

**Fièvre Q : Rapport sur l'évaluation des risques
pour la santé publique et des outils de gestion
des risques en élevage de ruminants**

**Adopté par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale »
le 8 juin 2004**

■ **Coordonnateurs de rédaction**
Françoise Gauchard
Anne-Marie Hattenberger

■ **Secrétariat administratif**
Sheila Gros-Désirs

■ **Coordination éditoriale**
Juliette Chevalier
Carole Thomann

COMMENTAIRES PRÉALABLES SUR LA NATURE DES RECOMMANDATIONS FORMULÉES PAR L'AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS, SUR LA BASE DU RAPPORT DU GROUPE DE TRAVAIL « FIÈVRE Q »

En décembre 2002, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été interrogée par la Direction générale de l'alimentation, au titre de l'appui scientifique et technique que l'Agence apporte au ministère chargé de l'agriculture, sur plusieurs questions concernant la fièvre Q, zoonose ayant provoqué une épidémie humaine dans la vallée de Chamonix.

La difficulté et l'importance du sujet ont justifié qu'un groupe de travail soit constitué pour répondre à cette saisine, qui concernait tant des problématiques de santé animale que de santé publique et qui nécessitait une démarche d'évaluation des risques.

Le groupe de travail a réuni pendant dix-huit mois des experts, des membres d'organisations professionnelles et un représentant de la Direction générale de l'alimentation. Ses conclusions ont été soumises au comité d'experts spécialisé santé animale, auquel il était rattaché. Sur certains points, le comité d'experts spécialisé en microbiologie a été sollicité.

Ceci a abouti à une évaluation des risques pour la santé publique au regard de la fièvre Q, à une analyse des outils disponibles pour la maîtrise des risques et à la formulation de recommandations. Concernant les recommandations du groupe de travail, il est apparu que toutes ne pouvaient être reprises telles quelles au compte de l'AFSSA. En effet, bien qu'approuvées par le comité d'experts qui a validé le rapport, certaines ont suscité des interrogations motivées de la part du directeur de la santé animale et de la directrice de l'évaluation des risques et des propositions alternatives, pour les nuancer ou les compléter. Les différences ne portaient pas sur l'analyse de risque elle-même, réalisée par le groupe d'experts, mais sur les conséquences qui pouvaient en être tirées, en cohérence avec les raisonnements suivis dans le domaine de la maîtrise des risques d'une zoonose dans différents travaux de l'agence.

Par souci de clarté, il a été décidé de faire apparaître, dans des encadrés distincts, au nombre de trois, les remarques formulées, et d'expliquer dans un préambule pourquoi, sur la base du travail d'expertise réalisé, il était choisi, dans le rapport final engageant l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments, de formuler de manière différente de celle du groupe de travail, quelques unes des recommandations faites aux autorités sanitaires. Il s'agit des points suivants, plus longuement développés dans le préambule au présent rapport.

En premier lieu, l'Agence n'a pas cru pouvoir reprendre à son compte les propositions du groupe de travail sur les recommandations médicales et notamment celles selon lesquelles certaines populations à risque ou groupes de patients devaient systématiquement bénéficier, dans certaines conditions, d'un dépistage de la fièvre Q. Il lui a semblé que ce type de recommandations allait au-delà de ce qui pouvait être de la compétence du groupe de travail, compte tenu de son objet et de sa composition, et devait être discuté par une instance d'expertise médicale pluridisciplinaire, comme par exemple la section « maladies infectieuses » du Conseil supérieur d'hygiène publique de France, ou toute autre instance à même de discuter collégialement l'intérêt en santé publique des différentes stratégies de dépistage en population humaine pour un agent infectieux de cette nature.

L'agence ne recommande donc pas de mesures précises de dépistage dans la population humaine mais suggère aux autorités sanitaires de demander une expertise complémentaire sur cette question.

A l'inverse, l'Agence ne reprend pas à son compte les réserves du groupe de travail qui conduisent celui-ci à écarter certaines recommandations concernant les troupeaux

susceptibles de présenter un risque pour la santé publique et les conditions de mise à la consommation des produits qui en sont issus.

Si l'Agence comprend le raisonnement, parfois utilisé, selon lequel, des mesures contraignantes peuvent conduire à des comportements de sous-déclaration, il lui semble nécessaire d'affirmer nettement que ne peut être autorisée la mise à la consommation humaine de lait cru provenant de troupeaux infectés et identifiés comme excréteurs qui présentent un risque pour la santé publique et de se fixer comme objectif un plan d'assainissement visant à identifier tous les élevages infectés et excréteurs.

C'est pourquoi, en ce qui concerne les foyers de fièvre Q chez les ruminants, l'Agence formule ses recommandations de la manière suivante :

« -mettre en place, par voie réglementaire ou contractuelle et de manière progressive, un plan d'assainissement de la fièvre Q ;

- de mettre en place une étude pilote sur le terrain, permettant de valider les outils de diagnostic et de prévention restants ;
- d'initier un processus de certification, dès lors que des outils de dépistage fiables seront disponibles, dans les élevages produisant du lait cru ou des fromages au lait cru et de faire évoluer cette certification au fur et à mesure de la validation progressive des outils de diagnostic ;
- de ne pas faire consommer de lait cru et de produits à base de lait cru (comme cela est déjà recommandé par ailleurs) aux personnes fragilisées (...);
- en plus des mesures préconisées dans le rapport pour l'assainissement des élevages infectés et identifiés comme excréteurs de *Coxiella burnetti* (mesures d'hygiène, traitement antibiotique, vaccination...), de pasteuriser (pasteurisation basse à 72°C pendant 15 secondes), le lait provenant de ces élevages ».

C'est assorti de ces nuances et de ces compléments par rapport à certaines formulations retenues par le groupe de travail dans l'expression de ses recommandations, que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments transmet aux ministres chargés de l'agriculture, de la santé et de la consommation son rapport sur l'évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants.

Fait à Maisons-Alfort, le 1^{er} décembre 2004

Martin Hirsch, directeur général

Composition du groupe de travail sur la fièvre Q : Evaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants

■ Présidente

Annie RODOLAKIS

INRA Nouzilly

Directrice de l'unité de recherche de pathologie infectieuse et immunologie

■ Vice-Président

Michel AUBERT

Afssa - Site de Sophia Antipolis

Directeur du laboratoire d'études et de recherches sur les petits ruminants et les abeilles

Membre du Comité d'experts spécialisé Santé animale

■ Membres du groupe de travail

Nathalie ARRICAU-BOUVERY

INRA Nouzilly

Unité de recherche de pathologie infectieuse et immunologie

Thibault DELCROIX

Fédération Nationale des Groupements de Défense Sanitaire du Bétail

Barbara DUFOUR

Maladies contagieuses,

Ecole nationale vétérinaire, Maisons Alfort

Membre du Comité d'experts spécialisé Santé animale

Sébastien LAVIEILLE

Afssa - Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires

Unité d'appui épidémiologique à l'analyse de risque

Elodie ROUSSET

Afssa - Site de Sophia-Antipolis

Laboratoire d'études et de recherche sur les petits ruminants et les abeilles

Hervé TISSOT DUPONT

Unité des Rickettsies et Pathogènes Emergents

CNRS UMR 6020

Centre National de Référence des Rickettsia, Coxiella et Bartonella

Elisabeth VINDEL

CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Économie Laitière)

Chef du service sécurité alimentaire

■ Représentants des ministères

Jérôme LANGUILLE

DGAI – Sous-direction de la santé et de la protection animales

Bureau de la santé animale

Jean-Christophe TOSI

DGAI – Sous direction de la sécurité sanitaire des aliments

Bureau des établissements de production et de transformation

■ Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Anne-Marie HATTENBERGER

Afssa - Chargée de mission auprès du directeur de la santé animale et du bien-être des animaux
Secrétariat scientifique du Comité d'experts spécialisé santé animale

Françoise GAUCHARD

Afssa - Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires
Unité d'appui épidémiologique à l'analyse de risque
Secrétariat scientifique du Comité d'experts spécialisé santé animale

Ont également contribué à ce rapport (préambule et encarts Afssa) :

Philippe VANNIER

Afssa - Directeur de la santé animale et du bien-être des animaux

Muriel ELIASZEWICZ

Afssa - Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires

2003-SA-0023



REÇU LE :
08 JAN. 2003
AFSSA D.S.A.B.A.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE,
DE L'ALIMENTATION, DE LA PÊCHE ET DES AFFAIRES RURALES

Direction générale de l'alimentation

251, rue de Vaugirard
75 732 PARIS CEDEX 15

Dossier suivi par :
Jean-Christophe TOSI - Tél : 01.49.55.84.91
Jérôme LANGUILLE - Tél : 01.49.55.84.66

Réf. interne : BSA/0212027 N° 03934

Objet : Fièvre Q

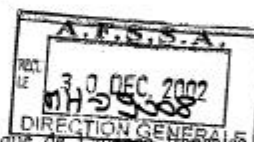
Monsieur le Directeur général
de l'agence française de sécurité sanitaire
des aliments

23, avenue du Général de Gaulle
B.P. 19
94701 MAISONS-ALFORT Cedex

Paris, le 20 DEC. 2002

→ ME
→ PLV
NY
7/2/05

Monsieur le Directeur Général,



J'ai l'honneur de solliciter l'appui scientifique et technique de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments, conformément aux dispositions du 2° de l'article L.1323-2 du code de la santé publique, pour me permettre de définir les mesures de maîtrise requises en cas de foyer animal de fièvre Q, tant dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments que de la santé animale.

L'épidémie humaine récente de fièvre Q en vallée de Chamonix rappelle en effet les conséquences non négligeables de cette affection en terme de santé publique. De juin à début novembre 2002, 89 cas humains confirmés sérologiquement ont été recensés dont 71 avec signes cliniques. Parmi les malades, 9 appartenaient à des groupes à risques (femmes enceintes et personnes avec valvulopathie) et ont nécessité des traitements médicaux de longue durée.

L'enquête cas / témoin réalisée auprès des malades par l'Institut de veille sanitaire a permis d'identifier le contact rapproché avec des petits ruminants comme principal facteur de risques. Cet élément a motivé la mise en œuvre par la Direction générale de l'alimentation d'investigations vétérinaires en élevage afin d'identifier d'éventuels cheptels excréteurs de *Coxiella burnetii*.

➤ Du point de vue de la sécurité sanitaire des aliments et dans la mesure où la transmission de *Coxiella burnetii* par le lait cru ou les produits au lait cru est régulièrement rapportée, la réglementation française a prévu que le lait cru de vache destiné à la consommation humaine ne peut être vendu en circuits « courts » (sur place, sur les marchés ou dans les magasins) que s'il provient d'une exploitation de production n'ayant eu aucun cas clinique de fièvre Q depuis au moins un an (article 3 de l'arrêté du 6 août 1985 relatif aux normes d'hygiène et de salubrité auxquelles doit répondre le lait cru livré en l'état et destiné à la consommation humaine). Hormis ce cas, il n'existe pas d'autres prescriptions de nature réglementaire limitant la vente de lait cru ou de produits au lait cru en relation avec l'apparition de la maladie dans l'exploitation. Cependant, des instructions administratives ont été données aux directions départementales des services vétérinaires en ce qui concerne les producteurs de fromages au lait cru titulaires d'une marque de salubrité communautaire lorsque leurs cheptels sont atteints de fièvre Q (note de service DGAL/SDHA/N° 8019 du 10 février 1997), pour écarter le lait des femelles ayant avorté et soumettre celui des autres productrices laitières de l'exploitation à une pasteurisation dite « haute » (85 °C pendant 30 secondes).

Compte-tenu des récentes conclusions d'une étude menée dans le cadre de la convention S 98/34 passée entre la Fédération nationale des groupements de défense sanitaire (FNGDS) et la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et achevée en 2002, qui confirme l'excrétion de *C. burnetti* dans le lait et les sécrétions vaginales chez des animaux (petits ruminants) appartenant aussi bien à des élevages infectés cliniques qu'à des élevages infectés latents, l'AFSSA est questionnée sur le niveau de risque présenté par le lait d'un animal sérologiquement positif en l'absence de toute manifestation clinique ayant pu être rapportée à la fièvre Q. En particulier, quelle est la probabilité d'excrétion de *C. burnetti* par un animal sérologiquement positif ? Si cette probabilité est élevée, faut-il alors rechercher *C. burnetti* dans le lait et, le cas échéant, à partir de quel titre de séropositivité ? et selon quelle méthode ?

➤ S'agissant du volet santé animale, la fièvre Q n'est à ce jour classée ni dans les maladies réputées contagieuses, ni dans les maladies à déclaration obligatoire fixées aux articles 224, 225 et 225-1 du livre deuxième du code rural. La lutte contre cette affection en élevage n'est encadrée par aucune disposition prise pour l'application de l'article L.221-1 du code rural et reste donc du seul ressort de l'exercice de la médecine vétérinaire libérale.

L'AFSSA est interrogée :

- sur la probabilité de transmission à un autre cheptel de l'infection en cas de manifestations cliniques ou en cas de séropositivité (en distinguant dans cette hypothèse selon le pourcentage d'animaux séropositifs et selon le de titre sérologique) ;
- sur l'efficacité des procédés de lutte disponibles (désinfectants, antibiotiques...) concernant tant les animaux que l'assainissement de l'environnement ;
- sur l'intérêt comparatif des vaccins inactivés en phase I et phase II, pour limiter l'excrétion et la circulation bactérienne au sein d'un troupeau.

Il me serait agréable de disposer du rapport de l'AFSSA pour le 1er mars 2003.

Je vous prie d'agréer, Monsieur le Directeur Général, l'expression de mes salutations distinguées.

La Directrice Générale de l'Alimentation

Catherine GEGLIAN-LANELLE

Copie à :

- sous direction de la réglementation, de la recherche et de la coordination des contrôles

Pièces jointes :

- Rapport de l'Institut de veille sanitaire du 5 novembre 2002
- Analyse de l'épidémie, CIRE Rhône-Alpes, 04/10/2002
- Protocole d'investigation en élevage
- Rapport technique convention s 98/34 (transmis par la FNGDS)
- Communiqué INRA Tours sur la fièvre Q

Décision relative au groupe de travail sur la fièvre Q : Evaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants

AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS

Décision n° 2003/056 relative au groupe de travail « Fièvre Q »

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.794-23 ;

Vu le décret n°99-242 du 26 mars 1999 relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 30 août 2000 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

DECIDE :

Article premier. Il est créé, sur proposition du comité d'experts spécialisé « Santé animale » lors de la réunion du 8 janvier 2003, un groupe de travail dénommé « Fièvre Q », chargé,

1. d'évaluer, au regard de la santé publique :
 - les risques de contamination présentés par le lait et les produits dérivés de brebis infectées par *Coxiella burnetii*, responsable de la fièvre Q ;
 - les autres risques de contamination des populations humaines exposées par les autres modes de transmission de *Coxiella burnetii*.
2. d'étudier, dans le domaine de la santé animale :
 - la probabilité de transmission à un autre cheptel de l'infection en cas de manifestations cliniques ou en cas de séropositivité (en tentant d'évaluer le risque selon le profil sérologique du troupeau : pourcentage d'animaux séropositifs, titre sérologique...) ;
 - l'efficacité des procédés de lutte disponibles (désinfectants, antibiotiques, mesures sanitaires...) concernant tant les animaux que l'assainissement de l'environnement ;
 - les effets comparés des vaccins inactivés en phase I et en phase II, sur l'excrétion et la circulation bactérienne au sein d'un troupeau infecté et lorsqu'ils sont utilisés à titre préventif.
3. d'établir des recommandations sur les mesures à prendre en cas de foyer animal de fièvre Q, pour limiter ou prévenir les risques, tant dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments que de la santé animale.

Article 2. Le groupe de travail mentionné à l'article premier est composé des membres suivants :

- Membres du comité d'experts spécialisé « Santé animale » :
M. Michel AUBERT
Mme Annie RODOLAKIS
- Autres experts :
Mme Nathalie ARRICAU-BOUVERY (INRA, Tours Nouzilly)
M. Sébastien LA VIEILLE (Afssa, DERNs)
Mme Barbara DUFOUR (Afssa, DERNs)
Mme Elodie ROUSSET (Afssa, Sophia-Antipolis)
M. Hervé TISSOT-DUPOND (CNRS-UPRES-A 6020 Faculté de Marseille)

- Membres de l'Administration :
M. Jean-Christophe TOSI (DGA)
- Membres du groupe de travail issus d'organisations professionnelles :
M. Thibault DELCROIX (FNGDS)
Mme Elisabeth VINDEL (CNIEL)


Article 3. M. Annie RODOLAKIS est nommé présidente du groupe de travail mentionné à l'article premier. M. AUBERT est nommé vice-président.

Article 4. Les conclusions du groupe de travail seront présentées au comité d'experts spécialisé « Santé animale » dans un délai de quatre mois.

Article 5. Le Directeur Santé animale participe au groupe de travail et le secrétariat mentionné à l'article premier est assuré par le secrétariat scientifique du comité d'experts spécialisé « Santé animale ».

Fait à Maisons-Alfort, le **27 JAN. 2003**

Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments



Martin HIRSCH

Préambule

Ce rapport relatif à l'évaluation des risques liés à la fièvre Q pour la santé publique et sur l'évaluation des outils de gestion des risques en élevage des ruminants donne une information très complète sur *Coxiella burnetii* responsable de la fièvre Q et les conséquences de l'infection sur la santé publique et la santé animale. Il montre bien la complexité du problème et les difficultés de maîtrise de l'infection et de la maladie compte tenu de l'extrême difficulté à évaluer avec précision la séroprévalence ovine, caprine et bovine de la Fièvre Q en France, des limites des outils de diagnostic actuellement disponibles et du grand nombre de facteurs impliqués dans la transmission de l'agent.

S'agissant des recommandations émises par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » concernant la protection de la santé humaine, l'Afssa considère que certaines d'entre elles peuvent ne pas apparaître en parfaite adéquation avec l'exposition supposée des différentes populations telles que définies par le groupe d'experts. En effet, certaines de ces recommandations mettent sur le même plan les populations dites « *en contact direct, étroit et habituel*¹ » avec celles présentant une exposition « *rurale directe ou indirecte*² ».

Ces recommandations sont les suivantes :

- *procéder à un dépistage clinique systématique des valvulopathies ;*
- *procéder à un dépistage sérologique systématique en début de grossesse.*

Dans la mesure où le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » indique des niveaux d'exposition différents pour ces deux types de populations³, le choix de recommandations équivalentes, qui seraient par ailleurs susceptibles de soulever des questions de logistique et de coût, mériterait d'être discuté. De façon connexe, il pourrait être pertinent d'affiner l'identification des populations exposées dans la mesure où le périmètre de définition de populations telles que « *les adeptes du tourisme vert ou les visiteurs de fermes pédagogiques* » reste difficile à cerner et surtout à quantifier.

Compte tenu de l'ensemble de ces éléments, l'Afssa considère que l'interrogation d'instances telles que l'InVS ou la section « Maladies transmissibles » du CSHPF serait de nature à apporter un éclairage complémentaire sur ces points. (cf. encadré Afssa n°III, chapitre 3, paragraphe 3.3.1).

Par ailleurs, il est nécessaire de souligner l'importance épidémiologique des troupeaux excréteurs au regard des risques relatifs à la santé publique. Il est donc essentiel de cibler un certain nombre de recommandations sur ces troupeaux et de pouvoir mettre en place, progressivement, un ensemble de mesures susceptibles de contribuer au progrès sanitaire pour la population domestique tout en protégeant et les populations humaines en contact avec les animaux excréteurs et les consommateurs. Parmi ces mesures et, en plus de celles préconisées dans le rapport pour l'assainissement des élevages infectés et identifiés comme excréteurs de *Coxiella burnetii* (mesures d'hygiène, traitement antibiotique, vaccination...), l'Afssa recommande de pasteuriser (pasteurisation basse à 72°C pendant 15 secondes)⁴ le lait provenant de ces élevages (cf. encadré Afssa n° II, chapitre 3, paragraphe 3.2). En effet, même s'il apparaît bien établi que la voie respiratoire est la voie de contamination de l'homme la plus importante et la plus fréquente, à partir d'animaux infectés et excréteurs, il convient de rappeler que le lait des animaux infectés peut contenir *Coxiella burnetii* à des concentrations qui peuvent aller jusqu'à 1000 doses infectant le cobaye (voir annexe I du rapport). De plus, il a été observé des séro-conversions chez des consommateurs de lait cru avec une expression clinique inconstante dans des conditions où la contamination par voie aérienne semblait peu probable (voir annexe I du rapport). Par ailleurs, les conclusions du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » estimant : « *qu'un nombre d'élevages inconnu, mais probablement grand, est excréteur sans être identifié et que la généralisation d'une recherche de Coxiella burnetii sur les laits est irréaliste, de telles mesures [mesures d'application générale pour le lait cru] nécessairement contraignantes, auraient un caractère discriminatoire et conduiraient donc à une sous information concernant les foyers, aboutissant à un bilan négatif au plan de la protection de la santé publique (pas de réduction du risque de transmission par voie aérienne). Cependant, les élevages commercialisant du lait cru ou des produits frais au lait cru devraient être encouragés à s'engager dans un processus de certification.* » (paragraphe 3.1.2.), ne peuvent justifier, pour

l'Afssa, d'une part, de ne pas prendre les mesures adaptées et d'autre part de permettre la consommation de lait cru provenant de troupeaux infectés et identifiés comme excréteurs qui présente un risque pour la santé publique. Aussi, l'Afssa recommande que soit mis en place, par voie réglementaire ou contractuelle et de manière progressive, un plan d'assainissement de la fièvre Q qui devrait permettre à terme d'identifier tous les élevages infectés et excréteurs.

Par ailleurs, l'Afssa rejoint les recommandations du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » concernant :

- la mise en place d'une étude pilote sur le terrain, permettant de valider les outils de diagnostic et de prévention restants ;
- l'initiation d'un processus de certification, dès lors que des outils de dépistage fiables seront disponibles, dans les élevages produisant du lait cru ou des fromages au lait cru et de faire évoluer cette certification au fur et à mesure de la validation progressive des outils de diagnostic ;
- la nécessité d'éviter la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru (comme cela est déjà recommandé par ailleurs) pour les personnes fragilisées.

De façon plus générale, l'Afssa considère que l'affirmation selon laquelle « *la fièvre Q constitue incontestablement une préoccupation plus importante pour la santé publique que pour la santé animale* » mériterait d'être nuancée (cf. encadré Afssa n° I, chapitre 3), dans la mesure où un manque d'informations épidémiologiques, tant en santé animale qu'en santé humaine, est à souligner à ce jour, ce qui ne permet pas une estimation précise de l'incidence de cette pathologie chez l'animal. Les raisons principales en sont :

- une connaissance imparfaite des signes cliniques chez l'animal (comme chez l'homme) (voir § 1.2.2.1.) ;
- un déficit d'outils diagnostiques fiables et validés en conditions de terrain (voir § 1.2.2.4.) ;
- un défaut d'investigation systématique de certaines situations pathologiques chez l'animal (avortements...), (voir § 1.3.2.).

Philippe Vannier et Muriel Eliazewicz

Directeur de la santé animale
et du bien-être des animaux

Directrice de l'évaluation des
risques nutritionnels et sanitaires

¹ « Sujets en contact direct, étroit et habituel (le plus souvent professionnel) avec les ruminants (éleveurs, vétérinaires, personnels d'abattoirs) »

² « Populations à exposition rurale, directe ou indirecte : voisins des exploitations, adeptes du tourisme vert, visiteurs des fermes pédagogiques. Les chasseurs et autres amateurs de promenades dans la nature peuvent présenter quelques particularités, en raison d'une exposition à la faune sauvage (pour laquelle la connaissance est très limitée) et d'une surexposition aux tiques (bien que leur rôle dans la transmission de la fièvre Q à l'homme reste anecdotique en France) »

³ Population en contact direct avec les ruminants domestiques ou la bactérie (personnel de laboratoire) : risque qualifié de modéré à élevé. Population dite rurale : risque qualifié de faible à modéré.

⁴ Note de service de la DGAI n°2004-8055 du 10/02/2004. Cette note faisait suite à une note de l'Afssa en date du 29/01/2004 s'appuyant sur un rapport du CES Microbiologie.

Glossaire.....	16
Réponses aux questions posées.....	17
Introduction	19
1 Evaluation du risque en sante publique	21
1.1 Présentation de la méthode	21
1.1.1 Principe général de la méthode.....	21
1.1.2 Appréciation de la probabilité de chaque évènement	21
1.1.3 Appréciation du risque.....	21
1.2 Identification du danger	23
1.2.1 Germe responsable.....	23
1.2.1.1 Variations antigéniques et pouvoir infectieux de la bactérie.....	23
1.2.1.2 Vie intracellulaire	24
1.2.2 Maladie animale.....	25
1.2.2.1 Signes cliniques chez les ruminants domestiques	25
1.2.2.2 Persistance de la bactérie chez les animaux infectés	26
1.2.2.3 Transmission de l'infection entre troupeaux	26
1.2.2.4 Outils de diagnostic en médecine vétérinaire	26
1.2.3 Maladie humaine	30
1.2.3.1 Fièvre Q aiguë	32
1.2.3.2 Fièvre Q chronique.....	33
1.2.3.3 Variabilité de l'expression clinique	33
1.2.3.4 Diagnostic	34
1.2.3.5 Traitement	35
1.2.3.6 Vaccination humaine.....	35
1.2.3.7 Aspect réglementaire de la fièvre Q chez l'homme	36
1.3 Emission.....	36
1.3.1 Sources de matières virulentes	36
1.3.1.1 Espèces animales	36
1.3.1.2 Environnement	39
1.3.1.3 Produits alimentaires d'origine animale.....	39
1.3.2 Prévalence de la fièvre Q chez les animaux	40
1.3.2.1 Ruminants domestiques	41
1.3.2.2 Autres espèces	43
1.3.2.3 Bilan sur la prévalence	44
1.3.3 Appréciation de l'émission	49
1.4 Exposition.....	49
1.4.1 Différentes voies d'exposition	49
1.4.1.1 Voie aérienne	50
1.4.1.2 Contact avec les mammifères et en particulier les ovins	50
1.4.1.3 Exposition alimentaire	51
1.4.1.4 Faune sauvage et divers	52
1.4.2 Différentes populations exposées.....	53
1.4.3 Appréciation de l'exposition	53
1.5 Appréciation des conséquences.....	55
1.6 Appréciation du risque	55
1.6.1 Appréciation de la probabilité de survenue de l'infection	55
1.6.2 Appréciation des risques bruts et réduits	56
2 Moyens disponibles pour la lutte dans les élevages.....	59
2.1 Désinfectants	59
2.2 Antibiotiques.....	59

2.3	Mesures sanitaires	60
2.3.1	Mesures sanitaires offensives	60
2.3.1.1	Réforme des animaux excréteurs	60
2.3.1.2	Mesures générales d'hygiène	61
2.3.2	Mesures sanitaires défensives	62
2.3.2.1	Précautions lors des introductions/mélanges d'animaux	62
2.3.2.2	Précautions vis-à-vis des élevages voisins	62
2.3.2.3	Précautions vis-à-vis des autres vecteurs de <i>Coxiella burnetii</i>	63
2.4	Vaccins animaux.....	63
2.4.1	Bovins	63
2.4.2	Caprins	63
2.4.3	Ovins	65
2.4.4	Conclusion	65
3	Recommandations	66
3.1	Recommandations pour mieux connaître l'épidémiologie de la fièvre Q chez les ruminants.....	67
3.1.1	Avantages et inconvénients de l'inscription de la fièvre Q dans la liste des maladies animales à déclaration obligatoire	67
3.1.2	Opportunité de mesures concernant les exploitations commercialisant du lait cru ou des produits frais au lait cru.....	68
3.2	Recommandations concernant les foyers de fièvre Q chez les ruminants.....	68
3.3	Recommandations concernant la protection de la sante humaine	69
3.3.1	Information des professionnels de santé.....	69
3.3.2	Information des personnes présentant des facteurs aggravants	70
3.4	Recommandations sur les études et les recherches à poursuivre pour améliorer les connaissances sur la bactérie et les outils nécessaires à sa maîtrise.....	70
3.4.1	Recherche sur la bactérie et sa transmission	71
3.4.2	Recherche sur les outils de maîtrise.....	71
ANNEXES I, II	77
BIBLIOGRAPHIE	79

Liste des figures

Figure 1 : Présentation du schéma général d'analyse (selon la méthode OIE).....	22
Figure 2 : Cycle de multiplication de <i>Coxiella burnetii</i>	25
Figure 3 : Evolutions possibles de l'infection à <i>Coxiella burnetii</i> chez l'Homme.....	31
Figure 4 : Réponses sérologiques des chèvres après vaccination et épreuve. Le taux d'anticorps a été mesuré à l'aide du kit ELISA (CHEKIT-Q-Fever enzyme immuno-assay kit ; Bommeli diagnostics, Switzerland) qui permet de détecter les anticorps anti-phase I et anti-phase II.....	65

Liste des tableaux

Tableau I : Résultats de la combinaison des différentes appréciations qualitatives utilisées dans l'analyse qualitative du risque (Nulle = Nu, N = Négligeable, F = Faible, M = Modérée et E = Elevée).....	22
Tableau II : Données départementales ou régionales relatives à la séroprévalence de la fièvre Q dans les troupeaux de bovins.....	44
Tableau III : Données départementales ou régionales relatives à la séroprévalence de la fièvre Q dans les troupeaux d'ovins.....	46
Tableau IV : Données départementales ou régionales relatives à la séroprévalence de la fièvre Q dans les troupeaux de caprins.....	48
Tableau V : Appréciation qualitative de l'émission de <i>Coxiella burnetii</i>	49
Tableau VI : Les principales épidémies décrites depuis une vingtaine d'années.....	52
Tableau VII : Données épidémiologiques en France depuis une vingtaine d'années.....	53
Tableau VIII : Appréciation qualitative de l'exposition à <i>Coxiella burnetii</i>	54
Tableau IX : Appréciation qualitative des conséquences brutes et réduites par l'intervention d'une thérapeutique de l'infection par <i>Coxiella burnetii</i>	55
Tableau X : Probabilité d'infection par <i>Coxiella burnetii</i>	55
Tableau XI : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique dans le cas d'une contamination par <i>Coxiella burnetii</i> par des ruminants domestiques.....	56
Tableau XII : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique dans le cas d'une contamination par <i>Coxiella burnetii</i> par la consommation d'aliments contaminés (notamment le lait cru).....	57
Tableau XIII : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique dans le cas d'une contamination par <i>Coxiella burnetii</i> par le contact avec des carnivores domestiques.....	57
Tableau XIV : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique, en cas.....	58
Tableau XV : Mises bas pathologiques, contamination des placentas, des chevreaux et des chèvres et excrétion dans les fèces, les sécrétions vaginales et le lait après épreuve avec 10 ⁴ <i>Coxiella burnetii</i> souche CbC1 de chèvres gestantes non vaccinées (Lot NV) ou vaccinées avec un vaccin phase I (lot I) ou un vaccin phase II (lot II), comparées à un lot de chèvres non inoculées (lot NI).	64
Tableau XVI : Avantages et inconvénients de l'inscription sur la liste des MADO de la fièvre Q chez les ruminants.....	67

ADN :	Acide desoxyribonucléique
Afssa :	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
ATU :	Utilisation transitoire d'utilisation
ATVP :	Autorisation transitoire de vente aux professionnels
CES SA :	Comité d'experts spécialisé santé animale
CHG :	Centre hospitalier général
CME :	Chloroform methanol extract
CMR :	Chloroform methanol residue
CNR :	Centre national de référence
CR3 :	Récepteur de la bactérie pour le fragment ic3b du complément
EID :	Entente interdépartementale de démoustication
EILA :	Essai inter-laboratoires d'aptitude
ELIFA :	Enzyme-Linked- Immunosorbent Fluorescence Sorbent
ELISA :	Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay
FC :	Fixation du complément
IAP :	Integrin-associated proteins
IFI :	Immunofluorescence indirecte
LCV :	Large cell variant
LPS :	Lipopolysaccharide de surface
LRI :	Leukocyte response integrin
MADO :	Maladies animales à déclaration obligatoire
NSB :	Niveau de sécurité biologique
OIE :	Office international des épizooties
PCR :	Polymerase chain reaction
PCR – RFLP :	Polymerase chain reaction – Restriction fragment length polymorphism
PFGE :	Pulse field gel electrophoresis
RIA :	Radio-Immuno-Assay
SCV :	Small cell variant
SDC :	Small dense cell
SLP :	Spore like particle
V-H+-ATPase :	Vacuolar proton ATPase (pompe à proton vacuolaire)
WC :	Whole cell

Réponses aux questions posées

La DGAI a saisi l'Afssa sur les mesures de maîtrise requises en cas de foyer animal de fièvre Q, tant dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments que de la santé animale, en posant les questions suivantes :

1) concernant la sécurité sanitaire des aliments, sur le niveau de risque pour l'homme présenté par le lait d'un animal sérologiquement positif en l'absence de toute manifestation clinique ayant pu être rapportée à la fièvre Q et plus particulièrement :

- ***sur la probabilité d'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait par un animal sérologiquement positif et sur l'existence d'une relation entre le titre sérologique et cette probabilité d'excrétion ;***

Réponse : Un résultat sérologique positif sur un animal indique que celui-ci a été en contact avec l'agent de la fièvre Q. Les techniques sérologiques actuelles ne permettent de conclure ni sur le caractère récent ou ancien de la contamination, ni sur le caractère aigu ou chronique de l'infection, ni enfin sur la capacité d'excrétion de l'animal (§ 1.2.2.4).

- ***sur la nécessité de rechercher cette excrétion dans le lait ;***

Réponse : Compte tenu du fait que la voie alimentaire est une voie de contamination mineure, il ne paraît ni souhaitable, ni justifié de préconiser des mesures de dépistage systématique pour la commercialisation de lait cru. En effet, sachant qu'un nombre d'élevages inconnu, mais probablement grand, est excréteur sans être identifié et que la généralisation d'une recherche de *Coxiella burnetii* sur les laits est irréaliste, de telles mesures nécessairement contraignantes auraient un caractère discriminatoire et conduiraient donc à une sous déclaration des foyers, aboutissant à un bilan négatif au plan de la protection de la santé publique (recommandation 3.1.2).

En revanche, à des fins de recherche ou de diagnostic, la détection de *Coxiella burnetii* dans le lait, comme dans d'autres excréta, devrait être entreprise à l'occasion des enquêtes épidémiologiques réalisées dans les foyers de fièvre Q (recommandation 3.4.1).

- ***sur la méthode à utiliser pour rechercher *Coxiella burnetii* dans le lait .***

Réponse : La technique à privilégier est la PCR ; toutefois, elle doit être associée à une analyse ELISA sur sérum pour la détection de l'infection dans un troupeau (§ 1.2.2.4).

2) concernant le volet santé animale, l'Afssa est interrogée :

- ***sur la probabilité de transmission de l'infection à un autre cheptel en cas de manifestations cliniques ou en cas de séropositivité en tenant compte du pourcentage d'animaux séropositifs et du titre sérologique ;***

Réponse : Avec les outils sérologiques actuellement disponibles, la seule affirmation possible est qu'un troupeau dont toutes les réponses sérologiques sont négatives ne peut pas être excréteur au moment de l'enquête. Dans les autres cas, il n'est pas possible d'évaluer un risque d'excrétion ou de transmission à un autre cheptel avec le seul outil sérologique (§ 1.2.2.4).

Compte tenu des limites des outils de diagnostic et du grand nombre de facteurs impliqués dans la transmission, il est actuellement impossible de prévoir le scénario de transmission entre troupeaux qui sera prédominant.

Même si le groupe de travail considère comme hautement probable la contamination des cheptels voisins d'un troupeau présentant des signes cliniques de fièvre Q (§ 1.3.1), il indique qu'on ne peut pas se prononcer sur la probabilité de contamination d'un cheptel à partir d'un cheptel séropositif (§ 1.2.2.4).

- ***sur l'efficacité des procédés de lutte disponibles (antibiotiques et désinfectants) pour les animaux et de ceux utilisés pour l'assainissement de l'environnement ;***

Réponse : En attendant d'autres expériences démontrant plus précisément l'efficacité et les limites des traitements antibiotiques, ces derniers sont préconisés pour diminuer l'excrétion lors d'épisodes abortifs ou au tarissement pour des excrétions persistantes dans le lait (§ 2.2).

Le traitement des lisiers contaminés peut être réalisé avec de la cyanamide calcique (§ 2.1).

- ***sur l'intérêt comparatif des vaccins inactivés en phase I et en phase II pour limiter l'excrétion et la circulation bactérienne au sein d'un troupeau ;***

Réponse : Le vaccin phase II disponible n'empêche pas l'excrétion de *Coxiella burnetii* par les ruminants dans le lait, les sécrétions vaginales et les fèces. En revanche, le vaccin en phase I préviendrait cette excrétion. En effet, expérimentalement, les vaccins inactivés en phase I réduisent très efficacement la fréquence des avortements et plus efficacement encore l'excrétion dans le lait. Ils réduisent considérablement la durée de l'excrétion fécale et vaginale ainsi que la quantité de bactéries excrétées (§ 2.4).

Pour répondre à la saisine de la DGAL, le Directeur général de l'Afssa a décidé de créer un groupe de travail nommé « Fièvre Q », par la Décision n° 2003/056 en date du 8 janvier 2003, chargé de répondre aux questions posées et d'évaluer au regard de la santé publique :

- ***les risques de contamination présentés par le lait et les produits dérivés de petits ruminants infectés par *Coxiella burnetii*, responsable de la fièvre Q ;***

Réponse : Ce risque a été évalué « nul à négligeable » pour la population normale et « négligeable » pour la population présentant des facteurs aggravants (femmes enceintes, patients souffrant de valvulopathie cardiaque ou immunodéprimés) (§ 1.6).

- ***les autres risques de contamination des populations humaines exposées par les autres modes de transmission de *Coxiella burnetii*.***

Réponse : Le risque concernant la population générale ne présentant pas de facteur aggravant (grossesse, valvulopathie ou immuno-dépression) peut être considéré comme extrêmement limité (« nul à négligeable »).

Le risque est plus grand pour les populations présentant des facteurs aggravants, ce qui rend l'utilisation d'une thérapeutique adaptée particulièrement importante pour cette catégorie de population. En effet, un diagnostic précoce accompagné d'une thérapeutique adaptée réduit de manière importante le risque. Pour la population présentant des facteurs aggravants, le risque brut varie de « négligeable » à « faible », le risque réduit par la thérapeutique devient « nul à négligeable ».

Le risque lié à la faune sauvage est globalement « nul à négligeable » (§ 1.6).

Introduction

La fièvre Q est une zoonose dont l'incidence est mal connue en France en raison de la variété des symptômes qui s'y rapportent et de la difficulté de son diagnostic.

Parmi tous les épisodes qui ont attiré l'attention sur les conséquences de cette maladie en santé publique, le plus récent est l'épidémie de fièvre Q humaine survenue en 2002 dans la vallée de Chamonix. Entre juin et novembre, 89 cas humains de fièvre Q y ont été recensés, dont 71 avec des signes cliniques. Neuf d'entre eux ont nécessité des traitements médicaux de longue durée, car ils appartenaient à des groupes à risques.

La réglementation française en matière de Fièvre Q concerne uniquement la sécurité sanitaire des aliments, puisqu'elle n'autorise la commercialisation du lait cru de vache destiné à la consommation humaine que s'il provient d'une exploitation n'ayant pas eu de signes cliniques de fièvre Q. De plus, des instructions administratives recommandent aux directions départementales des services vétérinaires de veiller à ce que les producteurs de fromages au lait cru ayant une marque de salubrité communautaire, écartent le lait des femelles ayant avorté et traitent le lait du reste du troupeau par une pasteurisation « haute » (85°C pendant 30 secondes), lorsque leurs cheptels sont atteints de fièvre Q.¹

Compte tenu de ces éléments, la DGAI, par un courrier en date du 20 décembre 2002, a interrogé l'Afssa sur deux points :

1) concernant la sécurité sanitaire des aliments, sur « le niveau de risque pour l'homme présenté par le lait d'un animal sérologiquement positif en l'absence de toute manifestation clinique ayant pu être rapportée à la fièvre Q ? » et plus particulièrement :

- sur la probabilité d'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait par un animal sérologiquement positif et sur l'existence d'une relation entre le titre sérologique et cette probabilité d'excrétion ;
- sur la nécessité de rechercher cette excrétion ;
- sur la méthode à utiliser pour cela.

2) concernant le volet santé animale, l'Afssa est interrogée :

- sur la probabilité de transmission de l'infection à un autre cheptel en cas de manifestations cliniques ou en cas de séropositivité en tenant compte du pourcentage d'animaux séropositifs et du titre sérologique ;
- sur l'efficacité des procédés de lutte disponibles (antibiotiques et désinfectants) pour les animaux et de ceux utilisés pour l'assainissement de l'environnement ;
- sur l'intérêt comparatif des vaccins inactivés en phase I et en phase II pour limiter l'excrétion et la circulation bactérienne au sein d'un troupeau.

Pour y répondre le Directeur général de l'Afssa a décidé de créer un groupe de travail nommé « Fièvre Q », par la Décision n° 2003/056 en date du 8 janvier 2003, chargé :

1. d'évaluer, au regard de la santé publique :

- les risques de contamination présentés par le lait et les produits dérivés de brebis infectées par *Coxiella burnetii*, responsable de la fièvre Q ;
- les autres risques de contamination des populations humaines exposées par les autres modes de transmission de *Coxiella burnetii*.

2. d'étudier, dans le domaine de la santé animale :

- la probabilité de transmission à un autre cheptel de l'infection en cas de manifestations cliniques ou en cas de séropositivité (en tentant d'évaluer le risque selon le profil sérologique du troupeau : pourcentage d'animaux séropositifs, titre sérologique...) ;

¹ La note de service du 10 février 2004 a fait évoluer cette obligation. Le lait des élevages contaminés par la fièvre Q peut être traité par une pasteurisation à 72° pendant 15 secondes ou tout barème équivalent.

