

LE LAIT DE TANK, OUTIL FIABLE POUR LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q DANS UN TROUPEAU BOVIN LAITIER ? *

Guy Czaplicki ¹, Jean-Yves Houtain ¹, Cédric Mullender ¹,
Christophe Manteca ² et Claude Saegerman ³

RESUME

Deux enquêtes séro-épidémiologiques transversales, conduites en 2006 (n=206) et en 2008 (n=1137), ont permis d'évaluer la séro-prévalence apparente (Pa) de la fièvre Q sur lait de mélange dans les troupeaux bovins laitiers de Wallonie (Pa₂₀₀₆ = 57,8%, Pa₂₀₀₈=71,2%). Parmi ces deux échantillons de troupeaux, respectivement 50 et 150 troupeaux ont été sélectionnés de manière aléatoire et soumis, sur le même échantillon de lait de tank, à une analyse de polymérisation en chaîne en temps réel (PCR) spécifique de *Coxiella burnetii*. La prévalence apparente d'excrétion était de 30,0% dans les deux cas, le plus souvent avec une estimation de titres bactériens faibles. Les résultats montrent que si de très nombreux troupeaux laitiers wallons ont été exposés à *Coxiella burnetii*, la circulation effective du germe au sein de ces troupeaux paraît heureusement beaucoup plus limitée. Enfin, il existe une relation étroite entre le niveau de séropositivité du lait de mélange et la fréquence de positivité du test PCR. Ces résultats permettent de proposer une stratégie simple, peu coûteuse et fiable de dépistage et de diagnostic de la fièvre Q en cheptel bovin laitier. Ce nouvel outil diagnostique devrait également permettre de préciser le niveau et l'étendue géographique de la dispersion des foyers actifs de fièvre Q en Wallonie.

Mots-clés : Bovin, fièvre Q, enquête épidémiologique, lait de tank, sérologie, PCR.

SUMMARY

Two transversal sero-epidemiologic surveys, led in 2006 (n=206) and 2008 (n=1137), made it possible to evaluate the apparent sero-prevalence (Pa) of Q fever on bulk tank milk in the dairy bovine herds of Wallonia (Pa₂₀₀₆ = 57.8%, Pa₂₀₀₈= 71.2%). Among these two samples of herds, respectively 50 and 150 herds were randomly selected and subjected, on the same tank milk samples, to a *Coxiella burnetii* PCR analysis. The apparent prevalence of excretion was of 30.0% in both cases, with an estimation of generally low bacterial titres. Fortunately the results show that many Walloon dairy herds were exposed to *Coxiella burnetii*. The effective circulation of the pathogen within these herds appears more limited. Finally, there is a close relationship between the level of sero-positivity of the tank milk and the frequency of a positive PCR test.

.../..

* Texte de la communication orale présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA-AESA, 5-6 juin 2009
¹ Cellule sérologie sur lait, Association régionale de santé et d'identification animales, Avenue A. Deponthière 40, 4431 Loncin, Belgique
² CEVA Santé animale, La Ballastière, BP126- F33501 Libourne, France
³ Unité de recherche en épidémiologie et analyse de risques appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR), Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster 20, B42, 4000 Liège, Belgique

.../..

These results make it possible to propose a simple, inexpensive and reliable strategy for tracking and diagnosing Q fever in a dairy cattle population. This new diagnostic tool should also make it possible to evaluate the level and the geographical distribution of active Q fever outbreaks in Wallonia.

Keywords : Bovine, Q Fever, Epidemiological survey, Bulk tank milk, Serology, PCR.



I - INTRODUCTION

La fièvre Q est une infection zoonotique répandue de manière enzootique à travers le monde et causée par *Coxiella burnetii*. Cette petite bactérie intracellulaire obligée semble très infectieuse puisqu'une seule bactérie serait capable d'induire la maladie [Ormsbee *et al.*, 1978]. Par ailleurs, elle offre une résistance remarquable, même dans des conditions environnementales sévères [Biberstein *et al.*, 1974]. Une grande variété d'hôtes réservoirs ont été proposés [Maurin et Raoult, 1999] mais les ruminants, et en particulier les ovins, les caprins et les bovins sont reconnus comme la principale source d'infection pour les humains [Fontaine *et al.*, 1975].

Chez les ruminants, l'infection est fréquemment asymptomatique mais peut aussi provoquer des avortements, de la métrite et de l'infertilité, générant ainsi des pertes économiques et des difficultés de commercialisation des produits de la ferme [Aaricau-Bouvery et Rodolakis, 2005]. L'infection expérimentale de génisses laitières a conduit à l'observation de pneumonie aiguë dans les 24 heures de l'infection [Plommet *et al.*, 1973]. De la pneumonie est aussi observée chez les avortons bovins, ovins et caprins [Manuel OIE, 2004]. Ces signes cliniques respiratoires doivent donc être retenus comme des signes d'appel de la maladie, au même titre que les troubles de la sphère génitale.

