

# LA FIEVRE Q CHEZ L'ANIMAL : Évolution du diagnostic vétérinaire

Dr Régis DUQUESNEL  
[regis.duquesnel@cg81.fr](mailto:regis.duquesnel@cg81.fr)

Laboratoire départemental d'analyses.  
32, rue Gustave Eiffel.  
81011 Albi cedex 9

# 1 PREAMBULE

Le 6 Novembre 1992, c'était le 1<sup>er</sup> Colloque sur le Contrôle Épidémiologique des Maladies infectieuses

Le Dr Thibon présentait le début de nos travaux collaboratifs sur la Fièvre Q sur les éleveurs de chèvre de la Région Centre, mais aussi sur les vétérinaires , les techniciens de contrôle laitier bovins et caprins et les inséminateurs de bovins.

Le 4 mai 2001, lors du 10eme CEMI le professeur J.P. Ganière professeur de l'École Vétérinaire de Nantes traitait le sujet des zoonoses infectieuses d'origine canine et féline, et le sujet des zoonoses infectieuses des animaux de rentes.

Élodie ROUSSET, Dr vétérinaire à l'ANSES de Sophia Antipolis présentait le sujet sur l'épidémiologie de la fièvre Q animale et de la situation en France.

## 2 CLINIQUE DE LA MALADIE CHEZ LES RUMINANTS

La Fièvre Q animale chez les ruminants, est la cause d'avortements en série surtout chez les primipares.

Ce phénomène s'observe sur les élevages d'ovins et de caprins . Ces élevages présentent la particularité d'un effectif élevé de femelles dont la reproduction est synchronisée. Les primipares représentent 25% de l'effectif et mettent bas sur une période de moins d'un mois. Pour un effectif de 200 chèvres, ou de 400 brebis, cela fait un lot de 50 chevrettes ou de 100 agnelles dont la gestation est synchronisée.

## 2 CLINIQUE DE LA MALADIE CHEZ LES RUMINANTS

Les avortements en série alertent les éleveurs. 25% du lot peut avorter. (Un taux d'avortement de 2 % est considéré comme normal).

Chez les bovins les métrites constituent le signe clinique d'alerte de l'infection à *Coxiella*, bien que des avortements soient aussi possibles. Les mises bas sont beaucoup plus étalées et les effectifs plus faibles dans les élevages.

Il y a une immunisation naturelle, et un cycle dans les élevages. Une femelle qui avorte ne re-avorte pas.

### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

- **31 Trois types de diagnostic en élevage : Définir les objectifs**

**311 Le diagnostic lors d'avortements de ruminants ou de métrites bovines en série :** La bactérie est-elle la cause des problèmes observés dans un élevage sur un certain laps de temps ?

**312 Le diagnostic dans un troupeau :** La bactérie est-elle présente dans le troupeau ? (Diagnostic ou Dépistage)

**313 Le diagnostic individuel :** La bactérie est elle présente chez un animal ? (Dépistage) Est elle responsable de l'avortement de cette animal. (Diagnostic) Peut on dater l'infection ?