- l'efficacité des procédés de lutte disponibles (désinfectants, antibiotiques, mesures sanitaires...) concernant tant les animaux que l'assainissement de l'environnement ;
 - les effets comparés des vaccins inactivés en phase I et en phase II, sur l'excrétion et la circulation bactérienne au sein d'un troupeau infecté et lorsqu'ils sont utilisés à titre préventif.
3. d'établir des recommandations sur les mesures à prendre en cas de foyer animal de fièvre Q, pour limiter ou prévenir les risques, tant dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments que de la santé animale.

Le rapport rédigé par le groupe de travail comprend donc 3 parties :

- d'une part, une analyse qualitative du risque en santé publique de transmission à l'homme de la fièvre Q par les ruminants en fonction des voies d'excrétion de la bactérie ;
- d'autre part, une analyse des outils disponibles en santé animale pour réduire le risque de dissémination de la fièvre Q à l'intérieur d'un troupeau et entre troupeaux ;
- et pour finir les recommandations qui en découlent.

Le groupe de travail s'est réuni 14 fois (3/03/03, 19/03/03, 8/04/03, 1/07/03, 15/09/03, 7/10/03, 23/10/03, 02/12/03, 27/01/04, 11/02/04, 8/04/04, 13/04/04, 26/05/04 et 02/06/04) et a saisi le CES « Microbiologie » sur les conclusions à tirer des travaux anciens concernant l'efficacité de la pasteurisation à 72°C ou 74°C. Les conclusions du CES « Microbiologie » sont présentées en annexe.

Le rapport du groupe de travail sur l'évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants a été présenté au Comité d'experts spécialisé « Santé animale » lors des séances du 4 mai et du 8 juin 2004 et validé le 8 juin 2004.

1 Evaluation du risque en sante publique

1.1 Présentation de la méthode

1.1.1 Principe général de la méthode

Parmi les différentes démarches possibles pour conduire une évaluation de risques, le groupe de travail du Comité d'experts spécialisé Santé animale (CES SA) a choisi d'utiliser la méthode préconisée par l'Office international des épizooties (OIE). Elle comprend les cinq étapes suivantes :

- l'identification du danger ;
- l'appréciation de l'émission (probabilité d'émission à partir de la source) ;
- l'appréciation de l'exposition (probabilité d'exposition au danger) ;
- l'appréciation des conséquences (fréquence et gravité) ;
- l'estimation du risque (qui consiste à combiner les probabilités de fréquence d'émission et d'exposition avec les conséquences).

Une estimation du risque peut être conduite soit de manière qualitative, soit de manière quantitative. Selon la disponibilité plus ou moins grande des données, on choisit l'une ou l'autre de ces méthodes.

La méthode pour conduire une estimation qualitative du risque repose sur les mêmes bases théoriques que celles de l'évaluation quantitative du risque. Chacun des événements, parfois complexes constituant l'émission, l'exposition et les conséquences, peut lui-même être décomposé en plusieurs paramètres simples qui participent à son occurrence. La probabilité d'un événement donné peut alors s'évaluer en combinant les probabilités de ces différents paramètres de la manière indiquée dans la figure 1.

1.1.2 Appréciation de la probabilité de chaque évènement

La démarche générale d'appréciation qualitative du risque a été complétée par une aide à la rationalisation de l'estimation adaptée à partir des travaux de Zepeda-Sein [1998]. Cet auteur propose que chacun des paramètres soit analysé à l'aide de toutes les informations disponibles et qu'une estimation de la probabilité de survenue de chacun d'entre eux soit réalisée séparément pour aboutir à un niveau donné de probabilité (cinq qualificatifs pour ces probabilités : nulle, négligeable, faible, modérée ou élevée) ou dans une fourchette donnée (par exemple : négligeable à faible) :

- **Nulle** : la survenue de l'événement n'est pas possible ;
- **Négligeable** : la survenue de l'événement ne serait possible que dans des circonstances exceptionnelles ;
- **Faible** : la survenue de l'événement est peu élevée, mais possible dans certaines circonstances ;
- **Modérée** : la survenue de l'événement est nettement possible ;
- **Élevée** : la probabilité de survenue de l'événement est grande.

1.1.3 Appréciation du risque

La combinaison de probabilités de deux niveaux donnés proposée par Zepeda-Sein a été adaptée par le groupe de travail « Rage des chiroptères » du CES SA afin de tenir compte de l'imprécision de certaines données et refléter également la part de subjectivité inévitable de l'estimation des différentes probabilités retenues par le groupe. Néanmoins, le groupe Rage des chiroptères n'avait pas tenu compte du fait que la combinaison de deux probabilités conduit à une probabilité plus faible que celle de chacune des probabilités de départ ainsi que l'exemple quantitatif suivant l'illustre (par exemple $10^{-4} \times 10^{-4} = 10^{-8}$). Pour tenir compte de ce point, le croisement des qualificatifs est le suivant :

- deux probabilités de même qualificatif conduisent au qualificatif inférieur (faible x faible = négligeable) ;
- deux probabilités voisines conduisent à la fourchette inférieure de la probabilité la plus basse (faible x modérée = négligeable à faible) ;
- deux probabilités non voisines (mais non opposées) conduisent à la probabilité la plus faible (faible x élevée = faible) ;
- deux probabilités opposées conduisent à la fourchette supérieure de la probabilité la plus faible (négligeable x élevé = négligeable à faible).

```
graph TD; A([Paramètres de l'émission]) --> B[Appréciation de l'émission]; C([Paramètres de l'exposition]) --> D[Appréciation de l'exposition]; B -- combinaison --> E[Probabilité de survenue de l'infection]; D -- combinaison --> E; E -- combinaison --> F[Appréciation du risque brut]; G[Conséquences] -- combinaison --> F; H[Conséquences réduites par des mesures] -- combinaison --> I[Appréciation du risque réduit]; E -- combinaison --> I;
```

Le diagramme illustre le processus d'analyse de risque de contamination des aliments. Il commence par deux catégories de paramètres : les paramètres de l'émission (prévalence de l'agent pathogène, modalités d'excrétion) et les paramètres de l'exposition (populations exposées, voies d'exposition). Ces paramètres sont évalués séparément, puis combinés pour déterminer la probabilité de survenue de l'infection. Cette probabilité est ensuite combinée avec les conséquences (brutes et réduites) pour aboutir à l'appréciation du risque brut et du risque réduit.

La combinaison des différentes probabilités correspondant à chaque événement aboutit à la probabilité de survenue du danger. Ce dernier est donc qualifié avec les mêmes appréciations que celles utilisées précédemment (nul, négligeable, faible, modéré ou élevé), ou avec les fourchettes correspondantes. Le tableau I illustre ces principes.

	Nu	Nu à N	N	N à F	F	F à M	M	M à E	E
Nu	Nu	Nu	Nu	NuI	Nu	Nu	Nu	Nu	Nu
Nu à N	Nu	Nu à N	Nu à N	Nu à N	Nu à N	Nu à N	N	N	N
N	Nu	Nu à N	Nu à N	Nu à N	Nu à N	N	N	N	N à F
N à F	Nu	Nu à N	Nu à N	Nu à N	N	N	N	N à F	F
F	Nu	Nu à N	Nu à N	N	N	N	N à F	F	F
F à M	Nu	Nu à N	N	N	N	N à F	F	F	F
M	Nu	N	N	N	N à F	F	F	F	F à M
M à E	Nu	N	N	N à F	F	F	F	F à M	M
E	Nu	N	N à F	F	F	F	F à M	M	M

22

1.2 Identification du danger

La fièvre Q est une affection ébrilée qui a été initialement décrite par Derrick chez des employés d'abattoirs en Australie (Queensland, Brisbane) qui, ignorant sa cause, l'appela « query fever », c'est-à-dire la « fièvre à élucider » [Derrick 1937]. L'agent de la fièvre Q a été isolée par Burnet [Burnet 1937]. Simultanément aux Etats-Unis, Cox identifia une bactérie pathogène isolée à partir de tiques récoltées dans le Montana, près de Nine Mile Creek et ayant provoqué parmi le personnel du laboratoire une épidémie caractérisée par de fortes fièvres [Cox 1938]. En hommage aux découvreurs, l'agent pathogène a été nommé *Coxiella burnetii* [McDale 1990].

1.2.1 Germe responsable

La fièvre Q est une zoonose ubiquitaire due à *Coxiella burnetii*, bactérie de petite taille et pléomorphe (de 0,2 à 0,4 µm de largeur et 0,4 à 2 µm de longueur) et intracellulaire stricte. L'agent de la fièvre Q partage de nombreuses propriétés avec les Rickettsies, mais les études phylogénétiques ont montré que le genre *Coxiella* devait être exclu des *Rickettsiaceae*, et placé dans la famille des *Coxiellaceae* dans l'ordre des *Legionellales*, dans le groupe gamma des *Proteobacteria* [Bergey 2003, Stein *et al.* 1993, Weisburg *et al.* 1989, Wilson *et al.* 1989], proche des genres *Legionella*, *Francisella* et *Rickettsiella*. L'enveloppe de ces bactéries montre en général une structure caractéristique des bactéries à coloration de Gram négative, mais difficile à colorer par la technique de Gram, si bien que les colorations les plus utilisées sont celles de Gimenez, Ziehl-Neelsen modifié ou Stamp, Giemsa, Macchiavello et Koster modifié.

Le génome complet de la souche de référence Nine Mile a été séquencé en 2003 [Seshadri *et al.* 2003]. Le génome se répartit entre un chromosome et parfois un plasmide dont il n'existe que 4 à 5 copies. Le chromosome est circulaire et, selon les souches, sa taille est comprise entre 1,5 et 2,4 X 10⁶ paires de bases. Trois types de plasmides ont été décrits : QpH1, QpRS et QpDV [Minnick *et al.* 1990, Samuel *et al.* 1983, Savinelli et Mallavia 1990, Lautenschlager *et al.* 2000]. Ces plasmides diffèrent par leur taille et ont des séquences communes conservées qui seraient également retrouvées sur le chromosome des souches ne possédant pas de plasmide.

La multiplication de *Coxiella burnetii* n'a lieu qu'en condition intracellulaire. Le réservoir animal est principalement constitué par les ruminants, mais la plupart des mammifères (en particulier lors des mises bas), les oiseaux et certains arthropodes (tiques) peuvent excréter la bactérie. Chez l'hôte, les principales cellules cibles des *Coxiella* lors d'une infection sont les monocytes et les macrophages. Les méthodes d'isolement et de culture des *Coxiella* les plus couramment employées sont l'infection d'œufs embryonnés ou de cellules en cultures (lignées macrophagiques comme les cellules P388D1 et J774, lignées fibroblastiques comme les cellules L929 ou HEL...). Les animaux de laboratoire sont aussi employés pour mettre en évidence et dénombrer l'agent de la fièvre Q. L'inoculation intrapéritoneale de *Coxiella burnetii* chez la souris est caractérisée par une splénomégalie.

1.2.1.1 Variations antigéniques et pouvoir infectieux de la bactérie

Coxiella burnetii présente une variation antigénique similaire aux variations « smooth-rough » (lisse-rugueuse) observées au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette variation de phase est liée à des modifications du lipopolysaccharide de surface (LPS). La phase I est la phase naturelle, retrouvée chez l'homme et l'animal infecté (y compris chez les arthropodes). Elle possède un LPS complet. La bactérie en phase I correspond à la phase « smooth ». La phase II, moins virulente et moins contagieuse, n'est obtenue qu'au laboratoire après passages en cultures cellulaires ou sur œufs embryonnés (c'est-à-dire sur des systèmes vivants non immunocompétents). La phase II, correspondant à la phase « rough », présente un LPS incomplet, une perte de certaines protéines de la membrane externe, et pourrait s'accompagner d'une importante délétion chromosomique [Thompson *et al.* 2003, Vodkin et Williams 1986].

In vivo, les bactéries en phase II sont sensibles à l'action du complément et sont rapidement éliminées par les macrophages alors que les bactéries en phase I survivent à l'action bactéricide de ceux-ci. Chez l'homme ou toute autre espèce de mammifère infecté, la réponse en anticorps est généralement plus précoce et plus élevée vis-à-vis d'un antigène constitué par des bactéries en phase II. En revanche, le pouvoir protecteur des anticorps anti-phase I est nettement plus élevé que celui des anticorps anti-phase II. L'existence ou le rôle de cette variation de phase chez l'hôte restent à préciser.

Coxiella burnetii en phase I est extrêmement infectieuse par voie aérienne comparativement aux autres agents connus [Hackstadt 1996, Tigertt *et al.* 1961]. Par ailleurs, moins de cinq bactéries en phase I suffisent à provoquer une infection chez le cobaye ou la souris par voie intra-péritonéale, sur

œuf embryonné et sur culture cellulaire [Ormsbee *et al.* 1978]. L'administration intra-péritonéale d'un inoculum contenant quatre bactéries a provoqué chez le cobaye une séroconversion, une hyperthermie, et la présence de bactéries dans la rate trente jours plus tard [Moos et Hackstadt 1987].

Toutefois, c'est sa capacité de dissémination et non pas son pouvoir pathogène, au demeurant relativement peu prononcé pour l'homme, qui l'a fait classer parmi des dix agents potentiels pour l'élaboration d'armes biologiques [Center for Disease Control, 2000].

1.2.1.2 Vie intracellulaire

Le cycle de multiplication de *Coxiella burnetii* comprend une division cellulaire binaire transversale ainsi qu'une phase de sporulation. *Coxiella burnetii* existe dans la cellule hôte sous trois formes morphologiquement et métaboliquement distinctes : une grosse forme appelée LCV (pour « Large Cell Variant »), métaboliquement active et contenant peu de LPS (« lipopolysaccharide de surface »), et une petite forme SCV (pour « Small Cell Variant »), métaboliquement peu active, plus dense aux électrons et résistante dans le milieu extérieur [Melnickova *et al.* 2003]. Les SDC (« Small Dense Cell ») seraient plus petites que les SCV et pourraient être assimilées à des pseudo-spores qui diffèrent des spores produites par les bactéries à coloration de Gram positive (absence d'acide dipicolinique et d'une enveloppe riche en cystéine et présence d'une protéine « histone-like » compactant l'ADN) [McCaul *et al.* 1991].

Au cours de leur multiplication, les LCV semblent capables de présenter un phénomène proche de celui de la sporulation car il est parfois possible d'observer la présence d'un septum qui partage le cytoplasme de la cellule en deux compartiments de taille inégale, dont chacun renferme un matériel nucléaire complet. Le petit compartiment cellulaire donnerait naissance à une endospore située à une extrémité du LCV [McCaul et Williams 1981, Norlander 2000]. Ces pseudo-spores ont été décrites à l'intérieur des LCV, mais aussi détectées dans des valves cardiaques infectées par *Coxiella burnetii* [McCaul *et al.* 1994]. Les amibes (*Acanthamoeba castellanii*) pourraient également représenter une niche intracellulaire pour la formation des pseudo-spores et la survie de *Coxiella burnetii* dans l'environnement [La Scola et Raoult, 2001].

Le développement ultérieur conduirait à un SCV qui serait libéré lors de la lyse des LCV ou d'une division cellulaire asymétrique. Les mécanismes de transformation des SDC en SCV ne sont, à ce jour, pas encore connus. L'existence d'un cycle de sporulation est confortée par la présence dans le génome de la souche Nine Mile d'une séquence de 1741 paires de bases présentant de fortes homologies avec le gène *spoIIIE* impliqué dans la sporulation de *Bacillus subtilis* [Oswald et Thiele, 1993].

La sporulation n'est toutefois pas admise par tous les auteurs et il est possible que les LCV puissent donner des SCV par condensation sans passer par l'intermédiaire d'un SDC.

Les LCV et SCV sont toutes les deux infectieuses [Wiebe *et al.* 1972], cependant l'absence de résistance des LCV aux chocs osmotiques suggère que seules les SCV puissent survivre dans le milieu extra-cellulaire et jouer un rôle dans la transmission. En revanche, ils semblent que les LCV soient responsables de la dissémination de la bactérie au sein d'un organisme infecté. Ces deux variants se différencient aussi par leurs protéines, notamment par celles de la membrane externe. Par exemple, la protéine P1 de 29 kDa est abondante dans les LCV et pratiquement absente chez les SCV alors que l'inverse est observé avec la protéine OMP34 (« Outer membrane Protein » de 34 kD).

Le cycle de multiplication de *Coxiella burnetii* dans la cellule eucaryote commence par l'attachement puis la pénétration des SCV dans la cellule qui fait appel à des récepteurs différents selon la phase antigénique. Ces différences de comportement entre *Coxiella burnetii* en phase I et *Coxiella burnetii* en phase II permettent d'expliquer que seules les bactéries en phase I sont infectieuses.

Coxiella burnetii en phase II se fixe sur le récepteurs CR3 (récepteur pour le fragment iC3b du système complémentaire). La bactérie pénètre facilement dans la cellule mais elle est rapidement détruite par le système phago-lysosomal [Mege *et al.* 1997].

A l'inverse, la forme infectante de la bactérie (phase I) bloque le récepteur CR3 et utilise des récepteurs apparentés aux intégrines, le complexe LRI (leukocyte response integrin, $\alpha\text{v}\beta 3$) – IAP (integrin-associated proteins) [Mege 1997]. La bactérie en phase I induit la réorganisation des filaments d'actine et la formation de pseudopodes, comme les *Salmonella*, pour pénétrer dans les macrophages par phagocytose [Honstetter *et al.* 2004]. Par cette voie, les CR3 sont localisés en dehors de ces pseudopodes alors que les intégrines $\alpha\text{v}\beta 3$ y sont présentes. La bactérie est alors faiblement internalisée dans la cellule, mais elle est capable d'y survivre et de s'y multiplier [Mege *et al.* 1997, Capo *et al.* 2003].

Après pénétration, les SCV, sont localisées dans des phagosomes qui s'acidifient notamment grâce à l'acquisition d'une V-H⁺-ATPase [Ghigo *et al.* 2002]. Ils produiraient des facteurs capables de bloquer la fusion du phagosome avec les lysosomes et, activés par le milieu acide du phagosome (pH 5,5), se transforment alors en LCV. Puis dans les macrophages, le phagosome fusionne avec des lysosomes pour former un phagolysosome, alors que cette fusion serait inhibée par les bactéries virulentes dans les monocytes [Howe *et al.* 2002]. Les différents phagolysosomes fusionnent ensuite en une vacuole unique grâce à la synthèse de protéines de *Coxiella burnetii* encore inconnues [Hackstadt et Williams 1981, Howe *et al.* 2003]. A la fin du cycle, les LCV se condensent en SCV ou initient une sporogénèse aboutissant à la formation de SDC [McCaul et Williams 1981, Mc Caul 1991]. *Coxiella burnetii* s'est adaptée pour survivre dans le phagolysosome des cellules eucaryotes [Hackstadt et Williams 1981] et avoir un métabolisme optimal dans un milieu acide (pH compris entre 4,7 et 5,2) [Akporiaye *et al.* 1983, Maurin *et al.* 1992b]. La nécessité d'un milieu acide, également observée pour des formes amastigotes de *Leishmania sp.*, n'a été décrite que chez deux espèces bactériennes, *Coxiella burnetii* et *Francisella tularensis*.

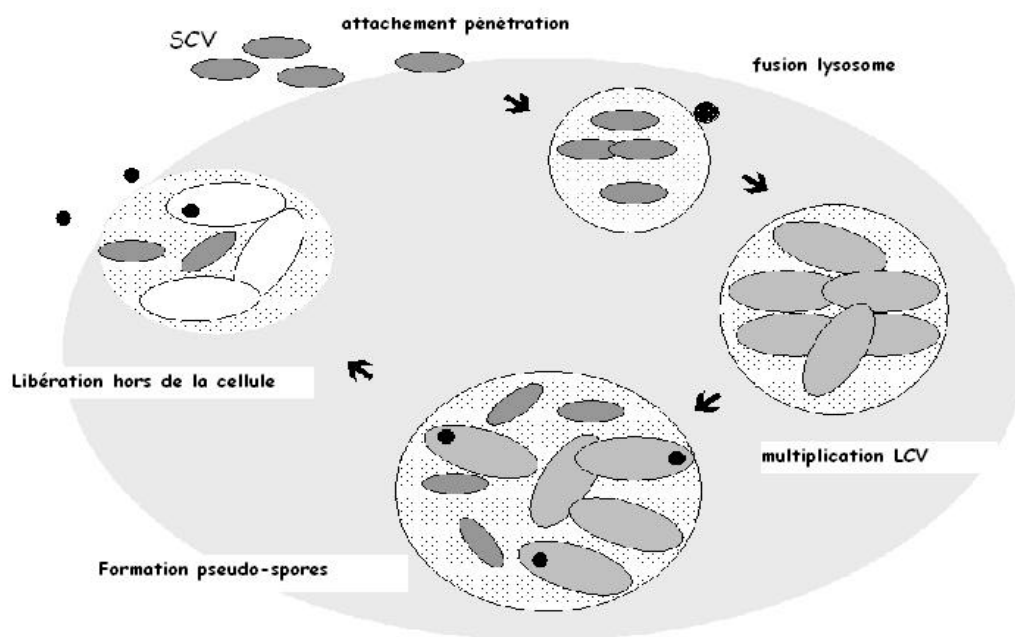


Figure 2 : Cycle de multiplication de *Coxiella burnetii*

1.2.2 Maladie animale

1.2.2.1 Signes cliniques chez les ruminants domestiques

Chez les ruminants, comme chez l'homme, la voie de pénétration de *Coxiella burnetii* semble être essentiellement la voie respiratoire. Les premières cibles de la bactérie au cours de l'infection sont le plus souvent les macrophages alvéolaires et les cellules de Küpfer. La bactérie a été effectivement retrouvée dans ces macrophages, dans les monocytes et dans les macrophages de nombreux autres organes (rate, ganglions lymphatiques, moelle osseuse, pancréas, cœur, ...) [Baumgartner *et al.* 1993]. Cependant chez les ruminants, on n'a décrit que très rarement des infections pulmonaires ou cardiaques en dehors de l'infection expérimentale de douze génisses par inoculation intradermique de *Coxiella burnetii* qui a provoqué chez celles-ci une pneumonie [Plommet *et al.* 1973]. L'une de ces génisses est morte trois mois après l'inoculation, d'une défaillance cardiaque et l'examen histologique a révélé des zones de dégénérescence et de sclérose du myocarde. De plus, à ce moment là, deux des onze autres génisses ont présenté un électrocardiogramme au tracé aplati qui traduit généralement l'existence d'adhérences cardiopéricardiques ou d'exsudations péricardiques. A l'abattage, dix sept mois après l'inoculation deux vaches présentaient des lésions vasculaires et une autre présentait une sclérose généralisée au poumon gauche.

L'infection chez les ovins et les caprins peut provoquer des avortements en fin de gestation, des mises bas prématurées ou des naissances d'animaux chétifs ou mort-nés [Palmer *et al.* 1983,

Waldham *et al.* 1978]. Celle des bovins peut être responsable de métrites [Tainturier 1987], d'avortements, peut donner des veaux avec des petits poids de naissance ou une infertilité ainsi que des pneumonies [Ho *et al.* 1995, Plommet *et al.* 1973, Schmeer *et al.* 1987, Wittenbrink *et al.* 1994].

Majoritairement, les bovins, ovins et caprins infectés par *Coxiella burnetii* présentent une infection inapparente, avec ou sans réponse sérologique et peuvent excréter la bactérie. Les connaissances sur les voies d'excrétion de la bactérie sont limitées et souvent anciennes. Certaines précisions sur les différentes voies n'ont été révélées que depuis l'apparition des techniques moléculaires par PCR. D'abord mises en œuvre pour le diagnostic chez les patients, ces dernières sont employées depuis peu pour des recherches sur des prélèvements d'origine animale. D'une manière générale, la charge bactérienne est élevée dans le placenta, les produits de mise-bas et les sécrétions vaginales, moindre dans le lait, et peu connue dans les fèces, les urines et le sperme (*cf.* 1.3.2).

1.2.2.2 Persistance de la bactérie chez les animaux infectés

Peu d'études expérimentales chez les ruminants portent sur la persistance de la bactérie. Chez la souris et le cobaye l'inoculation de *Coxiella burnetii* entraîne l'accumulation d'un grand nombre de bactéries dans le foie et la rate au début de l'infection, suivie d'une clairance des bactéries qui persistent cependant dans les reins et les organes génitaux pendant plus de six mois [Kazar et Kovacova 1983]. L'infection est réactivée par la gestation entraînant la mise bas successive de portées réduites. Chez les ruminants, les femelles sont préférentiellement affectées car la multiplication du micro-organisme, réactivée au cours de la gestation, entraîne la colonisation bactérienne du placenta [Baca et Paretsky 1983, Luoto et Huebner 1950, Plommet *et al.* 1973, Welsh *et al.* 1957]. L'excrétion peut persister longtemps à partir de l'utérus et des sécrétions vaginales après l'avortement ou la mise bas : au moins 70 jours chez la brebis [Berri *et al.* 2001] et au moins 110 jours chez la vache [Rodolakis, résultats non publiés]. En revanche, il ne semble pas que chez les ruminants *Coxiella burnetii* perturbe plusieurs gestations successives comme chez la femme et la souris. Les femelles n'avorteraient qu'une fois et n'excrèteraient que très exceptionnellement lors de plusieurs mises bas [Berri *et al.* 2002]. Les glandes mammaires et les ganglions rétro-mammaires constituent surtout le site de l'infection chronique [Behymer *et al.* 1977, Bell *et al.* 1949, Moretti 1984]. Chez les vaches par exemple, *Coxiella burnetii* peut être retrouvée au moins jusqu'à vingt mois après l'infection dans différents organes et notamment dans les ganglions, y compris les ganglions rétro-mammaires [Plommet *et al.* 1973].

1.2.2.3 Transmission de l'infection entre troupeaux

La diffusion aérienne de *Coxiella burnetii* au moment de l'avortement ou de la mise bas joue un rôle majeur dans la contamination des animaux et la transmission de l'infection entre troupeaux, d'autant plus que cette contamination peut être différée dans le temps. *Coxiella burnetii* résistant à la chaleur et à la dessiccation, peut survivre 150 jours dans le sol [Welsh *et al.* 1957]. Un placenta infecté abandonné dans un pré, du fumier ou du lisier contaminés épandus dans un champ peuvent infecter des troupeaux à plusieurs kilomètres de distance.

La transmission par les tiques est également possible. Si la voie respiratoire est la principale voie de pénétration, la contamination par voie oculaire, qui joue un rôle important en brucellose et en chlamydiose, n'est pas évoquée pour la fièvre Q. A notre connaissance, la contamination par ingestion de placenta contaminé par *Coxiella burnetii* n'a pas non plus été étudiée, mais elle n'est pas considérée comme une voie importante car la souris a été trouvée 10 000 fois moins sensible par cette voie que par la voie intrapéritonéale [Durand 1993]. Cette opinion mérite d'être nuancée : on sait qu'un placenta infecté contient un très grand nombre de *Coxiella*, estimé à 10^9 *Coxiella* par gramme [Babudieri 1959] et il est classiquement admis que leur consommation peut contaminer les chats et les chiens [Maurin et Raoult 1999]. Il serait donc nécessaire d'explorer le rôle de cette voie de transmission de l'infection à l'intérieur d'un troupeau.

Pour prévenir la transmission de l'infection d'un troupeau à l'autre, il est donc indispensable d'identifier les animaux et troupeaux qui excrètent massivement *Coxiella burnetii* dans les placentas, les sécrétions vaginales et les fèces.

1.2.2.4 Outils de diagnostic en médecine vétérinaire

Plusieurs outils sont disponibles pour le diagnostic direct et indirect de la fièvre Q et ciblent généralement les ruminants. Ils sont employés fréquemment à l'issue d'un épisode abortif dans un troupeau. Dans ce cas, il est recommandé d'avoir recours à un diagnostic de groupe et de rechercher simultanément d'autres agents abortifs (*Brucella*, *Chlamydomphila abortus*, *Toxoplasma*, *Salmonella*,...) [Sanchis *et al.* 1997]. De plus en plus, l'importance de la fièvre Q comme zoonose conduit au

développement de nouveaux outils pour rechercher une source de contamination, évaluer les zones ou périodes à risque et mieux appréhender l'épidémiologie [Rousset *et al.* 2004].

Outils sérologiques

FC et ELISA

En sérologie, la fixation du complément (FC) reste la technique de référence de l'OIE [Herr *et al.* 1985, Peter *et al.* 1985]. Sa standardisation a été proposée à l'échelle française dans le cadre du programme COFRAC 109 (norme AFNOR NFU47-006). Des essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) en fièvre Q ont été mis en place pour la fixation du complément, selon des techniques référencées AFNOR. L'ELISA, mise sur le marché plus récemment, est de plus en plus utilisée [Kovacova *et al.* 1987, Peter 1988, Uhaa *et al.* 1994, Waag *et al.* 1995, Williams *et al.* 1986].

A l'image de la sérologie en médecine humaine, il serait utile de disposer d'une technique sérologique performante permettant de distinguer chez l'animal les titres anticorps anti-phase I et anti-phase II.

L'ELISA disponible en France permet la détection des anticorps totaux (anti-phases I et II) de *Coxiella burnetii*, alors que la FC emploie un antigène préparé en phase II.

IFI et autres techniques

Le recours à l'immunofluorescence indirecte (IFI) est plus exceptionnel [Boni *et al.* 1998, Hatchette *et al.* 2002, Martinov *et al.* 1989, Meskini *et al.* 1995, Muramatsu *et al.* 1997, To *et al.* 1998].

D'autres techniques de sérologie ont été délaissées : la microagglutination [Fiset *et al.* 1969, Kazar *et al.* 1981, Nguyen *et al.* 1996], le Radio-Immuno-Assay (RIA) [Doller *et al.* 1984], l'hémolyse indirecte [Tokarevich *et al.* 1990], l'Enzyme-Linked- Immunosorbent Fluorescence Assay (ELIFA) [Schmeer *et al.* 1988], le Dot Blot et le Western Blot [Blondeau *et al.* 1990b, Willems *et al.* 1992].

Dans la pratique courante du diagnostic de fièvre Q, il est souhaitable que l'ELISA, plus sensible et plus spécifique que la FC, soit utilisée préférentiellement à la FC.

Outils bactériologiques

Coloration bactérienne

La technique la plus employée est la coloration sur frottis ou calques à partir de cotylédons placentaires, d'organes d'avorton ou de prélèvements vaginaux. Les colorations permettant de mettre en évidence *Coxiella burnetii* en microscopie sont : Stamp, Ziehl-Neelsen modifié, Gimenez, Giemsa et Koster modifié. Le Stamp est le plus communément utilisé en France [Gimenez 1964, Quinn *et al.* 1994, Russo *et al.* 1997].

Détection bactérienne

En diagnostic direct, la technique d'immunofluorescence peut être aussi pratiquée [Brouqui *et al.* 1994]. Elle utilise des anticorps spécifiques de toutes les souches de *Coxiella burnetii*. Cette technique n'est pas envisagée pour un diagnostic de routine, du fait de l'absence de commercialisation de ces anticorps. Des techniques d'ELISA-capture ont été également mises au point [Thiele *et al.* 1992], notamment pour détecter *Coxiella burnetii* directement dans le lait avec une sensibilité de 4000 bactéries/mL [Dackau 1993], mais n'ont pas été employées par la suite.

Détection de l'ADN bactérien

Plus récemment, l'amplification génomique de l'ADN de *Coxiella burnetii* par PCR a permis de mettre en évidence l'ADN des bactéries directement dans le prélèvement et est considérée aujourd'hui comme une approche prometteuse. Cette technique peut être adaptée à une grande diversité de nature de prélèvements [Berri *et al.* 2000]. Elle est sensible, rapide et requiert un équipement de plus en plus répandu dans les laboratoires de diagnostic en France.

Quantification bactérienne

L'éventail des méthodes utilisées dans les modèles animaux pour définir l'*inoculum* et l'expression des résultats obtenus rend compte de la difficulté rencontrée par le passé pour dénombrer *Coxiella burnetii* de façon fiable (comptage direct des bactéries à l'acridine orange, détermination des doses infectieuses médianes pour l'œuf, EID50%, le cobaye, la souris). La meilleure technique pour compter *Coxiella burnetii* est celle qui consiste à faire des dilutions de l'*inoculum* puis à ensemercer ces dilutions sur les tapis cellulaires des tubes bijoux [Raoult *et al.* 1991]. La lecture se fait ensuite par dénombrement des vacuoles après mise en évidence des bactéries par une technique d'immunofluorescence.

Des techniques de PCR en temps réel sont en cours de développement [Brennan et Samuel 2003, Harris *et al.* 2000 ;], notamment pour quantifier *Coxiella burnetii* dans des prélèvements tels que le lait [Stemmler et Meyer 2002].

Isolement de souches

L'isolement de la souche bactérienne à partir de prélèvements peut être également pratiqué. Il existe trois modes de culture pour ces bactéries intracellulaires : sur animal (cobaye, souris), sur œuf embryonné ou sur culture cellulaire en tubes bijoux [Ormsbee 1952, Perrin et Bengtson 1942, Williams *et al.* 1986a, Raoult *et al.* 1990]. Néanmoins, ces techniques sont lourdes et donnent une réponse tardive. Des précautions du niveau de sécurité microbiologique 3 (NSB3) sont requises pour protéger le manipulateur et l'environnement, lors de l'isolement, la culture d'une souche, et pour la manipulation de prélèvements contaminés (particulièrement les placentas pouvant être très riches en *Coxiella burnetii*). La technique présentant le moins de risque pour le manipulateur est la culture cellulaire en tube bijoux [Raoult *et al.* 1990], mais elle s'accommode mal de prélèvements possédant une flore compétitrice importante (fromages, fumiers...). L'animal de laboratoire reste utile dans ces cas. De nombreux isolats ont été obtenus, mais le plus souvent dans le cadre d'activités de recherche. Le CNR dispose de la plus importante souchothèque mondiale de *Coxiella burnetii*, soit 114 souches d'origine humaine et quelques souches animales.

Typage bactérien

Le typage bactérien est encore au stade de la recherche d'un outil performant. Certains anticorps monoclonaux permettent de distinguer des isolats [Sekeyova *et al.* 1996, Wen *et al.* 1991], ou des stades de développement de la bactérie [Seshadri *et al.* 1999].

De nombreuses tentatives ont été menées pour trouver des marqueurs et stratégies moléculaires pour différencier les souches de *Coxiella burnetii*. L'analyse par séquençage ou PCR-RFLP de gènes susceptibles de présenter un fort taux de variabilité a donné des résultats encourageants [Sekeyova *et al.* 1999, Zhang *et al.* 1997]. L'autre approche de génotypage est l'analyse de la totalité du chromosome, restriction et séparation des fragments d'ADN par électrophorèse en champ pulsé (PFGE) puis la comparaison des profils obtenus. Des variations génomiques ont été caractérisées par cette méthode, et ont permis de caractériser des isolats proches originaires des mêmes aires géographiques [Heinzen *et al.* 1990, Jäger *et al.* 1998, Thiele *et al.* 1993, Vodkin *et al.* 1986]. En revanche, aucun génotype n'a été associé ni à une forme aiguë ou chronique de la maladie, ni à une forme clinique particulière, ni à une espèce hôte donnée.

Interprétation

En sérologie

Les différences méthodologiques seront soulevées plus loin. De plus, la FC est reconnue comme moins sensible et moins spécifique que l'ELISA.

Différentes comparaisons des techniques ont montré l'influence importante de l'antigène (souche, préparation) et des types d'anticorps pouvant être détectés (classes d'immunoglobulines, anticorps fixant le complément ou non) sur le résultat sérologique [Peter *et al.* 1985, Worswick et Marmion 1985].

Les réactions croisées peuvent être aussi à l'origine des difficultés d'interprétation des tests sérologiques, varient selon la technique. Les principales réactions croisées avec *Coxiella burnetii* concernent *Legionella pneumophila* [Dyer *et al.* 1988, Finidori *et al.* 1992], *Legionella micdadei* [Dobija-Domaradzki *et al.* 1984, Musso *et al.* 1997], *Bartonella quintana* et *Bartonella henselae* [La Scola *et al.* 1996]. Elles peuvent avoir une influence sur le résultat, notamment dans les titres bas.

Globalement, la sérologie présente de grandes difficultés d'interprétation car la réponse sérologique au niveau individuel n'est pas significative. Ces difficultés sont surtout liées au manque de connaissance de la réponse sérologique en fonction de la voie d'infection, de la dose et des facteurs relatifs à l'hôte tels que le stade de gestation, l'âge et l'espèce (délai d'incubation, cinétique et persistance des anticorps...). Aucune corrélation avec l'excrétion bactérienne n'a pu être montrée à ce jour : un animal séropositif n'est pas forcément excréteur, et certains animaux sont excréteurs alors que le niveau d'anticorps anti-*Coxiella burnetii* dans leur sérum est faible [Adesiyun *et al.* 1985, Berri *et al.* 2001, Muramatsu *et al.* 1997]. En revanche, un troupeau dont tous les animaux seraient séro-négatifs ne peut pas être excréteur et peut être considéré comme non infecté.

Ainsi, les seuils n'ont pas été évalués pour distinguer une infection récente ou ancienne, latente ou clinique ou encore distinguer les anticorps vaccinaux des anticorps infectieux. A l'échelle du troupeau, une séroprévalence élevée et une forte proportion de titres élevés a été associée aux troupeaux affectés par des avortements à fièvre Q, mais les études manquent de groupes contrôle ou ont un échantillonnage trop restreint pour le démontrer clairement [Sanford *et al.* 1994].

Avec les outils sérologiques actuellement disponibles, la seule affirmation possible est qu'un troupeau entièrement négatif ne peut pas être excréteur au moment de l'enquête. Dans les autres cas, il n'est pas possible d'évaluer un risque d'excrétion ou de transmission à un autre cheptel avec le seul outil sérologique.

En bactériologie

Pour la mise en évidence de *Coxiella burnetii*, la technique de coloration, qui a l'avantage d'être rapide, est cependant seulement présomptive. Elle manque de spécificité, *Coxiella burnetii* peut être confondue avec *Brucella* ou *Chlamydophila*. Sa sensibilité est faible et reste liée à la qualité des prélèvements. Il serait intéressant de recourir à l'immunofluorescence, nettement plus spécifique et sensible, et qui a l'avantage de permettre une évaluation des lésions histologiques mais il n'y a pas de réactifs standardisés.

Les techniques d'amplification génomique par PCR sont également utilisables et peuvent confirmer un diagnostic direct. Elles sont clairement plus sensibles et plus rapides que l'isolement, et sont aussi plus précoces que la réponse sérologique dans la phase aiguë de l'infection [To *et al.* 1996]. Néanmoins, la sensibilité de la méthode de PCR n'est pas déterminée, en raison des difficultés à dénombrer *Coxiella burnetii*. A l'INRA, la technique PCR mise en place, ciblant le gène codant pour une transposase de *Coxiella burnetii*, permettrait de détecter de l'ordre de 500 bactéries par ml de lait [A. Rodolakis, résultats non publiés].

En général, ces techniques PCR promettent une plus grande sensibilité que les techniques d'observation directe et permettent également la détection de portions du génome bactérien directement dans le prélèvement sans faire appel à la culture. Elles sont donc apparues comme des méthodes de choix pour détecter *Coxiella burnetii* dans le lait, les sécrétions vaginales, voire les fèces, les tiques et les poussières [Berri *et al.* 2000, Spitalska et Kocianova 2003, Yanase *et al.* 1998]. Un premier kit PCR contenant un témoin interne permettant de détecter la présence d'inhibiteurs, et donc d'éviter les résultats faussement négatifs, testé sur plus de 20 souches de ruminants et éprouvé sur le terrain, sur 1500 prélèvements de lait, 600 écouvillons vaginaux et autant de fèces est disponible. La spécificité de l'amplification vis-à-vis d'une dizaine de germes abortifs bactériens a été vérifiée, cependant les conditions d'utilisation doivent être très rigoureuses, pour éviter les réactions faussement positives dues aux amplifiats générés au laboratoire [A. Rodolakis, résultats non publiés].

Enfin, le problème majeur relatif aux techniques de détection moléculaire par PCR conventionnelle est que la technique détecte aussi bien l'ADN des bactéries mortes que l'ADN des bactéries vivantes. Pour des bactéries comme *Listeria*, la détection des bactéries vivantes peut être réalisée facilement par enrichissement bactérien, ce qui n'est pas le cas de *Coxiella burnetii*. Un des moyens de contourner ce problème des bactéries mortes sera l'utilisation de techniques de biologie moléculaire basée sur la détection de l'ARN messager, qui est en grand nombre de copies et qui est présent uniquement dans les bactéries vivantes.

Toutefois, pour l'usage de cette technique PCR, il importe de distinguer les prélèvements qui ont une bonne valeur diagnostique de ceux d'interprétation difficile. Les prélèvements provenant directement de l'animal et réalisés en conditions techniques les plus stériles possibles (sécrétion vaginale, fèces, lait) ont une bonne valeur diagnostique. En effet, la détection de l'ADN de *Coxiella burnetii* indique l'origine animale dans la mesure où cette bactérie se multiplie exclusivement à l'intérieur des cellules d'un hôte. En revanche, les prélèvements réalisés dans le lait de mélange sont d'interprétation délicate, car il est difficile d'assurer que ce prélèvement n'ait pas été contaminé par l'environnement. Compte tenu de la limite de détection et de l'échantillonnage, il est possible que la PCR ne détecte cette contamination externe que si l'environnement est fortement contaminé.

Même si la technique PCR est de plus en plus mise en place ces dernières années dans les laboratoires de diagnostic, avant tout pour la recherche de *Coxiella burnetii* dans le lait, le recul sur la valeur de cet outil est encore insuffisant. Ainsi, pour confirmer la circulation de l'agent dans un cheptel, la présence d'anticorps spécifiques à *Coxiella burnetii* devra être également mise en évidence.

