Liste des figures

Tableau 1: Interprétation des résultats	28
Tableau 2: Présentation et interprétation après la lecture	30
Tableau 3: Résultats de régression logistique univariée	36

Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique de la fièvre Q.....	3
Figure 2: Cycle épidémiologique de <i>Coxiella burnetii</i>	4
Figure 3: Cycle de multiplication de <i>C. burnetii</i>	8
Figure 4: ELISA direct.....	12
Figure 5: ELISA indirect	13
Figure 6: ELISA en sandwich direct et indirect.....	15
Figure 7: ELISA compétitive direct et indirect.....	16
Figure 8: Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa	22
Figure 9: Coagulation de sang et décantation de sérum.....	24
Figure 10: lavage et addition de conjugué	24
Figure 11: coloration après l'addition de solution de révélation (A) et après l'ajout de solution d'arrêt	25
Figure 12: lecteur (mindray Mr--96 A).....	25
Figure 13: kit ELISA	26
Figure 14: La distribution géographique et les taux de séropositivité au niveau de chaque troupeau	31
Figure 15: Distribution de taux de séropositivité en fonction de survenue d'avortement	32
Figure 16: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de temps	32
Figure 17: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de taille de troupeau.....	33
Figure 18: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de sexe	34
Figure 19: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de catégorie de parité	34
Figure 20: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de présence de chèvre	35

Liste des abréviations

Cm: Centimètre	HRP: horse-radish peroxidase
C°: Degré Celsius	Ig: Immunoglobuline
Kg: kilogramme	IHC: Immuno-histochimie
M: Moyenne	Km: Kilomètre
N°: Numéro	KDa: kilo dalton
%: Pourcentage	LCV: Large cell variant
s: Seconde	LPS; Lipopolysaccharide
μ: Micro	Mb: miga base
μl: microlitre	n: La taille minimale d'échantillon
μm: Micromètre	OR: Odds Ratio
m : Mètre	Pexp: expectd prevalence
ml: Millilitre	pH: Acidité
min: Minute	PCR: Polymerase chain reaction
cm : Centimètre	PS: polysaccharide
Ac : Anticorps	<i>pA</i> : la prévalence apparente.
Ag :Antigène	<i>qA</i> : (1– la prévalence apparente)
C. burnetii : Coxiella burnetii	RIA: radio immunossays
CMR :chloroforme méthanol ré- sidu	SCV: Small cell variant
DO : Densité Optique	SLP: Spore-like Particle
DOcp : densités optiques du contrôle positif	RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
DOcn : densités optiques contrôle négatif	WC: whole cell
<i>d</i> ² : desired absolute precision	
ELISA:Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	
ETA: enzyme immunossays	
FQ: fièvre Q	

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicace

ملخص

Abstract

Résumé

Partie Bibliographique

1. Historique	2
2. Définition	2
3. Epidémiologie.....	3
3.1. Répartition géographique	3
3.2. Cycle épidémiologique	3
3.2.1. Réservoirs	3
3.2.2. Cycle de transmission.....	4
4. Etiologie	5
4.1. Systématique.....	5
4.2. Morphologie	5
4.3. Genomique.....	6
4.4. Caractéristiques antigéniques	6
4.4.1. Variation de phase et virulence	6
4.4.2. Pouvoir immunogène	7
4.4.3. Résistance dans l'environnement	7
4.5. Cycle de développement	7
5. Pathogénie	8
5.1. Cellules cibles, Tissus, Organes.....	8
5.2. Dose infectante	9
5.3. Période d'incubation	9
5.4. Période de contagiosité.....	9
6. Symptôme	9
7. Excrétion.....	9
7.1. Voies d'excrétions	9
7.1.1. Produits de la parturition.....	9
7.1.2. Lait	10
7.1.3. Fèces	10
8. Diagnostic	10

Sommaire

8.1.1. Diagnostic indirect	10
8.1.1.1. Fixation du complément.....	10
8.1.1.2. ELISA	11
8.1.2. Diagnostic direct.....	17
8.1.2.1 Culture bactériologique et microscopie.....	17
8.1.2.2 Immunohistochimie (IHC).....	17
8.1.2.3. Biologie moléculaire.....	17
9. Prophylaxie.....	18
9.1. Prophylaxie sanitaire.....	18
9.1.1. En milieu sain.....	18
9.2. Prophylaxie médicale.....	19
9.2.1. Antibiotiques.....	19
10. Vaccination.....	20

Partie Expérimentale

1. Matériel et Méthodes.....	21
1.1. Présentation générale de la région d'étude	21
1.2. Échantillonnage et prélèvements sanguins.....	23
1.2.1. Période d'étude	23
1.2.2. La taille d'échantillon	23
1.2.3. Animaux	23
1.2.4. Prélèvements sanguins.....	23
1.3. Test sérologique	24
1.3.1. Description et Principe	24
1.3.2. Caractéristiques	26
1.4. Récolte et analyse des données	29
1.4.1. Calculs des taux de séroprévalence et des intervalles de confiance.....	29
1.4.2. Analyse statistique	29
2. Résultats	30
2.1. Taux de séroprévalence individuelle apparente.....	30
2.2. Taux de troupeau infecté.....	30
2.3. Les facteurs de risque associés avec la présence des Anticorps anti- <i>C. burnetii</i>	30
2.3.1. Facteur d'avortement	30
2.3.2. Facteur de l'année.....	32

Sommaire

2.3.3. Facteur de taille de troupeau	33
2.3.4. Facteur de sexe	33
2.3.5. Facteur de catégorie de parité	34
2.3.6. Facteur de présence de chèvre	35
2.3.7. Facteur taux d'avortement.....	35
2.4. L'analyse statistique	35
3. Discussion	37
Conclusion.....	39
Références Bibliographies.....	40

Introduction

Introduction

La fièvre Q est une zoonose cosmopolite due à *Coxiella burnetii*, une bactérie intracellulaire obligatoire. Les ruminants domestiques sont considérés comme le principal réservoir pour l'infection humaine. Chez les ruminants, la fièvre Q peut provoquer des avortements, des mortinatalités, la naissance de nouveau-nés chétifs et des mises bas prématurées [87]. La fièvre Q est un problème de santé publique dans de nombreux pays, elle est endémique dans le monde entier.

On se fait le diagnostic par deux manières directe et indirecte, Les principales méthodes de diagnostics directes dans le cas de l'infection par *C. burnetii* chez les ruminants sont: la culture bactériologique et microscopie, l'immunohistochimie (IHC) et la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) [58], ce sont des techniques hautement sensible que les techniques indirecte ; mais reste lourds. À cet effet les tests indirects ont l'avantage d'être automatisable, spécifique, fiable et applicable au dépistage à grande échelle en médecine vétérinaire.

En Algérie, la fièvre Q s'inscrit dans la liste des maladies animales à déclaration obligatoire [106]. Des études sérologiques menées en Algérie à l'aide de la technique ELISA chez les animaux, ont prouvé la circulation de *C. burnetii* dans les populations animales, [87], telles que l'étude d'Agag et al, 2016 [87]. Chez les bovins dans la région de Bejaïa et de Benaïssa et al [6] chez les chameaux dans la région Sud-est de l'Algerie.

Notre objective dans ce travail a été déterminer la séroprévalence de *C. burnetii* chez les ovins dans la région de Tébessa, par un kit d'ELISA indirect pour détecter les anticorps anti-*C.burnetii* et identifier l'association entre la séropositivité et certains facteurs de risque putatifs.

Partie Bibliographique

Partie Bibliographique

1. Historique

En 1935, Edward Holbrook Derrick est amené à investiguer un foyer d'épisodes fébriles survenant chez les travailleurs de l'abattoir de Brisbane (Australie). Il ne parvient pas à isoler l'agent en cause mais suppose qu'il s'agit d'un virus, et décrit pour la première fois la maladie, qu'il prénomme fièvre Q pour "Query fever" [16].

En 1937, la maladie a été reproduire sur différents animaux (cochons d'Inde, souris, singes,...) avec l'isolement de l'agent pathogène en cause. Ils observent dans des coupes de rate de souris des organismes à apparence de rickettsies [11].

En 1939, Derrick nomme *Rickettsia burnetii*. Il étudie avec ses collaborateurs l'épidémiologie de la maladie, et concluent que les animaux sauvages constituent le réservoir naturel de la fièvre Q, que les animaux domestiques représentent un réservoir secondaire et que la maladie peut être transmise par les tiques ou d'autres arthropodes [60]. Parallèlement à cela, en 1936 Herald Rea Cox rejoint l'équipe de Davis, et ils démontrent ensemble que l'agent étiologique possède à la fois des propriétés de virus et de rickettsies. Ils le nomment *Rickettsia idaporica* en raison de son caractère filtrable [11] [14].

En 1948, sur la base des différences cliniques (absence d'éruption, test de Weil-Felix négatif), épidémiologiques (absence de nécessité d'un vecteur arthropode) et bactériologiques (résistance du germe) de *R. burnetii* par rapport aux autres bactéries du genre *Rickettsia*, on proposa la création d'un nouveau genre bactérien, *Coxiella*, comportant une seule espèce : *C. burnetii* [69].

En 2001 les travaux de biologie moléculaire réalisés sur la bactérie aboutissent à une exclusion du genre *Coxiella* de l'ordre des *Rickettsiales* par le National Center for Biotechnology Information, du fait de sa parenté phylogénétique avec la famille des *Legionellaceae* [59]

2. Définition

La fièvre Q tient son nom de l'anglais, "Quercy Fever" ou "fièvre à élucider" [64]. Est une zoonose importante est répandue imputable à une bactérie, *C.burnetii*, capable d'infecter les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les arthropodes. Elle donne lieu à une forme atténuée chez les ruminants mais peut provoquer des avortements et une mortalité néonatale chez les bovins, les ovins et les caprins.

Partie Bibliographique

La fièvre Q connaît de nombreux synonymes. On peut noter les termes de “Fièvre de l’Olympe”, “Fièvre de 7 jours”, “Grippe balkanique”, “Pneumonie de Crête”, “Maladie de Derrick et Burnet”, ou encore “Nine mile creek fever” [55].

3. Epidémiologie

3.1. Répartition géographique

La fièvre Q est une maladie cosmopolite (**Figure 1**). A été retrouvée pratiquement dans le monde entier, à l’exception de la Nouvelle Zélande et de l’Antarctique. Dans la plupart des pays, la fièvre Q humaine ne fait pas partie des maladies à déclaration obligatoire, hormis aux Etats-Unis [64].



Figure 1: Répartition géographique de la fièvre Q [64].

3.2. Cycle épidémiologique

3.2.1. Réservoirs

C. burnetii peut infecter de nombreux mammifères domestiques (bovins, ovins, chevaux, chameaux, chiens, chats, lapins), mammifères sauvages (cervidés, ours, renards, marsupiaux, rongeurs), les mammifères marins, aussi bien les oiseaux ainsi que les arthropodes en particulier les tiques. Les tiques transmettent *C. burnetii* d’un animal à un autre et entretiennent l’infection dans les populations animales. Les rats ne représentent pas un grand risque de transmission, mais ils maintiennent la bactérie dans les fermes.

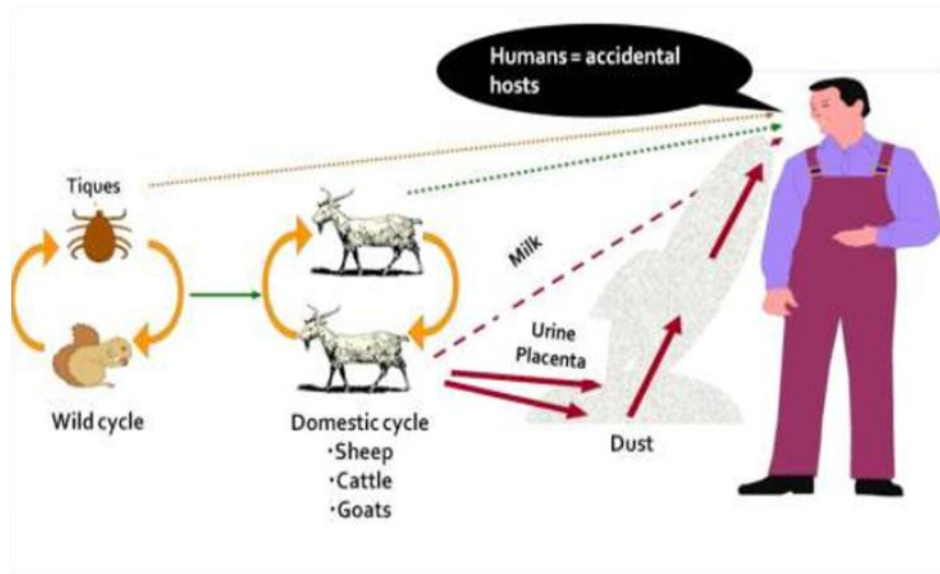


Figure 2: Cycle épidémiologique de *C. burnetii* [19].

3.2.2. Cycle de transmission

3.2.2.1. Cycle sauvage

Les tiques semblent jouer un rôle important dans la transmission entre les vertébrés sauvages mammifères et oiseaux. Dans les premiers stades de l'infection, les animaux présentent souvent une bactériémie transitoire permettant une contamination des tiques. *C. burnetii* se multiplie dans l'estomac et l'intestin puis est éliminée dans les déjections. Les tiques infectées contaminent les vertébrés soit par morsure soit par l'intermédiaire de leurs déjections qui contaminent la peau et le pelage des animaux. Chez les tiques, il existe une transmission transovarienne et transtadiale. Les tiques sont également capables de transmettre l'infection à des vertébrés domestiques, voire même à l'homme, mais ce mode de contamination ne semble pas majeur pour la fièvre Q [19].

3.2.2.2. Cycle domestique

Les animaux domestiques s'infectent éventuellement par des morsures de tiques mais, le plus souvent, par l'inhalation d'aérosols infectés. Les animaux infectés sont généralement asymptomatiques mais ils excrètent la bactérie dans les selles, les urines et le lait. L'excrétion peut

Partie Bibliographique

être intermittente et se prolonger durant des mois. Chez les femelles en gestation, la contamination du placenta et des annexes fœtales, il en résulte une contamination très importante du milieu extérieur dans lequel les bactéries survivent plusieurs semaines [48].

