

# **TABLE DES MATIERES**

<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>1</b>
<b>TABLE DES TABLEAUX.....</b>	<b>6</b>
<b>TABLE DES FIGURES.....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>9</b>
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>11</b>
<b>CHAPITRE A- HISTORIQUE.....</b>	<b>13</b>
I- AVANT 1993.....	13
II- APRES 1993.....	13
II-1- La reclassification du genre <i>Rochalimea</i> .....	14
II-2- La reclassification du genre <i>Grahamella</i> .....	15
<b>CHAPITRE B- BACTERIOLOGIE.....</b>	<b>17</b>
I- REMANIEMENTS DE LA CLASSIFICATION.....	17
II- PROPRIETES PHENOTYPIQUES.....	18
II-1- Morphologie.....	18
II-2- Caractères cultureux.....	18
II-3- Caractères biochimiques.....	19
III- PROPRIETES GENOTYPIQUES.....	19
III-1- Propriétés de l'ADN.....	19
III-2- Phylogénie des bartonelles.....	20
<b>CHAPITRE C- EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE.....</b>	<b>25</b>
I- CHEZ L'HOMME.....	25
I-1- La maladie de Carrion.....	25
I-2- La fièvre des tranchées.....	25
I-3- La maladie des griffes du chat (MGC).....	26
I-4- L'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique.....	27
I-5- Bactériémies chroniques.....	28
I-6- Endocardites.....	28
II- CHEZ LES ANIMAUX.....	29
II-1- Chez le chat.....	29
II-1-1- <i>Bartonella henselae</i> et <i>Bartonella clarridgeiae</i> .....	29
II-1-2- <i>Bartonella weissii</i> et <i>Bartonella koehlerae</i> .....	30
II-2- Chez le chien.....	31
II-2-1- <i>Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii</i> .....	31
II-2-2- <i>Bartonella henselae</i> .....	31
II-3- Chez les rongeurs et les lagomorphes.....	31
II-4- Chez les ruminants.....	32

<b>CHAPITRE D- EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE.....</b>	<b>35</b>
I- SOURCES ET RESERVOIRS.....	35
I-1- Le chat et autres félins.....	35
I-2- Les coyotes.....	36
I-3- les rongeurs.....	37
I-4- L'homme.....	37
II- LES MODES DE TRANSMISSION.....	38
II-1- Transmission non vectorisée.....	38
II-1-1- La transmission mécanique.....	38
II-1-2- La transmission transplacentaire.....	38
II-2- Les vecteurs des bartonelles.....	38
II-2-1- Présentation des vecteurs.....	38
II-2-2- Répartition géographique et saisonnière des vecteurs en France métropolitaine.....	44
III- FACTEURS FAVORISANT L'INFECTION.....	45
III-1- Chez l'homme.....	45
III-1-1- La maladie de Carrion.....	45
III-1-2- La fièvre des tranchées.....	45
III-1-3- La maladie des griffes du chat- L'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique.....	46
III-1-4- Les bactériémies chroniques.....	48
III-1-5- Les endocardites.....	48
III-2- Chez les animaux.....	48
III-2-1- Chez le chat.....	48
III-2-2- Chez le chien.....	49
IV- SPECIFICITE DE L'HOTE.....	49
<b>CHAPITRE E- LES BARTONELLOSES : ETUDE CLINIQUE CHEZ L'HOMME... 51</b>	<b>51</b>
I- LES BARTONELLOSES PROPRES A L'HOMME.....	51
I-1- La maladie de Carrion.....	51
I-1-1- La forme aiguë de l'infection.....	51
I-1-2- La forme chronique de l'infection.....	52
I-2- La fièvre des tranchées.....	52
I-2-1- La forme symptomatique.....	52
I-2-2- La forme a symptomatique.....	53
II- LES INFECTIONS HUMAINES DUES A DES ESPECES DE BARTONELLE ALLOGENES.....	53
II-1- La maladie des griffes du chat (MGC).....	54
II-1-1- Forme classique.....	54
II-1-2- Forme atypique sévère.....	55
II-1-3- Complications associées.....	55
II-2- L'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique.....	57
II-3- Bactériémies chroniques.....	58
II-4- Endocardites.....	58
II-5- Affections oculaires.....	59
II-6- Adénopathie chronique.....	60
<b>CHAPITRE F- LES BARTONELLOSES : ETUDE CLINIQUE CHEZ L'ANIMAL... 63</b>	<b>63</b>
I- LE CHAT.....	63
I-1- Infection naturelle.....	63
I-2- Infection expérimentale.....	64

II- LE CHIEN.....	65
II-1- Infection naturelle.....	65
II-1-1- Par <i>Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii</i> .....	65
II-1-2- Par <i>Bartonella henselae</i> .....	66
II-2- Infection expérimentale.....	66
III- LES AUTRES ANIMAUX.....	67
III-1- Les rongeurs.....	67
III-1-1- Infections naturelles.....	67
III-1-2- Infections expérimentales.....	67
III-2- Autres animaux sauvages.....	68
<b>CHAPITRE G- PATHOGENIE.....</b>	<b>71</b>
I- PARASITISME DES ERYTHROCYTES.....	71
I-1- adhésion.....	71
I-2- Invasion.....	72
I-3- Chronologie du parasitisme des érythrocytes.....	73
I-4- Activité hémolytique de <i>Bartonella bacilliformis</i> .....	74
II- INTERACTION AVEC LES CELLULES ENDOTHELIALES.....	74
II-1- Néangiogénèse.....	75
II-2- Adhésion.....	75
II-3- Invasion.....	76
II-3-1- Mécanisme général.....	76
II-3-2- Cas particulier de <i>Bartonella henselae</i> .....	76
II-3-3- Les facteurs de l'invasion.....	77
III- LES GENES IMPLIQUES DANS LA PATHOGENIE.....	77
III-1- La famille Iba.....	78
III-2- Le locus de l'invasion.....	78
III-3- Les gènes codant pour les pilis de type IV.....	78
IV- ASPECTS IMMUNOLOGIQUES.....	79
IV-1- Réaction immunitaire à médiation humorale.....	79
IV-2- Réaction immunitaire à médiation cellulaire.....	80
<b>CHAPITRE H- DIAGNOSTIC.....</b>	<b>83</b>
I- DIAGNOSTICS EPIDEMIOLOGIQUE ET CLINIQUE.....	83
II- DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE.....	83
II-1- Mise en culture et isolement.....	83
II-2- Amplification génique par PCR (Polymerase Chain Reaction).....	84
II-3- Examen histologique.....	86
II-4- Les méthodes sérologiques.....	88
II-4-1- L'immunofluorescence indirecte (IFI).....	88
II-4-2- ELISA ou enzyme linked immunosorbent assay.....	89
II-4-3- Application pour le diagnostic des bartonelloses.....	89
II-5- Autres examens complémentaires.....	90
<b>CHAPITRE I- TRAITEMENT ET PREVENTION DES</b>	
<b>BARTONELLOSES HUMAINES.....</b>	<b>93</b>
I- LA MALADIE DE CARRION.....	93
II- LA FIEVRE DES TRANCHEES.....	93
III- LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT.....	94
IV- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET LA PELIOSE HEPATIQUE.....	94
IV-1- Traitement.....	94
IV-2- Prévention.....	94
V- LES BACTERIEMIES CHRONIQUES.....	95
VI- LES ENDOCARDITES.....	95

<b>PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>97</b>
<b>CHAPITRE A- MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>99</b>
I- ANIMAUX INCLUS DANS L'ETUDE.....	99
II- TECHNIQUES EMPLOYEES.....	100
II-1- Recueil des échantillons.....	100
II-2- Bactériologie.....	101
II-2-1- Préparation du milieu de culture.....	101
II-2-2- Méthode.....	101
II-3- Sérologie.....	102
II-3-1- Immunofluorescence indirecte.....	102
II-3-1-1- Technique de fabrication des lames.....	102
II-3-1-2- Technique de l'immunofluorescence indirecte.....	103
II-3-2- ELISA.....	107
II-3-2-1- Equipement.....	107
II-3-2-2- Technique de fabrication des plaques ELISA.....	108
II-3-2-3- Technique de l'ELISA.....	108
II-4- PCR et RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	109
II-4-1- Extraction de l'ADN.....	109
II-4-2- La PCR proprement dite.....	109
II-4-3- Migration sur gel d'agarose.....	110
II-4-4- RFLP.....	110
III- RECOLTE DES TIQUES.....	111
III-1- Matériel.....	111
III-2- Les pâtures.....	111
III-3- Méthode.....	112
<b>CHAPITRE B- RESULTATS.....</b>	<b>113</b>
I- ETUDE DE LA BACTERIEMIE.....	114
I-1- Par élevage.....	114
I-2- Par classe d'âge.....	115
I-2-1- Etude qualitative.....	115
I-2-2- Etude quantitative.....	116
I-3- Par type de production.....	117
I-4- Typage des bartonelles par PCR/RFLP.....	118
II- ETUDE DE LA SEROLOGIE.....	119
II-1- Immunofluorescence indirecte.....	119
II-1-1- Par élevage.....	119
II-1-2- Par classe d'âge.....	121
II-1-2-1- Résultats sérologiques.....	121
II-1-2-2- Titres.....	123
II-1-3- Par type de production.....	124
II-1-4- Résultats en fonction des types antigéniques.....	126
II-2- ELISA.....	127
II-2-1- Par élevage.....	127
II-2-2- Par classe d'âge.....	128
II-2-3- Par type de production.....	130
II-2-4- Résultats en fonction des types antigéniques.....	131
III- COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS PAR L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET PAR ELISA.....	132

IV- COMPARAISON DES RESULTATS DE LA BACTERIEMIE ET DE LA SEROLOGIE.....	133
IV-1- Résultats généraux.....	133
IV-2- Résultats cumulés.....	134
IV-3- Comparaison des résultats obtenus par l'immunofluorescence indirecte et par l'identification des types isolés.....	135
V- LA RECOLTE DES TIQUES.....	136
<b>CHAPITRE C- DISCUSSION.....</b>	<b>137</b>
I- DISCUSSION METHODOLOGIQUE ET TECHNIQUE.....	137
I-1- Les limites de la culture bactérienne.....	137
I-1-1- La contamination des prélèvements.....	137
I-1-2- La technique de l'ensemencement.....	138
I-2- Les limites de la sérologie.....	138
I-2-1- Les limites de l'immunofluorescence indirecte.....	138
I-2-1-1- Hétérogénéité des lames.....	138
I-2-1-2- Qualité des sérums.....	138
I-2-1-3- Volumes utilisés.....	139
I-2-1-4- Titrages.....	139
I-2-1-5- Subjectivité de la lecture des résultats.....	139
I-2-2- Les limites de l'ELISA.....	140
I-2-2-1- Hétérogénéité des plaques.....	140
I-2-2-2- Qualité des sérums.....	140
I-2-2-3- Seuil de positivité.....	140
II- DISCUSSION PROPREMENT DITE.....	141
II-1- Etude de la bactériémie.....	141
II-1-1- Par élevage.....	141
II-1-2- Par classe d'âge.....	141
II-1-3- Par type de production.....	142
II-1-4- Typage des bartonelles par PCR/RFLP.....	142
II-2- Etude de la sérologie (immunofluorescence indirecte).....	142
II-2-1- Par élevage.....	142
II-2-2- Par classe d'âge.....	143
II-2-3- Par type de production.....	144
II-3- Comparaison des deux méthodes sérologiques.....	144
II-3-1- Sensibilité et spécificité.....	144
II-3-2- Pourcentage d'animaux séropositifs.....	144
II-3-3- Résultats par élevage.....	144
II-3-4- Résultats par classe d'âge.....	145
II-3-5- Résultats en fonction des types de <i>Bartonella bovis</i> .....	145
II-3-6- Résultats cumulés.....	146
II-3-7- Hypothèses expliquant ces discordances.....	146
II-4- Comparaison bactériémie-sérologie.....	147
II-4-1- Animaux séropositifs non bactériémiques.....	147
II-4-2- Animaux séronégatifs bactériémiques.....	147
II-4-3- L'âge des animaux est-il en cause ?.....	147
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>149</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>151</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>157</b>

# **TABLE DES TABLEAUX**

<b>TABLEAU 1</b> : Inflammation cardiaque due à différentes espèces de bartonelles en fonction du statut immunitaire du patient.....	29
<b>TABLEAU 2</b> : Les différentes espèces de bartonelles isolées depuis un siècle.....	33
<b>TABLEAU 3</b> : Récapitulatif des affections humaines dues à des espèces de bartonelles en fonction du statut immunitaire de l'hôte.....	61
<b>TABLEAU 4</b> : Principaux caractères épidémiologiques et cliniques permettant le diagnostic des bartonelloses humaines.....	91
<b>TABLEAU 5</b> : Les différents examens de laboratoire utilisés pour le diagnostic des bartonelloses humaines.....	92
<b>TABLEAU 6</b> : Répartition des animaux étudiés par élevage et localisation géographique.....	100
<b>TABLEAU 7</b> : Correspondance entre la fluorescence observée et le résultat donné.....	105
<b>TABLEAU 8</b> : Dilutions du sérum nécessaires en fonction des résultats du screening.....	106
<b>TABLEAU 9</b> : Résultats de l'immunofluorescence indirecte pour les animaux de chaque élevage (en nombre d'animaux et en pourcentage de séropositifs par élevage).....	120
<b>TABLEAU 10</b> : Résultats en pourcentage d'animaux séropositifs et séronégatifs en IFI pour les 3 antigènes dans chaque classe d'âge.....	122
<b>TABLEAU 11</b> : Résultats en pourcentage d'animaux séropositifs et séronégatifs en IFI pour les 3 antigènes dans les deux types de production.....	125
<b>TABLEAU 12</b> : Nombre d'animaux en fonction des résultats de l'ELISA pour chaque élevage.....	128
<b>TABLEAU 13</b> : Pourcentage d'animaux selon les résultats de l'ELISA pour chaque classe d'âge.....	129
<b>TABLEAU 14</b> : Pourcentage d'animaux selon les résultats de l'ELISA par type de production.....	131
<b>TABLEAU 15</b> : Lien entre le type de <i>Bartonella bovis</i> mis en évidence par PCR/RFLP et les résultats sérologiques obtenus par la technique IFI.....	135

## **TABLE DES FIGURES**

<b>FIGURE 1</b> : Evolution de la classification des bartonelles (61).....	16
<b>FIGURE 2</b> : Arbre phylogénique établi à partir du gène codant pour l'ARNr 16S (40).....	22
<b>FIGURE 3</b> : Arbre phylogénique établi à partir du gène codant pour <i>gltA</i> (41).....	22
<b>FIGURE 4</b> : Arbre phylogénique établi à partir du gène codant pour l'ITS (42).....	23
<b>FIGURE 5</b> : Arbre phylogénique établi à partir du gène codant pour <i>GroEL</i> (75).....	23
<b>FIGURE 6</b> : Exemple de lame d'IFI et de la feuille de résultats correspondante.....	106
<b>FIGURE 7</b> : Répartition par élevage des animaux bactériémiques et non bactériémiques..	114
<b>FIGURE 8</b> : Pourcentage par classe d'âge (années) d'animaux bactériémiques et non bactériémiques.....	115
<b>FIGURE 9</b> : Nombre moyen de colonies par classe d'âge (années).....	117
<b>FIGURE 10</b> : Pourcentage par type de production des animaux bactériémiques et non bactériémiques.....	118
<b>FIGURE 11</b> : Pourcentage des types de <i>B. bovis</i> obtenus par PCR/RFLP.....	119
<b>FIGURE 12</b> : Répartition par élevage des animaux selon les résultats sérologiques par IFI pour <i>B. bovis</i> types I, II et III.....	120
<b>FIGURE 13</b> : Pourcentage par classe d'âge (années) des animaux selon les résultats sérologiques par IFI pour <i>B. bovis</i> types I, II et III.....	122
<b>FIGURE 14</b> : Pourcentage par classe d'âge (années) des titres en anticorps anti- <i>Bartonella</i> déterminés par IFI.....	123
<b>FIGURE 15</b> : Pourcentage par type de production des animaux selon les résultats sérologiques par IFI pour <i>B. bovis</i> types I, II et III.....	124
<b>FIGURE 16</b> : Pourcentage des différentes catégories d'animaux en fonction de leur sérologie (IFI) vis-à-vis des antigènes <i>B. bovis</i> types I, II et III.....	126
<b>FIGURE 17</b> : Répartition par élevage du nombre d'animaux selon les résultats sérologiques par ELISA pour <i>B. bovis</i> types I et II.....	127
<b>FIGURE 18</b> : Pourcentage par classe d'âge (années) des animaux selon les résultats sérologiques par ELISA pour <i>B. bovis</i> types I et II.....	129

<b>FIGURE 19</b> : Pourcentage par type de production des animaux selon les résultats sérologiques par ELISA pour <i>B. bovis</i> types I et II.....	130
<b>FIGURE 20</b> : Pourcentage des différentes catégories d'animaux en fonction de leur sérologie (ELISA) vis-à-vis des antigènes <i>B. bovis</i> types I et II.....	131
<b>FIGURE 21</b> : Pourcentage des animaux selon les résultats sérologiques obtenus par les techniques IFI et ELISA pour <i>B. bovis</i> types I et II.....	132
<b>FIGURE 22</b> : Pourcentage d'animaux bactériémiques et non bactériémiques et des résultats sérologiques obtenus par les techniques IFI et ELISA.....	133
<b>FIGURE 23</b> : Pourcentage des résultats cumulés de la bactériémie et de la sérologie (obtenus par les techniques IFI et ELISA).....	134

# INTRODUCTION

Les bartonelles sont des bactéries dont l'existence a été mise en évidence au début du siècle dernier. Ces premières espèces découvertes sont pathogènes pour l'homme.

Depuis, d'autres bartonelles ont été découvertes parmi lesquelles *B. henselae*, la plus célèbre, responsable de la maladie des griffes du chat.

Peu de publications concernent *B. bovis*, en particulier en France. C'est pourquoi nous voulions participer à mieux connaître la répartition de la bactérie dans notre pays. Nous avons ainsi réalisé une étude de la biologie de l'infection à *Bartonella* chez les bovins dans trois secteurs du Pas-de-Calais : l'Audomarois, le Boulonnais et le Calaisis.

La partie bibliographique présente, après quelques rappels historiques, les connaissances actuelles sur la bactériologie de ce genre. Elle décrit ensuite les aspects épidémiologiques des infections par *Bartonella sp.* Puis est développée la pathologie des bartonelloses aussi bien animales qu'humaines qui inclut l'étude clinique, la pathogénie et le diagnostic. Enfin, la partie bibliographique expose les méthodes de lutte, à savoir le traitement et la prévention des bartonelloses chez l'homme.

La partie expérimentale a consisté à étudier l'infection à *Bartonella* chez des bovins du Pas-de-Calais. Les paramètres étudiés ont été la bactériémie et la sérologie à l'aide de deux techniques : l'immunofluorescence indirecte et l'ELISA.



**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



# **CHAPITRE A- HISTORIQUE**

## **I- AVANT 1993**

Les bartonelles sont des bactéries dont la première espèce a été décrite en 1909 par le médecin péruvien Alberto Barton. Il s'agit de *Bartonella bacilliformis* qui fut cultivée en 1926 par Noguchi et Battistini.

Sa répartition géographique concerne les régions andines de l'Equateur, du Pérou et de la Colombie situées entre 700 et 2500 mètres d'altitude. Capable de se multiplier dans les globules rouges humains, elle fut à l'origine, en 1870, d'une anémie hémolytique aiguë appelée « fièvre de Oroya ».

Dans ces régions était aussi connue une autre maladie du nom de *verruca peruana*, responsable de tumeurs verruqueuses de la peau et des muqueuses persistant plusieurs mois voire des années.

Daniel Alcides Carrion, étudiant en médecine, s'inocula en 1885 du sang prélevé du contenu d'une verrue d'un patient atteint de cette maladie et mourut 39 jours plus tard après avoir développé les symptômes de la « fièvre de Oroya ». C'est ainsi qu'il mit en évidence que ces deux maladies ne faisaient qu'une avec deux manifestations cliniques différentes : une forme aiguë souvent mortelle précédant une forme verruqueuse chronique en cas de survie. Ces deux formes furent regroupées sous le nom de maladie de Carrion (61).