L'utérus et la glande mammaire constituent en effet les sites primaires de l'infection dans la phase chronique de fièvre Q [Kim *et al.*, 2005]. Les animaux infectés excrètent des quantités importantes de bactéries dans les produits de l'avortement, mais aussi, de manière continue ou intermittente, par voie lactée, vaginale et

fécale. Aucune de ces voies d'excrétion n'est prépondérante, mais 65,4% des animaux n'excrètent que par une seule voie [Guattéo *et al.*, 2006]. L'excrétion peut durer plusieurs années successives [Biberstein *et al.*, 1974], même en l'absence de signes cliniques [Rodolakis *et al.*, 2006].

Le diagnostic de l'infection repose sur la mise en évidence de la bactérie ou celle d'anticorps témoins de l'exposition des animaux au germe.

Les animaux infectés restent probablement séro-positifs plusieurs mois, voire plusieurs années [Berri *et al.*, 2001]. Pour objectiver la présence d'anticorps chez les animaux en lactation, les tests Elisa sont aussi sensibles que les tests d'immunofluorescence indirecte, et plus sensibles que la réaction de fixation du complément [Peter *et al.*, 1987 ; Field *et al.*, 2000]. Les tests Elisa doivent être privilégiés pour dépister les troupeaux infectés ou ayant été infectés [Rodolakis *et al.*, 2006]. L'utilisation du lait individuel est une alternative économique et adéquate pour mettre en évidence l'exposition à *C. burnetii* des animaux en lactation [Guattéo *et al.*, 2007a]. Le lait de tank, déjà utilisé dans des programmes de contrôle d'autres maladies infectieuses comme la leucose bovine enzootique, l'IBR, le BVD ou encore la néosporose, représente une alternative encore plus économique pour l'évaluation d'un niveau de prévalence régionale [Paiba *et al.*, 1999 ; Guattéo *et al.*, 2007a]. Cependant, les tests sérologiques ne sont pas appropriés pour identifier les excréteurs de *Coxiella burnetii* en raison de l'existence de tels excréteurs séro-négatifs [Berri *et al.*, 2001 ; Hassig *et al.*, 1998]. Ils ne permettent pas non plus de démontrer

l'excrétion contemporaine du germe [Maurin et Raoult, 1999].

La mise en évidence du germe repose essentiellement sur l'utilisation de techniques de biologie moléculaire étant donné les difficultés et contraintes liées à la culture et à l'isolement de ce germe très infectieux. Le test de polymérisation en chaîne en temps réel (PCR) peut être appliqué aux différents types de prélèvement (lait, fèces, mucus vaginal, avorton, arrière-faix, ...). Appliquée au lait de tank, la PCR quantitative est beaucoup plus intéressante qu'une réaction PCR qualitative car toute diminution du Ct⁴ correspond à une augmentation de la prévalence intra-troupeau et de la proportion d'animaux excréteurs [Guattéo *et al.*, 2007c]. Ce type d'échantillon a été utilisé pour permettre une surveillance des troupeaux bovins aux Etats-Unis [Kim *et al.*, 2005].

La combinaison des deux tests (sérologie et mise en évidence de l'excrétion du germe) sur le même prélèvement de lait de tank pourrait apporter une solution efficace à un dépistage sélectif économique des troupeaux infectés et excréteurs de *Coxiella burnetii*, spécialement s'il s'avère qu'un échantillon de lait de tank diagnostiqué « négatif » en sérologie fièvre Q est aussi « négatif » au test PCR pour la détection des antigènes de *Coxiella*.

La situation du cheptel wallon en matière d'infection par *Coxiella burnetii* est peu documentée. Schreiber *et al.*, en 1999, considèrent que *Coxiella* ne doit pas être retenu comme agent d'avortement chez les bovins dans le sud de la Belgique. Par contre, une enquête cas/témoins menée en 1997 dans la province de Liège rapporte que la prévalence de vaches séropositives en fièvre Q était significativement plus élevée chez les bovins ayant avorté (12,7%) que chez les témoins (1,8%) (Chi² = 30,92 avec p < 0,001 et Odds ratio [OR] = 8,15 avec un intervalle de confiance à 95% de 3,44 à 19,32), suggérant ainsi que l'infection par *Coxiella burnetii* est un facteur de risque d'avortement chez les bovins de cette province, avec une force d'association élevée. La part de risque attribuable était de 10,9% (Czaplicki, 1997, données non publiées).

Les objectifs de la présente étude sont les suivants :

- 1- Estimer la séro-prévalence apparente (Pa) de la fièvre Q parmi les troupeaux bovins laitiers wallons (figure 1) ;
- 2- Evaluer l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans les laits wallons de grand mélange ;
- 3- Formuler un protocole simplifié et économique de diagnostic de la fièvre Q fondé sur l'analyse du lait de tank.