## 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

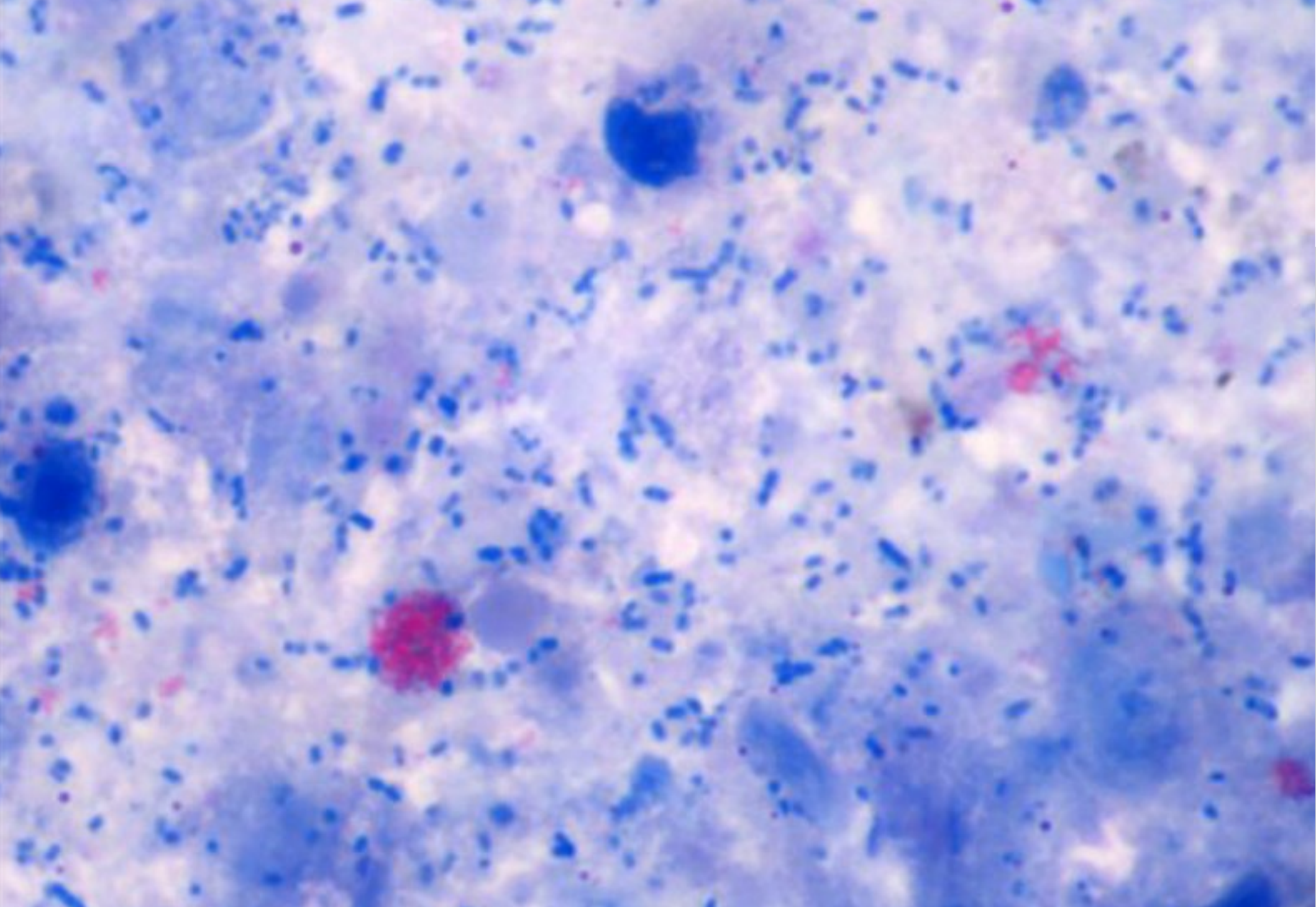
### 32 Les différentes méthodes d'analyses