En 1926, Battistini montra que ses vecteurs sont des phlébotomes du genre *Lutzomyia* et que leur unique réservoir est l'homme. Depuis, on sait qu'il existe des porteurs sains de cette bactérie dans les régions précédemment citées.

## **II- APRES 1993**

Le genre *Bartonella* ne comportait qu'une seule espèce jusqu'en 1993 puis leur nombre a augmenté du fait de la découverte de nouvelles espèces et d'une reclassification de bactéries incluses jusqu'alors dans d'autres genres.

Ceci a d'ailleurs conduit à la suppression des genres *Rochalimaea* (unifié au genre *Bartonella* en 1993) et *Grahamella* (unifié au genre *Bartonella* en 1995) (13).

## II-1- LA RECLASSIFICATION DU GENRE ROCHALIMAEA

*Bartonella henselae* fut d'abord décrite sous le nom de *Rochalimaea henselae*. En 1983, l'émergence du SIDA fit apparaître certaines lésions telles que l'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique desquelles on isole cette bactérie. De plus, dans les années 1990, elle fut reconnue responsable de la maladie des griffes du chat.

Au cours du 19<sup>ème</sup> siècle, plusieurs milliers d'immigrés européens moururent de typhus sur l'île de Grosse au Canada. Baker, en recherchant l'agent responsable, isole en 1946 une bactérie qui sera nommée *Rochalimaea vinsonii* en 1982 par Weiss et Dasch. On la connaît actuellement sous le nom de *Bartonella vinsonii subsp. vinsonii*.

En 1948, *Rickettsia rickettsii*, responsable de la fièvre des tranchées pendant la Première Guerre Mondiale, est isolée. En 1961, Vinson et Fuller montrent que ce germe peut se développer sur un milieu dépourvu de cellule. Il ne s'agit donc pas d'une *Rickettsia*, bactérie intracellulaire obligatoire. Elle est donc rebaptisée *Rochalimaea quintana* par Krieg en 1961 puis *Bartonella quintana* en 1993 (61).

En 1993, *Bartonella elizabethae* a été mise en évidence sous le nom de *Rochalimaea elizabethae* à l'hôpital Saint Elizabeth à partir du sang d'un patient atteint d'endocardite. Elle fut aussi isolée mais non identifiée chez un patient souffrant d'endocardite des valves aortiques et tricuspides en 1986.

Depuis, d'autres espèces ont été décrites :

- ✓ En 1995, *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii* est isolée du sang de chiens atteints d'endocardite.
- ✓ En 1995, Clarridge isole chez des patients VIH positifs des souches de bartonelles différentes de *Bartonella henselae* (présence de flagelles en particulier). C'est en 1996 qu'est décrite l'espèce *Bartonella clarridgeiae* par Lawson et Collins, espèce associée à la maladie des griffes du chat.
- ✓ En 1998, *Bartonella tribocorum* est isolée de sang de rats sauvages (*Rattus norvegicus*) et *Bartonella washoensis* d'un patient atteint d'une maladie cardiaque (13).
- ✓ En 1998 et 1999, *Bartonella vinsonii subsp. arupensis* est isolée.

- ✓ De janvier à novembre 1999, *Bartonella koehlerae* est isolée de sang de chats domestiques, *Bartonella alsatica* de sang de lapins sauvages capturés en Alsace et *Bartonella weissii* est isolée chez un chat.
- ✓ En 2000, *Bartonella birtlesii* est isolée du sang de petits rongeurs du genre *Apodemus* en France et en Grande-Bretagne.
- ✓ En 2001, *Bartonella capreolus* est isolée de chevreuils et *Bartonella bovis*, anciennement nommée *Bartonella weissii*, de bovins domestiques.

## **II-2- LA RECLASSIFICATION DU GENRE GRAHAMELLA**

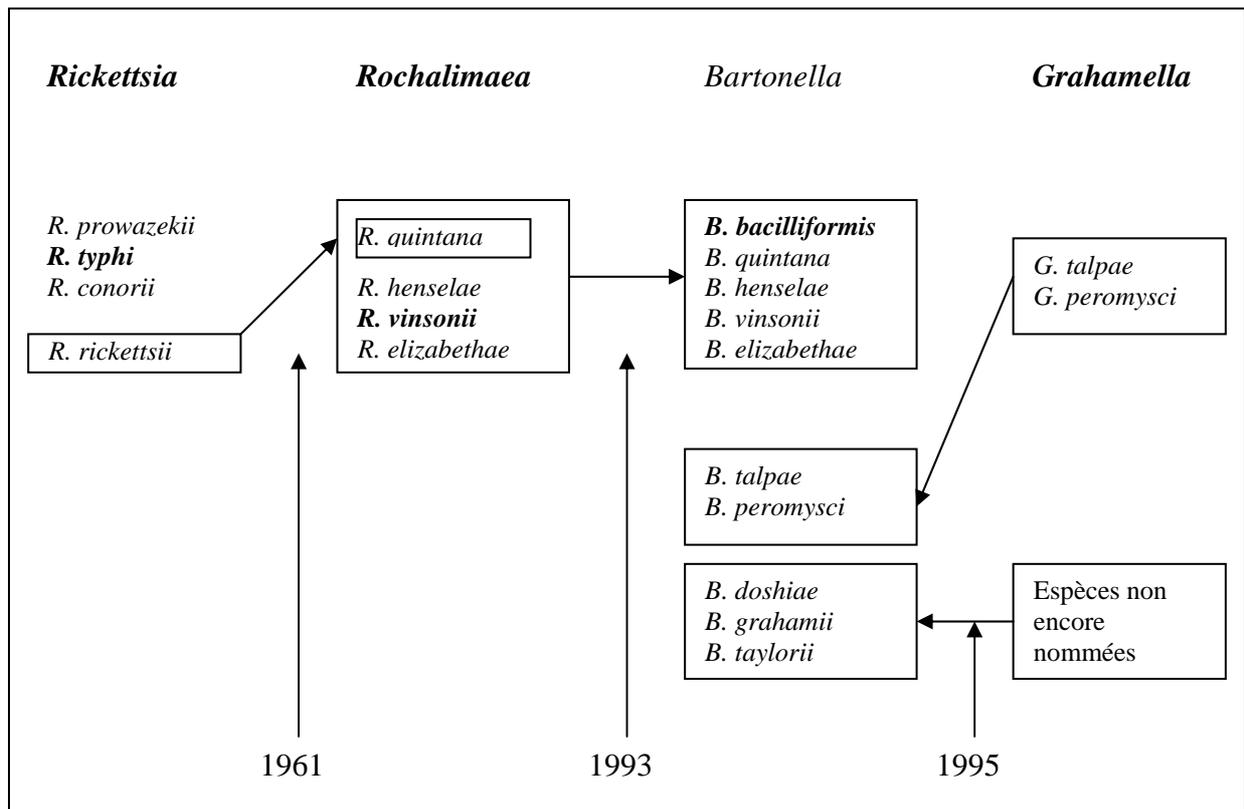
De même, les bactéries du genre *Grahamella* furent rattachées au genre *Bartonella* en 1995.

En 1911, *Grahamella talpae* est décrite.

En 1984, *Grahamella peromysci* est décrite.

En 1995, *Bartonella doshiae*, *Bartonella grahamii* et *Bartonella taylorii* sont isolées et décrites par Birtles *et al.*

La figure 1 résume les diverses reclassifications.



**FIGURE 1 : EVOLUTION DE LA CLASSIFICATION DES BARTONELLES (61)**

# **CHAPITRE B- BACTERIOLOGIE**

## **I- REMANIEMENTS DE LA CLASSIFICATION**

### **I-1- ANCIENNE CLASSIFICATION**

Avant 1993, les genres *Bartonella*, *Grahamella* et *Rochalimaea* étaient distincts. Ils appartenaient à l'ordre des *Rickettsiales*. Le genre *Rochalimaea* était rattaché à la famille des *Rickettsiaceae* et les genres *Bartonella* et *Grahamella* à la famille des *Bartonellaceae*. Cette classification était basée sur la seule comparaison des caractères phénotypiques, tels que la morphologie, la croissance et la biochimie.

### **I-2- NOUVELLE CLASSIFICATION**

En 1993, Brenner *et al.* (16) proposent une nouvelle classification en s'appuyant essentiellement sur l'étude des caractères génotypiques (l'ARN 16S) des différentes bactéries. Ainsi, la famille *Bartonellaceae*, qui contient les genres *Bartonella* et *Grahamella*, et le genre *Rochalimaea* sont séparés de l'ordre des *Rickettsiales*. Les genres *Bartonella* et *Rochalimaea* sont réunis et constituent le genre *Bartonella*. La famille *Bartonellaceae* est ainsi composée de deux genres : *Bartonella* et *Grahamella*.

En 1995, Birtles *et al.* (8) proposent un remodelage de la famille *Bartonellaceae*, basé sur l'étude des caractéristiques phénotypiques et de la séquence de l'ARN 16S. Ainsi, les genres *Bartonella* et *Grahamella* sont réunis et forment le genre *Bartonella*.

Selon cette nouvelle classification, le genre *Bartonella* appartient à la famille *Bartonellaceae*, de la sous-classe des  $\alpha 2$ -*Proteobacteria*.

## **II- PROPRIETES PHENOTYPIQUES**

### **II-1- MORPHOLOGIE**

#### **II-1-1- GENERALITES**

Les bactéries constituant la famille *Bartonellaceae* sont Gram négatives et non acido-alcool-résistantes. Elles sont polymorphes : elles peuvent apparaître sous forme de coques, de bâtonnets ou en anneau et sont souvent filamenteuses. Les bartonelles sont de petite taille qui ne dépasse pas 3 µm de longueur (16). Les bacilles de *B. henselae* mesurent de 0.3 à 0.6 sur 0.3 à 1 µm (5) et ceux de *B. bacilliformis* de 0.2 à 0.5 sur 1 à 2 µm.

#### **II-1-2- PARTICULARITES**

Certaines bartonelles ont des caractéristiques morphologiques particulières. *B. bacilliformis*, *B. clarridgeiae*, *B. alsatica*, *B. bovis* et *B. capreoli* sont flagellées (7,11,35). *B. henselae*, *B. quintana* et *B. tribocorum* possèdent des pilis (28,31,70).

## **II-2- CARACTERES CULTURAUX**

#### **II-2-1- GENERALITES**

La croissance des bartonelles s'effectue sur gélose au sang. Les géloses au sang de lapin ou de cheval donnent de meilleurs résultats que celles au sang de mouton (43). Le délai entre la préparation des géloses et l'ensemencement ne doit pas excéder 10 à 12 jours (50). La croissance des bartonelles nécessite une atmosphère humide enrichie en dioxyde de carbone. Les sources d'énergie sont le succinate, le pyruvate, la glutamine mais pas le glucose. L'incubation est longue, elle s'effectue à 34-37°C et dure de 5 jours à 4-6 semaines. Les colonies peuvent être polymorphes. Elles sont généralement petites, blanchâtres, rugueuses et adhèrent à la gélose. Après repiquage, la croissance est en général plus rapide mais les colonies peuvent perdre des caractéristiques comme leur adhérence.

## **II-2-2- PARTICULARITES**

Certaines bartonelles ont des conditions de croissance différentes de celles précédemment décrites. La culture de *B. bacilliformis* et *B. clarridgeiae* est meilleure sans dioxyde de carbone. *B. bacilliformis* a une température optimale de croissance comprise entre 25°C et 28°C (55). *B. clarridgeiae* se cultive sur gélose au sang de mouton ou sur gélose chocolat. La culture de *B. koehlerae* est la plus fastidieuse : elle s'effectue uniquement sur gélose chocolat et les colonies n'apparaissent pas avant le 14<sup>ème</sup> jour d'incubation (33). Les colonies de *B. henselae* et *B. clarridgeiae* ont un aspect rappelant celui du chou-fleur. Enfin, quelques bartonelles sont cultivables en milieu cellulaire. C'est le cas pour *B. quintana*, *B. henselae* et *B. bacilliformis* sur cellules endothéliales humaines et *B. clarridgeiae* sur cellules Véro (35).

## **II-3- CARACTERES BIOCHIMIQUES**

Les bactéries du genre *Bartonella* sont aérobies. Elles sont généralement catalase, oxydase, uréase et nitrate réductase négatives. Cependant, *B. vinsonii subsp. vinsonii* et *subsp. arupensis* apparaissent faiblement oxydase positives par la méthode de Kovacs. Les bartonelles ne réagissent pas aux tests biochimiques classiques, à l'exception de la production d'amino-peptidases, qui varie légèrement d'une espèce à l'autre (52). Seules *B. talpae*, *B. grahamii*, *B. doshiae*, *B. taylorii*, *B. peromyscii* (autrefois classées dans le genre *Grahamella*) et *B. quintana* réagissent positivement au test de Voges-Proskauer.

## **III- PROPRIETES GENOTYPIQUES**

### **III-1- PROPRIETES DE L'ADN**

La taille du génome des bartonelles est relativement petite : 1700 à 2174 kilobases. Son contenu en guanine et cytosine (GC%) est faible : 38.5 à 41 mol% (55).

## **III-2- PHYLOGENIE DES BARTONELLES**

La phylogénie des bartonelles est déterminée en comparant les séquences de nucléotides de différentes régions de l'ADN. Actuellement, 4 régions ont été étudiées : le gène codant pour l'ARN ribosomal 16S (ARNr 16S), celui codant pour la citrate synthétase (*gltA*), la région entre les gènes codant pour les ARN ribosomiaux 16S et 23S (intergenic spacer region ou ITS) et le gène codant pour une protéine de choc thermique (*GroEL*).

Après quelques généralités, nous allons présenter les différents arbres phylogéniques dérivés de ces 4 régions.

### **III-2-1- GENERALITES**

Deux éléments sont à considérer quand on lit un arbre phylogénique.

Tout d'abord, la longueur des branches indique le pourcentage de nucléotides différents dans la séquence de la région de l'ADN étudiée pour les 2 bactéries concernées. Ce paramètre n'a pas toujours de signification : dans les 4 arbres présentés, seul celui dérivé de l'étude du gène *GroEL* utilise ce paramètre.

Le nombre indiqué au niveau des nœuds (« bootstrap ») met en évidence la solidité des branches.

### **III-2-2- LES ARBRES PHYLOGENIQUES**

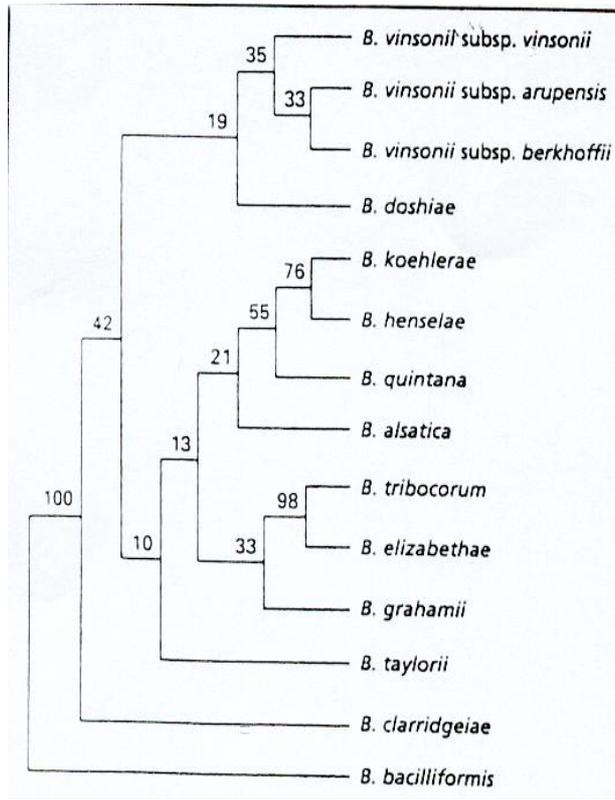
Le premier gène qui a été étudié chez les bartonelles est l'ARNr 16S. On peut constater que sur l'arbre (figure 2), les valeurs au niveau des nœuds sont faibles (très inférieures à 80). En effet, ce gène est très conservé chez le genre *Bartonella* et n'a pas permis de distinguer les espèces de *Bartonella* entre elles (75). L'étude de ce gène a essentiellement permis les remaniements de la classification que nous avons vus dans la partie I (40).

Un autre gène a ensuite été étudié : le gène *gltA*. Cet arbre (figure 3) est beaucoup plus intéressant. 6 groupes ont pu être formés car les valeurs au niveau des nœuds sont plus significatives : 93 pour le groupe C, 89 pour le groupe D, 100 pour le groupe E et 94 pour le groupe F. Quelques bartonelles ne sont pas affiliées à un groupe comme *B. taylorii* et *B. doshiae* (41).

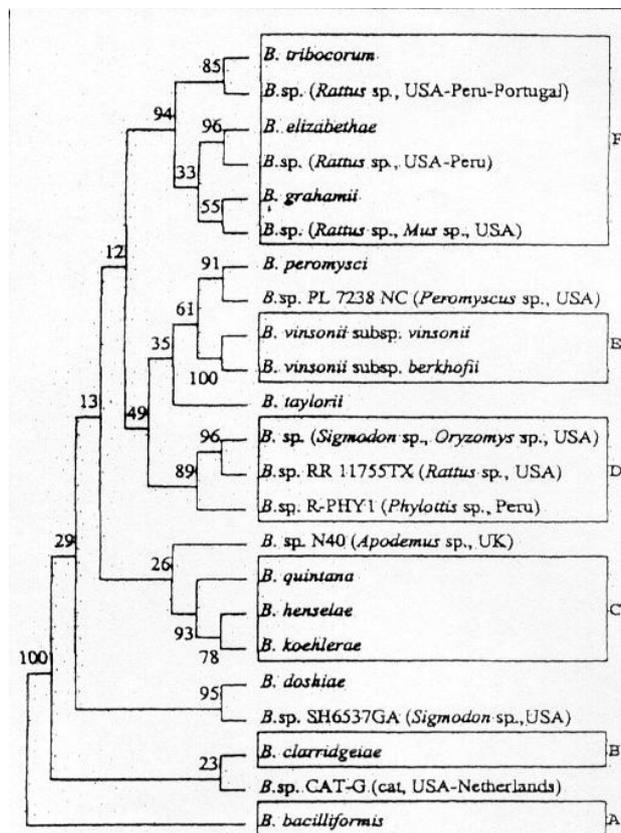
Une région de l'ADN est fortement étudiée en ce moment : l'ITS. L'arbre (figure 4) est également intéressant. 4 groupes ont pu être formés, avec à chaque fois une valeur au niveau du nœud égale à 100, sauf pour le groupe constitué de *B. bacilliformis* et *B. clarridgeiae* (42). On peut constater une similitude entre les groupes formés par cet arbre et ceux formés par l'arbre dérivé du gène *gltA*.

Enfin, actuellement la classification la plus récente et la plus sûre a été établie en étudiant le gène *GroEL* (75). Grâce à ce gène, 4 groupes ont été formés (figure 5). Ils sont d'ailleurs globalement en accord avec ceux formés grâce aux 2 arbres précédents : le groupe des *B. vinsonii* avec une valeur de 93, le groupe des bartonelles humaines (*B. quintana* et *B. henselae*) avec une valeur de 90, le groupe des bartonelles isolées de rongeurs (*B. taylorii*, *B. grahamii*, *B. tribocorum* et *B. elizabethae*) avec une valeur de 93 et enfin le groupe *B. weissii* et *B. birtlesii* avec une valeur de 100. 5 bactéries n'ont pu être regroupées : *B. clarridgeiae*, *B. bacilliformis*, *B. doshiae*, *B. alsatica* et *B. washoensis*.