La limite de l'interprétation est donc la même que pour la sérologie. Aucune conclusion ne peut être tirée des résultats obtenus par une technique isolée et sur un nombre trop restreint d'animaux.

Applications

Différentes applications doivent être considérées :

- le diagnostic clinique en cas d'avortements :

Sur le terrain, la sérologie est souvent le seul examen pratiqué pour le diagnostic des agents abortifs chez les ruminants. Les techniques sérologiques FC, ELISA sont commercialisées pour le diagnostic d'avortement chez les ruminants. Le diagnostic de groupe permet de suspecter un diagnostic d'avortement à fièvre Q.

Le résultat reste suggestif tant qu'il n'a pas été couplé à la recherche de l'agent infectieux. La démarche est différentielle, elle consiste à rechercher plusieurs agents abortifs.

- le dépistage de l'infection animale :

La technique à privilégier est la sérologie ELISA (technique plus spécifique et permettant de traiter rapidement une grande série de sérums [Behymer *et al.* 1985] associée à une recherche par PCR dans les écouillons vaginaux ou dans le lait en cas de résultats positifs.

Conclusion sur les outils de diagnostic en médecine vétérinaire

Les techniques de diagnostic de la fièvre Q doivent être multiples et ne peuvent être valablement interprétées qu'à l'échelle d'un troupeau.

Un résultat sérologique positif sur un animal indique que celui-ci a été en contact avec l'agent de la fièvre Q, mais les techniques sérologiques actuelles ne permettent pas de conclure à une infection récente, latente ou sur l'excrétion.

Pour un troupeau, il est encore difficile de rechercher s'il est excréteur ou risque de l'être sans mettre en place un protocole lourd en multipliant les prélèvements sur un nombre suffisant d'animaux et de manière suivie dans le temps. En revanche, un troupeau dont tous les animaux seraient séro-négatifs ne peut pas être excréteur et peut même être considéré comme non infecté.

Compte tenu des limites des outils de diagnostic et du grand nombre de facteurs impliqués dans la transmission, il est actuellement impossible de prévoir le scénario de transmission entre troupeaux qui sera prédominant. Le groupe de travail n'a donc pas pu se prononcer sur la probabilité de contamination d'un cheptel à partir d'un cheptel séropositif.

1.2.3 Maladie humaine

La grande particularité de la fièvre Q est la variabilité de son expression clinique qui est à l'origine de la difficulté du diagnostic. L'histoire naturelle de la maladie commence par un contact entre un individu non immun et *Coxiella burnetii*. On estime [Raoult *et al.* 2000] que la primo-infection qui survient alors peut être asymptomatique (chez 60% des patients) ou symptomatique (40% d'entre eux) prenant alors la forme d'une fièvre Q aiguë. L'expression clinique la plus fréquente de la fièvre Q aiguë est un syndrome pseudo-grippal, spontanément résolutif. Cependant, parmi les infections symptomatiques de cas de fièvre Q aiguë, 4% ont nécessité une hospitalisation du fait de leur gravité [Dupuis *et al.* 1985] (Figure 3). La symptomatologie est alors variable prenant la forme d'hépatites, de pneumopathies ou de méningo-encéphalites principalement.

Chez certains sujets, *Coxiella burnetii* est capable de se multiplier malgré la réponse déclenchée par la primo-infection, que celle-ci soit symptomatique ou non. Lorsque le système immunitaire est incapable de contrôler l'infection, une forme chronique se développe. Cette théorie est confortée par toutes les études, aussi bien chez l'homme que chez la souris [Maurin et Raoult 1999].

Les formes chroniques surviennent chez certains sujets présentant des facteurs aggravants. Ces patients sont :

- les patients atteints de valvulopathies cardiaques ;
- les immunodéprimés par un traitement ou par une pathologie chronique (patients atteints d'un cancer, patients infectés par le VIH) ;
- les femmes enceintes.

Ces données ont été établies à partir d'enquêtes réalisées par de nombreux auteurs et notamment les chercheurs du CNR de Marseille. A titre d'exemple on peut rapporter les résultats suivants :

- la séroprévalence chez 924 donneurs de sang de Marseille, (18 – 65 ans, non malades), était de 4,03% (38 / 924), avec un titre seuil de 25 en IgG phase II [Tissot Dupont 1992] ;
- ces données étaient cohérentes avec d'autres enquêtes menées précédemment en France : 5% dans le sud de la France et 4,4% en Bourgogne. La persistance des anticorps au taux seuil de 25 est d'une dizaine d'années. Si on rapporte cette séroprévalence à la population des 18-65 ans à Marseille, soit 500 000 personnes, le nombre de nouvelles infections annuelles à Marseille peut être estimé autour de 2 000 ;
- par ailleurs, une vingtaine de cas hospitalisés à Marseille sont diagnostiqués chaque année au CNR (Rapports annuels d'activité), ce qui donne une estimation plus basse de 1000 infections par an que la zone d'attraction du CHU de Marseille ;
- en moyenne sur les cinq dernières années, 170 cas annuels sont diagnostiqués au CNR, en provenance de la plupart des CHU de France et de nombreux CHG, donc chez des patients hospitalisés. Cette incidence, largement sous estimée car de nombreux cas ne sont pas diagnostiqués au CNR, représente donc 8500 infections annuelles en France, soit un taux annuel d'incidence de l'infection à *Coxiella burnetii* de 0,14 pour 1 000 ;
- l'enquête menée chez 12 716 femmes enceintes de la région PACA entre mars et mai 1996 et chez 1 834 femmes enceintes de Martigues (Bouches-du-Rhône) sur un an [Rey *et al.*, 2000] retrouvait des séroprévalences (au taux seuil de 400 en IgG phase II correspondant à des infections de moins d'un an) respectivement de 0,8 pour 1 000 et 1,3 pour 1 000.

Même si la prévalence de la fièvre Q en France n'est pas connue avec précision, car les examens nécessaires à son diagnostic ne sont pas pratiqués systématiquement, ces données permettent d'approcher une estimation de l'incidence annuelle de l'infection entre 0,1 pour 1 000 et 1 pour 1 000, ce qui confirme le chiffre publié de 0,5 pour 1 000 [Maurin et Raoult 1999, Tissot-Dupont *et al.* 1992]. Dans cette hypothèse, le nombre annuel d'infections en France serait compris entre 6 000 et 60 000 cas, soit de 2 400 à 24 000 cas symptomatiques et de 120 à 1 200 hospitalisations [Raoult *et al.* 2000].

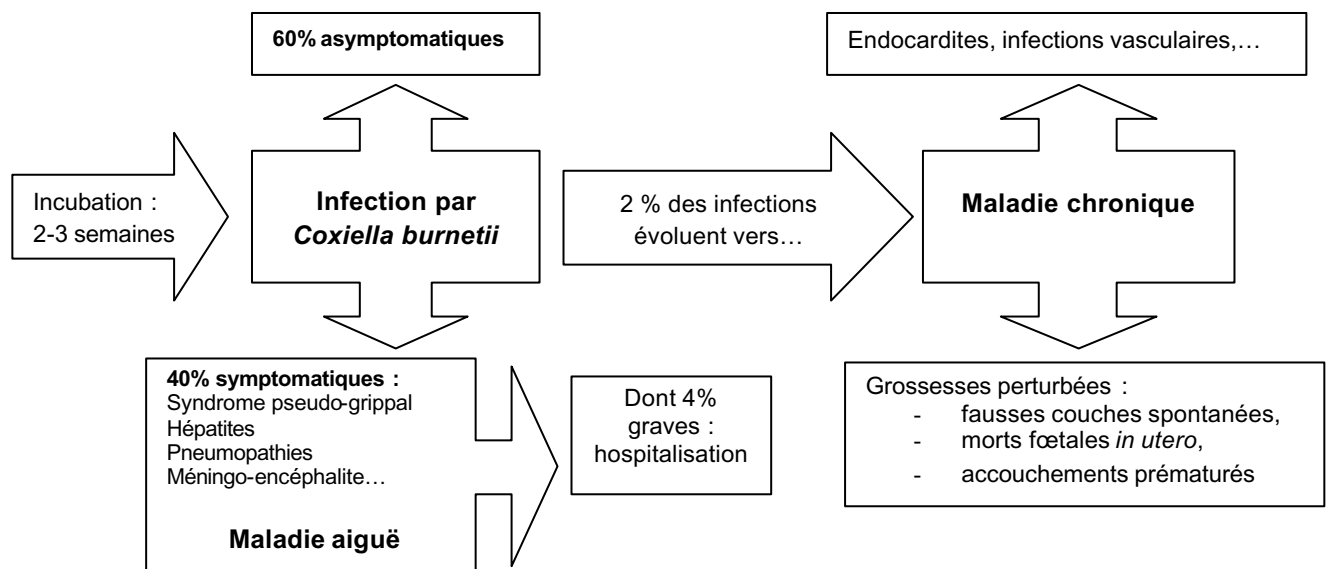


Figure 3 : Evolutions possibles de l'infection à *Coxiella burnetii* chez l'Homme

1.2.3.1 Fièvre Q aiguë

Tableau clinique

En France, deux grandes séries de cas de fièvre Q aiguë ont permis de décrire le tableau clinique suivant [Raoult *et al.* 2000, Tissot-Dupont *et al.* 1992] : le début est généralement brutal, dans un tableau associant fièvre élevée (91%), céphalées (51%), myalgies (37%), arthralgies (27%) et toux (34%). Avec des fréquences moindres, une éruption (11%) ou un syndrome méningé justifiant une ponction lombaire (4%) peuvent également être observés. La biologie non spécifique montre une thrombocytopénie (35%), une élévation des enzymes hépatiques (62%) et une accélération de la vitesse de sédimentation érythrocytaire (55%).

La variabilité de l'expression clinique est importante et diffère selon le pays, voire la région à l'intérieur d'un même pays, sans qu'on l'explique précisément. Quelques hypothèses ont été proposées pour expliquer cette diversité : un intérêt particulier des cliniciens pour un tableau clinique ainsi qu'une variabilité de souche mais également la spécificité de l'hôte.

Trois tableaux cliniques sont prédominants :

- la **forme fébrile isolée** (sans hépatite ni pneumopathie) est habituellement accompagnée de céphalées sévères et peut durer suffisamment longtemps pour entrer dans les critères définissant une fièvre prolongée d'origine indéterminée. La fièvre dure plus longtemps chez les patients plus âgés [Clark 1951 a et b] et elle est plus fréquemment associée à une éruption (20%) que les autres formes cliniques. Les patients qui ne présentent ni hépatite ni pneumopathie sont plus fréquemment des femmes [Raoult *et al.* 2000] ;
- la **pneumopathie** est le tableau le plus fréquemment observé en Nouvelle Ecosse (Canada), au Pays Basque Espagnol et au Royaume Uni. Les patients atteints d'une pneumopathie présentent des caractéristiques démographiques et cliniques particulières : ils sont plus âgés que ceux présentant la forme fébrile isolée, sont plus souvent immunodéprimés, sont moins fébriles, ont moins souvent des céphalées et des myalgies, ont plus souvent des anomalies électro-cardiographiques, et moins fréquemment une thrombocytopénie [Raoult *et al.* 2000] ;
- l'**hépatite** est la forme clinique la plus répandue à travers le monde, à commencer par la France et l'Australie. L'hépatite est le plus souvent définie par une élévation des transaminases, mais quelques patients présentent un ictère et/ou une hépatomégalie. Lorsqu'une biopsie hépatique est pratiquée, elle montre une hépatite granulomateuse, avec des lésions anatomo-pathologiques caractéristiques [La Scola *et al.* 1997]. Les patients qui présentent une hépatite sont plus jeunes, moins fréquemment immunodéprimés, plus fébriles, ont plus souvent des céphalées, des myalgies, une thrombocytopénie, une accélération de la vitesse de sédimentation.

Il existe également d'autres formes cliniques, plus rares mais pourtant classiquement décrites :

- **des anomalies de la grossesse** : hypotrophie, prématurité, fausse couche spontanée ou mort fœtale *in utero* ;
- **des manifestations cardiaques**. La myocardite représente la première cause de décès [Fournier *et al.* 2001]. La physiopathologie de l'atteinte cardiaque n'est pas démontrée, mais des données expérimentales montrent une relation entre la survenue d'une myocardite et la taille de l'inoculum [La Scola *et al.* 1997]. La péricardite n'est généralement pas spécifique. *Coxiella burnetii* est néanmoins la cause la plus fréquente de péricardite à Marseille [Levy *et al.* 1999] et est une cause importante en Espagne et en Angleterre. Parmi les patients qui présentent une péricardite, 10% développent une péricardite chronique et présentent des récurrences sans raison identifiée ;
- **des manifestations neurologiques, exceptionnellement décrites** comprennent des méningites, des méningo-encéphalites et des neuropathies périphériques [Bernit *et al.* 2002, Derrick 1973].

Evolution de la fièvre Q aiguë

L'évolution vers un syndrome de fatigue chronique a été décrite dans la population générale en Australie [Ayres *et al.* 1998] et au Royaume Uni [Penttilä *et al.* 1998]. Les patients rapportaient plus

fréquemment des sueurs, un essoufflement, une vision trouble et une fatigue anormale [Ayres *et al.* 1998]. A terme, le pronostic est généralement favorable avec une récupération sans séquelle. Les patients porteurs d'une lésion valvulaire, d'un anévrisme ou d'une prothèse vasculaire et qui présentent une fièvre Q aiguë, ont un risque élevé **d'évoluer vers une forme chronique** [Raoult *et al.* 2000].

1.2.3.2 Fièvre Q chronique

Le tableau clinique le plus fréquent et le mieux connu est l'**endocardite**, qui fait toute la gravité de l'infection, avec une létalité de 25 à 60% en l'absence de traitement. Plus de 800 cas ont été rapportés dans diverses études entre 1949 et 2000 [Boyle et Hone 1999, Brouqui *et al.* 1993, Duroux-Vouilloz *et al.* 1998, Raoult *et al.* 2000, Sanchez-Recalde *et al.* 2000, Siegman-Igra *et al.* 1997]. En France, *Coxiella burnetii* est l'agent étiologique de 5% des endocardites, avec une prévalence estimée de un cas par million d'habitants et par an, proche de celle observée en Suisse et en Israël. L'endocardite de la fièvre Q atteint des sujets plus jeunes (âge moyen 48 ans), ayant plus souvent des lésions valvulaires préexistantes ou des valves prothétiques que les autres cas d'endocardite [Brouqui et Raoult 2001].

L'**infection vasculaire** est le deuxième tableau clinique de fièvre Q chronique [Fournier 1998 *et al.*, Raoult *et al.* 2000]. Un anévrisme de l'aorte peut ainsi s'infecter et se compliquer d'une fistule intestinale ou d'une spondylite. De même, une prothèse vasculaire peut être infectée par *Coxiella burnetii*. Le pronostic est réservé en l'absence de traitement.

D'autres manifestations de la fièvre Q chronique ont été décrites : ostéomyélites [Cottalorda *et al.* 1995], hépatites chroniques chez des alcooliques [Raoult *et al.* 2000], pseudo-tumeurs spléniques ou pulmonaires, infection de drain ventriculo-péritonéal [Lohuis *et al.* 1994].

1.2.3.3 Variabilité de l'expression clinique

Age et sexe

Peu de cas pédiatriques sont rapportés, puisqu'une revue récente en compte 46 publiés [Maltezou *et al.* 2002a et 2002b], alors que les études séro-épidémiologiques montrent une exposition fréquente des enfants [Dupuis *et al.* 1985a]. Ainsi les enfants sont plus volontiers asymptomatiques que les adultes et présentent des formes cliniques plus atténuées. Les enfants de 11 à 14 ans ont un risque douze fois plus élevé de présenter des signes cliniques que les tranches d'âge inférieures, et font plus volontiers des formes pulmonaires [Maltezou *et al.* 2002a et 2002b].

Les grandes séries de cas cliniques chez l'adulte rapportent généralement un sexe-ratio de 2,5 hommes pour une femme [Raoult *et al.* 2000, Tissot-Dupont *et al.* 1992], alors que la séroprévalence est identique dans les deux sexes. Chez l'enfant, le sexe-ratio des cas cliniques comme celui des infections est de un. Cette modification du sex-ratio en faveur des hommes à partir de la puberté suggère un rôle protecteur des hormones féminines vis-à-vis de l'expression clinique. Cette hypothèse est en cours d'étude [Leone 2004].

En conséquence, il est logique de retrouver la majeure partie des tableaux cliniques et des hospitalisations chez des hommes entre 30 et 70 ans, avec un pic plus élevé dans la tranche d'âge 50-59 ans [Raoult *et al.* 2000].

Sujets présentant des facteurs aggravants

- Sujets immunodéprimés

En ce qui concerne les patients immunodéprimés, la fièvre Q a été étudiée chez les patients atteints d'un cancer [Raoult *et al.* 1992] et chez les sujets infectés par le VIH [Raoult *et al.* 1993]. Ces travaux ont montré que de tels patients présentent un risque élevé de rechute ou d'évolution vers une forme chronique. En particulier, les sujets infectés par le VIH et les patients atteints de lymphomes sont les seuls capables de développer une endocardite de la fièvre Q en l'absence de lésion valvulaire préexistante [Raoult *et al.* 1995, Raoult *et al.* 2000].

- Femmes enceintes

Dans une étude récente [Raoult *et al.* 2002], sur 27 cas d'infections à fièvre Q survenus pendant la grossesse, recensés en France et à l'étranger (Royaume-Uni, Etats-Unis, République Tchèque, Israël et Canada), seuls cinq enfants sont nés à terme en bonne santé.

- Huit cas de prématurité ont été rapportés ;
- Six fausses couches spontanées survenues avant la fin du premier trimestre de grossesse ont été décrites ;
- Deux morts *in utero* (survenus après le premier trimestre de grossesse) ont également été décrites.

D'après Stein et Raoult, [Raoult *et al.* 2002, Stein et Raoult 1998], plus de la moitié des patientes infectées au cours de leur grossesse voient celle-ci évoluer vers un accouchement prématuré ou une fausse couche spontanée. Malgré l'absence de système de surveillance, une estimation de l'incidence annuelle de la maladie chez la femme enceinte dans la région de Martigues, a été effectuée à partir du recensement du nombre de naissances dans la région (5 cas sur 2700 naissances déclarées sur trois ans). L'incidence annuelle de la fièvre Q chez la femme enceinte dans la région de Martigues est ainsi estimée à 1/540 grossesses. Il n'est cependant pas possible d'extrapoler ce chiffre à l'ensemble du territoire français en raison du petit nombre de cas décrits et des considérations géographiques qui ne peuvent être prises en compte.

L'analyse de ces cas ainsi que de 18 autres cas recensés dans la littérature montre également que ces accidents (prématurité, fausse couche spontanée) peuvent survenir :

- soit dans le cadre d'un épisode de fièvre Q aiguë (primo-infection) survenant au cours de la grossesse ;
- soit dans le cadre d'une symptomatologie réactivée au cours de la grossesse chez une patiente présentant un profil sérologique d'infection chronique.

Ainsi, on estime que 50% de ces patientes infectées durant leur grossesse vont présenter ensuite un profil sérologique d'infection chronique. En l'absence de traitement, des avortements à répétition ou une prématurité peuvent alors être observés lors des grossesses ultérieures. En revanche, une femme qui développe une fièvre Q en dehors de la grossesse ne présente pas de rechute lors des grossesses suivantes [Raoult *et al.* 2002, Stein et Raoult 1998].

- Patients atteints de valvulopathies

38% des patients atteints de valvulopathies, infectés par *Coxiella burnetii*, développent une endocardite dans les 2 ans [Fenollar *et al.* 2001]. Si on considère que 1 à 2% de la population présente une valvulopathie, on retrouvera entre trois et six cas d'évolution vers une endocardite pour 1000 cas de fièvre Q aiguë. Il est donc nécessaire de dépister les valvulopathies devant un cas de fièvre Q aiguë et de diagnostiquer une fièvre Q chez ces patients atteints de valvulopathies qui présentent une fièvre ou une fatigue anormale [Fenollar *et al.* 2001].

Voies et dose d'inoculation

La voie d'inoculation naturelle la plus fréquente est la voie respiratoire.

Il semble logique d'incriminer la **voie d'inoculation** dans la variabilité de l'expression clinique. Chez la souris [Marrie 1996], l'infection par voie intrapéritonéale comme par voie intranasale donne des pneumopathies, tandis que seule la voie intrapéritonéale donne des hépatosplénomégalias et seule la voie intranasale donne des lésions des voies aériennes.

Le rôle de la **taille de l'inoculum** a été démontré chez l'animal [La Scola *et al.* 1997] puisque les plus forts inoculums sont seuls capables de donner des myocardites et des bactériémies chez le cobaye. La taille de l'inoculum est supposée moduler la gravité de l'expression clinique chez l'homme, en particulier dans la myocardite [Fournier *et al.* 2001].

1.2.3.4 Diagnostic

Dans la pratique du Centre national de référence, le diagnostic de fièvre Q reste basé sur la sérologie. Le test de référence est l'immunofluorescence, qui permet une détection des anticorps dirigés contre les deux phases de *Coxiella burnetii*. Les réactions croisées étant peu importantes (lorsque la sérologie est quantitative), une séroconversion ou une multiplication par 4 du titre d'anticorps peut être considérée comme diagnostic de fièvre Q. De plus, le diagnostic peut généralement être porté sur un seul sérum [Dupuis *et al.* 1985, Field *et al.* 1983, Peacock *et al.* 1983, Peter *et al.* 1985, Tissot-Dupont *et al.* 1994] : un titre d'IgG anti-phase II = 100 rend le diagnostic très improbable. Dans les formes

aiguës, le principal problème est le délai de séroconversion. Un diagnostic définitif ne peut être affirmé qu'au moins 1,5 mois après le début des signes cliniques. Les titres diagnostiques pour les formes aiguës (IgG phase II = 200 et IgM phase II = 50), qui ont une valeur prédictive de 100%, ne sont retrouvés que chez 10% des patients à la deuxième semaine après le début des signes cliniques, chez 50% à la troisième semaine et chez 70% à la quatrième semaine. Les titres intermédiaires nécessitent de tester un deuxième sérum au moins deux semaines plus tard. Pour les formes chroniques, un titre d'IgG anti-phase I = 800 a une valeur prédictive positive de 98%, tandis qu'un titre = 1600 est 100% prédictif. Les IgA anti-phase I qui étaient utilisées pour le diagnostic des formes chroniques, ne le sont plus que pour le suivi du traitement.

L'isolement de *Coxiella burnetii* à partir du sang ou de biopsies, bien que peu sensible, garde un intérêt pour les collections de souches bactériennes et pour tester la sensibilité aux antibiotiques.

Les techniques de biologie moléculaire (amplification génomique par PCR) sont utilisables sur les fragments biopsiques, et peuvent confirmer un diagnostic lorsque les cultures restent négatives. Le développement d'une technique de PCR nichée en temps réel sur sang, à la phase précoce (avant la séroconversion) est en cours de développement [Fournier *et al.* 2003].

1.2.3.5 Traitement

Ces traitements concernent les patients présentant des facteurs aggravants.

Le but du traitement spécifique n'est pas le même en fonction du tableau clinique : dans le cas d'une fièvre Q aiguë chez un patient immunocompétent, un traitement antibiotique bactériostatique suffit pour que le système immunitaire contrôle rapidement le processus infectieux. Lorsque la réponse immunitaire est plus violente, comme dans les cas d'hépatite avec auto-anticorps, le traitement antibiotique ne suffit pas à contrôler l'infection ; toutefois l'adjonction d'une corticothérapie suffit à guérir rapidement le patient. Les immunodéprimés, les femmes enceintes ou les sujets présentant une lésion valvulaire ou vasculaire sont en général incapables de contrôler l'infection par *Coxiella burnetii*. Dans ces conditions, le traitement idéal sera bactéricide (des informations complémentaires sont disponibles sur le site Internet du CNR <http://ifr48.free.fr/recherche/labo/rickettsies/rickettsies.html>).

Traitement de la fièvre Q aiguë

La maladie guérit généralement spontanément, comme l'atteste l'évolution favorable des nombreuses formes asymptomatiques (les formes asymptomatiques ne sont pas des formes cliniques). Toutefois, si le diagnostic est réalisé pendant la phase aiguë de la maladie, un traitement peut être proposé. Une étude démontre l'intérêt d'un traitement par les tétracyclines par rapport à l'abstention thérapeutique. Malheureusement, le diagnostic est généralement confirmé alors que le patient est déjà guéri, raison pour laquelle très peu d'études ont pu évaluer le bénéfice du traitement de la fièvre Q aiguë [Raoult 1993a].

Traitement de la fièvre Q chronique

Ces traitements concernent les patients présentant des facteurs aggravants. L'association de doxycycline avec soit des fluoroquinolones, soit de la rifampicine, soit du co-trimoxazole pendant au moins trois ans est efficace, de même que l'association doxycycline – hydroxychloroquine pendant 18 à 36 mois [Raoult *et al.* 1999]. Cette dernière association est actuellement le traitement de référence. Dans tous les cas, le traitement ne pourra être interrompu qu'après le retour à un profil sérologique non chronique.

1.2.3.6 Vaccination humaine

Un vaccin (non disponible en France sauf ATU) est commercialisé en Australie sous le nom de Q-Vax (Commonwealth Serum Laboratories, Parkville, Victoria, Australie). Il est composé de *Coxiella burnetii* souche Henzerling en phase I, cultivée sur œuf embryonné (2^{ème} passage), inactivée par le formol et purifiée par fractionnement et ultracentrifugation. Il contient des traces de protéines d'œuf. Ce vaccin ne doit pas être administré en cas de contact préalable avec *Coxiella burnetii*, ce qui nécessite une sérologie et un test cutané avant toute injection (risque d'hypersensibilité). L'injection de 0,5 ml de vaccin contenant 25µg d'antigène se fait en sous-cutané. L'indication est représentée par les expositions professionnelles (abattoirs, pratique vétérinaire, laboratoires) et les contre-indications sont les antécédents de fièvre Q, l'allergie à l'œuf et l'immunodépression. La vaccination en période d'incubation ne prévient pas le développement de la fièvre Q. En terme d'efficacité, chez les sujets en contact professionnellement (immunité antérieure entre 24 et 47%), 3 sujets vaccinés sur 2 716 ont développé une fièvre Q, contre 52 sur 2 012 non vaccinés. Chez les sujets en contact régulier

(immunité antérieure entre 12 et 13%), 4 sujets vaccinés sur 292 ont développé une fièvre Q, contre 26 sur 150 non vaccinés. Pour ces deux groupes, il faut ajouter que les sujets vaccinés qui ont développé une fièvre Q avaient reçu le vaccin en période d'incubation. Enfin pour les sujets en contact sporadique (immunité antérieure 9 %), aucun sujet vacciné sur 524 n'a développé une fièvre Q, contre 19 sur 150 non vaccinés. Le taux de séroconversion varie de 50 à 80% (IgM anti phase I), mais l'immunité à médiation cellulaire est efficace.

1.2.3.7 Aspect réglementaire de la fièvre Q chez l'homme

En France, la fièvre Q n'est pas une maladie à déclaration obligatoire chez l'homme.

Néanmoins, les « affections dues aux rickettsies, et en particulier la fièvre Q » sont reconnues comme maladies professionnelles dans les deux régimes : tableau 53 du Régime général et tableau 49 du Régime agricole. Sont prises en charge les manifestations aiguës, avec un délai de 21 jours et les manifestations chroniques : endocardite et hépatite granulomateuse, avec un délai de 10 ans. Le diagnostic doit être confirmé par un examen de laboratoire spécifique.

Les travaux considérés comme susceptibles de provoquer la maladie sont ceux exposant au contact avec les bovins, caprins, ovins, leurs viscères ou leurs déjections, ainsi que les travaux exécutés dans les laboratoires effectuant le diagnostic de fièvre Q ou des recherches biologiques vétérinaires.

1.3 Emission

L'émission, qui prend en compte les sources de matières virulentes et la prévalence de la fièvre Q (figure 1), varie en fonction des espèces animales.

1.3.1 Sources de matières virulentes

Les matières virulentes proviennent des animaux infectés qui jouent le rôle de réservoirs.

1.3.1.1 Espèces animales

Virtuellement tous les animaux peuvent jouer le rôle de réservoir de *Coxiella burnetii* [Babudieri 1959, Lang 1990]. Généralement dans le monde entier, les ruminants domestiques représentent la source la plus souvent identifiée d'infection humaine et à l'origine des épidémies incluant le plus grand nombre de patients [Norlander 2000, Marrie 1990]. La séroprévalence est généralement élevée pour la population en contact direct avec ces animaux [Thibon *et al.* 1996].

Ruminants domestiques

Les méthodes de détection utilisées dans les anciens travaux étaient fondées sur le modèle animal, le plus souvent le cobaye. Cette méthode a l'avantage de pouvoir donner des renseignements qualitatifs (recherche de *Coxiella burnetii* vivantes) et quantitatifs (dose minimale infectante).

L'utilisation, de plus en plus fréquemment, de méthodes rapides fondées sur la technique PCR ne permet pas de quantifier ni de disposer de renseignements sur l'état des bactéries détectées.

Il est donc difficile de comparer les résultats des anciens travaux avec ceux des publications récentes.

- placenta :

La bactérie peut être retrouvée dans le placenta, y compris au terme de la gestation, chez la vache [Luoto et Huebner 1950, Plommet *et al.* 1973], chez la brebis [Zeman *et al.* 1989] et chez la chèvre [Marmion et Watson, 1961]. Un placenta de brebis infecté peut contenir plus de 10⁹ bactéries par gramme [Babudieri 1959, Welsh *et al.* 1951].

- sécrétions vaginales :

- Vache

Chez les bovins, l'infection expérimentale menée à l'INRA de Tours a rapporté la présence de *Coxiella burnetii* dans les sécrétions vaginales [Plommet *et al.* 1973]. Trois lots de génisses ont été inoculés avec *Coxiella burnetii* puis inséminés cinq mois plus tard. Les doses infectantes croissantes des lots n'ont pas mis en évidence de différence, mais l'excrétion vaginale de *Coxiella burnetii* a été observée avant toute fécondation. Plus récemment, *Coxiella burnetii* a été isolée de sécrétions vaginales de

vaches (13/61, 21,3%) issues d'un troupeau présentant des troubles de la reproduction, tandis que l'isolement à partir des laits était obtenu pour 36/214 vaches (16,8%) [To *et al.* 1998].

- Brebis

Une étude de Berri *et al.* sur un troupeau de trente quatre brebis, où avaient eu lieu des avortements a révélé la présence de *Coxiella burnetii* dans les sécrétions vaginales de quinze animaux après gestation menée à terme [Berri *et al.* 2002]. Dix semaines après l'agnelage, seulement deux brebis continuaient à excréter la bactérie dans les sécrétions vaginales.

- Chèvre

Récemment, deux infections expérimentales ont été conduites sur des chèvres au préalable indemnes de fièvre Q selon un protocole similaire (inoculation avec une dose élevée de bactéries, 10^4 , par voie sous-cutanée peu après la mi-gestation). La quasi-totalité des animaux ont avorté (100% dans la première expérimentation, 75% dans la seconde). A partir du jour de l'avortement, la recherche de *Coxiella burnetii* par PCR a montré que tous les animaux excrétaient dans les sécrétions vaginales (7/7 dans la première expérimentation, 12/12 dans la seconde) de manière continue durant trois jours à cinq semaines. Un nombre de 10^5 à 10^8 bactéries par mL a été estimé dans les échantillons positifs, et il a été montré que ces bactéries étaient infectieuses chez la souris [Arricau-Bouvery *et al.* 2003, Arricau-Bouvery soumis pour publication].

- lait :

L'excrétion de *Coxiella burnetii* par voie mammaire a été démontrée pour les bovins, ovins et caprins.

- Vache

La présence de *Coxiella burnetii* dans le lait des vaches a été démontrée par un certain nombre de travaux anciens et récents [Arricau-Bouvery *et al.* 2001, Durand et Limouzin 1983, Lorenz *et al.* 1998, Schaal 1977].

L'excrétion est décrite comme intermittente, de durée variable, mais pouvant persister pendant de longues périodes (deux ans) à l'intérieur d'un troupeau [Becht et Hess 1964]. Parfois on observe chez certains animaux une excrétion post-partum de courte durée.

Il n'y a pas de lien systématique entre l'apparition de signes cliniques et l'excrétion [Schaal, 1982]. Ainsi une vache qui a avorté ne devient pas forcément excrétrice, et, si c'est le cas, cette excrétion peut être de courte durée. En cas de développement de métrites, cette excrétion semble être plus stable dans le temps, mais cette observation reste à confirmer [Arricau-Bouvery *et al.* 2001].

A l'intérieur d'un troupeau ayant une sérologie positive, il n'y a pas de relation claire entre la séropositivité individuelle d'une vache et l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait.

- Brebis

Les publications sur la présence de *Coxiella burnetii* dans le lait de brebis sont plus limitées. Schaal 1977, en s'appuyant sur des travaux basés sur la contamination expérimentale de trente et une brebis, a montré que *Coxiella burnetii*, bien que présente dans l'utérus, n'est pas détectée dans la mamelle ou le lait. En revanche, sa présence dans le lait a été démontrée chez des brebis un, deux et huit jours après la mise bas, avec une bonne corrélation entre l'excrétion fécale et mammaire [Berri *et al.* 2001].

Les travaux en cours (INRA Nouzilly) ont également confirmé la présence de *Coxiella burnetii* dans les excréments vaginales des brebis, mais les renseignements sur la fréquence et la durée de l'excrétion dans le lait (hors période colostrale) ne sont pas encore disponibles.

- Chèvre

Deux études d'infection expérimentale conduites chez les chèvres ont montré la possibilité d'excrétion de *Coxiella burnetii* cinquante six jours dans le lait, soit jusqu'à la fin de la première expérimentation [Arricau-Bouvery *et al.* 2003]. La seconde expérimentation conforte ces premiers résultats avec une durée d'excrétion allant de trois jours pour certains animaux à neuf semaines de manière discontinue pour d'autres. D'autres travaux en cours montrent la persistance possible pendant au moins quatre à cinq mois, en infection naturelle [Rodolakis, résultats non publiés].

Chez les chèvres, les avortements ne semblent pas forcément provoquer une excrétion prolongée, mais, comme chez les vaches, cette observation reste à confirmer.

Aucune corrélation entre la présence de *Coxiella burnetii* dans les écouillons vaginaux et le lait n'a pu être observée.

L'efficacité du vaccin phase I pour éliminer l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait a été démontrée.

En conclusion, l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait chez les ruminants a été démontrée. La durée de l'excrétion peut être extrêmement variable, dépendant de l'espèce, du site de l'infection et de sa chronicité. On manque de données sur les éventuels effets de souches qui ne sont pour l'instant que peu étudiés [Zhang *et al.* 1997].

- fèces:

Après l'infection expérimentale de chèvres (décrite plus haut [Arricau-Bouvery *et al.* 2003]), quelques unes excrétaient la bactérie dans les fèces avant l'avortement, mais toutes après l'avortement. L'excrétion bactérienne a eu lieu dans les vingt jours suivant l'infection et a duré quarante jours en moyenne.

- sperme :

Un seul travail a rapporté l'isolement de bactéries viables obtenu à partir de sperme de taureaux séropositifs [Kruszewska et Tylewska-Wierzbanska 1997].

Animaux de compagnie

Chiens et chats sont des réservoirs de *Coxiella burnetii*. Les chiens peuvent être infectés par morsure de tique [Mantovani et Benazzi 1953], par l'ingestion de produits contaminés (placentas, etc.), ou par aérosols. L'infection des chiennes gestantes a été associée à une mortalité des chiots [Buhariwalla *et al.* 1996]. Plusieurs auteurs rapportent l'infection humaine au contact d'un chien [Buhariwalla *et al.* 1996, Laughlin *et al.* 1991, Marrie *et al.* 1985, Marrie *et al.* 1988]. Deux souches de *Coxiella burnetii* ont pu être isolées à partir de l'utérus de chiennes canadiennes [Maurin et Raoult 1999]. Boni [Boni *et al.* 1998] ont testé (technique immunofluorescence au seuil 1/50 avec des antigènes phase I et II) des chiens appartenant à des bases militaires. Quarante deux chiens sur quatre cent vingt neuf se sont révélés positifs, soit 9,7%.

Oiseaux

Coxiella burnetii a été isolée à partir de pigeons, de poulets, de canards, d'oies et de dindes [Babudieri 1959]. En France, l'infection a été montrée la première fois chez des corvidés dans les Alpes en 1968 [Seigneurin et Seigneurin 1968]. Des poules infectées expérimentalement ont excrété *Coxiella burnetii* dans les fèces durant quarante jours à partir du septième jour après l'infection [Raska 1956]. La contamination humaine peut se faire par inhalation de particules infectées issues de fientes desséchées. Ceci explique la micro-épidémie familiale rapportée dans le Lubéron après nettoyage d'un ancien pigeonnier désaffecté [Stein *et al.* 1999]. La présence de *Coxiella burnetii* a été détectée dans les fientes de pigeons et dans leurs tiques.

Autres vertébrés

Coxiella burnetii a pu être isolée, de manière occasionnelle, de nombreux autres mammifères, sauvages ou domestiques, comme les chevaux, les lapins sauvages, les porcs, les dromadaires, les buffles, les rats et les souris [Babudieri 1959]. Des anticorps ont été détectés chez diverses espèces de serpents et de tortues en Inde, mais *Coxiella burnetii* n'a pas été isolée chez ces animaux [Babudieri 1959]. Une placentite due à *Coxiella burnetii* a été observée chez un phoque veau marin [Lapointe 1999]. Les lapins ont été incriminés dans la transmission de *Coxiella burnetii* à l'homme [Marrie *et al.* 1986].

Une étude séroépidémiologique anglaise a montré une séroprévalence (anticorps anti-phase II) variable, entre 7 et 53% chez des rats surmulots [Webster *et al.* 1995]. Les auteurs avancent l'hypothèse que les rats pourraient représenter un réservoir majeur de *Coxiella burnetii* à partir duquel les animaux domestiques, et en particulier les chats s'infecteraient.

Arthropodes

La plupart des mammifères et oiseaux présente une bactériémie transitoire rapidement après l'infection par *Coxiella burnetii*. Les tiques peuvent donc ingérer la bactérie lors de leurs repas sanguins. Plus de quarante espèces de tiques sont ainsi naturellement infectées par *Coxiella burnetii*, dont *Rhipicephalus sanguineus*, la tique du chien [Mantovani et Benazzi 1953, Spyridaki *et al.* 2002]. *Coxiella burnetii* se multiplie dans la tique. L'infection expérimentale de cobayes par piqûre de tiques infectées a pu être obtenue avec *Ixodes holocyclus*, *Haemaphysalis bispinosa* et *Rhipicephalus sanguineus* [Smith 1940, Smith 1941], ainsi qu'avec *Dermacentor andersoni* [Parker et Davis 1938]. Lors de son repas sanguin, la tique élimine un excréta hautement contaminé sur la peau de son hôte. *Coxiella burnetii* a également été retrouvée dans les ovaires de la tique, ce qui suggère une transmission verticale et la persistance de

l'infection chez les tiques [Babudieri 1959]. Malgré cela, les tiques ne sont pas considérées comme un facteur majeur de contamination chez les animaux qui ont de nombreuses autres occasions de s'infecter [Babudieri 1959]. En revanche, les tiques ont probablement un rôle important dans la transmission de *Coxiella burnetii* chez les vertébrés sauvages, principalement les rongeurs, les lagomorphes et les oiseaux [Babudieri 1959, Lang 1990, Marrie *et al.* 1986]. *Coxiella burnetii* a été également isolée de manière ponctuelle chez d'autres arthropodes, tels que les aoûtats [Babudieri 1959], les poux [Giroud et Jardin 1954] et les mouches [Philip 1948]. D'autres études extensives incluant poux, puces, mouches, moustiques, petits acariens et autres arthropodes prélevés sur des bovins, des ovins et des rongeurs n'ont pas permis d'isoler *Coxiella burnetii*. Le rôle de ces arthropodes dans le cycle naturel de *Coxiella burnetii* n'est pas établi. Leur rôle dans l'infection humaine, s'il existe, reste probablement anecdotique en France, même si une appréciation différente est accordée dans d'autres pays comme l'Allemagne et la Suisse [Eklund *et al.* 1947, Janbon *et al.* 1989, Avis du « Bundesinstitut für Risikobewertung du 17 juin 2003, concernant « l'avis d'experts sur l'importance de la fièvre Q pour la santé des consommateurs » (www.bfr.bund.de)].

Bilan de l'excrétion animale

L'excrétion est maximale en période de mise bas, corrélée à la charge bactérienne des placentas. Dans les sécrétions vaginales, on peut estimer qu'un grand nombre de bactéries est présent dans les deux jours après la mise bas, et qu'ensuite, ce nombre chute.

Ainsi, la dispersion dans l'environnement survient principalement au moment de la mise bas. Néanmoins, la contamination des personnes par les poussières peut être différée dans le temps.

La cinétique de l'excrétion bactérienne par les différentes voies n'a pas été étudiée avec précision chez les ruminants. Elle est encore moins connue chez les autres espèces. *Coxiella burnetii* peut être présente potentiellement dans les différentes sécrétions et excréments de tous les animaux infectés, mais les travaux fournissent des renseignements encore peu exploitables en terme d'intensité, de durée ou de fréquence.

Chez les ruminants, l'excrétion dans le lait a lieu pendant des périodes de plusieurs mois chez les bovins et les caprins. Elle serait plus brève chez les ovins.

L'excrétion bactérienne dans les matières fécales aurait lieu au cours des semaines suivant l'infection : elle peut durer environ quarante jours chez la chèvre.