#### **321 : Bactérioscopie**

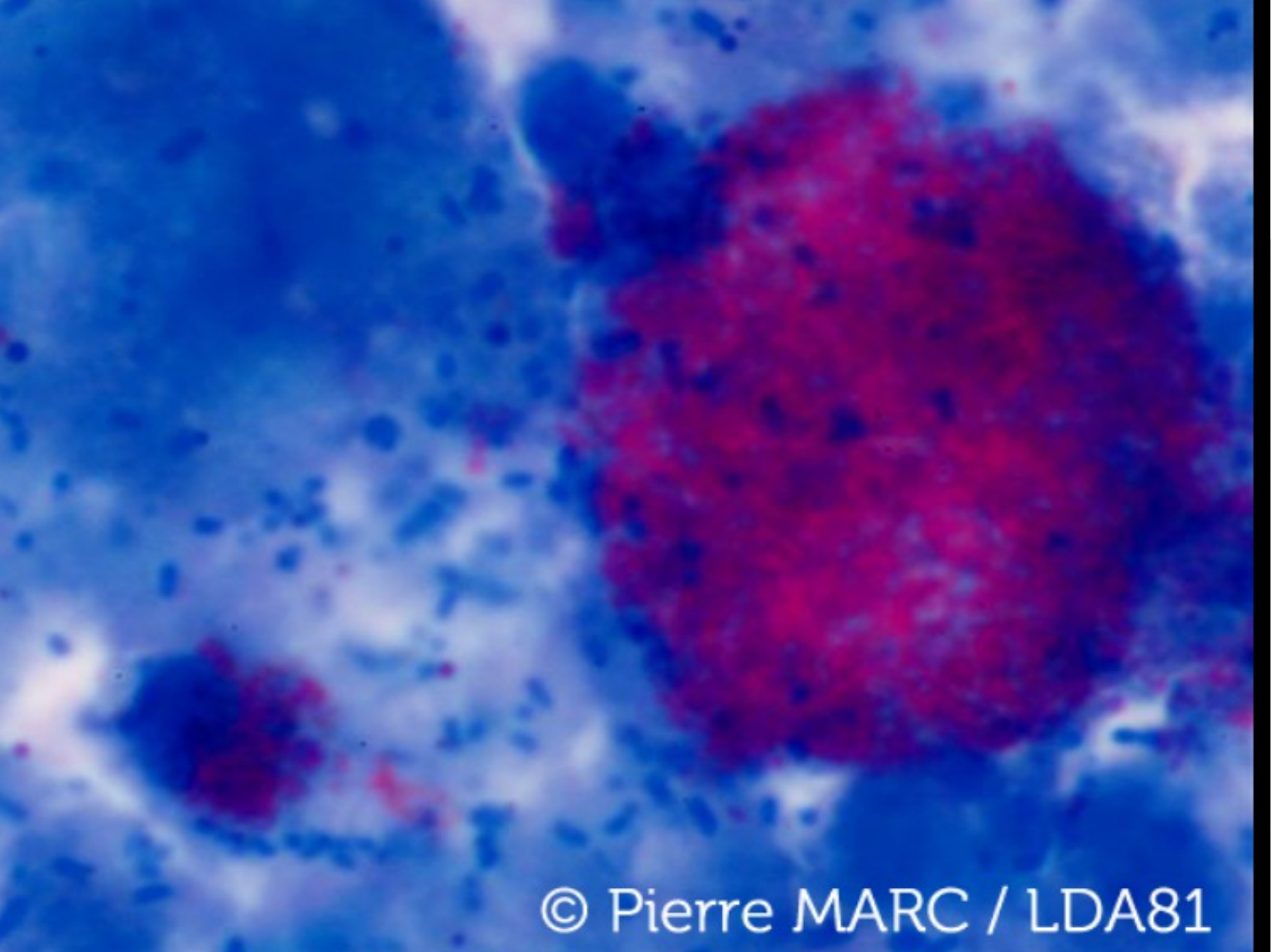
Coloration de STAMP sur le placenta (cotylédons), sur avorton (contenu de l'estomac, ou calque de rate).

Si la coloration est positive : Le diagnostic doit être complété en différenciant des Chlamydia et des Brucella.

Si la coloration est négative on ne peut rien dire car la mise en évidence de Coxiella par coloration nécessite une charge bactérienne très importante (lecture sous microscopie optique).



© Pierre MARC / LDA81



© Pierre MARC / LDA81



### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

#### 322 : Mise en culture de Coxiella

La bactérie n'est pas cultivable en laboratoire vétérinaire de routine. La culture est réalisée au laboratoire de production de vaccin (CEVA à Budapest), à l'école vétérinaire de Nantes pour un programme de recherche ainsi qu'au laboratoire de l'ANSES de Sophia Antipolis.