II - MATERIEL ET METHODES

1. PRELEVEMENTS

1.1. SEROLOGIE

Deux enquêtes épidémiologiques transversales ont été réalisées :

- Une première enquête épidémiologique transversale a été réalisée en 2006. Au total, 566 troupeaux ont été sélectionnés parmi l'ensemble des 5 086 troupeaux laitiers actifs en Wallonie en 2006. Parmi ces troupeaux, 206 ont répondu sur une

base volontaire au questionnaire d'enquête adressé et ont fourni un échantillon de lait de tank prélevé entre janvier et mars 2006 ;

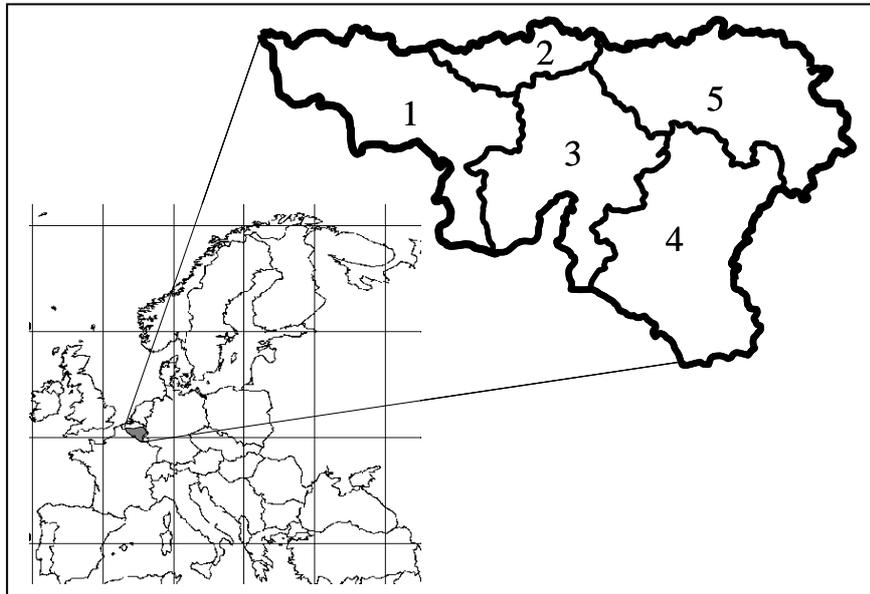
- Une deuxième enquête épidémiologique transversale a été réalisée en 2008. Au total, 1137 troupeaux ont été sélectionnés parmi les 4 862 troupeaux laitiers encore actifs en Wallonie en 2008. Les prélèvements de lait de tank ont été réalisés entre janvier et mars 2008.

- 4 La PCR lorsqu'elle est quantitative, consiste à mesurer la quantité d'ADN polymérisé à chaque cycle grâce à un marqueur fluorescent. Son principe permet de faire des mesures quantitatives des copies de l'amplicon mais elle nécessite des thermocycleurs particuliers. L'utilisation de sondes d'hybridation pour la PCR est systématique. Une mesure de fluorescence est obtenue et permet de donner une valeur numérique (cycle threshold, Ct) définissant le nombre de cycles nécessaires pour atteindre un niveau défini de fluorescence relative permettant la détection du signal. Ce Ct renseigne sur le processus d'amplification permettant la comparaison de différents échantillons afin d'établir les résultats définitifs.

Figure 1

Territoires investigués dans le cadre de l'enquête de séroprévalence de la fièvre Q en Wallonie (années 2006 et 2008)

1 : province de Hainaut ; 2 : province de Brabant wallon, 3 : province de Namur ;
4 : province de Luxembourg ; 5 : province de Liège.



Dans les deux enquêtes, une sélection aléatoire des troupeaux a été réalisée selon la méthode décrite par Jenicek et Cléroux [1987] et la représentativité des échantillonnages a été vérifiée avec un résultat favorable.

1.2. PCR

Respectivement 50 et 150 échantillons de lait de tank ont été tirés au sort parmi les 206 et 1 137 laits de tank des enquêtes sérologiques. Ces 200 échantillons de lait, aliquotés au départ des tubes mères le jour de leur réception, ont été conservés à -20°C jusqu'au moment de la réalisation de la PCR pour éviter le risque de résultats faux négatifs [Guattéo et al., 2007b].

2. METHODES**2.1. SEROLOGIE**

Les échantillons ont été analysés avec un test Elisa indirect (Milk Q Fever LSI Kit®, Laboratoire Service International, Lissieu, France), conformément aux recommandations du fournisseur. Ce test, qui utilise pour antigène une souche de *Coxiella burnetii*

européenne de terrain, donne un résultat positif pour une prévalence intra-troupeau minimale de 10% chez les vaches en lactation (Meunier, 2008). Les résultats sont exprimés sous la forme d'un titre (T), calculé selon la formule :

$$\left(\frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Témoin positif de référence}} \right) * 100$$

où la DO est la densité optique.