1.3.1.2 Environnement

L'environnement est considéré comme source en raison des aérosols issus des sécrétions des animaux infectés. Les « pseudo-spores », forme de survie de la bactérie, sont petites et extrêmement résistantes. Ces micro-organismes ont pu être retrouvés dans l'air jusqu'à deux semaines après la parturition, et sur une période de cent cinquante jours dans le sol [Welsh *et al.* 1957]. Ces particules infectieuses peuvent être transportées dans l'air sur de longues distances [Tissot-Dupont *et al.* 1999]. Le vent, le temps sec, une végétation aride sont autant de facteurs favorisant la dissémination de *Coxiella burnetii* [Tissot-Dupont *et al.* 2004]. Plus récemment, *Coxiella burnetii* a été isolée à partir de foin [Rustscheff *et al.* 2000], et a été détectée par technique PCR dans des échantillons de poussières collectées dans une étable [Yanase *et al.* 1998].

La saison et les conduites d'élevage, à savoir mises bas à l'extérieur ou à l'intérieur, déplacements des troupeaux, épandages des fumiers et lisiers peuvent donc avoir une grande influence sur l'intensité de la contamination de l'environnement.

1.3.1.3 Produits alimentaires d'origine animale

Du fait de la présence de *Coxiella burnetii* dans différents organes, la question de la contamination humaine par de la viande est posée. Mais contrairement aux nombreux éléments publiés sur l'excrétion dans le lait, il n'y a pas de référence bibliographique disponible sur le risque lié à la viande.

Lait matière première

La présence de *Coxiella burnetii* dans le lait peut être due à une excrétion mammaire ou à une contamination fécale ou environnementale par contact ou par l'air. Bien que l'excrétion mammaire ait été bien décrite, on manque d'études sur la réalité et la quantification d'une contamination fécale ou environnementale.

De manière générale, peu de publications étudient la concentration de bactéries présentes dans le lait. Durand, 1993, estime l'excrétion dans le lait de vache à 10-20 bactéries/ml mais d'autres travaux citent des chiffres comme 10^5 cellules/ml [Bell 1949].

Les résultats obtenus dans les modèles animaux permettent de raisonner en « doses infectieuses » pour un modèle donné et pour une voie d'inoculation précise. Peu de travaux abordent la comparaison des différentes voies de contaminations. Durand, 1993, a étudié la différence relative des voies de contamination et estime qu'il faut 10 000 fois plus de *Coxiella burnetii* pour contaminer la souris par voie orale en comparaison avec la voie intrapéritonéale.

Survie dans des produits laitiers

Concernant la survie de *Coxiella burnetii* dans les produits laitiers, il n'existe pas de travaux récents. Une survie de plusieurs semaines a été observée dans des fromages à pâte molle [Sipka 1959], de quarante et un jours dans le beurre [Lerche 1965] et une élimination lors de l'affinage dans certaines pâtes dures « Hartkäse »² [Kaestli 1965]. Néanmoins ce genre de travaux devrait être confirmé par des travaux utilisant des méthodes de quantification validées.

L'implication des produits laitiers pasteurisés comme source possible d'infections humaines a été suggérée dans une publication récente basée sur une étude épidémiologique [Hatchette *et al.* 2001]. Les mêmes auteurs affirment néanmoins que la pasteurisation élimine *Coxiella burnetii* dans le lait [Enright *et al.* 1957]. Ils observent par ailleurs que la consommation du lait cru n'a pas été associée à un risque accru dans cette enquête épidémiologique et que *Coxiella burnetii* n'a pas été retrouvée dans le fromage mis en cause.

Thermorésistance

La question de la thermorésistance a été étudiée en utilisant le modèle animal [Enright *et al.* 1957, Lenette *et al.* 1951] et réexaminée par d'autres auteurs. Schaal, 1977, estime qu'une température de 72 à 74°C pendant 30 à 40 secondes serait suffisante pour éliminer les germes. Le même auteur a par ailleurs, analysé entre 1958 et 1967, 4 997 échantillons de laits pasteurisés ou traités par UHT. Aucun d'eux ne s'est révélé positif. L'analyse du même nombre d'échantillons de lait cru a donné un résultat positif dans 0,94 % des cas [Schaal et Schaaf 1969].

Pour progresser sur le sujet, le groupe de travail a saisi le Comité d'experts spécialisé « Microbiologie », (CES Microbiologie) sur les questions suivantes :

- 1) Quelles sont, d'après la bibliographie et les approches expérimentales actuelles, les conclusions que l'on peut tirer quant à l'efficacité de la pasteurisation pour inactiver *Coxiella burnetii* dans le lait ?
- 2) Si les travaux existants ne permettent pas de répondre à cette question ou n'apportent qu'une réponse partielle, quels travaux pourraient être mis en œuvre ?
- 3) En tout état de cause, quelles méthodes de mesure de la thermorésistance peuvent être recommandées ?

Les rapporteurs nommés par le CES Microbiologie ont fourni au groupe de travail un rapport sur ces questions. Les éléments du rapport qui concernent ces questions (cf. annexe II), validés par le CES microbiologie, permettent de conclure que les températures de pasteurisation utilisées depuis 1957 ne doivent pas être remises en cause.

1.3.2 Prévalence de la fièvre Q chez les animaux

La contamination des humains par les animaux est étroitement liée à la prévalence de la maladie dans ces espèces.

² Il faut entendre tous les fromages à pâtes pressées cuites ou non ayant subi un affinage long

1.3.2.1 Ruminants domestiques

En France, la fièvre Q n'est pas une maladie à déclaration obligatoire et il n'existe pas de laboratoire vétérinaire de référence pour cette maladie. Aucune banque de données épidémiologiques relatives à la fièvre Q n'est constituée en France.

Des travaux souvent d'initiatives locales ont été réalisés afin d'estimer l'importance de la fièvre Q dans une zone géographique et sur une période donnée. Schématiquement, ces documents peuvent être regroupés en plusieurs catégories :

- les publications dans des revues vétérinaires ;
- les thèses vétérinaires ;
- les dépistages réalisés par des organismes départementaux ou régionaux comme les Groupements de défense sanitaire ou les Groupements d'intérêt économique ;
- les diagnostics complémentaires de fièvre Q conduits dans le cadre des déclarations obligatoires d'avortements relatives à la lutte contre la brucellose.

La compilation de ces données, détaillée dans les tableaux II, III et IV, fournit des ordres de grandeur des « différentes prévalences » de la fièvre Q en France.

Prévalence de la fièvre Q abortive

La prévalence des avortements à fièvre Q pourrait en première analyse être considérée comme le meilleur indicateur de la prévalence clinique de la fièvre Q, en effet :

- parmi les troubles de la reproduction, l'avortement est un symptôme fréquent de la fièvre Q dans toutes les espèces. Sur le terrain, éleveurs et vétérinaires résument d'ailleurs fréquemment la clinique de la fièvre Q à son seul aspect avortement ;
- c'est un symptôme facilement visible et économiquement très pénalisant ;
- les avortements des ruminants domestiques font l'objet d'un encadrement réglementaire. La mise en oeuvre en routine d'une démarche de diagnostic étiologique des avortements, au sein duquel la fièvre Q figure en bonne place, n'est donc pas exceptionnelle [Berger 1999].

Malheureusement, le recensement des avortements à fièvre Q ne peut être entrepris de manière cohérente sur l'ensemble des départements, en effet :

- la recherche de fièvre Q n'est pas obligatoire. Elle n'est réalisée systématiquement sur tous les prélèvements de déclaration d'avortements que dans certains départements ;
- les méthodes de prélèvement varient d'un département à l'autre (avortons, un ou plusieurs sérums, sérum précoce ou tardif après avortement) ;
- les résultats obtenus dans les différents départements ou dans un même département au cours du temps ne sont pas comparables compte tenu de la variété des méthodes d'analyses (Stamps, PCR, fixation du Complément, ELISA) et de leur manque de standardisation, y compris dans leur critère d'interprétation.

On notera cependant, comme ordres de grandeur :

- dans un ensemble de vingt et un troupeaux caprins des Deux-Sèvres, cinq troupeaux au moins ont connu des avortements d'origine fièvre Q au cours des cinq années précédentes et quatre autres élevages au cours de la même année [Chartier *et al.* 1997] ;
- dans des enquêtes réalisées entre 1993 à 1996, sur les avortements bovins des départements de la Côte-d'Or (2 883 dossiers), des Côtes-d'Armor (429 dossiers), de la Loire-Atlantique (386 dossiers) et de la Manche (1 383 dossiers), la fièvre Q est diagnostiquée de manière certaine dans respectivement, 0,5% (14), 1,1% (5), 3,8% (15) et 2,3% (32) des avortements et est diagnostiquée de manière probable dans respectivement 2% (59), 15,8% (68), 16% (62) et 4,6% (64) des avortements [Berger 1999].

Prévalence de l'infection

La prévalence de l'infection est approchée par la séroprévalence. L'évaluation du taux d'animaux excréteurs n'est pas possible actuellement, les méthodes de diagnostic direct étant, soit trop lourdes (mise en culture), soit trop coûteuses (PCR).

Les différents travaux récapitulés (Tableaux II, III et IV) font apparaître une grande variabilité du taux d'animaux séropositifs dans le cheptel français. Cette grande variabilité de la séroprévalence entre différentes études conduites dans un même pays n'est pas particulière à la France puisqu'on la retrouve au Japon, par exemple [Harai et To 1998]. Plusieurs raisons expliquent cette grande variabilité :

- le manque de standardisation des techniques d'une part (il n'existe pas, par exemple, de sérum de référence international pour la fixation du complément), et d'autre part le fait qu'il n'existe pas de corrélation (ou tout du moins de corrélation simple) entre les différentes techniques (c'est le cas entre FC et ELISA) ;
- la qualité de l'échantillonnage, sa représentativité, ou l'interprétation que l'on en fait ; des prélèvements réalisés dans le cadre de déclarations d'avortements conduiraient à sur-estimer la séroprévalence si celle-ci était extrapolée à l'ensemble du cheptel ;
- une interférence avec la vaccination fièvre Q. Ce paramètre souvent allégué est à relativiser : le seul vaccin disponible sur le marché (vaccin phase II) induit en effet peu d'anticorps ;
- les variations réelles de l'incidence de la maladie ou de l'intensité de la réponse immunitaire qui peuvent, par exemple, être fonction de la saison ou du mode d'élevage :
 - la saison : Yanase *et al.* [1997] ont montré, sur des vaches suivies sur une période de 2 ans, que le titre en anticorps et le nombre de bovins séropositifs était plus élevé en hiver.
 - la conduite de l'élevage : Capuano *et al.* [2001] ont montré que, pour une même espèce dans une même région et à une même période, la séroprévalence individuelle pouvait être 6,8 fois plus importante dans les élevages entièrement conduits en bâtiment que dans ceux conduits entièrement en pâture (respectivement 13,2% et 1,9%).

La séroprévalence ovine, caprine et bovine de la fièvre Q ne peut donc être évaluée avec précision d'après la littérature. Cette évaluation, déjà entachée de beaucoup d'erreurs au niveau individuel pour un troupeau donné, l'est encore davantage au niveau des cheptels compte tenu de la distribution géographique et temporelle très irrégulière (agrégative) de la maladie. A l'appui de cette analyse, citons l'enquête conduite de 1982 à 1984 par une même équipe (GIE Ovin Rhône Alpes) donc probablement suivant les mêmes méthodes, dans les départements de l'Ain, Ardèche, Drôme, Isère, Loire, Rhône, Savoie et Haute-Savoie. On observe une grande variabilité de la séroprévalence dans les troupeaux ovins entre départements au cours d'une même année (écart maximum : 0 à 89% des troupeaux avec au moins un animal séropositif) et dans le même département d'une année à l'autre (écart maximum : de 8 à 89% des troupeaux).

Compte tenu de toutes les réserves précédemment décrites, les données extrêmes de prévalence sont de 1 à 15% pour les bovins, 0 à 20% pour les ovins et 2 à 12% pour les caprins.

Avec les mêmes réserves, les données extrêmes de prévalence des troupeaux sont de 39% à 73% pour les bovins, 0 à 89% pour les ovins, 10 à 40% pour les caprins.

Conclusion

Aucune enquête nationale n'a été menée avec une méthodologie suffisamment rigoureuse (échantillonnage, technique...) pour pouvoir estimer correctement les taux d'infection en matière de fièvre Q animale. Seules des données départementales ou régionales sont disponibles chez les ruminants domestiques. Elles traduisent des différences géographiques, chronologiques mais aussi méthodologiques. Il serait donc fallacieux d'établir une comparaison ou une agrégation entre des résultats obtenus dans des conditions aussi différentes.

Cependant, l'estimation qualitative des risques conduite dans ce rapport nécessite de disposer d'une estimation de l'importance de la fièvre Q chez les ruminants.

Sachant qu'il existe de réelles diversités géographiques, il apparaît que certaines zones sont peu infectées. Toutefois, il est raisonnable d'indiquer que la fièvre Q est une infection assez répandue chez les ovins et les caprins, probablement d'une manière plus importante dans le sud que dans le nord de la France et qu'un pourcentage assez élevé de troupeaux (pouvant atteindre 90%) sont ou ont été infectés.

En ce qui concerne les bovins, la situation est moins bien connue car l'infection chez cette espèce provoque des métrites plutôt que des avortements contrairement à ce que l'on observe chez les petits ruminants [Lang 1990]. L'étiologie n'est pas toujours recherchée, nécessitant souvent des

investigations complémentaires. La fréquence de l'infection chez les bovins est donc probablement sous estimée en France.

1.3.2.2 Autres espèces

En dehors des ruminants domestiques, nous avons précédemment indiqué que d'autres espèces (chiens, chats, arthropodes, oiseaux...) sont également infectées et excrètent *Coxiella burnetii*.

A l'exception des travaux rapportant des contaminations humaines probablement à partir de carnivores domestiques [Boni *et al.* 1998, Marrie *et al.* 1985], il existe peu de données permettant de connaître la prévalence de cette infection chez ces espèces (cf. 1-3-2-1). Ainsi, les chiens et les chats de ferme ont de nombreuses occasions de contact (direct ou alimentaire par la consommation des placentas) et d'infection avec des ruminants des élevages et il est probable que l'infection de ces animaux suive celles des troupeaux infectés. Par ailleurs, les chiens et les chats, vivant en milieu rural, ont aussi la possibilité de s'infecter par les tiques.

L'importance de l'infection des espèces sauvages participant au cycle sauvage de la maladie n'est pas connue.

1.3.2.3 Bilan sur la prévalence

Tableau II : Données départementales ou régionales relatives à la séroprévalence de la fièvre Q dans les troupeaux de bovins

Référence	Origine des prélèvements	Techniques utilisées	Prévalence animale			Prévalence cheptel et intra cheptel
GOYON (résultats non publiés)	Département Sarthe	Fixation du complément	année - nb sérums	négatif	1/16	
	Déclaration d'avortements bovins 1975/1980	Antigène Roger Bellon Seuil 1/16	1977 - 120	95,9%	4,1%	
			1978 - 634	98,2%	1,8%	
			1979 - 108	85,2%	14,8%	
			1975 - 1980 mise-bas normales	95,5%	3,5%	
DURAND (1977)	Département du Puy-de-Dôme	Fixation du complément	espèce - nb sérums	négatif	1/10	
	Prophylaxie		bovins - 2222	98,2%	1,8%	
			bovins avortement - 575	95,9%	4,1%	
MIEGE (1983)	Département Haute-Savoie	Fixation du complément	nb sérums	négatif	1/10	266 cheptels bovins contrôlés 130 infectés (au moins 1 positif) : 49% effectif contrôlé
	Prophylaxie bovine 1980/1981	Antigène Behring	4236	88,7%	2,0% 5,3% 4,0% 11,3%	
DELCUEILLERIE (1984)	Département Loire-Atlantique	Coloration de Stamp	Stamps positifs 23% en 81; 15,9% en 82; 11% en 83			
	Déclaration d'avortements bovins 1981/1983	Fixation du complément	année -nb sérums	négatif	1/20	
			1981 - 4031	88,3%	4,7%	
			1982 - 3816	88,8%	3,8%	
			1983 - 2000	88,2%	2,7%	
Centre écopathologique bovin de Lyon (résultats non publiés)	Région Rhône-Alpes	Fixation du complément	nb sérums	positif		% bovins positifs
	Prophylaxie bovine 1989/1990		3216	479 (14,9%)		nb cheptels
						prévalence constatée
	93 cheptels contrôlés					nul
						< 10%
						[10% - 20%]
						[20% - 30%]
						[30% - 40%]
						> 40%
						Au moins 1
						25
						24
						20

Référence	Origine des prélèvements	Techniques utilisées	Prévalence animale							Prévalence cheptel et intra cheptel				
GDS (résultats non publiés)	Département de Charente-Maritime	ELISA Chekit												
	Contrôles d'introduction													
	Origine des bovins : Département 44 : 53% Région Pays de Loire : 70%													
LDA / GDS (résultats non publiés)	Département de la Manche	Coloration de Stamp Fixation du complément Antigène Behring												
	Déclaration d'avortements de bovins 1999/2002													
			Lecture à 50% d'inhibition de l'hémolyse											
	Cinétique des anticorps													
DGAI (résultats non publiés)	Département de Haute-Savoie	ELISA Chekit Test positif : DO 20%												
	Enquête conduite suite à l'épidémie humaine survenue à l'été 2002 à Chamonix													

Tableau III : Données départementales ou régionales relatives à la séroprévalence de la fièvre Q dans les troupeaux d'ovins

Référence	Origine des prélèvements	Techniques utilisées	Prévalence animale			Prévalence cheptel et intra cheptel			
FONTAINE (1975)	Départements du Sud-Ouest (7) Cheptels volontaires 3 à 5 brebis / cheptel et avortements 1973/1974	Fixation du complément Antigène Behring Seuil 1/20				458 cheptels contrôlés 202 cheptels infectés (44.1%)			
			nb sérums	négatif	1/20				
			brebis ayant avortées	78,7%	21,3%				
			brebis n'ayant pas avortées	83,2%	16,8%				
DURAND (1977)	Département du Puy de Dôme Prophylaxie 1977/1978	Fixation du complément				- 352 contrôlés (12 sérums analysés / cheptel) - 12 positifs (3.5% de l'effectif contrôlés) - 10 cheptels (1 sérum positif /12 sérums) - 2 cheptels (2 sérums positifs / 12 sérums)			
			espèce - nb sérums		négatif		1/10		
			ovins - 4222		99.7%		0,3%		
GUIGNARD (1981)	Région Midi-Pyrénées Prophylaxie et déclarations d'avortements ovins 1978/1979	Fixation du complément Antigène Behring Seuil 1/8							
			nb sérums	négatif	1/8	douteux			
			ovins - 3983	99,0%	0,2%	0,8%			
			ovins avortement - 839	96,0%	2,9%	1,0%			
GIE ovin Rhône-Alpes (résultats non publiés)	Région Rhône-Alpes Prophylaxie ovine (10 sérums / cheptel) 1982/1984	Fixation du complément				Prévalence cheptel constatée par année			
						Département	1982	1983	1984
						Loire	70%	59%	92,6%
						Rhône	0%	10%	60%
						Ain	14%	3%	30%
						Haute-Savoie	89%	8%	20%
						Savoie	27%	33%	57%
						Isère	0%	33%	13,5%
						Drôme	24%	40%	82,7%
						Ardèche	22%	24%	49%

Référence	Origine des prélèvements	Techniques utilisées	Prévalence animale					Prévalence cheptel et intra cheptel			
DAVOUST (1986)	Département Sud-Est Bases militaires 4 cheptels 60 sérums/cheptel 1985	Fixation du complément Antigène Behring Seuil 1/10 Immunopéroxydase						Fixation complément	négatif	1/10	>1/20
								total	86,0%	13,5%	0,5%
								Immuno-péroxydase	négatif	douteux	positif
								total	33,0%	28,0%	39,0%
GDS (résultats non publiés)	Région Rhône-Alpes Prophylaxie ovine 1996/1997 4 sérums/cheptel	Fixation du complément Antigène Virion Seuil 1/10						nb cheptels	nb cheptels infectés	prévalence cheptel constatée	
								417	409	98%	
DGA (résultats non publiés)	Département de Haute-Savoie Enquête conduite suite à l'épidémie humaine survenue à l'été 2002 à Chamonix	ELISA Chekit Test positif: DO 20%	nb cheptels contrôlés	effectif total	nb animaux testés	sérologies positives	pourcentage de sérologies positives	nb cheptels contrôlés	nb cheptels infectés	prévalence cheptel constatée	prévalence intra-troupeau constatée
			20	1251	328	28	8,5%	20	7	35%	4% à 46%

Tableau IV : Données départementales ou régionales relatives à la séroprévalence de la fièvre Q dans les troupeaux de caprins

Référence	Origine des prélèvements	Techniques utilisées	Prévalence animale					Prévalence cheptel et intra cheptel				
GUERRAULT et GODU (1981)	Départements Deux -Sèvres Prophylaxie caprine 1980	Fixation du complément Antigène Behring Seuil 1/10						472 cheptels contrôlés 48 cheptels infectés (10.8%)				
			nb sérums	négatif	> 1/10							
			4000	88,2%	11,8%							
FRGDS Centre (résultats non publiés)	Région Centre Programme volontaire Prélèvements de prophylaxie 20 sérums / cheptel 1990/1993	Fixation du complément Seuil 1/10							1990/1991	1991/1992	1992/1993	
								nombre de cheptels	159	157	212	
								cheptels indemnes	77 %	64 %	46 %	
								cheptels douteux	12 %	20 %	28 %	
								cheptels infectés	11 %	16 %	26 %	
								Cheptel douteux : 1 ou plusieurs FC 1/10 ou 1/20				
DORDAIN (2001)	Départements Ain, Isère, Loire, Haute-Savoie Prophylaxie caprine 1995/1996	Fixation du complément Antigène Virion Lecture à 50% ELISA Chekit Douteux : DO 30%-40%	nb sérums	négatif	1/10	1/20	> 1/40					
			1530 (FC)	38,2%	29,3%	21,4%	11,10%					
			nb sérums	négatif	positif	douteux						
			1255 (ELISA)	96,8%	2,2%	1,0%						
DDSV Corse du Sud (résultats non publiés)	Département de Corse du Sud 15 élevages volontaires 2002	ELISA Chekit Test positif: DO 40% - 50%						15 cheptels contrôlés – 4 cheptels infectés Prévalence cheptel constatée : 27% 1 à 4 animaux positifs sur 10 / cheptel contrôlé				
			nb sérums	positif								
			150	9 (6%)								
DGAL (résultats non publiés)	Département de Haute-Savoie Enquête conduite suite à l'épidémie humaine survenue à l'été 2002 à Chamonix	ELISA Chekit Test positif: DO 20%	nb cheptels contrôlés	effectif total	nb animaux testés	sérologies positives	pourcentage de sérologies positives	nb cheptels contrôlés	nb cheptels infectés	prévalence cheptel constatée	prévalence intra-troupeau constatée	
			5	153	82	16	19,5%	5	2	40%	50%	

1.3.3 Appréciation de l'émission

L'émission, qui prend en compte les sources de matière virulente et la prévalence de l'infection (figure 1), varie en fonction des espèces animales (ruminants, carnivores domestiques, faune sauvage).

Pour l'appréciation de l'émission, il convient également de distinguer :

- le cycle domestique, caractérisé par une infection des bovins, ovins, caprins et éventuellement des carnivores domestiques de ferme, une contamination éventuelle de leurs produits (essentiellement lait et produits laitiers) et une circulation de cette infection par contacts directs ou aériens ;
- le cycle sauvage, caractérisé par une infection des ruminants sauvages, des rongeurs, des lagomorphes et des oiseaux (éventuellement également des carnivores domestiques vivants en milieu rural) et une circulation de cette infection par l'intervention de tiques et des contacts directs entre ces animaux.

Ces deux cycles sont relativement distincts, même s'il peut y avoir occasionnellement interférence entre les deux par l'intermédiaire de relais comme les carnivores domestiques, les rongeurs ou des espèces sauvages contaminées par des aérosols provenant d'élevages contaminés.

L'appréciation qualitative de l'émission proposée ci-dessous correspond à une synthèse des données sur les sources d'une part et sur les prévalences d'autre part, effectuée par le groupe de travail (tableau V).

En ce qui concerne le cycle domestique, l'émission est maximale pendant la période des mises bas.

Selon la démarche d'appréciation qualitative définie au point 1.1.2, l'émission peut être considérée comme **modérée** pour tous les ruminants domestiques. Les conditions d'élevage (transhumance, mises bas en extérieur...) et de climat (chaleur et vent) font que l'émission est probablement plus importante pour les petits ruminants du sud de la France que pour les bovins du Nord ; néanmoins, si cette différence est à signaler, compte tenu du nombre réduit de qualificatifs utilisés pour l'appréciation du risque, elle ne conduit pas à une appréciation qualitative de l'émission différente pour les deux espèces.

L'émission peut être considérée comme **négligeable à faible** pour les carnivores domestiques, en particulier pour la majorité d'entre eux qui vit en milieu urbain.

Compte tenu de l'excrétion possible mais peu importante dans le lait, l'émission à partir de produits laitiers peut être considérée comme **faible**.

En ce qui concerne le cycle sauvage, l'émission peut être considérée comme **négligeable**.

Tableau V : Appréciation qualitative de l'émission de *Coxiella burnetii*

	Ruminants		Carnivores domestiques	Faune sauvage
	Direct	Produits alimentaires		
Emission	Modérée	Faible	Négligeable à faible	Négligeable

1.4 Exposition

L'exposition prend en compte les différentes voies d'exposition et les populations exposées au risque.

1.4.1 Différentes voies d'exposition

L'exposition humaine à *Coxiella burnetii* est particulièrement multifactorielle, et de ce fait les études épidémiologiques sont rarement capables de mettre en évidence une source unique d'exposition. De même, que ce soient les descriptions de grandes séries de cas ou les enquêtes épidémiologiques, il est rarement possible de différencier l'exposition directe par contact avec les animaux de l'exposition indirecte, environnementale, par inhalation de poussières infectées. La notion d'exposition alimentaire est rarement mise en évidence. Chez nos voisins européens, un contact, le plus souvent indirect, avec des troupeaux, est retrouvé dans la majorité des enquêtes lors d'épidémies. Il ressort de l'ensemble de ces études que la présence de troupeaux, le plus souvent d'ovins, est à l'origine de la plupart des épidémies correctement étudiées. La part entre le contact direct et le contact indirect reste difficile à estimer.

Dans la plupart des enquêtes lors d'épidémies, la notion de profession exposée aux animaux est recherchée, le plus souvent sans différence significative entre les cas et les témoins, ce qui montre encore une fois qu'une source unique est rarement identifiable.

Dans une série de 323 cas diagnostiqués au CNR [Tissot-Dupont *et al.*, 1992], la profession n'était retrouvée que dans 149 dossiers, avec une proportion de fermiers-éleveurs de 9,4%, statistiquement non différente de celle donnée par le recensement INSEE (7,5%). Un mode de vie rural était noté dans 40 (29,8%) des 134 dossiers dans lesquels cet item était présent. La notion de facteurs de risque "classique" (contact direct avec les animaux ou leurs dépouilles, ingestion de produits laitiers crus) n'était mentionnée que dans 164 dossiers, parmi lesquels 33 (20,1%) présentaient un ou

plusieurs facteurs de risque (dont les 2/3 étaient un contact avec des ovins ou avec des placentas (d'ovins ou de caprins)).

Dans la série de 1 383 infections diagnostiquées au CNR entre 1985 et 1998 [Raoult *et al.* 2000], seuls 477 dossiers de fièvre Q aiguë étaient exploitables en terme d'exposition. On y retrouvait 8% d'exploitants et de vétérinaires, un mode de vie rural chez 38% des patients, un contact avec des animaux nouveau-nés ou gravides chez 35 % des patients. La comparaison des principaux tableaux cliniques (fièvre - hépatite - pneumopathie) ne montrait pas de différence en terme de facteurs d'exposition à *Coxiella burnetii*. Une revue sur 80 cas de pneumopathies à *Coxiella burnetii* en France fait état de 32 patients chez qui un contact avec des animaux a pu être mis en évidence, dont 59% (19 patients) de contacts avec des ovins, 15,6% (5 patients) avec des bovins, 28,1% (9 patients) avec des caprins et 14,6% (5 patients) avec des chats [Caron *et al.* 1998].

1.4.1.1 Voie aérienne

En terme de dose infectante, il est habituel de considérer que *Coxiella burnetii* est infectante «à l'unité» par inhalation. La survenue de cas à distance non négligeable des zones d'excrétion et de génération des aérosols, laisse également penser qu'un inoculum très faible est nécessaire pour infecter un individu [Tissot-Dupont *et al.* 1999]. Aucune étude récente ne quantifie cet inoculum.

En 1996, la ville de Briançon a subi une épidémie de plus de 120 cas dont 61% asymptomatiques. L'enquête cas-témoins a permis de mettre en évidence une exposition à l'environnement de l'abattoir comme facteur de risque (OR ajusté sur l'âge et le sexe = 6,8 [IC95% : 1,1 - 40,3]). Cet abattoir vétuste, lieu de passage de promeneurs et de sportifs, était doté d'une fosse à déchets en plein air, située à quelques dizaines de mètres d'un hélicoptère très actif. Le rôle des aérosols de *Coxiella burnetii* dans un environnement très fréquenté était donc évident dans cette épidémie exceptionnellement majoritairement liée à une source unique [Carrieri *et al.* 2002].

Rôle du vent

Le rôle du vent dans la dissémination d'aérosols infectés a pu être mis en évidence dans la région de l'Etang de Berre (Bouches-du-Rhône) qui présente une incidence des cas de fièvre Q aiguë 5,4 fois supérieure à la ville de Marseille. La plaine de la Crau est le lieu d'élevage de 70 000 ovins, avec des habitudes de mises bas en plein air. Lors de la principale mise bas en octobre, dans un environnement humide, le mistral souffle peu, ce qui génère un pic minime de cas de fièvre Q. En revanche, l'agnelage de rattrapage en mars correspond à la période où le mistral souffle le plus fréquemment et le plus violemment, dans un environnement sec, expliquant la répartition saisonnière des cas, avec un pic en mai - juin. De plus, les cas se situent géographiquement sous le vent de la Crau [Tissot-Dupont *et al.* 1999, Tissot-Dupont *et al.* 2004].

Au Royaume Uni, en 1984, le passage d'un véhicule de transport d'ovins a été à l'origine de 29 cas urbains, sans contact direct [Salmon *et al.* 1982]. L'épidémie la plus importante a eu lieu à Birmingham en 1989, avec 147 cas urbains, sans contact direct avec des animaux. Un élevage ovin était situé au vent de la zone de l'épidémie, avec une intensité inhabituelle du vent durant la période d'exposition [Hawker *et al.* 1998].

Troupeaux transhumants ou passage d'ovins

Lors de la récente épidémie de plus de 100 cas dans la vallée de Chamonix, durant l'été 2002, une enquête cas-témoins a été effectuée à la recherche de facteurs d'exposition [rapport InVS, non publié]. Sur l'ensemble de la période, il n'a pas pu être mis en évidence d'association entre la survenue de la maladie et la fréquentation des différents quartiers ou communes de la zone, ni avec la participation à des fêtes ou rassemblements, ni avec un contact direct avec les animaux, ni avec la consommation de produits laitiers. En revanche, une association entre la maladie et le fait d'avoir eu un contact rapproché avec des ovins et/ou d'avoir assisté à une transhumance d'ovins, a été trouvée. En Suisse, dans le val de Bagnes (Valais), 415 cas ont été diagnostiqués en 1983, après le passage d'une transhumance de 900 ovins [Dupuis *et al.* 1987].

En Italie, lors d'une épidémie de 53 cas dans la région de Vicenza en 1996, l'enquête cas-témoins a mis en évidence le rôle de troupeaux d'ovins qui avaient traversé la zone de l'épidémie (OR=6,1 [2,5 - 16,3]). La séroprévalence dans ces troupeaux variait de 45 à 53% [Manfredi Selvaggi *et al.* 1996].

1.4.1.2 Contact avec les mammifères et en particulier les ovins

En décembre 1996, devant la survenue de plusieurs cas cliniques de fièvre Q aiguë au sein du personnel la station de recherche sur la physiologie de la reproduction (PRMD) du Centre INRA de Nouzilly (Tours), une enquête séro-épidémiologique a été réalisée auprès de 306 personnes [Tissot-

Dupont, résultats non publiés]. Le cas initial était un homme dont l'une des tâches était le nettoyage (au nettoyeur à haute pression, générateur d'aérosols) de la remorque de transport des carcasses. Cette enquête a démontré l'absence d'épidémie, mais une hyperendémicité (séroprévalence globale : 15%). En terme de répartition par station de travail, aucun sujet positif n'était retrouvé parmi le personnel des services généraux, des domaines, des stations de pathologie aviaire et de pathologie infectieuse. La séroprévalence était de 22,5% (38/170) au sein de la station PRMD et 16,7% (5/30) pour la station de recherche avicole voisine. Au sein de la station PRMD, on retrouvait également un gradient de séroprévalence selon la fréquence des contacts avec les animaux (Services centraux : 2,3%, Unités de Recherche : 15,5%, Installations expérimentales : 18,7%), tandis que deux des quatre employés de l'hôpital-abattoir étaient positifs. De même, au sein des installations expérimentales, on ne retrouvait aucun positif parmi le personnel de l'animalerie (petits rongeurs) et parmi les responsables des porcins, 12,5% parmi les responsables des bovins et caprins, 14,3% parmi les responsables des équins et 30,7% parmi les responsables des ovins. Un gradient de séroprévalence était également retrouvé au sein des unités de recherche : aucun positif dans l'unité de reproduction équine, 5,2% parmi les neuro-endocrinologues, 7,1% parmi les comportementalistes, 35% dans l'unité de recherche sur les testicules et 16,7% dans l'unité ovaires - FIV. Cette enquête avait donc mis en évidence plusieurs gradients d'exposition selon l'intensité et la fréquence du contact avec les animaux, et selon les espèces animales.

A nouveau dans la région de l'Etang de Berre, une enquête cas-témoins a recherché des facteurs de risque plus individuels, comportementaux. Un contact avec des ovins a été retrouvé chez 16,4% des cas et 6% des témoins et un contact avec des mammifères nouveau-nés chez 15,3% des cas et 4,3% des témoins. De plus, contrairement aux témoins, 4,7% des cas déclaraient avoir fréquenté une ferme pédagogique, seul facteur de risque indépendant [Tissot-Dupont, soumis à publication]. Ces fermes pédagogiques, dont le but est de favoriser un contact direct du public avec l'animal, peuvent constituer des lieux à risque, en particulier pour les personnes présentant des facteurs aggravants, et ceci pour deux raisons essentielles : d'une part, les visiteurs sont le plus souvent des urbains accompagnés d'enfants, qui sont attirés par les animaux et d'autre part, les animaux présentés sont souvent des femelles suitées, ce qui majore d'autant plus le risque d'excrétion de *Coxiella burnetii*.

Contact avec les autres mammifères

Le rôle des chats, principalement lors de la mise bas et de la manipulation des chatons nouveau-nés, a été mis en évidence pour la première fois lors d'une épidémie familiale en 1984 en Nouvelle Ecosse (Canada) [Kosatsky 1984] et largement décrit depuis [Langley *et al.* 1988, Marrie *et al.* 1988, Matthewman *et al.* 1997, Pinsky *et al.* 1991]. L'infection des chiens par morsure de tiques est connue depuis les années 50 [Mantovani et Benazzi 1953]. Ils peuvent également se contaminer par ingestion de placentas ou de lait de ruminants infectés, ou par aérosols [Maurin et Raoult 1999]. L'infection des chiennes gestantes peut être associée à une mortalité des chiots [Burahiwalla *et al.* 1996]. Le rôle des chiens dans la transmission à l'homme a été rapporté à plusieurs reprises par des auteurs canadiens [Burahiwalla *et al.* 1996, Laughlin *et al.* 1991, Marrie *et al.* 1985]. Une enquête a été réalisée en France sur des chiens vivant sur des bases militaires, montrant une séroprévalence de 9,8% [Boni *et al.* 1998].

1.4.1.3 Exposition alimentaire

La voie digestive est souvent citée comme source possible d'infection humaine, mais l'ingestion de produits laitiers non pasteurisés, bien que systématiquement recherchée dans les études, reste probablement un mode de transmission mineur [Benson *et al.* 1963, Krumbiegel *et al.* 1990]. Des études conduites avec des volontaires ont donné des résultats variables [Anonyme 1950, Benson *et al.* 1963, Krumbiegel et Wisniewski 1970]. Dans une des études, 34 volontaires en bonne santé ont consommé du lait naturellement contaminé pendant environ 1 mois. La contamination réelle du lait a été contrôlée et quantifiée sur un modèle hamster et l'œuf embryonné. Aucune de ces personnes n'a développé des symptômes ou une séroconversion. Par une étude similaire, Benson *et al.* [1963] ont mis en évidence une séroconversion asymptomatique. Une différence de doses ingérées et des souches utilisées dans les deux études pourrait expliquer ces résultats différents.

Le rapport du CES microbiologie fait également mention de la contamination par voie alimentaire (annexe II) et indique que « le nombre de germes nécessaires pour provoquer la maladie est nettement plus élevé par voie orale que par inhalation ». Ceci nous permet de conclure que cette voie d'exposition doit actuellement être considérée comme mineure.

1.4.1.4 Faune sauvage et divers

Le rôle des animaux sauvages est moins bien connu [Marrie *et al.* 1993]. Ces populations constituent un réservoir secondaire par rapport aux animaux domestiques. Les preuves sérologiques et bactériologiques ont montré l'étendue de la fièvre Q dans la plupart des pays pour une grande diversité d'espèces animales et leurs ectoparasites. Par contre, aucune situation de transmission de la maladie à l'homme à partir de la faune sauvage n'a été décrite, hormis celle à partir de lagomorphes au Canada [Marrie *et al.* 1986].

De manière générale, le risque serait plus élevé pour les populations en contact rapproché avec les animaux sauvages, tels que les chasseurs et randonneurs. Par exemple, les *excreta* des tiques infectées sont suspectées d'être une source possible de transmission car la charge bactérienne contenue peut être élevée. Néanmoins, une étude a montré que le risque d'infection par *Coxiella burnetii* était similaire entre une population de trappeurs et une population témoin [Levesque *et al.* 1995].

D'autres éventualités sont rapportées par certains auteurs. Le rôle du réservoir sauvage est suspecté dans la transmission vers la population suburbaine en Guyane française, mais les investigations ne sont pas achevées [Gardon *et al.* 2001]. Au Japon, une forte prévalence a été constatée parmi les oiseaux vivant à proximité des élevages [Hirai et To 1998]. Les oiseaux pourraient jouer le rôle de relais entre les élevages et les populations urbaines.

En résumé, il est probable que la faune sauvage soit en cause dans quelques cas sporadiques ou certains accès épidémiques de faible importance. Cette forme d'exposition ne doit donc pas être ignorée et il convient de retenir que le déplacement d'animaux sauvages à proximité des populations humaines peut contribuer à augmenter l'incidence de la fièvre Q.

En Allemagne, un travail récent a refait le point sur 40 épidémies entre 1947 et 1999 [Hellenbrand *et al.* 2001]. Les auteurs notent que ces épidémies sont de plus en plus urbaines (avec également une urbanisation des zones rurales qui rapprochent les citadins des sources de *Coxiella burnetii*). Vingt quatre épidémies étaient liées à des ovins, dont 11 à la manipulation de produits de parturition, 1 à la manipulation de litières, 3 à la manipulation de laine, 12 au passage de troupeaux à proximité et 14 au vent et à la sécheresse. Six épidémies étaient dues à des bovins, dont 4 communautaires (manipulation d'avortons, foires aux bestiaux) et 2 dans des abattoirs. Deux épidémies, les plus anciennes, sont survenues dans des laboratoires de recherche, tandis que pour 8 épidémies, aucune source n'a pu être suspectée.

Les tableaux VI et VII résument les principales épidémies décrites dans le monde et les données épidémiologiques en France dans ces vingt dernières années.