4. Etiologie

L'agent responsable de la fièvre Q est une bactérie, *C. burnetii* [55].

4.1. Systématique

Dans l'ancienne classification, *C. burnetii* est placée dans l'Ordre des *Rickettsiales*, la famille des *Rickettsiaceae*, la tribu des *Rickettsiae* et le genre *Coxiella* qui ne contient que l'espèce *C. burnetii* [55].

4.2. Morphologie

C. burnetii est une bactérie dont l'enveloppe montre une structure caractéristique des bactéries à coloration Gram négatif, mais qui apparaît difficile à colorer par la technique de Gram [55]. C'est une bactérie de petite taille (0,2 à 0,4 µm de largeur x 0,4 à 1µm de longueur), intracellulaire obligatoire [80].

C. burnetii présente une variation morphologique entre une forme dite SCV et une forme LCV [60].

La forme SCV est représentée par de petits bacilles de 0,2 à 0,5 µm, denses et compacts au microscope électronique. Cette forme peut être extra ou intracellulaire. La forme SCV est une forme de résistance issue de cellules mères de type LCV. Elle infecte les cellules eucaryotes par phagocytose, se multiplie puis redonne la forme LCV.

La forme LCV est représentée par de grosses cellules de forme arrondie, mesurant 0,7 x 2 µm, polymorphes, peu denses et exclusivement intracellulaire. Il s'agit d'une forme métaboliquement active, présentant peu de LPS de surface [80].

La forme LCV semble présenter un phénomène proche de la sporulation, en se séparant en deux compartiments inégaux contenant chacun un matériel nucléaire complet. Le plus petit des deux compartiments donnerait une endospore à une extrémité du LCV [60] [64].

Partie Bibliographique

4.3. Genomique

Le génome de *C. burnetii* est porté par un chromosome circulaire de taille variable (1.5 à 2.4 Mb selon les souches) et un plasmide facultatif (de 36 à 42 kb) dont le rôle est indéterminé. Le génome complet de la souche Nine Mile, de 2.1 Mb, a été séquencé en 2003 [87] [75].

On a décrit quatre types de plasmides : QpH1, QpRS, QpDG et QpDV [54] Il existe six groupes génomiques [99], pour lesquels les tailles du chromosome et du plasmide varient, qui ont été identifiés par RFLP [35]. Ces groupes sont classés de I à VI et les souches qu'ils contiennent possèdent un pouvoir pathogène différent selon certains auteurs. Ainsi, les groupes I, II et III, comprenant le plasmide QpH1, seraient composés de souches provoquant chez l'homme une fièvre Q aiguë. Les souches des groupes IV (plasmide QpRS) et V (sans plasmide) entraîneraient des infections humaines chroniques (endocardites) [88]. Quant au groupe VI (plasmide QpDG), le pouvoir pathogène des souches n'est pas documenté [54].

4.4. Caractéristiques antigéniques

C. burnetii présente la particularité de posséder deux phases, comparables aux phases lisse (Smooth) et rugueuse (Rough) des entérobactéries [34] [95].

4.4.1. Variation de phase et virulence

Dans la nature, *C. burnetii* existe sous forme virulente, présentant à sa surface un LPS de phase I (phase lisse des entérobactéries) [80] ; et est complet, composé de trois structures de 10 à 20 kDa qui masquent complètement les protéines de surface, ce qui bloque l'accès des anticorps. En comparaison avec la forme obtenue en laboratoire par passage successifs sur des cultures cellulaires [73].

Affichant un LPS de phase II (phase rugueuse des entérobactéries) ; et est incomplet en raison d'une importante délétion chromosomique [90], moins virulente et ne peut pas survivre après inoculation à un animal, car elle est très sensible à l'action du complément, et est rapidement éliminée par les macrophages [102]. Cette variation de phase correspond à la perte de l'Ag de phase I par modifications dans la composition et la structure des LPS de surface [34]. Une infection par *C. burnetii*, entrainera une réponse immunitaire importante contre les Ag de ph II à la phase aiguë. Lors de la phase chronique elle entrainera une réponse sérologique dirigée contre les Ag de ph I et II.

4.4.2. Pouvoir immunogène

Les antigènes majeurs sont représentés par le LPS pour la phase I, et par les protéines de la membrane externe pour la phase II [18] [25].

En conséquence, les anticorps antiphase I reconnaîtront l'ensemble LPS-protéines, tandis que les anticorps antiphase II reconnaîtront seulement les protéines de surface. En phase I, les cellules induisent la formation d'anticorps II précoces, puis d'anticorps I tardifs, spécifiques et protecteurs [84]. En phase II, on observe la formation d'anticorps II précoces mais peu protecteurs [10] [84].

L'évolution de la maladie vers une forme aiguë ou chronique serait liée pour certains auteurs au statut immunitaire de l'individu. Pour d'autres, elle serait liée à la différence de taille et de position de la chaîne de PS de la phase I [18].

4.4.3. Résistance dans l'environnement

La bactérie survit à l'état de VCS dans le milieu extérieur. Elle présente une résistance notable à la chaleur, la dessiccation, et la pression. En milieu sec, elle peut survivre jusqu'à 6 mois dans du sang de cobaye séché à température ambiante, deux ans dans des excréments de tiques desséchés, 150 jours dans le sol. En milieu humide, des durées de vie moins importantes mais non négligeables ont été retrouvées : sept jours dans de l'eau ou du lait à température ambiante [5].

4.5. Cycle de développement

C. burnetii est intracellulaire stricte. Son cycle de multiplication dans la cellule eucaryote commence par l'attachement puis la pénétration passive des SCV dans la cellule cible par phagocytose. Les récepteurs cellulaires impliqués varient selon la phase antigénique, ce qui explique que seules les bactéries en phase I soient infectieuses, alors que celles en phase II sont vite détruites. Chez l'homme et l'animal, les seules cellules cibles connues sont celles du système monocyte-macrophage dit système des phagocytes mononucléés. Lorsque la voie d'infection est respiratoire, les macrophages alvéolaires des poumons sont vraisemblablement les premières cellules à être infectées [60]. Après pénétration, les SCV produiraient des facteurs capables de retarder la fusion du phagosome avec les lysosomes. Les phagosomes s'acidifient (pH=5.5), ce qui active les SCV qui se transforment en LCV. Le phagosome fusionne alors avec des lysosomes pour former un phagolysosome, puis les différents

Partie Bibliographique

phagolysosomes fusionnent en une vacuole unique grâce à la synthèse de protéines de *C. burnetii* encore inconnues [40].

Les SCV activés et LCV est alors capable de se multiplier, et de donner des spores ou pseudo-spores (SLP) [60]. Deux mécanismes peuvent ensuite conduire à la formation d'une forme SCV, soit par condensation de la forme LCV, soit suite au développement de la pseudo-spore.

La forme SCV est alors libérée par lyse de la cellule hôte, ou par exocytose [18]. Les formes SCV et SLP correspondraient ainsi aux formes de résistance de la bactérie dans le milieu extérieur [60].

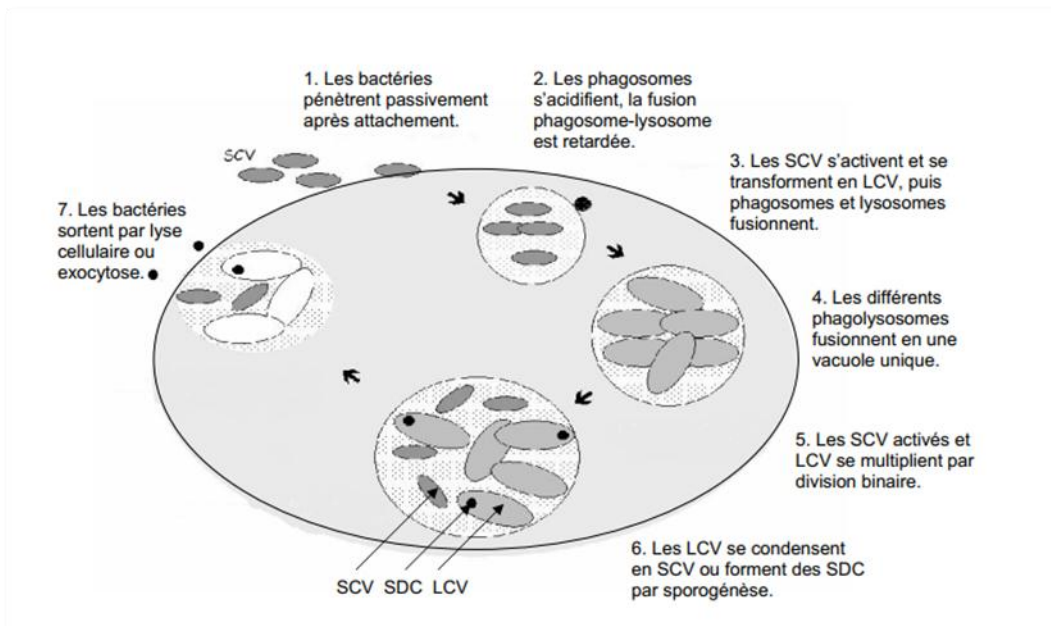


Figure 3: Cycle de multiplication de *C. burnetii* [58].

5. Pathogénie

5.1. Cellules cibles, Tissus, Organes

Les principales cellules cibles de *C. burnetii* chez l'hôte infecté sont les monocytes et les macrophages. La bactérie est identifiée occasionnellement dans les cellules endothéliales [84]. De nombreux organes peuvent héberger la bactérie. Elle peut, persister dans les nœuds lymphatiques et les plaques de Peyer. Cependant, les organes cibles préférentiels sont le placenta, l'utérus grévide, et le tissu mammaire [33].

Partie Bibliographique

5.2. Dose infectante

Notamment en raison de sa très faible dose infectante, *C. burnetii* est une bactérie d'une grande virulence [55].

5.3. Période d'incubation

La période d'incubation dépend de la dose infectante, elle est variable allant de 2 à 48 jours avec une période moyenne de 20 jours.

5.4. Période de contagiosité

Les animaux restent contagieux tant qu'ils sont porteurs de la bactérie, particulièrement lors des mises-bas.

6. Symptôme

L'infection est majoritairement inapparente [84]. L'avortement est la manifestation clinique majeure de la fièvre Q chez les ruminants domestiques [66], il a lieu à la fin de gestation. Lors de la primo-infection d'un troupeau, on observe une vague d'avortements sur des animaux pour la première fois en contact avec le germe. Puis l'enzootie évolue de façon cyclique, le nombre d'avortements diminue et ne concerne plus que les primipares. Les gestations suivantes ne semblent pas perturbées. On peut également observer d'autres troubles, tels que des mortinatalités, des mises-bas prématurées ou des naissances d'animaux chétifs [83].

Les manifestations pulmonaires de la maladie restent exceptionnelles. On a pu observer des broncho-pneumonies, avec de la toux, souvent compliquées de pasteurellose [92].

Des symptômes cardiaques sont également très rares en dehors de l'infection expérimentale. Il en va de même pour les symptômes digestifs, tels que des gastro-entérites [18].

7. Excrétion

7.1. Voies d'excrétions

L'excrétion peut se faire dans les produits de la parturition, le lait, les fèces [55].

7.1.1. Produits de la parturition

Lors de l'infection d'un animal par *C. burnetii*, la bactérie se localise préférentiellement au niveau de la sphère génitale. Après la mise-bas, ou un avortement, elle est donc excrétée en grande quantité dans les produits de la parturition [51] [69] [107].

Le placenta ainsi que les annexes fœtales peuvent contenir de nombreuses bactéries. On a en effet pu dénombrer jusqu'à 109 bactéries par gramme dans un placenta de brebis [105].

Partie Bibliographique

7.1.2. Lait

Dans le lait, l'excrétion semble intermittente et de durée variable. Elle peut cependant persister jusqu'à deux ans [30].

7.1.3. Fèces

L'excrétion de la bactérie peut se faire dans les matières fécales. Cette voie entraîne la contamination de la litière, dans laquelle *C.burnetii* peut persister durant près de deux ans, et qui constitue alors une source de contamination par inhalation d'aérosols [29].

8. Diagnostic

8.1.1. Diagnostic indirect

Le principe de ces méthodes de diagnostic indirect repose sur la mise en évidence du passage de la bactérie dans l'organisme. On peut rechercher les anticorps anti *C.burnetii* dans le sérum ou dans le lait [55].

8.1.1.1 Fixation du complément

La fixation de complément généralement utilise seulement des antigènes de phase II [46]. Il est capable de détecter environ 65% des sujets infectés pendant la deuxième semaine après les signes cliniques initiaux et 90% pendant la quatrième semaine [89].

Le principe de la technique repose sur la mise en évidence du complément fixé aux anticorps qui se développent suite à l'infection. Le sérum à tester est mis en présence de l'antigène de *C.burnetii*. Si le sérum contient des anticorps, un immuncomplexe antigène-anticorps va se former. Celui-ci est alors mis en contact avec le complément puis avec un immuncomplexe composé d'hématies et d'anticorps anti-hématies, que l'on nomme complexe hémolytique [67]. Les deux immuncomplexes entrent en compétition. La proportion de complément non fixée sur le complexe antigène-anticorps de *C. burnetii* se fixe alors sur le complexe hémolytique et provoque la lyse des hématies. On mesure ensuite le taux d'hémolyse, qui est inversement proportionnel au taux d'anticorps anti-*C. burnetii* présent dans le sérum [18]. Ce test reste aussi spécifique mais moins sensible que les tests ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ou d'immunofluorescence indirecte [24].

8.1.1.2 ELISA

8.1.1.2.1 Principe d'ELISA

ELISA est l'acronyme d'un examen de laboratoire appelé en anglais (enzyme-linked immunosorbent assay), littéralement « dosage d'immunoabsorption par enzyme liée », c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide, Ce test entre dans le cadre plus général des EIA (enzyme immunoassays) [44].