La mise en culture de prélèvements polycontaminés est difficilement réalisable en culture sur cellule ou sur œuf.

# 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

323 : SEROLOGIE : Les 3 outils diagnostics

3231 La FIXATION DU COMPLEMENT

3232 L'ELISA

3233 L'IMMUNOFLUORESCENCE Indirecte (IFI)

# 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

### 323 : SEROLOGIE :

#### 3231 La FIXATION DU COMPLEMENT :

Cette ancienne technique n'est pratiquement plus utilisée dans les laboratoires vétérinaires départementaux

Elle est très spécifique et utilisable sur tous les mammifères (Chien, chevaux, porc...) : Pas de réaction croisée avec d'autres germes.

Elle est peu sensible : Beaucoup de faux négatif en diagnostic individuel d'où la nécessité de faire au moins 10 sérologies pour un diagnostic de troupeau.

Le seuil de positivité a varié au cours du temps et suivant les publications. 1/80 pour certains, et 1/10 pour d'autres.

### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

### 323 : SEROLOGIE :

#### 3232 La Sérologie ELISA :

Méthode introduite en 1993 en France par la société Suisse BOMMELI de Berne permettant les grandes séries d'analyse (donc moins chère).

Les résultats sont exprimés en pourcentage de densité optique entre de sérum testé et un sérum positif du Kit. Les seuils ont été déterminés en France en concertation entre les fabricants et l'AFSSA de Sophia Antipolis en s'alignant sur la fixation du complément.

Résultat inférieur à 40% : résultat NEGATIF.

Entre 40 et 50 % : résultat DOUTEUX

Entre 50 & 80 % résultat définit comme FAIBLEMENT POSITIF

Résultat supérieur à 80% : résultat POSITIF

### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

### 323 : SEROLOGIE :

En Allemagne les seuils étaient différents : 30 & 40%.

Attention lorsque l'on compare les articles vétérinaires sur la prévalence de la maladie, de bien regarder les seuils

Le premier essai inter-laboratoire ELISA a été organisé en France en 2001 avec le seul Kit disponible sur le marché (IR VET de BOMMELI)

Le dernier essai inter-laboratoire ELISA organisé avec 3 Kits a mis en évidence des différences, du même ordre que celles observées pour les essais inter laboratoires en Fixation du complément autrefois.

La sensibilité de l'ELISA a donc varié dans le temps: Actuellement l'ELISA est plus sensible que la Fixation du complément. Dans d'autres circonstances, dans le passé certains Kits ELISA étaient moins sensibles. Le laboratoire de référence de l'ANSES de Sophia Antipolis est en train d'harmoniser les seuils et les Kit ELISA.

### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

### 323 : SEROLOGIE :

#### 3233 L'IMMUNOFLUORESCENCE Indirecte. (IFI)

C'est la technique de référence utilisée par les laboratoires en médecine humaine, permettant un diagnostic individuel fiable.

En médecine vétérinaire, ce test est utilisé depuis 1994 par nos équipes au LDA 28 à Chartres, puis au LDA81 d'Albi. Deux types de sérologies sont pratiquées en routine: l'IFI phase 2 et phase 1 (IgG).

.Ce test est beaucoup plus sensible que l'ELISA. (Donc beaucoup plus de sérologies sont positives avec cette technique).

Inconvénient : technique non automatisable donc coût individuel plus élevé .

Pas encore d'Essai Inter laboratoire organisée par l'ANSES car cette technique est utilisée par très peu de laboratoires par rapport à l'ELISA

### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

### 324 : LA PCR (Polymérase Chain Réaction)

Depuis 2003, ce sont des PCR en temps réel qui se sont développés dans la plus part des laboratoires départementaux vétérinaires.

Ce sont des PCR temps réel qualitatives.