Tableau VI : Les principales épidémies décrites depuis une vingtaine d'années

Source	Année	Pays	Nombre de cas humains	Référence
Ovins	1981	USA	81	Meiklejohn 1981
	1982	Angleterre	14	Hall 1982
	1983	Suisse	415	Dupuis 1987
	1993	Italie	58	Manfredi 1996
	1996	Allemagne	45	Anon.1997
	1996	Allemagne	18	Schulze 1996
	1996	France	204	Armengaud 1997 ; Carrieri 2002
Bovins	1982	USA	25	Hall 1982
	1996	Pologne	25	Tylewska-Wierzbanska 1996
Caprins	1992	France	40	Fishbein 1992
	1998	Slovaquie	113	Kovacova 1998
	2000	Canada	62	Hatchette 2001
Chats	1984	Canada	13	Kosatsky 1984
	1988	Canada	12	Langley 1988
	1989	USA	15	Pinsky 1991
Chiens	1996	Canada	3	Buhariwalla 1996
Lapins	1986	Canada	4	Marrie 1986
Pigeons	2000	France	4	Stein 1999

Tableau VII : Données épidémiologiques en France depuis une vingtaine d'années

Année	Lieu	Enquête	Exposition	Référence
1988	Marseille	924 donneurs de sang	Séroprévalence 4%	Tissot Dupont <i>et al.</i> 1992
1982-1990	France CNR	Série de 323 cas	Éleveurs 9,4% Vie rurale 29,8% Contact animaux 20,1% dont 2/3 ovins et placentas	Tissot Dupont <i>et al.</i> 1992
1985-1998	France CNR	Série de 1383 cas	Éleveurs et vétérinaires 8% Vie rurale 38% Contact animaux nouveau-nés ou femelles gravides 35%	Raoult <i>et al.</i> 2000
1989-1996	Poitiers (86)	Série de 80 pneumopathies	Contact animaux 40 % dont : <ul style="list-style-type: none"> • Ovins 59% • Bovins 15,6% • Caprins 28,1% • Chats 14,6% 	Caron <i>et al.</i> 1998
1987	Banon (04)	Epidémie Centre d'Aide par le Travail 18 cas	Exposés aux chèvres : 65% de positifs Exposés aux produits laitiers crus: 75% de positifs Non exposés : 0	Fishbein <i>et al.</i> 1992
1996	Briançon (05)	Epidémie 120 cas	Abattoir (OR = 6,8)	Carrieri <i>et al.</i> 2002
1990-1995	Crau - Etang de Berre (13)	Incidence 5,4 fois plus élevée qu'à Marseille	Rôle du Mistral	Tissot Dupont <i>et al.</i> 1999
1996-1998	Crau - Etang de Berre (13)	Enquête cas témoins	Ferme pédagogique	Tissot Dupont , résultats non publiés
1996	Tours (37)	Centre INRA Enquête 306 personnes	Hyperendémicité 15%. Séroprévalence de 0 à 50% selon l'exposition aux animaux.	Tissot Dupont , résultats non publiés
2000	Montoisson (26)	10 cas Enquête cas témoins (50 témoins)	Proximité élevages caprins (séroprévalence 66% à 80%)	Rapport InVS
2002	Chamonix (74)	Epidémie plus de 100 cas	Mouvements d' ovins à proximité : OR de 2,9 à 5,8 selon période	Rapport InVS, résultats non publiés

1.4.2 Différentes populations exposées

En terme d'exposition, il semble licite de distinguer plusieurs populations :

1) Tout d'abord les sujets en **contact direct, étroit et habituel** (le plus souvent professionnel) **avec les ruminants** (éleveurs, vétérinaires, personnels d'abattoirs). Une étude anglaise a suivi une cohorte de 404 sujets travaillant dans des élevages, comparée à 395 témoins [Thomas *et al.* 1994, Thomas *et al.* 1995]. La séroprévalence était près de trois fois plus élevée chez les éleveurs (27,3%) que chez les témoins (10,9%). La présence d'anticorps anti-*Coxiella burnetii* était significativement associée au contact avec le bétail gestant et avec les produits de conception. En France, une étude est en cours auprès des éleveurs des Hautes-Alpes et des Alpes-de-Haute Provence.

2) Viennent ensuite les populations à **exposition rurale, directe ou indirecte** : voisins des exploitations, adeptes du tourisme vert, visiteurs des fermes pédagogiques. Les chasseurs et autres amateurs de promenades dans la nature, outre l'exposition aux troupeaux, peuvent présenter quelques particularités, en raison d'une exposition à la faune sauvage (pour laquelle la connaissance est très limitée) et d'une surexposition aux tiques (bien que leur rôle dans la transmission de la fièvre Q à l'homme reste anecdotique en France).

3) La **population générale**, principalement urbaine, exposée le plus souvent par aérosols transportés à distance, ou lors du passage de troupeaux. Cette population est la moins consciente de son exposition.

1.4.3 Appréciation de l'exposition

L'exposition prend en compte les différentes voies d'exposition et les populations exposées au risque. Il existe plusieurs voies d'exposition à *Coxiella burnetii* :

- le contact direct avec des ruminants domestiques excréteurs ;
- la voie aérienne qui peut exister à distance ;
- la voie alimentaire ;
- la contamination par le cycle sauvage : contamination essentiellement par des tiques.

Lorsqu'il y a eu contamination après un contact direct avec des ruminants domestiques, il n'est jamais possible de savoir quelle a été la part de la contamination aérienne par rapport aux autres voies de contamination directe (muqueuses en particulier). Il a donc été décidé, pour l'analyse du risque, de regrouper ces deux voies d'exposition (contact direct et voie aérienne).

L'appréciation qualitative de l'exposition proposée ci-dessous correspond à une synthèse des données sur les modes de contamination d'une part, et sur les types de population exposées d'autre part, réalisée par le groupe de travail (tableau VIII).

Toutes les personnes exposées ne le sont pas de la même manière. En effet, les trois catégories de populations décrites ci-dessus ont une exposition différente :

- la population en contact direct :
 - avec les ruminants domestiques : il s'agit des éleveurs, des inséminateurs, des techniciens d'élevage et d'abattoir, des vétérinaires, des négociants....
 - ou avec la bactérie. Il s'agit alors du personnel des laboratoires.

Cette population présente le risque le plus élevé d'exposition à *Coxiella burnetii*. L'exposition est donc qualifiée de **modérée à élevée** par voie aérienne ;

- la population dite « rurale » pouvant être contaminée essentiellement par voie aérienne : il s'agit des proches voisins des exploitations contaminées, des villages et petites villes à proximité de lieux de transhumance de troupeaux et des personnes effectuant du tourisme vert à proximité de troupeaux contaminés, des chasseurs et des enfants fréquentant les fermes pédagogiques. Dans le tableau VIII présentant l'appréciation de l'exposition, cette catégorie est appelée population « rurale ». Ainsi que des épidémies viennent régulièrement le rappeler, cette population, si elle est moins exposée que la précédente, a tout de même un risque de contact avec la bactérie qui a été qualifié de **faible à modéré** ;
- la population générale, beaucoup plus rarement en contact avec des ruminants domestiques et ne vivant pas dans une zone de possible contamination aérienne. Cette population est globalement peu exposée.

La fièvre Q, sous forme clinique liée à la consommation d'aliments crus n'est pas à exclure mais n'a jamais été démontrée avec certitude ; pour cette raison, l'appréciation qualitative de l'exposition a été considérée comme « nulle à négligeable » pour les trois catégories de population.

Le tableau VIII présente le résultat de l'appréciation qualitative d'exposition dans ces trois populations.

Tableau VIII : Appréciation qualitative de l'exposition à *Coxiella burnetii*

	Population au contact direct des ruminants	Population « rurale » ¹	Population générale
Contamination directe et par voie aérienne	Modérée à élevée	Faible à modérée	Négligeable
Contamination alimentaire	Nulle à négligeable		
Contamination par le cycle sauvage ²	Négligeable		

¹ « rurale » comprend la population de proches voisins des exploitations contaminées, des villages et petites villes à proximité de lieux de transhumance de troupeaux et des personnes effectuant du tourisme vert à proximité de troupeaux contaminés et des chasseurs

² La contamination par le cycle sauvage correspond essentiellement à la contamination par les tiques

1.5 Appréciation des conséquences

Les conséquences correspondent à la fois à la gravité de la maladie aiguë (morbidité et mortalité) et à celle des formes chroniques. On distingue des conséquences brutes, c'est-à-dire sans l'intervention d'un traitement, et les conséquences réduites par la mise en œuvre d'une thérapeutique adaptée (traitement antibiotique).

Les conséquences d'une infection par l'agent de la fièvre Q ont été considérées comme identiques pour les trois populations distinguées dans l'exposition.

La gravité des conséquences varie en fonction de la situation des individus vis-à-vis de « facteurs aggravants ». Ainsi pour chaque population on distingue, d'une part les individus avec « facteurs aggravants », correspondant aux personnes immunodéprimées, aux femmes enceintes et aux personnes présentant une valvulopathie, et d'autre part, les individus en bonne santé (sans facteur aggravant).

L'appréciation des conséquences brutes et des conséquences réduites par la mise en œuvre d'une thérapeutique, est présentée dans le tableau IX.

Tableau IX : Appréciation qualitative des conséquences brutes et réduites par l'intervention d'une thérapeutique de l'infection par *Coxiella burnetii*

	Population	
	Avec facteurs aggravants	Sans facteur aggravant
Conséquences brutes	Elevées	Faibles
Conséquences réduites par la thérapeutique	Faibles à modérées	Nulles à négligeables

1.6 Appréciation du risque

1.6.1 Appréciation de la probabilité de survenue de l'infection

La probabilité d'infection d'une personne à partir des différentes sources de *Coxiella burnetii* en France correspond à la combinaison de la probabilité d'émission avec celle d'exposition (tableau X). Elle a été déterminée en croisant les probabilités d'émission et d'exposition estimées par le groupe de travail, suivant le tableau I présenté dans le chapitre 1.1.

Tableau X : Probabilité d'infection par *Coxiella burnetii*

		Exposition (population exposée)		
		Population en contact direct des ruminants	Population « rurale »	Population générale
Emission	Direct (Modérée) ^b	(Modérée à élevée) ^a	(Faible à modérée) ^a	(Négligeable) ^a
	Ruminants	Faible	Faible	Négligeable
	Produits alimentaires (Faible) ^b	(Nulle à négligeable) ^a Nulle à négligeable		
	Carnivores domestiques (Négligeable à faible) ^b	(Modérée à élevée) ^a	(Faible à modérée) ^a	(Négligeable) ^a
		Négligeable à faible	Négligeable	Nulle à négligeable
	Faune sauvage (Négligeable) ^b	(Négligeable) ^a Nulle à négligeable		

a : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation de l'exposition (cf. tableau VIII)

b : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation de l'émission (cf. tableau V)

1.6.2 Appréciation des risques bruts et réduits

Le risque correspond à la combinaison de la probabilité d'infection avec les conséquences. Compte tenu de la possibilité de réduire le risque par une thérapeutique adaptée, le risque brut (probabilité de l'infection croisée avec les conséquences brutes) sera différencié du risque réduit (probabilité de l'infection croisée avec les conséquences réduites). Les tableaux XI, XII, XIII et XIV présentent ces appréciations qualitatives du risque en fonction de la voie de contamination (ruminants, alimentation, carnivores domestiques et faune sauvage) et pour chaque catégorie de population (en contact étroit, « rurale » et générale) en fonction de l'existence de facteurs aggravants (valvulopathie, grossesse, immuno-dépression) ou non.

Tous les tableaux suivants ont été réalisés en utilisant le tableau de croisement, présenté dans le chapitre 1.1.

L'appréciation qualitative du risque de contamination par **contact direct** est présentée dans le tableau XI.

Tableau XI : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique dans le cas d'une contamination par *Coxiella burnetii* par des ruminants domestiques.

		Probabilité d'infection					
		Population en contact direct des ruminants (Faible) ^a		Population "rurale" (Faible) ^a		Population générale (Négligeable) ^a	
		Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant
Conséquences	Brutes	(Elevées) ^b Faibles	(faibles) ^b Négligeables	(Elevées) ^b Faibles	(Faibles) ^b Négligeables	(Elevées) ^b Négligeables à faibles	(Faibles) ^b Nulles à négligeables
	Réduites par le traitement	(Faibles à modérées) ^b Négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Négligeables	(Faibles à modérées) ^b Négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables

a : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation de la probabilité de survenue de l'infection (cf. tableau X)

b : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation des conséquences (cf. tableau IX)

* Sont considérés comme facteurs aggravants : les grossesses, les valvulopathies et les immuno-dépressions

L'appréciation qualitative du risque de contamination par la **consommation d'aliments** (notamment de lait cru) est présentée dans le tableau XII.

Tableau XII : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique dans le cas d'une contamination par *Coxiella burnetii* par la consommation d'aliments contaminés (notamment le lait cru)

		Probabilité d'infection					
		Population en contact direct des ruminants (Nulle à négligeable) ^a		Population "rurale" (Nulle à négligeable) ^a		Population générale (Nulle à négligeable) ^a	
		Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant
Conséquences	Brutes	(Elevées) ^b Négligeables	(faibles) ^b Nulles à négligeables	(Elevées) ^b Négligeables	(Négligeables à faibles) ^b Nulles à négligeables	(Elevées) ^b Nulles à négligeables	(Négligeables à faibles) ^b Nulles à négligeables
	Réduites	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables

a : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation de la probabilité de survenue de l'infection (cf. tableau X)

b : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation des conséquences (cf. tableau IX)

* Sont considérés comme facteurs aggravants : les grossesses, les valvulopathies et les immuno-dépresseions

L'appréciation qualitative du risque de contamination par des **carnivores domestiques** est présentée dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique dans le cas d'une contamination par *Coxiella burnetii* par le contact avec des carnivores domestiques

		Probabilité d'infection					
		Population en contact direct des ruminants (Négligeable à faible) ^a		Population "rurale" (Négligeable) ^a		Population générale (Nulle à négligeable) ^a	
		Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant
Conséquences	Brutes	(Elevées) ^b Faible	(faibles) ^b Nulles à négligeables	(Elevées) ^b Négligeables à faibles	(Faibles) ^b Nulles à négligeables	(Elevées) ^b Négligeables	(Faibles) ^b Nulles à négligeables
	Réduites	(Faibles à modérées) ^b Négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables

a : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation de la probabilité de survenue de l'infection (cf. tableau X)

b : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation des conséquences (cf. tableau IX)

* Sont considérés comme facteurs aggravants : les grossesses, les valvulopathies et les immuno-dépresseions

L'appréciation qualitative du risque de contamination par la **faune sauvage** est présentée dans le tableau XIV.

Tableau XIV : Appréciation du risque brut et réduit par une thérapeutique, en cas de contamination par *Coxiella burnetii* par la faune sauvage.

		Probabilité de l'infection					
		Population en contact direct des ruminants (Nulle à négligeable) ^a		Population "rurale" (Nulle à négligeable) ^a		Population générale (Nulle à négligeable) ^a	
		Avec facteurs aggravants*	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants	Sans facteur aggravant	Avec facteurs aggravants	Sans facteur aggravant
Conséquences	Brutes	(Elevées) ^b Négligeables	(faibles) ^b Nulles à négligeables	(Elevées) ^b Négligeables	(Faibles) ^b Nulles à négligeables	(Elevées) ^b Négligeables	(Faibles) ^b Nulles à négligeables
	Réduites	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables	(Faibles à modérées) ^b Nulles à négligeables	(Nulles à négligeables) ^b Nulles à négligeables

a : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation de la probabilité de survenue de l'infection (cf. tableau X)

b : l'appréciation entre parenthèse correspond au rappel du résultat de l'appréciation des conséquences (cf. tableau IX)

* Sont considérés comme facteurs aggravants : les grossesses, les valvulopathies et les immuno-dépressions

Commentaires :

- Le risque concernant la population générale ne présentant pas de facteur aggravant (grossesse, valvulopathie ou immuno-dépression) peut être considéré comme extrêmement limité (**nul à négligeable**).
- Le risque est plus grand pour les populations présentant des facteurs aggravants ce qui rend l'utilisation d'une thérapeutique adaptée particulièrement importante pour cette catégorie de population. En effet, un diagnostic précoce accompagné d'une thérapeutique adaptée réduit de manière importante le risque. Pour la population présentant des facteurs aggravants, le risque brut varie de négligeable à faible, le risque réduit par la thérapeutique devient **nul à négligeable**.
- Le risque lié à la faune sauvage est globalement **nul à négligeable**.
- Le risque lié à la consommation d'aliments contaminés est globalement **nul à négligeable**. Pour les populations présentant des facteurs aggravants, il est négligeable.

Le risque par voie aérienne ou par contact étroit avec des animaux contaminés est le plus grand. Ce sont donc les personnes qui présentent des facteurs aggravants parmi les populations en contact direct ou celles dites « rurales » qui encourent le risque le plus important.

2 Moyens disponibles pour la lutte dans les élevages

La résistance des formes SCV et SDC de *Coxiella burnetii* aux conditions environnementales défavorables et aux agents physico-chimiques est très grande. *Coxiella burnetii* survit plusieurs mois dans l'environnement extérieur (matières fécales desséchées des animaux, *excreta* de tiques...), ce qui contribue de manière importante à sa pérennisation dans différentes niches écologiques et à sa dissémination. Elle survit au moins 586 jours dans des *excreta* de tiques, sept à neuf mois dans la laine maintenue à 20°C, 182 jours dans du sang de cobaye desséché et conservé à température ambiante, quarante neuf jours dans des urines, au moins sept jours dans l'eau ou du lait à température ambiante. Elle résiste à la dessiccation, à la pression osmotique, aux rayonnements ultraviolets, aux ultrasons, aux variations de pH, aux ammoniums quaternaires, aux désinfectants (formol à 5%, phénol à 1%, eau de Javel à 0,5%), à une température de 62°C pendant trente minutes, de -20°C pendant au moins deux ans, à la sonication dans de l'eau distillée pendant plus de trente minutes et aux rayonnements [Babudieri 1959, Scott et Williams 1990].

Cependant, la plupart de ces données étant antérieures à 1959, de nouvelles études devraient être réalisées avec les méthodes actuelles d'étude de la viabilité de *Coxiella burnetii* sur culture cellulaire.

2.1 Désinfectants

Une exposition prolongée (24 à 48 heures) au formol concentré (> 10%), à l'éther, au chloroforme à 5%, à l'acide chlorhydrique à 0,5%, à la chloramine à 3% et à l'éthanol à 70% permettent de tuer la bactérie [Scott et Williams 1990]. Le traitement des lisiers contaminés peut être réalisé avec de la cyanamide calcique 0,6% final durant une semaine [Arricau-Bouvery *et al.* 2001a].

2.2 Antibiotiques

Coxiella burnetii est sensible aux antibiotiques (tétracyclines, macrolides, fluoroquinolones et oxazolidinones) *in vivo* et *in vitro*. Un traitement antibiotique adapté peut donc permettre de limiter l'excrétion des bactéries dans l'environnement.

En raison de sa multiplication intracellulaire, l'activité des antibiotiques ne peut être mesurée par les techniques classiques de réduction du nombre de colonies. Plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer et surtout comparer l'efficacité des antibiotiques *in vitro* [Brennam et Samuel 2003, Gikas *et al.* 1998, 2001, Maurin *et al.* 1992a, Maurin et Raoult 1997, 1999, Raoult *et al.* 1991], mais de telles études nécessitent la numération de *Coxiella* ce qui est encore difficile actuellement.

Tous ces différents essais *in vitro* montrent que tous les antibiotiques testés sont bactériostatiques, mais que seule l'association de la doxycycline avec des agents lysosomotropes comme la chloroquine, l'amantadine ou le chlorure d'ammonium, permettent d'obtenir une activité bactéricide en alcalinisant l'environnement de *Coxiella burnetii*, ce qui potentialise l'action des tétracyclines [Maurin *et al.* 1992a].

Ces modèles ont également permis de mettre en évidence des différences de sensibilité/résistance des souches vis-à-vis des macrolides, des tétracyclines ou des fluoroquinolones [Maurin et Raoult 1999, Musso *et al.* 1996] et un test PCR permettant d'identifier les souches résistantes a été développé [Spyridaki *et al.* 2000].

En médecine vétérinaire seules les oxytétracyclines sont utilisées.

L'efficacité d'un traitement oral quotidien à la dose de 8 mg/kg/j pendant trente jours a été testée au tarissement sur deux vaches infectées naturellement [Behymer *et al.* 1977]. L'excrétion de *Coxiella burnetii* a été suivie dans les sécrétions mammaires pendant trente-cinq jours après le début du traitement. Les deux vaches excrétaient avant le traitement. Cette excrétion est devenue intermittente pour une vache et s'est arrêtée au bout d'une semaine chez l'autre qui a cependant donné naissance trente et un jours après le début du traitement à un veau vivant et à un veau mort-né. Les essais d'isolement de *Coxiella burnetii* à partir du placenta, du colostrum et des organes du veau mort ont été infructueux bien que celui ci soit séropositif. Les auteurs en concluent que ce veau avait été infecté avant le début du traitement, que ce traitement est efficace et doit être recommandé pour les vaches laitières dont on commercialise le lait cru ou dans les régions où l'incidence de la fièvre Q est élevée.

L'oxytétracycline injectable en formulation longue action est considérée comme l'antibiotique de choix bien que peu de travaux aient effectivement mesuré son efficacité sur l'excrétion des *Coxiella burnetii*. Pour des raisons économiques, les traitements sont généralement limités à une ou deux injections en fin de gestation, ce qui est insuffisant pour supprimer l'excrétion aussi bien dans le placenta [Woernle *et al.* 1985], les sécrétions vaginales [Berri *et al.* 2002] que dans le lait [Arricau-Bouvery, résultats non publiés].

Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre deux lots de vaches infectées naturellement dont un avait reçu une seule injection de terramycine (Terramycine LA 50 ml/vache par voie intramusculaire) 3 semaines environ avant la mise bas : 7/20 dans le lot non traité avaient un placenta positif contre 8/33 dans le lot traité. En revanche, une différence significative a été observée lorsque ce traitement était associé à une vaccination avec un vaccin en phase II qui pourtant ne s'est pas révélé efficace sur l'excrétion lorsqu'il était utilisé seul [Woernle *et al.* 1985].

Lors du suivi de l'infection d'un troupeau ovin isolé mais naturellement infecté, le traitement systématique des 300 brebis avec 20 mg/kg à 105 et 120 jours n'a pas empêché l'excrétion lors de la mise bas, mais ce traitement a pu contribuer à prévenir l'excrétion lors des gestations suivantes. Malheureusement, l'absence de lot témoin non traité, ne permet pas de conclure [Berri *et al.* 2002].

En attendant d'autres expériences démontrant plus précisément l'efficacité et les limites des traitements antibiotiques, ces derniers sont préconisés pour diminuer l'excrétion lors d'épisodes abortifs (deux injections de 20 mg/kg de terramycine retard à 15 jours d'intervalle dans le dernier mois de gestation) ou au tarissement pour des excréments persistants dans le lait.

2.3 Mesures sanitaires

L'efficacité des mesures sanitaires dans la lutte et la prévention de la fièvre Q en élevage est mal connue. Le fait que cette maladie n'ait pas été considérée, jusqu'à ce jour, comme un enjeu économique majeur dans les élevages, n'a pas favorisé la réalisation de protocoles d'évaluation de telles mesures. Ce qui est présenté ici relève donc plus d'une adaptation des mesures sanitaires générales au cas de la fièvre Q, qu'à une restitution de données expérimentales ou de terrain.

2.3.1 Mesures sanitaires offensives

La mise en place de mesures sanitaires offensives nécessite une réflexion préalable sur leur objectif. Une diminution de la pression d'infection dans un élevage reconnu infecté diffère d'une éradication de *Coxiella burnetii* dans ce même élevage. Atteindre ce deuxième objectif ne peut être envisagé que dans les situations les plus favorables (peu d'animaux infectés), au prix d'un investissement économique (ex : réforme des animaux) et logistique important (ex : traitement du fumier). De plus, l'assainissement de l'élevage n'apporte pas de réelle garantie de pérenniser cette situation favorable (cf. mesures sanitaires défensives).

D'une manière générale, la mise en place des mesures sanitaires offensives doit être réfléchie en prenant en considération les bénéfices attendus et les contraintes techniques mais aussi logistiques et économiques sous peine d'être contre productive.

2.3.1.1 Réforme des animaux excréteurs

La réforme des animaux excréteurs constitue un moyen possible mais souvent extrêmement contraignant et onéreux pour limiter l'excrétion bactérienne et donc pour réduire les risques de contamination humaine et animale.

Afin d'identifier les animaux excréteurs, il serait nécessaire de réaliser au préalable un dépistage avec l'aide des outils de diagnostic dont les limites ont été soulignées par ailleurs (partie I-2-2-4).

Aux limites de ce dépistage, s'ajoutent celles de la réforme proprement dite qui sont fonction :

- des possibilités de contamination, à partir du milieu extérieur et/ou du voisinage, des animaux non réformés ;
- du risque d'excrétion de l'animal dépisté lui-même devant tenir compte :
 - d'une excrétion possible plusieurs mois après la contamination ;
 - de l'âge, du sexe, du stade physiologique et du type de production de l'animal.
- du délai entre le dépistage et la réforme proprement dite.

2.3.1.2 Mesures générales d'hygiène

Précautions lors de la mise bas

Compte tenu de l'excrétion privilégiée de *Coxiella burnetii* au moment de l'avortement/mise bas et de la très forte infectiosité des placentas, des mesures générales d'hygiène appropriées appliquées aux placentas et aux fumiers sont les plus pertinentes à mettre en œuvre.

Elles correspondent à :

- la mise bas dans un box spécifique ; après la mise bas, le box et le matériel de mise bas doivent être désinfectés et le fumier traité (voir ci-dessous) ;
- la destruction des placentas et des avortons, par incinération ou utilisation de l'équarrissage. Cette destruction doit intervenir rapidement pour limiter l'ingestion et la dispersion par des animaux sauvages ou domestiques, friands de tels produits.

Polydorou rapporte, qu'en 1979, l'île de Chypre a mis en place dans les cheptels infectés de fièvre Q un programme d'isolement et de destruction des produits de mise bas de toutes les femelles ayant avorté, associé à un traitement parentéral à la tétracycline quatre jours consécutifs. La prévalence sérologique vis-à-vis de la fièvre Q chez les petits ruminants ayant avorté est passée de 28,6% (effectif 1 753) en 1979 à 4,7% (effectif 1 965) en 1982.

Précautions vis-à-vis des fumiers/lisiers

L'excrétion de *Coxiella burnetii* par voie fécale et la mise bas des femelles dans les bâtiments d'élevage font des fumiers/lisiers des sources de bactéries très importantes. Ceci est renforcé par les pratiques d'épandage qui contribuent à l'aérosolisation de la bactérie augmentant alors le risque de dispersion, surtout pour les fumiers frais.

Deux procédés d'inactivation de *Coxiella burnetii* peuvent être envisagés :

Inactivation thermique : La fermentation naturelle des fumiers provoque une augmentation de la température à l'intérieur du tas de l'ordre de 50 °C les premiers jours avec une décroissance en cinq à douze jours, en fonction des conditions climatiques, jusqu'à 30°C environ. Le compostage du fumier permet d'obtenir une température, d'au moins 50 °C (jusqu'à 70°C), les quelques jours suivants le brassage, un second brassage permet de maintenir la température au-dessus de 50°C pendant trois à quatre semaines [Hacala 1998, Lorthios 1998]. Surtout, le brassage assure une augmentation de la température dans toutes les parties du fumier.

Ces procédés n'ont pas été testés avec *Coxiella burnetii*, cependant on dispose de plus de recul vis-à-vis des salmonelles, bactéries considérées comme moins résistantes. Leur destruction est rapide (quelques jours) dans les fumiers, même en l'absence de brassage initial [Hacala 1998] mais plus longue dans les lisiers : deux mois sans adjonction de lisier frais [Marly *et al.* 1995].

Toutefois le brassage du fumier, surtout s'il est intense, présente un risque de dispersion de *Coxiella burnetii* par aérosol.

Inactivation chimique : Arricau-Bouvery *et al.* [2001a] ont réalisé la stérilisation des lisiers issus d'un cheptel caprin infecté de fièvre Q à l'aide de cyanamide calcique à 0,6% pendant une semaine. La nature liquide du lisier favorise un traitement chimique homogène. Concernant le fumier, la réalisation d'un mélange pour une bonne répartition du désinfectant reste possible, mais présente un risque de dispersion de *Coxiella burnetii* par aérosol.

Le compostage/mélange du fumier peut être réalisé grâce à des équipements divers, du plus rustique, l'hydro-fourche, au plus pointu, retourneur d'andain, en passant par l'utilisation des hérissons de l'épandeuse. C'est une opération chronophage. Le temps moyen pour curer et composter cent tonnes de fumier a été évalué à onze heures, soit le double d'un curage et d'une simple mise en tas du fumier [Hacala 1998]. Cet aspect logistique est important car les volumes de déchets concernés peuvent être conséquents (une tonne de fumier par vache et par mois, selon la quantité de paille des bâtiments).

En pratique trois types de fumiers/lisiers sont à traiter :

1. le lisier ;
2. le fumier, dans les bâtiments d'élevage ;
3. le fumier, déjà curé et stocké à l'extérieur des bâtiments d'élevage.

Dans le cas 1, la nature liquide du déchet et la disponibilité d'hélices dans les élevages autorisent un traitement chimique homogène sans risque d'aérosolisation particulier.

Dans le cas 2, il faut tout d'abord curer le fumier hors des bâtiments. Cette étape est propice à la réalisation en parallèle du mélange (traitement chimique) ou de l'aération (traitement thermique) qui s'inscrivent alors dans la gestion classique du fumier. Il n'y a pas de risque d'aérosolisation supplémentaire lié à ce traitement.

Dans le cas 3, le risque d'aérosolisation est plus important que dans le cas précédant puisqu'il faut mélanger/composter du fumier « au repos », ceci étant majoré par le fait que les sites de stockage du fumier peuvent être multiples. D'autres solutions peuvent alors être envisagées : incinérer le fumier (mais là encore il existe un risque d'aérosolisation au moment du chargement/déchargement et du transport du fumier) ou si possible recouvrir le fumier par un désinfectant chimique en surface et le maintenir sous une bâche avant utilisation. Pour les installations classées la réglementation autorise un stockage au champ des fumiers pouvant aller jusqu'à dix mois.

Enfin, l'épandage des fumiers/lisiers traités devrait idéalement être réalisé à distance des habitations et sur des surfaces n'ayant pas pour vocation d'accueillir dans les semaines/mois qui suivent des animaux d'élevage (jachère...).

Le traitement des fumiers/lisiers ne doit pas se faire au détriment complet des normes agronomiques et environnementales. En effet, si les fumiers/lisiers ne peuvent être utilisés en aucune manière, cela compromet leur gestion sur le long terme.

2.3.2 Mesures sanitaires défensives

Elles visent à limiter l'introduction de *Coxiella burnetii* dans les cheptels dont le statut sanitaire favorable est préalablement connu. Cette information n'est disponible que dans un nombre très faible d'élevages pour lesquels seulement tout ou partie des mesures présentées ci-dessous pourraient être mises en œuvre.

2.3.2.1 Précautions lors des introductions/mélanges d'animaux

Cette gestion se fonde sur les mesures suivantes :

- dépistage, exhaustif ou par sondage, chez l'acheteur ou mieux le vendeur, des animaux introduits. Ce dépistage peut être complété ou remplacé par une connaissance, exhaustive ou par sondage, du statut sanitaire du cheptel d'origine ;
- mise en quarantaine des animaux introduits au moins jusqu'à obtention du résultat favorable du dépistage ;
- idéalement, il est préconisé de limiter le risque de contamination pendant le transport du cheptel d'origine vers le cheptel d'arrivée, par exemple par transport direct.

Le contrôle individuel à l'introduction d'animaux dans le troupeau est d'une efficacité très réduite.

Le regroupement de plusieurs animaux à l'occasion de concours, d'estives... pose la même problématique que l'introduction, en multipliant le nombre et en diversifiant les origines des animaux concernés.

2.3.2.2 Précautions vis-à-vis des élevages voisins

La meilleure séparation physique (clôture, voire double clôture espacée d'un mètre) entre les cheptels est souhaitable, d'une manière générale vis-à-vis des maladies infectieuses, afin de limiter le contact entre animaux et par conséquent le risque de contamination. Dans le cas de la fièvre Q, on ne connaît

pas l'intérêt de ces mesures sur la contamination inter-cheptel, surtout si l'on prend en compte la contagiosité particulièrement élevée de cette bactérie et sa dispersion par le vent.

2.3.2.3 Précautions vis-à-vis des autres vecteurs de *Coxiella burnetii*

La très grande contagiosité, la fréquence et la résistance de la bactérie multiplient le nombre de vecteurs actifs (faune sauvage, espèces domestiques autres que les ruminants, nuisibles, arthropodes...) ou passifs (échange de matériel entre exploitations, passage d'intervenants communs...). Toute démarche de prévention dans ce domaine, telle que la séparation des différentes espèces ou la désinfection des matériels en commun, est souhaitable dans le cadre général de la lutte contre les maladies infectieuses. Dans le cas de la fièvre Q l'impact de ces mesures sur la contamination des cheptels n'a pas été évalué.

La mise en place des mesures sanitaires défensives n'est pas généralisable en élevage pour deux raisons :

- **manque de connaissance préalable du statut d'un élevage. Il n'existe d'ailleurs pas de définition précise du statut de cheptel indemne de fièvre Q ;**
- **coût important de ces mesures sanitaires défensives pour une efficacité très limitée compte tenu de la contagiosité et de la fréquence de *Coxiella burnetii*. Ainsi, la station INRA de Tours, malgré des mesures préventives similaires à celles appliquées en laboratoire de recherche, sans comparaison avec les pratiques de l'élevage, n'a pu maintenir indemne un troupeau ovin plus de quatre ans, au voisinage d'un autre troupeau infecté.**

2.4 Vaccins animaux

Plusieurs types de vaccins ont été testés sur souris ou cobayes : vaccins constitués de bactéries entières (WC) phase I ou phase II inactivées au formaldéhyde, de fractions de bactéries phase I ou II inactivées au formaldéhyde et extraits avec du chloroforme-méthanol (CMR, CME), de différentes fractions du LPS phase I ou II ou de protéines de membranes externes. Les meilleurs résultats de protection ont été obtenus avec les vaccins CMRI (phase I) et WCI (phase II) [Kazard *et al.* 1995, Waag *et al.* 1997, Williams *et al.* 1990, Zhang *et al.* 1994]. Les vaccins phase II sont cent fois moins efficaces contre la colonisation de la rate de souris que les vaccins phase I [Gajdosova 1994 *et al.*]. D'autre part l'effet de la vaccination (phase I) sur des souris et cobayes infectés par *Coxiella burnetii* a montré que la vaccination post-infection n'induisait qu'une diminution du nombre d'organes infectés et non une clairance de la bactérie [Kazard *et al.* 1983].

2.4.1 Bovins

Chez les bovins, la plupart des essais de vaccination ont été réalisés sur des animaux replacés en milieu naturellement infecté. La vaccination avec un vaccin phase I semble efficace contre les avortements, l'excrétion dans le lait et la contamination des placentas lorsque des vaches ont été vaccinées et éprouvées ou replacées au sein de troupeaux naturellement infectés, même si certaines continuent d'excréter des quantités très faibles de bactéries dans le lait après vaccination [Behymer *et al.* 1976, Biberstein *et al.* 1977, Sadecky *et al.* 1975 a, Sadecky *et al.* 1975 b, Sadecky et Brezina 1977]. La vaccination sur plusieurs années de troupeaux avec un vaccin phase I ou phase II associée à l'élimination des vaches excrétrices a conduit à l'élimination de l'excrétion dans le lait de ces vaches alors que la vaccination phase II seule ou avec traitement aux tétracyclines ne faisait que diminuer cette excrétion [Durand 1993, Schmeer *et al.* 1987b]. Cependant certaines études restent limitées dans le temps, un contact avec l'agent infectieux n'a pas vraiment été prouvé et l'inhibition de l'excrétion dans le lait pourrait être liée à une évolution normale de la fièvre Q chez ces animaux. Seule l'étude de Behymer [1976] a testé sur trois vaches l'efficacité d'un vaccin constitué de la souche Nine Miles en phase I, vis-à-vis d'une épreuve virulente, et a montré que l'excrétion dans le lait diminuait fortement après la vaccination.

2.4.2 Caprins

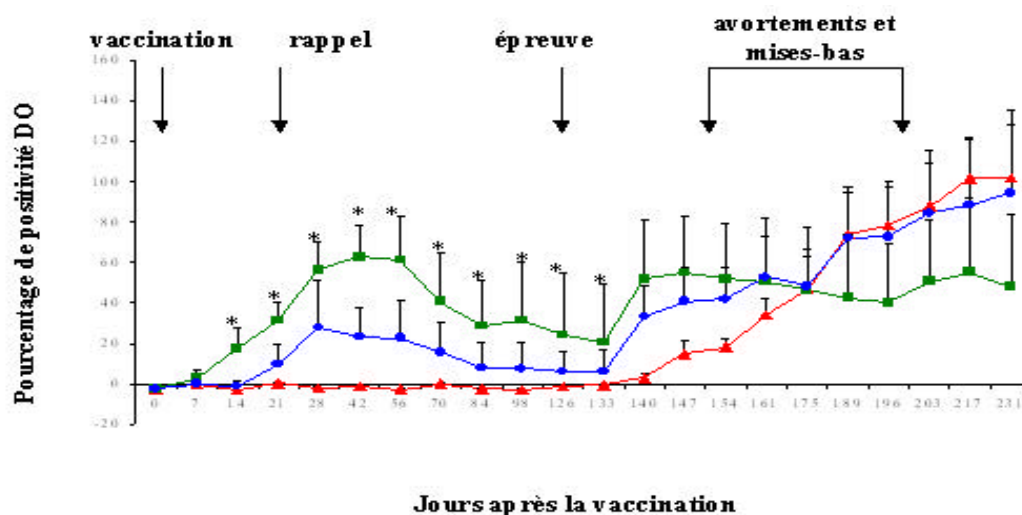
Chez la chèvre, seul un vaccin divalent *Coxiella burnetii* phase II/*Chlamydophila* a été testé pour sa capacité à induire des anticorps spécifiques [Schmeer *et al.* 1987b]. A l'INRA de Tours-Nouzilly, une infection expérimentale de chèvres gestantes a été réalisée pour tester l'efficacité d'un vaccin inactivé phase I et la comparer à celle du vaccin mixte inactivé *Coxiella burnetii* phase II.

Deux lots de chèvres ont été vaccinés respectivement avec le vaccin phase I (lot I) et le vaccin phase II (lot II) six semaines avant la saillie, avec un rappel trois semaines après la première injection. Les chèvres de ces deux lots, ainsi que celles d'un troisième lot non vacciné (lot NV), ont été éprouvées à quatre vingt quatre jours de gestation par voie sous-cutanée dans la région pré-scapulaire avec 10^4 *Coxiella burnetii* souche CbC1 et placées dans une bergerie confinée de sécurité de niveau trois. Les taux de mises

bas pathologiques (avortement, mortinatalité) chez les chèvres vaccinées avec le vaccin phase I sont équivalents à ceux du lot non inoculé (lot NI) et les contaminations placentaires chez ces chèvres ont été fortement réduites par rapport à celles des chèvres des lots II et NV, similaires entre eux (diminution du nombre de bactéries d'un facteur 10^6 à 10^7 dans les placentas) (Tableau XV). Les excréctions vaginales et fécales ont été fortement réduites dans le lot I (diminution du nombre de bactéries d'un facteur 10^4 à 10^5 dans les sécrétions vaginales) et aucun prélèvement de lait n'a été retrouvé positif pour ces chèvres. L'excrétion des chèvres du lot II a été similaire à celle du lot NV. Les chèvres du lot I ont eu une réponse sérologique après la vaccination puis une diminution du taux d'anticorps (Figure 4). Après l'inoculation, les chèvres ont fait en moyenne une réponse sérologique modérée, ce qui traduit une maîtrise de la multiplication bactérienne. Les chèvres du lot II n'ont eu qu'une faible réponse sérologique après la vaccination, ce qui montre que les antigènes de phase II sont moins immunogènes que ceux de phase I, mais une augmentation rapide et constante du taux d'anticorps anti-*Coxiella burnetii* après l'épreuve, ce qui traduit une multiplication importante des *Coxiella burnetii*. Le taux d'anticorps pour le lot NV a augmenté progressivement après l'inoculation et six semaines après, il était comparable à celui des chèvres vaccinées avec le vaccin phase II.

Tableau XV : Mises bas pathologiques, contamination des placentas, des chevreaux et des chèvres et excrétion dans les fèces, les sécrétions vaginales et le lait après épreuve avec 10^4 *Coxiella burnetii* souche CbC1 de chèvres gestantes non vaccinées (Lot NV) ou vaccinées avec un vaccin phase I (lot I) ou un vaccin phase II (lot II), comparées à un lot de chèvres non inocuées (lot NI). La détection des *Coxiella* a été réalisée à l'aide de la PCR

	Lot NV	Lot II	Lot I	Lot NI
Nombre de chèvres	12	15	16	27
Durée de gestation	141 (± 8)	134 (± 15)	153 (± 3)	150 ($\pm 1,8$)
% mise bas pathologiques	75	87	6*	15
% placentas positifs (PCR)	100	90	30*	
% fœtus positifs (PCR)	62	44	8*	
Nombre de chèvres ayant au moins 1 organe positif	0	6*	0	
Durées moyenne d'excrétion (j)				
Fèces	27	28	10*	
Sécrétions vaginales	22	16	1.5*	0*
Lait	17	14	0*	0*



Lot de chèvres non vaccinées (▲)

Lot de chèvres vaccinées avec le vaccin phase I CEVA (■)

Lot de chèvres vaccinées avec le vaccin phase II Merial (●)

* différences significatives entre les trois groupes ($P < 0.01$).

* : différence significative par rapport aux autres lots (test de Kruskal-Wallis)

Figure 4 : Réponses sérologiques des chèvres après vaccination et épreuve. Le taux d'anticorps a été mesuré à l'aide du kit ELISA (CHEKIT-Q-Fever enzyme immuno-assay kit ; Bommeli diagnostics, Switzerland) qui permet de détecter les anticorps anti-phase I et anti-phase II

Les résultats cliniques et bactériologiques indiquent clairement que le vaccin phase I protège les chèvres contre l'avortement et l'excrétion dans le lait lorsqu'elles ont été infectées à mi-gestation par *Coxiella burnetii* CbC1, qu'il diminue considérablement l'excrétion dans les fèces et les sécrétions vaginales et que le vaccin phase II n'est pas efficace dans ces conditions. Par ailleurs, des patients d'un centre d'accueil pour handicapés ont contracté la fièvre Q à la suite de contacts directs avec des chèvres vaccinées avec ce vaccin divalent phase II ou après ingestion de fromage au lait cru issu de ces chèvres qui excrétaient des bactéries dans le lait [Fishbein et Raoult 1992]. Il semble donc que même en condition d'infection naturelle, ce vaccin phase II, n'empêche pas l'excrétion des *Coxiella burnetii* par les chèvres.

2.4.3 Ovins

Plusieurs études ont été réalisées sur les ovins, mais seule la réponse sérologique a été prise en compte. L'étude de Brooks *et al.* [1986] a montré que deux vaccins phase I WC et CMR réduisaient la contamination placentaire et inhibaient l'excrétion dans le colostrum après une épreuve à cent jours de gestation avec 10^4 *Coxiella burnetii* souche Nine Mile. Une autre étude réalisée sur six brebis a montré que la vaccination avec un vaccin phase I administré à sept semaines de gestation avait prévenu l'excrétion dans le lait de brebis provenant d'un troupeau naturellement infecté [Sadegy *et al.* 1977].