EIA / ELISA utilise le concept d'immunologie de base d'un antigène lié à son anticorps spécifique, ce qui permet la détection de très petites quantités d'antigènes tels que protéines, peptides, hormones ou anticorps dans un échantillon de fluide [92]. Dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par spectrophotométrie, par opposition aux RIA (radio immunoassays) dans lesquels l'anticorps est marqué par un radioélément. Parmi les enzymes les plus utilisées, on compte la peroxydase de raifort (HRP pour horse-radish peroxidase), la phosphatase alcaline, le glucose oxydase et l'acétylcholinestérase [44].

L'addition d'un substrat de l'enzyme, à la dernière étape du dosage, permet la formation d'un composé soluble et coloré, dont l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre [44].

L'ELISA est une technique biochimique permettant de détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon [44].

L'antigène est autorisé à se lier à un anticorps spécifique, qui est lui-même détecté par la suite par un anticorps secondaire couplé à une enzyme [44].

Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorogène. L'ELISA pouvant être utilisé tant pour évaluer la présence d'un antigène que celle d'un anticorps dans un échantillon, c'est un outil efficace à la fois pour déterminer des concentrations sériques d'anticorps, que pour détecter la présence d'un antigène [92].

8.1.1.2.2 Les types d'ELISA

Eliza direct

Dans un premier temps, l'antigène à doser est déposé sur un support solide (généralement une plaque de microtitration). L'antigène est reconnu par un anticorps marqué par une enzyme. Les anticorps en excès, non liés à l'antigène, sont éliminés lors de l'étape de rinçage (**Figure 04**). L'ajout du substrat permet la réaction colorée dont la DO mesurée est proportionnelle à la quantité d'antigène fixée sur le support solide [20].

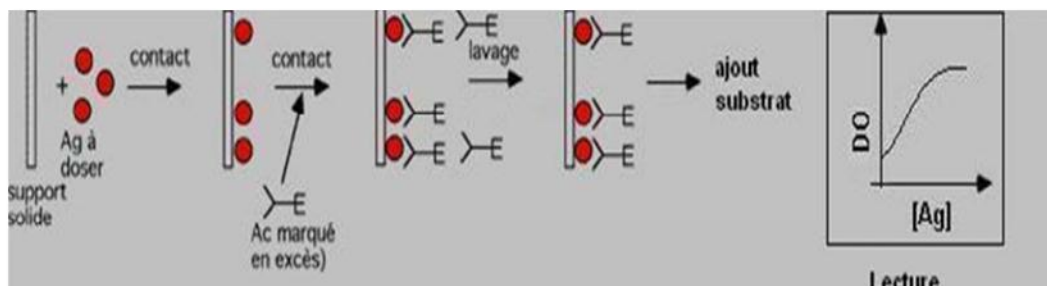


Figure 4: ELISA direct [20].

ELISA indirect

La plus couramment utilisée, Cette technique peut aussi être utilisée pour le dosage d'anticorps spécifiques présents dans un sérum.

- l'application d'un échantillon d'un antigène connu sur une surface, le plus souvent celle d'un puits d'une plaque de microtitration. L'antigène est fixé à la surface, de façon à le rendre immobile.
- Un anticorps, dit primaire, se lie à l'antigène.
- le rinçage de la plaque, de façon à retirer les anticorps non liés. Après rinçage, seuls les complexes antigène-anticorps demeurent attachés à la surface du puits.
- l'ajout aux puits des anticorps secondaires qui se lieront à l'anticorps primaire, (il s'agit dans ce cas d'une antiglobuline). Ces anticorps secondaires sont couplés à l'enzyme modificateur de substrat qui permet de suivre l'évolution de la réaction.
- le second rinçage de la plaque, de sorte à éliminer les anticorps non liés.

Partie Bibliographique

- l'application d'un substrat qui, s'il est converti par l'enzyme, émet un signal chromogénique ou fluorescent.
- la quantification du résultat, à la vue ou, le plus souvent, par spectrophotométrie ou tout autre appareil d'optique [20].

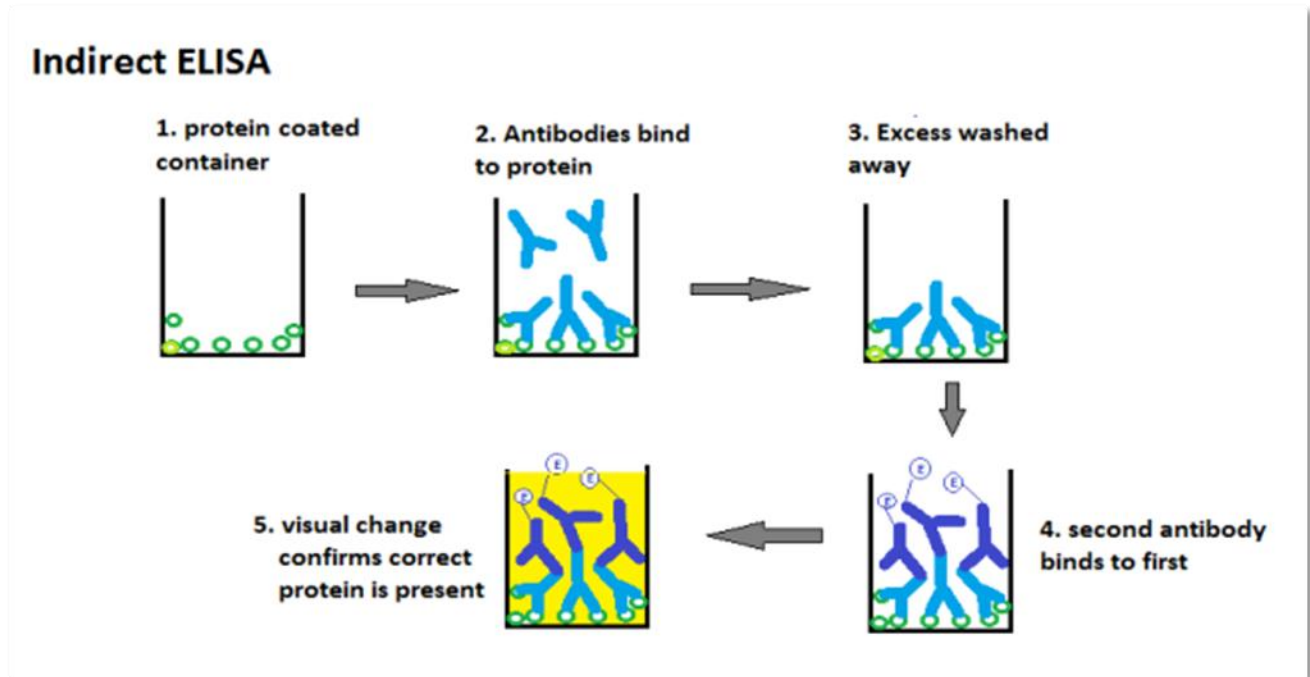


Figure 5: ELISA indirect [46].

ELISA en sandwich

La méthode ELISA sandwich mesure la quantité d'antigènes entre deux couches d'anticorps (c'est-à-dire les anticorps de capture et de détection). L'antigène à mesurer doit contenir au moins deux sites antigéniques (épitopes) différents pour lier deux anticorps différents. Les anticorps monoclonaux et polyclonaux peuvent être utilisés [46].

✓ Direct

- ❖ Préparer une surface sur laquelle est liée l'anticorps de capture.
- ❖ Bloquer tous les sites de liaison non spécifiques sur la surface.
- ❖ Appliquer le standard ou l'échantillon contenant l'antigène.
- ❖ Laver la plaque afin d'éliminer les molécules non reconnues par l'anticorps de capture.

Partie Bibliographique

❖ Ajouter des anticorps liés à l'enzyme (anticorps de détection) qui se lient spécifiquement à l'antigène. 6. Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps liés à l'enzyme en excès (non liés).

❖ Ajouter une substance chimique qui sera convertie par l'enzyme en couleur, fluorescence ou en signal électrochimique.

❖ Mesurer l'absorbance, la fluorescence ou le signal électrochimique (le courant) des puits de la plaque, afin de déterminer la présence et la quantité d'antigène.

Avant l'analyse, les deux préparations d'anticorps doivent être purifiées et l'une d'elle doit être conjuguée. [46].

✓ **Indirect**

❖ Préparer une surface à laquelle est liée l'anticorps de capture.

❖ Bloquer tous les sites de liaison non spécifiques sur la surface.

❖ Appliquer l'échantillon contenant l'antigène.

❖ Laver la plaque afin d'éliminer les molécules non reconnues par l'anticorps de capture.

❖ Ajouter les anticorps primaires qui se lient spécifiquement à l'antigène

❖ Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps primaires en excès (non liés), Après cela, Ajouter des anticorps liés à l'enzyme (anticorps secondaires) qui se lient spécifiquement à l'anticorps primaire.

❖ Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps liés à l'enzyme en excès (non liés).

❖ Ajouter une substance chimique qui sera convertie par l'enzyme en couleur, fluorescence ou en signal électrochimique.

❖ Mesurer l'absorbance, la fluorescence ou le signal électrochimique (le courant) des puits de la plaque, afin de déterminer la présence et la quantité d'antigène.

Avant l'analyse, les deux préparations d'anticorps doivent être purifiées et l'une d'elle doit être conjuguée [46].

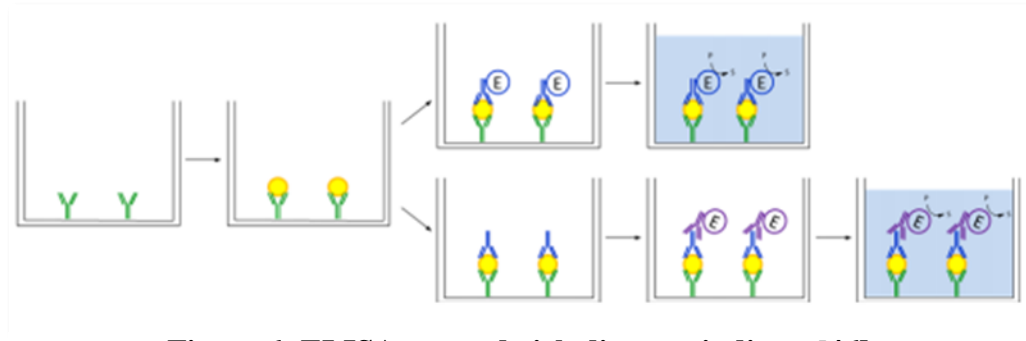


Figure 6: ELISA en sandwich direct et indirect [46]

ELISA par compétition

Le terme compétitif décrit des essais où la mesure implique la quantification d'une substance selon sa capacité à interférer avec un système établi. La détection peut se faire directement, selon la méthode en une étape, ou indirectement, selon la méthode en deux étapes [46].

✓ Direct :

- ❖ Préparer une surface à laquelle est liée une quantité connue de l'antigène voulu.
- ❖ Bloquer tous les sites de liaison non spécifiques sur la surface.
- ❖ Appliquer l'échantillon (antigène) ou la référence et les anticorps liés à des enzymes qui se lient spécifiquement à l'antigène sur une microplaque revêtue. Les antigènes immobilisés à la surface et les antigènes en solution entrent en compétition pour les anticorps. Ainsi, plus il y aura d'antigène dans l'échantillon, moins l'anticorps pourra se lier à l'antigène immobilisé.
- ❖ Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps en excès (non liés) et les complexes anticorps-antigènes non liés.
- ❖ Ajouter une substance chimique qui sera convertie par l'enzyme en couleur, fluorescence ou en signal électrochimique.
- ❖ Mesurer l'absorbance, la fluorescence ou le signal électrochimique (le courant) des puits de la plaque, afin de déterminer la présence et la quantité d'antigène.

Avant l'analyse, les préparations d'anticorps doivent être purifiées et doivent être conjuguées [46].

✓ Indirect :

- ❖ Préparer une surface à laquelle est liée une quantité connue d'antigène.

Partie Bibliographique

- ❖ Bloquer tous les sites de liaison non spécifiques sur la surface.
- ❖ Appliquer l'échantillon (antigène) ou la référence et les anticorps liés à des enzymes qui se lient spécifiquement à l'antigène sur une microplaque revêtue. Les antigènes immobilisés à la surface et les antigènes en solution entrent en compétition pour les anticorps. Ainsi plus il y aura d'antigène dans l'échantillon, moins l'anticorps pourra se lier à l'antigène immobilisé.
- ❖ Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps en excès (non liés) et les complexes anticorps-antigènes non liés.
- ❖ Ajouter un anticorps secondaire, spécifique à l'anticorps primaire, conjugué avec une enzyme.
- ❖ Rincer la plaque de façon à éliminer les anticorps conjugués en excès (non liés).
- ❖ Ajouter une substance chimique qui sera convertie par l'enzyme en couleur, fluorescence ou en signal électrochimique.
- ❖ Mesurer l'absorbance, la fluorescence ou le signal électrochimique (le courant) des puits de la plaque, afin de déterminer la présence et la quantité d'antigène.

Avant l'analyse, les deux préparations d'anticorps doivent être purifiées et l'une d'elle doit être conjuguée [46].

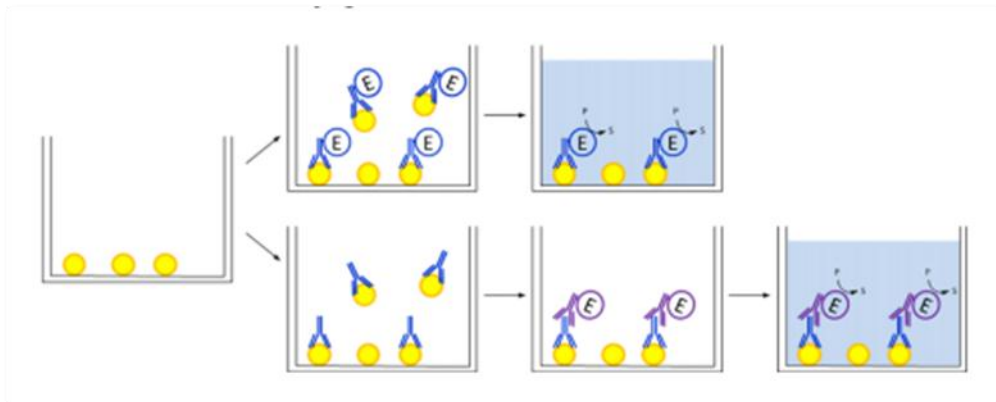


Figure 7: ELISA compétitive direct et indirect [46].

