

Chlamydie et Fièvre Q, similitudes et différences entre ces deux zoonoses

A. RODOLAKIS

INRA Unite de Recherche Infectiologie Animale et Sante Publique - 37380 Nouzilly France

RESUME - La chlamydie et la fièvre Q sont deux zoonoses qui ont été longtemps négligées, car elles passent souvent inaperçues ou sont confondues avec une infection respiratoire banale, cependant elles sont particulièrement dangereuses pour les femmes enceintes. Elles sont dues à de petites bactéries qui ne se multiplient que dans les cellules eucaryotes au cours de cycles qui présentent suffisamment de similitudes pour qu'elles soient facilement confondues. Cette synthèse fait le point sur les similitudes et les différences entre la chlamydie et de la fièvre Q chez les ruminants, sur les connaissances concernant la transmission de l'infection à l'homme et entre troupeaux ainsi que l'évolution de celles-ci dans les troupeaux. Les outils disponibles pour faire un diagnostic d'avortement ou dépister les troupeaux indemnes sont analysés et plus particulièrement l'apport de la PCR traditionnelle et quantitative ainsi que des tests ELISA. Les limites de la prophylaxie sanitaire de ces deux infections, l'utilité de la prophylaxie médicale et la conduite à tenir lorsqu'un troupeau est infecté pour éviter la contamination de l'environnement et donc des troupeaux voisins mais aussi le risque de transmission à l'homme sont exposés en soulignant tout particulièrement les dangers que peuvent présenter des extrapolations trop rapides de la chlamydie à la fièvre Q ou d'une espèce de ruminants hôte à une autre.

Chlamydiosis and Q fever, similarity and difference between these two zoonoses.

A. RODOLAKIS - INRA Unite de Recherche Infectiologie Animale et Sante Publique - 37380 Nouzilly France

SUMMARY - Chlamydiosis and Q fever are zoonoses, which were ignored for a long time, because they are often mixed up with flu or common respiratory infections. However they are exceptionally dangerous for pregnant women. They are due to small intracellular bacteria which grow in the cytoplasm of eukaryotic cells according to developmental cycles which have enough similarities to induce *Coxiella* and to be confused with *Chlamydia*.

This synthesis reviews the differences and likeness of Chlamydiosis and Q fever in ruminants concerning the transmission of the disease to humans or to other flocks, as well as the evolution of the infection inside the herd. The available tools for diagnosis of abortion or for the identification of *Chlamydia* or *Coxiella*-free herds are analysed. The improvement offered by real-time or classical PCR as well as ELISA is evaluated. The limits of sanitary prophylaxis and the usefulness of medical prophylaxis are described. The risk of extrapolation from Chlamydiosis to Q fever and from one species of ruminants to another is underlined.

INTRODUCTION

La chlamydie abortive et la fièvre Q sont deux zoonoses dues à de petites bactéries, *Chlamydia abortus* et *Coxiella burnetii*, difficiles à isoler car elles se multiplient uniquement dans le cytoplasme des cellules eucaryotes au cours de cycles faisant alterner une petite forme extracellulaire et une grosse forme intracellulaire qui pour *C. abortus* est la seule métaboliquement active (tableau 1). Elles peuvent être facilement confondues à l'examen microscopique, cependant elles ont toujours appartenu à des genres bactériens différents. De plus alors que *C. abortus* survit très mal en dehors d'une cellule eucaryote, *C. burnetii* résiste à la chaleur et à la dessiccation. Elle peut par exemple survivre au moins 150 jours dans le sol (Welsh *et al.* 1957), ce qui entraîne des différences épidémiologiques importantes entre ces deux bactéries.

1. LA CHLAMYDIOSE ET LA FIEVRE Q CHEZ LES RUMINANTS

1.1. SIGNES CLINIQUES

Chez les ruminants elles provoquent toutes les deux des avortements, en fin de gestation, sans signe clinique précurseur et des mises bas prématurées ou à terme des produits chétifs qui meurent ou s'élèvent mal. Cependant, on observe également des infections inapparentes avec excrétion. Celles-ci sont plus fréquentes avec *C. burnetii* qu'avec *C. abortus*. Les rétentions placentaires sont rares mais plus fréquentes chez les chèvres et les vaches. En effet chez les bovins ces bactéries entraînent également des métrites et des infertilités mais elles peuvent aussi donner

chez tous les ruminants des pneumonies (tableau 2). Dans les troupeaux de petits ruminants nouvellement infectés de chlamydie 30 % des femelles gestantes peuvent avorter, ce taux d'avortement pouvant même atteindre plus de 60 % pour les troupeaux caprins (tableau 2). Chez les bovins les avortements sont généralement beaucoup moins nombreux. Dans les troupeaux infectés par *C. burnetii*, le nombre d'avortements observés est souvent trop faible pour attirer l'attention de l'éleveur, bien que dans certains troupeaux caprins, de nombreuses chèvres peuvent avorter (tableau 2). Les femelles se rétablissent rapidement après l'avortement. L'avortement dû à *C. abortus* est suivi d'une immunité suffisante pour prévenir une nouvelle "chlamydémie" et une colonisation du placenta, même si des chlamydia ou leur ADN ont pu être mis en évidence dans le vagin, l'utérus et l'oviducte de quelques brebis juste avant l'ovulation (Papp *et al.* 1994). De même, les brebis n'avorteraient qu'une fois de fièvre Q : lors d'un épisode abortif, parmi les 18 brebis excrétaient *C. burnetii*, une seule excrète à nouveau de façon faible et très transitoire deux mises bas plus tard (Berri *et al.* 2002). En revanche, des avortements et une excrétion vaginale de *C. burnetii* lors de deux gestations successives ont été observés chez la chèvre (Champion *et al.* 2004). Aucune étude jusqu'à présent n'a montré si chez les bovins *C. burnetii* perturbe ou non plusieurs gestations successives comme chez la femme, la chèvre et la souris.