2.4.4 Conclusion

La vaccination est la stratégie la plus logique de prévention de la fièvre Q chez les sujets exposés et chez l'animal. Les vaccins constitués de *Coxiella burnetii* en phase I sont plus efficaces que ceux constitués de *Coxiella burnetii* en phase II chez la souris et chez la chèvre (vaccin phase II inefficace dans les conditions expérimentales), et les animaux séronégatifs développent plus rarement des réactions secondaires que les animaux séropositifs. Chez les bovins et les ovins, aucune étude n'a été réalisée pour comparer ces deux vaccins, mais des résultats similaires à ceux obtenus chez la chèvre devraient être observés.

Ni le traitement antibiotique, ni le vaccin phase II disponible n'empêche l'excrétion de *Coxiella burnetii* par les ruminants dans le lait, les sécrétions vaginales et les fèces. En revanche, le vaccin en phase I préviendrait cette excrétion. En effet, expérimentalement, les vaccins inactivés en phase I réduisent très efficacement la fréquence des avortements et plus efficacement encore l'excrétion dans le lait. Ils réduisent considérablement la durée de l'excrétion fécale et vaginale ainsi que la quantité de bactéries excrétée. Les vaccins inactivés en phase II ne réduisent, ni le nombre d'avortements, ni l'excrétion vaginale, fécale ou dans le lait.

3 Recommandations

La fièvre Q constitue incontestablement une préoccupation plus importante pour la santé publique que pour la santé animale. Les mesures de gestion du risque doivent donc essentiellement viser à limiter le risque de contamination humaine.

Encadré Afssa n°1

Compte tenu des éléments développés dans le rapport, l'Afssa estime que l'affirmation selon laquelle "la fièvre Q est incontestablement une préoccupation plus importante pour la santé publique que pour la santé animale" mériterait d'être nuancée en l'absence à ce jour d'une estimation précise de l'incidence de cette pathologie chez l'animal. Les raisons principales en sont :

- *une connaissance imparfaite des signes cliniques chez l'animal (comme chez l'homme) (voir § 1.2.2.1.) ;*
- *un déficit d'outils diagnostiques fiables et validés en conditions de terrain (voir § 1.2.2.4.) ;*
- *un défaut d'investigation systématique de certaines situations pathologiques chez l'animal (avortements...) (voir § 1.3.2.).*

Philippe Vannier et Muriel Eliazewicz

La plupart des contaminations humaines provient des ruminants domestiques. Cependant, il paraît important de souligner que le principal risque d'exposition des populations humaines, outre le contact direct avec des animaux infectés, correspond à la **voie aérienne**, difficile à contrôler. La voie alimentaire, si elle semble plus aisée à contrôler, ne correspond en fait qu'à un mode de contamination mineur (voir les conclusions du CES microbiologie de novembre 2003, consulté sur l'efficacité de la pasteurisation du lait vis-à-vis de *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q), tout en rappelant que les conséquences de la contamination diffèrent suivant les différents types de populations concernées (ex : immunodéprimés, les valvulopathes, les femmes enceintes).

La suppression du risque de contamination humaine en France à partir des élevages de ruminants ne pourrait être atteinte que par une éradication de l'infection dans ces espèces. Or cette éradication n'apparaît pas actuellement réaliste :

- la prévalence de l'infection animale est mal connue mais probablement assez élevée ;
- les moyens techniques disponibles pour le dépistage sont actuellement encore insatisfaisants ;
- les moyens humains et financiers nécessaires seraient considérables ;
- les délais pour aboutir seraient très importants ;
- le risque de recontamination des cheptels assainis, en particulier lié à une mauvaise connaissance épidémiologique, est important ;
- la disponibilité de vaccin(s) capable(s) d'assurer une maîtrise de l'excrétion chez l'animal n'est pas assurée. De plus, il faudra évaluer leur efficacité en milieu infecté ;
- les risques liés aux carnivores domestiques et à la faune sauvage persisteraient.

Les efforts doivent donc prioritairement porter sur une meilleure connaissance de l'épidémiologie de la maladie chez les ruminants ainsi que sur une réduction du risque de contamination, en particulier pour les personnes présentant des facteurs aggravants.

Les experts recommandent donc :

- des études et des recherches visant à mieux connaître la situation épidémiologique chez les ruminants ;
- l'instauration de mesures nouvelles afin de limiter les risques de contamination du milieu extérieur par les foyers de fièvre Q chez les ruminants et particulièrement l'étude de la mise en œuvre, sans délai, de mesures de certification des élevages ;
- l'information du corps médical et des personnes présentant des facteurs aggravants dans le but d'une prévention ciblée et d'une meilleure détection de l'infection ;
- des études et des recherches visant à améliorer la connaissance sur la bactérie et sa transmission.

3.1 Recommandations pour mieux connaître l'épidémiologie de la fièvre Q chez les ruminants

La situation épidémiologique chez les ruminants est encore mal connue et cette méconnaissance rend les choix sanitaires délicats. En conséquence, il serait souhaitable de mieux identifier les élevages en phase d'excrétion présentant des risques pour la santé publique afin d'optimiser les propositions de mesures de gestion.

Dans cet esprit, le groupe de travail s'est penché sur :

- les avantages et les inconvénients (tableau XVI) de l'inscription de la fièvre Q dans la liste des maladies animales à déclaration obligatoire ;
- l'opportunité de mesures générales concernant les exploitations commercialisant du lait cru ou des produits frais au lait cru.

3.1.1 Avantages et inconvénients de l'inscription de la fièvre Q dans la liste des maladies animales à déclaration obligatoire

Tableau XVI : Avantages et inconvénients de l'inscription sur la liste des MADO de la fièvre Q chez les ruminants

Avantages	Inconvénients
Identification des foyers de fièvre Q afin de limiter les risques zoonotiques	Mesures réglementaires actuelles sur le lait et les produits au lait cru issus des élevages infectés dissuasives (en termes de coût et de contraintes) pour la déclaration par les éleveurs
Meilleure connaissance épidémiologique de la situation en France	Outils techniques de diagnostic des élevages excréteurs non encore validés
Manifestation de l'intérêt des pouvoirs publics pour cette zoonose, en terme de protection de la Santé Publique	Outils de gestion du risque (y compris la vaccination) non encore validés
	Perception assez négative de la DO en général par le monde de l'élevage, risquant de freiner la déclaration des cas

Tout en reconnaissant l'intérêt de l'inscription de la fièvre Q sur la liste de maladies à déclaration obligatoire, les experts considèrent cette mesure prématurée car, alors que les moyens scientifiques et techniques validés font défaut et que les outils réglementaires sont inappropriés, cette mesure aboutirait, paradoxalement, à limiter l'information sur la répartition des foyers.

En effet :

- l'inscription actuelle risquerait, compte tenu des inconvénients cités dans le tableau XVI, d'avoir un effet paradoxal contraire à l'objectif visé. En revanche, des mesures incitatives (aide au diagnostic et/ou à la vaccination) permettraient d'améliorer la perception actuellement négative des éleveurs de cette déclaration obligatoire ;
- la réglementation actuelle sur le lait cru est un puissant frein à cette déclaration ; il conviendrait de revoir cette réglementation (et ses instructions d'application) puisque le risque principal est lié à une contamination aérienne ;
- les outils de diagnostic et de gestion doivent au préalable être validés sur le terrain. Une phase de gestion « test » permettrait d'aboutir progressivement à des recommandations de mesures appropriées de prévention et de contrôle sur le terrain pour limiter le risque de transmission.

Pour obtenir une meilleure information sur la situation sanitaire dans cette phase transitoire, les experts recommandent donc que soit mise en place une centralisation nationale des travaux, conduits au plan local, par les organismes professionnels agricoles ou vétérinaires.

A cet effet, les experts recommandent que soit étudiée, sans délai, les conditions de la mise en œuvre de mesures de certification des élevages, qui permettraient :

- l'évaluation sur le terrain des outils de diagnostic et de lutte ;
- la définition, au niveau national, d'un référentiel technique de certification ;
- l'adhésion des éleveurs à des mesures de maîtrise concernant la fièvre Q ;
- une meilleure connaissance épidémiologique de la situation grâce à la centralisation des données.

3.1.2 Opportunité de mesures concernant les exploitations commercialisant du lait cru ou des produits frais au lait cru

Compte tenu du fait que la voie alimentaire est une voie de contamination mineure, il ne paraît ni souhaitable, ni justifié de préconiser des mesures d'application générale pour le lait cru. En effet, sachant qu'un nombre d'élevages inconnu, mais probablement grand, est excréteur sans être identifié et que la généralisation d'une recherche de *Coxiella burnetii* sur les laits est irréaliste, de telles mesures nécessairement contraignantes, auraient un caractère discriminatoire et conduiraient donc à une sous information concernant les foyers, aboutissant à un bilan négatif au plan de la protection de la santé publique (pas de réduction du risque de transmission par voie aérienne).

Cependant, les élevages commercialisant du lait cru ou des produits frais au lait cru devraient être encouragés à s'engager dans un processus de certification.

3.2 Recommandations concernant les foyers de fièvre Q chez les ruminants

La multiplicité de réservoirs et des vecteurs, la diffusion principalement aérienne de la bactérie et sa grande résistance à la dessiccation rendent difficilement envisageables une politique d'éradication.

En revanche, l'origine principale de l'infection humaine étant les ruminants, l'efficacité des mesures permettant de diminuer l'excrétion des ruminants domestiques infectés (mesures d'hygiène, traitement antibiotique et vaccination avec un vaccin phase I) doit être validée.

Bien que, parmi les élevages contaminés, la distinction entre élevages excréteurs et non excréteurs soit difficile, les experts recommandent, dans un premier temps, d'appliquer les mesures techniques dans les troupeaux avec signes cliniques ou reliés à une infection humaine et de les valider.

De manière pratique, devant un foyer de *Coxiella burnetii* (troupeau avec signes cliniques ou relié à une infection humaine, identifié par PCR et ELISA), pour diminuer le risque de transmission à d'autres troupeaux ou à l'homme, les experts recommandent à ce jour :

- l'application des mesures d'hygiène décrites précédemment (§ 2.3.1.2) ;
- le traitement des femelles gestantes par des antibiotiques actifs sur *Coxiella burnetii* durant le dernier mois de gestation (§ 2.2) ;
- la vaccination avec un vaccin en phase I de tous les animaux de ce troupeau et des troupeaux voisins pendant une durée suffisante pour limiter la diffusion de la bactérie (§ 2.4) ;
- l'application des recommandations pour la protection de la santé humaine autour des foyers (§ 1.3.1.3).

A ce titre, les experts rappellent que seul le lait des animaux en parfait état sanitaire est livré à la consommation humaine (article R224-60 du Code Rural).

Par ailleurs, les experts recommandent que les modalités pratiques d'un plan d'assainissement des troupeaux infectés soient définies au plan national et validées sur le terrain, en concertation avec les organismes professionnels, agricoles et vétérinaires.

Encadré Afssa n°II

L'Afssa recommande :

- de mettre en place, par voie réglementaire ou contractuelle et de manière progressive, un plan d'assainissement de la fièvre Q ;
- de mettre en place une étude pilote sur le terrain, permettant de valider les outils de diagnostic et de prévention restants ;
- d'initier un processus de certification, dès lors que des outils de dépistage fiables seront disponibles, dans les élevages produisant du lait cru ou des fromages au lait cru et de faire évoluer cette certification au fur et à mesure de la validation progressive des outils de diagnostic ;
- de ne pas faire consommer de lait cru et de produits à base de lait cru (comme cela est déjà recommandé par ailleurs) aux personnes fragilisées, en effet, même s'il apparaît bien établi que la voie respiratoire est la voie de contamination de l'homme, à partir d'animaux infectés et excréteurs, la plus importante et la plus fréquente, il faut rappeler que le lait des animaux infectés peut contenir *Coxiella burnetii* à des concentrations qui peuvent aller jusqu'à 1000 doses infectant le cobaye (voir annexe I du rapport). De plus, il a été observé des séro-conversions chez des consommateurs de lait cru avec une expression clinique inconstante dans des conditions où la contamination par voie aérienne semblait peu probable (voir annexe I du rapport).
- en plus des mesures préconisées dans le rapport pour l'assainissement des élevages infectés et identifiés comme excréteurs de *Coxiella burnetii* (mesures d'hygiène, traitement antibiotique, vaccination...), de pasteuriser (pasteurisation basse à 72°C pendant 15 secondes), le lait provenant de ces élevages.

Philippe Vannier

3.3 Recommandations concernant la protection de la sante humaine

Sachant que la prévalence de la fièvre Q humaine est sous-estimée, il convient en priorité de mieux informer les professionnels de santé sur les différentes formes cliniques que peut prendre la maladie. Des fiches d'information sont disponibles sur le site internet du Centre national de référence : <http://ifr48.free.fr/recherche/labo/rickettsies/rickettsies.html>.

Indépendamment de cette information destinée au milieu médical, il est également nécessaire de mettre en place des moyens d'information en direction de la population présentant des facteurs aggravants.

- Sachant que l'importance de l'exposition à *Coxiella burnetii* varie pour les trois populations distinguées dans ce rapport (« population générale », « population rurale » et « population en contact direct des ruminants ») ;
- Sachant que la gravité des conséquences varie en fonction de la situation de chaque individu vis-à-vis de facteurs aggravants personnels (patients porteurs de valvulopathies cardiaques, patients immunodéprimés et femmes enceintes),

Il convient de formuler des recommandations, à destination des praticiens d'une part, de la population présentant des facteurs aggravants d'autre part, tenant compte de ces différentes catégories d'exposition et de la situation sanitaire particulière des individus.

3.3.1 Information des professionnels de santé

Dans le cas de la **population générale**, les praticiens devraient savoir évoquer le diagnostic de fièvre Q devant un syndrome pseudo-grippal (fièvre, myalgies, arthralgies, asthénie), une pneumopathie, une hépatite modérée, ou une fièvre isolée non expliquée, en particulier quand un contexte d'exposition à des ruminants ou un contact avec un animal ayant mis bas est évoqué à l'interrogatoire.

Toute femme enceinte, présentant une fièvre inexpliquée ou dont l'issue de la grossesse est anormale (avortement tardif, hypotrophie fœtale), devrait bénéficier d'une sérologie de la fièvre Q.

Tout patient atteint d'une valvulopathie, porteur d'une valve cardiaque prothétique ou d'une prothèse vasculaire, devrait bénéficier d'une sérologie de la fièvre Q devant une fièvre inexpliquée ou une asthénie.

Tout patient ayant une fièvre Q aiguë devrait bénéficier d'un dépistage des valvulopathies, afin de traiter préventivement le passage à la chronicité.

Dans le cas des « **populations rurales** » et des « **populations en contact direct des ruminants** », les praticiens devraient procéder à un dépistage clinique systématique des valvulopathies, permettant

une information et un suivi régulier des patients. Une sérologie de la fièvre Q devrait être pratiquée au moindre doute clinique. Chez les femmes enceintes, un dépistage sérologique de la fièvre Q devrait être pratiqué systématiquement en début de grossesse.

Les praticiens devraient recommander à l'ensemble des sujets présentant des facteurs aggravants et dont le résultat de l'examen sérologique vis-à-vis de la fièvre Q est négatif, de limiter l'exposition aux sources potentielles de contamination en évitant leur contact avec les produits des mises bas, le contact avec tout mammifère nouveau-né, la manipulation du gibier, la fréquentation des élevages et des fermes, y compris fermes pédagogiques, la consommation de lait cru ou de produits frais au lait cru (mesure de prévention largement diffusée auprès des femmes enceintes, notamment dans le cadre de la lutte contre la listériose).

Les mesures d'éviction décrites ci-dessus devraient également être rappelées par le vétérinaire lors de la confirmation d'un **foyer de fièvre Q**.

Par ailleurs, lorsqu'un vaccin humain sera disponible, les indications seront à discuter en fonction de l'exposition et du risque individuels.

Encadré Afssa n°III

L'Afssa considère que l'interrogation d'instances telles que l'InVS ou la section « Maladies transmissibles » du CSHPF serait de nature à apporter un éclairage complémentaire sur les points concernant d'une part le périmètre de définition des populations à risque, et d'autre part, l'équivalence des recommandations relatives aux populations dites « en contact direct étroit et habituel » avec celles présentant une exposition « rurale directe ou indirecte ».

Muriel Eliaszewicz

3.3.2 Information des personnes présentant des facteurs aggravants

Il conviendrait, en terme de prévention, de diriger ces informations vers les personnes présentant des facteurs aggravants.

Pour les patients atteints de valvulopathies cardiaques, les patients immunodéprimés et les femmes enceintes, il devrait être recommandé de limiter le risque d'exposition en évitant d'assister à des mises bas, en évitant le contact avec tout mammifère nouveau-né, la manipulation du gibier, la fréquentation des élevages et des fermes pédagogiques, la consommation de lait cru ou de produits frais au lait cru.

Pour les populations ne présentant pas les facteurs de risque ci-dessus évoqués, il n'y aurait pas de recommandation particulière à formuler.

3.4 Recommandations sur les études et les recherches à poursuivre pour améliorer les connaissances sur la bactérie et les outils nécessaires à sa maîtrise

Les experts ont identifié :

- des lacunes de connaissances et des aspects controversés qui les ont gênés dans la caractérisation du risque ;
- l'imperfection ou le manque de validation des outils nécessaires à sa gestion.

Des recherches ciblées sur la bactérie et sur sa transmission doivent être suscitées. Il est également fondamental de disposer d'outils fiables et rapides dont la qualité conditionne l'efficacité des plans d'assainissement.

3.4.1 Recherche sur la bactérie et sa transmission

Ecologie de la bactérie

Pour proposer des mesures appropriées de prévention, limitant le risque de transmission, il est indispensable de connaître avec précision la survie de *Coxiella burnetii* dans différentes conditions écologiques. Des études de la survie de *Coxiella burnetii* dans l'environnement, les sols, les fumiers et lisiers, les produits au lait cru selon les différentes technologies de fabrication et d'autres aliments crus devraient être entreprises.

Il faudrait également vérifier si les propriétés d'extrême résistance de la bactérie sont strictement associées à son stade « pseudo-sporulé ».

Ces études nécessiteront la mise au point préalable d'un test de quantification, permettant de déterminer la concentration des bactéries présentes dans l'environnement et les aliments, ainsi que d'un test rapide de viabilité. Les techniques actuelles de mise en évidence de la viabilité de *Coxiella burnetii* sont en effet lourdes à mettre en œuvre, car elles nécessitent l'inoculation d'animaux de laboratoire, d'œufs embryonnés ou de cultures cellulaires.

Virulence des souches

La gravité ou la forme que peut prendre la maladie humaine (endocardites, avortements, fatigue chronique) ou encore le caractère enzootique de l'infection chez les ruminants dans certaines régions, par rapport à des foyers explosifs dans d'autres, pourraient être liés à la différence de virulence des souches. A l'instar des facteurs de l'hôte, l'existence possible de différences de virulence parmi les souches devrait donc être étudiée.

La relation avec l'espèce hôte (voire les possibilités d'atténuation ou d'amplification de la virulence au sein d'un réservoir) devrait être analysée.

De plus, les propriétés de sporulation et de survie, ayant des conséquences sur la persistance chez l'hôte et la résistance dans l'environnement, devraient être étudiées.

Ces études nécessiteront la mise au point préalable de modèles de mesure de la virulence.

Pathogénie

Aujourd'hui, seuls les avortements permettent de suspecter la maladie animale chez les trois espèces de ruminants domestiques, alors que d'autres manifestations cliniques devraient être prises en compte pour orienter le diagnostic de la fièvre Q. Une attention particulière devrait être accordée aux problèmes d'infertilité évoqués ces dernières années chez les vaches, dont l'impact économique pourrait être important.

Une meilleure connaissance de l'immunopathogénèse est requise, incluant des précisions sur les différentes étapes de l'infection (récente ou ancienne, clinique ou inapparente), la circulation de la bactérie chez l'hôte infecté et les sites de persistance (organes, types cellulaires), ainsi que les modalités, cinétiques et durées d'excrétion chez les trois espèces de ruminants. A cet effet, la recherche de *Coxiella burnetii*, notamment dans le lait, les matières fécales et les sécrétions vaginales, devrait être entreprise à l'occasion des enquêtes épidémiologiques réalisées dans les foyers de fièvre Q.

Ces connaissances sont essentielles pour permettre de mieux détecter l'infection et les facteurs modulant l'excrétion, et donc, d'optimiser la gestion des risques sur le terrain.

3.4.2 Recherche sur les outils de maîtrise

Diagnostic indirect

- Chez les ruminants : Il est important de rappeler que le diagnostic d'avortement dû à la fièvre Q est souvent présomptif d'autant que la recherche d'autres étiologies n'est pas souvent réalisée. Enfin, il faut attirer l'attention sur la méconnaissance des relations entre la prévalence sérologique et l'excrétion de *Coxiella burnetii*.

Il serait donc indispensable de préciser la sensibilité et la spécificité des outils disponibles ou mis en place dans le futur (Chap. I.2.2.2. Outils disponibles en médecine vétérinaire) et de les évaluer en fonction de l'application ciblée : diagnostic clinique ou dépistage de l'infection. Il serait ainsi intéressant de développer des tests sérologiques :

- discriminant une infection ancienne ou récente ;
- permettant le dépistage des animaux excréteurs ;

- permettant de distinguer les animaux infectés des animaux vaccinés.
- Autres espèces animales : Les techniques sérologiques nécessiteraient d'être adaptées aux espèces autres que les ruminants.

Diagnostic direct

Les outils pour rechercher *Coxiella burnetii* dans l'environnement, y compris sous forme de pseudo-spores, devraient également, être développés et validés. La mise en place d'une veille épidémiologique dépend de la fiabilité et du coût des outils. Au niveau vétérinaire, il est urgent d'évaluer les outils disponibles et d'en développer d'autres pour conduire les enquêtes sur la prévalence et les modalités de diffusion de *Coxiella burnetii*, non seulement dans les réservoirs notoires (ovins, caprins et bovins) mais aussi chez les espèces généralement moins visées par de telles enquêtes (chiens, chats, oiseaux, lagomorphes, petits rongeurs, tiques). Les techniques par PCR seront privilégiées, mais en gardant à l'esprit les précautions à prendre pour obtenir un résultat valide : problèmes de résultats faussement négatifs (présence d'inhibiteurs, existence éventuelle d'une variabilité génétique) ou de résultats faussement positifs (contaminations au laboratoire, réactions croisées avec d'autres espèces bactériennes).

Recherche de marqueurs moléculaires des souches

Des marqueurs antigéniques et génomiques devraient être recherchés pour distinguer les souches au sein de l'espèce bactérienne. Ces marqueurs seraient utiles pour identifier les sources de contamination, mais aussi pour déterminer les réservoirs et les vecteurs impliqués, étudier les modes de transmission, et comparer les souches des patients et celles des sources potentielles de contamination. Il serait ainsi possible d'approfondir les enquêtes cas/témoin afin de mieux appréhender le rôle des différentes voies de transmission, notamment celui de la voie orale. Enfin, il serait possible de mesurer l'efficacité des stratégies de contrôle de l'infection et tout particulièrement l'efficacité du vaccin vis-à-vis des souches présentant des différences antigéniques avec la souche vaccinale.

Vaccination

Le suivi sérologique des troupeaux vaccinés en milieu infecté et celui de la réponse à médiation cellulaire permettraient de connaître la durée de l'immunité obtenue par la vaccination et de définir plus précisément le mode d'application requis pour protéger tous les animaux d'un troupeau (nombre d'années de vaccination, vaccination de tous les animaux ou seulement des jeunes, nécessité de rappels). Théoriquement, pour permettre de définir la stratégie vaccinale à adopter, le taux de transmission devrait être connu également, c'est-à-dire le nombre d'animaux que chaque individu infecté est susceptible d'infecter. Par exemple, si l'infection progresse lentement, il conviendrait, en cas d'apparition de la fièvre Q, de vacciner dans un périmètre donné.

ANNEXE I

Transmission de *Coxiella burnetii* par le lait cru

Extrait du rapport du CES microbiologie

« Historiquement, la maladie a été décrite la première fois en 1935 chez des employés d'abattoir en Australie, et dénommée fièvre Q (première lettre du mot anglais « query » signifiant question). La même année la découverte fut aussi faite aux États-Unis d'une maladie transmise par des tiques, dénommée fièvre éruptive des Montagnes Rocheuses puis fièvre de « Nine Mile ». Il fut rapidement déterminé que l'agent causal était le même en Australie et aux États-Unis [Marrie et Raoult 1997]. Ultérieurement, on attribua au lait cru la responsabilité de cas de fièvre Q (voir plus loin), et l'on se préoccupa de mesurer la thermorésistance de l'agent causal aujourd'hui connu sous le nom de *Coxiella burnetii*. Comme il sera exposé plus loin, les barèmes de pasteurisation furent rendus plus sévères aux États-Unis à partir de 1957 [Anonyme 1957], car *C. burnetii* était plus résistante à la chaleur que *Mycobacterium bovis* pour lequel les barèmes étaient adaptés jusque là. Depuis, la définition de la pasteurisation du lait de la Fédération internationale de laiterie [Staal 1986], reprise par le Codex alimentarius [Anonyme 2003c], fait référence à *C. burnetii*, et on trouve souvent dans les informations générales sur la fièvre Q qu'il faut pasteuriser le lait, ou ne pas consommer de lait cru ou de produits au lait cru [Kazar et Brezina 1991, Brouqui *et al.* 1993, Hahn et Koch 1993, Tissot-Dupont et Raoult 1993, Vincent et Desjardins 2001, Kotton 2002, Maltezos et Raoult 2002, Anonyme 2003d, Rousset, Arricau Bouvery *et al.* 2003]. *C. burnetii* est une rickettsie portée par un grand nombre d'acariens et d'insectes, et a été observée chez la plupart des animaux domestiques ainsi que chez des mammifères sauvages, dans le monde entier sauf en Nouvelle Zélande (Marrie T. et Raoult 1997). C'est un parasite obligatoire, de sorte que le moyen traditionnel de mise en évidence ou de dénombrement est le passage sur des animaux de laboratoire, comme le cochon d'Inde, la souris ou le hamster. Chez l'homme, la fièvre, la pneumonie et l'hépatite sont les manifestations les plus fréquentes, parfois suivies de complications. Lorsque la maladie est apparente, la létalité est de 1% (Raoult *et al.* 2000) Toutefois l'infection peut rester inapparente, ne se traduisant que par une séroconversion. Chez l'animal, la maladie parfois dénommée coxiellose revêt plusieurs formes : ce sont les avortements et les naissances sans vie qui posent le plus de problèmes aux éleveurs (Marrie et Raoult 1997, Rousset *et al.* 2001). Le lait des animaux infectés contient *C. burnetii* à des concentrations qui peuvent aller jusqu'à 1.000 doses infectant le cobaye (Enright, Sadler *et al.* 1957a).

La voie la plus fréquente d'infection par *C. burnetii* est la **voie respiratoire**. La maladie apparaît après inhalation d'aérosols provenant d'animaux de rente ou d'animaux de compagnie infectés (bovins, caprins et ovins, lapins, chiens et chats), dans les élevages, dans les abattoirs ou dans les laboratoires où ces animaux ou leur organes sont étudiés. Les aérosols peuvent provenir de liquides infectés tels que l'urine, les liquides accompagnant la délivrance, et le lait (Anonyme 2002c). Les personnes atteintes ont été en contact rapproché ou direct avec les animaux malades, ou se sont simplement trouvés à proximité ou sous le vent d'un troupeau infecté, par exemple comme spectateurs de la transhumance. C'est donc une maladie fréquente chez les personnels concernés ainsi que chez les vétérinaires [Acha et Szyfres 1989, Jorm *et al.* 1989, Connolly *et al.* 1990, Connolly *et al.* 1990, Fishbein. et Raoult 1992, Brouqui *et al.* 1993, Thomas *et al.* 1995, Manfredi *et al.* 1996, Pebody *et al.* 1996, Armengaud *et al.* 1997, Lytikäinen O *et al.* 1997, Serbezov *et al.* 1999, Tissot-Dupont *et al.* 1999, Baret *et al.* 2000, Norlander 2000, Petersen *et al.* 2000, Hatchette *et al.* 2001, Hellenbrand *et al.* 2001, Nebreda *et al.* 2001, Rousset *et al.* 2001, Vincent C et Desjardins 2001, Anonyme 2002e b a c, Benoist *et al.* 2002, Carrieri *et al.* 2002, Cekanac *et al.* 2002, Kotton 2002, Kovacova et Kazar 2002, Maltezos et Raoult 2002, Stiles 2002, Anonyme 2003a d e, Rey *et al.* 2003, Rousset *et al.* 2003, Weise 2003]. En France, la fièvre Q figure dans la liste des maladies professionnelles du régime général (tableau n°53) et du régime agricole (tableau n°49) pour « manifestations cliniques aiguës ; manifestations chroniques : endocardite, hépatite granulomateuses » et la liste limitative des travaux susceptibles de provoquer la fièvre Q est : « Travaux exposant au contact des bovins, caprins, ovins, leurs viscères ou leurs déjections. Travaux exécutés dans les laboratoires effectuant le diagnostic de la fièvre Q ou des recherches biologiques vétérinaires » (voir par exemple perso.wanadoo.fr/mgd/epi-path/doc/MalPro_RGeneral.pdf et perso.wanadoo.fr/mgd/epi-path/doc/MalPro_RAgricole.pdf).

Une autre voie d'infection est l'injection lors d'une **morsure d'arthropode** hématophage [Wegener 1957, Kazar et Brezina 1991, Tissot-Dupont et Raoult 1993, Domingo *et al.* 1999, Baret *et al.* 2000, Kotton 2002, Anonyme 2003d].

La transmission **de personne à personne** n'est pas considérée comme significative (Marrie et Raoult 1997).

La **voie buccale fait l'objet d'une controverse**. Certains sont convaincus de l'importance de cette modalité d'infection. D'autres au contraire expriment que la voie buccale, si elle conduit à une séroconversion, elle ne provoque pas pour autant la fièvre Q elle-même et ne doit donc pas être redoutée pour la santé publique. Il existe bien sûr des points de vue intermédiaires. Voyons cela.

L'opinion en cours il y a quarante cinq ans est résumée dans l'article remarquablement documenté (246 références) de KH Wegener [Wegener 1957] :

« Le lait est la source la plus significative parmi les produits animaux. [...] Le personnel des laiteries et leurs familles avec la plus importante utilisation de lait cru sont fortement infectés dans les régions à problème que sont l'Amérique et l'Italie du Nord ».

Cet auteur citait une étude nord-américaine où, sur 1.701 personnes qui avaient consommé du lait cru, 10,7% étaient séropositives, alors que chez des personnes n'ayant consommé que du lait pasteurisé, le taux de séropositivité était seulement de 0,7%. K.H. Wegener mentionnait ensuite la persistance de *C. burnetii* pendant 41 jours dans le beurre fabriqué avec de la crème non chauffée. Pour noircir le tableau, mentionnons aussi la survie 42 jours dans le fromage Cottage, mais rassurons à propos du lait acidifié, du kéfir et du lactosérum, où la survie serait limitée à 2 jours [Sipka 1959, Lerche 1965.; Mitscherlich et Marth 1984]. Une publication de la même époque est toujours citée de façon quasi-systématique [Marmion B et Stoker 1958, Connolly *et al.* 1990]. Voici la citation intégrale des arguments utilisés par ces derniers auteurs :

"Bien qu'il y ait eu un ou deux épisodes dans lesquels des spectateurs autres que le propriétaire des troupeaux ou des vétérinaires avaient été infecté à la naissance d'un veau, le véhicule principal par lequel la fièvre Q passe du bétail à l'homme en Angleterre apparaît être le lait. La part prise par le lait dans la causalité de la fièvre Q a été montrée dans deux villes de la zone 8 du Kent. Dans ces villes il a été trouvé qu'il y avait prépondérance d'utilisateurs de lait cru parmi les patients avec fièvre Q lorsqu'on compare à un groupe témoins de patients souffrant d'autres formes de fièvre ou de pneumonie. La majorité des cas de fièvre Q, et aussi la proportion la plus élevée d'adulte en bonne santé ayant une preuve sérologique d'infection, a été trouvée parmi les clients de cinq laiteries de détail particulières sur un total de 16 ou 17 qui vendent du lait dans les deux villes. La présence de rickettsie a été démontrée dans le lait fourni à deux des cinq laiteries.

Une infection d'autres provenances que le lait semblait improbable dans ces deux villes du fait que les contacts professionnels ou autres avec des animaux ou des produits animaux, ou que les contacts réguliers avec des personnes travaillant dans les métiers avec les animaux, n'étaient pas plus fréquents chez les patients avec la fièvre Q que chez les témoins.

Les résultats de l'enquête sur les adultes en bonne santé dans l'ensemble du Kent et dans plusieurs cantons de l'East Anglia ont fourni une confirmation indépendante de l'importance de l'infection transmise par le lait. Dans les deux zones il a été trouvé qu'après qu'il ait été tenu compte de l'exposition par d'autres moyens, la proportion d'adultes en bonne santé avec des anticorps anti-fièvre Q était significativement plus élevée parmi ceux qui avaient utilisé du lait cru à la maison pour tout ou partie de la période 1942-1953 que parmi ceux qui avaient utilisé seulement du lait pasteurisé."

On observera que l'article ci-dessus ne contient pas de données chiffrées sur les facteurs de risque.

Parmi les publications dont les rapporteurs ont connaissance, une seule présente un argument sérieusement documenté en faveur de la voie buccale (Brown *et al.* 1968). Ces auteurs ont étudié un incident survenu dans une maison d'arrêt :

« Vingt quatre détenus et cinq fonctionnaires ont eu la fièvre. La sérologie n'a été faite que chez 19 détenus et 5 fonctionnaires, et elle était positive. Aucun des détenus n'avait eu de contact avec les animaux infectés. Mais le lait cru de la ferme de l'établissement était consommé une ou deux fois par semaine avec les céréales du petit déjeuner. Les fonctionnaires mettaient du lait cru dans leur thé et on admettra que la bactérie survit à la chaleur dans le thé. Les familles des fonctionnaires [non malade] ne buvaient que du lait pasteurisé. Le fermier et sa femme et deux ouvriers agricoles avaient des contacts constants avec les animaux mais ne buvaient jamais de lait cru, et aucun d'entre eux n'a eu la fièvre ou une séroconversion."

"Le fait que la plupart des malades étaient connus pour ne pas avoir eu de contact direct avec la ferme permettait d'exclure la possibilité d'une infection transmise par la poussière. La propagation par des insectes parasites pouvait être complètement exclue, car aucun détenu n'était infesté. L'infection transmise par un aliment apparaissait comme la seule explication vraisemblable de l'incident. La seule substance alimentaire possible dans ce cas particulier était le lait cru."

Il est toutefois indiqué que la maison d'arrêt et la ferme sont adjacentes : la transmission par la poussière pouvait-elle être exclue avec certitude ?

L'importance de la contamination par la voie buccale continue d'être soulignée par quelques équipes. Deux arguments sont utilisés :

- les symptômes seraient différents selon la voie d'entrée de la rickettsie [La Scola *et al.* 1997, Norlander 2000]. Ainsi, selon [De Alarcon *et al.* 2003] : « Il a été montré que l'inhalation de *C. burnetii* est cause de pneumonie [Tiggert et Benenson 1956, Marrie *et al.* 1988, Domingo *et al.* 1999] et que son ingestion dans le lait cru est suspecté d'être cause d'hépatite chez les humains [Fishbein et Raoult 1992, Tissot-Dupont et Raoult 1993] » ; si donc la forme de la maladie est l'hépatite, il faudrait, selon cette hypothèse, suspecter l'ingestion de produit contaminé. Il sera indiqué plus loin que l'hypothèse s'est révélée fausse.
- lors d'épisodes récents, parmi les personnes malades à qui on pose la question, beaucoup ont consommé du lait cru ou des produits laitiers au lait cru [Marmion et Stoker 1958, Connolly *et al.* 1990, Fishbein et Raoult 1992, Brouqui *et al.* 1993, Hahn et Koch 1993, Tissot-Dupont et Raoult 1993, Tselentis *et al.* 1995, Suarez-Estrada *et al.* 1996, Serbezov *et al.* 1999]. Il sera indiqué plus loin que ce genre de déduction peut être faite après une approche épidémiologique sérieuse, mais que celle-ci n'a pas été conduite.

La citation suivante illustre la conclusion tirée par les tenants de cette opinion [Fishbein et Raoult 1992] :

« *C. burnetii* pourrait être infectieux ou moins efficacement transmis par voie orale que par aérosols, mais l'association de produits laitiers non pasteurisés avec une fièvre Q clinique et subclinique semble plus que suffisante pour ajouter cette maladie aux autres maladies infectieuses transmises par les produits laitiers non pasteurisés et pour recommander que tous les produits laitiers soient pasteurisés ».

L'opinion peut être articulée ainsi :

« Les observations épidémiologiques comme d'ailleurs les recherches expérimentales que nous avons entreprises jusqu'à présent, prouvent que l'infection par voie buccale [chez l'animal] dans le typhus pulmonaire [c'est-à-dire la fièvre Q] est possible. Il reste à voir dans quelle mesure se produit l'infection naturelle chez l'homme » (Combesco 1957).

« L'ingestion d'un aliment contaminé tel que le lait peut causer l'infection et la séroconversion et dans certaines circonstances déclencher la maladie. Ces circonstances spéciales restent à définir » (Atelier du 2-5 septembre 1988 à l'Université Justus-Liebig de Giessen, cité dans une opinion officielle sur la fièvre Q par (Weise 2003).

« L'ingestion de lait est une cause rare, mais possible » (Benson *et al.* 1963, Suarez-Estrada *et al.* 1996 ; Anonyme 2002^e 2003d, Rousset *et al.* 2003) ;

« mais la dose infectante est très élevée » : 10.000 fois plus que la voie péritonéale utilisée au laboratoire (Durand et Limouzin 1983, Rousset *et al.* 2003).

« Si la contamination par voie buccale ne peut être exclue, elle ne constitue pas un problème de santé publique »

Ici l'argumentation revêt plusieurs formes :

« On connaît très peu de cas d'infection humaine dus à la consommation de lait contaminé. Il semblerait que l'homme puisse se contaminer par voie digestive mais l'infection contractée ainsi est le plus souvent inapparente, probablement en raison du titre élevé des anticorps contenus dans le lait » (Acha et Szyfres 1989). « La contamination humaine résulte exceptionnellement de l'ingestion de viandes ou de lait virulents » (Anonyme 2003b).

« L'hypothèse selon laquelle la voie d'infection déterminerait la forme de la maladie n'a pas été confirmée » par l'étude rétrospective de 1.383 infections (Raoult *et al.* 2000).

« L'ingestion de lait, suivie de régurgitation et d'inspiration de l'aliment » peut être la cause de la maladie (Anonyme 2003d).

« Les essais avec volontaires humains n'ont pas été probants ». Ainsi 35% d'un groupe de prisonniers hommes adultes ayant consommé le lait cru de vaches infectées pendant trois mois étaient séropositifs, alors que dans des groupes témoins n'ayant consommé que du lait pasteurisé, seulement 8,9% de prisonniers d'un pénitencier voisin, et 4% d'un groupe d'hommes hospitalisés, étaient séropositifs. Mais aucun prisonnier n'a développé de fièvre Q (Benson *et al.* 1963). Krumbiegel (1970) cité par (Stiles 2002) serait arrivé à la même conclusion après une étude où du lait contaminé avait été ingéré par des volontaires humains, et où l'infection ne s'était pas produite.

« Toutes les épidémies étudiées récemment sont attribuables à l'inhalation d'aérosols contaminés ou à des morsures d'acariens » (Anonyme 2003e). Il en est ainsi pour les épisodes enregistrés en Allemagne de 1947 à 1999 : si « L'exposition à des bovins infectés et un peu d'excrétion dans leur lait a été impliquée dans un épisode communautaire en 1950 », toutes les épidémies de la période considérée sont expliquées par l'inhalation ou les contacts avec des animaux atteints (Lyytikäinen *et al.* 1997, Hellenbrand *et al.* 2001). Les épidémies survenues en France ont les mêmes explications (Armengaud *et al.* 1997, Tissot-Dupont *et al.* 1999, Baret, Dos Santos *et al.* 2000; Vincent, et Desjardins 2001, Anonyme 2002a, Benoist *et al.* 2002, Re S Vianez-Gaide *et al.* 2003), notamment l'épidémie survenue à Chamonix en 2002 (Benoist *et al.* 2002), comme celles survenues aux États-Unis (Mcquiston et Childs 2002), au Royaume Uni (Pebody *et al.* 1996), au Japon (Anonyme 2002b), en Australie (Mak *et al.* 2003).

« La séroconversion n'est pas la preuve de l'ingestion de cellules vivantes de *C. burnetii* » : ainsi une enquête en Espagne indique que « La consommation de lait et/ou de produits laitiers venant directement des fermes a été enregistré dans 20% des entretiens, les gens consommant le lait **bouilli** dans la totalité des cas. Un pourcentage significativement plus élevé d'anticorps pour *C. burnetii* a été détecté parmi les personnes ayant ces habitudes de consommation (52%) que chez celles qui ne consomment pas de lait et/ou de produits laitiers (38%) (odds ratio OR = 1,83, 95% IC = 1,1 - 3,06, $\chi^2 = 5,33$, $p = 0,02$). » (Suarez-Estrada *et al.* 1996).

