

# Intérêt de la technique PCR dite en temps réel pour la détection de *Coxiella burnetii*, agent d'une zoonose : la Fièvre Q

## The interest of a Real Time PCR assay for the detection of *Coxiella burnetii*, an agent of a zoonotic disease : Q fever

R. GUATTEO (1), F. BEAUDEAU (1), V. DESCARSIN (2), E. SELLAL (3), A. RODOLAKIS (4), A. JOLY (5)

(1) UMR ENVN-INRA, Gestion de la Santé Animale, BP 404706, 44307 Nantes Cedex 3

(2) AES Laboratoire, Rue Maryse Bastié, Ker Lann, CS 17219, 35172 Bruz Cedex

(3) LSI (Laboratoire Service International), Le Bois Dieu, 1 bis allée de la Combe, 69380 Lissieu

(4) UR INRA Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA Tours, 37380 Nouzilly

(5) Union Bretonne des Groupements de Défense Sanitaire, GDS 56, BP 110, 6 avenue Edgar Degas, 56000 Vannes

### INTRODUCTION

La fièvre Q est une affection due à *Coxiella burnetii*, une bactérie strictement intracellulaire, qui peut infecter de nombreuses espèces animales (ruminants, chat, oiseaux, arthropodes) mais aussi l'Homme : la fièvre Q est une zoonose, les Ruminants domestiques étant considérés comme le principal réservoir pour l'infection humaine (Heinzen *et al.*, 1999). La détection des bovins excréteurs est un point critique pour l'évaluation des risques de transmission de l'infection par *Coxiella burnetii* entre bovins et des bovins à l'Homme. *Coxiella burnetii* peut être excrétée dans les produits de la parturition (Berri *et al.*, 2002), les fèces (Berri *et al.*, 2000), le sperme, l'urine (Heinzen *et al.*, 1999) et le lait (Willems *et al.*, 1994). Pour mettre en évidence l'excrétion bactérienne, la technique PCR est une méthode de choix. Les techniques ELISA disponibles présentent en effet des défauts de sensibilité important, et l'examen bactérioscopique par coloration de Stamp-Machiavello présente de faibles valeurs de sensibilité et spécificité. L'isolement bactérien ne peut être envisagé dans le cadre d'études à grande échelle. A ce jour, les performances de la technique PCR appliquée à plusieurs types de prélèvements n'ont pas été évaluées à grande échelle dans les troupeaux bovins laitiers. L'objectif de cette étude était d'évaluer la valeur informative de la technique PCR dite en temps réel pour la détection de *Coxiella burnetii*.

### 1. MATERIEL ET METHODES

242 vaches provenant de 31 troupeaux ont été soumises à un prélèvement aseptique de lait issu des 4 quartiers, un prélèvement stérile de matières fécales et à la réalisation d'un écouvillon vaginal. Afin de maximiser la probabilité de prélever des animaux excréteurs, les troupeaux éligibles devaient présenter les caractéristiques suivantes : la présence de *Coxiella burnetii* avait été mise en évidence directement (Stamp) ou indirectement (sérologie) et la séroprévalence intra-troupeau était supérieure ou égale à 30 % (sur un échantillon de 10 bovins prélevés, l'analyse sérologique datant de moins de 6 mois, la coloration de Stamp de moins de 3 mois). Au sein de ces troupeaux, les bovins éligibles étaient les animaux séropositifs et/ou Stamp positifs, les animaux ayant mis bas dans les 45 jours maximum précédant la visite (période durant laquelle l'excrétion bactérienne serait maximale) (Rodolakis, communication personnelle). Les prélèvements ont été analysés en aveugle à l'aide de deux techniques PCR dites en temps réel : le kit ADIAVET COX Real Time (Adiagène, Saint-Brieuc, France) et le Kit LSI Taqvet *Coxiella burnetii* (Laboratoire Service International, Lissieu, France).

### 2. RESULTATS

Afin de maximiser la probabilité qu'un animal soit excréteur ou non excréteur dans chacune des matrices, seuls les résultats concordants au vu des deux kits PCR ont été retenus. Au total 200 prélèvements de lait, 204 prélèvements

de fèces et 205 prélèvements de mucus vaginal présentaient un résultat concordant (soit plus de 80 % de concordance). *Coxiella burnetii* a ainsi été détectée dans 13,2 % des prélèvements de mucus vaginal, dans 11,8 % des prélèvements de fèces, et dans 13,0 % des prélèvements de lait. Les animaux détectés excréteurs simultanément dans les 3 voies représentaient moins de 7 % du total des animaux excréteurs (tableau 1).

**Tableau 1** : distribution des voies d'excrétion de *Coxiella burnetii* détectées à l'aide des deux techniques PCR temps réel (n=60)

Type de prélèvement			Pourcentage parmi les vaches excrétrices
Fèces	Lait	Mucus	
+	+	+	6,6
+	-	+	11,7
-	+	+	1,7
+	+	-	1,7
-	-	+	25,0
-	+	-	33,3
+	-	-	20,0

### 3. DISCUSSION

La plupart des bovins n'ont été détectés excréteurs que par une seule voie, aucune n'étant prédominante. Lorsqu'un même bovin excrétaït concomitamment *via* deux voies, il s'agissait préférentiellement de la combinaison mucus vaginal-fèces. Les animaux détectés excréteurs simultanément dans les 3 voies étaient rares. Il s'agit de plus de la première détection de *Coxiella burnetii* dans les fèces de bovins laitiers en conditions d'élevage. Cette information est capitale du point de vue de la maîtrise des risques de transmission *via* l'inhalation d'aérosols contaminés provenant de la litière souillée. Ces fréquences ne doivent cependant pas être généralisées compte tenu de la constitution de l'échantillon d'étude.

### CONCLUSION

La technique PCR est une technique performante pour la mise en évidence de *Coxiella burnetii* chez les bovins laitiers. *Coxiella burnetii* a été détectée aussi bien dans le lait ou le mucus vaginal que dans les fèces ; chez des vaches à problèmes (avortées, infertiles) comme chez des vaches cliniquement saines. Cependant aucune voie d'excrétion ne semble prédominante. Ainsi, pour identifier les bovins excréteurs, qui sont sources de contamination des animaux sensibles, il convient de s'appuyer sur des analyses PCR sur les 3 supports pré-cités.

**Berri M, Laroucau K, Rodolakis A, 2000. Vet Microbiol, 72, 285-293.**

**Berri M, Souriau A, Crosby M, Rodolakis A, 2002. Vet Microbiol, 85, 55-60.**

**Heinzen RA, Hackstadt T, Samuel JE, 1999. Trends Microbiol., 7, 149-154.**

**Willems H, Thiele D, Frölich-Ritter R, Krauss H, 1994, J Vet Med B, 60, 859-861.**