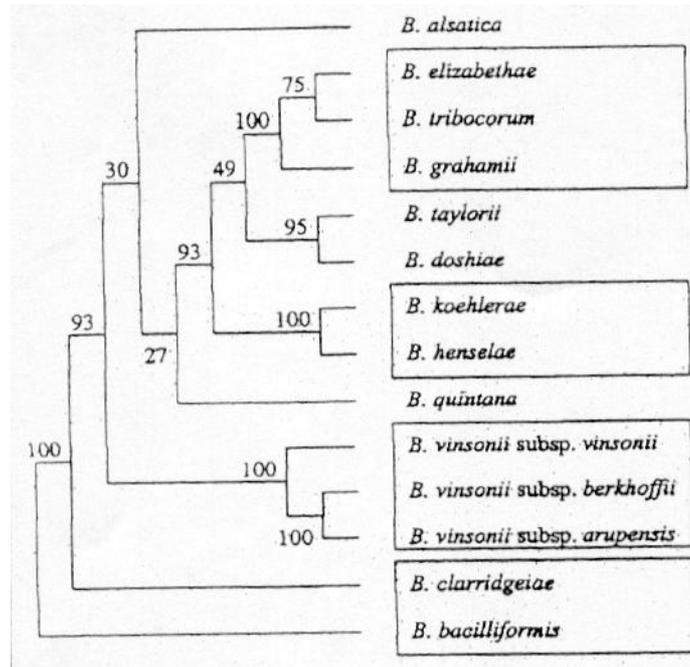
Grâce à ces arbres, plusieurs groupes de bartonelles ont pu être formés, ébauchant ainsi une classification des bactéries au sein du genre *Bartonella*.



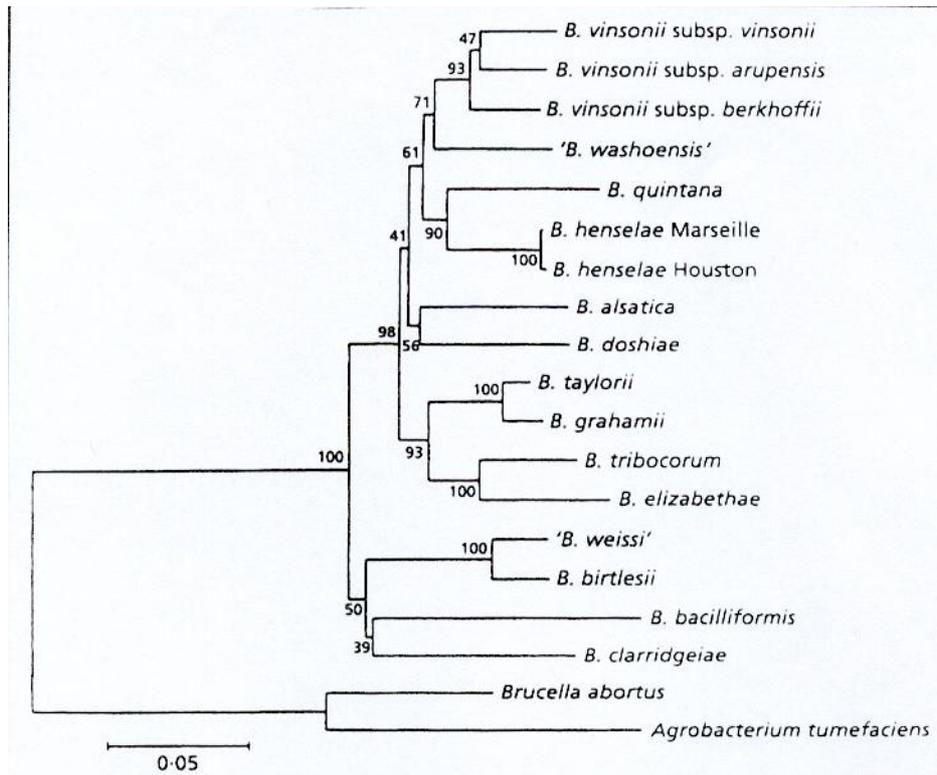
**FIGURE 2 : ARBRE PHYLOGENIQUE ETABLI A PARTIR DU GENE CODANT POUR L'ARNr 16S (40)**



**FIGURE 3 : ARBRE PHYLOGENIQUE ETABLI A PARTIR DU GENE CODANT POUR gltA (41)**



**FIGURE 4 : ARBRE PHYLOGENIQUE ETABLI A PARTIR DU GENE CODANT POUR L'ITS (42)**



**FIGURE 5 : ARBRE PHYLOGENIQUE ETABLI A PARTIR DU GENE CODANT POUR GroEL (75)**



# **CHAPITRE C- EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE**

## **I- CHEZ L'HOMME**

L'étude portera sur les différentes maladies dues aux bartonelles.

### **I-1- LA MALADIE DE CARRION**

Cette maladie est due à *B. bacilliformis*, première espèce du genre *Bartonella* découverte.

La répartition géographique de *B. bacilliformis* s'étend entre 2° de latitude Nord et 13° de latitude sud, à l'Ouest des Andes (51, 53). Elle touche les régions andines de l'Equateur, de la Colombie et surtout du Pérou situées entre 700 et 2500 mètres d'altitude. Elle a aussi été décrite au Chili, en Bolivie et au Guatemala (35).

Elle engendre chez l'homme deux formes cliniques :

- ✓ une forme aiguë que constitue la « fièvre de Oroya ».
- ✓ une forme chronique ou *verruca peruana* faisant suite à la forme aiguë chez les individus qui y ont survécu.

Cette maladie est endémique dans certaines régions du Pérou où les enfants sont principalement touchés, n'exprimant toutefois que peu de symptômes. Par contre, la forme aiguë peut évoluer en forme grave chez les individus « naïfs » en déplacement dans ces régions (fièvre élevée, anémie, subictère, asthénie, polyadénopathie et vertiges) (61).

### **I-2- LA FIEVRE DES TRANCHEES**

Cette maladie est due à *B. quintana* qui est responsable chez l'homme de l'apparition d'une fièvre quintane d'où son nom.

Elle a été décrite pour la première fois durant la Première Guerre Mondiale mais a également sévi pendant la Deuxième Guerre Mondiale touchant ainsi plus d'un million de soldats en Europe. Pendant ces deux périodes, elle a évolué sur un mode endémique.

Depuis la fin de la Seconde Guerre Mondiale, des cas sporadiques sont apparus en Afrique, en Europe, en Chine et au Japon frappant principalement les populations défavorisées de ces régions (3).

Cette maladie a gardé son caractère endémique en Pologne, en Europe de l'Est, en Russie, en Chine ainsi qu'en Afrique du Nord (53).

Depuis lors, elle semblait avoir totalement disparu mais une ré-émergence de *B. quintana* affecte l'Europe de l'Ouest et les Etats-Unis. Elle touche en fait une certaine catégorie de la population à savoir les sans-domicile-fixe (SDF) et/ou les alcooliques chroniques (Paris, Marseille et Etats-Unis ; 35, 45).

L'apparition de cette infection est en effet favorisée par des conditions de vie précaires et une mauvaise hygiène.

Depuis 1995, cette nouvelle forme de la maladie encore appelée « fièvre des tranchées urbaine » est responsable chez l'homme d'endocardite, de bactériémie et de lymphadénopathie chroniques.

### **I-3- LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT (MGC)**

L'étiologie de cette maladie est longtemps restée mystérieuse : initialement, des virus ainsi que des bactéries des genres *Chlamydia* et *Myagawanella* furent mis en cause.

En 1983, l'identification d'un petit bacille par imprégnation argentique dans des biopsies de nœuds lymphatiques de 39 patients atteints de MGC (réalisée par Wear *et al.*) confirma l'étiologie bactérienne de la maladie. L'identification de la bactérie responsable de la MGC est liée à l'épidémie du SIDA, en particulier entre 1983 et 1988 : des patients infectés par le virus VIH (virus de l'immunodéficience humaine) étaient atteints d'angiomatose bacillaire. Cette pathologie fut attribuée à une bactérie Gram négative nommée *Rochalimaea henselae* puis *Bartonella henselae*.

Des tests de détection d'anticorps anti-*Rochalimaea* montrèrent que 88% des sujets atteints de MGC possédaient ces anticorps contre 3% des sujets témoins.

En 1991, *B. henselae* est isolée de lésions cutanées d'angiomatose. Elle a ensuite été isolée de lésions associées à la MGC (25).

Une autre bactérie est sans doute responsable de cette maladie : *B. clarridgeiae*. Un cas de MGC pouvant être dû à *B. clarridgeiae* a été décrit en 1997 : le patient n'avait pas d'anticorps contre *B. henselae* mais contre la souche de *B. clarridgeiae* isolée de son chat. Cependant, cette bactérie n'a pas été mise en évidence chez ce patient (61).

Cette maladie a une répartition mondiale. Il y eut en 1992 environ 22000 cas de MGC aux Etats-Unis dont 2000 nécessitèrent une hospitalisation. Les dépenses inhérentes à cette maladie s'élèveraient à 12 millions de dollars (25).

De plus, différentes études ont montré la présence de *B. henselae* dans divers pays : pays d'Europe Occidentale, Australie, Nouvelle-Zélande, Etats-Unis, Israël, Japon, ...

Elle touche des personnes immunocompétentes de tout âge. Cependant, les individus de moins de 20 ans représentent 55% à 80% des cas signalés. Elle constitue la première cause d'adénite chronique bénigne de l'enfant et des jeunes adultes (25). Chez les personnes immunodéprimées, elle entraîne cependant l'apparition de symptômes plus graves tels que l'angiomatose bacillaire, la péliose hépatique, des endocardites ou des fièvres récurrentes. En France, la séroprévalence en anticorps anti-*Bartonella* (taux en anticorps supérieur à 1/64) est évaluée entre 3.4% et 8% dans la population générale (10).

#### **I-4- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET LA PELIOSE HEPATIQUE**

Les espèces responsables sont *B. quintana* et *B. henselae*.

Des méthodes de biologie moléculaire ont montré que les lésions d'angiomatose bacillaire sont plus souvent liées à *B. quintana* tandis que celles de péliose hépatique sont plus souvent dues à *B. henselae* (53).

Elles touchent les personnes immunodéprimées (personnes infectées par le VIH, patients transplantés, personnes atteintes de cancers, alcooliques chroniques).

La péliose hépatique touchait fréquemment les sujets atteints de tuberculose, cancéreux ou sous stéroïdes anabolisants. Actuellement, elle touche principalement les personnes VIH positives. Cette péliose peut être splénique et est très souvent associée à l'angiomatose bacillaire (55).

## **I-5- BACTERIEMIES CHRONIQUES**

Elles ont été décrites, sous forme chronique, chez des individus immunodéprimés, VIH positifs ou transplantés, chez des SDF et/ou alcooliques (3,53,55).

Des personnes immunocompétentes sont aussi concernées : les bactériémies sont alors le plus souvent asymptomatiques.

Les principales bactéries responsables sont :

- *B. quintana* responsable de la “fièvre des tranchées urbaine”
- *B. henselae*
- *B. elizabethae*
- *B. vinsonii subsp. arupensis* (fièvre déclarée chez un éleveur de bovins immunocompétent suite à des soins effectués sur un de ses animaux).

## **I-6- ENDOCARDITES**

Quatre bartonelles sont évoquées dans ce type d'atteinte (cf. tableau 1) :

- ✓ *B. henselae*
- ✓ *B. quintana*
- ✓ *B. elizabethae*
- ✓ *B. vinsonii subsp. berkhoffii*.

Elles touchent à la fois des personnes immunocompétentes et des personnes immunodéprimées ou une seule de ces deux catégories en fonction de l'espèce bactérienne concernée.

	<b>PERSONNES IMMUNOCOMPETENTES</b>	<b>PERSONNES IMMUNODEPRIMEES</b>
<i>B. henselae</i>	Chez les patients déjà atteints de valvulopathie	Oui
<i>B. quintana</i>	Oui	+++ chez les SDF et/ou les alcooliques chroniques ne présentant pas de valvulopathie préalable.
<i>B. elizabethae</i>	Oui	Non
<i>B. vinsonii</i>	Oui	Non

**TABLEAU 1 : INFLAMMATION CARDIAQUE DUE A DIFFERENTES ESPECES DE BARTONELLE EN FONCTION DU STATUT IMMUNITAIRE DU PATIENT**

## **II- CHEZ LES ANIMAUX**

Outre les hommes, de nombreuses espèces animales sont concernées par les bartonelloses. Notre exposé portera en premier lieu sur les bartonelles rencontrées chez le chat et le chien puis chez les rongeurs et, enfin, chez les ruminants.

### **II-1- CHEZ LE CHAT**

Les bactéries hébergées par le chat sont *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *B. koehlerae* et *B. weissii* (43).

#### **II-1-1- BARTONELLA HENSELAE ET BARTONELLA CLARRIDGEIAE**

Le chat est le principal réservoir de *B. henselae* et héberge également *B. clarridgeiae*.

Chomel *et al.* (25) ont montré que 40% des chats testés en Californie présentaient une bactériémie asymptomatique. Cette bactériémie est liée à l'âge (moins de 1 an), à la

provenance (une fourrière) et à une infestation par les puces. Sa durée varie de plusieurs mois à 1 an avec un extrême de 3 ans.

Une étude menée par Greene *et al.* (37) et portant sur 8 chats inoculés expérimentalement laisse supposer que les chatons auraient des titres en anticorps plus élevés que les chats plus âgés.

Des études portant sur 600 à 700 animaux et réalisées en Amérique du Nord ont montré que 15 à 28% des chats, toute origine confondue, possédaient des anticorps anti-*B. henselae*. Les plus fortes prévalences étaient liées à un climat chaud et humide, climat présentant la plus forte prévalence en arthropodes, notamment en puces, considérées comme vecteurs probables (60).

Aux Etats-Unis et au Japon, différentes études ont montré une variation de la séroprévalence entre 3.7% et 68% en fonction des régions considérées.

En Australie, 40% des chats errants et 16% des chats domestiques testés à Sydney étaient bactériémiques.

Allerberger *et al.* ont montré que 33% des chats autrichiens possédaient des anticorps anti-*B. henselae*.

En France, *B. henselae* a été isolée de 11% des 64 chats étudiés à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort et 23 d'entre eux étaient séropositifs pour *B. henselae*. A Nancy, une étude de Heller *et al.* conclut que 56% des chats errants testés étaient bactériémiques. Un tiers des chats bactériémiques étaient infectés par *B. clarridgeiae*.

Aux Pays-Bas, 22% des chats testés étaient bactériémiques et 50% séropositifs.

En Allemagne, 13% des chats domestiques de la région de Fribourg étaient bactériémiques (25).

## **II-1-2- BARTONELLA WEISSII ET BARTONELLA KOEHLERAE**

*B. weissii* (faisant partie depuis peu de l'espèce *B. bovis*) et *B. koehlerae* ont été décrites chez le chat (61).

*B. koehlerae* fut découverte par hasard en 1999 à partir d'une étude portant sur des chats de San Francisco (33).

## **II-2- CHEZ LE CHIEN**

### **II-2-1- BARTONELLA VINSONII SUBSP. BERKHOFFII**

Cette bactérie fut isolée pour la première fois en mai 1993 (12) du sang d'un chien atteint d'ehrlichiose, d'un lupus érythémateux et d'une endocardite. Par la suite, elle fut isolée de plusieurs chiens américains vivant généralement en milieu rural et très souvent coinfectés par des *Ehrlichia*, des *Babesia* ou des *Borrelia*.

Pappalardo *et al.* ont mené une étude sur des chiens en Caroline du Nord et en Virginie. Elle conclut que 3.6% des 1920 chiens étaient séropositifs à l'antigène de *B. vinsonii subsp. berkhoffii* (58).

Cette bactérie est responsable de l'apparition d'endocardite, d'adénite et de rhinite granulomateuses ainsi que de péliose hépatique et de fièvre (61).

### **II-2-2- BARTONELLA HENSELAE**

Quelques cas rares d'infection de chiens par cette bactérie ont été mis en évidence par Kusaba *et al.* (49), Tsukahara *et al.* (73) ainsi que par Kitchell *et al.* (46). Ce dernier a montré que *B. henselae* était responsable chez un Golden Retriever de 6 ans d'une péliose hépatique.

## **II-3- CHEZ LES RONGEURS ET LES LAGOMORPHES**

Chez ces animaux, la bactériémie est plus ou moins longue et les animaux n'expriment pas de signes cliniques.

### **II-3-1- LES PETITS RONGEURS SAUVAGES**

Ces animaux hébergent :

- ✓ *B. talpae*
- ✓ *B. birtlesii* en France et en Angleterre (rongeurs du genre *Apodemus*).

Les rats hébergent (8) :

- ✓ *B. doshiae* pour les espèces *Microtus agrestis*
- ✓ *B. taylorii* pour les espèces *Apodemus flavicollis* et *Microtus agrestis*
- ✓ *B. grahamii* pour les espèces *Clethrionomys glareolus*, *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus flavicollis*, *Microtus agrestis* et *Neomys fodiens*
- ✓ *B. tribocorum* pour les espèces *Rattus norvegicus*.

### **II-3-2- LES LAPINS**

*B. alsatica* a été isolée de lapins *Oryctolagus cuniculus* en 1998 en Alsace (32).

### **II-4- CHEZ LES RUMINANTS**

Donatien et Lestoquard ont mis en évidence *B. bovis* dans le sang de bovins en Algérie en 1934 (32).

Des bartonelles présentes chez les bovins ont été décrites dans plusieurs pays :

- ✓ en Palestine par Alder et Ellenbogen en 1934
- ✓ à Grenade par Rodriguez en 1935
- ✓ en 1947, Van Saceghem met en évidence des *Bartonella* à partir de frottis sanguins de deux bovins rwandais présentant un amaigrissement, de la soif intense et de la constipation (74)
- ✓ en 1952, Pollard et Parmer (62) décrivent des bartonelles bovines chez des bovins américains montrant un amaigrissement, de la faiblesse et des muqueuses pâles.

En 1998, une étude de la prévalence de *Bartonella sp.* chez des ruminants sauvages et domestiques montre qu'elle apparaît importante pour les bovins d'élevage ainsi que pour les cerfs et les élans. Une analyse génotypique montre que les bartonelles présentes chez ces animaux sont proches de *B. weissii* (71). Cette bactérie est aussi mise en évidence aux Etats-Unis (15).

En 2001, Bermond *et al.* (7) présentent deux nouvelles espèces de *Bartonella* :

- *B. capreoli* chez les chevreuils (*Capreolus capreolus*)
- *B. bovis* (il s'agit de *B. weissii* renommée) chez des bovins domestiques.

Le tableau 2 regroupe les différentes espèces de bartonelles isolées depuis un siècle.

<b>ESPECES DE BARTONELLES</b>	<b>HOTES PREFERENTIELS</b>
<i>B. bacilliformis</i>	Homme
<i>B. quintana</i>	Homme
<i>B. elizabethae</i>	Homme
<i>B. washoensis</i>	Homme
<i>B. henselae</i>	Chat
<i>B. clarridgeiae</i>	Chat
<i>B. koehlerae</i>	Chat
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i>	Chien, coyote ( <i>Canis latrans</i> )
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i>	Rongeurs
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i>	Campagnol canadien
<i>B. grahamii</i>	Campagnol ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )
<i>B. talpae</i>	Taupe ( <i>Talpa</i> )
<i>B. peromysci</i>	Souris ( <i>Peromyscus</i> )
<i>B. taylorii</i>	Souris ( <i>Apodemus</i> )
<i>B. doshiae</i>	Souris ( <i>Microtus agrestis</i> )
<i>B. birtlesii</i>	Souris ( <i>Apodemus</i> )
<i>B. tribocorum</i>	Rats sauvages ( <i>Rattus norvegicus</i> )
<i>B. alsatica</i>	Lapins sauvages ( <i>Oryctolus</i> )
<i>B. capreoli</i>	Chevreuril ( <i>Capreolus capreolus</i> )
<i>B. schoenbuchensis</i>	Chevreuril ( <i>Capreolus capreolus</i> )
<i>B. bovis</i> ( <i>B. weissii</i> renommée)	Bovins ( <i>Bos taurus</i> )

**TABLEAU 2 : LES DIFFERENTES ESPECES DE BARTONELLES ISOLEES DEPUIS UN SIECLE**



# **CHAPITRE D- EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE**

## **I- SOURCES ET RESERVOIRS**

### **I-1- LE CHAT ET AUTRES FELINS**

#### **I-1-1- LE CHAT**

Les chats sont porteurs à la fois de *B. henselae* et de *B. clarridgeiae* (25). Différentes études épidémiologiques portant sur les chats ont montré que ces derniers constituent un réservoir de bartonelles à l'origine des contaminations humaines (23).

Une large enquête a montré que la possession d'un chaton contaminé par des puces est un facteur prédisposant pour la MGC ou l'angiomatose bacillaire. Cette enquête a donc conclu que le chat pourrait être le réservoir de *B. henselae* (55).