L'interprétation semi-quantitative est la suivante : le résultat du test est négatif si $T \leq 30$, positif + si $30 < T \leq 100$, positif ++ si $100 < T \leq 200$ et positif +++ si $T > 200$.

2.2. PCR

Les échantillons ont été analysés à l'aide d'une trousse commerciale TAQVET *Coxiella burnetii* LSI PCR TaqMan® Quantitative (Laboratoire Service International, Lissieu, France) ciblant la région transposon-like répétitive de *Coxiella burnetii*, selon les instructions du fournisseur. L'échantillon négatif de référence était constitué d'eau vierge de Dnase et Rnase. Le témoin positif de contrôle était constitué d'une suspension contenant 10^5 *Coxiella*

burnetii / mL, fourni avec la trousse. L'ADN de 200 µl de chaque échantillon de lait a été extrait avec le kit QIAmp DNA mini kit® (Qiagen S. A., Belgium), selon les recommandations du fabricant. Les tests PCR ont été réalisés sur ABIPRISM® Sequence Detection System 7000 (Applied Biosystems, Belgium). Les échantillons présentant une courbe typique d'amplification ont été considérés positifs pour un Ct inférieur à 40. Ces résultats ont été complétés par une estimation quantitative en utilisant le logiciel « Quantisoft® » sous Excel, fourni par le fabricant. Les résultats sont finalement exprimés sous la forme du nombre de bactéries par ml de lait (tableau 1).

3. ANALYSE STATISTIQUE

L'intervalle de confiance à 95% (IC 95%) des prévalences apparentes a été déterminé à l'aide d'une distribution binomiale exacte. Le concordance entre les résultats de la sérologie et de la PCR a été mesurée à l'aide du coefficient kappa [Toma *et al.*, 1991]. Le test du Chi2 et l'Odds ratio ont été utilisés pour déterminer la chance qu'un troupeau a d'être positif en PCR s'il est déjà positif en sérologie vis-à-vis de *Coxiella burnetii* [Toma *et al.*, 2001] et le test exact de Fisher a été utilisé pour comparer la prévalence de résultat PCR positif +++ entre les années 2006 et 2008.

Tableau 1

Clé d'interprétation des résultats d'analyse PCR pour la fièvre Q selon le producteur de la trousse (Laboratoire Service International, Lissieu, France)

Titre <i>Coxiella</i> /ml	Interprétation
> 10 ⁴	Excrétion élevée : troupeau fortement excréteur
Entre 10 ² et 10 ⁴	Excrétion modérée : troupeau excréteur
Entre 10 ⁰ et 10 ²	Charge bactérienne inférieure à la limite de quantification : charge bactérienne non significative
0	Négative

III - RESULTATS

1. SEROLOGIE

La prévalence apparente est passée de 57,8% (IC 95% : 50,7% - 64,6%) en 2006 à 71,2% (IC 95% : 68,5% - 73,7%) en 2008. Cette augmentation significative de la prévalence apparente (Chi2 = 14,83 ; $P < 0,001$) s'accompagne d'un glissement de prévalence des troupeaux positifs + vers les troupeaux positifs ++ (Chi2 = 32,9 ; $P < 0,001$) (tableau 1). Par contre, le niveau de prévalence des troupeaux fortement séro-positifs (+++) reste faible. En effet, même s'il a doublé en passant de 0,5% (IC 95% : 0,01% - 2,7%) à 0,9% (IC 95% : 0,5% - 1,6%), la différence n'est toutefois pas significative (test exact de Fisher = 1 avec $P > 0,5$) (tableau 2).

2. PCR

La prévalence apparente globale d'excrétion de *Coxiella burnetii* des 200 échantillons de laits est de 30,0% (IC 95% : 23,7% - 36,9%), le plus souvent avec une estimation d'un titre faible de bactéries (1 à 100 bactéries / ml de lait) ou moyen (10² à 10⁴ bactéries par ml de lait). Les laits de tank fortement positifs (>10⁴ bactéries/ml de lait) sont finalement très peu nombreux. Les laits faiblement positifs (+) ont en moyenne 43 germes/ml contre 1 115 germes / ml aux laits positifs ++ et 10 044 germes/ml aux laits positifs +++ (tableau 3).

Tableau 2

Prévalence apparente de la fièvre Q établie sur base des résultats des examens sérologiques sur laits de tank (Wallonie, années 2006 et 2008)

Pa = prévalence apparente.