1.2. EXCRETION

De très nombreuses bactéries présentes dans le placenta et le liquide amniotique sont excrétées au moment de l'avortement.

1.2.1. En chlamydie

L'excrétion vaginale peut commencer quelques jours avant la mise bas chez la chèvre. Elle peut persister plusieurs semaines, mais elle devient très rapidement intermittente et moins intense (tableau 3). Les *chlamydia* sont également excrétées dans le lait, les fèces et l'urine.

1.2.2. L'excrétion de *C. burnetii*

Elle peut persister pendant plusieurs mois dans les sécrétions vaginales après l'avortement ou la mise bas (tableau 3). Il n'y a pas de lien systématique entre l'apparition de signes cliniques et l'excrétion dans le lait (Schaal, 1982). Ainsi une vache ou une chèvre ayant avorté n'excrète pas forcément dans le lait et, si c'est le cas, cette excrétion peut être de courte durée contrairement à d'autres femelles du troupeau qui ont mis bas apparemment normalement et qui vont excréter pendant plusieurs mois et même plusieurs lactations. En cas de métrites, cette excrétion semblerait persister longtemps, mais cette observation reste à confirmer. Les publications sur la présence de *C. burnetii* dans le lait de brebis sont plus limitées. La présence de *C. burnetii* dans le lait a été démontrée avec une PCR classique chez des brebis pendant huit jours après la mise bas. Dans cette étude une bonne corrélation entre l'excrétion fécale et mammaire a été observée (Berri *et al.* 2001). Dans une autre étude toujours avec une PCR classique, nous avons détecté des *Coxiella* dans le lait de brebis pendant plus de 3 mois après la mise bas. Cependant, ces premiers résultats qui doivent être confirmés sembleraient indiquer que l'excrétion dans le lait de la brebis est moins fréquente et persisterait moins longtemps que dans les troupeaux bovins et caprins. En revanche, dans les troupeaux ovins étudiés, l'excrétion fécale et l'excrétion vaginale étaient très importantes et semblaient persister plus longtemps que dans le lait, ce qui confirmerait le rôle important des ovins dans la transmission de la fièvre Q à l'homme par voie respiratoire. L'excrétion de *C. burnetii* dans les fèces a été suivie chez la chèvre au cours de 2 infections expérimentales. Elle se produit dans les 20 jours qui suivent l'inoculation et persiste pendant 30 à 40 jours (Arricau-Bouvery *et al.* 2003).

2. TRANSMISSION DE L'INFECTION CHEZ L'ANIMAL

2.1. VOIE RESPIRATOIRE

En chlamydie et en fièvre Q, la transmission aérienne de l'agent notamment au moment de l'avortement ou de la mise bas joue un rôle majeur dans la propagation de l'infection, cependant les capacités de survie dans l'environnement très différentes de *C. burnetii* et *C. abortus* doivent être prises en compte. La contamination par *C. abortus* résultera donc d'un contact étroit avec une femelle qui avorte (tableau 4). En revanche un placenta infecté par *C. burnetii* abandonné dans un pré, du fumier ou du lisier contaminés épandus dans un champ peuvent infecter des troupeaux à plusieurs kilomètres de distance (tableau 4). De plus, si dans les deux cas la voie respiratoire est une voie de pénétration importante et les macrophages alvéolaires pulmonaires une des premières cibles de l'infection, pour *C. abortus* la voie oculaire et la voie digestive ont également un rôle important.

2.2. VOIE DIGESTIVE

Pour la *chlamydia* la voie digestive par ingestion d'un placenta contaminé ou d'aliments souillés par un placenta serait la voie principale (McEwen *et al.* 1951, Parker *et al.*

1966, Wilshire *et al.* 1984, Dawson *et al.* 1986) les *chlamydia* colonisant les cryptes des amygdales (Jones et Anderson 1988). La contamination par voie orale des ruminants par ingestion d'un placenta contaminé par *C. burnetii* n'a pas été étudiée, mais elle n'est pas considérée comme une voie importante car le rôle de cette voie dans la contamination humaine est jugé mineur. Des travaux ont démontré une moins grande sensibilité du cobaye par cette voie (Scott et Williams 1978) et la souris a été trouvée 10 000 fois moins sensible par voie orale que par la voie intrapéritonéale (Durand 1993). De plus nous avons étudié la réponse en anticorps d'agnelles nées dans un troupeau naturellement infecté. Il n'y avait pas de relation entre leur positivité en ELISA et le fait que leur mère ait excrété ou non *C. burnetii* dans le lait, indiquant que pour ces agnelles le lait infecté de leur mère n'avait pas constitué une source de contamination (Berri *et al.* 2005). Cependant un placenta infecté contient un très grand nombre de *Coxiella* et il est classiquement admis que leur consommation peut contaminer les chats et les chiens (Maurin et Raoult 1999).

2.3. AUTRES VOIES

C. abortus (Wilshire *et al.* 1984, Appleyard *et al.* 1985) et *C. burnetii* (Kruszewska et Tylewska-Wierzbanowska 1997) peuvent être isolées à partir du sperme mais la transmission vénérienne de l'infection, si elle est possible ne joue pas un grand rôle dans l'épidémiologie de ces maladies. En effet la transmission sexuelle dissémine beaucoup moins efficacement l'agent infectieux que l'excrétion au moment de l'avortement. En chlamydie elle se traduirait par des baisses de fertilité dues à des métrites et une absence de nidation de l'embryon.

La fièvre Q peut également être transmise par la piqûre d'une tique (tableau 4).