« Association n'est pas démonstration » : dans beaucoup de travaux cités dans ce qui précède, les auteurs qui ont soumis les malades à des questionnaires épidémiologiques ont posé un nombre limité de questions. La plupart portent sur la fréquentation de fermes, la profession, les contacts avec des animaux, notamment en période de mise bas, et une ou deux questions portent sur la consommation de lait cru et/ou de fromage (parfois sans préciser cru ou non). Lorsque les nombres exacts de réponses ne sont pas rapportés, il est permis de ne pas prendre les conclusions pour argent comptant. C'est pourtant ce qui a été fait jusqu'à aujourd'hui avec (Marmion et Stoker 1958). Lorsque les résultats sont incomplets ou, bien que présentés, ne sont pas exploités avec les outils statistiques de l'épidémiologie, il est permis d'être critique. Ainsi nous le serons avec (Raoult *et al.* 2000) qui, dans leur enquête par ailleurs remarquable, indiquent que 23,2% des malades ont consommé du fromage au lait cru sans indiquer si ces mêmes malades ont été ou non au contact direct ou indirect avec des animaux. Enfin lorsque les odds ratios (OR) ont été calculés, et qu'il n'est pas possible d'en tirer une conclusion claire, il est permis de rejeter l'hypothèse de l'infection par un produit laitier. Ainsi (Hatchette *et al.* 2001) ont étudié la fièvre Q associée aux chèvres à Terre Neuve : l'ingestion de lait **pasteurisé** était associée de façon significative à l'infection détectée par séroconversion (OR = 1,07, $p = 0,022$), ainsi que l'ingestion de fromage de chèvre fabriqué avec du lait pasteurisé (OR = 5,27) et le fait de fumer (OR = 3,27). Par régression logistique, seul ces derniers facteurs de risque étaient associés de façon significative à l'infection. Étaient-ce pour autant des agents causals ? Comme le disent les auteurs eux-mêmes, « il ne s'agit pour le moment que d'une association épidémiologique car *C. burnetii* n'a pas été retrouvé dans les fromages de chèvre ». Et ces auteurs indiquent également « La pasteurisation tue effectivement *Coxiella* dans le lait ». Ainsi (Fishbein et Raoult 1992), lors de l'étude de cas groupés, ont trouvé une différence non significative entre les proportions de séropositivité pour les individus qui avaient été exposés à des chèvres ou à des produits laitiers au lait non pasteurisé, mais significative lorsqu'ils avaient été exposés aux animaux et aux produits laitiers crus. Le test manquait donc de puissance et, comme dans l'exemple précédent, il n'y avait pas suffisamment d'argument en faveur de la responsabilité des produits laitiers. »

ANNEXE II

Destruction de *Coxiella burnetii* par la chaleur

Extrait du Rapport du CES microbiologie

En introduction de cette section, nous rappellerons que dans la plupart des cas, chaque minute de chauffage réduit une population microbienne d'un pourcentage constant, identique au pourcentage détruit pendant la minute précédente. On dit que la cinétique de destruction est du premier ordre ³. Le paramètre utilisé pour décrire ce phénomène est le temps de réduction décimale, de symbole D. C'est le temps de chauffage (exprimé en minutes ou en secondes), à une température donnée, qui réduit la population de 90%, ou la divise par 10. L'influence de la température est décrite par le paramètre z (sans nom) : c'est l'augmentation de température exprimée en degrés Celsius ou en kelvins qui permet d'obtenir une division de D par 10.

Lorsqu'on soumet un nombre élevé d'unités ⁴ d'un produit à un traitement thermique pendant des mois et des années, comme c'est le cas dans l'industrie, il existe toujours une proportion non nulle d'unités qui contiennent encore un ou plusieurs micro-organismes indésirables ayant survécu au chauffage. L'équation qui permet de calculer cette proportion est la suivante :

$$P = C_0 \times V \times 10^{-t/D}$$

où C_0 est la concentration initiale du micro-organisme indésirable dans le produit cru, V est le volume de l'unité de conditionnement, D est le temps de réduction décimale du micro-organisme indésirable à la température du chauffage, et t est la durée du chauffage. D'autres équations permettent de tenir compte de l'évolution de la température au cours du traitement thermique industriel (Cerf 2001).

Pour choisir le barème d'une pasteurisation, c'est-à-dire sa combinaison temps - température, il faut donc connaître :

- les caractéristiques D et z du micro-organisme d'intérêt ;
- le volume V des unités dans lesquelles le produit est conditionné et distribué ;
- la proportion P de ces unités dans lesquelles on tolère la survie du micro-organisme considéré.

Si les caractéristiques du micro-organisme sont un élément clef de la solution du problème, si le volume des unités est une question commerciale, le choix de la proportion acceptable d'unités de vente contenant encore des micro-organismes pathogènes relève de la responsabilité de l'autorité responsable en matière de santé publique, à qui il incombe de fixer les objectifs de sécurité des aliments ⁵ (FSO, Food Safety Objectives).

(Huebner RJ *et al.* 1949)

C. burnetii ne survivait pas à la pasteurisation haute (en écoulement continu à 71,1°C au moins pendant 15 s) mais survivait à la pasteurisation basse (en vrac à 61,7°C au moins pendant 30 min) (cités par (Lennette *et al.* 1952).

(Kirberger 1951)

L'auteur a infecté des souris après les traitements suivants (tubes à essais contenant 0,5 ml de lait, chauffés au bain marie) : survie de *C. burnetii* après 30 min à 55°C ou 60°C, ou 1 h à cette température, pas de survie après 15 min à 65°C (cité par (Wegener 1957).

(Bingel et Engelhardt 1952)

Après inoculation artificielle de lait (inoculum : dilution au 1 : 20 dans le lait), *C. burnetii* était retrouvé après les traitements suivants par mesure de fièvre chez les cobayes : 5 s à 85°C, 7 ou 14 s à 80°C, 60 s à 70°C. Lorsque l'on faisait une observation des testicules au microscope, *C. burnetii* était retrouvé après 20, 14 ou 7 s à 85°C, 60 s à 75°C ou 30 min à 62°C (cité par (Wegener 1957). Une lecture attentive de l'article original montre que (Bingel et Engelhardt 1952) utilisent leurs propres chiffres avec prudence :

« Notre chauffage (85°C pendant 7 s) ne tue pas toutes les *Coxiella burnetii* à coup sûr, cependant il en inactive tellement que lors de passages [sur l'animal pour la détection] la proportion de survivants est aussi faible que dans une dilution au 1:20.000 du matériau original. Il est possible que d'autres dommages qualitatifs des *Coxiella burnetii* survivantes se produisent. Chaque fois, l'inactivation dans un matériau à forte concentration (1000 fois la dose minimale infectante) est si poussée que pour les cochons d'Inde la fièvre typique n'apparaît pas, et le développement des *Coxiella burnetii*, même dans les testicules, est remarquablement faible.

Même dans le cas d'une contamination de 50% du lait, la dose est supprimée dans le lait de mélange d'une laiterie, et n'est vraiment plus pathogène pour les cochons d'Inde. Une telle dose est complètement inactivée par la pasteurisation grâce à la dilution de la contamination. Du reste, on compte en plus que la pathogénicité des *Coxiella burnetii* par l'alimentation est légère, et il n'y a donc aucune raison de considérer le lait pasteurisé comme une source de danger pour la santé, même quand un lait contenant des *Coxiella burnetii* est à craindre dans la collecte de la laiterie.

Pour l'usage pratique, la pasteurisation du lait infecté par *Coxiella* est suffisante pour le rendre inoffensif ».

(Marmion *et al.* 1951) cités par (Lennette *et al.* 1952)

Des traitements de 67,8°C à 68,9°C pendant 15 s détruisaient *C. burnetii* dans du lait naturellement infecté, mais pas dans du lait artificiellement contaminé et contenant 10⁵ doses infectant les cobayes, qui restait positif même après des chauffages de 15 s à 70,0°C ou 70,6°C mais était négatif après 15 s à 71,7°C.(Lennette *et al.* 1952)

³ Les cas où la cinétique n'est pas du premier ordre seront discutés à la fin de cette section.

⁴ C'est-à-dire de contenants ou conditionnements de volume unitaire identique, par exemple des boîtes, des bouteilles ou des emballages cartonnés renfermant 1 kg d'aliment.

⁵ « La fréquence et/ou la concentration maximale d'un danger [microbien] dans un aliment au moment de la consommation qui procure encore le niveau approprié de protection sanitaire » (définition en discussion au Codex alimentarius)

Ces auteurs ont étudié des laits de mélange, et ont comparé les nombres de spécimens positifs pour *C. burnetii* avant et après pasteurisation basse en vrac à 61,7°C au moins pendant 30 min ou pasteurisation haute en écoulement continu à 71,1°C au moins pendant 15 s. La présence de la bactérie était vérifiée par la séroconversion après injection intrapéritonéale de cochons d'Inde. Après pasteurisation basse, 97% des spécimens étaient débarrassés de *C. burnetii*. Il n'en a pas été de même dans un spécimen de 757 l qui est resté positif alors que le traitement de 30 min avait eu lieu à 62,2°C en principe, mais le lait était encore positif pour la phosphatase alcaline, ce qui démontrait un chauffage inadéquat. Après pasteurisation haute, 95% des spécimens étaient négatifs. L'un avait subi un traitement à 73,9°C pendant 17 s, l'autre pendant 15,2 s. Ces temps correspondent au temps de séjour minimum dans la section de chambre des pasteurisateurs. Les auteurs concluent que la pasteurisation pouvait être insuffisante.

(Wegener1957)

Après examen détaillé de la littérature antérieure, notamment ceux de (Bingel et Engelhardt 1952), cet auteur conclut :

« Dans l'ensemble il apparaît que pour la question de savoir si la destruction de *C. burnetii* dans le lait naturellement infecté tel qu'il est soumis à la pasteurisation en Allemagne, les résultats de recherche fournis à cet égard par divers auteurs sont différents. La recherche de *Coxiella burnetii* dans le lait pasteurisé montre que tous les germes ne sont pas tués. En outre en pratique quand une plus forte dilution et un dommage thermique plus élevé doivent être atteints, les résultats de Kästli et de Schoop montrent qu'il ne faut pas choisir les conditions de pasteurisation vers la frontière basse de température, ou une température un peu plus élevée, mais il subsiste encore une incertitude sur cette question. ».

Wegener n'avait pas connaissance des travaux conduits aux États-Unis au moment où il préparait son article, travaux rapportés ci-dessous.

(Anonyme 1957 ; Enright *et al.* 1957a, b)

Ces auteurs ont raffiné la technique de détection des *Coxiella burnetii* survivantes en pratiquant deux passages sur cochons d'Inde. Ils ont testés 109 laits de fermes, dont 8 étaient positifs, et 376 laits ou crèmes vendus au détail, correspondant à des mélanges de plusieurs fermes, dont 14 étaient positifs. Le nombre maximum de *Coxiella burnetii* dans ces produits contaminés était équivalent à 1.000 doses infectant le cochon d'Inde. Dans les laits de 18 vaches infectées (sur 137 examinées), 5 contenaient 1.000 doses infectant le cochon d'Inde, 5 en contenaient 100, 5 en contenaient 10, et 5 en contenaient une. Le lait d'une vache artificiellement infectée contenait 10.000 doses infectant le cochon d'Inde. Pour l'étude de thermorésistance, les auteurs utilisèrent du lait contenant 100.000 doses infectant le cochon d'Inde.

Une première série de mesures de thermorésistance fut faite au laboratoire de 60,6 à 66,1°C, et l'établissement d'une régression linéaire servit à extrapoler aux températures supérieures. Le tableau 1 rassemble les résultats. Les deux sigmas (deux fois l'écart type) mentionnés dans le tableau correspondent à l'intervalle de confiance de l'ajustement par régression linéaire. La température de 61,7°C correspond à la température recommandée à cette époque pour la pasteurisation basse (en vrac), et celle de 71,1°C à la pasteurisation haute (en écoulement continu).

Tableau 1 : Temps aux températures pertinentes sur les droites de régression obtenues à partir des résultats du laboratoire

Température (°C)	Droites de régression		
	Point pour 50% destruction	Temps minimum de destruction	Temps minimum de destruction plus 2 sigmas
61,7	29,39 min	33,02 min	46,03 min
62,8	16,29 min	18,31 min	25,42 min
71,1	11,7 s	13,2 s	20,4 s
71,7	8,7 s	9,8 s	15,4 s
72,2	6,6 s	7,3 s	11,6 s

Une deuxième série de mesures fut faite avec un pasteurisateur en écoulement continu, de 68,1 à 72,8°C. Les résultats confirmèrent ceux obtenus au laboratoire.

Les auteurs exposent qu'un prenant un lait 10 fois plus contaminé que le lait le plus contaminé trouvé chez des vaches infectées, et en recommandant des combinaisons temps - température supérieurs de 2 fois l'écart type d'ajustement aux combinaisons résultant de la droite de régression, ils peuvent recommander des valeurs « adéquates pour éliminer les *C. burnetii* viables du lait entier cru ». Ces combinaisons sont :

30 min à 145°F (62,8°C) ou 15 s à 161°F (71,7°C).

Depuis ces travaux, qui pour la première fois utilisaient des descripteurs de la thermorésistance (temps pour diviser par deux la dose infectant 50% des cochons d'Inde, et influence de la température) proches de ceux décrits plus haut, la controverse a cessé. Tous les manuels, ainsi que la Fédération internationale de laiterie (Staal 1986) reprise par le Codex alimentarius (Anonyme 2003c) recommandent :

30 min à 63°C ou 15 s à 72°C.

Ces combinaisons ou des combinaisons équivalentes obtenues par interpolation entre ces deux températures sont utilisées depuis dans le monde entier, à la satisfaction générale. La réglementation états-unienne autorise des combinaisons obtenues par extrapolation, jusqu'à 100°C pendant 0,01 s (Anonyme 2002d). Il est généralement recommandé d'augmenter la température de quelques degrés Celsius si la teneur en matière grasse est supérieure à la teneur naturelle du lait. Ainsi, aux États-Unis, si la teneur en matière grasse est supérieure ou égale à 10%, il faut augmenter la température de pasteurisation de 3°C (5°F).

En utilisant les formules indiquées par (Cerf 2001), on peut déduire des résultats de (Enright *et al.* 1957a) que :

$D_{72^{\circ}\text{C}} = 1,35 \text{ s}$

$z = 4,28^{\circ}\text{C}$.

Quinze secondes à 72°C assureraient donc 11 réductions décimales soit 99,999999999% de destruction de la population de *C. burnetii* (résultat obtenu en divisant 15 par 1,35). Ce chiffre est à rapprocher des 12 réductions décimales demandées pour *Clostridium botulinum* dans les conserves appertisées. Il est beaucoup plus élevé que le chiffre de 4 à 5 réductions décimales atteint pour la destruction de *Mycobacterium tuberculosis* (Nénot *et al.* 1958).

Toutefois on se doit d'observer que les raisonnements ci-dessus reposent sur l'hypothèse que la cinétique de destruction de *C. burnetii* par la chaleur est du premier ordre. Or la cinétique de destruction de *C. burnetii* n'a fait l'objet d'aucune étude. Il n'est donc pas démontré que la courbe de survie est parfaitement rectiligne, et que les extrapolations faites au-dessus de 5 réductions décimales sont totalement légitimes. Dans l'hypothèse du pire où il y aurait une cinétique biphasique avec un fort ralentissement ou même un arrêt total de la destruction (cette dernière hypothèse est invraisemblable) lorsque le traitement thermique se prolonge, nous n'avons pas connaissance de raisons de mettre en doute que le traitement thermique conduit à ces 5 réductions décimales. L'autorité responsable en matière de santé publique n'ayant pas publié la proportion acceptable d'unités de vente contenant encore des micro-organismes pathogènes, les combinaisons temps - température utilisées depuis 1957 ne semblent pas devoir être remises en cause.

(Anonyme 1997)

L'arrêté du 6 août 1985 relatif aux normes d'hygiène et de salubrité auxquelles doit répondre le lait cru livré en l'état et destiné à la consommation humaine (JORF du 1985-08-29) exige que ce lait provienne « d'étables n'ayant eu aucun cas clinique de fièvre Q depuis au moins un an ».

Faisant référence à l'arrêté ci-dessus, une note de service émise en 1997 par la Direction générale de l'alimentation du ministère chargé de l'agriculture, en vigueur, comporte ce qui suit :

Article 2 1°b

1) Maladies contagieuses animales transmissibles à l'homme par le lait

...

c) Autres maladies

Cas de la fièvre Q : Conduite à tenir par les fabricants de fromage au lait cru titulaires d'une marque de salubrité communautaire lorsque leurs cheptels sont atteints de la fièvre Q :

- le lait des animaux ayant avorté ne doit pas être utilisé en vue de la collecte, du traitement, de la transformation et de la vente en vue de la consommation humaine,
- le lait provenant des autres animaux de l'exploitation ne peut être utilisé qu'après un traitement de "pasteurisation haute", c'est-à-dire 85°C pendant 30 secondes.

Donc, ce service ministériel, par un texte ne revêtant pas un caractère obligatoire mais qui est cependant utilisé avec rigueur :

- considère que la fièvre Q est transmissible à l'homme par le lait,
- décide, sans tenir compte du consensus international relatif à la thermorésistance de *C. burnetii* depuis 1957, de l'application d'un barème de chauffage plus élevé que le plus élevé de tous ceux étudiés en 1952 par Bingel & Engelhardt, barème que ces auteurs jugeaient eux-mêmes excessifs,
- exige ce barème pour le lait d'animaux chez lesquels l'excrétion de *C. burnetii* n'est pas avérée.

Dans un livre qui consacre plusieurs pages à la question (Notermans S ; Barendsz AW *et al.* 2002), on peut lire :

« Un exemple remarquable [d'appréciation quantitative du risque] est le travail d'Enright *et al.* (1956, 1957) qui ont établi les critères de performance pour la pasteurisation du lait qui procurent le niveau approprié de protection sanitaire contre *Coxiella burnetii*, l'agent causal de la fièvre Q. [...] Ce travail est un exemple précoce de l'emploi des principes de l'appréciation des risques pour obtenir des critères de procédé. »

Les critères de performance concernent le taux de destruction de la rickettsie, les critères de procédés sont les combinaisons temps - température recommandées.

Les rapporteurs partagent l'opinion de (Notermans S, Barendsz AW *et al.* 2002) ».

BIBLIOGRAPHIE

- Adesiyun, A.A., Jagun, A.G., Kwaga, J.K., Tekdek, L.B. 1985. Shedding of *Coxiella burnetii* in milk by Nigerian dairy and dual purposes cows. *Int.J.Zoonoses*. 12[1], 1-5.
- Akporiaye, E.T., Rowatt, J.D., Aragon, A.A., Baca, O.G. 1983. Lysosomal response of a murine macrophage-like cell line persistently infected with *Coxiella burnetii*. *Infect.Immun.* 40[3], 1155-1162.
- Alexiou-Daniel, S., Stylianakis, A., Papoutsis, A., Zorbas, I., Papa, A., Lambropoulos, A.F., Antoniadis, A. 1998. Application of polymerase chain reaction for detection of *Legionella pneumophila* in serum samples. *Clin.Microbiol.Infect.* 4[3], 144-148.
- Anon. 1950. Experimental Q fever in man. *Br.Med.J.* 1, 1000.
- Anstey, N.M., Tissot, D.H., Hahn, C.G., Mwaikambo, E.D., McDonald, M.I., Raoult, D., Sexton, D.J. 1997. Seroepidemiology of *Rickettsia typhi*, spotted fever group rickettsiae, and *Coxiella burnetii* infection in pregnant women from urban Tanzania. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 57[2], 187-189.
- Antoniou, M., Tselentis, Y., Babalis, T., Gikas, A., Stratigakis, N., Vlachonikolis, I., Kafatos, A., Fioretos, M. 1995. The seroprevalence of ten zoonoses in two villages of Crete, Greece. *Eur.J.Epidemiol.* 11[4], 415-423.
- Armengaud, A., Kessalis, N., Desenclos, J.C., Maillot, E., Brousse, P., Brouqui, P., Tissot-Dupont, H., Raoult, D., Provencal, P., Obadia, Y. 1997. Une épidémie urbaine de fièvre Q, Briançon, France, mars-juin 1996. *Eurosurveillance* 2[2], 12-13.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Lechopier, P., Rodolakis, A. 2003. Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats : excretion routes. *Vet.Research.* 34[4], 423-433.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Moutoussamy, A., Ladenise, K., Rodolakis, A. 2001b. Etude de l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans un modèle expérimental caprin et décontamination des lisiers par le cyanamide calcique. 8ème Rencontres Recherches Ruminants. 153-156. Paris.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Rodolakis, A. 2001. Excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait : suivi d'un troupeau bovin. Rencontre des microbiologistes de l'INRA. Dourdan.
- Ayres, J.G., Flint, N., Smith, E.G., Tunnicliffe, W.S., Fletcher, T.J., Hammond, K., Ward, D., Marmion, B.P. 1998. Post-infection fatigue syndrome following Q fever. *QJM.* 91[2], 105-123.
- Babudieri, B. 1959. Q fever : a zoonosis. *Adv.Vet.Sci.* 5, 82-182.
- Baca, O.G., Paretsky, D. 1983. Q fever and *Coxiella burnetii*: a model for host-parasite interactions. *Microbiol.Rev.* 47[2], 127-149.
- Baumgartner, W., Dettinger, H., Schmeer, N. 1993. Spread and distribution of *Coxiella burnetii* in C57BL/6J (H-2b) and Balb/cJ (H-2d) mice after intraperitoneal infection. *J.Comp Pathol.* 108[2], 165-184.
- Becht, H., Hess, E. 1964. Zur Epizootologie, Diagnostik und Bekämpfung des Q-fiebers beim Rind. *Schweiz.Arch.Tierheilkd.* 106[7], 389-399.
- Behymer, D.E., Biberstein, E.L., Riemann, H.P., Franti, C.E., Sawyer, M., Ruppanner, R., Crenshaw, G.L. 1976. Q fever (*Coxiella burnetii*) investigations in dairy cattle: challenge of immunity after vaccination. *Am.J.Vet.Res.* 37[6], 631-634.
- Behymer, D., Ruppanner, R., Riemann, H.P., Biberstein, E.L., Franti, C.E. 1977. Observation on chemotherapy in cows chronically infected with *Coxiella burnetii* (Q fever). *Folia Vet.Lat.* 7[1], 64-70.
- Belec, L., Gresenquet, G., Ekala, M.T., Jacob, A., Vohito, M.D., Cotigny, S., Payan, C. 1993. *Coxiella burnetii* infection among subjects infected with HIV type 1 in the Central African Republic. *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 12[10], 775-778.
- Bell, E.J., Parker, R.R., Stoenner, H.G. 1949. Q fever, experimental Q fever in cattle. *Am.J.Public Health* 39, 478-484.
- Berger, E. 1999. Contribution à l'étude des avortements d'origine infectieuse non brucellique chez les bovins. Thèse Vétérinaire Alfort n° 46.
- Bergey, 2003. Bergey's Taxonomic Outline of the Prokaryotes: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition [Volume 2: The Proteobacteria]. Michigan State University, East Lansing, MI, USA (ed.). Garrity, G. <http://bergeysoutline.com>
- Bernit, E., Pouget, J., Janbon, F., Dutronc, H., Martinez, P., Brouqui, P., Raoult, D. 2002. Neurological involvement in acute Q fever: a report of 29 cases and review of the literature. *Arch.Intern.Med.* 162[6], 693-700.
- Berri, M., Laroucau, K., Rodolakis, A. 2000. The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. *Vet.Microbiol.* 72[3-4], 285-293.
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Crochet, D., Lechopier, P., Rodolakis, A. 2001. Relationship between the shedding of *Coxiella burnetii*, clinical signs and serological responses of 34 sheep. *Vet.Rec.* 148[16], 502-505.
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Rodolakis, A. 2002. Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella burnetii* abortion in a sheep flock. *Vet.Microbiol.* 85[1], 55-60.
- Berri, M., Arricau-Bouvery, N., Rodolakis, A. 2003. PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. *Meth.Mol.Biol.* 216, 153-161.
- Berri, M., Rousset, E., Champion, J.L., Arricau-Bouvery, N., Russo, P., Pepin, M., Rodolakis, A. 2003. Ovine manure used as a garden fertilizer as a suspected source of human Q fever. *Vet.Rec.* 153, 269-270.
- Biberstein, E.L., Riemann, H.P., Franti, C.E., Behymer, D.E., Ruppanner, R., Bushnell, R., Crenshaw, G. 1977. Vaccination of dairy cattle against Q fever (*Coxiella burnetii*): results of field trials. *Am.J.Vet.Res.* 38[2], 189-193.

- Blondeau, J.M., Williams, J.C., Marrie, T.J. 1990. The immune response to phase I and phase *Coxiella burnetii* antigens as measured by western immunoblotting. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 590, 187-202.
- Boni, M., Davoust, B., Tissot-Dupont, H., Raoult, D. 1998. Survey of seroprevalence of Q fever in dogs in the southeast of France, French Guyana, Martinique, Senegal and the Ivory Coast. *Vet.Microbiol.* 64[1], 1-5.
- Botros, B.A., Soliman, A.K., Salib, A.W., Olson, J., Hibbs, R.G., Williams, J.C., Darwish, M., el Tigani, A., Watts, D.M. 1995. *Coxiella burnetii* antibody prevalences among human populations in north-east Africa determined by enzyme immunoassay. *J.Trop.Med.Hyg.* 98[3], 173-178.
- Boyle, B., Hone, R. 1999. Q fever endocarditis revisited. *Ir.J.Med.Sci.* 168[1], 53-54.
- Brennan, R.E., Samuel, J.E. 2003. Evaluation of *Coxiella burnetii* antibiotic susceptibilities by Real-Time PCR assay. *J.Clin.Microbiol.* 41[5], 1869-1874.
- Brooks, D.L., Ermel, R.W., Franti, C.E., Ruppanner, R., Behymer, D.E., Williams, J.C., Stephenson, E.H., Stephenson, J.C. 1986. Q fever vaccination of sheep: challenge of immunity in ewes. *Am.J.Vet.Res.* 47[6], 1235-1238.
- Brouqui, P., Tissot-Dupont, H., Drancourt, M., Berland, Y., Etienne, J., Leport, C., Goldstein, F., Massip, P., Micoud, M., Bertrand, A., Raoult, D. 1993. Chronic Q fever. Ninety-two cases from France, including 27 cases without endocarditis. *Arch.Intern.Med.* Mar 8;153[5], 642-8.
- Brouqui, P., Dumler, J.S., Raoult, D. 1994. Immunohistologic demonstration of *Coxiella burnetii* in the valves of patients with Q fever endocarditis. *Am.J.Med.* 97[5], 451-458.
- Brouqui, P., Raoult, D. 2001. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin.Microbiol.Rev.* 14[1], 177-207.
- Buhariwalla, F., Cann, B., Marrie, T.J. 1996. A dog-related outbreak of Q fever. *Clin.Infect.Dis.* 23[4], 753-755.
- Capo, C., Lindberg, F.P., Meconi, S., Zaffran, Y., Tardei, G., Brown, E.J., Raoult, D., Mege, J.L. 1999. Subversion of monocyte functions by *Coxiella burnetii*: impairment of the cross-talk between $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin and CR3. *J.Immunol.* 163[11], 6078-6085.
- Capo, C., Moynault, A., Collette, Y., Olive, D., Brown, E.J., Raoult, D., and Mege J.L. 2003. *Coxiella burnetii* avoids macrophage phagocytosis by interfering with spatial distribution of complement receptor 3. *J Immunol.* 170, 4217-25.
- Capuano, F., Landolfi, M.C., Monetti, D.M. 2001. Influence of three types of farm management on the seroprevalence of Q fever as assessed by an indirect immunofluorescence assay. *Vet.Rec.* 149[22], 669-671.
- Caron, F., Meurice, J.C., Ingrand, P., Bourgoin, A., Masson, P., Roblot, P., Patte, F. 1998. Acute Q fever pneumonia: a review of 80 hospitalized patients. *Chest* 114[3], 808-813.
- Carrieri, M.P., Tissot-Dupont, H., Rey, D., Brousse, P., Renard, H., Obadia, Y., Raoult, D. 2002. Investigation of a slaughterhouse-related outbreak of Q fever in the French Alps. *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 21[1], 17-21.
- Center for Disease Control C.D.C. 2000. Biological and chemical terrorism: strategic plan for preparedness and response. Recommendations of the CDC Strategic Planning Workgroup. *MMWR Recomm.Rep.* 49 : 1-14.
- Chartier, C., Beziaud, E., Buzoni-Gatel, D., Bout, D., Calamel, M., Russo, P., Pepin, M., Mallereau, M.-P., Lenfant, D., Dufour, P. 1997. Enquête séro-épidémiologique sur les avortements infectieux des caprins en région Poitou-Charentes. *Rev.Med.Vet.* 148[6], 489-496.
- Clark W.H., Lennette E.H., Railback O.C., Romer M.S., 1951a. Q fever in California - clinical features in one hundred eighty cases. *Arch.Intern.Med.* [88], 155-161.
- Clark W.H., Lennette E.H., Romer M.S., 1951b. Q fever studies in California. XI. An epidemiologic summary of 350 cases occurring in northern California in 1948-1949. *Am.J.Hyg.* [54], 319-330.
- Cottalorda, J., Jouve, J.L., Bollini, G., Touzet, P., Poujol, A., Kelberine, F., Raoult, D. 1995. Osteoarticular infection due to *Coxiella burnetii* in children. *J.Pediatr.Orthop.B* 4[2], 219-221.
- Dackau, T. 1993. [Experimental studies on the development of an antigen-capture test (Capture-ELISA) for the detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk as a possible alternative to animal studies]. *Berl Munch.Tierarztl.Wochenschr.* 106[3], 87-90.
- Davoust, B., Raoult, D., Toulze, M., Louboutin-Croc, J.P. 1986. Fièvre Q ovine : sondage sérologique. *Rev.Med.Vet.* 137[7], 521-524.
- Delcueilierie, F.I. 1984. Données récentes sur la fièvre Q : son incidence sur les avortements bovins en Loire-Atlantique. Thèse Vétérinaire Nantes n° 29.
- Dellacasagrande, J., Ghigo, E., Hammami, S.M., Toman, R., Raoult, D., Capo, C., Mege, J.L. 2000. $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin and bacterial lipopolysaccharide are involved in *Coxiella burnetii*-stimulated production of tumor necrosis factor by human monocytes. *Infect.Immun.* 68[10], 5673-5678.
- Dellacasagrande, J., Moulin, P.A., Guilianelli, C., Capo, C., Raoult, D., Grau, G.E., Mege, J.L. 2000. Reduced transendothelial migration of monocytes infected by *Coxiella burnetii*. *Infect.Immun.* 68[6], 3784-3786.
- Derrick, E.H. 1973. The course of infection with *Coxiella burnetii*. *Med.J.Aust.* 1[21], 1051-1057.
- Dobija-Domaradzki, M., Hausser, J.L., Gosselin, F. 1984. [Coexistence of Legionnaires' disease and Q fever in a single patient]. *Can.Med.Assoc.J.* 130[8], 1022-1023.
- Doller, G., Doller, P.C., Gerth, H.J. 1984. Early diagnosis of Q fever: detection of immunoglobulin M by radioimmunoassay and enzyme immunoassay. *Eur.J.Clin.Microbiol.* 3[6], 550-553.
- Dordain-Bouesnard, C. 2001. Revue bibliographique et contribution à l'étude épidémiologique de la fièvre Q en région Rhône-Alpes. Thèse Vétérinaire Lyon n° 21.

- Dupuis, G., Peter, O., Peacock, M., Burgdorfer, W., Haller, E. 1985. Immunoglobulin responses in acute Q fever. *J.Clin.Microbiol.* 22[4], 484-487.
- Dupuis, G., Peter, O., Pedroni, D., Petite, J. 1985. Aspects cliniques observés lors d'une épidémie de 415 cas de fièvre Q. *Schweiz.Med.Wochenschr.* 115[24], 814-818.
- Dupuis, G., Petite, J., Peter, O., Vouilloz, M. 1987. An important outbreak of human Q fever in a Swiss Alpine valley. *Int.J.Epidemiol.* 16[2], 282-287.
- Durand, M., Strohl, A. 1978. L'infection bovine par l'agent de la fièvre Q en 1977. *Rev.Med.Vet.* 129[3], 491-500.
- Durand, M.P., Limouzin, C. 1983. Un problème d'hygiène alimentaire : à propos du risque potentiel du lait de vaches infectées par *Coxiella burnetii* sur la santé humaine. *Bull.Acad.Natl.Vet.* 56, 475-485.
- Durand, M.P. 1993. L'excrétion lactée et placentaire de *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q chez la vache. Importance et prévention. *Bull.Acad.Natl.Med.* 177[6], 935-945.
- Duroux-Vouilloz, C., Praz, G., Francioli, P., Peter, O. 1998. Fièvre Q avec endocardite : présentation clinique et suivi sérologique de 21 patients. *Schweiz.Med.Wochenschr.* 128[14], 521-527.
- Dyer, D.E., Gibbons, V.L., Brady, L.M., Cunningham, A.L. 1988. Serological reaction to *Legionella pneumophila* group 4 in a patient with Q fever. *J.Infect.Dis.* 158, 499-500.
- Eklund, C.M., Parker, R.R., Lackman, D.B. 1947. A case of Q fever probably contracted by exposure to ticks in nature. *Public Health Rep.* 62, 1413-1416.
- Enright, J.B., Walter, M., Sadler, W.W., Thomas, R.C. 1957. Pasteurization of milk containing the organism of Q fever. *Am.J.Public Health* 47, 695-700.
- Enright, J.B., Franti, C.E., Longhurst, W.M., Behymer, D.E., Wright, M.E., Dutson, V.J. 1971. *Coxiella burnetii* in a wildlife-livestock environment. Antibody response of ewes and lambs in an endemic Q fever area. *Am.J.Epidemiol.* 94[1], 62-71.
- Fenollar, F., Fournier, P.E., Carrieri, M.P., Habib, G., Messana, T., Raoult, D. 2001. Risk factors and prevention of Q fever endocarditis. *Clin.Infect.Dis.* 33[3], 312-316.
- Field, P.R., Hunt, J.G., Murphy, A.M. 1983. Detection and persistence of specific IgM antibody to *Coxiella burnetii* by enzyme-linked immunosorbent assay: a comparison with immunofluorescence and complement fixation tests. *J.Infect.Dis.* 148[3], 477-487.
- Finidori, J.P., Raoult, D., Bornstein, N., Fleurette, J. 1992. Study of cross-reaction between *Coxiella burnetii* and *Legionella pneumophila* using indirect immunofluorescence assay and immunoblotting. *Acta Virol.* 36[5], 459-465.
- Fiset, P., Ormsbee, R.A., Silberman, R., Peacock, M., Spielman, S.H. 1969. A microagglutination technique for detection and measurement of rickettsial antibodies. *Acta Virol.* 13[1], 60-66.
- Fishbein, D.B., Raoult, D. 1992. A cluster of *Coxiella burnetii* infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 47[1], 35-40.
- Fontaine, M., Giauffret, A., Russo, P., Durand, M. 1975. Importance des troupeaux ovins dans l'épidémiologie de la fièvre Q. *Med.Mal.Infect.* 5, 445-449.
- Fournier, P.E., Casalta, J.P., Piquet, P., Tournigand, P., Branchereau, A., Raoult, D. 1998. *Coxiella burnetii* infection of aneurysms or vascular grafts: report of seven cases and review. *Clin.Infect.Dis.* 26[1], 116-121.
- Fournier, P.E., Etienne, J., Harle, J.R., Habib, G., Raoult, D. 2001. Myocarditis, a rare but severe manifestation of Q fever: report of 8 cases and review of the literature. *Clin.Infect.Dis.* 32[10], 1440-1447.
- Fournier, P.E., Raoult, D. 2003. Comparison of PCR and serology assays for early diagnosis of acute Q fever. *J.Clin.Microbiol.* Nov;41[11], 5094-8.
- Gajdosova, E., Kovacova, E., Toman, R., Skultety, L., Lukacova, M., Kazar, J. 1994. Immunogenicity of *Coxiella burnetii* whole cells and their outer membrane components. *Acta Virol.* 38[6], 339-344.
- Gardon, J., Heraud, J. M., Laventure, S., Ladam, A., Capot, P., Fouquet, E., Favre, J., Weber, S., Hommel, D., Hulin, A., Couratte, Y., and Talarmin, A. 2001. Suburban transmission of Q fever in French Guiana: evidence of a wild reservoir. *J Infect Dis.* 184, 278-84.
- Ghigo, E., Capo, C., Tung, C.H., Raoult, D., Gorvel, J.P., Mege, J.L. 2002. *Coxiella burnetii* survival in THP-1 monocytes involves the impairment of phagosome maturation: IFN-gamma mediates its restoration and bacterial killing. *J.Immunol.* 169[8], 4488-4495.
- Gikas, A., Spyridaki, I., Psaroulaki, A., Kofterithis, D., Tselentis, Y. 1998. In vitro susceptibility of *Coxiella burnetii* to trovafloxacin in comparison with susceptibilities to pefloxacin, ofloxacin, doxycycline, and clarithromycin. *Antimicrob.Agents Chemother.* 42[10], 2747-2748.
- Gikas, A., Spyridaki, I., Scoulia, E., Psaroulaki, A., Tselentis, Y. 2001. In vitro susceptibility of *Coxiella burnetii* to linezolid in comparison with its susceptibilities to quinolones, doxycycline, and clarithromycin. *Antimicrob.Agents Chemother.* 45[11], 3276-3278.
- Gil-Grande, R., Aguado, J.M., Pastor, C., Garcia-Bravo, M., Gomez-Pellico, C., Soriano, F., Noriega, A.R. 1995. Conventional viral cultures and shell vial assay for diagnosis of apparently culture-negative *Coxiella burnetii* endocarditis. *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* 14[1], 64-67.
- Gimenez, D.F. 1964. Staining rickettsiae in yolk-sack cultures. *Stain Technol.* 30, 135-137.
- Giroud, P., Jardin, J. 1954. Infection latente et conservation de *Rickettsia burnetii* chez l'homme : le rôle du pou. *Bull.Soc.Pathol.Exot.* 45, 764-765.

- Gray, G.C., Rodier, G.R., Matras-Maslin, V.C., Honein, M.A., Ismail, E.A., Botros, B.A., Soliman, A.K., Merrell, B.R., Wang, S.P., Grayston, J.T. 1995. Serologic evidence of respiratory and rickettsial infections among Somali refugees. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 52[4], 349-353.
- Guerrault, P., Godu, J. 1981. Etude sérologique de la fièvre Q caprine. *Bull.G.T.V.* 3, 57-62.
- Guignard, H. 1981. Contribution à l'étude épidémiologique de la fièvre Q à partir d'une étude menée sur les petits ruminants dans la région Midi-Pyrénées. Thèse Vétérinaire Toulouse n°40.
- Hacala, S. 1998. Hygiénisation des composts, étude sur la contamination en salmonelles et listéries. Colloque "Le compostage à la ferme des effluents d'élevage". Paris.
- Hackstadt, T. 1996. Biosafety concerns and *Coxiella burnetii*. *Trends Microbiol.* 4[9], 341-342.
- Hackstadt, T., Williams, J.C. 1981. Biochemical stratagem for obligate parasitism of eukaryotic cells by *Coxiella burnetii*. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 78[5], 3240-3244.
- Harris, R.J., Storm, P.A., Lloyd, A., Arens, M., Marmion, B.P. 2000. Long-term persistence of *Coxiella burnetii* in the host after primary Q fever. *Epidemiol.Infect.* 124[3], 543-549.
- Hatchette, T., Hudson, R., Schlech, W., Campbell, N., Hatchette, J., Ratnam, S., Donovan, C., Marrie, T. 2000. Caprine-associated Q fever in Newfoundland. *Can.Commun.Dis.Rep.* 26[3], 17-19.
- Hatchette, T.F., Hudson, R.C., Schlech, W.F., Campbell, N.A., Hatchette, J.E., Ratnam, S., Raoult, D., Donovan, C., Marrie, T.J. 2001. Goat-associated Q fever: a new disease in Newfoundland. *Emerg.Infect.Dis.* 7[3], 413-419.
- Hatchette, T., Campbell, N., Whitney, H., Hudson, R., Marrie, T.J. 2002. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in selected populations of domestic ruminants in Newfoundland. *Can.Vet.J.* 43[5], 363-364.
- Hawker, J.I., Ayres, J.G., Blair, I., Evans, M.R., Smith, D.L., Smith, E.G., Burge, P.S., Carpenter, M.J., Caul, E.O., Coupland, B., Desselberger, U., Farrell, I.D., Saunders, P.J., Wood, M.J. 1998. A large outbreak of Q fever in the West Midlands: windborne spread into a metropolitan area? *Commun.Dis.Public Health* 1[3], 180-187.
- Heinzen, R., Stiegler, G.L., Whiting, L.L., Schmitt, S.A., Mallavia, L.P., Frazier, M.E. 1990. Use of pulsed field gel electrophoresis to differentiate *Coxiella burnetii* strains. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 590, 504-513.
- Hellenbrand, W., Breuer, T., Petersen, L. 2001. Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. *Emerg.Infect.Dis.* 7[5], 789-796.
- Herr, S., Huchzermeyer, H.F., Te Brugge, L.A., Williamson, C.C., Roos, J.A., Schiele, G.J. 1985. The use of a single complement fixation test technique in bovine brucellosis, John's disease, dourine, equine piroplasmiasis and Q fever serology. *Onderstepoort J.Vet.Res.* 52[4], 279-282.
- Hirai, K., To, H. 1998. Advances in the understanding of *Coxiella burnetii* infection in Japan. *J.Vet.Med.Sci.* 60, 781-790.
- Ho, T., Htwe, K.K., Yamasaki, N., Zhang, G.Q., Ogawa, M., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Hirai, K. 1995. Isolation of *Coxiella burnetii* from dairy cattle and ticks, and some characteristics of the isolates in Japan. *Microbiol.Immunol.* 39[9], 663-671.
- Honstetter, A., Ghigo, E., Moynault, A., Capo, C., Toman, R., Akira, S., Takeuchi, O., Lepidi, H., Raoult, D., and Mege, J.L. 2004. Lipopolysaccharide from *Coxiella burnetii* is involved in bacterial phagocytosis, filamentous actin reorganization, and inflammatory responses through Toll-like receptor 4. *J Immunol.* 172, 3695-703.
- Howe, D., and Mallavia, L.P. 2000. *Coxiella burnetii* exhibits morphological change and delays phagolysosomal fusion after internalization by J774A.1 cells. *Infect Immun.* 68, 3815-21.
- Howe, D., Melnicakova, J., Barak, I., and Heinzen R.A. 2003. Maturation of the *Coxiella burnetii* parasitophorous vacuole requires bacterial protein synthesis but not replication. *Cell Microbiol.* 5, 469-80.
- Htwe, K.K., Amano, K., Sugiyama, Y., Yagami, K., Minamoto, N., Hashimoto, A., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Hirai, K. 1992. Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* in domestic and companion animals in Japan. *Vet.Rec.* 131[21], 490.
- Htwe, K.K., Yoshida, T., Hayashi, S., Miyake, T., Amano, K., Morita, C., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Hirai, K. 1993. Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* in Japan. *J.Clin.Microbiol.* 31[3], 722-723.
- Jager, C., Willems, H., Thiele, D., Baljer, G. 1998. Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates. *Epidemiol.Infect.* 120[2], 157-164.
- Janbon, F., Raoult, D., Reynes, J., Bertrand, A. 1989. Concomitant human infection due to *Rickettsia conorii* and *Coxiella burnetii*. *J.Infect.Dis.* 160[2], 354-355.
- Kästli, P. 1965. Die Milchhygienische Bedeutung des Q-Fiebers. *Milchwissenschaft* 91, 11-12.
- Kästli, P. 1965. Q-Fieber und Milchhygiene. *Milchwissenschaft* 91, 257.
- Kazar, J., Brezina, R., Schramek, S., Palanova, A., Tvrdá, B. 1981. Suitability of the microagglutination test for detection of post-infection and postvaccination Q fever antibodies in human sera. *Acta Virol.* 25[4], 235-240.
- Kazar, J., Kovacova, E. 1983. Failure of Q fever phase I corpuscular vaccine to influence the persistence and reactivation of *Coxiella burnetii* infection in mouse and guinea pig tissues. *Acta Virol.* 27[5], 418-428.
- Kazar, J., Gajdosova, E., Kovacova, E., Valkova, D. 1995. Immunogenicity and protective ability of corpuscular and soluble vaccines prepared from different *Coxiella burnetii* phase I strains. *Acta Virol.* 39[5-6], 243-249.
- Kosatsky, T. 1984. Household outbreak of Q-fever pneumonia related to a parturient cat. *Lancet* 2[8417-18], 1447-1449.