D'autres études ont confirmé cette hypothèse :

- ✓ Des personnes en bonne santé en contact avec des chats auraient des titres en anticorps anti-*B. henselae* plus élevés que les individus sans contact avec ces animaux (1).
- ✓ En octobre 1995, une étude portant sur 64 chats présentés en consultation à l'ENVA a été dirigée par Chomel *et al.* afin de déterminer la prévalence de l'infection sur un échantillon en région parisienne : 11% des chats (7/64) étaient bactériémiques et 36% (23/64) avaient des anticorps anti-*B. henselae* (23).
- ✓ Une autre étude réalisée à San Francisco montre que 41% des chats testés (25/46) sont infectés par *B. henselae*. La plupart d'entre eux apparaissent sains bien que l'infection engendre le développement de symptômes chez quelques animaux. Les chats sont donc généralement des porteurs sains de bartonelles (55).
- ✓ *B. henselae* fut isolée chez 81 chats sur 205 soit 39.5% en Californie (55). La bactériémie à *B. henselae* était présente chez 3 fois plus de chats errants et/ou mis en fourrière que chez les chats domestiques. De même, les jeunes chats ainsi que les chats infectés par les puces avaient un risque plus élevé d'être infectés par *B. henselae*. Enfin, 81% des chats étaient séropositifs à *B. henselae*.
- ✓ D'autre part, Kordick *et al.* ont montré que certains chats restent bactériémiques plusieurs mois voire plus d'un an. Cette bactériémie peut donc être prolongée et peut disparaître puis récidiver en particulier lors d'infection à *B. clarridgeiae* (48).

## **I-1-2- LES FELINS SAUVAGES**

La prévalence du portage chez les félins sauvages maintenus en captivité en Californie est de 30%. Elle atteint 35% chez les pumas (*Felis concolor*) et 53% chez les lynx (*Lynx rufus*) en liberté (31).

## **I-2- LES COYOTES**

La découverte de *B. vinsonii subsp. berkhoffii* chez le chien étant récente, encore peu d'études ont porté sur le mode de transmission de cette bactérie et l'origine de la contamination.

En Caroline du Nord, une étude menée par Papparlado *et al.* (58) conclut que les chiens vivant en milieu rural, ayant la possibilité de vagabonder et soumis à de fortes infestations par les puces et les tiques sont davantage exposés à *B. vinsonii subsp. berkhoffii*.

D'autre part, en Californie, en juillet 1996, un jeune garçon de 3 ans a présenté une lymphadénopathie accompagnée de fièvre à la suite d'une morsure par un coyote (*Canis latrans*). De ce fait, une étude portant sur des coyotes a montré qu'ils étaient séropositifs à *B. henselae* et à *B. vinsonii subsp. berkhoffii* (20). Ainsi, aux Etats-Unis, la recherche de réservoirs à *B. vinsonii subsp. berkhoffii* s'oriente vers le coyote. En Californie, Chang *et al.* (19) ont porté leur étude sur la répartition géographique de l'infection des coyotes par *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. Elle concernait 869 coyotes présents dans 34 des 58 comtés de Californie et s'est étalée de 1994 à 1998. 35% des coyotes présentent une séropositivité à *B. vinsonii subsp. berkhoffii* en moyenne (de 25% à 48%). Ces animaux constitueraient un réservoir pour *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. La transmission de cette souche entre coyotes et entre chiens et coyotes se ferait soit par morsure ou griffure soit par l'intermédiaire d'arthropodes.

Des anticorps anti-*B. vinsonii subsp. berkhoffii* ont été mis en évidence chez 14% (66/483) de chiens de l'armée du Sud de la France ou en Afrique et chez 9% (163/1873) de chiens du gouvernement des Etats-Unis. Cette prévalence faible, dans des populations supposées à risque, montre que les chiens sont réceptifs mais ne constituent certainement pas un réservoir de cette bactérie.

### **I-3- LES RONGEURS**

Selon Ellis *et al.* (34), le rat constitue un réservoir pour les espèces pathogènes de bartonelles. Les espèces découvertes chez l'espèce *Rattus norvegicus* provenant des Etats-Unis et du Portugal étaient très proches alors qu'elles étaient éloignées de celles trouvées chez les autres rongeurs aux Etats-Unis.

Ainsi *Rattus norvegicus* aurait transporté son infection de l'Europe aux Etats-Unis. Les bartonelles du Nouveau-Monde proviendraient donc de l'Ancien Monde (22). Ceci est possible du fait d'une bactériémie persistante et du maintien de l'infection par transmission verticale. Le passage de la bactérie d'un continent à un autre est ainsi possible.

### **I-4- L'HOMME**

Actuellement, on ne connaît que l'homme en tant que réservoir pour *B. quintana* et pour *B. bacilliformis*.

Une étude menée par Birtles *et al.* (9) a porté sur des animaux appartenant à des familles dont les enfants étaient atteints de la maladie : des bactéries ressemblant à des bartonelles ont été trouvées chez 4 des 9 rongeurs étudiés mais chez aucun des 41 animaux domestiques. Il s'agit de bactéries proches de *Bartonella elizabethae* et non de *Bartonella bacilliformis*. Cette étude exclut donc la possibilité d'une contamination à partir de ces mêmes animaux.

D'autre part, dans les régions endémiques, l'infection humaine asymptomatique est très commune. Il s'agit d'individus à hémoculture positive pour *Bartonella bacilliformis* et possédant des anticorps sériques spécifiques. Ces hommes constituent le seul réservoir naturel connu à partir desquels les vecteurs peuvent s'infester et jouent donc un rôle crucial dans la pérennisation de la maladie (61).

Etant donné que l'apparition de la fièvre des tranchées a coïncidé avec l'infestation par les campagnols, ces derniers ont été impliqués dans le rôle de réservoir de *B. quintana*. Cependant, des études portant sur de petits mammifères ont démontré qu'aucun de ces animaux n'était infecté par cette espèce bactérienne. De même, il est peu probable que les petits mammifères des forêts soient à l'origine de la « fièvre urbaine des tranchées » chez les populations à risque (55).

## **II- LES MODES DE TRANSMISSION**

### **II-1- TRANSMISSION NON VECTORISEE**

#### **II-1-1- LA TRANSMISSION MECANIQUE**

Dans plus de 90% des cas, la MGC est engendrée à la suite d'un contact traumatique avec un chat, soit une griffure soit une morsure (23).

#### **II-1-2- LA TRANSMISSION TRANSPLACENTAIRE**

Elle semble intervenir dans la transmission des bartonelles. En effet, ces dernières ont été isolées d'embryons de rongeurs naturellement infectés. Cependant, étant donné les différents modes de placentation entre les espèces, ce mode de transmission semble limité (13).

## **II-2- LES VECTEURS DES BARTONELLES**

### **II-2-1- PRESENTATION DES VECTEURS**

Plusieurs arthropodes ont été impliqués dans la transmission de bartonelles tels que les poux de corps humains, les puces de chat, les mites d'oreille du campagnol, les phlébotomes ou encore les tiques (13).

#### **II-2-1-1- LES PUCES**

##### **II-2-1-1-1- ENTRE CHATS**

La transmission de *B. henselae* de chat à chat est liée à la présence de puces (*Ctenocephalides felis*). Chomel a en effet étudié 47 chats issus d'une chatterie pendant un an. 89% des chats (42/47) étaient bactériémiques au moins une fois au moment de la prise de sang. 132 puces ont été prélevées sur ces chats et étudiées : 34% d'entre elles contenaient de l'ADN de *B. henselae*. Cependant, aucune relation n'est établie entre la présence de puces infectées sur un chat et l'existence ou le niveau de la bactériémie de ce même chat. Ces puces

ont été transmises à des chatons SPF (Specific Pathogen Free) dont 5 ont été infectés par *B. henselae*. Or, le contact de chats SPF avec des chats bactériémiques dans un environnement dépourvu de puces n'engendre pas d'infection.

Cette expérience montre que la puce paraît indispensable à la transmission de *B. henselae* entre chats (24).

Actuellement, on ne sait pas si les puces constituent à la fois des vecteurs mécaniques et biologiques. Cependant, elles peuvent devenir infectées et supporter la répllication active de *B. henselae* suite à l'ingestion d'un repas de sang sur un chat infecté. En effet, après dissection de puces, *B. henselae* est observée dans leur tube digestif et peut être cultivée à partir de leurs fèces jusqu'à 9 jours après le repas de sang. Plus récemment, des chats ont été infectés expérimentalement par l'inoculation intradermique de fèces provenant de puces infectées (13). Il semblerait que le prurit engendré par la piqûre de puce provoque des plaies de grattage permettant ainsi la pénétration de bartonelles. Ce grattage est aussi à l'origine d'une contamination des griffes par du sang infecté.

On suppose que les puces *Ctenocephalides felis* sont aussi les vecteurs de *B. clarridgeiae*. La transmission des deux bactéries serait en fait simultanée. La piqûre peut aussi inoculer la bartonelle.

#### **II-2-1-1-2- CHEZ DE PETITS MAMMIFERES HOTES**

La transmission de *B. henselae* à de petits mammifères a été démontrée comme étant due aux puces. L'incidence de la bactériémie chez de petits rongeurs montre une variation saisonnière compatible avec ce mode de transmission (55).

#### **II-2-1-1-3- CHEZ L'HOMME**

Des mécanismes de transmission à l'homme ont été proposés mais non démontrés directement : le chat, en se grattant, contamine ses griffes par des bactéries sanguines et/ou par des bactéries présentes dans les déjections des puces (60). Le chat est souvent porteur de parodontopathies avec la présence de ces bactéries dans sa cavité buccale. Il les dépose donc sur son pelage et sur ses griffes pendant sa toilette. La transmission se ferait donc par griffure, morsure ou léchage avec des griffes ou une salive contaminées (10).

La transmission de *B. henselae* par la puce du chat à l'homme n'a pas été prouvée. La contamination des griffes et des dents du chat par les fèces de puces infectées est nécessaire pour la transmission à l'homme. Le rôle de la puce serait en fait d'augmenter la contamination du réservoir félin. Elle joue donc un rôle indirect dans la transmission à l'homme.

La lutte contre les puces, sur les chats et dans l'environnement, a donc pour but de diminuer la contamination des chats et donc du réservoir félin et ainsi de réduire les risques de contamination humaine.

### **II-2-1-2- LES POUX**

Les poux de corps (*Pediculus humanis corporis*) transmettent aux hommes *B. quintana*, responsable de la fièvre des tranchées. Bien que les poux de tête (*Pediculus humanis capitis*) transmettent expérimentalement cette maladie, leur rôle in vivo n'a pas encore été établi (55).

L'infection du poux se fait à la suite d'un repas de sang. La bactérie prolifère dans son tube digestif. Cependant, elle n'envahit pas ses tissus c'est pourquoi le poux ne meurt pas de l'infection par *B. quintana*. Le poux est infestant 4 à 5 jours après le repas et le reste toute sa vie (55).

La transmission à l'homme se fait par l'inoculation de fèces de poux contenant *B. quintana* par scarification de la peau ou par contact avec les membranes conjonctivales (13). Suite à l'inoculation, l'homme devient bactériémique pendant la période de fièvre. Il arrive cependant que la bactériémie persiste pendant une longue période après la disparition des symptômes, circonstance qui faciliterait la transmission de *B. quintana* aux poux (55).

Le poux de corps ne parasite que l'homme. Il vit et se multiplie dans ses habits, les œufs restant dans les plis des vêtements au contact de la chaleur du corps. Sa transmission se fait par simple contact et est favorisée par des temps froids et un manque d'hygiène. C'est pourquoi la prévalence de l'infection est un indicateur du niveau socio-économique des populations (63).

Actuellement, les infections à *B. quintana* touchent les SDF et les personnes alcooliques dans de grandes villes situées dans des pays développés. *B. quintana* a été isolée de poux prélevés sur des personnes démunies d'Afrique (Zimbabwe/Burundi) ainsi qu'en Europe (France/Russie)(66).

Une étude menée par Raoult *et al.* (64) au Pérou a abouti au même constat.

Les poux constitueraient également les vecteurs de *B. bacilliformis*, bactérie ne touchant que l'homme. L'infection qu'elle engendre s'accompagne d'une bactériémie chronique favorisant la transmission par un ectoparasite.

### **II-2-1-3- LES PHLEBOTOMES**

Les phlébotomes de l'espèce *Lutzomyia verrucarum* aussi appelés « mouches de sable » sont les vecteurs de *B. bacilliformis*.

Au Pérou, la distribution de *Lutzomyia verrucarum* correspond aux régions endémiques de la maladie de Carrion bien que cette maladie apparaisse aussi dans des régions où les phlébotomes sont absents. Dans les régions endémiques de l'Equateur, d'autres espèces de *Lutzomyia* sont présentes.

L'infestation de l'homme se fait par la morsure du phlébotome femelle dont l'activité est optimale en période crépusculaire (53).

D'autres vecteurs pourraient intervenir dans la transmission de *B. bacilliformis*. En effet, expérimentalement, l'infection a été transmise à des singes Rhésus par l'intermédiaire de tiques *Dermacentor andersonii* (55).

### **II-2-1-4- XENOPSYLLA CHEOPIS ET LES BARTONELLES EX-GRAHAMELLA**

Le vecteur responsable serait *Xenopsylla cheopis*, puce des rongeurs. La transmission des bartonelles entre eux se fait par les fèces contaminés de ces puces sur leur pelage (72).

## II-2-1-5- LES TIQUES ?

Bien que le rôle des tiques dans la transmission des bartonelles aux hommes ait été rarement proposé, certaines études montrent que les tiques peuvent transmettre ces agents aux animaux. En effet, les tiques *Ixodes scapularis* aux Etats-Unis et *Ixodes ricinus* aux Pays-Bas apparaissent fréquemment infectées par des bartonelles (13).

Les tiques sont des arthropodes qui présentent, outre un rôle pathogène direct, un rôle pathogène indirect en transmettant par inoculation des agents pathogènes issus d'un repas de sang. Leur cycle est généralement triphasique : il nécessite en effet trois hôtes différents ce qui permet une grande dissémination des agents pathogènes (18). Ces animaux sont connus en tant que vecteurs de diverses zoonoses (fièvre Q ou maladie de Lyme par exemple), ils pourraient de même constituer des vecteurs de bartonellose.

Chang *et al.* (21) ont mené une étude en Californie sur les tiques adultes *Ixodes pacificus* afin de déterminer leur positivité vis-à-vis d'une infection par des bartonelles. Les tiques ont été prélevées dans la végétation de trois sites à Santa Clara County. 29 des 151 tiques récoltées étaient PCR (Polymerase Chain Reaction) positives pour les bartonelles, les tiques mâles étant plus infectées que les tiques femelles (26% contre 12%). Les espèces de bartonelles identifiées sont *B. henselae*, *B. quintana*, *B. washoensis* et *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. *Ixodes pacificus* jouerait donc un rôle important dans la transmission de bartonelles aux animaux ainsi qu'aux hommes.

Une autre étude réalisée par Pappalardo *et al.* (58) en Caroline du Nord et en Virginie a montré que 3.6 % des 1920 chiens étaient séropositifs à l'antigène de *B. vinsonii berkhoffii*. Ces derniers avaient 14 fois plus de risques d'avoir été en contact avec des tiques et 5.6% plus de risque d'être infestés par les puces que les chiens séronégatifs. Pour les chiens ayant eu un contact certain avec des tiques, une corrélation entre la séropositivité à *B. vinsonii berkhoffii* et la séropositivité à *Babesia canis* et à *Ehrlichia canis* a été mise en évidence.

Ainsi les tiques joueraient le rôle de vecteur dans la transmission de *B. vinsonii subsp. berkhoffii* et l'exposition des chiens à cette bactérie serait favorisée à la campagne où ils peuvent circuler librement et où ils sont susceptibles d'être exposés à une infestation massive par les tiques.

De plus, cette infection est souvent concomitante à d'autres bactéries ou à des parasites transmis par les tiques :

- ✓ *Borrelia burgdorferi* (65)
- ✓ *Ehrlichia spp.*
- ✓ *Babesia spp.*

Schouls *et al.* (68) ont mis au point une méthode d'hybridation afin de détecter et d'identifier *Ehrlichia spp.*, *Borrelia burgdorferi* et *Bartonella sp.* dans des tiques hollandaises de l'espèce *Ixodes ricinus*. L'étude a porté sur 121 tiques prélevées sur 38 chevreuils : 73 d'entre elles soit 60% étaient porteuses de bartonelles. L'espèce présente dans ces tiques semble proche de *B. vinsonii* et proviendrait en fait de petits rongeurs antérieurement piqués par les tiques. Ainsi, la transmission de bartonelles entre rongeurs pourrait se faire par l'intermédiaire de tiques.

En 2001, Hinrichsen *et al.* (39) ont étudié le sérum de 277 chiens à Rhode Island. Ils ont montré que l'exposition des chiens aux tiques est un facteur de risque en ce qui concerne l'infection à *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. Cette espèce de bartonelle serait transmise par la tique *Amblyomma americanum* aux Etats-Unis. Ils ont aussi remarqué que les chiens infectés par cette bartonelle le sont simultanément par des *Ehrlichia* et des *Borrelia*.

D'après Chomel (24), d'autres études montrent une relation entre l'infestation des chiens par des tiques et la séropositivité à *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. Les tiques incriminées aux Etats-Unis seraient : *Dermacentor*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus* et *Ixodes*.

D'autre part, les sérums de chiens infectés expérimentalement par *Ehrlichia canis* ou *Rickettsia rickettsii* ne présentent pas de réaction croisée avec les antigènes de bartonelles. Des sérums de chiens infectés naturellement par *Ehrlichia canis* et *Babesia canis*, respectivement 36% et 52%, ont réagi positivement à *B. vinsonii*. Sachant que les deux premiers agents sont transmis par *Rhipicephalus sanguineus*, cette dernière pourrait intervenir dans la transmission de *B. vinsonii* en particulier dans des chenils soumis à de fortes infestations par les tiques. Cependant, pour Chomel, les tiques du genre *Ixodes* ne joueraient pas le rôle de vecteurs pour les carnivores.

Breitschwerdt *et al.* (14) ont montré que les sérums de 4 chiens sur 12 atteints d'ehrlichiose soit 33% sont réactifs aux antigènes de *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. De même, ils montrent que 23 chiens sur 27 soit 85% issus d'un chenil très infecté par les tiques sont séropositifs à *B. vinsonii subsp. berkhoffii* (13).

Enfin, chez un homme infecté par *Babesia microti* et *Borrelia burgdorferi*, *B. vinsonii subsp. arupensis* a été mise en évidence. Or, les deux premiers agents sont habituellement transmis par les tiques (39).

## **II-2-2- REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET SAISONNIERE DES VECTEURS EN FRANCE METROPOLITAINE (18)**

### **II-2-2-1- LES PUCES**

Elles sont présentes dans toute la France sauf dans les zones montagneuses situées au-delà de 1500-1600 mètres. Leur activité est principale de mars à novembre et elles se font rares en hiver. Ce sont des parasites intermittents non spécifiques d'une espèce hôte, ainsi la transmission d'agents pathogènes entre différentes espèces est possible. Elles parasitent les oiseaux et les mammifères sauf les bovins.

Ces vecteurs sont résistants au jeûne pendant parfois plusieurs mois mais sont sensibles à la dessiccation.

### **II-2-2-2- LES POUX**

Ils sont également présents sur tout le territoire français et toute l'année.

Ils constituent des parasites permanents des mammifères et présentent une spécificité d'hôte. Ces parasites ne quittent donc jamais leur hôte et pondent leurs œufs sur leur peau ou sur leurs vêtements (63).

Les sources de poux sont les animaux déjà infestés, les litières ou le matériel.

La promiscuité et le manque d'hygiène favorisent l'infestation. En effet, chez les bovins, cette dernière est maximale l'hiver lorsque les animaux sont confinés dans les stabulations.

Les poux sont peu résistants au jeûne et à la chaleur.

### **II-2-2-3- LES TIQUES**

Elles ont une répartition cosmopolite et sont actives au printemps et à l'automne.

Elles constituent des parasites intermittents uniquement hématophages. La spécificité d'hôte varie en fonction de l'espèce et du stade évolutif. Elles parasitent les mammifères, les oiseaux et les reptiles.