2.4. SENSIBILITE A L'INFECTION

En chlamydie, la sensibilité à l'infection varie en fonction de l'état physiologique de la femelle. Les femelles non gravides sont moins sensibles que les femelles gestantes et c'est une infection à mi-gestation qui provoque le plus d'avortement, alors qu'une contamination en fin de gestation entraîne la naissance d'un petit vivant mais infecté qui pourra éventuellement avorter lors de la première gestation, s'il s'agit d'une femelle, ou excréter des *chlamydia* dans le sperme s'il s'agit d'un mâle. D'après les observations de terrain, il semblerait que ce soit sensiblement la même chose en fièvre Q chez la chèvre (Blain 2006), mais il n'y a pas d'étude expérimentale de l'influence de la gestation sur la sensibilité à l'infection par *C. burnetii*. De même, la survie du fœtus en fonction du moment de l'infection et sa contamination *in utero* n'ont pas été étudiées. *C. burnetii* peut être retrouvée dans le liquide gastrique, le foie, les poumons des fœtus, mais on ne sait pas si les petits nés vivants peuvent comme en chlamydie être infectés et avorter lors de leur première gestation, maintenant ainsi l'infection dans le troupeau.

3. EXPRESSION DE L'INFECTION ET TRANSMISSION CHEZ L'HOMME

3.1. EXPRESSION CLINIQUE

L'incidence réelle de la chlamydie et de la fièvre Q chez l'homme est inconnue, car elles peuvent être asymptomatiques dans un grand nombre de cas, ou facilement confondues avec une grippe, les signes cliniques

les plus fréquents étant des maux de tête accompagnés de fièvre et de toux. Des pneumonies atypiques peuvent être dues à *C. abortus* ou *C. burnetii*. Environ 4 % des infections aiguës à *C. burnetii* nécessitent une hospitalisation et s'accompagnent alors de symptômes variables (hépatite, pneumonie, méningoencéphalite, pancréatite, avortement, ...). En effet *C. burnetii* peut provoquer un avortement chez les femmes contaminées pendant la gestation. Si elles ne sont pas traitées l'infection évoluera vers une forme chronique se traduisant par des fausses couches à répétition, alors que l'infection par *C. abortus* au cours de la grossesse entraîne un avortement en fin de gestation accompagné de complications sévères qui ont même été mortelles (Buxton 1986).

La Fièvre Q est une zoonose, très dangereuse également pour les patients atteints de valvulopathie, ou immunodéprimés. Dans ces cas, la maladie risque d'évoluer vers une forme chronique grave dont une endocardite mortelle si elle n'est pas diagnostiquée et traitée.

3.2. TRANSMISSION A L'HOMME

Alors qu'en chlamydie l'avortement d'une femme enceinte est toujours relié avec la proximité de femelles ayant avorté, l'origine des infections humaines à *C. burnetii* est souvent difficile à identifier mais ce sont les ruminants domestiques et principalement les brebis et les chèvres qui sont le plus souvent incriminées.

Les litières et les lisiers jouent un rôle important dans la transmission de l'infection à l'homme (Berri *et al.* 2003). Le principal mode de transmission est l'inhalation d'aérosols infectés provenant de produits de parturition, de fèces ou d'urine d'animaux infectés ou des litières contaminées et transportés par le vent loin du troupeau d'origine. La bactérie étant très résistante dans le milieu extérieur, elle peut provoquer des infections chez des patients qui n'ont pas de contact direct avec les animaux (Tissot-Dupont *et al.* 2004). Dans certains pays, les piqûres de tiques contaminées joueraient également un rôle dans la transmission de l'infection. L'infection par consommation de lait cru ou de produits laitiers provenant d'animaux infectés est possible mais considérée comme une voie de contamination mineure, la quantité de *Coxiella* dans le lait et particulièrement dans le lait de tank d'un troupeau même très infecté reste faible par rapport au placenta.

4. DIAGNOSTIC ET DEPISTAGE

Les signes cliniques ne permettent pas de poser un diagnostic de chlamydie abortive ou de fièvre Q. Le diagnostic doit obligatoirement être un diagnostic de laboratoire.

Ces deux bactéries ne se multipliant pas en dehors des cellules eucaryotes leur isolement n'est pas réalisé pour le diagnostic de routine, car le temps nécessaire pour ces isolements est trop long et les prélèvements sont souvent trop souillés. De plus les *Chlamydia* trop fragiles meurent rapidement avant l'arrivée du prélèvement au laboratoire et les *Coxiella* se cultivent très mal sur cellules. Par ailleurs, ces bactéries nécessitent pour leur culture, un laboratoire protégé de niveau 3.

4.1. SEROLOGIE

Les tests sérologiques utilisés permettent un diagnostic de troupeau : ils détectent les troupeaux infectés ou ayant été infectés et ne peuvent en aucun cas être utilisés pour identifier individuellement les animaux infectés ou excréteurs au sein du troupeau.

Les tests de fixation du complément (FCT) manquent de sensibilité particulièrement en fièvre Q et de spécificité en chlamydie. Lorsqu'on les utilise malgré tout, il ne faut en aucun cas appliquer à la fièvre Q les seuils recommandés pour la chlamydie. Ceux-ci ont en effet été fixés pour distinguer les réponses anticorps provoquées par une infection à *C. abortus* des réponses anticorps anti-*C. pecorum* que la plupart des ruminants hébergent dans leur tractus digestif. Pour éviter ces réactions croisées un test ELISA utilisant un antigène recombinant spécifique de *C. abortus* a été développé à l'INRA en collaboration avec l'Institut Pourquier (*ELISA Chlamydia Institut Pourquier* Montpellier France). Il permet un dépistage précoce des animaux infectés, puisque la réponse anticorps est détectée 8 jours après l'inoculation de la bactérie.