➤ Utilisation

✓ Avantages de la technique

- L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique.
- Possibilité de quantifier grâce à la réalisation d'une gamme en parallèle.
- L'utilisation d'anticorps secondaires rend la technique sensible.

Partie Bibliographique

- technique accessible à tous les biologistes.
- La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé.
- **Inconvénients de la technique**
- La limite de détection est moins bonne que la technique RIA.
- La réaction enzymatique rend cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement [46].

8.1.2. Diagnostic direct

Les principales méthodes de diagnostics directes dans le cas de l'infection par *C. burnetii* chez les ruminants sont : la culture bactériologique et microscopie, l'immunohistochimie (IHC) et la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) [56].

8.1.2.1 Culture bactériologique et microscopie

La virulence de la bactérie étant élevée, sa culture, bien que fastidieuse, nécessite des conditions de laboratoire de sécurité de niveau P3. L'isolement de *C. burnetii* à partir d'échantillons biologiques est effectué par culture sur des cellules HEL (fibroblastes embryonnaires humains), les bactéries étant détectées par la coloration de Gimenez ou par immunofluorescence [24].

8.1.2.2 Immunohistochimie (IHC)

L'IHC permet la mise en évidence d'antigènes d'un agent pathogène au sein d'un tissu infecté par l'entremise d'anticorps spécifiques. Cette méthode repose sur la capacité d'un anticorps à se lier spécifiquement à des antigènes et, suivant la formation du complexe antigène-anticorps, une réaction histochimique se produit, laquelle peut être visuellement observée à la lumière ultraviolette [71]. En médecine vétérinaire, Ont développé une méthode d'IHC pour le diagnostic d'avortement à *C. burnetii* chez les ovins et les caprins à partir de tissu placentaire [17].

8.1.2.3. Biologie moléculaire

L'amplification directe par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) à partir du sérum, de sang EDTA ou d'expectorations pour une suspicion de fièvre Q aiguë ou à partir de différents prélèvements (valve, anévrisme, placenta, biopsie hépatique...) pour la forme chronique est l'approche diagnostique la plus sensible et la plus spécifique pour le diagnostic d'infection à *C. burnetii* [22].

La PCR utilisée à Lausanne présente une sensibilité analytique inférieure à dix copies et une spécificité de 100% (aucun faux positif sur plus de 3000 échantillons testés). Le délai de sept à

Partie Bibliographique

quatorze jours entre la présentation clinique et l'apparition des anticorps dans le sérum représente un point faible du diagnostic sérologique et justifie l'utilisation de la PCR sur du sérum ou préférentiellement du sang EDTA. En effet, il a été constaté que la PCR sur ce type d'échantillon se positive avant la détection des anticorps, puis devient négative après leur apparition. La PCR sur sérum ou sang EDTA peut aussi être effectuée lors d'une infection chronique endovasculaire [41].

9. Prophylaxie

9.1. Prophylaxie sanitaire

9.1.1. En milieu sain

Les mesures de prophylaxie sont, dans ce contexte, de nature protectrices. Éviter l'introduction d'animaux de statut sanitaire inconnu [75]. Notamment avant la saillie ou pendant la gestation, périodes où les animaux sont les plus réceptifs [18].

- Préférer l'insémination artificielle à la monte naturelle [18].
- Contrôler le statut sanitaire des animaux à l'achat : contrôle sérologique (et/ou recherche de *Coxiella burnetii* dans les produits de la parturition) de l'animal et du troupeau d'origine [21].
- Tester les primipares pendant la deuxième moitié de la gestation (ce sont elles qui expriment les taux d'anticorps les plus élevés), de manière à vérifier le statut du troupeau [18].
 - Limiter le contact de l'élevage avec les réservoirs sauvages et domestiques : clôture des pâturages, limitation de la transhumance, ...etc. [18].

➤ En milieu infecté

Elles doivent être très sévères en zone contaminée [21].

- Placer les animaux infectés en box isolés lors de la mise bas. Les parturientes et leurs produits doivent rester isolés pendant deux semaines [18].
- Détruire les placentas et les avortons, avec précautions et de façon précoce [52].
 - Traiter les femelles gestantes aux tétracyclines dans les semaines précédant la mise bas [80] Surélever les lieux d'alimentation de manière à ce que l'urine et les Fécès ne contaminent pas les aliments [18].
- Maintenir les animaux loin des villes, interdire les déplacements [21].

9.2. Prophylaxie médicale

9.2.1. Antibiotiques

En médecine vétérinaire, seules les oxytétracyclines sont utilisées. L'oxytétracycline injectable en formulation longue action (TERRAMYCINE® Longue Action) est considérée comme l'antibiotique de choix, bien que peu de travaux aient confirmé son efficacité sur l'excrétion de *C. burnetii*. Le traitement n'empêche pas l'excrétion, mais il peut dans certaines circonstances la réduire ou réduire les conséquences cliniques de l'infection. [59].

Plusieurs protocoles pourraient présenter un intérêt, mais aucun d'entre eux n'a à ce jour scientifiquement et entièrement démontré son efficacité. Ainsi, lors d'une enzootie d'avortements à fièvre Q, un traitement préventif peut être instauré sur les brebis gestantes afin de diminuer le risque d'avortement, sur la base d'oxytétracycline injectable, utilisée à 10 mg/kg de poids vif et à renouveler tous les 7 à 20 jours jusqu'à la mise bas [69].

Cependant, pour des raisons économiques, les traitements sont généralement limités à une ou deux injections en fin de mise bas, ce qui est insuffisant pour supprimer l'excrétion dans le placenta, les sécrétions vaginales ou le lait [59].

Dans l'attente d'études plus poussées, le recours à cet antibiotique est surtout préconisé pour diminuer l'excrétion lors d'épisodes abortifs dans l'élevage (deux injections de TERRAMYCINE® Longue Action à 20mg/kg à 15 jours d'intervalle dans le dernier mois de gestation) ou au tarissement pour des excrétions persistantes dans le lait. [59].

10. Vaccination

Le vaccin idéal contre *C. burnetii* serait basé sur des antigènes avec un bon pouvoir immunogène, mais qui ne provoquent pas d'effets secondaires tels que la réactivation de l'infection ou des réactions locales. Chez l'humain et chez l'animal, 2 types de vaccins sont utilisés : les vaccins « whole cell » (WC) à base de cellules entières de *C. burnetii* soit en phase I soit en phase II, et les vaccins à base de parois bactériennes extraites avec du chloroforme méthanol (CMR, chloroforme méthanol résidu). Ceux-ci ont été développés pour l'humain plus récemment afin de limiter les réactions d'hypersensibilité retardée observées au point d'injection avec les vaccins WC chez des personnes préalablement sensibilisées [85].

Les vaccins composés d'antigènes corpusculaires de phase I sont les seuls efficaces [107].

Partie Bibliographique

L'excrétion bactérienne dans le placenta et le lait a été réduite chez des chèvres, des moutons ou des vaches inoculés avec des vaccins phase I, puis infectés, naturellement ou expérimentalement [4] [31].

Il semble que le vaccin phase I protège les animaux sains avant vaccination, mais n'empêche pas l'excrétion chez les animaux préalablement infectés [31].

À l'inverse, l'utilisation d'un vaccin de phase II ne permet pas de protéger les animaux ou d'empêcher l'excrétion [4]. En effet, Ormsbee et ses collaborateurs ont montré que l'utilisation d'un vaccin WC phase I chez le cobaye était 100 à 300 fois plus protectrice qu'un vaccin WC phase II comparable.

Deux vaccins contre *C. burnetii* sont actuellement commercialisés en Europe :

- Le vaccin WC Chlamyvac FQ (Merial) composé de *C. burnetii* phase II ET *Chlamydophila abortus* inactivées par le formol.
- Le vaccin Coxevac® (CEVA Santé Animale, Libourne, France) est composé de *C. burnetii* en phase I inactivées par le formol.

Le vaccin Coxevac® a démontré son efficacité dans la prévention des avortements aussi bien que la réduction de l'excrétion du germe chez les chèvres et les bovins [4] [37] [27].

La vaccination des chèvres et des bovins est plus efficace chez les animaux primipares, elle réduit la prévalence des animaux excréteurs ainsi que la charge bactérienne. Cependant, la vaccination ne semble pas être efficace chez les chèvres et les bovins préalablement infectés, ni chez les vaches gestantes [31] [37] [82].

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Matériel et Méthodes

Cette étude est une partie d'une grande enquête visée pour dépister les agents abortifs infectieux chez l'espèce ovine dans la région de Tébessa. A cet effet une étude transversale consiste à (i) estimer la séroprévalence des anticorps anti-*Coxiella burnetii*, dans des élevages ovine de la région d'étude ; et (ii) à identifier une éventuelle association entre la séropositivité et certains facteurs de risque putatifs.

1.1. Présentation générale de la région d'étude

La wilaya de Tébessa se situe au Nord-Est de l'Algérie ; s'étend sur une superficie de 13.878 km², c'est une zone qui regroupe un vaste étendu steppique de notre pays en position de transit entre le Nord et le Sud, son altitude varie entre -1 et 1713m. Elle est limitée au Nord par la Wilaya de Souk-Ahras, au Sud par la Wilaya d'El Oued, à l'Ouest par les Wilayet d'Oum Elbouaghi et Khenchela et à l'Est par la république tunisienne sur une distance de 300 km de frontière. Sur le plan administratif, la wilaya compte 28 communes regroupées en 12 Daïras (**Figure 08**).

Cette région étant une zone de transition météorologique est considérée comme une zone agro-pastorale avec une présence d'un nombre important de phénomènes (gelée, grêle crue, vent violent). Elle se caractérise par un hiver froid avec faible pluviométrie, et un été chaud et humide (la température dépasse 40°C en juillet).

La superficie totale de la wilaya se divise en quatre zones homogènes du côté des données climatiques.

- ❖ La zone Sub-humide (400 à 500 mm/an) très peu étendu, il couvre que quelques ilots limités aux sommets de quelque reliefs (une superficie de 135000 ha, soit 10% de la superficie totale).

- ❖ La zone Semi-aride (300 à 400 mm/an) représenté par les sous étages frais et froid, il couvre toute la partie Nord de la wilaya avec une superficie de 229450 ha.

- ❖ La zone Sub-aride (200 à 300 mm/an) couvre les plateaux steppiques d'Oum-Ali, Safsaf-El-Ouesra, Thlidjene et Bir El-Ater, occupe environ 50% de la superficie totale de la wilaya.

- ❖ Et, la zone Aride ou saharien doux (-200 mm/an), commence et s'étend au-delà de L'Atlas saharien et couvre les plateaux de Negrine et Ferkane, soit une superficie de 202457 ha.

L'élevage ovin a porté une importance socio-économique cruciale dans la wilaya de Tébessa, il considère comme le premier secteur d'emploi avec un effectif de 933000 têtes (MADR 2018),

Partie expérimentale

et c'était la principale source de viande rouge pour la wilaya d'étude et de plusieurs wilayat voisines de l'est algérien.

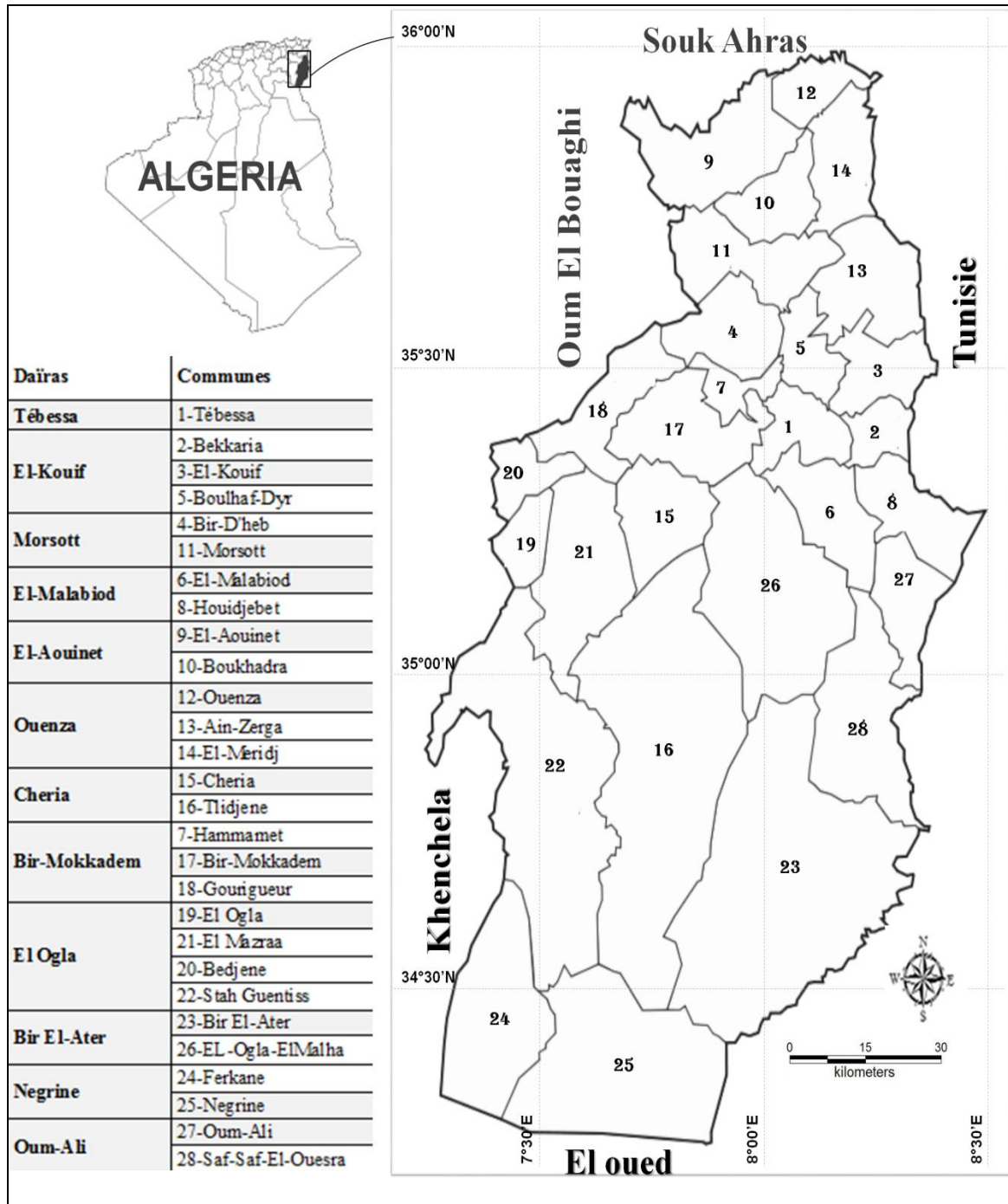


Figure 8: Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa

1.2. Échantillonnage et prélèvements sanguins

1.2.1. Période d'étude :

La prise des prélèvements sanguins s'étale entre le mois de Septembre 2016 et Octobre 2018, Les prélèvements ont été effectués pendant trois saisons de pic d'agnelage.