## **III- FACTEURS FAVORISANT L'INFECTION**

### **III-1- CHEZ L'HOMME**

#### **III-1-1- LA MALADIE DE CARRION**

##### **III-1-1-1- L'AGE**

Il s'agit d'une maladie endémique dont la forme classique touche principalement les enfants.

La forme aiguë et sévère touche les individus non originaires des régions d'endémie (61).

##### **III-1-1-2- LE MOMENT DE LA JOURNEE**

La période de la journée est importante : en effet, les vecteurs à savoir les phlébotomes femelles ont une activité optimale en période crépusculaire (53).

#### **III-1-2- LA FIEVRE DES TRANCHEES**

##### **III-1-2-1- SAISON ET MODE DE VIE**

L'infestation est liée aux climats froids et au manque d'hygiène (63). Pendant les deux guerres mondiales, elle était liée à la présence de poux.

### **III-1-2-2- L'ETAT DE SANTE**

Lors d'une récente éruption de bactériémie à *B. quintana* chez 10 SDF alcooliques à Seattle, seulement un d'entre eux présentait des poux.

Une enquête portant sur 192 patients suivis dans une clinique de la même ville a montré que 20% étaient infectés par *B. quintana* et de nombreuses analyses ont démontré que seul l'abus d'alcool était associé à la séropositivité.

De façon similaire, aucun poux n'a été observé sur 3 SDF français pour lesquels une endocardite à *B. quintana* a été diagnostiquée.

Une autre étude portant sur 22 patients atteints d'endocardite provoquée par des bartonelles a montré que seuls les SDF et les alcooliques étaient spécifiquement infectés par *B. quintana* (55).

Ainsi la forme urbaine de la fièvre des tranchées touche principalement des personnes SDF et/ou alcooliques, aux conditions de vie précaires et ne semble pas être liée à la présence de poux de corps.

### **III-1-3- LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET LA PELIOSE HEPATIQUE**

#### **III-1-3-1- LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT**

##### **III-1-3-1-1- L'ETAT DE SANTE**

Cette maladie touche des individus immunocompétents.

##### **III-1-3-1-2- L'AGE**

Il s'agit d'une maladie de l'enfant et de l'adulte jeune (82% des malades ont moins de 18 ans). Une étude menée dans le Connecticut aux Etats-Unis montre que les sujets les plus atteints sont les individus de moins de 10 ans avec un âge moyen de 14 ans (60).

### **III-1-3-1-3- LE MODE DE VIE**

Cette même étude montre que les personnes atteintes de MGC ont été griffées par un jeune chat ou possédaient un jeune chat infesté par des puces.

### **III-1-3-1-4- LE SEXE**

De même, elle montre que les hommes (57%) sont plus infectés que les femmes.

### **III-1-3-1-5- LA SAISON**

Les variations saisonnières ou climatiques de l'incidence de la maladie aux Etats-Unis seraient liées à une multiplication des puces (principalement actives de mars à novembre) (18).

## **III-1-3-2- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET LA PELIOSE HEPATIQUE**

### **III-1-3-2-1- L'ETAT IMMUNOLOGIQUE**

Elles apparaissent chez des sujets immunodéprimés à savoir des personnes infectées par le VIH, des patients transplantés ou atteints d'un cancer ou encore des individus alcooliques.

L'angiomatose bacillaire apparaît lorsque le nombre de lymphocytes CD4+ est inférieur à  $100/\text{mm}^3$  (60).

### **III-1-3-2-2- LE MILIEU ET LE MODE DE VIE**

Les facteurs de risque sont (51,53) :

- ✓ pour *B. henselae*, le contact avec un chat et un risque de griffure.
- ✓ pour *B. quintana*, des conditions de vie défavorables et la présence de poux de corps.

### **III-1-4- LES BACTERIEMIES CHRONIQUES (55)**

Elles ont été décrites chez des individus immunodéprimés tels que les personnes VIH positives, les patients transplantés, les SDF et/ou les personnes alcooliques mais aussi des personnes immunocompétentes.

### **III-1-5- LES ENDOCARDITES**

Les endocardites ont été traitées dans le chapitre C, paragraphe I-6.

## **III-2- CHEZ LES ANIMAUX**

### **III-2-1- CHEZ LE CHAT**

Selon Breitschwerdt et Kordick (13), la prévalence de la bactériémie oscille entre 9 et 90%. Cette variabilité peut être liée aux caractéristiques des populations de chats considérées (chat vivant en chatterie, animal errant ou sauvage) ainsi qu'aux variations saisonnières et aux différences géographiques (71).

#### **III-2-1-1- L'AGE**

La prévalence de l'infection est plus élevée chez les jeunes chats mais la race ou une prédisposition génétique n'interviennent pas.

#### **III-2-1-2- LA REGION ET LE CLIMAT**

Les endroits caractérisés par des températures élevées et une forte humidité sont associées aux plus fortes proportions d'exposition (13) bien que les régions aux climats tempérés présentent une prévalence relativement élevée (71). Les climats chauds et humides présentent une forte prévalence en arthropodes, notamment en puces (60).

D'autre part, les effets des facteurs climatiques sur l'infection par les bartonelles dans les régions plus froides sont mis à défaut : les animaux sont maintenus dans un environnement

chaud et confiné par leur propriétaire, permettant ainsi le maintien du cycle de vie des puces (71).

Ainsi l'existence d'une phase de bactériémie est liée à l'âge (moins de un an), à la provenance (fourrière) et à une infestation par les puces (60).

### **III-2-2- CHEZ LE CHIEN**

Aucun facteur particulier ne semble faciliter l'infection du chien par cette *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii*. Hinrichsen *et al.* (39) montrent que cette infection n'est pas liée à la répartition géographique des animaux. En effet, sur les 277 chiens étudiés, 3 étaient séropositifs parmi les 148 issus de zones avec une faible proportion de tiques et 3 l'étaient parmi les 129 issus de zones abondantes en tiques. De même, leur séropositivité n'est pas influencée par leur âge, par leur sexe, par leur race ou par la saison.

## **IV- SPECIFICITE DE L'HOTE**

Etant donné que la transmission des bartonelles se fait par des vecteurs, la préférence de ces derniers pour un ou plusieurs hôtes pourrait influencer cette transmission (13). Cette préférence est en partie responsable de l'association entre une espèce de bartonelle donnée et un hôte spécifique à savoir *B. henselae*, *B. clarridgeiae* et *B. koehlerae* pour le chat, *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii* pour le chien et le coyote, *B. alsatica* pour le lapin sauvage et *B. quintana* pour l'homme.

En effet, suite à des inoculations réalisées par Chomel *et al.* et rapportées par Breitschwerdt et Kordick (13), un chien ne devient pas bactériémique avec *B. henselae* et un chat ne le devient pas avec *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii*.

D'autre part, une espèce de bartonelle peut infecter plusieurs hôtes : au Royaume-Uni, la même espèce de bartonelle a en effet été isolée de 5 espèces différentes de petits mammifères des bois. Cela est sans doute dû au fait que ces mammifères sont soumis aux mêmes ectoparasites et que l'on trouve différentes espèces de puces sur une même population hôte (55).

De même, plusieurs espèces de bartonelle peuvent infecter un même hôte : le chat peut être infecté en même temps par *B. henselae* et par *B. clarridgeiae* (13).

Cependant, d'autres facteurs semblent influencer cette spécificité : dans une maison contenant des chats infectés par *B. henselae* ou *B. clarridgeiae*, ces bactéries n'ont jamais été isolées du sang de chiens en contact avec ces chats bien que les puces de chat (*Ctenocephalides felis*) infestent les chiens présents. Cela peut être dû à une faible concentration de bartonelles dans le sang des chiens (13).

Récemment, l'ADN de *B. henselae* a été amplifié et séquencé à partir du foie d'un chien atteint de péliose hépatique, lésion causée par *B. quintana* et *B. henselae* chez l'homme, en particulier chez les personnes immunodéprimées. Malheureusement, la culture du sang de ce chien n'a pas été possible (13).

# **CHAPITRE E- LES BARTONELLOSES :** **ETUDE CLINIQUE CHEZ L'HOMME**

L'homme est le réservoir exclusif de deux espèces de bartonelles : *Bartonella bacilliformis* et *Bartonella quintana*.

## **I- LES BARTONELLOSES PROPRES A L'HOMME**

### **I-1- LA MALADIE DE CARRION**

Cette maladie présente 2 formes : une forme aiguë ou « fièvre de Oroya » et une forme chronique ou *Verruga Peruana*.

L'expression clinique est variable d'un individu à l'autre : asymptomatique, modérée ou sévère.

#### **I-1-1- LA FORME AIGUE DE L'INFECTION**

La période d'incubation s'étale entre 2 et 14 semaines avec une moyenne de 3 semaines environ. Les bactéries pénètrent dans les hématies et induisent de la fièvre accompagnée d'un syndrome pseudo-grippal.

Dans les cas sévères (moins fréquents que les formes atténuées), une anémie survient avec une fièvre élevée. On observe également une asthénie importante, un subictère, une hépatosplénomégalie, des polyadénopathies, des vertiges, un œdème aigu pulmonaire, un tufos ou un délire et, exceptionnellement, un coma : il s'agit de la « fièvre de Oroya » qui est mortelle dans 85% des cas sans traitement (61).

Elle s'accompagne souvent de bactériémie à *Salmonella sp.* du fait de l'immunodépression qu'elle engendre : *Salmonella* Typhimurium, *S. Dublin*, *S. Anatum*, *S. Enteritidis*, *S. Typhi* et *S. Choleraesuis*. D'autres germes opportunistes interviennent tels que *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter*. On observe également des toxoplasmoses, des histoplasmoses disséminées, des pneumocytoses et du paludisme.

Chez la femme enceinte, la transmission transplacentaire existe mais l'infection peut aussi s'accompagner d'avortement ou de morts fœtale et maternelle (53).

En cas de survie, les symptômes disparaissent en une dizaine de jours.

### **I-1-2- LA FORME CHRONIQUE DE L'INFECTION**

Elle apparaît chez certains individus qui ont survécu à la phase aiguë de l'infection et, ce, après 1 à 2 mois d'évolution. Les bactéries se multiplient dans les tissus et colonisent les cellules endothéliales entraînant ainsi la formation de tumeurs vasculaires bénignes : les *verrugas* localisées principalement sur les extrémités et la face (61).

Elles présentent diverses formes cliniques :

- ✓ la forme miliaire disséminée sur tout le corps (lésions de 2 à 3 mm de diamètre) : les nodules sont rouges et parfois prurigineux.
- ✓ la forme nodulaire (lésions de 8 à 10 mm de diamètre) : les nodules saignent facilement et se surinfectent fréquemment. Ils se localisent principalement aux bras et aux jambes.
- ✓ une forme présentant de grandes lésions douloureuses sous-cutanées et péri-articulaires à tendance ulcérate et hémorragique (forme plus rare).

Toutes les muqueuses proches de la peau peuvent être atteintes.

Les lésions persistent des mois voire des années et guérissent finalement avec peu de séquelles (61).

### **I-2- LA FIEVRE DES TRANCHEES**

La durée d'incubation est en moyenne de 3 à 4 semaines et dépend de la charge infectante.

#### **I-2-1- LA FORME SYMPTOMATIQUE (61)**

Dans la moitié des cas, un accès fébrile unique de 3 à 6 jours est observé. Dans l'autre moitié, des épisodes fébriles prolongés et récurrents surviennent séparés entre eux par 5 jours en moyenne.

Ils s'accompagnent de :

Elle est de (61) :

- ✓ 2 à 6% aux Etats-Unis
- ✓ 4% en Suède pour un titre d'anticorps fixé à 64 contre 3 espèces différentes
- ✓ à Strasbourg, Mariet (données non publiées) a, pour le même seuil, observé que 13.3% des donneurs avaient des anticorps contre *B. elizabethae* et moins de 5% contre *B. henselae*.

## **II-1- LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT (MGC)**

La MGC est une maladie qui touche des sujets immunocompétents.

Elle constitue la première cause d'adénite chronique bénigne chez les enfants et les jeunes adultes.

### **II-1-1- FORME CLASSIQUE (61)**

Décrite par Debré *et al.* (27), il s'agit d'une lymphoréticulose bénigne d'inoculation.

Chez le sujet immunocompétent, on signale un antécédent de morsure, de griffure ou de contact étroit avec un chat dans la majorité des cas. En 3 à 10 jours apparaît sur le trait de griffure une papule ronde, rouge-brun, de 1 à quelques millimètres. Elle peut évoluer en vésicule ou en ulcère. Elle persiste quelques jours ou parfois quelques semaines. La régression de la lésion est concomitante de l'atteinte ganglionnaire.

Une à deux semaines plus tard, on observe une hypertrophie des nœuds lymphatiques drainant la région atteinte pour atteindre plusieurs centimètres en 2 à 3 semaines. Cette taille persiste encore 2 à 3 semaines puis décroît dans les 2 à 3 semaines suivantes. L'atteinte ganglionnaire est le principal motif de consultation. Ainsi, la durée moyenne de la maladie est de 2 à 3 mois.

Les nœuds lymphatiques deviennent fluctuants dans 10% des cas avec, en regard, présence d'un érythème cutané. Ils peuvent suppurer (10 à 20% des cas) en absence de drainage (60). Les ganglions atteints se situent par ordre de fréquence décroissante au niveau :

- ✓ des membres supérieurs (aisselle/épitrochlée)
- ✓ des régions cervicale et sous-mandibulaire
- ✓ de la région fémorale
- ✓ des régions pré-auriculaire et claviculaire (plus rare).

Cette adénopathie est généralement unilatérale.

La fièvre est présente dans 49% des cas. Dans 9% des cas, la température dépasse 39°C.

Certains individus souffrent d'anorexie, de céphalées, d'arthralgies, de myalgies et de douleurs du cou, du dos et des extrémités.

Dans 50% des cas, la MGC ne se traduit que par une adénopathie. Cette maladie est donc dans la majorité des cas bénigne et évolue vers la guérison sans laisser de séquelles.

### **II-1-2- FORME ATYPIQUE SEVERE (61)**

Elle apparaît dans 5 à 13% des cas.

Des symptômes systémiques sévères sont associés aux adénopathies du fait de la dissémination de l'infection : fièvre de plus de 2 semaines, malaise, fatigue, myalgies et arthralgies. Parfois, on note une éruption cutanée, une perte de poids, une splénomégalie, une hépatomégalie voire des lésions osseuses.

Cette forme peut exister sans adénopathie périphérique détectable.

### **II-1-3- COMPLICATIONS ASSOCIEES**

2 à 17% des MGC présentent des complications.

#### **II-1-3-1- LE SYNDROME OCULOGLANDULAIRE DE PARINAUD (SOGP)**

Le syndrome oculoglandulaire de Parinaud (SOGP décrit par Parinaud en 1889) survient dans 6% des cas de MGC après inoculation de la bactérie dans l'œil. On observe :

- ✓ une conjonctivite généralement unilatérale, non suppurée et non douloureuse
- ✓ un chémosis
- ✓ un œdème des paupières
- ✓ une lymphadénopathie régionale affectant les nœuds lymphatiques pré-auriculaires ou sous-mandibulaires.

La guérison est spontanée en 2 à 4 mois sans séquelles (36).

Des uvéites et des papillo-rétinites ont également été décrites (55).

### **II-1-3-2- ATTEINTE HEPATOSPLENIQUE**

Une atteinte hépatosplénique est possible et se traduit par :

- ✓ une atteinte systémique sévère : fièvre supérieure à 40°C de plus de 15 jours
- ✓ une hépatosplénomégalie dans 12% des cas due à la formation de micro-abcès
- ✓ des douleurs dans 1/3 des cas.

La régression des micro-abcès dure plusieurs mois à plusieurs années (60).

### **II-1-3-3- COMPLICATIONS NERVEUSES**

Des complications nerveuses apparaissent dans 1 à 7% des cas et sont, par ordre de fréquence décroissante :

- ✓ des encéphalopathies comme l'encéphalite aiguë qui engendre des convulsions généralisées et des phases de prostration.
- ✓ des neuropathies périphériques et centrales
- ✓ des myélites et des méningites.

La guérison est spontanée en 1 à 2 semaines (2).

### **II-1-3-4- AUTRES COMPLICATIONS**

D'autres complications, plus rares, surviennent :

- ✓ cutanées dans 5% des cas : érythème nodulaire, urticaire, purpura, vasculite allergique
- ✓ ostéo-articulaires dans 0.3% des cas : arthrite, ostéomyélite
- ✓ respiratoires dans 0.2% des cas : pneumonie, pleurésie, épanchement pleural (2)
- ✓ hématologiques : purpura thrombopénique, anémie hémolytique
- ✓ fièvre d'origine indéterminée.

## **II-2- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET LA PELIOSE HEPATIQUE**

Les espèces responsables sont *B. henselae* et *B. quintana*. Elles touchent les personnes immunodéprimées.

### **II-2-1- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE**

La peau est le principal organe touché. Elle présente des lésions uniques ou multiples situées dans le derme superficiel, dans le derme profond et le tissu sous-cutané. Elles ont différents aspects : papules, nodules ou verrues avec ou sans pédicule et de coloration allant de l'incolore au rouge foncé (61).

Les lésions plus superficielles évoquent le syndrome de Kaposi. Nayler *et al.* (57) ont cependant montré que l'herpès virus humain 8 (HHV8), présent dans les lésions caractéristiques de ce syndrome, n'apparaît pas dans celles de l'angiomatose. Les lésions les plus profondes peuvent atteindre les os par contiguïté laissant apparaître des érosions corticales ou des géodes à l'origine de douleur intense. Les ganglions abdominaux peuvent également être touchés ainsi que l'appareil respiratoire avec atteinte pulmonaire, pleurale ou laryngée (53). Les muqueuses (intestinale, orale, anale ou conjonctivale) peuvent aussi être atteintes (55). Ces pseudotumeurs peuvent disséminer dans tout l'organisme en absence de traitement (61).

### **II-2-2- LA PELIOSE HEPATIQUE (61)**

Il s'agit de l'atteinte du foie suite à la dissémination de l'agent infectieux : on parle d'angiomatose bacillaire systémique. Cette atteinte est caractérisée par la dilatation des capillaires sinusoides ou des veines sus-hépatiques ou de la prolifération de vaisseaux intra-parenchymateux d'où la formation de nombreuses cavités kystiques (de 10 micromètres à plusieurs millimètres de diamètre) remplies de sang.

Les patients présentent :

- ✓ un amaigrissement
- ✓ de la fièvre
- ✓ des douleurs abdominales
- ✓ une hépato et/ou une splénomégalie
- ✓ de la diarrhée.

L'évolution vers la mort du patient est possible et les rechutes sont fréquentes malgré un traitement antibiotique adapté.

### **II-3- BACTERIEMIES CHRONIQUES (3,53,55)**

Elles ont été décrites, sous forme chronique, chez des individus immunodéprimés, VIH positifs ou transplantés, chez des SDF et/ou alcooliques. Des personnes immunocompétentes sont aussi concernées chez lesquelles elles sont le plus souvent asymptomatiques.

On observe des signes non spécifiques d'une durée de 10 jours à 8 semaines sans traitement :

- ✓ fièvre
- ✓ amaigrissement
- ✓ splénomégalie inconstante
- ✓ malaise
- ✓ fatigue.

### **II-4- ENDOCARDITES**

Elles touchent aussi bien des sujets immunodéprimés qu'immunocompétents.

Les espèces responsables sont :

- ✓ *B. henselae* qui provoque des endocardites chez des patients déjà atteints de valvulopathie. Dans ce cas, elle est moins sévère que celle provoquée par *B. quintana*. Elle provoque aussi des endocardites chez des sujets immunodéprimés.

- ✓ *B. quintana* : elle affecte essentiellement les SDF (parasités par les poux de corps) ou des alcooliques chroniques ne présentant pas de valvulopathie préalable.
- ✓ *B. elizabethae* : elle a été isolée du sang d'un homme immunodéprimé et atteint d'endocardite (61).
- ✓ *B. vinsonii subsp. berkhoffii* a été à l'origine d'une endocardite chez un patient sans fièvre et sans hémoculture positive. Cette bactérie a aussi été responsable d'un cas de myocardite avec mort subite chez une personne participant à une compétition de course à pied (61).