Avec les tests classiques détectant les anticorps dirigés contre les antigènes du LPS communs à toutes les chlamydia la recherche d'anticorps doit être réalisée préférentiellement un à deux mois après la mise bas. Ces tests ne sont donc pas adaptés au dépistage de la chlamydie chez les jeunes ou les mâles

Les tests ELISA disponibles en Fièvre Q sont plus sensibles que les tests de fixation du complément. Un troupeau entièrement séronégatif en ELISA devrait être indemne de fièvre Q en revanche un troupeau séropositif n'est pas forcément un troupeau qui excrète *C. burnetii*. La réponse anticorps persiste longtemps (au moins 2 ans) même en absence de signe clinique et d'excrétion (Berri *et al.* 2002), cependant certaines femelles peuvent excréter pendant longtemps dans le mucus vaginal ou le lait en étant séronégatives. Chez l'homme, l'évolution vers certaines formes chroniques de fièvre Q comme "la fatigue chronique" étant liée à un déficit immunitaire, nous avons recherché si cette absence d'anticorps était due à la technique de détection ou à un manque de réponse humorale à l'infection. La réponse en immunofluorescence vis-à-vis de différentes souches de *C. burnetii* des sérums des vaches négatives avec le test ELISA (*CHEKIT® IDDEX laboratories* USA) a montré que les différences antigéniques existant entre la souche *Nine Mile*, isolée d'une tique qui constitue l'antigène du kit CHECKIT et des souches isolées de ruminants sont responsables de cette absence de réponse anticorps. En collaboration avec la société LSI (Lissieu France) nous avons développé un kit ELISA (Kit LSI Ruminant sérum Lissieu France) plus sensible que ceux qui utilisent la souche *Nine Mile*.

4.2. LA PCR

Seule la PCR permet d'identifier facilement les troupeaux et les animaux qui excrètent. Cette technique constitue le plus important apport au diagnostic de la chlamydie et de la fièvre Q de ces dernières années et plusieurs kits sont disponibles utilisant une PCR classique ou une PCR en temps réel, simple, chlamydie ou fièvre Q ou multiplex, chlamydie et fièvre Q. La PCR multiplex a permis de démontrer la présence simultanée de *C. abortus* et de *C. burnetii* dans des écouvillons vaginaux prélevés chez des brebis ayant avorté. Les études sérologiques avaient déjà révélé que certains troupeaux et certains animaux dans un troupeau pouvaient avoir des titres élevés en anticorps contre plusieurs germes abortifs mais la coloration de Stamp ne permettait pas de prouver la présence simultanée des deux bactéries dans le mucus vaginal d'une brebis. Dans ces conditions, comment savoir si l'avortement observé est

dû à la chlamydie ou à la fièvre Q ? En dehors de son coût qui peut être diminué par l'utilisation de la PCR multiplex, les principaux inconvénients de la PCR sont les risques de réponses faussement négatives ou faussement positives. Les faux négatifs, dus à des inhibiteurs peuvent être détectés grâce à un témoin interne et leur nombre peu être réduit par une extraction d'ADN. Les faux positifs peuvent être évités par des précautions de manipulation rigoureuses. Ils doivent absolument être recherchés par la présence de témoins des différentes phases de l'opération.

4.2.1 Le diagnostic de la fièvre Q

La PCR en temps réel plus onéreuse mais plus sensible que la PCR classique tend à se généraliser en France. Elle permet de quantifier la quantité de bactéries présentes dans l'échantillon, mais son extrême sensibilité oblige à interpréter avec prudence les réponses faiblement positives vis-à-vis de la fièvre Q. En effet les kits disponibles permettent généralement de détecter de façon reproductible 10^2 *Coxiella* par gramme de placenta ou par ml de lait ou de mucus vaginal. Compte tenu de la fréquence de l'excrétion accompagnant des mises bas normales et du grand nombre de *Coxiella* présentes dans le placenta ou le mucus vaginal d'une femelle ayant avorté, seuls les prélèvements contenant au moins 10^4 *Coxiella* par gramme de placenta ou de mucus vaginal prélevé dans la semaine suivant l'avortement, permettront de poser un diagnostic d'avortement dû à la fièvre Q. En revanche, lorsque le prélèvement de liquide gastrique de l'avorton est positif on peut conclure que l'avortement est dû à *C. burnetii* quelle que soit la quantité de *Coxiella* dans le prélèvement.

La grande sensibilité de la PCR en temps réel sera en revanche très utile pour le dépistage des troupeaux indemnes, c'est-à-dire pour démontrer l'absence de circulation de *C. burnetii* dans un troupeau. Cependant l'étude de troupeaux "négatifs" montre que pour qu'un troupeau soit réellement indemne de fièvre Q il faudrait vérifier que tous les animaux sont séronégatifs. En effet, nous avons recherché la réponse anticorps et l'excrétion dans le lait, le mucus vaginal et les fèces de 30 vaches appartenant à un d'un troupeau bovin de 110 vaches laitières, 38 brebis appartenant à un d'un troupeau ovin de 260 brebis laitières et 30 chèvres appartenant à un d'un troupeau caprin de 300 chèvres laitières. Ces 3 troupeaux ont été sélectionnés parce qu'ils n'avaient pas de problème pathologique, qu'un échantillon de 10 sérums était négatif en ELISA et que le lait de tank prélevé en même temps que les sérums était négatif en PCR. Seul le troupeau caprin semblait réellement indemne de fièvre Q, tous les prélèvements des chèvres étant négatifs, en revanche trois vaches présentaient une réponse PCR très faible dans le mucus vaginal et deux brebis excrétaient dans les fèces, une troisième était fortement positive en ELISA. Après enquête, quelques brebis de ce troupeau avaient été achetées dans un troupeau ayant présenté des cas de fièvre Q plusieurs années auparavant. L'identification des troupeaux indemnes de fièvre Q semble donc particulièrement délicate. Elle ne pourra en aucun cas reposer sur une seule analyse PCR négative du lait de tank, mais devra associer une analyse sérologique d'une dizaine de sérums et plusieurs analyses PCR successives du lait de tank. Les sérums à analyser seront prélevés en priorité sur des femelles ayant eu des problèmes de reproduction.