Sérologie	Enquête épidémiologique transversale 2006 (N = 206)	Enquête épidémiologique transversale 2008 (N = 1 137)
Pa globale	57,8% (IC 95% : 50,7 – 64,6)	71,2% (IC 95% : 68,5 – 73,7)
Dont pos +	47,1% (IC 95% : 34,9 – 48,8)	31,4% (IC 95% : 28,8 – 34,1)
pos ++	15,5% (IC 95% : 10,9 – 21,2)	38,8% (IC 95% : 36,1 – 41,7)
pos +++	0,5% (IC 95% : 0,01 – 2,7)	0,9% (IC 95% : 0,5 – 1,6)

Tableau 3

Prévalence apparente de la fièvre Q établie sur base des résultats des examens PCR sur laits de tank (Wallonie, années 2006 et 2008)

Pa = prévalence apparente.

PCR (N = 200)	Enquêtes épidémiologiques transversales 2006 et 2008
Pa globale	30,0% (IC 95% : 23,7 – 36,9)
Dont pos +	16,5% (IC 95% : 11,6 – 22,4)
pos ++	13,0% (IC 95% : 8,7 – 18,5)
pos +++	0,5% (IC 95% : 0,01 – 2,8)

3. PCR VERSUS SEROLOGIE

Le tableau 4 et la figure 2 permettent d'objectiver une relation étroite entre le niveau semi-quantitatif du résultat sérologique et le résultat semi-quantitatif de la PCR. Bien que la concordance des résultats semi-quantitatifs en sérologie et en PCR soit négligeable (coefficient Kappa = 0,167 avec un IC 95% : 0,08 à 0,25) (tableau 4), l'observation de la relation entre résultats quantitatifs apporte plus d'information. En effet, plus le niveau de séropositivité du lait de tank est élevé, plus la probabilité d'un résultat PCR positif est élevée.

Elle passe ainsi en moyenne de 3,0% dans les troupeaux séronégatifs à 100% dans les troupeaux séropositifs +++ (figure 2). Il s'en suit que l'estimation de la prévalence apparente de troupeaux excréteurs est de 43,3 (IC 95% : 34,8 - 52,1%) dans les troupeaux séropositifs alors que dans les troupeaux séronégatifs, elle n'est que de 3,0% (IC 95% : 0,4 à 10,5%). En conséquence, un troupeau dont le lait de tank est séropositif vis-à-vis de *Coxiella burnetii* a 24,4 fois plus de chances d'être également positif en PCR (Chi2 = 34,12 avec $P < 0,001$; OR = 24,4 avec un IC 95% compris entre 5,74 et 103,93).

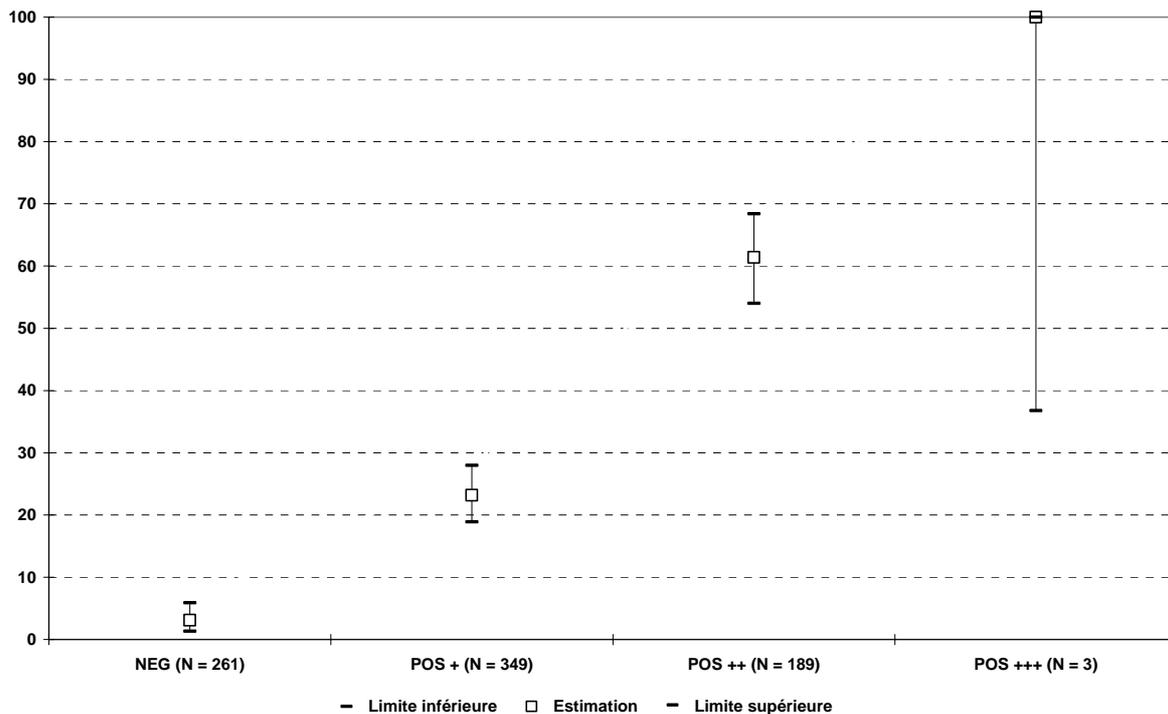
Tableau 4

Concordance des résultats semi-quantitatifs de la sérologie et de la PCR pour le dépistage de la fièvre Q (Wallonie, années 2006 et 2008)