Il s'agit d'une atteinte des valves cardiaques se traduisant par de la fièvre et un souffle cardiaque. La valve la plus fréquemment atteinte est la valve aortique.

## **II-5- AFFECTIONS OCULAIRES**

### **II-5-1- LE SOGP**

Le SOGP a été traité dans le chapitre E, paragraphe II-1-3-1.

### **II-5-2- LA NEURORETINITE**

Elle est unilatérale et est le signe oculaire le plus caractéristique d'une atteinte par *Bartonella sp.* Elle se traduit par une perte aiguë de l'acuité visuelle chez des individus d'âge moyen.

Une grippe apparaît tout d'abord et les symptômes oculaires font suite :

- ✓ œdème de la rétine
- ✓ dilatation des vaisseaux sanguins rétiniens
- ✓ baisse unilatérale de la vision
- ✓ défaut de vision des couleurs.

L'évolution est favorable avec ou sans traitement antibiotique.

Une patiente immunocompétente présentant une neurorétinite inflammatoire bilatérale possédait dans son humeur aqueuse de l'ADN de *B. grahamii*. De même, *B. henselae* est responsable de neurorétinite chez des individus immunodéprimés (61).

## **II-6- ADENOPATHIE CHRONIQUE**

Elle touche les individus immunodéprimés (54).

L'agent responsable est *B. quintana*. Cette bactérie a été isolée dans deux cas d'adénopathie chronique chez des sujets piqués par des puces et présentant une sérologie négative. Cependant, elle ne fait pas partie des bactéries responsables de la MGC car elle n'a jamais été mise en évidence chez le chat (31).

Le tableau 3 récapitule les affections humaines dues à des espèces de bartonelles en fonction du statut immunitaire de l'hôte.

<b>MALADIES</b>	<b>AGENTS RESPONSABLES</b>	<b>STATUT IMMUNITAIRE DES PERSONNES AFFECTEES</b>
<b>MALADIE DE CARRION</b>	✓ <i>B. bacilliformis</i>	Individus immunocompétents
<b>FIEVRE DES TRANCHEES</b>	✓ <i>B. quintana</i>	Individus immunocompétents
<b>ENDOCARDITES</b>	✓ <i>B. quintana</i> ✓ <i>B. henselae</i> ✓ <i>B. elizabethae</i> ✓ <i>B. vinsonii subsp. berkhoffii</i>	✓ Individus immunocompétents : les 4 espèces de bartonelles ✓ Individus immunodéprimés : <i>B. henselae</i> et <i>B. quintana</i>
<b>ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET/ OU PELIOSE HEPATIQUE</b>	✓ <i>B. quintana</i> ✓ <i>B. henselae</i>	Individus immunodéprimés
<b>LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT</b>	✓ <i>B. henselae</i> ✓ <i>B. clarridgeiae</i>	Individus immunocompétents
<b>AFFECTIONS NEUROMENINGEES</b>	✓ <i>B. henselae</i> ✓ <i>B. grahamii</i>	✓ Individus immunocompétents : <i>B. grahamii</i> ✓ Individus immunodéprimés : <i>B. henselae</i>
<b>AFFECTIONS OCULAIRES</b>	✓ <i>B. henselae</i> ✓ <i>B. grahamii</i>	
<b>BACTERIEMIE CHRONIQUE AVEC FIEVRE</b>	✓ <i>B. quintana</i> ✓ <i>B. elizabethae</i> ✓ <i>B. henselae</i> ✓ <i>B. vinsonii subsp. arupensis</i>	✓ Individus immunocompétents : les 4 espèces (généralement sans symptôme) ✓ Individus immunodéprimés : <i>B. henselae</i> et <i>B. quintana</i> (fièvre)

**TABLEAU 3 : RECAPITULATIF DES AFFECTIONS HUMAINES DUES A DES ESPECES DE BARTONELLE EN FONCTION DU STATUT IMMUNITAIRE DE L'HOTE**



# **CHAPITRE F- LES BARTONELLOSES :** **ETUDE CLINIQUE CHEZ L'ANIMAL**

## **I- LE CHAT**

### **I-1- INFECTION NATURELLE**

L'infection du chat par les bartonelles n'engendre aucune manifestation pathologique apparente en particulier chez les jeunes chats (25). Pourtant, le nombre de colonies peut dépasser 1 million par millilitre de sang et cette bactériémie fait l'objet de récurrences périodiques sur plusieurs mois ou années (60).

Des études séro-épidémiologiques ont montré que, lors d'infection naturelle, le chat doit cependant payer le prix de la persistance des bactéries dans son organisme. On observe en effet une augmentation de l'incidence d'adénopathies et de gingivites quand il existe une co-infection par *B. henselae* avec le virus de l'immunodéficience féline.

Une étude suisse montre une corrélation entre la présence d'anticorps spécifiques de *B. henselae* et l'existence de stomatite et de lésions du rein ou du tractus urinaire. Or, l'insuffisance rénale chronique idiopathique est une cause importante de morbidité et de mortalité chez les chats âgés. Ainsi le rôle de *B. henselae* dans l'apparition d'insuffisance rénale doit être éclairci (61).

Une autre étude suggère qu'une infection par cette bactérie pourrait engendrer une uvéite avec production d'anticorps spécifiques dans l'humeur aqueuse. En effet, des IgG anti-*Bartonella* ont été mises en évidence dans l'humeur aqueuse de différents chats (13) :

- ✓ 7 chats sur 49 atteints d'uvéite
- ✓ 0 sur 49 chats sains
- ✓ 4 chats sur 9 infectés expérimentalement par *B. henselae*.

Un traitement antibiotique à base de doxycycline (25 à 50 mg deux fois par jour) ou de lincomycine (100 mg deux fois par jour) pendant 3 semaines pourrait éliminer la bactériémie chez le chat. En réalité, cette dernière n'est souvent que diminuée, rarement supprimée. A l'arrêt du traitement, le niveau de la bactériémie remonte et peut même dépasser le niveau initial (60).

## **I-2- INFECTION EXPERIMENTALE**

D'après Gieger, 1998, cité par Caroline Simméon, les conséquences de cette infection varient en fonction du matériel injecté et de la voie d'inoculation (72). L'inoculation de sang contaminé par *Bartonella sp.* par voie intramusculaire ou intradermique entraîne une bactériémie courte (2 à 3 semaines) associée à l'apparition de symptômes. L'inoculation d'extraits de *B. henselae* ou de *B. quintana* par voie intradermique ou sous-cutanée est responsable d'une réaction inflammatoire au site d'injection.

La transfusion sanguine de sang contaminé par *B. henselae* ou *B. clarridgeiae* engendre différents symptômes (13, 72) :

- ✓ fièvre
- ✓ anémie transitoire et inconstante
- ✓ adénopathie
- ✓ troubles neurologiques tels que léthargie et désorientation
- ✓ troubles de la reproduction comme des résorptions fœtales et une absence ou un retard de la fécondité.

Par contre, aucune transmission placentaire ou péri-natale n'a été observée.

L'étude nécropsique des animaux a mis en évidence différents lésions :

- ✓ myocardite focalisée
- ✓ lésions rénales telle que néphrite pyogranulomateuse focale
- ✓ nécrose hépatique
- ✓ hyperplasie lymphoïde de la rate.

D'autre part, un variant de *B. henselae* (LSU 16) a été isolé de chats naturellement infectés. L'infection expérimentale par cette souche de chats dépourvus de pathogènes spécifiques entraîne l'apparition de symptômes divers :

- ✓ état fébrile
- ✓ léthargie
- ✓ faiblesse musculaire
- ✓ douleur vertébrale
- ✓ adénopathies
- ✓ atteinte du système nerveux central.

Ces symptômes rappellent ceux de la MGC chez l'homme. Cependant, ils ne correspondent pas à une infection naturelle du chat et ils ne concernent qu'une seule souche virulente de *B. henselae* (61).

En conclusion, on observe que la plupart des chats séropositifs et/ou bactériémiques (dans les conditions naturelles) apparaissent sains alors que les études expérimentales montrent le contraire. Ainsi, il se pourrait que certaines affections idiopathiques du chat soient causées par une infection à *Bartonella sp.*

## **II- LE CHIEN**

### **II-1- INFECTION NATURELLE**

#### **II-1-1- PAR *BARTONELLA VINSONII* SUBSP. *BERKHOFFII***

Le chien peut être infecté par *B. vinsonii subsp. berkhoffii*.

Cette dernière est responsable de différentes affections :

- ✓ Endocardite à l'origine de souffle et d'arythmies cardiaques, de syncopes, d'intolérance à l'effort, d'une hyporexie, d'un amaigrissement et de difficultés à se déplacer. On observe également une inflammation multifocale du myocarde. Cette affection touche principalement les chiens de grande race. Le pronostic est sombre car le traitement antibiotique à base d'enrofloxacin ne guérit pas le chien mais augmente uniquement sa durée de vie (12, 61)
- ✓ Adénite granulomateuse analogue à celle observée lors de la maladie des griffes du chat (61)
- ✓ Rhinite granulomateuse (61)
- ✓ Fièvre (61).

Une étude de Pappalardo *et al.* (59) a montré la présence de *B. vinsonii berkhoffii* dans des lésions granulomateuses de deux chiens :

- ✓ un Greyhound de 4 ans qui a présenté de la fièvre et une adénite granulomateuse localisée suite au retrait d'une puce gorgée de sang.
- ✓ un chien croisé de 11 ans présentant un écoulement nasal séreux depuis plusieurs semaines associé à une inflammation granulomateuse de la muqueuse nasale.

## **II-1-2- PAR BARTONELLA HENSELAE**

Ceci a été suggéré par Kusuba *et al.* (49) grâce à deux hommes présentant une lymphadénopathie régionale :

- ✓ le premier, âgé de 55 ans, a été hospitalisé pour fièvre et hypertrophie des nœuds lymphatiques sous-maxillaire et inguinal gauches et axillaire droit.
- ✓ Le second, âgé de 40 ans, montrait une douleur au niveau d'un nœud lymphatique mandibulaire.

La biopsie de leurs nœuds lymphatiques a exclu l'existence d'un lymphome mais la présence d'anticorps anti-*B. henselae* a été mise en évidence. Or, ces deux personnes n'avaient pas eu de contact avec un chat mais avec un chien. Kusuba a donc émis l'hypothèse que le chien, comme le chat, pouvait jouer le rôle de réservoir pour *B. henselae*.

Cette hypothèse avait déjà été proposée par Tsukara *et al.* (73). En effet, un enfant âgé de 10 ans a présenté des symptômes de MGC sans avoir jamais été en contact avec un chat. Il possédait par contre un chien.

D'autre part, un cas de péliose hépatique due à *B. henselae* chez une chienne Golden Retriever de 6 ans a été démontré par Kitchell *et al.* (46). Ce fut le premier isolement et la première détection de *B. henselae* chez un chien.

## **II-2- INFECTION EXPERIMENTALE**

Des chiens, préalablement dépourvus de pathogènes spécifiques, infectés par *B. vinsonii subsp. berkhoffii* ont développé une hyperplasie lymphoïde des ganglions lymphatiques et une inflammation hépatique multifocale. Aucune bartonelle n'a été observée dans ces tissus par la coloration argentique de Warthin-Starry (61).

## **III- LES AUTRES ANIMAUX**

### **III-1- LES RONGEURS**

#### **III-1-1- INFECTIONS NATURELLES**

Chez les petits rongeurs sauvages ont été mis en évidence *B. talpae* (première espèce isolée de globules rouges de rongeurs), *B. doshiae* (isolée du sang de rats *Microtus agrestis*), *B. taylorii* (isolée du sang de rongeur du genre *Apodemus*), *B. grahamii* (isolée du sang de rongeurs appartenant à l'espèce *Clethrionomys glareolus*), *B. vinsonii subsp. vinsonii*, *B. vinsonii subsp. arupensis*, *B. birtlesii*, *B. tribocorum* isolée du sang de rongeurs sauvages sur les bords du Rhin et d'autres souches qui ne sont pas encore bien identifiées (43).

Le rat (*Rattus norvegicus*) héberge *B. tribocorum* (61).

42 à 62% des rongeurs sont bactériémiques (61).

#### **III-1-2- INFECTIONS EXPERIMENTALES (61)**

##### **III-1-2-1- INFECTION DE RATS PAR *BARTONELLA TRIBOCORUM***

Schüleïn *et al.* ont utilisé *B. tribocorum* pour étudier la cinétique d'infection des érythrocytes chez le rat.

Après l'inoculation intraveineuse chez le rat, les bactéries disparaissent rapidement du milieu sanguin pour ré-apparaître au quatrième jour d'infection dans les globules rouges où elles se multiplient pour atteindre le nombre de 10 à 15 par hématie. Le nombre d'hématies atteintes est constant pendant toute la durée de la bactériémie : 1 pour 1000 à 5000 globules rouges. Cette bactériémie disparaît au bout de 8 à 10 semaines d'infection.

##### **III-1-2-2- INFECTION D'AUTRES RONGEURS PAR DIVERSES ESPECES DE BARTONELLES**

Trois types de modèle d'infection murine ont été décrits.

Le premier est un modèle homologue utilisant des isolats mal définis de *Bartonella* et provenant de rongeurs sauvages. Chez le rat du coton (*Sigmodon hispidus*), on observe une bactériémie asymptomatique de 60 jours.

Le second modèle est hétérologue et consiste à infecter des souris avec une souche féline : *B. henselae*. On observe alors des adénopathies comparables à celles observées chez l'homme lors de maladie des griffes du chat. Aucune bactériémie au long cours n'est cependant observée chez la souris. Les souris présentent une réponse immunitaire cellulaire spécifique. Ce modèle ne peut fonctionner qu'avec de fortes quantités de bactéries inoculées.

Le troisième modèle est celui d'infection de souris avec l'espèce *B. birtlesii* initialement isolée d'*Apodemus sp.* pour lequel le pouvoir pathogène de cette bactérie n'est pas encore connu. Cette infection est réalisée par voie sous-cutanée ou intraveineuse. L'étude a permis de montrer que l'infection était influencée par des facteurs tels que la parturition, l'immunocompétence due à l'âge ou la variabilité génétique. En effet, les souris BALB/c infectées par cette bactérie développent une bactériémie quantitativement plus élevée que les souches C57BL/6 or Swiss. De même, les souris BALB/c âgées (de plus de 8 semaines) et les souris BALB/c gravides ont une bactériémie quantitativement plus importante que celle des jeunes souris BALB/c et des souris BALB/c vierges. Ce modèle a permis de mettre en évidence un passage transplacentaire de *B. birtlesii* entraînant des résorptions fœtales chez les souris BALB/c gravides et infectées.

### **III-2- AUTRES ANIMAUX SAUVAGES**

30% des lapins de garenne sont infectés par *B. alsatica* (61).

Chang *et al.* ont montré que les chevreuils et les élans hébergent également des *Bartonella* (61). Pour les chevreuils, la prévalence de l'infection est proche de 100% en France et en Californie.

Les 2 deux espèces décrites chez le chevreuil européen sont :

- ✓ *B. capreoli*
- ✓ *B. schoenbuchensis*.

Une étude menée aux Etats-Unis sur la prévalence de la bactériémie liée à *Bartonella sp.* a abouti aux résultats suivants : 15% des élans sont bactériémiques, 90% des daims, 50% des bovins mais 0% des moutons. La bactérie responsable est *B. weissii* (43).

Une autre étude portant sur un troupeau de Californie a permis d'isoler une espèce de bartonelle de 25 des 26 taureaux de l'exploitation (96%) et de 22 sur 27 des vaches (82%) (15).

Ces données ont poussé Breitschwerdt *et al.* à réaliser une étude en Caroline du Nord portant sur un troupeau de 38 animaux : cela a permis d'isoler *B. weissii* dans 50 % des échantillons de sang récoltés (15). Cependant, le pouvoir pathogène potentiel des bartonelles sur le bétail reste encore inconnu (15).

De même, Bermond *et al.* (7) ont décrit une infection chez les bovins due à une bartonelle nommée *B. bovis* (il s'agit en fait de *B. weissii* qui a été renommée).

32% des coyotes aux Etats-Unis sont infectés par *B. vinsonii berkhoffii*.

*B. henselae* a été isolée d'un guépard (*Acinonyx jubatus*) et de quatre lions en Californie.

Les pumas et les lynx sont aussi porteurs d'espèces de bartonelle pas encore totalement décrites (61).



# **CHAPITRE G- PATHOGENIE**

La pathogénie des infections à bartonelles mérite d'être développée.

Nous allons voir comment elles parasitent les érythrocytes, comme c'est le cas pour *B. bacilliformis* chez l'homme, *B. henselae* chez le chat et diverses bartonelles chez les rongeurs.

Nous allons également voir leur interaction avec les cellules endothéliales. Enfin, nous étudierons les gènes bactériens impliqués dans la pathogénie et la réponse immunitaire développée par l'hôte face à l'infection.

## **I- PARASITISME DES ERYTHROCYTES**

Le point commun entre les différentes espèces de bartonelles est leur hémotropisme chez les mammifères réservoirs. Cet hémotropisme serait déterminé par leur besoin en fer (56).

Nous allons étudier les différentes étapes du parasitisme des érythrocytes : l'adhésion et l'invasion puis la chronologie du parasitisme des érythrocytes. Dans une dernière partie, nous étudierons le cas particulier de *B. bacilliformis* qui possède une activité hémolytique.

### **I-1- ADHESION**

La première étape du parasitisme des érythrocytes est l'adhésion des bartonelles à ces cellules.

In vitro, *B. bacilliformis* adhère aux érythrocytes en 15 à 30 minutes. On ne connaît pas encore la nature des adhésines de *B. bacilliformis* intervenant dans cette première étape. L'adhésion est énergie-dépendante. Elle est corrélée à la mobilité de la bactérie. En effet, *B. bacilliformis* est très mobile grâce à ses multiples flagelles. En présence d'anticorps dirigés contre les flagelles, la fixation de *B. bacilliformis* sur les érythrocytes est partiellement inhibée et l'invasion abolie. La fixation d'une souche mutante de *B. bacilliformis*, non flagellée, sur les érythrocytes est réduite de 75% (28, 30). Il reste à démontrer si le flagelle intervient directement dans l'adhésion aux érythrocytes ou si la mobilité conférée à la bactérie favorise sa rencontre avec les érythrocytes.

Cependant, la plupart des bartonelles ne sont pas flagellées et capables d'envahir les érythrocytes. Le flagelle n'est donc pas le seul facteur intervenant dans l'adhésion. Un autre facteur a été récemment mis en évidence : les pilis de type IV. Ils sont présents chez *B. henselae*, *B. quintana* et *B. tribocorum*. Ils sont constitués de 11 protéines virB. Schüleïn et Dehio ont montré que des bartonelles possédant une mutation sur le gène codant pour la protéine virB4 ou sur celui codant pour la protéine virB10 étaient incapables de causer une bactériémie intra érythrocytaire chez les rats (70). Ces pilis augmentent à la fois l'adhérence et l'invasion cellulaire.

## **I-2- INVASION**

Les érythrocytes sont des cellules anucléées. Ils possèdent un cytosquelette passif interdisant à la cellule une activité phagocytaire. Le processus d'invasion est par conséquent exclusivement dirigé par la bactérie.

Les flagelles de *B. bacilliformis* lui procurent une force de propulsion qui semble intervenir dans l'invasion des érythrocytes (56).

De plus, une caractéristique de l'interaction de *B. bacilliformis* avec les érythrocytes humains est la formation d'une invagination profonde dans la membrane de l'érythrocyte. Cette invagination est considérée comme la porte d'entrée des bactéries. Ce phénomène est déclenché par un facteur sécrété par la bactérie : la déformine, mise en évidence chez *B. bacilliformis* et *B. henselae*. La déformine est une petite molécule hydrophobe de 67 kDa ayant une forte affinité pour l'albumine. Son mécanisme d'action est encore inconnu (30).

Deux autres protéines interviennent dans le mécanisme d'invasion des érythrocytes : une hydrolase dont le rôle dans l'invasion est à déterminer et une protéine de 18 kDa localisée sur la membrane interne de la bactérie. Les gènes *ialA* et *ialB* (invasion-associated locus) codent pour ces deux protéines. Des études in vitro ont montré que des souches d'*E. coli* ayant reçu les gènes *ialA* et *ialB* sont capables d'envahir les érythrocytes humains. Par contre, une mutation sur le gène *ialB* chez *B. bacilliformis* réduit de 50% ses capacités à envahir les érythrocytes humains. Le mécanisme d'action de la protéine de 18 kDa est encore inconnu (28, 30).