4.2.2. Le diagnostic de la chlamydie

En chlamydie, l'excrétion de *C. abortus* décroît très rapidement après la mise bas particulièrement chez les bovins et tout prélèvement de mucus vaginal positif prélevé plus de 24 h après l'avortement est significatif d'un avortement dû à *C. abortus*.

Des travaux anciens rapportaient que chez certaines femelles *C. abortus* pouvait être excrétée pendant plusieurs mois dans le lait, mais ces travaux n'ont pas été confirmés dans des études récentes utilisant la PCR. Avec une PCR classique dont la sensibilité avait été accrue par l'utilisation d'une séparation immunomagnétique, parmi 200 échantillons de lait provenant de 10 troupeaux ovins, seulement 3 échantillons ont été trouvés positifs (Öngör *et al.* 2004). En absence d'études plus approfondies, le lait ne semble donc pas un bon prélèvement pour caractériser le statut sanitaire d'un troupeau vis-à-vis de la chlamydie. Le dépistage des troupeaux indemnes est donc réalisé par une enquête sérologique avec un test spécifique de *C. abortus* sur au moins 10 % des femelles ayant mis bas dans les 3 mois.

5. PROPHYLAXIE

5.1. PROPHYLAXIE SANITAIRE

Les mesures classiques d'hygiène et de précautions pour l'introduction de nouveaux animaux dans le troupeau peuvent être efficaces pour prévenir l'apparition de la chlamydie abortive dans un troupeau indemne :

- ne pas introduire d'animaux provenant de troupeaux dont le statut sanitaire n'est pas connu, tout particulièrement des femelles gestantes,
- proscrire la location ou le prêt de mâles entre troupeau,
- en cas de transhumance, ne pas mélanger des troupeaux de statut sanitaire inconnu ou différent,
- séparer les femelles en fin de gestation et détruire rapidement les placentas et les avortons,
- synchroniser les gestations chez les petits ruminants.

Ces mesures peuvent être inopérantes dans le cas de la fièvre Q compte tenu de la diffusion aérienne de *C. burnetii*, de sa résistance à la dessiccation et de la multiplicité de réservoirs. A l'INRA le troupeau ovin de l'unité expérimentale de Pathologie Infectieuse et Immunologie a été naturellement infecté alors qu'aucune brebis ni aucun bélier n'avait été introduit dans le troupeau depuis plus de 20 ans, mais le troupeau voisin dans lequel circulaient des animaux de statut sanitaire non contrôlé avait été infecté quelques années auparavant.

5.2. TRAITEMENTS ANTIBIOTIQUES

En chlamydie, les traitements antibiotiques préconisés (2 ou 3 injections intramusculaires d'*oxytetracycline* retard à raison de 20 mg/kg à 15 jours d'intervalle en fin de gestation) diminuent les avortements mais ne suppriment pas l'excrétion (Rodolakis *et al.* 1980). Ils sont également utilisés en fièvre Q bien que l'efficacité réelle de tels traitements n'ait jamais été étudiée de façon adéquate. En effet les *Chlamydia* et les *Coxiella* se multiplient dans des vacuoles dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Mais contrairement aux *chlamydia*, dans le cas de *C. burnetii*, les lysosomes fusionnent avec les vacuoles de phagocytose contenant les bactéries ce qui abaisse le pH et gêne l'action des antibiotiques. Ceux-ci sont donc bactériostatiques vis-à-vis de *C. burnetii*, sauf lorsqu'on les associe avec des agents

lysosomotropes comme la chloroquine, l'amantadine ou le chlorure d'ammonium, qui en alcalinisant l'environnement des *Coxiella*, potentialisent l'action des tétracyclines et permettent d'obtenir une activité bactéricide (Maurin *et al.* 1992). Les essais réalisés dans lors d'infections naturelles ne suppriment ni les avortements ni l'excrétion chez les ovins (Berri *et al.* 2005), les caprins (Blain 2006) ou les bovins. Mais dans les deux premiers cas, l'absence de lot témoin et l'utilisation d'une PCR classique et non d'une PCR quantitative dans le dernier cas ne permettent pas de savoir si le traitement a modifié ou non l'évolution de l'infection. A défaut d'une étude en condition expérimentale comme en chlamydie, des études en infection naturelle, bien planifiées avec un lot témoin et un suivi de l'excrétion avec une PCR quantitative sont indispensables pour déterminer l'intérêt d'un traitement antibiotique pour lutter contre la fièvre Q.

5.2. VACCINS

La vaccination avec un vaccin efficace est donc la méthode de contrôle de la chlamydie et de la fièvre Q.

5.2.1. Vaccination contre la chlamydie abortive

Le vaccin vivant thermosensible (CEVAC *Chlamydia*TM CEVA Sante Animale Libourne ou Ovilis[®] Enzoovac Intervet Angers) développé à l'INRA protège efficacement la brebis ou la chèvre pendant au moins 3 gestations. Jusqu'à présent il a prouvé son efficacité contre toutes les souches testées (Rodolakis et Bernard 1984, Chalmers *et al.* 1997) y compris les souches présentant des variations antigéniques (Bouakane *et al.* 2003) ou celles qui sont isolées de bovins (Rodolakis et Souriau 1987). En revanche, si le vaccin protège les animaux indemnes, il ne traite pas les femelles infectées latentes qui peuvent toujours avorter après la vaccination.