Séro	PCR			
	Négative	Positive + (10 ⁰ -10 ²)	Positive ++ (10 ² -10 ⁴)	Positive +++ (>10 ⁴)
Négative	64	1	1	0
Positive +	51	8	7	0
Positive ++	25	23	16	1
Positive +++	0	1	2	0
Pa PCR	0,0%	16,5%	13,0%	0,5%

Figure 2
Evaluation de la prévalence apparente de la fièvre Q sur base d'une PCR en fonction du statut sérologique du lait de tank

L'axe des X représente le résultat sérologique semi-quantitatif avec mention du nombre d'échantillons considéré par type de résultat. L'axe des Y représente la prévalence apparente de la fièvre Q sur base d'une PCR avec la codification suivante : □ estimation de la prévalence apparente et — les limites inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance à 95% (binomiale exacte).



IV - DISCUSSION

L'analyse sérologique des laits de tank, témoin de l'exposition des troupeaux à l'infection par *Coxiella burnetii*, montre que la fièvre Q était déjà installée de manière enzootique dans les troupeaux laitiers wallons en 2006 puisque plus d'un troupeau sur deux était exposé au germe. Ces résultats sérologiques sont statistiquement associés à l'observation de signes cliniques d'appel de la maladie au sein de ces troupeaux [Czaplicki *et al.*, 2008]. La comparaison des résultats sérologiques de 2008 par rapport à 2006 semble montrer une dispersion probable de l'infection au sein des troupeaux bovins laitiers wallons.

Par contre, la fréquence de mise en évidence d'ADN de *Coxiella burnetii* est plus limitée, avec une estimation des titres bactériens le

plus souvent très faibles à faibles. En posant l'hypothèse qu'un résultat PCR positif est synonyme d'excrétion de la bactérie, cela signifie que 30% des troupeaux wallons seraient excréteurs. Toutefois, le niveau d'excrétion serait très faible pour plus de la moitié de ces troupeaux qui ont présenté un résultat quantitatif moyen estimé à 43 germes par ml de lait. Ce faible niveau d'excrétion correspondrait, selon Guattéo *et al.* [2007] à un faible nombre d'animaux excréteurs et, par conséquent à une prévalence intra-troupeau faible. Ceci pourrait signifier qu'en dépit de son caractère infectieux, *Coxiella burnetii* n'est pas aussi contagieuse au sein d'un troupeau bovin que chez les autres ruminants. Le fait que les avortements soient moins fréquents chez les

bovins que chez les autres ruminants [Bildfell *et al.*, 2000] pourrait constituer un frein naturel à l'extension de l'infection au sein du troupeau puisque l'avortement est source de l'excrétion de très grandes quantités de bactéries. En outre, dans le cadre d'une enquête en cours sur les avortements bovins en Wallonie, l'intervention de *Coxiella burnetii* ne serait démontrée que dans moins de 3% des cas par PCR (Mullender, communication personnelle). La dynamique d'infection par *Coxiella burnetii* au sein d'un troupeau bovin s'en trouverait donc ralentie.

Il existe cependant une relation forte entre résultats sérologiques semi-quantitatifs et PCR : un lait de tank séropositif a 24,4 fois plus de risque d'être également PCR positif. La mise en évidence de cette relation a conduit à proposer une stratégie simple et peu coûteuse de diagnostic de l'infection d'un troupeau bovin laitier par *Coxiella burnetii*, fondée sur l'observation des signes cliniques et l'analyse d'un échantillon de lait de tank. En effet, la relation démontrée entre les signes cliniques

au sein du troupeau et la séropositivité du troupeau en production [Czaplicki *et al.*, 2008], de même que la relation étroite entre le niveau de séropositivité du troupeau et la mise en évidence du matériel génétique de *Coxiella burnetii* dans le même échantillon autorisent la formulation des hypothèses diagnostiques : en l'absence de tout signe clinique, et avec une sérologie négative sur lait de tank, la probabilité qu'un test PCR soit positif sur ce même échantillon est faible, voire négligeable. Le risque d'erreur correspond au niveau de détectabilité des tests à l'échelle du troupeau infecté par comparaison à l'animal infecté isolé. Par contre, dès que les signes cliniques sont présents, la sérologie devient un outil efficace de même que la recherche de *Coxiella* par PCR (tableau 5). La procédure diagnostique ainsi proposée offre l'avantage, chez les bovins, de ne pas devoir attendre la survenue d'un avortement pour poser et pouvoir confirmer l'hypothèse d'une infection par *Coxiella* lorsque des signes cliniques tels que métrites et infécondité sont observés.