Nous avons vu dans la partie consacrée à l'adhésion aux érythrocytes (I-1) que les pilis de types IV permettaient à la bactérie d'augmenter l'adhésion et l'invasion des cellules. Les 11 protéines virB forment en fait un pore entre les membranes externes des bactéries Gram- et

la membrane de la cellule hôte. Ce pore permet la translocation d'un complexe protéique du cytoplasme de la bactérie à celui de la cellule hôte. Des agents pathogènes chez l'homme ont adapté ce système type IV pour transporter des toxines vers le milieu extracellulaire (*Bordetella pertussis*) ou dans le cytosol de la cellule hôte (*Helicobacter pylori* dans les cellules épithéliales) (70).

### **I-3- CHRONOLOGIE DU PARASITISME DES ERYTHROCYTES**

La chronologie de l'invasion des érythrocytes a été mise en évidence par une étude de Schüleïn *et al.* (69). Des rats ont été expérimentalement infectés par une souche fluorescente de *B. tribocorum*. Après l'injection intra-veineuse, les bactéries disparaissent rapidement du courant sanguin. Elles colonisent une niche primaire qu'on ne connaît toujours pas. Néanmoins, les bartonelles ont un fort tropisme pour les cellules endothéliales, ce qui laisse penser qu'elles pourraient constituer cette niche primaire. Cette colonisation débute quelques heures après l'injection et se poursuit pendant 3 à 4 jours.

Environ 5 jours après l'inoculation, les bactéries apparaissent dans le sang, adhèrent aux érythrocytes matures et les envahissent. L'invasion est achevée en 2 jours. Ensuite, les bartonelles entament une phase de réplication intracellulaire qui se stabilise lorsque 8 bartonelles en moyenne sont présentes dans l'érythrocyte. Cette stabilisation est soit due à un manque de facteur de croissance, soit due à une régulation très fine de la part des bartonelles pour limiter la population intra érythrocytaire.

Environ tous les 5 jours, la niche primaire relargue des bartonelles qui colonisent de nouveaux érythrocytes matures. Ceci est en accord avec la fièvre des tranchées ou fièvre quintane, causée par *B. quintana*, au cours de laquelle des accès de fièvre apparaissent régulièrement tous les 5 jours. Cette périodicité peut résulter d'un cycle d'infection de la niche primaire durant 5 jours (70).

Dans le modèle des rats infectés par *B. tribocorum*, la bactériémie intra érythrocytaire diminue spontanément au bout de 8 à 10 semaines. Koestling *et al.* (47) ont observé dans un modèle de souris infectées par *B. grahamii* une bactériémie durant 8 à 11 semaines.

Chez des souris déficientes en lymphocytes B, la bactériémie persiste et ne devient transitoire qu'après injection d'un sérum contenant des immunoglobulines. Les bartonelles sauf *B. bacilliformis*

se met en place. Les immunoglobulines bloquent l'infection de nouveaux érythrocytes matures en agissant sur les bactéries extracellulaires régulièrement relarguées par la niche primaire.

Enfin, la durée de vie des érythrocytes ne paraît pas abrégée par la colonisation (100 jours en moyenne), les bartonelles ont ainsi plus de chance d'être aspirées par un arthropode piqueur (70).

#### **I-4- ACTIVITE HEMOLYTIQUE DE BARTONELLA BACILLIFORMIS**

Chez les hôtes mammifères, la colonisation des érythrocytes n'entraîne habituellement pas d'hémolyse et on n'observe pas ou peu de symptômes. Par contre, la fièvre d'Oroya causée par *B. bacilliformis* est caractérisée par une anémie hémolytique mettant en danger la vie de l'individu. L'activité hémolytique de *B. bacilliformis* est contact-dépendante. Elle est en outre sensible aux protéases. Tout ceci suggère que le facteur impliqué est une protéine (une hémolysine) exposée à la surface de la bactérie (30).

Nous avons donc vu les différentes étapes de la colonisation des érythrocytes par les bartonelles. Nous allons maintenant voir que d'autres cellules peuvent être envahies par les bartonelles, en particulier les cellules endothéliales.

## **II- INTERACTION AVEC LES CELLULES ENDOTHELIALES**

Les bartonelles sont capables d'engendrer des manifestations tissulaires locales chez les mammifères réservoirs et chez des hôtes infectés accidentellement (30). La caractéristique la plus remarquable est leur capacité à envahir les tissus vasculaires (28). Nous allons voir qu'elles y induisent une néoangiogenèse et les différentes étapes de la colonisation des cellules endothéliales.

## **II-1- NEOANGIOGENESE**

La néoangiogenèse est un processus pathologique de formation de capillaires par germination de vaisseaux préexistants. Elle est observée dans la forme chronique de la maladie de Carrion (ou *verruca peruana*) et dans l'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique ou splénique provoquées par *B. henselae* et *B. quintana* chez des hôtes immunodéprimés.

Des bactéries vivantes de même que des extraits de ces 3 bartonelles stimulent la prolifération in vitro de cellules endothéliales humaines (HUVEC pour Human Umbilical Vein Endothelial Cells). Les facteurs de l'angiogenèse de *B. bacilliformis* et *B. henselae* semblent être, de par leurs propriétés physico-chimiques, des protéines. Le facteur de *B. henselae* est localisé sur la membrane externe, celui de *B. bacilliformis* est cytosolique (30). Ces résultats suggèrent que les différentes espèces de bartonelles sont au moins partiellement responsables de l'importante prolifération de cellules endothéliales observée dans les lésions vasculaires (28).

De plus, l'inflammation locale semble intervenir dans la prolifération des cellules endothéliales. En effet, les lésions vasoprolifératives engendrées par les bartonelles sont toujours infiltrées de polynucléaires neutrophiles. Ces cellules sont capables de sécréter des facteurs angiogéniques. Néanmoins, le rôle de l'inflammation reste à déterminer dans le phénomène de l'angiogenèse (29).

La croissance vasoproliférative nécessite la colonisation vasculaire par les bartonelles, que nous allons maintenant étudier.

## **II-2- ADHESION**

La colonisation de l'endothélium vasculaire est considérée comme une étape cruciale dans l'apparition des lésions vasoprolifératives (30). En 1995, Batterman *et al.* (6) ont comparé la capacité de 3 souches à adhérer et envahir les HUVEC : une souche naturelle de *B. henselae* possédant une piliature importante, une souche de *B. henselae* altérée par des repiquages successifs et non piliée et une souche de *B. quintana* naturellement non piliée. Ils ont constaté que les bactéries piliées adhéraient plus rapidement et plus efficacement aux cellules.

Ainsi, les pilis jouent un rôle important dans l'adhésion des bartonelles aux HUVEC, étape préalable qui semble indispensable à la pénétration dans ces cellules. Nous avons vu dans la partie consacrée à l'adhésion aux érythrocytes (I-1) que les pilis de *B. henselae* sont de type IV.

Des adhésines joueraient également un rôle dans cette étape et expliqueraient que des bartonelles non piliées colonisent les cellules endothéliales. Chez *B. henselae*, 5 adhésines ont été mises en évidence. Elles sont de nature protéique et leur localisation est membranaire (56).

## **II-3- INVASION**

### **II-3-1- MECANISME GENERAL**

L'invasion des cellules endothéliales par les bartonelles a été étudiée sur les HUVEC. *B. bacilliformis* est internalisée en quelques heures. L'invasion cellulaire est actine-dépendante. En effet, une enzyme inactivant la GTPase rho – protéine contrôlant la réorganisation de l'actine – bloque l'entrée de *B. bacilliformis* dans les HUVEC. Elle aboutit à la présence de petits groupes bactériens dans des compartiments membranaires à proximité du noyau.

Ces caractéristiques sont celles d'une phagocytose, classique pour la cellule, mais induite par la bactérie. En effet, les cellules endothéliales, contrairement aux érythrocytes, sont nucléées et possèdent un cytosquelette actif et donc une activité phagocytaire. Ce phénomène a déjà été décrit pour d'autres bactéries intracellulaires (30).

### **II-3-2- CAS PARTICULIER DE *BARTONELLA HENSELAE***

En plus de cette phagocytose, *B. henselae* peut entrer dans la cellule par un second mécanisme.

Tout d'abord, une lamelle de cellules endothéliales en migration établit un contact avec des bactéries. Elle entraîne la formation d'un agrégat bactérien à la surface de la cellule par un transport rétrograde. Ensuite, l'agrégat de bactéries (constitué de centaines de bartonelles) est internalisé dans une structure cellulaire de l'hôte bien définie : l'invasome.

Ce mécanisme dure 24 heures. Il est actine-dépendant. La portion de membrane enclavant l'agrégat bactérien est très riche en actine-F corticale et en phosphotyrosine. Les fibres d'actine forment une spirale au niveau de la partie basale de l'invasome. Toutes les *B. henselae* utilisent ce mécanisme pour envahir les cellules endothéliales. Une souche mutante n'a pas formé d'invasome mais a néanmoins induit une phagocytose permettant aux bactéries d'entrer dans la cellule. Le mécanisme d'entrée par l'invasome a été mis en évidence in vitro, il reste à démontrer que cette voie est utilisée par les bactéries in vivo (30).

### **II-3-3- LES FACTEURS DE L'INVASION**

Les facteurs intervenant dans l'invasion des cellules endothéliales sont encore méconnus. On suppose que les pilis jouent un rôle important, en particulier ceux de type IV. Récemment, des protéines de la membrane externe (omp43 chez *B. henselae*) se fixant sur les cellules endothéliales ont été mises en évidence mais le rôle exact de ces protéines n'est pas encore élucidé (29, 30).

Nous avons vu les différentes étapes de la colonisation des cellules endothéliales. Les érythrocytes et les cellules endothéliales ne sont pas les seuls types cellulaires envahis par les bartonelles. *B. bacilliformis*, *B. henselae* et *B. quintana* peuvent également envahir des cellules épithéliales (56).

Nous allons maintenant étudier les gènes des bartonelles impliqués dans le processus de colonisation cellulaire.

## **III- LES GENES IMPLIQUES DANS LA PATHOGENIE**

Le tropisme des bartonelles pour les érythrocytes et les cellules endothéliales exige différents caractères pathogéniques pour réguler les mécanismes de l'invasion et de l'accommodation dans ces cellules (30). Plusieurs gènes contrôlant ces mécanismes ont déjà été mis en évidence chez d'autres bactéries pathogènes, comme *Salmonella* Typhimurium et *Mycobacterium marinum* (70).

### **III-1- LA FAMILLE Iba**

Dehio a mis en évidence les gènes de *B. henselae* régulant l'infection de cellules endothéliales in vitro. Parmi eux, la famille Iba (Inducible bartonella autotransporter) codant pour des protéines de transport. Dans le modèle des rats infectés par *B. tribocorum*, le promoteur IbaB est intensément activé pendant le séjour des bactéries dans le sang mais diminue rapidement après l'invasion des érythrocytes. Ainsi, le promoteur est activé soit dans la niche primaire, soit quand les bactéries sont relarguées de la niche primaire vers le courant sanguin (30, 70).

### **III-2- LE LOCUS DE L'INVASION**

Nous avons vu dans la partie consacrée à l'invasion des érythrocytes (I-2) que les gènes *ialA* et *ialB* codaient pour des protéines intervenant dans l'invasion des érythrocytes.

Des études récentes montrent que le locus *ial* est hautement conservé chez le genre *Bartonella* (30).

### **III-3- LES GENES CODANT POUR LES PILIS DE TYPE IV**

Les gènes codant pour les protéines virB, intervenant dans l'assemblage et la fonction des pilis de type IV, présentent des similitudes avec ceux de *Agrobacterium tumefaciens* et *Brucella suis*. Les différences portent sur le gène codant pour la protéine virB1 qui est absent chez *B. henselae*. De plus, les gènes codant pour les protéines virB5 et virB7 sont remplacés par 2 gènes codant pour des protéines de 17 kDa et 15 kDa respectivement. Le gène codant pour la protéine de 17 kDa est conservé chez le genre *Bartonella* (30). Schüleïn et Dehio ont montré que les séquences des gènes codant pour les protéines virB de *B. henselae* et *B. tribocorum* avaient de nombreuses homologies.

Un autre promoteur activé pendant l'infection de cellules endothéliales par *B. henselae* in vitro a été mis en évidence. Il est localisé sur le locus d'un second système de type IV. Positionné entre les homologues des gènes codant pour les protéines virB6 et virB8, il clive ce

locus en 2 blocs probablement transcrits indépendamment. Ce deuxième locus type IV est conservé chez le genre *Bartonella*.

Des études ont montré des similitudes entre ce deuxième locus type IV et le locus *trw* d'*E. coli*. Les protéines codées par ces 2 loci présentent plus d'homologies que celles codées par les 2 loci type IV chez les bartonelles (70).

Ainsi, nous avons vu les différents gènes connus à ce jour impliqués dans les mécanismes d'adhésion et d'invasion des différents types de cellules par les bartonelles. Nous allons maintenant développer les réactions immunitaires mises en place par l'hôte lors d'infections à bartonelles.

## **IV- ASPECTS IMMUNOLOGIQUES**

Dans les infections à *B. henselae* chez l'homme, il semble que le statut immunitaire de l'hôte joue un rôle important dans l'expression clinique de la maladie. En effet, *B. henselae* est responsable chez un hôte immunocompétent d'une maladie des griffes du chat. Par contre, elle sera à l'origine chez un hôte immunodéprimé d'un tableau clinique différent : bactériémie chronique, angiomatose ou péliose (28). Actuellement, le rôle joué par le système immunitaire au cours des infections à bartonelles est mal connu.

Nous allons ici exposer les aspects de la réponse immunitaire mis en évidence par les études expérimentales.

### **IV-1- REPOSE IMMUNITAIRE A MEDIATION HUMORALE**

#### **IV-1-1- CHEZ L'HOMME**

Les personnes natives des régions où la maladie de Carrion sévit sous forme endémique sont beaucoup moins sensibles à l'infection par *B. bacilliformis* que les étrangers.

De plus, de nombreuses études in vitro montrent que des anticorps spécifiques reconnaissent des protéines membranaires. Ceci suggère que des anticorps neutralisants confèrent une protection contre l'infection à *B. bacilliformis*. Cependant, des porteurs symptomatiques montrent que la réponse immunitaire via les anticorps n'est pas efficace.

Dans le cas de la maladie de Carrion, la fin de la phase aiguë coïncide avec l'apparition des anticorps et le début de la phase verruqueuse chronique. Il semblerait que les bactéries se réfugient dans le tissu vasculaire épithélial au moment où la réaction immunitaire à médiation humorale se développe. L'intervention de cellules cytotoxiques devient nécessaire à l'élimination complète des bactéries (45).

#### **IV-1-2- CHEZ LE CHAT**

En 1999, Guptill *et al* (38) étudient la réponse immunitaire de chatons SPF (Specific Pathogen Free) infectés par *B. henselae*. De même que pour la maladie de Carrion, la bactériémie décroît pendant que le titre en anticorps augmente.

#### **IV-1-3- CHEZ LA SOURIS**

Nous avons vu dans la partie consacrée à la chronologie de l'infection (I-3) que chez des souris déficientes en lymphocytes B infectées par *B. grahamii*, la bactériémie persistait, contrairement à ce qui fut observé chez des souris immunocompétentes. Elle ne diminuait qu'après injection d'un sérum contenant des immunoglobulines. Ainsi, une réaction immunitaire à médiation humorale se met en place après l'infection et est nécessaire à la baisse de la bactériémie. Les anticorps agissent sur les bactéries extracellulaires et bloquent l'infection de nouveaux érythrocytes (30, 70).

### **IV-2- REPONSE IMMUNITAIRE A MEDIATION CELLULAIRE**

Les patients développant une angiomatose bacillaire suite à l'infection à *B. henselae* sont immunodéprimés, le plus souvent par le virus du SIDA. Ce virus entraîne, chez son hôte, une diminution du taux de lymphocytes CD4+ et réduit ses capacités de phagocytose.

Par contre, les personnes immunocompétentes ne développent qu'une maladie des griffes du chat. Il semble que les cellules cytotoxiques préviennent l'infection systémique en maintenant les bactéries dans les nœuds lymphatiques et en les empêchant de migrer vers le tissu cutané. Le complément paraît jouer un rôle dans l'opsonisation des cellules phagocytaires (45).

Ainsi, nous avons vu que la réaction immunitaire à médiation humorale permettait de diminuer la bactériémie et que la réaction immunitaire à médiation cellulaire prévenait l'infection systémique au moins pour *B. henselae*.

D'autres études sont indispensables pour explorer de façon plus approfondie les mécanismes immunitaires que développe l'hôte face à une infection à bartonelles.



# **CHAPITRE H- DIAGNOSTIC**

## **I- DIAGNOSTICS EPIDEMIOLOGIQUE ET CLINIQUE**

Les données épidémiologiques et cliniques précédemment décrites (un récapitulatif est exposé dans le tableau 4) permettent d'émettre une hypothèse diagnostique quant à une infection par une espèce de bartonelle. Cependant, seuls les examens de laboratoire permettent de déterminer le germe responsable.

## **II- DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE**

Différentes techniques permettent à l'heure actuelle de mettre en évidence une infection à *Bartonella sp.* :

- ✓ mise en culture et isolement des bactéries à partir d'échantillon de sang ou de tissus prélevés
- ✓ des méthodes de biologie moléculaire telle que l'amplification génique et le séquençage
- ✓ un examen histologique des tissus présentant des lésions particulières pouvant être rattachées à une infection à *Bartonella sp.*
- ✓ des tests sérologiques tels que l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'ELISA (enzyme linked immunosorbent assay).

Pour chaque technique seront présentés en premier lieu son principe puis ses applications pour chaque maladie décrite chez l'homme.

### **II-1- MISE EN CULTURE ET ISOLEMENT**

#### **II-1-1- PRINCIPE**

La mise en culture est réalisée sur gélose au sang de lapin frais et défibriné. En effet, l'hémine et l'hémoglobine sont indispensables à la croissance de *B. henselae*. La gélose doit être dépourvue d'inhibiteurs car, in vitro, les bartonelles sont sensibles à tous les antibiotiques.

Une congélation préalable du sang permet la « sortie » des bactéries en-dehors des hématies.

La croissance des bartonelles se fait dans une étuve maintenue à 35°C dans une atmosphère humide à 5% de CO<sub>2</sub> sauf pour *B. bacilliformis* qui croît à 28°C sans CO<sub>2</sub>. Les colonies peuvent apparaître au bout d'une semaine mais le résultat définitif nécessite 1 mois de culture.

L'observation de la gélose ne permet pas d'identifier les bartonelles ni d'en distinguer les différentes espèces. Le même constat est établi pour les techniques conventionnelles utilisées en microbiologie. Les bartonelles sont relativement inertes d'un point de vue biochimique. D'autre part, elles sont constituées en grande partie de quatre acides gras. C'est pourquoi l'étude de ces derniers ne permet pas de distinguer les espèces de bartonelles (26).

### **II-1-2- UTILISATION POUR LE DIAGNOSTIC DES BARTONELLOSES**

Elle est utilisée pour diagnostiquer (72) :

- ✓ la forme aiguë de la maladie de Carrion : une dizaine de jours est cependant nécessaire
- ✓ la fièvre des tranchées
- ✓ la MGC : il est possible mais difficile d'isoler l'agent infectieux par mise en culture sur gélose au sang de lapin
- ✓ l'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique : la mise en culture à partir des lésions est cependant difficile, certaines cultures restant stériles
- ✓ les bactériémies chroniques causées par des bartonelles
- ✓ les endocardites.

Un repiquage de certaines colonies est réalisé sur gélose au sang de lapin de façon à obtenir des souches de bartonelles.

### **II-2- AMPLIFICATION GENIQUE PAR PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)**

C'est à partir de ces souches que l'identification de l'espèce est possible par l'amplification génique et par le séquençage de gènes tels que le gène codant pour l'ARNr

16S, le gène *groEL* codant pour la protéine de choc thermique de 60 kDa, le gène *gltA* codant pour la citrate synthétase et l'ITS (16S/23S intergenic space region).