5.2.2. Vaccination contre la Fièvre Q

C. burnetii existe sous 2 phases : la phase I correspondant aux *Coxiella* isolées de l'animal est la phase virulente, la phase II moins virulente, s'obtient après plusieurs passages sur culture de cellules ou sur œuf embryonné. En effet les *Coxiella* en phase II pénètrent plus facilement dans les cellules que celles qui sont en phase I mais contrairement à elles, elles ne peuvent se multiplier dans les monocytes et les macrophages et ne résistent pas aux défenses de l'animal si bien que très rapidement les cultures contiennent essentiellement des bactéries en phase II alors que celles-ci sont rapidement éliminées dans l'animal hôte.

L'efficacité de 2 vaccins vis-à-vis des avortements et de l'excrétion à la mise bas a été testée au cours d'une infection expérimentale où 2 lots de chèvres ont été vaccinés respectivement avec un vaccin en phase I et un vaccin en phase II, 6 semaines avant la saillie, avec un rappel 3 semaines après, puis ont été éprouvées à 84 jours de gestation par voie sous-cutanée avec 10⁴ *Coxiella* (souche CbC1). Les chèvres ont alors été placées dans un bâtiment confiné de niveau 3 de sécurité (Arricau-Bouvery *et al.* 2005).

Le vaccin en phase I protège très efficacement les chèvres contrairement au vaccin en phase II puisque seulement 1/17 chèvre du lot vacciné par le vaccin en phase I avorte et aucune n'excrète dans le lait. L'excrétion vaginale et fécale est très réduite aussi bien pour le nombre de chèvres qui excrètent que pour la quantité de *Coxiella* excrétées et la durée de l'excrétion.

En revanche, le vaccin en phase II ne diminue ni les avortements (9/15 dans le lot vacciné avec le vaccin en phase II et 7/12 dans le lot témoin) ni l'excrétion quelle que soit la voie considérée.

Ce vaccin en phase I contre la fièvre Q utilisé depuis des années pour la vaccination des bovins en Slovaquie où il a été mis au point (Serbezov *et al.* 1999) et dont l'innocuité y compris dans les troupeaux infectés a pu être largement vérifiée, a obtenu une ATU en France, en mai 2004.

6. CONDUITE A TENIR EN CAS D'AVORTEMENTS A CHLAMYDOPHILA ABORTUS OU A COXIELLA BURNETII

6.1. CONDUITE A TENIR DEVANT UNE CHLAMYDIOSE ABORTIVE

Lorsqu'une vague d'avortements dus à *C. abortus* se produit dans un troupeau, les femelles encore gestantes doivent être traitées avec des tétracyclines longue action pour limiter les avortements et l'excrétion de la bactérie. Il faut ensuite vacciner tout le troupeau. La vaccination des femelles ayant avorté ou déjà infectées est inutile, les femelles ayant déjà avorté étant immunisées et le vaccin ne modifiant pas le cours de l'infection des animaux déjà infectés, mais il est généralement moins onéreux de vacciner tout le troupeau que de réaliser les tests PCR et ELISA indispensables pour identifier ces femelles infectées latentes. Le vaccin étant constitué d'une souche de *C. abortus* vivante thermosensible, il ne faut pas :

- vacciner les animaux ayant de la fièvre, car le vaccin ne se multiplie pas si la température de l'animal est trop élevée. Le seul échec de vaccination en infection expérimentale a été observé sur une chèvre qui avait une température de 41°C au moment de la vaccination (Rodolakis et Souriau 1986)

- administrer de traitements antibiotiques actifs contre les chlamydia au moment de la vaccination, car ils empêcheraient la multiplication normale du vaccin

- vacciner des femelles gestantes

- vacciner les agnelles et les chevrettes avant l'âge de 3 mois. Il faut en effet attendre la disparition des anticorps colostraux qui empêcheraient la multiplication du vaccin. Il est cependant nécessaire de vacciner les animaux le plus tôt possible, pour éviter leur contamination.

Les rappels annuels son inutiles. En revanche, il est indispensable de vacciner chaque année les jeunes et les animaux introduits dans le troupeau pendant au minimum 5 ans. En effet, les tests sérologiques ne permettent pas de distinguer les animaux infectés des animaux vaccinés et tant qu'il reste des femelles infectées latentes, elles peuvent excréter des chlamydia et maintenir l'infection dans le troupeau.

Pour les vaches, il est recommandé d'utiliser une dose double de celle des brebis et des chèvres.

6.2 CONDUITE A TENIR DEVANT DES AVORTEMENTS DUS A LA FIEVRE Q

L'opportunité d'un traitement antibiotique reste à vérifier ; il devrait cependant permettre de diminuer l'excrétion et donc le risque de contamination dans le troupeau, des autres troupeaux mais aussi de zoonose. L'intérêt de la vaccination avec le vaccin en phase I est en revanche indiscutable.

Les essais en infection expérimentale ont clairement démontré que le vaccin protège les animaux indemnes. Nos premiers essais en infection naturelle ont montré qu'il ne supprimait pas l'excrétion chez les animaux déjà infectés, mais la PCR classique utilisée ne permettait pas de savoir si cette excrétion était réduite par rapport à celle des animaux non vaccinés. Des essais sont actuellement en cours chez les bovins (par ENV de Nantes et l'Union Bretonne des Groupements de Défense Sanitaire) pour le vérifier. De toutes façons, comme en chlamydie, il est vraisemblablement moins onéreux de vacciner tout le troupeau que de faire les tests nécessaires pour identifier les animaux infectés, sauf si des études épidémiologiques démontraient que le taux d'infection dans un troupeau dans lequel il y a une vague d'avortement est très élevé. Dans ce cas, la vaccination uniquement des jeunes pourrait se justifier. Cette vaccination consiste en deux injections à 3 ou 4 semaines d'intervalle de 2 ml de vaccin chez les petits ruminants et de 4 ml chez les bovins. Actuellement un rappel annuel est conseillé, mais il serait nécessaire d'étudier la durée de l'immunité induite par la vaccination pour connaître la pertinence de ce rappel.