Tableau 5

Interprétation contextuelle de la sérologie fièvre Q sur lait de tank

Signes cliniques	Sérologie lait de tank	Action / Commentaire
Absents	Négative	Ecarte l'hypothèse de fièvre Q dans le troupeau
Absents	POSITIVE	Réaliser une PCR de confirmation
Présents	Négative	Réaliser des prélèvements individuels ciblés sur des animaux atteints cliniquement
Présents	POSITIVE	Réaliser une PCR de confirmation

Sachant que l'infection est le plus souvent subclinique chez les bovins, la seule absence de signes cliniques ne permet cependant pas d'exclure l'existence d'une infection active par *Coxiella burnetii* dans un troupeau bovin laitier. Or, la fièvre Q est une zoonose qu'il est important de diagnostiquer dans le cadre de la santé publique : il est possible de proposer une stratégie de suivi sanitaire diagnostique des troupeaux bovins laitiers sur base d'un double lait de tank prélevé systématiquement à la rentrée à l'étable et à la mise à l'herbe. Cette procédure permet en effet, qu'il y ait ou non

des signes cliniques, de suivre le statut sanitaire d'un troupeau dans le temps en confrontant les témoins de l'exposition à la présence éventuelle de l'agent pathogène dans le troupeau. Elle constitue à ce titre un outil fiable pour le vétérinaire praticien dans le cadre de l'accompagnement sanitaire d'un troupeau bovin laitier (tableau 6). Elle permet aussi de mener à moindre coût des enquêtes épidémiologiques longitudinales dans une région comme la Wallonie, en limitant au maximum le nombre de tests à réaliser.

Tableau 6

Stratégie de suivi sanitaire diagnostique des troupeaux bovins laitiers concernant la fièvre Q sur base d'un double lait de tank

Signes cliniques d'appel	Sérologie de lait de tank 1 à la rentrée à l'étable (LT1)	Sérologie de lait de tank 2 à la sortie d'étable (LT2)	Action / Commentaire
Absents/Présents	Négative	Négative	Ecarte l'hypothèse de fièvre Q dans le troupeau
Absents/Présents	Négative	POSITIVE	Réaliser une PCR de confirmation sur LT2 (séroconversion)
Absents/Présents	POSITIVE	POSITIVE	Réaliser une PCR de confirmation sur LT1 (infection chronique subclinique ou clinique)
Absents/Présents	POSITIVE	Négative	Réaliser une PCR de confirmation sur LT1 (séroinversion)

V - CONCLUSION

Cette étude a permis de confirmer le statut enzootique de l'infection des troupeaux bovins laitiers wallons par *C. burnetii*, agent de la fièvre Q et de démontrer une probable extension de l'infection au sein des troupeaux wallons dans la période 2006 à 2008. Elle a également permis d'objectiver un lien de forte intensité entre la séropositivité du lait de tank et la présence de matériel génétique de *C. burnetii* dans le lait de tank, permettant ainsi de proposer une stratégie diagnostique simple et peu coûteuse tant pour le dépistage de l'infection dans un troupeau suspect d'être infecté que pour le suivi du statut sanitaire d'un troupeau vis-à-vis de la fièvre Q.

Le lait de tank s'avère être un outil fiable pour le diagnostic et le suivi de la fièvre Q. De plus, la stratégie proposée :

- Maintient le rôle essentiel du vétérinaire praticien en tant qu'épidémiologiste sentinelle ;
- Permet une évaluation épidémiologique transversale et longitudinale complète de l'exposition et de l'infection à *Coxiella burnetii* ;
- N'entrave pas le fonctionnement de la surveillance de la chaîne alimentaire dans le cadre d'une zoonose.

BIBLIOGRAPHIE

- Aaricau-Bouvery N., Rodolakis A. - Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis ? *Vet. Res.*, 2005, **36**, 327-349.
- Beaudeau F., Assie S., Seegers H., Belloc C., Sellal E., Joly A. - Assessing the within-herd prevalence of cows antibody-positive to bovine viral diarrhoea virus with blocking ELISA on bulk tank milk. *Vet. Rec.*, 2001, **149**, 236-240.
- Berri M., Souriau A., Crosby M., Crochet D., Lechopier P., Rodolakis A. - Relationships between the shedding of *Coxiella burnetii*, clinical signs and serological responses of 34 sheep. *Vet. Rec.*, 2001, **148**, 502-505.
- Biberstein E.L., Behymer D.E., Bushmell R., Crenshaw G., Riemann H.P., Franti C.E. - A survey of Q fever (*Coxiella burnetii*) in California dairy cows : results of field trials. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, **53**, 1577-1582.
- Bildfell R.J., Thomson G.W., Haines D.M., McEwen B.J., Smart N. - *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2000, **12**, 419-425.