1.2.2. La taille d'échantillon :

La taille minimale d'échantillon a été calculée par l'utilisation de la formule suivante [96].

$n = \frac{1.96^2 P_{exp}(1-P_{exp})}{d^2}$; D'où P_{exp} (expected prevalence) : la prévalence attendue et d^2 (desired absolute precision) : la précision requise ou la marge d'erreur. La taille d'échantillon requise calculée est 146 animales ; en utilisant une précision adéquate 0.05 et une prévalence attendue de 10.6% [2].

1.2.3. Animaux

Cette étude inclus 184 prélèvements provenant de 22 élevages privés d'espèce ovine, issus de 14 communes de la wilaya de Tébessa (**Figure 14**). Un échantillonnage aléatoire simple a été adopté au niveau de chaque troupeau pour sélectionner entre 5 à 10 animales ; soit 66 brebis ont été avortées en dernière gestation, 111 brebis allaitantes ou gestantes et sept béliers.

1.2.4. Prélèvements sanguins

Des échantillons de sang de 5 ml ont été prélevés à la veine jugulaire des brebis ; en utilisant des tubes secs de type Vacutainer à l'aide d'une aiguille jetables et un porte aiguille, ou bien l'aide des seringues de 5cc pour d'autre échantillons.

Les sérums ont été extraits par centrifugation, ou bien après coagulation et décantation des prélèvements (**Figure 9**).

Le sérum, obtenu a été aliquotes dans des tubes Eppendorf puis a été congelé à -20°C avant d'être analyser. Aucun prélèvement de sang total n'a été réfrigéré ou congelé pour éviter l'hémolyse.

A chaque prise de sang, le tube était ensuite numéroté, et le numéro reporté sur une fiche de prélèvement où étaient indiqués la description de l'animal (date de prélèvement, sexe, présence ou absence d'avortement pendant la dernière gestation, présence ou absence des chèvres dans le même élevage, nombre de parité, taille de troupeau et taux des avortement), ces informations sont enregistrées après avoir une questionnaires avec les éleveurs de cheptels.



Figure 9: Coagulation de sang et décantation de sérum (Photo personnelle)

1.3. Test sérologique

Tous les sérums obtenus ont été testé via un test ELISA, kit (de ID SCREEN[®] Q Fever Indirect Multi-species Laboratoire ID.Vet Innovative Diagnostics) ; la lecture a été faite au niveau du laboratoire ALIA SALEH (Tébessa), pendant la période 28,29 et 30 Avril 2019.

1.3.1. Description et Principe

Les puits sont sensibilisés avec des antigènes de phase I et II de *C.burnetii*. Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps spécifiques antiphase I et II de *C. burnetii*, s'ils sont présents, forment un complexe antigènes-anticorps.

Après lavage, un conjugué anti-multi-espèces marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP (Figure 10)



Figure 10: Lavage et addition de conjugué (Photo personnelle)

Partie expérimentale

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

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifique présent dans l'échantillon :

❖ En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la solution d'arrêt (**Figure 11**).

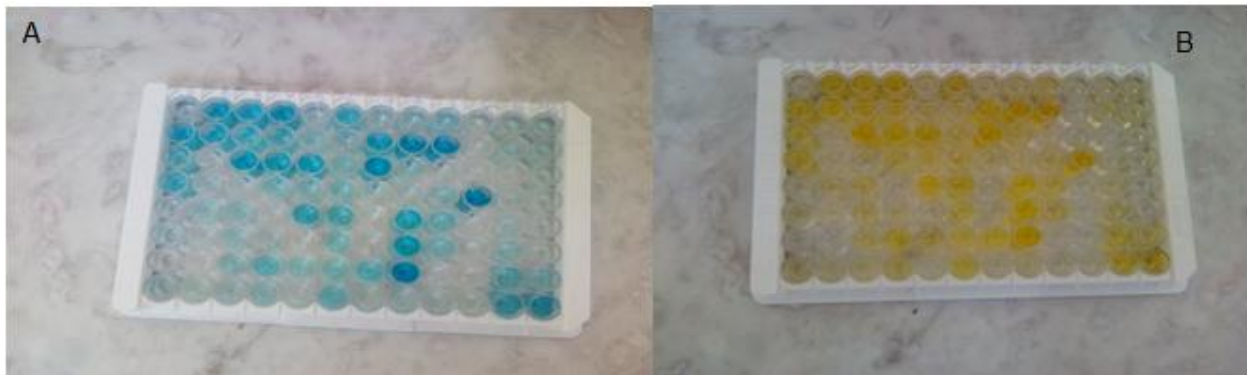


Figure 11: coloration après l'addition de solution de révélation (A) et après l'ajout de solution d'arrêt (Photo personnelle)

- ❖ En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.
- ❖ La lecture est réalisée par le lecteur (mindray MR-96A) à 450 nm longueur d'onde (**Figure 12**).



Figure 12: lecteur (mindray Mr--96 A)

1.3.2. Caractéristiques

1.3.2.1. Matériels

1.3.2.1.3. Réactifs

Le kit commercialisé par IDVET contient (**Figure13**).



Figure 13: kit ELISA

Réactifs

1. Microplaque sensibilisée avec des antigènes de phase I et II de *Coxiella burnetii*
2. Conjugué Concentré (10X)
3. Contrôle positif
4. Control négatif
5. Tampon de dilution 2
6. Tampon de dilution 3
7. Solution de lavage concentrée (20X)
8. Solution de révélation
9. Solution d'arrêt (0.5M)

1.3.2.1.4. Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multicanaux capables de délivrer des volumes de 5 μ L, 100 μ L, 500 μ L.
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Plaque de pré-dilution format 96 puits.
4. Eau distillée ou désionisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.
6. Lecteur de microplaque à 96 puits.

1.3.2.1.5. Préparation des échantillons

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

1.3.2.1.6. Préparation de la solution de lavage

1. Ramener la solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

2. Préparer la solution de lavage (1X) par dilution de la solution de lavage (20X) dans de l'eau désionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assure que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type, et hauteur d'aspiration).

1.3.2.1.7. Mode opératoire

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

2. Les échantillons sont testés à une dilution finale au $1/5^{\text{ème}}$, ainsi :

2.1. Dans une microplaque de pré-dilution à 96 puits distribuer :

- 5 μl du control Négatif aux puits **A₁** et **B₁**.
- 5 μl du control positif aux puits **C₁** et **D₁**.
- 5 μl de chaque échantillon à tester dans les puits restants.
- 245 μl du tampon de dilution 2 dans chaque puits.

2.2. Dans la microplaque ELISA, transférer :

- 100 μl du control négatif pré-dilué dans les puits **A₁** et **B₁**.
- 100 μl du control positif pré-dilué dans les puits **C₁** et **D₁**.
- 100 μl de chaque échantillon pré-dilué à tester dans les puits restants.

3. Couvrir la plaque et incuber 45 min ± 4 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$)

4. Vider les puits. Laver 3 fois avec au moins 300 μl de solution de lavage. Eviter de dessèchement des puits entre les lavages.

Partie expérimentale

5. Préparer le conjugué 1X en diluant le conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution 3.
6. Distribuer 100 µl de conjugué 1X dans chaque puits.
7. Couvrir la plaque et incuber 30 min ± 3 min à 21°C (± 5°C).
8. Vider les puits. laver 3 fois chaque puits avec environ 300 µl de solution de lavage. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
9. Distribuer 100 µl de solution de révélation dans chaque puits
10. Couvrir la plaque et incuber 15 min ± 2 min à 21°C (± 5°C) à l'obscurité.
11. Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, en suivant le même ordre qu'en étape N°8, pour arrêter la réaction.
12. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

1.3.2.1.8. Validation

Le test est validé si :

- ❖ La valeur moyenne des densités optiques du contrôle positif (**DO_{CP}**) est supérieure à 0,350 ($DO_{CP} > 0,350$).
- ❖ Le rapport entre la moyenne des DO du contrôle positif (**DO_{CP}**) et la moyenne des DO du contrôle négatif (**DO_{CN}**) est supérieur à 3 ($\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} > 3$).

1.3.2.1.9. Interprétation des résultats

Pour chaque échantillon calculer le pourcentage S/P (S/P %) :

$$\frac{S}{P} \% = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

Tableau 1: Interprétation des résultats

Résultat	Statut
$\frac{S}{P} \% \leq 40\%$	Négatif
$40 \% < \frac{S}{P} \% \leq 50 \%$	Douteux
$50 \% < \frac{S}{P} \% \leq 80 \%$	Positif
$\frac{S}{P} \% > 80 \%$	Fortement positif

1.4. Récolte et analyse des données

Après avoir analysé les échantillons sérologiques, nous avons procédé au calcul des taux de séroprévalence instantanée individuelles de l'infection à *C. burnetii* et de troupeaux infectés.

1.4.1. Calculs des taux de séroprévalence et des intervalles de confiance

Les calculs des taux de séroprévalence individuelle sont effectués en utilisant la formule suivante :

$$\textit{Prévalence apparente} = \frac{\textit{Nombre d'animaux positifs}}{\textit{Nombre d'animaux testés}}.$$

Le taux de troupeaux infectés est le rapport entre le nombre des troupeaux présentés au moins un seul cas séropositif sur le nombre des troupeaux étudiés. Les taux de séroprévalence calculées n'est que l'expression de la séroprévalence sous forme de pourcentage.

Les intervalles de confiance à 95% des pourcentages ont été établis à partir de la formule suivante :

$$IC = pA \pm 1.96 \sqrt{\frac{pA \times qA}{n}} ; \text{D'où :}$$

- *pA* : la prévalence apparente.
- *qA* = (1 - *pA*)
- *n* : la taille de l'échantillon

1.4.2. Analyse statistique :

Après avoir collecter et organiser nos données, nous avons utilisés la régression logistique univariée pour mesurer l'association statistique entre la séropositivité individuelle (variable dépendante) avec certains facteurs de risque putatifs (variables explicatives), dont six facteurs sont des variables qualitatives (Date de prélèvement, sexe, présence ou absence d'avortement pendant la dernière gestation, présence ou absence des chèvres dans le même élevage, nombre de parité, taille de troupeau) et une seule variable quantitative continue (Taux des avortement). Une variable explicative est considérée significativement associée avec la séropositivité, si Odds Ratio (OR) >1 et $p \leq 0.05$.

Les données ont été organisées dans des tableaux croisés et présentées graphiquement par l'utilisation du logiciel Microsoft Excel 2013, l'analyse statistique s'effectuée à l'aide du logiciel SPSS Statistics version 22 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

2. Résultats

2.1. Taux de séroprévalence individuelle apparente

L'analyse des 184 sérums par la technique Elisa indirecte a révélé 70 sérums positifs à la présence des anticorps anti-*Coxiella burnetii*, soit un taux de séroprévalence individuelle de 38.04% (IC 95% 34.44%–48.53%) (Tableau 2).

Tableau 2: Présentation et interprétation après la lecture

	Plaque 01	Plaque 02
Validation	<ul style="list-style-type: none"> ➤ $DO_{CP} = 1.4655 (> 0.350)$ ➤ $\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} = 24.63 (> 3)$ 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ $DO_{CP} = 1.537 (> 0.350)$ ➤ $\frac{DO_{CP}}{DO_{CN}} = 128.08 (> 3)$
Interprétation des résultats	<p>21 Cas fortement positif</p> <p>12 Cas positifs</p> <p>05 Cas douteux</p> <p>54 Cas négatifs</p>	<p>22 Cas fortement positif</p> <p>07 Cas positifs</p> <p>03 Cas douteux</p> <p>60 Cas négatifs</p>

2.2. Taux de troupeau infecté

Les analyses sérologiques effectuées au niveau de 23 troupeaux étudiés, nous a permis de détecter 22 troupeaux ont été présentés au moins un cas séropositif ; soit un taux de séropositivité de 95.65% (IC95% 79.01%–99.23%). La distribution géographique et les taux de séropositivité au niveau de chaque troupeau ont été présentés dans la (Figure 14).

2.3. Les facteurs de risque associés avec la présence des Anticorps anti-*C. burnetii*

2.3.1. Facteur d'avortement

Parmi les 177 femelles échantillonnées dans la région d'étude, 72 femelles ont été déclarés avoir subi un avortement à la dernière gestation ; dont 24 se sont révélées positives soit un taux de séropositivité de 33%. Pour les 105 femelles sans antécédents d'avortement, 42 se sont révélées positives soit un taux de séropositivité de 40% (Figure15).