Contrairement à la chlamydie, le vaccin contre la fièvre Q est un vaccin inactivé, il ne doit donc pas interférer avec un traitement antibiotique et les anticorps contenus dans le colostrum ne devraient donc pas perturber son action. Il serait donc possible de vacciner les animaux avant 3 mois, mais cela reste encore à vérifier.

D'autre part le fabricant déconseille son utilisation pendant la gestation, mais jusqu'à présent la vaccination des femelles gestantes n'a, à ma connaissance, entraîné aucun problème, néanmoins la vaccination pendant les derniers mois de gestation est déconseillée. En effet, c'est à ce moment là que les avortements dus à *C. burnetii* se produisent et même s'ils auraient eu lieu de toute façon, ils peuvent discréditer le vaccin auprès des éleveurs.

La transmission de la fièvre Q se faisant principalement par voie aérienne, il faut éviter la dissémination des bactéries à partir de la litière. En plus de la destruction des placentas et des fœtus, si le compostage des fumiers n'est pas possible, il faudra éviter d'épandre le fumier lorsqu'il y a du vent et l'enfouir très rapidement au moyen d'un labour. La température élevée du compost devrait permettre d'inactiver *C. burnetii* mais cela reste encore à vérifier et les manœuvres de retournement du fumier pour le compostage sont particulièrement à risque. Les lisiers peuvent être

décontaminés par la cyanamide calcique à 0,6 % pendant une semaine (Arricau-Bouvery *et al.* 2001).

Il est également très intéressant de vacciner les troupeaux voisins d'un troupeau infecté pour limiter la diffusion de *C. burnetii*.

CONCLUSION

Les éleveurs disposent donc d'une méthode de contrôle efficace contre ces 2 infections, d'autant plus que nous avons démontré dans un modèle murin que les deux vaccins, le vaccin inactivé en phase I contre la fièvre Q et le vaccin vivant contre la chlamydie pouvaient être administrés au même moment (dans des seringues différentes pour éviter que les *chlamydia* vivantes ne soient tuées par les inhibiteurs des bactéries contenus dans le vaccin fièvre Q) sans perturber la protection contre la chlamydie (Rekiki *et al.* 2004) ou la fièvre Q, ce qui est particulièrement intéressant pour les troupeaux contaminés par les 2 bactéries.

Cependant de nombreuses questions restent posées en plus de toutes celles qui se rapportent à la vaccination contre la fièvre Q. Elles concernent tout particulièrement :

- l'épidémiologie de la FQ, ses réservoirs et ses vecteurs
- son incidence dans les avortements, mais également dans les troupeaux sans signe clinique ou avec des métrites
- le rôle respectif de la chlamydie et de la fièvre Q dans les infertilités bovines
- l'efficacité des traitements antibiotiques sur l'excrétion sur ces deux bactéries
- et celle des désinfectants sur la survie des *Coxiella* dans l'environnement.

Pour ces deux derniers points, il serait nécessaire de disposer de méthode rapide et quantitative détectant uniquement les *Coxiella* vivantes comme la "Reverse transcriptase-PCR".

Mais il faudrait également avoir des connaissances sur la virulence des souches.

En effet, les ovins sont le plus souvent mis en cause dans les épidémies de fièvre Q humaine alors qu'ils ne semblent pas excréter plus que les bovins et les caprins, bien au contraire. Est ce que ce serait dû à des différences de conduite d'élevage, avec des mises bas en plein air dans des zones venteuses, à une excrétion préférentielle dans le mucus vaginal et les fèces, ou à des différences de virulence des souches ? Pour l'instant on ne sait pas répondre à cette question.

- Appleyard W.T., Aitken I.D., Anderson I.E., 1985. *Vet. Rec.* 116, 535-538.
- Arricau Bouvery N., Souriau A., Moutoussamy A., Ladenise K., Rodolakis A., 2001. 8^{ème} Rencontre, Recherche Ruminants, Paris 153-156.
- Arricau Bouvery N., Souriau A., Lechopier P., Rodolakis A., 2003. *Vet. Res.* 34:423-33
- Arricau-Bouvery N., Souriau A., Bodier C., Dufour P., Rousset E., Rodolakis A., 2005. *Vaccine* 23, 4392-4402
- Berri M., Crochet D., Santiago S., Rodolakis A., 2005. *Vet Record.* 157 : 737-740.
- Berri M., Rousset E., Champion J.L., Arricau-Bouvery N., Russo P., Pepin M., Rodolakis A., 2003. *Vet. Rec.* 153, 269-70
- Berri M., Souriau A., Crosby M., Rodolakis A., 2002. *Vet. Microbiol.* 85, 55-60
- Berri M., Souriau A., Crosby M., Crochet D., Lechopier P., Rodolakis A. 2001. *Vet. Rec.* 148, 502-505
- Blain S., 2006. *Proceeding Journées Nationales des GTV Dijon*, Le Prétroupeau préparer à produire et reproduire. 947-952
- Bouakane A., Rekiki A., Rodolakis A., 2005. *Vet. Rec.* 157, 771-774
- Buxton D., 1986. *Vet. Rec.* 118, 510-511
- Chalmers W.S.K., Simpson J., Lee S.J., Baxendale W. 1997. *Vet. Rec.* 141, 63-67
- Champion J.L., Forfait C., Rodolakis A., Rousset E., 2004. *Bull. GTV* 27, 123-130
- Dawson M., Zaghoul A., Wilsmore A.J., 1986. *Res. Vet. Sci.* 40, 59-64.
- Durand M., 1993. *Bull. Acad. Natl. Med.* 177, 935-945
- Jones G.E., Anderson I.E., 1988. *Res. Vet. Sci.* 44, 260-261
- Kruszewska D., Tylewska-Wierzbanowska S., 1997. *Res. Vet. Sci.*, 62, 299-300
- Maurin M., Benoliel A.M., Bongrand P., Raoult D., 1992. *J. Infect. Dis.* 166, 1097-1102.
- Maurin M., Raoult D., 1999. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 518-553
- McEwen A.D., Stamp J.T., Littlejohn A.I., 1951. *Vet. Rec.* 63, 197-201
- Öngör H., Çetinkaya B., Açıık M N, Karahan M., Bulut H., 2004. *J. Vet. Med. Series B* 51, 43-45
- Papp J.R., Shewen P.E., Gartley C.J. 1994. *Infect. Immun.* 62, 3786-3792
- Parker H.D., Hawkins Jr W.W., Brenner E., 1966. *Am. J. Vet. Res.* 27, 869-877
- Rekiki A., Bouakane A., Rodolakis A., 2004. *Canadian Journal of Vet. Res.* 68, 226-228
- Rodolakis A., Bernard F., 1984. *Vet. Rec.* 114, 193-194
- Rodolakis A., Souriau A., Raynaud J.P., Brunault G., 1980. *Ann Rech Vet* 11, 437-444.
- Rodolakis A., Souriau A., 1986. *Am J Vet Res* 47, 2627-2631
- Rodolakis A., Souriau A., 1987. *Ann Rech Vet.*;18(4):439-441
- Schall E.H., 1982. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 89, 411-414
- Scott G.H., Williams J.C., 1990. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 590, 291-296
- Tissot-Dupont H., Amadei M.A., Nezri M., Raoult D., 2004. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 1264-1269
- Welsh H.H., Lennette E.H., Abinanti F.R., Winn J.F., 1957. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 70, 528- 535
- Wilsmore A.J., Parsons V., Dawson M., 1984. *Br. Vet. J.* 140, 380-391