- Czaplicki G., Houtain J.Y., Manteca C., Saegerman C. - Apparent prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* (Q Fever) in bulk tank milk of dairy herds in the Walloon region of Belgium. XXV World Buiatric Congress, 2008 July 6-11, Budapest, Hungary.
- Field P.R., Mitchell J.L., Santiago A., Dickeson D.J., Chan S.W., Ho D.W., Murphy A.M., Cuzzubbo A.J., Devine P.L. - Comparison of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay with immunofluorescence and complement fixation tests for detection of *Coxiella burnetii* (Q Fever) immunoglobulin M. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 1645-1647.
- Fontaine M., Giauffret A., Russot P., Durand M. - Importance des troupeaux ovins dans l'épidémiologie de la fièvre Q. *Med. Mal. Infect.*, 1975, **8**, 445-449.
- Guatteo R., Beaudeau F., Berri M., Rodolakis A., Joly A. and Seegers H. - Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows : implications for detection and control. *Vet. Res.*, 2006, **37**, 827-833.
- Guatteo R., Beaudeau F., Joly A., Seegers H. - Performances of an ELISA applied to serum and milk for the detection of antibodies to *Coxiella burnetii* in dairy cattle. *Rev. Med. Vet.*, 2007a, **158** (5), 250-252.
- Guatteo R., Beaudeau F., Ledoux D., Le Dréan E., Seegers H. - Risk of false negative results when delaying PCR from sampling for *Coxiella burnetii* detection in dairy cows. *Rev. Med. Vet.*, 2007b, **158** (12), 641-644.
- Guatteo R., Beaudeau F., Joly A., Seegers H. - Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milk-shedder cows using a Real Time PCR applied to bulk tank milk. *Zoonoses Public Health*, 2007c, **54**, 191-194.
- Hassig M., Lubsen J. - Relationship between abortions and seroprevalences to selected infectious agents in dairy cows. *J. Vet. Med. B*, 1998, **45**, 435-441.
- Jenicek M., Cleroux R., - Epidémiologie : principes, techniques, applications, Maloine (Editors), Paris, 1987, 137-142.
- Kim S.G., Kim E.H., Lafferty C.J., Dubovi E. - *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, **11** (4), 619-621.
- Maurin M., Raoult D. - Q Fever. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999, **12** (4), 518-553.
- Meunier J. - Dossier technique : Ruminant Milk Q Fever LSI Kit, 2008, 13 p.
- OIE - Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals Part 2, 2004, Section 2.2, Chapter 2.2 10. http://www.oie.int/fr/normes/manual/A_00049.htm
- Ormsbee R., Peacock M., Gerloff R., Talent G., Wike D. - Limits of a rickettsial infectivity. *Infection and Immunity*, 1978, **19**, 239-245.
- Paiba G.A., Green L.E., Lloyd G., Patel D., Morgan K.L. - Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* (Q Fever) in bulk tank milk in England and Wales. *Vet. Rec.*, 1999, **144**, 519-522.
- Peter O., Dupuis G., Peacock M.G., Burgdorfer W. - Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and complement fixation and Indirect Fluorescent-Antibody Tests for detection of *Coxiella burnetii* antibody. *J. Clin. Microbiol.*, 1987, **25**, 1063-1067.
- Plommet M., Capponi M., Gestin J., Renoux G. - Fièvre Q expérimentale des bovins. *Ann. Rech. Vet.*, 1973, **4**, 325-346.
- Rodolakis A., Dufour B. - Fièvre Q : évaluation du risque pour la santé publique et outils de gestion en élevage. *Bulletin épidémiologique*, 2006, **21**, 4-6.
- Rodolakis A., Berri M., Héchard C., Caudron C., Souriau A., Bodier C.C., Blanchard B., Camuset P., Devillechaise P., Natorp J.C., Vadet J.P., Arricau-Bouvery N. - Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine and ovine herds. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90**, 5352-5360.

Schreiber P., Robert B., Bughin J., Limbourg B., Coppe P. - Etiologie des avortements infectieux non brucelliques chez la vache dans le sud de la Belgique. *Bull. G.T.V.*, 1998, **2**, 39-53.

Toma B., Bénét J.J., Dufour B., Eloit M., Moutou F., Sanaa M. - Glossaire

d'épidémiologie animale. Editions du Point Vétérinaire, Paris, France, 1991, pp. 365.

Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénét J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A. - Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures, 2ème Ed., AEMA, Maison Alfort France, 2001, 696 p.



Remerciements

Nous adressons nos remerciements à Mesdames Pascale Gotalle et Pascale Cuvelier de l'ARSIA pour leur collaboration technique, et au Fonds de la santé animale qui a subventionné ce travail.