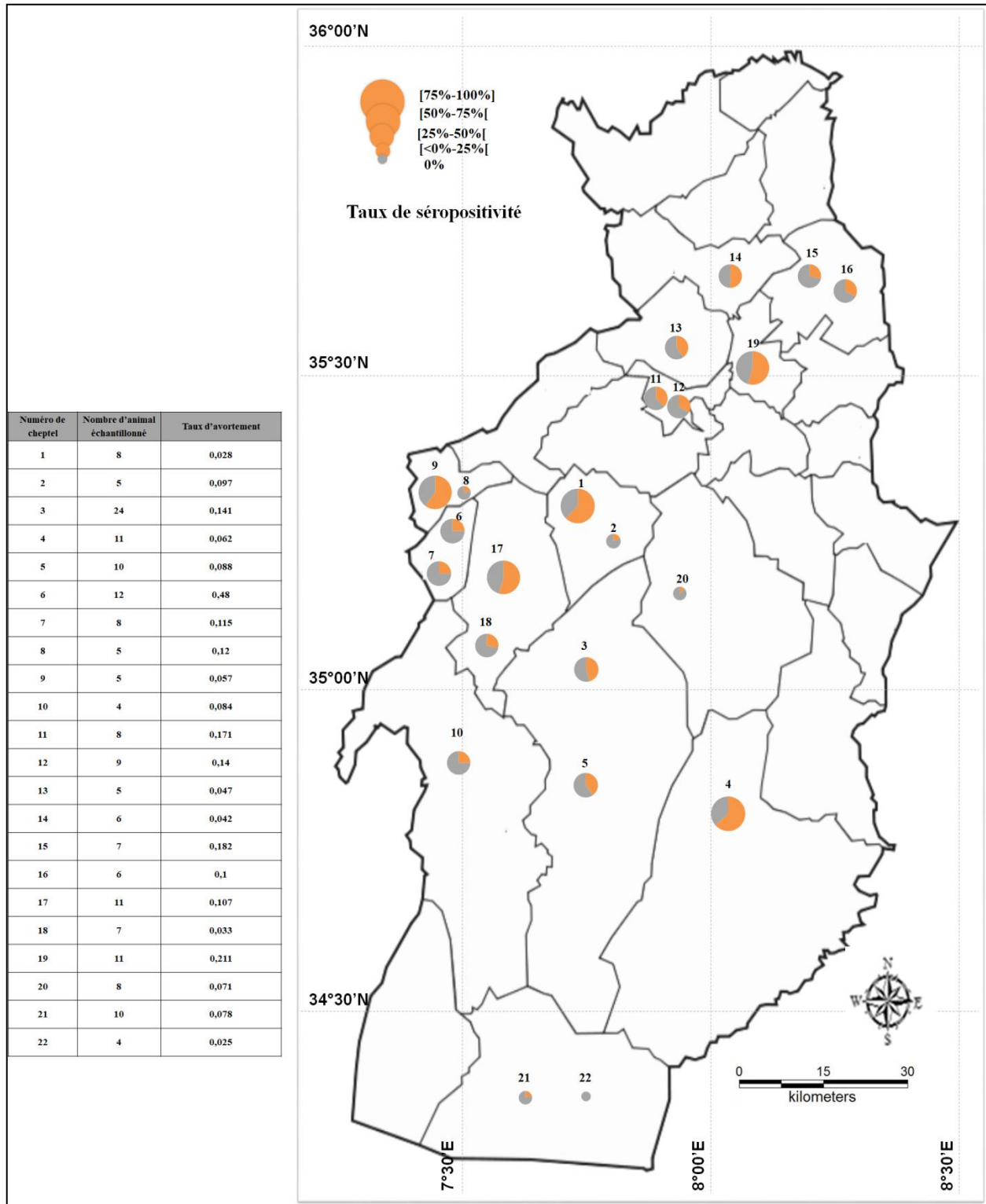


Figure 14: La distribution géographique et les taux de séropositivité au niveau de chaque troupeau

La couleur et la taille de cercle sont proportionnelles aux taux de séropositivité

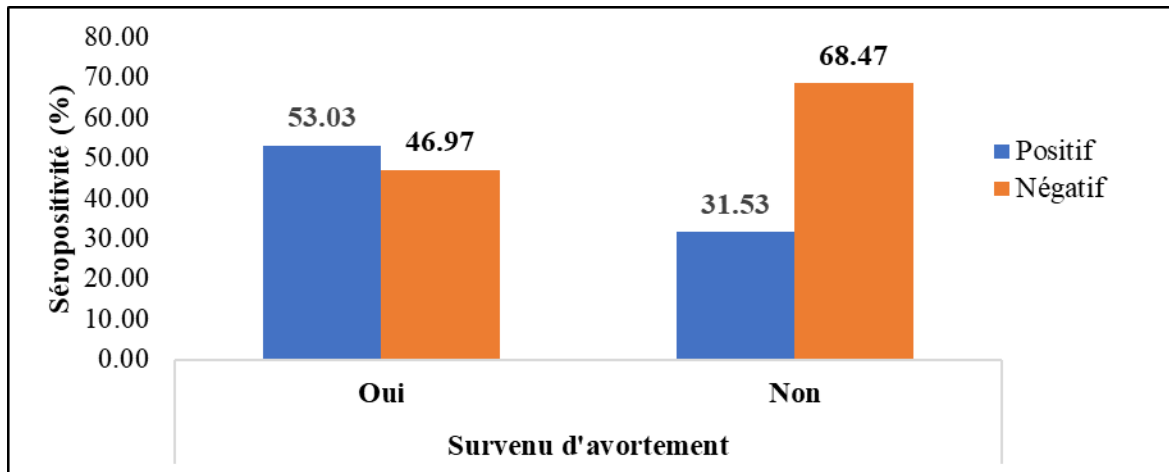


Figure 15: Distribution de taux de séropositivité en fonction de survenue d'avortement

2.3.2. Facteur de l'année

Parmi les 184 animales échantillonnées dans la région d'étude tout au long de la période d'étude, les résultats se sont avérés comme suit (**Figure 16**) :

➤ En 2016, 62 animales ont été échantillonnées, 25 se sont révélés positive soit un taux de séropositivité de 40%.

➤ En 2017, Parmi les 40 animales échantillonnées, 15 se sont révélés positive soit un taux de séropositivité de 38%.

➤ Et 82 animales échantillonnées et testés en 2018, 30 se sont révélés positive soit un taux de séropositivité de 37%.

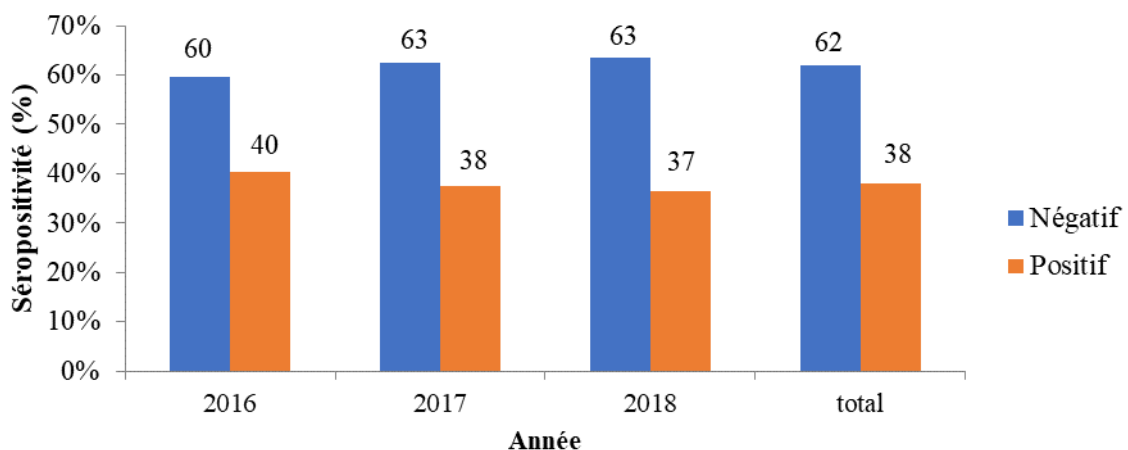


Figure 16: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de temps

2.3.3. Facteur de taille de troupeau

Les troupeaux étudiés, sont repartis en quatre classes en fonction de ses tailles (Taille <30 têtes/troupeau, 30-100 têtes/troupeau, 100-200 têtes/troupeau et >200 têtes/troupeau). Les résultats de séropositivité mesurés à l'échelle individuelle sont avérés comme suite (**Figure 17**) :

- Parmi huit têtes provenant du cheptel de taille moins de 30 têtes/troupeau deux prélèvements se sont révélés positive, soit un taux de séropositivité de 25%.
- 75 animales ont été échantillonnées dans des troupeaux de taille 30-100 têtes/troupeau ; 26 prélèvements se sont révélés positive soit un taux de séropositivité de 49%.
- Dans les troupeaux de taille comprise entre 100-200 têtes/troupeau ; nous avons échantillonnés 64 animales, 24 se sont révélés positive soit un taux de séropositivité de 38%.
- Et, pour la dernière classe (>200 têtes/troupeau) ; 37 animales ont été échantillonnées, dont 18 se sont révélés positive soit un taux de séropositivité de 35%.

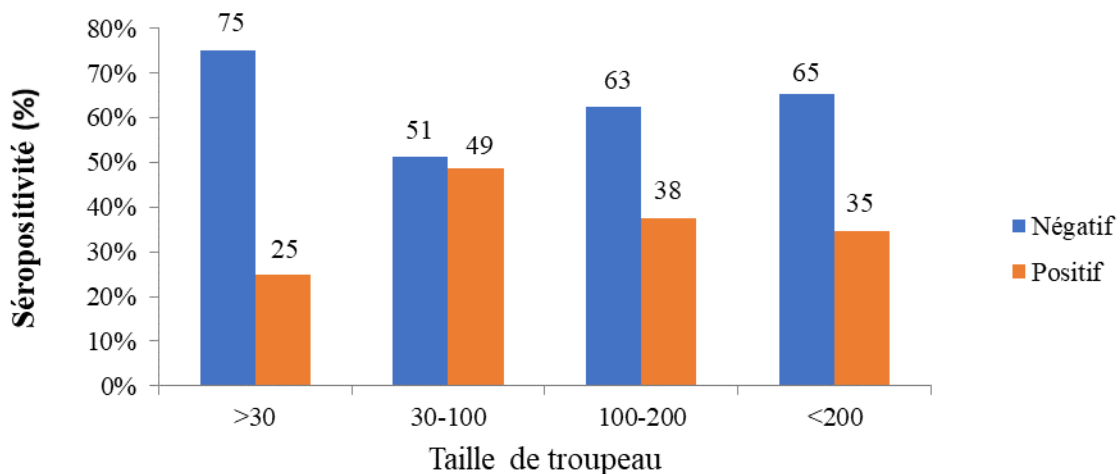


Figure 17: distribution du taux de séroprévalence en fonction de taille de troupeau

2.3.4. Facteur de sexe

Les 184 animales étudiés sont répartis en fonction de sexe comme suite, sept béliers dont quatre se sont révélés positif (57% taux de séropositivité) et 177 brebis dont 66 se sont révélés positive (37% taux de séropositivité) (**Figure 18**).

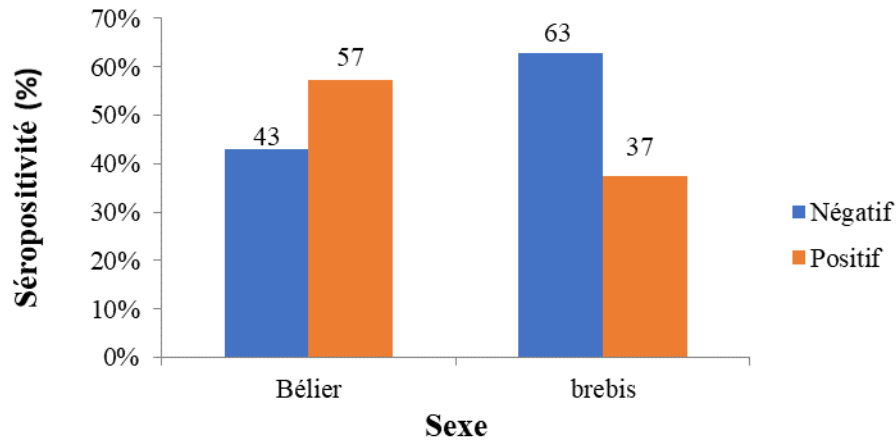


Figure 19: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de sexe

2.3.5. Facteur de catégorie de parité

Les animaux échantillonnés sont classés en trois classes en fonction de nombre de parité (multipare, primipare et nullipare), les résultats sont avérés comme suite (Figure 19).

➤ Parmi 147 animales multipares ; 57 animales se sont révélées positives, soit un taux de séropositivité de 39%.

➤ 27 brebis primipares, entre eux 9 brebis se sont révélées positive, soit un taux de séropositivité 33%.

➤ Et, 10 brebis nullipares dont quatre se sont révélées positive avec un taux de séropositivité de 40%.