- Kovacova, E., Gallo, J., Schramek, S., Kazar, J., Brezina, R. 1987. *Coxiella burnetii* antigens for detection of Q fever antibodies by ELISA in human sera. *Acta Virol.* 31[3], 254-259.
- Krumbiegel, E.R., Wisniewski, H.J. 1970. Q fever in the Milwaukee area.. Consumption of infected raw milk by human volunteers. *Arch.Environ.Health* 21[1], 63-65.
- Kruszewska, D., Tylewska-Wierzbanska, S. 1997. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Res.Vet.Sci.* 62[3], 299-300.
- La Scola, B., Raoult, D. 1996. Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. *J.Clin.Microbiol.* 34[9], 2270-2274.
- La Scola, B., Lepidi, H., Raoult, D. 1997. Pathologic changes during acute Q fever: influence of the route of infection and inoculum size in infected guinea pigs. *Infect.Immun.* 65[6], 2443-2447.
- La Scola B. and Raoult D. 2001. Survival of *Coxiella burnetii* within free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Clin.Microbiol.Infect* 7, 75-79.
- Labrenz, M., Hirsch, P. 2003. The genus *Coxiella*. Garrity, G., Boone, D.R., Castenholz, R.W. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2. New York, N.Y., Springer-Verlag.
- Lang, G.H. 1990. Coxiellosis (Q fever) in animals. Marrie, T.J. Q fever, vol 1. The disease. Boca Raton, Fla, CRC Press.
- Langley, J.M., Marrie, T.J., Covert, A., Waag, D.M., Williams, J.C. 1988. Poker players' pneumonia. An urban outbreak of Q fever following exposure to a parturient cat. *N.Engl.J.Med.* 319[6], 354-356.
- Lapointe, J.M., Gulland, F.M., Haines, D.M., Barr, B.C., Duigan, P.J. 1999. Placentitis due to *Coxiella burnetii* in a Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*). *J.Vet.Diagn.Invest* 11, 541-543.
- Laughlin, T., Waag, D., Williams, J., Marrie, T. 1991. Q fever: from deer to dog to man. *Lancet* 337[8742], 676-677.
- Lautenschlager S., Willems H., Jager C., and Baljer G. 2000. Sequencing and characterization of the cryptic plasmid QpRS from *Coxiella burnetii*. *Plasmid.* 44 : 85-88.
- Lennette, E.H., Clark, W.H., Abinanti, M.M., Covert, J.M. 1951. Q fever studies : the effect of pasteurization on *Coxiella burnetii* naturally infected milk. *Am.J.Hyg.* 55, 246-253.
- Lerche, M. 1965. *Lehrbuch der tierärztlichen Milchüberwachung*. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey.
- Leone, M., Honstetter, A., Lepidi, H., Capo, C., Bayard, F., Raoult, D., Mege, J.L. 2004. Effect of sex on *Coxiella burnetii* infection: protective role of 17beta-estradiol. *J.Infect.Dis.* Jan 15;189[2], 339-45.
- Letaief, A.O., Yacoub, S., Tissot-Dupont, H., le Cam, C., Ghachem, L., Jemni, L., Raoult, D. 1995. Seroepidemiological survey of rickettsial infections among blood donors in central Tunisia. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 89[3], 266-268.
- Levesque B., De Serres G., Higgins R., D'Halewyn M. A., Artsob H., Grondin J., Major M., Garvie M., and Duval B. (1995). Seroepidemiologic study of three zoonoses (leptospirosis, Q fever, and tularemia) among trappers in Quebec, Canada. *Clin.Diagn.Lab.Immunol.* 2 : 496-98.
- Levy, P.Y., Carrier, P., Raoult, D. 1999. *Coxiella burnetii* pericarditis: report of 15 cases and review. *Clin.Infect.Dis.* 29[2], 393-397.
- Lorenz, H., Jager, C., Willems, H., Baljer, G. 1998. PCR detection of *Coxiella burnetii* from different clinical specimens, especially bovine milk, on the basis of DNA preparation with a silica matrix. *Appl.Environ.Microbiol.* 64[11], 4234-4237.
- Lorthios, P. 1998. Hygiénisation de fumiers d'ovins lors du compostage. Colloque "Le compostage à la ferme des effluents d'élevage". Paris.
- Luoto, L., Huebner, R.J. 1950. Q fever studies in Southern California : IX. Isolation of Q fever organisms from parturient placentas of naturally infected dairy cows. *Public Health Rep.* 65, 541-544.
- Maltezou, H.C., Raoult, D. 2002. Q fever in children. *Lancet Infect.Dis.* 2[11], 686-691.
- Maltezou, H.C., Constantopoulou, I., Kallergi, C., Vlahou, V., Georgakopoulos, D., Kafetzis, D.A., Raoult, D. 2004. Q fever in children in Greece. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* May;70(5):540-4.
- Manfredi, S.T., Rezza, G., Scagnelli, M., Rigoli, R., Rassa, M., De Lalla, F., Pellizzer, G.P., Tramarin, A., Bettini, C., Zampieri, L., Belloni, M., Pozza, E.D., Marangon, S., Marchioreto, N., Togni, G., Giacobbo, M., Todescato, A., Binkin, N. 1996. Investigation of a Q-fever outbreak in northern Italy. *Eur.J.Epidemiol.* 12[4], 403-408.
- Mantovani, A., Benazzi, P. 1953. The isolation of *Coxiella burnetii* from *Rhipicephalus sanguineus* on naturally infected dogs. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 122, 117-120.
- Marly, J., Vallet, A., Pardon, P. 1995. Evolution et maîtrise des contaminations des lisiers de bovins par les salmonelles. 2èmes Rencontres Recherches Ruminants. Paris.
- Marmion, B.P., Watson, W.A. 1961. Q fever and ovine abortion. *J.Comp Pathol.* 71, 360-369.
- Marrie, T.J., Van Buren, J., Fraser, J., Haldane, E.V., Faulkner, R.S., Williams, J.C., Kwan, C. 1985. Seroepidemiology of Q fever among domestic animals in Nova Scotia. *Am.J.Public Health* 75[7], 763-766.
- Marrie, T.J., Schlech, W.F.,I, Williams, J.C., Yates, L. 1986. Q fever pneumonia associated with exposure to wild rabbits. *Lancet* 1[8478], 427-429.
- Marrie, T.J., Durant, H., Williams, J.C., Mintz, E., Waag, D.M. 1988. Exposure to parturient cats: a risk factor for acquisition of Q fever in Maritime Canada. *J.Infect.Dis.* 158[1], 101-108.
- Marrie, T.J. 1990. Epidemiology of Q fever. Marrie, T.J. Q fever, vol 1. The disease. 49-70. Boca Raton, Fla, CRC Press.

- Marrie, T.J., Embil, J., Yates, L. 1993. Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* among wildlife in Nova Scotia. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 49[5], 613-615.
- Marrie, T.J., Stein, A., Janigan, D., Raoult, D. 1996. Route of infection determines the clinical manifestations of acute Q fever. *J.Infect.Dis.* 173[2], 484-487.
- Martinov, S.P., Pandarov, S., Popov, G.V. 1989. Seroepizootology of Q fever in Bulgaria during the last five years. *Eur.J.Epidemiol.* 5[4], 425-427.
- Matthewman, L., Kelly, P., Hayter, D., Downie, S., Wray, K., Bryson, N., Rycroft, A., Raoult, D. 1997. Exposure of cats in southern Africa to *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever. *Eur.J.Epidemiol.* 13[4], 477-479.
- Maurin, M., Benoliel, A.M., Bongrand, P., Raoult, D. 1992. Phagolysosomal alkalization and the bactericidal effect of antibiotics: the *Coxiella burnetii* paradigm. *J.Infect.Dis.* 166[5], 1097-1102.
- Maurin, M., Benoliel, A.M., Bongrand, P., Raoult, D. 1992. Phagolysosomes of *Coxiella burnetii*-infected cell lines maintain an acidic pH during persistent infection. *Infect.Immun.* 60[12], 5013-5016.
- Maurin, M., Raoult, D. 1997. Bacteriostatic and bactericidal activity of levofloxacin against *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, 'Israeli spotted fever group rickettsia' and *Coxiella burnetii*. *J.Antimicrob.Chemother.* 39[6], 725-730.
- Maurin, M., Raoult, D. 1999. Q fever. *Clin.Microbiol.Rev.* 12[4], 518-553.
- McCaul, T.F., Williams, J.C. 1981. Developmental cycle of *Coxiella burnetii*: structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations. *J.Bacteriol.* 147[3], 1063-1076.
- McCaul, T.F. 1991. The development cycle of *Coxiella burnetii*. Williams, J.C., Thompson, H.A. Q fever : the biology of *Coxiella burnetii*. 223-258. Boca Raton, Fla, CRC Press.
- McCaul, T.F., Banerjee-Bhatnagar N., and Williams, J.C. 1991. Antigenic differences between *Coxiella burnetii* cells revealed by postembedding immunoelectron microscopy and immunoblotting. *Infect Immun.* 59, 3243-3253.
- McCaul T.F., Dare A. J., Gannon J. P., and Galbraith A. J. 1994. In vivo endogenous spore formation by *Coxiella burnetii* in Q fever endocarditis. *J.Clin.Pathol.* 47, 978-81.
- McDale, J.E. 1990. Historical aspects of Q fever. In Q fever, volume I : the disease. Marrie, T.J. ed. 5-21, CRC press, Boston.
- Mege, J.L., Maurin, M., Capo, C., Raoult, D. 1997. *Coxiella burnetii*: the 'query' fever bacterium. A model of immune subversion by a strictly intracellular microorganism. *FEMS Microbiol.Rev.* 19[4], 209-217.
- Melnickova, J., Lukacova, M., Howe, D., Heinzen, R.A., and Barak I. 2003. Identification of *Coxiella burnetii* RpoS-dependent promoters. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 990 : 591-95.
- Meskini, M., Beati, L., Benslimane, A., Raoult, D. 1995. Seroepidemiology of rickettsial infections in Morocco. *Eur.J.Epidemiol.* 11[6], 655-660.
- Minnick, M.F., Heinzen, R.A., Douthart, R., Mallavia L.P., and Frazier, M.E..1990. Analysis of QpRS-specific sequences from *Coxiella burnetii*. *Ann N Y Acad Sci.* 590 : 514-22.
- Moos, A., Hackstadt, T. 1987. Comparative virulence of intra- and interstrain lipopolysaccharide variants of *Coxiella burnetii* in the guinea pig model. *Infect.Immun.* 55[5], 1144-1150.
- Moretti, B. 1984. [Q fever in cows with special reference to *Coxiella burnetii* colonization of the udder]. *Ann.Ist.Super.Sanita* 20[4], 317-327.
- Morita, C., Katsuyama, J., Yanase, T., Ueno, H., Muramatsu, Y., Hohdatsu, T., Koyama, H. 1994. Seroepidemiological survey of *Coxiella burnetii* in domestic cats in Japan. *Microbiol.Immunol.* 38[12], 1001-1003.
- Muramatsu, Y., Yanase, T., Okabayashi, T., Ueno, H., Morita, C. 1997. Detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk by PCR-enzyme-linked immunosorbent assay combined with a novel sample preparation method. *Appl.Environ.Microbiol.* 63[6], 2142-2146.
- Musso, D., Raoult, D. 1995. *Coxiella burnetii* blood cultures from acute and chronic Q-fever patients. *J.Clin.Microbiol.* 33[12], 3129-3132.
- Musso, D., Raoult, D. 1997. Serological cross-reactions between *Coxiella burnetii* and *Legionella micdadei*. *Clin.Diagn.Lab Immunol.* 4[2], 208-212.
- Nagaoka, H., Akiyama, M., Sugieda, M., Nishio, T., Akahane, S., Hattori, H., Ho, T., Fukushi, H., Hirai, K. 1996. Isolation of *Coxiella burnetii* from children with influenza-like symptoms in Japan. *Microbiol.Immunol.* 40[2], 147-151.
- Nguyen, S.V., Otsuka, H., Zhang, G.Q., To, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Noma, A., Hirai, K. 1996. Rapid method for detection of *Coxiella burnetii* antibodies using high-density particle agglutination. *J.Clin.Microbiol.* 34[12], 2947-2951.
- Nguyen, S.V., To, H., Minamoto, N., Ogawa, M., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K. 1997. Evaluation of the high-density agglutination test for *Coxiella burnetii* antibodies in animals. *Clin.Diagn.Lab Immunol.* 4[6], 676-680.
- Norlander, L. 2000. Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes Infect.* 2[4], 417-424.
- Okabayashi, T., Hasebe, F., Samui, K.L., Mweene, A.S., Pandey, S.G., Yanase, T., Muramatsu, Y., Ueno, H., Morita, C. 1999. Short report: prevalence of antibodies against spotted fever, murine typhus, and Q fever rickettsiae in humans living in Zambia. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 61[1], 70-72.
- Ormsbee, R. 1952. The growth of *Coxiella burnetii* in embryonated eggs. *J.Bacteriol.* 63, 73.
- Ormsbee, R., Peacock, M., Gerloff, R., Tallent, G., Wike, D. 1978. Limits of rickettsial infectivity. *Infect.Immun.* 19[1], 239-245.
- Oswald, W., and Thiele D. 1993. A sporulation gene in *Coxiella burnetii* ? *Zentralbl Veterinarmed [B]*. 40 : 366-70.

- Palmer, N.C., Kierstead, M., Key, D.W., Williams, J.C., Peacock, M.G., Vellend, H. 1983. Placentitis and abortion in sheep and goats in Ontario caused by *Coxiella burnetii*. *Can.Vet.J.* 24, 61.
- Palmer, S.R., Young, S.E. 1982. Q-fever endocarditis in England and Wales, 1975-81. *Lancet* 2[8313], 1448-1449.
- Parker, R.R., Davis, G.E. 1938. A filter-passing infectious agent isolated from ticks. Transmission by *Dermacentor andersoni*. *Public Health Rep.* 53, 2267-2269.
- Peacock, M.G., Philip, R.N., Williams, J.C., Faulkner, R.S. 1983. Serological evaluation of Q fever in humans: enhanced phase I titers of immunoglobulins G and A are diagnostic for Q fever endocarditis. *Infect.Immun.* 41[3], 1089-1098.
- Penttilä, I.A., Harris, R.J., Storm, P., Haynes, D., Worswick, D.A., Marmion, B.P. 1998. Cytokine dysregulation in the post-Q-fever fatigue syndrome. *QJM.* 91[8], 549-560.
- Perrin, T.K., Bengtson, I.A. 1942. The histopathology of experimental Q fever in mice. *Public Health Rep.* 57, 790-794.
- Peter, O., Dupuis, G., Burgdorfer, W., Peacock, M. 1985. Evaluation of the complement fixation and indirect immunofluorescence tests in the early diagnosis of primary Q fever. *Eur.J.Clin.Microbiol.* 4[4], 394-396.
- Peter, O., Dupuis, G., Peacock, M.G., Burgdorfer, W. 1987. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation and indirect fluorescent-antibody tests for detection of *Coxiella burnetii* antibody. *J.Clin.Microbiol.* 25[6], 1063-1067.
- Peter, O., Dupuis, G., Bee, D., Luthy, R., Nicolet, J., Burgdorfer, W. 1988. Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of chronic Q fever. *J.Clin.Microbiol.* 26[10], 1978-1982.
- Philip, C.B. 1948. Observations on experimental Q fever. *J.Parasitol.* 34, 457-464.
- Pinsky, R.L., Fishbein, D.B., Greene, C.R., Gensheimer, K.F. 1991. An outbreak of cat-associated Q fever in the United States. *J.Infect.Dis.* 164[1], 202-204.
- Plommet, M., Capponi, M., Gestin, J., Renoux, G. 1973. Fièvre Q expérimentale des bovins. *Ann.Rech.Vet.* 4[2], 325-346.
- Polydorou, K. 1985. Q-fever control in Cyprus—recent progress. *Br.Vet.J.* 141[4], 427-430.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. 1994. Bacterial pathogens : microscopy, culture and identification. *Clinical Veterinary Microbiology.* 21-30. Wolfe Publishing, Mosby -Yeay Book Europe Limited.
- Raoult, D., Etienne, J., Massip, P., Iacono, S., Prince, M.A., Beaurain, P., Benichou, S., Auvergnat, J.C., Mathieu, P., Bachet, P. 1987. Q fever endocarditis in the south of France. *J.Infect.Dis.* 155[3], 570-573.
- Raoult, D., Levy, P.Y., Harle, J.R., Etienne, J., Massip, P., Goldstein, F., Micoud, M., Beytout, J., Gallais, H., Remy, G. 1990. Chronic Q fever: diagnosis and follow-up. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 590, 51-60.
- Raoult, D., Vestris, G., Enea, M. 1990. Isolation of 16 strains of *Coxiella burnetii* from patients by using a sensitive centrifugation cell culture system and establishment of the strains in HEL cells. *J.Clin.Microbiol.* 28[11], 2482-2484.
- Raoult, D., Torres, H., Drancourt, M. 1991. Shell-vial assay: evaluation of a new technique for determining antibiotic susceptibility, tested in 13 isolates of *Coxiella burnetii*. *Antimicrob.Agents Chemother.* 35[10], 2070-2077.
- Raoult, D., Brouqui, P., Marchou, B., Gastaut, J.A. 1992. Acute and chronic Q fever in patients with cancer. *Clin.Infect.Dis.* 14[1], 127-130.
- Raoult, D. 1993. Treatment of Q fever. *Antimicrob.Agents Chemother.* 37[9], 1733-1736.
- Raoult, D., Levy, P.Y., Tissot-Dupont, H., Chicheportiche, C., Tamalet, C., Gastaut, J.A., Salducci, J. 1993. Q fever and HIV infection. *AIDS* 7[1], 81-86.
- Raoult, D., Marrie, T. 1995. Q fever. *Clin.Infect.Dis.* 20[3], 489-495.
- Raoult, D., Stein, A. 1994. Q fever during pregnancy—a risk for women, fetuses, and obstetricians. *N.Engl.J.Med.* 330[5], 371.
- Raoult, D., Houpikian, P., Tissot, D.H., Riss, J.M., Arditi-Djiane, J., Brouqui, P. 1999. Treatment of Q fever endocarditis: comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine. *Arch.Intern.Med.* 159[2], 167-173.
- Raoult, D., Tissot-Dupont, H., Foucault, C., Gouvernet, J., Fournier, P.E., Bernit, E., Stein, A., Nesri, M., Harle, J.R., Weiller, P.J. 2000. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine (Baltimore)* 79[2], 109-123.
- Raoult, D., Fenollar, F., Stein, A. 2002. Q fever during pregnancy: diagnosis, treatment, and follow-up. *Arch.Intern.Med.* 162[6], 701-704.
- Raska, K., Syrucek, L. 1956. Epidemiology of Q fever in Czechoslovakia. *Zentralbl.Bakteriol.Parasitol.Infektionskr.Hyg.* 267-284.
- Rey, D., Obadia, Y., Tissot-Dupont, H., Raoult, D. 2000. Seroprevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* among pregnant women in South Eastern France. *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.* Dec;93[2], 151-6.
- Richardus, J.H., Schaap, G.J., Donkers, A., Dumas, A.M., Huisman, J. 1984. [Q fever in the Netherlands; a description of 33 case reports observed between 1979 and 1983]. *Ned.Tijdschr.Geneesk.* 128[48], 2253-2258.
- Rousset, E., Eon, L., Russo, P., Pepin, M., Aubert, M. 2002. La fièvre Q : Epidémiologie d'une zoonose. *Bulletin des groupements techniques vétérinaires*, 17, 81-87.
- Rousset, E., Russo, P., Pepin, M., Aubert, M. 2004. Q fever. *OIE manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Vallat B. and Edwards S. eds, 387-398, OIE, Paris.
- Russo, P., Rodolakis, A., Nettleton, P. 1997. Infection à *Coxiella burnetii* ou fièvre Q. *Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants.* 103-114. Casablanca, Maroc, L'Espace Vétérinaire.
- Rustscheff, S., Norlander, L., Macellaro, A., Sjøstedt, A., Vene, S., Carlsson, M. 2000. A case of Q fever acquired in Sweden and isolation of the probable ethiological agent, *Coxiella burnetii* from an indigenous source. *Scand.J.Infect.Dis.* 32[6], 605-607.

- Sadecky, E., Brezina, R., Kazar, J., Urvolgyi, J. 1975. Immunization against Q-fever of naturally infected dairy cows. *Acta Virol.* 19[6], 486-488.
- Sadecky, E., Brezina, R., Michalovic, M. 1975. Vaccination of cattle against Q-fever. *J.Hyg.Epidemiol.Microbiol.Immunol.* 19[2], 200-206.
- Sadecky, E., Brezina, R. 1977. Vaccination of naturally infected ewes against Q-fever. *Acta Virol.* 21[1], 89.
- Salmon, M.M., Howells, B., Glencross, E.J., Evans, A.D., Palmer, S.R. 1982. Q fever in an urban area. *Lancet* 1[8279], 1002-1004.
- Samuel, J.E., Frazier, M.E., Kahn, M.L., Thomashow, L.S., and Mallavia, L.P. 1983. Isolation and characterization of a plasmid from phase I *Coxiella burnetii*. *Infect Immun.* 41, 488-493.
- Sanchez-Recalde, A., Mate, I., Lopez, E., Yebra, M., Merino, J.L., Perea, J., Tellez, A., Sobrino, J.A. 2000. Endocarditis por *Coxiella burnetii* : evolucion a largo plazo de 20 pacientes. *Rev.Esp.Cardiol.* 53[7], 940-946.
- Sanchis, R., Russo, P., Calamel, M., Pepin, M. 1997. Diagnostic différentiel des avortements infectieux des petits ruminants. Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements médicaux des petits ruminants. 25-34. Casablanca, Maroc, L'Espace Vétérinaire.
- Sanford, S.E., Josephson, G.K., MacDonald, A. 1994. *Coxiella burnetii* (Q fever) abortion storms in goat herds after attendance at an annual fair. *Can.Vet.J.* 35[6], 376-378.
- Savinelli, E.A., Mallavia, L.P. 1990. Comparison of *Coxiella burnetii* plasmids to homologous chromosomal sequences present in a plasmidless endocarditis-causing isolate. *Ann N Y Acad Sci.* 590 : 523-33.
- Schaal, E., Schaaf, J. 1969. Erfahrung und Erfolge bei der Sanierung von Rinderbeständen mit Q-Fieber. *Zentralbl.Veterinarmed.[B]* 16[9], 818-831.
- Schaal, E. 1977. Vorkommen von *Coxiella burnetii* in Nahrungsmitteln tierischer Herkunft. *Berl Munch.Tierarztl.Wochenschr.* 90[19], 376-379.
- Schmeer, N., Krauss, H., Lohrbach, W., Wiegand, D. 1986. Differences in IgG1 and IgG2 responses of cattle infected with *Coxiella burnetii* and following vaccination. *Comp Immunol.Microbiol.Infect.Dis.* 9[1], 95-98.
- Schmeer, N., Krauss, H., Apel, J., Adami, M., Muller, H.P., Schneider, W., Perez-Martinez, J.A., Rieser, H. 1987. Analysis of caprine IgG1 and IgG2 subclass responses to *Chlamydia psittaci* infection and vaccination. *Vet.Microbiol.* 14[2], 125-135.
- Schmeer, N., Muller, P., Langel, J., Krauss, H., Frost, J.W., Wieda, J. 1987. Q fever vaccines for animals. *Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.[A]* 267[1], 79-88.
- Scott, G.H., Williams, J.C. 1990. Susceptibility of *Coxiella burnetii* to chemical disinfectants. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 590, 291-296.
- Seigneurin, R., Seigneurin, J.M. 1968. Le Corbeau des Alpes est infecté par *R. burnetii*. *Bull.Acad.Natl.Med.* 152[1], 5-7.
- Sekeyova, Z., Thiele, D., Krauss, H., Karo, M., Kazar, J. 1996. Monoclonal antibody based differentiation of *Coxiella burnetii* isolates. *Acta Virol.* 40[3], 127-132.
- Sekeyova, Z., Roux, V., Raoult, D. 1999. Intraspecies diversity of *Coxiella burnetii* as revealed by com1 and mucZ sequence comparison. *FEMS Microbiol.Lett.* 180[1], 61-67.
- Seshadri, R., Hendrix, L.R., Samuel, J.E. 1999. Differential expression of translational elements by life cycle variants of *Coxiella burnetii*. *Infect.Immun.* 67[11], 6026-6033.
- Seshadri, R., Paulsen, I.T., Eisen, J.A., Read, T.D., Nelson, K.E., Ward, N.L., Tettelin, H., Davidsen, T.M., Beanan, M.J., Beboy, R.T., Daugherty, S.C., Brinkac, L.M., Madupu, R., Dodson, R.J., Khouri, H.M., Lee, K.H., Carty, H.A., Scanlan, D., Heinzen, R.A., Thompson, H.A., Samuel, J.E., Fraser, C.M., Heidelberg, J.F. 2003. Complete genome sequence of the Qfever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 100[9], 5455-5460.
- Siegman-Igra, Y., Kaufman, O., Keysary, A., Rzotkiewicz, S., Shalit, I. 1997. Q fever endocarditis in Israel and a worldwide review. *Scand.J.Infect.Dis.* 29[1], 41-49.
- Sipka, M. 1959. Überleben von *Rickettsia burnetii* i in Käse. *Ref.Vet.Bull.* 29, 112.
- Smith, D.J.W. 1940. Studies on the epidemiology of Q fever.I. The transmission of Q fever by the tick *Haemaphysalis bispinosa*. *Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci.* 18, 103-106.
- Smith, D.J.W. 1941. Studies on the epidemiology of Q fever. VIII. The transmission of Q fever by the tick *Rhipicephalus sanguineus*. *Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci.* 19, 119-122.
- Smith, D.L., Ayres, J.G., Blair, I., Burge, P.S., Carpenter, M.J., Caul, E.O., Coupland, B., Desselberger, U., Evans, M., Farrell, I.D., . 1993. A large Q fever outbreak in the West Midlands: clinical aspects. *Respir.Med.* 87[7], 509-516.
- Spitaslka, E., Kocianova, E. 2003. Detection of *Coxiella burnetii* in ticks collected in Slovakia and Hungary. *Eur.J.Epidemiol.* 18, 263-266.
- Spyridaki, I., Psaroulaki, A., Aransay, A., Scoulica, E., Tselentis, Y. 2000. Diagnosis of quinolone-resistant *Coxiella burnetii* strains by PCR-RFLP. *J.Clin.Lab Anal.* 14[2], 59-63.
- Spyridaki, I., Psaroulaki, A., Loukaides, F., Antoniou, M., Hadjichristodoulou, C., Tselentis, Y. 2002. Isolation of *Coxiella burnetii* by a centrifugation shell-vial assay from ticks collected in Cyprus: detection by nested polymerase chain reaction (PCR) and by PCR-restriction fragment length polymorphism analyses. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 66[1], 86-90.
- Stein, A., Saunders, N.A., Taylor, A.G., Raoult, D. 1993. Phylogenic homogeneity of *Coxiella burnetii* strains as determined by 16S ribosomal RNA sequencing. *FEMS Microbiol.Lett.* 113[3], 339-344.
- Stein, A., Raoult, D. 1998. Q fever during pregnancy: a public health problem in southern France. *Clin.Infect.Dis.* 27[3], 592-596.
- Stein, A., Raoult, D. 1999. Pigeon pneumonia in provence: a bird-borne Q fever outbreak. *Clin.Infect.Dis.* 29[3], 617-620.

- Stemmler, M., Meyer, H. 2002. Rapid and specific detection of *Coxiella burnetii* by LightCycler PCR. Reisch, U., Wittwer, C., Cockerill, F. Methods and applications. Microbiology and food analysis. 149-154. Berlin, Springer Verlag.
- Tainturier, D. 1987. Métrites en série chez la vache provoquées par la fièvre Q. Recueil Med.Vet. 163, 195-198.
- Tellez, A., Sainz, C., Echevarria, C., de Carlos, S., Fernandez, M.V., Leon, P., Brezina, R. 1988. Q fever in Spain: acute and chronic cases, 1981-1985. Rev.Infect.Dis. 10[1], 198-202.
- Thibon, M., Villiers, V., Souque, P., Dautry-Varsat, A., Duquesnel, R., Ojcius, D.M. 1996. High incidence of *Coxiella burnetii* markers in a rural population in France. Eur.J.Epidemiol. 12[5], 509-513.
- Thiele, D., Karo, M., Krauss, H. 1992. Monoclonal antibody based capture ELISA/ELIFA for detection of *Coxiella burnetii* in clinical specimens. Eur.J.Epidemiol. 8[4], 568-574.
- Thiele, D., Willems, H., Kopf, G., Krauss, H. 1993. Polymorphism in DNA restriction patterns of *Coxiella burnetii* isolates investigated by pulsed field gel electrophoresis and image analysis. Eur.J.Epidemiol. 9[4], 419-425.
- Thomas, D.R., Salmon, R.L., Kench, S.M., Meadows, D., Coleman, T.J., Morgan-Capner, P., Morgan, K.L. 1994. Zoonotic illness: determining risks and measuring effects of the association between current animal exposure and a history of illness in a well characterized rural population. J.Epidemiol.Community Health 48, 151-155.
- Thomas, D.R., Treweek, L., Salmon, R.L., Kench, S.M., Coleman, T.J., Meadows, D., Morgan-Capner, P., Caul, E.O. 1995. The risk of acquiring Q fever on farms: a seroepidemiological study. Occup.Environ.Med. 52[10], 644-647.
- Thomas, D.R., Salmon, R.L., Smith, R.M.M., Caul, E.O., Treweek, L., Kench, S.M., Coleman, T.J., Meadows, D., Morgan-Capner, P., Sillis, M. 1996. Epidemiology of Q fever in the UK. Kazar, J., Toman, R. Rickettsiae and rickettsial diseases. 512-517. Bratislava, Slovak Academy of Sciences.
- Thompson, H.A., Hoover T.A., Vodkin, M.H., and Shaw E.I. 2003. Do chromosomal deletions in the lipopolysaccharide biosynthetic regions explain all cases of phase variation in *Coxiella burnetii* strains? An update. Ann.N.Y.Acad.Sci. 990 : 664-70.
- Tigertt, W.D., Benenson, A.S., Gochenour, W.S. 1961. Airborne Q fever. Bacteriol.Rev. 25, 285-293.
- Tissot-Dupont, H., Raoult, D., Brouqui, P., Janbon, F., Peyramond, D., Weiller, P.J., Chicheportiche, C., Nezri, M., Poirier, R. 1992. Epidemiologic features and clinical presentation of acute Q fever in hospitalized patients: 323 French cases. Am.J.Med. 93[4], 427-434.
- Tissot-Dupont, H., Thirion, X., Raoult, D. 1994. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. Clin.Diagn.Lab Immunol. 1[2], 189-196.
- Tissot-Dupont, H., Torres, S., Nezri, M., Raoult, D. 1999. Hyperendemic focus of Q fever related to sheep and wind. Am.J.Epidemiol. 150[1], 67-74.
- Tissot-Dupont, H., Amadei, M.A., Nezri, M., Raoult, D. 2004. Wind in November - Q fever in December. Emerg.Infect.Dis. 10[7], 1264-1269.
- To, H., Kako, N., Zhang, G.Q., Otsuka, H., Ogawa, M., Ochiai, O., Nguyen, S.V., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Nagaoka, N., Akiyama, M., Amano, K., Hirai, K. 1996. Q fever pneumonia in children in Japan. J.Clin.Microbiol. 34[3], 647-651.
- To, H., Htwe, K.K., Kako, N., Kim, H.J., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Hirai, K. 1998. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders. J.Vet.Med.Sci. 60[7], 859-861.
- Tokarevich, N.K., Schramek, S., Daiter, A.B. 1990. Indirect haemolysis test in Q-fever. Acta Virol. 34[4], 358-360.
- Tselentis, Y., Gikas, A., Kofteridis, D., Kyriakakis, E., Lydataki, N., Bouros, D., Tsaparas, N. 1995. Q fever in the Greek Island of Crete: epidemiologic, clinical, and therapeutic data from 98 cases. Clin.Infect.Dis. 20[5], 1311-1316.
- Uhaa, I.J., Fishbein, D.B., Olson, J.G., Rives, C.C., Waag, D.M., Williams, J.C. 1994. Evaluation of specificity of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human Q fever. J.Clin.Microbiol. 32[6], 1560-1565.
- Vellend, H., Salit, I.E., Spence, L.P., McLaughlin, B., Carlson, J., Palmer, N., Van Dreumel, A., Hodgkinson, J.R. 1982. Q fever - Ontario. Can.Dis.Wkly.Rep. 8, 170-171.
- Veras, P.S., de Chastellier, C., Moreau, M.F., Villiers, V., Thibon, M., Mattei, D., Rabinovitch, M. 1994. Fusion between large phagocytic vesicles: targeting of yeast and other particulates to phagolysosomes that shelter the bacterium *Coxiella burnetii* or the protozoan *Leishmania amazonensis* in Chinese hamster ovary cells. J.Cell Sci. 107 (Pt 11), 3065-3076.
- Vodkin, M.H. and Williams J.C. 1986. Overlapping deletion in two spontaneous phase variants of *Coxiella burnetii*. J.Gen.Microbiol. 132 : 2587-94.
- Vodkin, M.H., Williams, J.C., Stephenson, E.H. 1986. Genetic heterogeneity among isolates of *Coxiella burnetii*. J.Gen.Microbiol. 132 (Pt 2), 455-463.
- Waag, D., Chulay, J., Marrie, T., England, M., Williams, J. 1995. Validation of an enzyme immunoassay for serodiagnosis of acute Q fever. Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis. 14[5], 421-427.
- Waag, D.M., England, M.J., Pitt, M.L. 1997. Comparative efficacy of a *Coxiella burnetii* chloroform:methanol residue (CMR) vaccine and a licensed cellular vaccine (Q-Vax) in rodents challenged by aerosol. Vaccine 15[16], 1779-1783.
- Waldhalm, D.G., Stoenner, H.G., Simmons, R.E., Thomas, L.A. 1978. Abortion associated with *Coxiella burnetii* infection in dairy goats. J.Am.Vet.Med.Assoc. 173[12], 1580-1581.
- Webster, J.P., Lloyd, G., Macdonald, D.W. 1995. Q fever (*Coxiella burnetii*) reservoir in wild brown rat (*Rattus norvegicus*) populations in the UK. Parasitology 110 (Pt 1), 31-35.

- Weisburg, W.G., Dobson, M.E., Samuel, J.E., Dasch, G.A., Mallavia, L.P., Baca, O., Mandelco, L., Sechrest, J.E., Weiss, E., Woese, C.R. 1989. Phylogenetic diversity of the Rickettsiae. *J.Bacteriol.* 171[8], 4202-4206.
- Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R., Winn, J.F. 1951. Q fever in California. IV. Occurrence of *Coxiella burnetii* in the placenta of naturally infected sheep. *Public Health Rep.* 66, 1473-1477.
- Welsh, H.H., Lennette, E.H., Abinanti, F.R., Winn, J.F. 1957. Air-borne transmission of Q fever : the role of parturition in the generation of infective aerosols. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 70, 528-535.
- Wen, B.H., Yu, S.R., Yu, G.Q., Li, Q.J., Zhang, X. 1991. Analysis of proteins and lipopolysaccharides from Chinese isolates of *Coxiella burnetii* with monoclonal antibodies. *Acta Virol.* 35[6], 538-544.
- Wiebe, M.E., Burton, P.R., Shankel, D.M. 1972. Isolation and characterization of two cell types of *Coxiella burnetii* phase I. *J.Bacteriol.* 110[1], 368-377.
- Willems, H., Thiele, D., Glas-Adollah-Baik, K.M., Krauss, H. 1992. Immunoblot technique for Q fever (technical note). *Eur.J.Epidemiol.* 8[1], 103-107.
- Williams, J.C., Thomas, L.A., Peacock, M.G. 1986. Identification of phase-specific antigenic fractions of *Coxiella burnetii* by enzyme-linked immunosorbent assay. *J.Clin.Microbiol.* 24[6], 929-934.
- Williams, J.C., Thomas, L.A., Peacock, M.G. 1986b. Humoral immune response to Q fever: enzyme-linked immunosorbent assay antibody response to *Coxiella burnetii* in experimentally infected guinea pigs. *J.Clin.Microbiol.* 24[6], 935-939.
- Williams, J.C., Hoover, T.A., Waag, D.M., Banerjee-Bhatnagar, N., Bolt, C.R., Scott, G.H. 1990. Antigenic structure of *Coxiella burnetii*. A comparison of lipopolysaccharide and protein antigens as vaccines against Q fever. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 590, 370-380.
- Wilson, K.H., Blitchington, R., Shah, P., McDonald, G., Gilmore, R.D., Mallavia, L.P. 1989. Probe directed at a segment of *Rickettsia rickettsii* rRNA amplified with polymerase chain reaction. *J.Clin.Microbiol.* 27[12], 2692-2696.
- Wittenbrink, M.M., Gefaller, S., Failing, K., Bisping, W. 1994. [The effect of herd and animal factors on the detection of complement-binding antibodies against *Coxiella burnetii* in cattle]. *Berl Munch.Tierarztl.Wochenschr.* 107[6], 185-191.
- Woernle, H., Limouzin, C., Muler, K., Durand, M.P. 1985. La fièvre Q bovine. Effet de la vaccination et de l'antibiothérapie sur l'évolution clinique et l'excrétion de *Coxiella burnetii* dans le lait. *Bull.Acad.Natl.Vet.* 58, 91-100.
- Worswick, D., Marmion, B.P. 1985. Antibody responses in acute and chronic Q fever and in subjects vaccinated against Q fever. *J.Med.Microbiol.* 19[3], 281-296.
- Yanase, T., Muramatsu, Y., Ueno, H., Morita, C. 1997. Seasonal variations in the presence of antibodies against *Coxiella burnetii* in dairy cattle in Hokkaido, Japan. *Microbiol.Immunol.* 41[2], 73-75.
- Yanase, T., Muramatsu, Y., Inouye, I., Okabayashi, T., Ueno, H., Morita, C. 1998. Detection of *Coxiella burnetii* from dust in a barn housing dairy cattle. *Microbiol.Immunol.* 42[1], 51-53.
- Yarrow, A., Slater, P.E., Costin, C. 1990. Q fever in Israel. *Public Health Rev.* 18[2], 129-137.
- Zeman, D.H., Kirkbride, C.A., Leslie-Steen, P., Duimstra, J.R. 1989. Ovine abortion due to *Coxiella burnetii* infection. *J.Vet.Diagn.Invest* 1[2], 178-180.
- Zepeda-Sein, A. 1998. Méthodes d'évaluation des risques zoo-sanitaires lors des échanges internationaux. Séminaire sur la sécurité zoo-sanitaire des échanges dans les Caraïbes. Port of Spain (Trinidad and Tobago). 2-17. Paris, Office International des Epizooties.
- Zhang, Y.X., Zhi, N., Yu, S.R., Li, Q.J., Yu, G.Q., Zhang, X. 1994. Protective immunity induced by 67 K outer membrane protein of phase I *Coxiella burnetii* in mice and guinea pigs. *Acta Virol.* 38[6], 327-332.
- Zhang, G.Q., To, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K. 1997. Differentiation of *Coxiella burnetii* by sequence analysis of the gene (com1) encoding a 27-kDa outer membrane protein. *Microbiol.Immunol.* 41[11], 871-877.