Une PCR quantitative s'est mis en place depuis 1an en vue d'une numération de Coxiella. Cette technique se rapproche de la technique pour les analyses de Légionnella dans les tours aéroréfrigérantes

Principe de réalisation de gamme avec une solution de titre connu puis de comparer les CT des échantillons à ceux de la gamme et donc plusieurs PCR.

A cause de la sensibilité de la PCR il est important de bien choisir son prélèvement et d'exclure tout prélèvement de placenta souillé par la litière. Un prélèvement in utéro de cotylédon, un écouvillon vaginal ou les organes de foetus (analyse sur la rate) sont indiqués. Les prélèvements ne seront pas les mêmes en cas de diagnostic ou de dépistage.

### 3 LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE Q

## 32 Les différentes méthodes d'analyses

### 325 : UTILISATION DE SENTINELLES

Afin de réaliser un diagnostic, l'utilisation de sentinelles est tout à fait judicieuse. Elle consiste à garder par exemple quelques animaux non vaccinés sur lesquels seront réalisées des sérologies. Sur ces animaux sentinelles, le choix de la technique d'analyse sérologique et de sa sensibilité en cas de sérologies négatives est à prendre en compte. (Fixation du complément, ELISA ou IFI)

Enfin, sur les personnes ayant pratiqué les mises bas, des analyses sérologiques en IFI peuvent être d'un recours précieux et ont une vertu pédagogique



## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE

### 41 Ce qui fait consensus depuis 20 ans :

La Fièvre Q existe là où se trouvent des vétérinaires rickettsiologues. Dans les parties du monde où des rickettsiologues étudient la fièvre Q., la maladie est présente. Les régions censées être indemnes sont celles où aucune recherche n'est pratiquée.

Les analyses sérologiques positives signifient que la bactérie a contaminé l'animal.

Les analyses dépendaient des méthodes utilisées, des Kits utilisés, des seuils de positivité, et donc des laboratoires qui font les analyses sérologiques

Une recherche par coloration de Stamp négative, ne veut pas dire que l'animal est indemne

Une recherche par PCR temps réel négative ne veut pas dire que l'animal est indemne.

Un élevage contaminé ne redevient jamais indemne

## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE DEPUIS 20 ANS

### 42 Les changements

La technique de diagnostic, et la baisse de leur coût ont permis d'améliorer la mise en évidence de la bactérie.

La sérologie a évolué, passant de la fixation du complément à l'ELISA pratiqué en routine, ainsi qu'à l'immunofluorescence indirecte pratiqué au LDA81

Le laboratoire de référence vétérinaire par la mise en place d'essais inter laboratoires en sérologie ELISA et en PCR a permis au diagnostic et au laboratoire de progresser.

## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE DEPUIS 20 ANS

### 42 Changement

- La PCR en temps réel a remplacé la PCR sur gel fastidieuse.
- La PCR en temps réel qualitative est pratiquée en routine dans plus de 20 laboratoires départementaux d'analyses
- La PCR en temps réel quantitative fait son apparition dans une dizaine de laboratoire mais reste onéreuses pour les détenteurs d'animaux.

La classification basée sur le génome en rapprochant la *Coxiella burnetii* de *Legionella pneumophila* nous a éclairé.

Elle a éloigné *Coxiella* de *Brucella* et de *Chlamydia*, alors que leur coloration commune positive par la coloration de STAMP les avait unis au départ.

Ces nouvelles techniques améliorent les connaissances épidémiologiques.

## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE DEPUIS 20 ANS

### 42 Les changements

Les connaissances ont évolué , et ont été publiées.

Un consensus se dégage.

Les vétérinaires et les médecins se sont rapprochés.

La médecine du travail et en particulier les médecins de la MSA et ceux des laboratoires départementaux travaillent sur le sujet.

Le nombre important de salariés exposés , en particulier parmi les éleveurs, les techniciens d'élevage, les techniciens de laboratoire départementaux d'analyses , les vétérinaires .

Les femmes enceintes et les personnes cardiaques , comme dans toute population sont mieux surveillés.

## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE DEPUIS 20 ANS

### 42 Les changements

« Plus on cherche, plus on trouve ».

Coxiella est une bactérie très répandue dans le règne animal et dans l'environnement

Par exemple, Coxiella par PCR a été mise en évidence au LDA81 dans le sang d'un girafe d'un parc zoologique du sud de la France.

Des PCR se sont révélés positives, dans du lait UHT ou dans du fromage pasteurisé.

Plus d'un tiers des exploitations de ruminants détiennent des animaux présentant une sérologie positive en ELISA.

Les animaux de compagnie et les animaux sauvages sont aussi des réservoirs, en particulier les chats et les chevaux. les chevreuils, les petits rongeurs, certains oiseaux.

## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE DEPUIS 20 ANS

### 42 Les changements

Un nouveau vaccin (phase 1) très efficace sur les animaux non infectés est disponible sur le marché depuis quelques années.

En milieu indemne, utilisé sur de jeunes animaux non encore contaminés ce nouveau vaccin marche mieux que l'ancien.

En milieu contaminé, la vaccination des adultes est encore sujet à discussion. Les pratiques sont variables en fonction du contexte

Une femelle qui est immunisée par la rencontre de la *Coxiella burnetii* dans sa jeunesse, peut être normale et excréter aussi de la *Coxiella* dans les liquides utérins, dans son lait, dans ses fèces, dans son urine.

## 4 EVOLUTION DU DOMAINE VETERINAIRE DEPUIS 20 ANS

### 42 Les changements

La nouvelle réglementation du ministère de l'agriculture tient compte des rapports récents des experts.

Les éleveurs de vaches laitières, de brebis laitières, de chèvres laitières ne sont plus condamnés à disparaître, sacrifiés au nom du principe de précaution mal appliqué .

Le suivi de leurs salariés par la médecine du travail est plus performante.

# CONCLUSION

Les idées préconçues sur cette maladie ont bien évolué en France dans le monde vétérinaire.

Un vaccin vétérinaire efficace est maintenant disponible sur le marché

La voie orale ayant été reconnue officiellement comme une voie négligeable, par rapport à la voie aérienne, le monde de l'élevage peut mettre en place des programmes de prophylaxie réalistes et acceptés par les vétérinaires qui les encadrent

Les performances et l'harmonisation des techniques entre laboratoires et entre pays d'Europe ont beaucoup progressé.



# BIBLIOGRAPHIE

THIBON Monique. **Nov. 1992** Apport de la biologie moléculaire dans la détection de *Coxiella burnetii* *Méd.Mal.infect.* 1992 ; 22, HS : 59-60

THIBON Monique, VILLIERS V., SOUQUE P., DAUTRY-VARSAT A., DUQUESNEL R., OJCIUS D. **1996** High incidence of *Coxiella burnetii* in a rural population in France. *European Journal of Epidemiology* **12**: 509-513- 1996

GAGNIERE J.P. et Co **Mars 2001** Les zoonoses infectieuses des animaux de rente. *Méd.Mal.infect.* 2001 ; 31, HS : 143s-159s

ROUSSET E. et Co. **Mars 2001** Épidémiologie de la Fièvre Q animale. Situation en France *Méd.Mal.infect.* 2001 ; 31, HS : 233s-246s

DUQUESNEL R. **Oct. 2003** La Fièvre Q : Ancienne zoonose, future candidate au risque médiatique et au « principe de précaution » ? *La lettre de la FD GTV Midi Pyrénées* N°8

DUQUESNEL Régis : **mai 2008** Avortements chez les Ruminants : Protocoles d'Analyses proposées par le Laboratoire Exemple du Tarn .Journées Nationales GTV NANTES 2008 573-582

DUQUESNEL Régis : **mai 2013** AVORTEMENTS chez les Petits Ruminants. Analyses sérologiques et analyses PCR temps réel au Laboratoire Départemental d'analyses du Tarn **Bilan de 2006 à 2011** .Journées Nationales GTV NANTES 2013