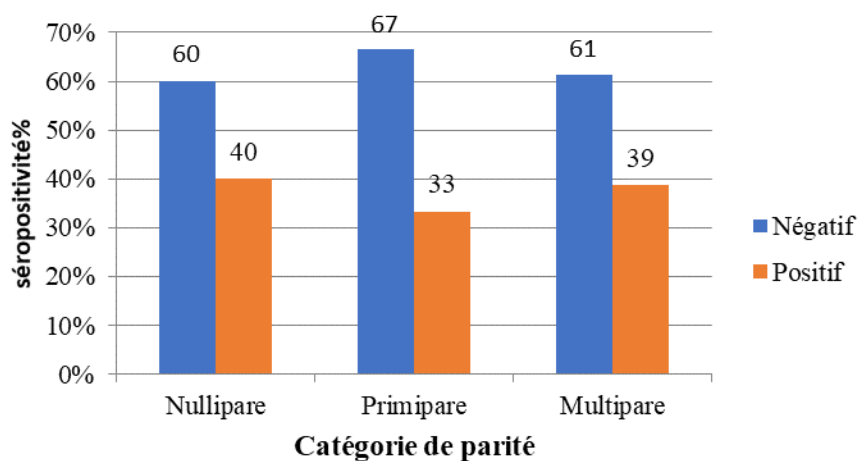


Figure 19 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction de catégorie de parité

2.3.6. Facteur de présence de chèvre

Parmi 184 animales échantillonnés dans la région d'étude, 137 têtes sont en élevage commun avec des chèvres et 47 têtes n'ont pas en contact avec l'espèce caprine, les taux de

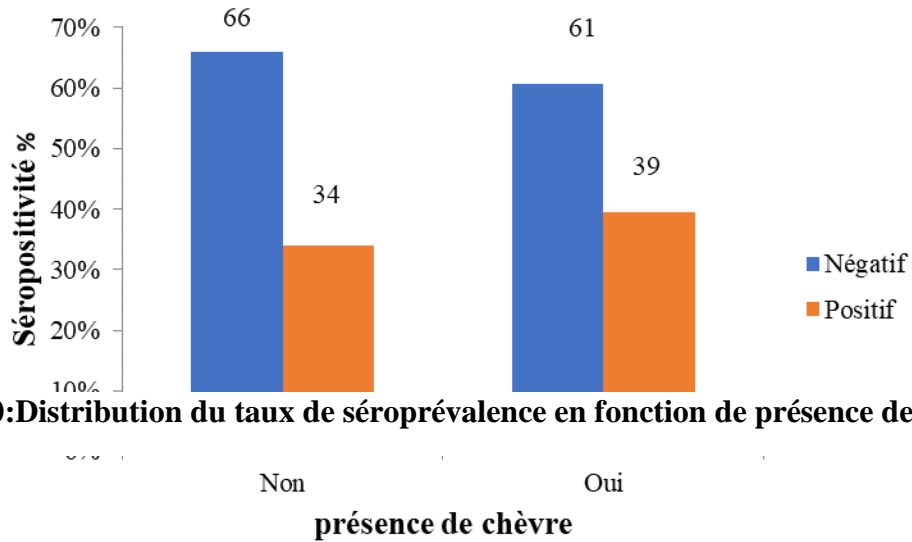


Figure 20: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de présence de chèvre

séropositivités sont 39% (54/137) et 34% (16/47) respectivement (Figure 20).

2.3.7. Facteur taux d'avortement

Le taux d'avortement est le rapport entre le nombre de brebis ayant été avortée sur le nombre total des brebis présentent dans le troupeau, il est varié entre 2,5% et 18,2% (Figure 9), avec un taux moyen de 1.24.

2.4. L'analyse statistique

La régression logistique univariée a montré que seul le facteur présence d'avortement en dernière gestation est associé significativement avec la séropositivité (OR=1.92 et $p=0.04$) (Tableau3).

Tableau 3: Résultats de régression logistique univariée

Variables	Catégorie	Nombre Testé	Cas positif (%)	Valeur <i>p</i>	OR (IC 95%)
Avortement en dernière gestation	Non	111	35 (31,53%)	0,04	1,92 (IC 95% 1,03–3,6)
	Oui	66	31 (53,03%)		
Sexe	Femelle	177	66 (37,29%)	0,3	2,24 (IC 95% 0,49–10,33)
	Mâle	7	4 (57,14%)		
Age	Nullipare	10	4 (40%)	Référence	
	Multipare	147	57 (38,77%)	0,94	1,05 (IC 95% 0,28–3,09)
	Primipare	27	9 (33,33%)	0,59	0,79 (IC 95% 0,33–1,88)
Présence de chèvre	Oui	137	54 (39,42%)	0,513	1,26 (IC 95% 0,63–2,52)
	Non	47	16 (34,04%)		
Taille de troupeau	<30	8	02 (25%)	Référence	
	30-100	75	26 (34,67%)	0,585	1,59 (IC 95% 0,3–8,45)
	100-200	64	24 (37,5%)	0,492	1,08 (IC 95% 0,33–9,64)
	>200	37	18 (48,49%)	0,235	2,8 (IC 95% 0,50–15,96)
Année	2016	62	25(40,32%)	Référence	
	2017	40	15(37,5%)	0,65	1,17 (IC 95% 0,59–2,31)
	2018	82	30(36,58%)	0,92	1,04 (IC 95% 0,47–2,27)
Taux d'avortement	C'est une variable quantitative continue $p=0,19$, OR= 0,739, (IC 95%0,47–1,16)				

3. Discussion

Cette étude a révélé une séroprévalence individuelle de 38.04% et un taux de troupeau infecté de 95.65%. Ces valeurs sont des prévalences apparentes puisqu'elles sont basées sur la présence seulement des anticorps anti-*C. burnetti*. Nous considérons toutefois que les prévalences calculées ici sont très proches aux prévalences réelles, puisque la technique ELISA est à la fois spécifique et sensible [99], elle a aussi l'avantage d'être automatisable et permet le criblage à grande échelle en médecine vétérinaire. Cependant, les cas séropositifs n'indiquent que l'animal est en contact avec la bactérie dans une période donnée de sa vie, et ne permet pas d'estimer l'importance de l'excrétion bactérienne, car un animal séropositif n'est pas forcément excréteur et un animal séronégatif peut être excréteur [9]. L'estimation de l'excrétion bactérienne nécessite l'association de test ELISA avec une technique de diagnostic direct comme la PCR [50] [93].

Dans cette étude, le taux de séropositivité individuelle (38.04%) est supérieur aux résultats d'autres études menées dans différentes régions de l'Algérie. il est supérieur aux résultats trouvés par **Khaled et al**, 2016 [43], dans une étude menée dans huit wilayat de Nord Algérien, et de **Hireche et al**, 2014 [35] au niveau la wilaya de Constantine, d'où les taux de séroprévalence sont respectivement 14.1% et 12.4% ; il est aussi supérieur à celui trouvé chez l'espèce bovine par **Agag et al**, 2017 [2], dans la région de Bejaïa (10.6%) et **Abdelhadi et al**. 2015 [1], ont enregistré une séroprévalence de 24 % dans une autre étude menée dans la région de Tiaret. Par contre, le résultat de cette étude est inférieur à celui indiqué par Benaïssa et al, 2017 [6], chez l'espèce cameline (71.2%) dans quatre wilayet de sud-est de l'Algérie. Les différences de taux peuvent être expliqués par l'effet de (i) la conception d'étude (type d'étude, taille d'échantillon, méthode d'échantillonnage), (ii) la région d'étude d'où les conditions climatiques et écologiques sont différentes d'une région à autre et aussi bien par (iii) le fait de technique de dépistage utilisée.

Le taux de troupeaux infectés, est un autre indicateur très important sur le degré de dissémination de l'infection par *C. burnetti* dans la région d'étude ; 22 troupeaux séropositifs sur les 23 échantillonnés, distribuer sur 14 communes (Fig14). Ceci pouvait indiquer que l'infection était assez étendue dans la région d'étude. Ce taux est supérieur aux taux signalés dans plusieurs études menées en Algérie, dont les taux de troupeaux infectés sont variés entre 22% à 85.3% [2] [43] [35] [6]. Le nombre très élevé de foyers infectés pourrait avoir un effet

Partie expérimentale

réducteur, à plus ou moins long terme, sur les performances de reproduction chez l'espèce ovine du fait que *C. burnetti* a été incriminé comme agent abortif chez cette espèce [59] [76].

L'implication de *C. burnetii* dans l'apparition de certains troubles de la reproduction est confirmée chez l'espèce ovine. Dans cette étude, les brebis ayant été avortée en dernière gestation ont deux fois d'être séropositive que les brebis qu'ont pas d'avortement ; ceci n'indique qu'un lien statistiquement significatif ($OR=1.92$ et $p= 0.04$) entre la séropositivité et la survenue d'avortement. Ce résultat n'indique pas que *C. burnetti* est le vrai agent pathogène même chez les animaux séropositifs et ne n'exclut pas son effet abortif chez les animaux séronégatifs. La quantification de l'association entre la séropositivité et l'avortement est difficile à établir à cause de (i) l'incidence d'autres agents abortifs [12] [61] qui rend moins apparente de telles association ou qui réduit l'exactitude des techniques analytiques pour détecter la relation entre séropositivité-avortement, (ii) la technique ELISA reste un test de diagnostic indirecte, ses résultats positifs nécessitent une confirmation par autre technique de diagnostic direct comme la PCR ou immunohistochimie [50] [93] [7].

Conclusion

Cette étude a permis d'avoir un aperçu sur l'occurrence de *C. burnetti* agent pathogène de la fièvre Q ; dans les élevages ovins dans la région de Tébessa, confirmant la circulation de cette bactérie. D'autres études à grande échelle, incluant différentes espèces de ruminants et utilisant des techniques moléculaires, sont fortement recommandées et permettront de mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie dans nos élevages. Des enquêtes sérologiques chez les professionnels à risque (éleveurs, vétérinaires, techniciens inséminateurs...) permettront d'évaluer l'impact de cette maladie sur la santé publique.

Références bibliographiques

1. A bdelhadi, F. Z., Abdelhadi, S. A., Niar, A., Benallou, B., Meliani, S., Smail, N. L., Et Mahmoud, D. (2015.). Abortions in cattle on the level of Tiaret area (Algeria). *Global Vet*, 14 (5), 638-645.
2. Agag, S. K. (2017). Séroprévalence de la fièvre Q chez les bovins de la région de Bejaïa (Algérie). *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 69(4), 155-159. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 69(4), 155-159.
3. Amano, K.-L., et Williams, J. (1984). Chemical and immunological characterization of lipopolysaccharides from phase I and phase II *Coxiella burnetii*. *Journal of Bacteriology*, 160, 994-1002.
4. Arricau-Bouvery, N. S. (2005). Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine*, 23(35), 4392-4402.
5. Babudieri, B., et Moscovici, C. (1950). Research on the behavior of *Coxiella burnetii* in relation to various physical and chemical agents. *Rendiconti-Istituto superior di Sanita*, 13(9-10), 739-748.
6. Benaïssa, M. H., Ansel, S., Mohamed-Cherif, A., Benfodil, K., Khelef, D., Youngs, C. R., Et Ait-Oudhia, K. (2017). Seroprevalence and risk factors for *Coxiella burnetii*, the causative agent of Q fever in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*) population in Algeria. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 84(1), 1-7.
7. Berri, M. L. (2000). The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. *Veterinary microbiology*, 72(3-4), 285-293.
8. Bildfell, R. J., Thomson, G. W., Haines, D. M., McEwen, B. J., et Smart, N. (2000). *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 12, 419-425.
9. Boarbi, S. F. (2015). *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q. *Canadian journal of microbiology*, 62, (2), 102-122.
10. Bobb, D., et Downs, C. (1962). The phase antigens of *Coxiella burnetii*. *Canadian Journal of Microbiology*, 8, 689-702.

Références

11. Burnet, F. M., et Freeman, M. (1937). Experimental Studies on the Virus of " Q " Fever. Medical Journal of Australia, 2, 299-305.
12. Buxton, D. H. (1999). Infectious abortion in sheep. In Practice, 21(7), 360-368.
13. Cox, H. A. (1938). filter-passing infectious agent isolated from ticks. III. Description of organism and cultivation experiments. Public Health Rep, 53, 2270-2276.
14. Davis, G. C. (1938). A filter-passing infectious agent isolated from ticks. I. Isolation from Dermacentor andersoni, reactions in animals, and filtration experiments. Public Health Rep, 54, 2219-2225.
15. Derrick, E. (1953). Epidemiology of Q Fever : review. Med. J. Aust, 1, 245-253.
16. Derrick, E. H. (1937). "Q" Fever, a New Fever Entity: Clinical Features, Diagnosis and Laboratory Investigation. Medical Journal of Australia, 2, 281-299.
17. Dilbeck, P. M. (1994). Immunohistochemical detection of *Coxiella burnetii* in formalin-fixed placenta. Journal of veterinary diagnostic investigation, 6, 125-127.
18. Dordain- Bouesnard, C. (2001). revue bibliographique et contribution à l'étude épidémiologique de la fièvre Q en région rhône-alpes. thèse, université claudes bernard, lyon, lyon.
19. Epelboin, L. M. (2017). émergence de zoonoses en Amazonie : épidémiologie comparée de la leptospirose et de la fièvre q en Guyane française. thèse, université de Guyane, guyane.
20. Etienne, B. B. (2011). synthèse d'haptènes de phycotoxines pour l'élaboration d'un immunocapteur. Thèse, Université Bordeaux I, Bordeaux.
21. Fanny, M. R. (2003). étude expérimentale de la transmission par aérosols de l'agent de la fièvre Q (*coxiella burnetii*) sur modele murin. Université Claude-Bernard -Lyon I, Lyon.
22. Fenollar, F. R. (2007). Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. International Journal of Antimicrob Agents, 30, 7-15.
23. Field, P., Mitchell, J., Santiago, A., Dickeson, D., Chan, S. W., D, H., Devine, P. (2000). Comparison of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay with immunofluorescence and complement fixation tests for detection of *Coxiella burnetii* (Q fever) Immunoglobulin M. J. J. Clin. Microbiol, 38, 1645-1647.
24. Fournier P, E., Marrie, T., et Raoult, D. (1998). Diagnosis of Q fever. J. Clin. Microbiol., 36, 1823-1834.