Tableau 1 : différences et similitudes entre les 2 bactéries *Chlamydophila abortus* et *Coxiella burnetii*

Propriétés	<i>Chlamydophila abortus</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
Multiplication intra cellulaire	Oui	Oui
Dans vacuole cytoplasmique	Oui	Oui
Fusion lysosome et vacuole cytoplasmique	Non	Oui
Petite Forme extracellulaire	1 : CE corps élémentaire	2 : SCV "small cell variant" et SDC "small dense cell" ou pseudospore
Résistance extra cellulaire	Faible	Importante : plusieurs mois à t° ambiante dans l'air ou les poussières
Division binaire	Non	SCV oui
Infectieuse	Oui	Oui
Grosse Forme intracellulaire	2 : CR corps réticulé et CI corps intermédiaire	1 : LCV large cell variant
Résistance extra cellulaire	Non	Non
Division binaire	CE oui	Oui
Infectieuse	Non	Possible ^a

a) uniquement en laboratoire du fait de son absence de résistance dans le milieu extra cellulaire.

Tableau 2 : signes cliniques en chlamydie et fièvre Q

Signes cliniques	<i>Chlamydomphila abortus</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
Avortement (avt)	Oui	Oui
% d'avortement	Ovins : 30- % en primo infection Caprin : 30->60 % en primo infection Bovin : peu nombreux	Ovins : peu nombreux < 10 % Caprin : 10-90 % Bovin : peu nombreux
Mise bas (Mb) prématurée	Oui	Oui
Mb avec excrétion	Oui	Oui très fréquente
Mb produit infecté viable	Oui	? ^a
Métrite	Rare chez les ovins chez les bovins et parfois chez les caprins après rétention placentaire	Rare chez les ovins très fréquente chez les bovins, parfois le seul signe clinique
Pneumonie	Oui	Oui
Arthrite	Oui	Oui
Conjonctivite	Oui	Non
Orchite	Oui	Décrite chez un taureau
Epididymite	Oui	?
Entérite	Décrite chez les veaux	Non
Encéphalomyélite	Oui chez les bovins	Non

a) ? = absence de données

Tableau 3 : comparaison de l'excrétion de *Chlamydomphila abortus* et *Coxiella burnetii* par les ruminants

Excrétion de la bactérie	<i>Chlamydomphila abortus</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
Placenta	Oui grande quantité chez les ovins et caprins, plus faible chez les bovins	Oui grande quantité
Mucus vaginal	Oui grande quantité au moment de l'avortement chez les ovins et caprins, plus faible chez les bovins	Oui > 10 ⁴ dans la semaine suivant l'avortement
Durée de l'excrétion	Très rapidement intermittente	Possible plusieurs mois
Début de l'excrétion	A l'avortement pour les ovins, avant l'avortement chez les caprins.	? ^a
Lait	Oui	Oui y compris dans les troupeaux bovins et caprins sans avortement
Durée de l'excrétion	?	De nombreux mois y compris dans les troupeaux bovins et caprins sans avortement
Début de l'excrétion	?	?
Fèces	Oui	Oui
Durée de l'excrétion	Possible pendant plusieurs mois	Possible pendant plusieurs mois
Début de l'excrétion	?	3 semaines après infection

a) ? = absence de données

Tableau 4 : comparaison de la transmission de l'infection par *Chlamydomphila abortus* et *Coxiella burnetii* chez les ruminants

Voies de transmission de l'infection	<i>Chlamydomphila abortus</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
Respiratoire	Oui rôle majeur	Oui rôle majeur
Orale	Oui rôle majeur	Possible
Oculaire	Oui rôle majeur	Possible
Transplacentaire	Oui important	? ^a
Vénérienne	Oui entraîne des hypofertilités	Possible
Sanguine par les tiques	Non	Oui
Par contact direct	Oui uniquement	Oui
A distance par voie aérienne	Non	Oui
Par les litières et les fumiers	Non	Oui
Par les poussières	Non	Non
Par les oiseaux	Possible	Oui
Par la faune sauvage	Possible	Oui

a) ? = absence de données