Références

25. Fournier, P. E., Etienne, J., Harle, J. R., Habib, G., et Raoult, D. (2001). Myocarditis, a rare but severe manifestation of Q fever: report of 8 cases and review of the literature. *Clinical infectious diseases*, 32, 1440-1447.
26. Ftáček, P., Skultéty, I., et Rudolf, T. (2000). Phase variation of *Coxiella burnetii* strain Priscilla: influence of this phenomenon on biochemical features of its lipopolysaccharide. *Journal of endotoxin research*, 6, 369-376.
27. Guatteo, R. A. (2012). Shedding and serological patterns of dairy cows following abortions associated with *Coxiella burnetii* DNA detection. *Veterinary microbiology*, 155(2-4), 430-433.
28. Guatteo, R. B. (2005). Dépistage de *Coxiella burnetii* par PCR. Fièvre Q : excrétion mammaire, vaginale et fécale. *Point Vet.*, 36, 14-15.
29. Guatteo, R. B. (2005). Fièvre Q chez les bovins. Infection des bovins par *Coxiella burnetii*. *Point Vétérinaire*, 36, 24-28.
30. Guatteo, R., Beaudreau, F., Joly, A., et Seegers, H (2007). *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Veterinary research*, 38, 849-860.
31. Guatteo, R. S. (2008.). Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine. *Vaccine*, 26(34), 4320-4328.
32. Guatteo, R., Beaudreau, F., Descarsin, V., Sellal, E., Rodolakis, A., Joly, A., et Seegers, H. (2005). Dépistage de *Coxiella burnetii* par PCR. Fièvre Q : excrétion mammaire, vaginale et fécale. *Point Vet.* 2005, 36, 14-15.
33. Hackstadt, T., Peacock, M. G., Hitchcock, P., et Cole, R. L. (1985). Lipopolysaccharide variation in *Coxiella burnetii*: intrastain heterogeneity in structure and antigenicity. *Infection and immunity*, 48, 359-365.
34. Hendrix, L., Samuel, J. E., et Mallavia, L. (1991). Differentiation of *Coxiella burnetii* isolates by analysis of restriction-endonuclease-digested DNA separated by SDS-PAGE. *J. Gen. Microbiol*, 137, 269-276.
35. Hireche, S. (2014.). L'avortement enzootique des brebis : Séroprévalence et caractérisation moléculaire de *Chlamydia abortus* dans la wilaya de Constantine. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires , université constantine 1. .

Références

36. Hogema, B. M., Slot, E., Molier, M., Schneeberger, P. M., Hermans, M. H., van Hannen, E. J., et Zaaier, H. L. (2012). *Coxiella burnetii* infection among blood donors during the 2009 Q-fever outbreak in the Netherlands. . *Transfusion*, 52, 144-150.
37. Hogerwerf, L., Van Den Brom, R., Roest, H. I., Bouma, A., Vellema, P., Pieterse, M., et Nielen, M.. (2011). Reduction of *Coxiella burnetii* prevalence by vaccination of goats and sheep, The Netherlands. *Emerging infectious diseases*, 17(3), 379.-386.
38. Hotta, A., Kawamura, M., To, H., Andoh, M., Yamaguchi, T., Fukushi, H., et Hirai, K (2002). Phase variation analysis of *Coxiella burnetii* during serial passage in cell culture by use of monoclonal antibodies. *Infection and immunity*, 70, 4747-4749.
39. Howe, D., et Mallavia, L. (2000). *Coxiella burnetii* exhibits morphological change and delays phagolysosomal fusion after internalization by J774A.1 cells. *Infect Immun*, 68, 3815-3821.
40. Howe, D., Melnicakova, J., Barak, I., et Al., E. (2003). Maturation of the *Coxiella burnetii* parasitophorous vacuole requires bacterial protein synthesis but not replication. *Cell Microbiol*, 5, 469-480.
41. Julie, D. (2013). Fièvre Q : une zoonose souvent méconnue. *Rev Med Suisse*, 9, 879-884.
42. Kaech, C., Raoult, D., et Greub, G. (2008). Incidental live-saving polymerase chain reaction in a case of prosthetic valve dual-pathogen endocarditis. *Clinical infectious diseases*, 47, 144.
43. Khaled, H. S.-B. (2016). Serological and molecular evidence of Q fever among small ruminant flocks in Algeria. . *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 47, 19-25.
44. Klervi Even, D. (2012). Développement d'outils innovants pour le diagnostic et la découverte de cibles dans le cancer du sein,. Thèse, université Aix-Marseille,, Marseille.
45. Krt, B. . (2003). The influence of *Coxiella burnetii* phase I and phase II antigens on the serological diagnosis of Q fever in cattle. *Slovenian Veterinary Research*, 40, 203-207.
46. Lacorn, M. R. (2014). Collaborative tests of ELISA methods for the determination of egg white protein and caseins used as fining agents in red and white wines. *Food analytical methods*, 7(2), 417-429.
47. Levy, P., Carrieri, P., et Raoult, D. (1999). *Coxiella burnetii* pericarditis: report of 15 cases and review. *Clinical infectious diseases*, 29, 393-397.

Références

48. Loïc, E. M. (2017). Émergence de zoonoses en Amazonie : épidémiologie comparée de la leptospirose et de la fièvre Q en Guyane française. Thèse, Université de Guyane, Guyane.
49. Lucchese, L. C. (2015). IFAT and ELISA phase I/phase II as tools for the identification of Q fever chronic milk shedders in cattle. *Veterinary microbiology*, 179(1-2), 102-108.
50. Luoto, L., et Huebner, R. J. (1950). Q fever studies in Southern California. IX. Isolation of Q fever organisms from parturient placentas of naturally infected dairy cows. *Pub. Health Rep*, 65, 541- 544.
51. Lyytikäinen, O. Z. (1996). Epidémie de fièvre Q à Lohra-Rollshausen, Allemagne, printemps. *Eurosurveillance*, 2, 9-11.
52. Mallavia, L. (1991). Genetics of rickettsiae. *European journal of epidemiology*, 7, 213-221.
53. Malosse, N., et Stéphane, M. (2008). la fièvre Q : risque zoonosique. thèse, université Claude Bernard – Lyon I, Lyon.
54. Marcadé, G. (2013). RECHERCHE Tests de diagnostic rapide en bactériologie Rapid diagnostic tests for bacterial infections. *Immuno-spécialité*, 85-89.
55. Marie-Eve, T., et Dre. Julie, A. (2015). prévalence et facteurs de risque de l'infection par *coxiella burnetii* chez les ruminants d'élevage au Québec. mémoire, université de Montréal, Montréal.
56. Marion, D. G. (2007). La Fièvre Q En Guyane Francaise Actualités Et Recherche D'un Réservoir Animal. Thèse , Université Paul-Sabatier De Toulouse , Toulouse.
57. Maurin, M., et Raoult, D. (1999). Q fever. *Clin. Microbiol. Rev*, 12, 518-553.
58. Mccaul, T. F., et Williams, J. C. (1981). Development cycle of *Coxiella burnetii*: structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations. *J. Bacteriol.*, 147, 1063-1076.
59. Mearns, R. (2007). Abortion in sheep 1. Investigation and principal causes, *In practice*, 29(1), 40-46.
60. Menzies, P. I. (2011). Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 27(1), 81-93.
61. Nelly, M., et Stéphane, M. (2008). La fièvre Q : risque zoonosique. thèse, université Claude Bernard – Lyon I, Lyon.

Références

62. Norlander, et Lena. (2000). Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes and infection*, 2, 417-424.
63. Ormsbee, R. A., Bell, E. J., Lackman, D. B., et Tallent, G. (1964). The influence of phase on the protective potency of Q fever vaccine. *The Journal of Immunology*, 92(3), 404-412.
64. Palmer, N. C., Kierstead, M., Key, D. W., Williams, J. C., Peacock, M. G., et Vellend, H. (1983). Placentitis and Abortion in Goats and Sheep In Ontario Caused By *Coxiella Burnetii*. *The Canadian Veterinary Journal*, 24, 60.
65. PETIT.V. (2003). Fièvre Q (*Coxiella burnetii*) et élevage ovin allaitant dans le département des Bouches-du-Rhône : enquête épidémiologique. Thèse , Université Claude Bernard, Lyon.
66. Philip, C. B. (1948.). Comments on the name of the Q fever organism. *Public Health Reports*, 63, 58.
67. Plommet, M., Capponi, M., Gestin, J., et Renoux, G. (1973). Fièvre Q expérimentale des bovins. *Ann. Rech. Vet*, 4, 325-346.
68. Poncelet, J. (1993). Les maladies transmises par les tiques chez les ovins. *Bull. Group. Tech. Vet*, 5, 29-35.
69. Ramos, V. J. (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary pathology*, 42, 405-426.
70. Raoult, D. (1993). Treatment of Q fever. *Antimicrob Agents Chemother*, 37, 1733-1736.
71. Raoult, D., Marrie, T. J., et Mege, J. L. (2005). Natural history and pathophysiology of Q fever. *The Lancet infectious diseases*, 5(4), 219-226.
72. Raoult, D., Tissot, D., Foucault, C., & Al, E. (2000). Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine (Baltimore)*, 79, 109-123.
73. Rekha, S. P. (2003). Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 5455-5460.
74. Rodolakis, A. . (1994). Chlamydie et fièvre Q: agents d'avortements et zoonoses. *Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente*, 26, 19-24.
75. Rodolakis, A. (2006). Q fever, state of art: Epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Small ruminant research*, 62(1-2), 121-124.

Références

76. Roman, M. J., Coriz, D., et Baca, O. G. (1986). A proposed model to explain persistent infection of host cells with *Coxiella burnetii*. *J. Gen. Microbiol.* 132: 1415-1422, 132, 1415-1422.
77. Rousset, E. D. (2009). Efficiency of a phase 1 vaccine for the reduction of vaginal *Coxiella burnetii* shedding in a clinically affected goat herd. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 188-189.
78. Rousset, E., Russo, P., Pépin, M., & Raoult, D. (2001). Epidémiologie de la fièvre Q animale. Situation en France. *Médecine et Maladies infectieuses*, 31, 233-246.
79. ROUSSET, E., DUQUESNE, V., RUSSO, P., et THIERY, R (2007). "la fièvre Q: problématiques et risques sanitaires.". bulletin de l'académie vétérinaire de france.
80. Rousset, E., Durand, B., Champion, J. L., Prigent, M., Dufour, P., Forfait, C., et Aubert, M. F. (2009). Efficiency of a phase 1 vaccine for the reduction of vaginal *Coxiella burnetii* shedding in a clinically affected goat herd. *Clinical Microbiology and Infection*, 15 , 188-189.
81. Rousset, E., Eon, L., Russo, P., Pepin, M., et Aubert, M. (2002). La fièvre Q : épidémiologie d'une zoonose. *Bulletin-Gtv*, 17, 81-87.
82. Rousset, E., Russo, P., Pepin, M., & Raoult, D. (2000). La fièvre Q: une zoonose encore mystérieuse. *BULLETIN-GTV*, 7, 139-143.
83. Salah, A. R. (2016). Séroprévalence de la fièvre Q chez les bovins de la région de Bejaïa (Algérie). *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 69 (4), 155-159.
84. Samira, B. D. (2016). *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q *Can. J. Microbiol*, 62, 102–122.
85. Samuel, J. E. (1983). Isolation and characterization of a plasmid from phase I *Coxiella burnetii*. *Infection and Immunity*, 41, 488-493.
86. Samuel, J. E., Frazier, M., et Mallavia, I. (1985). Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*. *Infection and immunity*, 49, 775-779.
87. Sarah, R., Guy, C., Jacques, M., Raphaël, G., et Claude, S. (2011). Q Fever: Current State of Knowledge and Perspectives of Research of a Neglected Zoonosis. *international journal of Microbiology*.

Références

88. Schramek, S., et Mayer, H. (1982). Different sugar compositions of lipopolysaccharides isolated from phase I and pure phase II cells of *Coxiella burnetii*. *Infection and immunity*, 38, 53-57.
89. Seshadri, R., Paulsen, I. T., Eisen, J. A., Read, T. D., Nelson, K. E., Nelson, W. C., Deboy, R. T. (2003). Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 5455-5460.
90. Stein, A., et Didier, R. (1999). Pigeon Pneumonia in Provence: A Bird-Borne Q Fever Outbreak. *Clinical Infectious Diseases*, 29, 617-620.
91. Stephanie, D. G. (2013). Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 133, 1.
92. Sting, R. M. (2013). Quantitative real-time PCR and phase specific serology are mutually supportive in Q fever diagnostics in goats. . *Veterinary microbiology*, 167((3-4),), 600-608.
93. Stoker, M. G., et Fiset, P. (1956). Phase variation of the Nine Mile and other strains of *Rickettsia burneti*. *Canadian journal of microbiology*, 2, 310-321.
94. Thiele, D., et Willems, H. (1994). Is plasmid based differentiation of *Coxiella burnetii* in 'acute' and 'chronic' isolates still valid? *European journal of epidemiology*, 10, 427-434.
95. Thrusfield, M. R. (2007). *Veterinary Epidemiology* (éd. 3). (J. W. Sons, Éd.) blackwell publishing, Oxford.
96. Tujulin, E., et Swedish, D. (2000). Host interaction of the intracellular bacterium *Coxiella burnetii*. Thèse, University of Agricultural Sciences.
97. Valcova, D., et 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.
98. Van den Brom. R., V. E. (2015). *Coxiella burnetii* infections in sheep or goats: an opinionated review. *Veterinary microbiology*,, 181(1-2), 119-129.
99. Vashist, S. K. (2018). Enzyme-Linked Immunoassays. In *Handbook of Immunoassay Technologies* (pp. 97-127). Academic Press.
100. Vishwanath, S. R., et Hackstadt, T. (1988). Lipopolysaccharide phase variation determines the complement-mediated serum susceptibility of *Coxiella burnetii*. *Infection and immunity*, 56, 40-44.

Références

- 101.** Vodkin, M. H., et Williams, J. C. (1986). Overlapping deletion in two spontaneous phase variants of *Coxiella burnetii*. *Microbiology*, 132, 2587-2594.
- 102.** Wegdam-Blans, M. A., Vainas, T., Van Sambeek, M., Cuypers, P. W., Tjhie, H. J., Van Straten, A. H., et Teijink, J. A. (2011). Vascular complications of Q-fever infections. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 42, 384-392.
- 103.** 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. *Pub. Health. Rep*, 66, 1473-1477.
- 104.** Yahiaoui, W. A.-B. (2013,). Sondage sérologique de la fièvre Q chez les ovins par la méthode ELISA et prévalence des avortements dans larégion de Ksar El Boukhari (Algérie). *TROPICULTURA*,, 32,(1), 22-27.
- 105.** Zeman, D. H.-S. (1989). Ovine abortion due to *Coxiella burnetii* infection. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 1, 178-180.
- 106.** Zhang, G. R.-L. (2007). mechanisms of vaccine-induced protective immunity against *coxiella burnetii* infection in BALB/c mice. *the journal of immunology* ., 179, 8372-8380.