### **II-2-1- PRINCIPE**

Cette technique fut inventée en 1985. La réaction en chaîne de la polymérase permet d'amplifier rapidement n'importe quel morceau d'ADN in vitro.

Le matériel de départ est constitué d'une solution d'ADN bicaténaire contenant la séquence désirée.

On y ajoute :

- ✓ de l'ADN polymérase permettant de catalyser la réaction d'amplification
- ✓ les quatre nucléosides en quantité suffisante pour permettre la synthèse des nouvelles molécules d'ADN
- ✓ de courts fragments d'acide nucléique constituant les amorces et indispensables à l'activité de l'enzyme.

Ces amorces sont synthétisées par voie chimique à partir de séquences complémentaires aux extrémités du segment d'ADN d'intérêt.

### **II-2-2- AVANTAGES**

Cette technique permet, en peu de temps, la synthèse de milliards de copies d'un segment d'ADN donné. Elle est beaucoup plus rapide que le clonage génique par fixation à un plasmide ou à un génome viral (nécessitant quelques jours).

Elle présente d'autres avantages :

- ✓ toutes les bactéries sont détectées par une réaction unique
- ✓ elle présente une très bonne spécificité
- ✓ une quantité infime de la molécule d'ADN bicaténaire suffit
- ✓ les amorces déterminent la séquence d'ADN à amplifier ainsi il n'est pas nécessaire d'isoler le segment d'ADN désiré.

### **II-2-3- INCONVENIENTS**

Le résultat dépend du matériel utilisé (qualité et nature) et la mise en œuvre est délicate. Les contaminations sont possibles et le sang renferme des substances diminuant la sensibilité de la PCR. Enfin, le nombre et la qualité des séquences d'ADN disponibles dans la banque de données limite aussi son utilisation.

### **II-2-4- ASPECT PRATIQUE**

Sur le plan pratique, la PCR est réalisée selon deux approches (31).

Des échantillons sont étudiés par la mise en œuvre d'une PCR à large spectre. Les amorces utilisées sont complémentaires des régions invariables codant pour la sous-unité 16S de l'ARNr. Puis le séquençage est réalisé. Cette technique permet de détecter des cas rares ou non soupçonnés d'infection par des bartonelles comme l'endocardite à *B. quintana*.

En cas de suspicion d'infection à *Bartonella sp.* par le clinicien, une PCR spécifique est utilisée. Les amorces sont spécifiques du genre, de l'espèce et du type de bartonelle. Cette méthode permet d'étudier la prévalence d'espèces tels que les génotypes I et II de *B. henselae*.

Jensen *et al.* (44) propose de réaliser une PCR ne nécessitant pas un séquençage ultérieur. L'amplification de la portion d'ADN codant pour la région intergénique de l'ARNr 16S/23S aboutit en effet à une molécule dont la taille est spécifique de chaque espèce de bartonelles.

## **II-3- EXAMEN HISTOLOGIQUE**

### **II-3-1- APPLICATION A L'ANGIOMATOSE ET A LA PELIOSE**

L'histologie des lésions d'angiomatose bacillaire et de péliose montre la prolifération et la néoformation lobulaire des vaisseaux sanguins. Les bartonelles peuvent être isolées de ces lésions : *B. quintana* a été mise en évidence à partir de biopsie cutanée réalisée sur des patients VIH positifs (26).

Pour l'angiomatose, la coloration de Warthin-Starry (méthode d'imprégnation argentique) met en évidence de petits bacilles dans le tissu interstitiel. De même, lors de péliose hépatique, on observe dans le stroma fibreux entourant les cavités kystiques de nombreuses bactéries prenant cette coloration (61). Les bartonelles apparaissent conglomerées et en groupe.

### **II-3-2- APPLICATION A LA MALADIE DE CARRION**

En cas de maladie de Carrion sous sa forme chronique, l'histologie révèle une prolifération des cellules endothéliales, des monocytes et des macrophages avec des mitoses importantes. On observe également la néoformation de capillaires sanguins. Puis le phénomène se résorbe. *B. bacilliformis* est mise en évidence par la coloration de Warthin-Starry (53).

Le frottis sanguin permet de mettre en évidence les globules rouges parasités grâce à la coloration de Giemsa qui colore les bartonelles en rouge-violet (4). Cependant, elle colore aussi les globules blancs et montre ainsi l'infiltrat inflammatoire dans les végétations des valves cardiaques (17).

Cette coloration ainsi que celle de Romanovski et de Wright révèle la présence de formes bacillaires puis en coques dans les érythrocytes parasités par *B. bacilliformis* (72).

### **II-3-3- APPLICATION A LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT**

Pour la MGC, la biopsie et l'histologie d'un nœud lymphatique montrent des lésions non pathognomoniques d'hyperplasie lymphoïde et de prolifération artériolaire. Par contre, la coloration argentique révèle la présence d'un petit bacille incurvé Gram négatif (53).

### **II-3-4- APPLICATION AUX ENDOCARDITES**

A partir d'un prélèvement de valves cardiaques d'un patient atteint d'endocardite à *Bartonella sp.*, l'examen histologique associé à une coloration de Warthin-Starry révèle la présence d'un nombre important de bactéries ainsi qu'une végétation massive à la surface des

valves avec destruction des tissus sous-jacents (17). Cette coloration constitue la méthode la plus sensible pour détecter les bactéries.

## **II-4- LES METHODES SEROLOGIQUES**

### **II-4-1- L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI)**

#### **II-4-1-1- PRINCIPE**

Cette technique a pour but de mettre en contact sur une lame un sérum à tester avec un ou des antigènes particuliers pour déterminer si ce sérum contient des anticorps dirigés contre ces antigènes.

Ce test peut se faire de deux façons : soit les bactéries sont directement placées sur la lame soit elles infectent des cellules Vero ou de cellules de fœtus de chat (FCWF) puis ces dernières sont fixées sur lame.

Une fois l'anticorps et l'antigène mis en contact, il se produit une réaction antigène-anticorps (formation d'un complexe immun) qui est révélée par la présence d'une anti-immunoglobuline (anti-Ig) spécifique d'espèce et marquée à la fluorescéine. Cette anti-Ig est révélée sous microscope UV, les structures ayant fixé l'anti-Ig donnant une fluorescence verte.

## **II-4-2- ELISA OU ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY**

### **II-4-2-1- PRINCIPE**

Il s'agit d'une technique immuno-enzymatique.

Elle consiste en l'accrochage d'un antigène soluble sur un support (plastique ou papier). Le sérum à tester est ensuite mis en contact. On ajoute un ligand qui est une antiglobuline couplée à une enzyme telle que la peroxydase. Elle se fixe sur l'anticorps à doser. On ajoute également un chromogène qui est un substrat incolore activé par la portion enzymatique du ligand pour donner un produit coloré. Ainsi la réaction antigène-anticorps est révélée par une antiglobuline associée à une enzyme qui dégrade le substrat (chromogène) en donnant une réaction colorée.

### **II-4-2-2- AVANTAGES**

Cette technique permet de réaliser de nombreuses réactions simultanément. De plus, elle assure une lecture objective réalisée par un spectrophotomètre.

## **II-4-3- APPLICATION POUR LE DIAGNOSTIC DES BARTONELLOSES**

Les méthodes sérologiques sont employées pour le diagnostic de :

- ✓ la fièvre des tranchées.
- ✓ la maladie des griffes du chat : le diagnostic sérologique repose sur l'immunofluorescence indirecte (recherche des immunoglobulines G ou M) qui présente une sensibilité de 84% et une spécificité de 96% (67) ou sur la méthode ELISA.
- ✓ l'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique : la sérologie par immunofluorescence indirecte est considérée positive quand le titre en Ig G est supérieur à 1/64.
- ✓ la maladie de Carrion : on utilise l'IFI, l'ELISA, le Western Blot ou bien l'hémagglutination.
- ✓ les bactériémies chroniques.
- ✓ les endocardites.

## **II-5- AUTRES EXAMENS COMPLEMENTAIRES**

### **II-5-1- BIOCHIMIE SANGUINE**

La maladie de Carrion est caractérisée, dans ses formes aiguës et graves, par une augmentation de l'alanine amino-transférase ainsi que de la bilirubine. En cas de péliose hépatique, on observe une augmentation des phosphatases alcalines et, éventuellement, de la bilirubine et de l'alanine amino-transférase (72).

### **II-5-2- NUMERATION ET FORMULE SANGUINES**

La maladie de Carrion, dans sa forme aiguë, est caractérisée par une diminution importante du nombre d'érythrocytes, un hémocrite bas, une réticulocytose et une leucocytose. L'anémie est macrocytaire, hypochrome et hémolytique (72).

Le tableau 5 apporte un récapitulatif des différents examens de laboratoire utilisés pour le diagnostic des bartonelloses humaines.

	<b>PRINCIPAUX CARACTERES EPIDEMIOLOGIQUES</b>	<b>PRINCIPAUX SYMPTOMES</b>
<b>MALADIE DE CARRION</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- maladie endémique</li> <li>- Amérique du Sud : Pérou +++</li> <li>- Forme classique : enfant</li> <li>- Forme sévère : individus « naïfs »</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>forme aiguë classique</u> : fièvre, syndrome pseudo-grippal</li> <li>- <u>forme aiguë sévère</u> : fièvre élevée, anémie, asthénie, vertiges, polyadénopathies, subictère, hépatosplénomégalie</li> <li>- <u>forme chronique</u> : verrues sur la peau des extrémités et de la face</li> </ul>
<b>FIÈVRE DES TRANCHEES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>forme ancienne</u> : pendant les deux Guerres Mondiales, climat froid, manque d'hygiène</li> <li>- <u>forme urbaine récente</u> : manque d'hygiène, personnes SDF et/ou alcooliques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- accès fébrile unique ou épisodes fébriles récurrents</li> <li>- sueurs nocturnes</li> <li>- frissons</li> <li>- céphalées</li> <li>- syndrome pseudo-grippal ou méningé</li> <li>- éruptions cutanées (abdomen, poitrine, dos)</li> <li>- douleurs osseuses (tibia +++)</li> </ul>
<b>MGC</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- personnes immunocompétentes</li> <li>- enfants et jeunes adultes +++</li> <li>- en contact avec un jeune chat, infesté ou non par des puces</li> <li>- antécédent de morsure ou de griffure</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>forme classique</u> : papule au niveau du trait de griffure et hypertrophie des nœuds lymphatiques drainant la région concernée</li> <li>- <u>forme atypique sévère</u> : fièvre, malaise, fatigue, myalgies, arthralgies avec ou sans adénopathie ,parfois éruption cutanée, amaigrissement, lésions osseuses et hépatosplénomégalie</li> </ul>
<b>ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET PELIOSE HEPATIQUE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- personnes immunodéprimées</li> <li>- contact ou risque de griffure par un chat (<i>B. henselae</i>)</li> <li>- condition de vie défavorable, présence de poux de corps (<i>B. quintana</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>angiomatose</u> : lésions au niveau de la peau (papules, nodules ou verrues), possibilité de douleurs osseuses, d'atteinte des ganglions abdominaux et de l'appareil respiratoire</li> <li>- <u>péliose hépatique</u> : amaigrissement, fièvre, douleurs abdominales, diarrhée, hépato- et/ou splénomégalie</li> </ul>
<b>BACTERIEMIE CHRONIQUE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- personnes immunodéprimées</li> <li>- personnes immunocompétentes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>personnes immunodéprimées</u> : fièvre, amaigrissement, malaise, fatigue</li> <li>- <u>personnes immunocompétentes</u> : asymptomatique</li> </ul>
<b>ENDOCARDITES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>personnes immunocompétentes</u> (<i>B. henselae</i>, <i>B. quintana</i>, <i>B. elizabethae</i> et <i>B. vinsonii</i>)</li> <li>- <u>personnes immunodéprimées</u> (<i>B. henselae</i> et <i>B. quintana</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- fièvre</li> <li>- souffle cardiaque</li> </ul>

**TABLEAU 4 : PRINCIPAUX CARACTERES EPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUES PERMETTANT LE DIAGNOSTIC DES BARTONELLOSES HUMAINES**

ES	CULTURE SUR GELOSE	EXAMEN HISTOLOGIQUE	RECHERCHE D'ANTICORPS	PCR	BIOCHIMIE SANGUINE	NUMERATION ET FORMULES SANGUINES
<b>FORME AIGUE DE LA MALADIE DE CARRION</b>	Nécessite au moins 10 jours	Frottis sanguin : mise en évidence de bacilles puis de coques dans les globules rouges parasités (colorations de Romanovsky, de Wright ou de Giemsa)	- IFI - ELISA - Western Blot - Hémagglutination	?	Forme sévère : - augmentation de l'alanine aminotransférase - augmentation de la bilirubine	- diminution du nombre de globules rouges - hémocrite faible - leucocytose et réticulocytose - anémie hémolytique, macrocytaire et hypochrome
<b>FORME CHRONIQUE DE LA MALADIE DE CARRION</b>	Non	- images de prolifération néoplasique et prolifération des vaisseaux sanguins - <i>B. bacilliformis</i> mis en évidence par la coloration de Warthin-Starry	Non	?	Non	Non
<b>FIEVRE DES TRANCHEES</b>	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non
<b>MGC</b>	Nécessite quelques jours à 2 à 3 semaines	- lésions non pathognomoniques d'hyperplasie lymphoïde - bacilles mis en évidence par la coloration de Warthin-Starry	IFI : recherche des Ig G et des Ig M, spécificité de 96 % et sensibilité de 84 %	Oui	Non	Non
<b>ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET PELIOSE HEPATIQUE</b>	Possible à partir des lésions mais difficile	- images de prolifération et de néoformation de vaisseaux sanguins - apparition des bartonelles en groupe par la coloration de Warthin-Starry	IFI considérée positive quand le titre en Ig G est supérieur à 1/64	Oui	- augmentation des phosphatases alcalines - éventuellement, augmentation de l'alanine aminotransférase et de la bilirubine	Non
<b>BACTERIEMIES CHRONIQUES</b>	Oui	Non	Oui	Oui	NoN	

# **CHAPITRE I- TRAITEMENT ET PREVENTION** **DES BARTONELLOSES HUMAINES**

## **I- LA MALADIE DE CARRION**

Le traitement de la forme aiguë est basée sur l'emploi d'antibiotiques :

- ✓ le chloramphénicol : 50 mg/kg/j jusqu'à la disparition de la fièvre puis 25 mg/kg/j pendant 10 jours
- ✓ on lui préfère actuellement la ciprofloxacine : 500 mg matin et soir pendant 10 jours (72)
- ✓ d'autres antibiotiques sont également efficaces : la pénicilline, les tétracyclines et l'érythromycine (61).

En cas de coma, on administre de la dexaméthasone au patient à raison de 4 mg, 3 fois par jour pendant 3 à 4 jours, par voie intraveineuse.

Parfois, une transfusion sanguine est nécessaire en cas d'anémie intense.

La forme chronique ne semble pas accessible au traitement antibiotique (61).

## **II- LA FIEVRE DES TRANCHEES**

Le traitement au cours des 2 Guerres Mondiales à partir de tétracycline ou de chloramphénicol donnait de bons résultats (53).

In vitro, *B. quintana* est sensible à (72) :

- ✓ la pénicilline G
- ✓ la méthicilline
- ✓ aux tétracyclines
- ✓ l'ampicilline
- ✓ la céphalotine
- ✓ la gentamycine
- ✓ l'érythromycine
- ✓ la clarithromycine
- ✓ l'azithromycine
- ✓ au chloramphénicol.

Les patients immunocompétents bactériémiques répondent bien au traitement avec une bêta-lactamine suivi par l'utilisation d'érythromycine ou d'azythromycine pendant 3 semaines (4).

### **III- LA MALADIE DES GRIFFES DU CHAT**

Le traitement est mis en place pour les cas graves et pour les individus immunodéprimés mais ne concerne pas les cas de MGC sans complication (53). Les antibiotiques utilisés sont les sulfamides associés au triméthoprim, la ciprofloxacine, la rifampicine ou la gentamicine. Des études récentes, in vivo, ont montré que l'azythromycine diminue le nombre de nœuds lymphatiques touchés. Les aminosides (gentamicine) semblent être les seuls antibiotiques actifs contre la suppuration (53). Par contre, *B. henselae* a montré des résistances vis-à-vis de la rifampicine d'où l'intérêt de tester la sensibilité des bartonelles et de l'utilisation de plusieurs antibiotiques (31).

### **IV- L'ANGIOMATOSE BACILLAIRE ET LA PELIOSE HEPATIQUE**

#### **IV-1- TRAITEMENT**

Les antibiotiques utilisés sont :

- ✓ l'érythromycine très efficace pour le traitement de la péliose hépatique
- ✓ la doxycycline
- ✓ la clarithromycine.

Le traitement doit durer 4 à 8 semaines voire toute la vie pour éviter les rechutes (61).

#### **IV-2- PREVENTION**

La possession d'un chat par une personne immunodéprimée est déconseillée sur le plan médical mais est importante sur le plan psychologique. Ainsi, l'état de santé du chat doit être contrôlé (la sérologie ne donne cependant pas d'information sur la bactériémie). Il est

conseillé, pour les personnes immunodéprimées, d'adopter un chat provenant d'une chatterie indemne d'infection, de préférence adulte et indemne de puces. Lors de griffure ou de morsure, la plaie doit être correctement nettoyée et désinfectée. L'utilisation de pulicide doit être régulière pour contrôler l'infection et la contamination du chat (25).

## **V- LES BACTERIEMIES CHRONIQUES**

Les antibiotiques choisis sont la ceftriaxone, l'azithromycine ou l'érythromycine pendant 4 semaines (53).

## **VI- LES ENDOCARDITES**

Le traitement médical est basé sur l'association d'antibiotiques :

- ✓ gentamycine et une tétracycline pendant au moins 2 semaines
- ✓ gentamycine et un macrolide tel que l'érythromycine ou une fluoroquinolone telle que la ciprofloxacine pendant au moins 4 semaines.

Le traitement chirurgical consiste à remplacer la valve lésée (10).



Rapport Gratuit.com

# PARTIE

# EXPERIMENTALE



# **CHAPITRE A- MATERIEL ET METHODES**

L'objectif de notre étude est d'étudier la biologie de l'infection des bovins par *B. bovis* dans le département du Pas-de-Calais. Cette étude comportait à l'origine 3 étapes :

- ✓ d'une part déterminer le nombre d'animaux porteurs de *B. bovis* dans le département du Pas-de-Calais ainsi que les différents types de *B. bovis* présents dans ce département
- ✓ d'autre part déterminer le profil sérologique de ces animaux grâce à 2 techniques : l'IFI et l'ELISA
- ✓ enfin déterminer l'éventuelle implication des tiques en tant que vecteurs de *B. bovis*.

## **I- ANIMAUX INCLUS DANS L'ETUDE**

Les animaux étudiés sont issus de 14 élevages du Pas-de-Calais (cf. tableau 6). Ces élevages se situent dans le nord du département (cf. annexe 1).

Les animaux étudiés font partie des animaux soumis à la prophylaxie pendant la période du mois de décembre 2001 au mois de février 2002 sauf pour les élevages G (recherche de paratuberculose) et I (recherche d'infectés permanents immunotolérants dans le cadre de la maladie des muqueuses).

Les animaux ont été prélevés au hasard dans chaque élevage et tous les animaux d'un même élevage n'ont donc pas été étudiés.

Le nombre total d'animaux s'élève à 239.

ELEVAGE	LOCALISATION	NOMBRE D'ANIMAUX ETUDIÉS
A	Réty	35
B	Sangatte	11
C	Bazinghen	11
D	Bazinghen	10
E	Wissant	17
F	Saint-Inglevert	16
G	Lottinghen	16
H	Brunembert	15
I	Brunembert	15
J	Brunembert	15
K	Longfossé	16
L	Carly	15
M	Henneveux	15
N	Nielles-lès-Bléquin	32

**TABLEAU 6 : REPARTITION DES ANIMAUX ETUDIÉS PAR ELEVAGE ET LOCALISATION GEOGRAPHIQUE**

## **II- TECHNIQUES EMPLOYEES**

### **II-1- RECUEIL DES ECHANTILLONS**

Le prélèvement sanguin a été effectué au niveau de la veine caudale après nettoyage de la queue, passage d'alcool à 70° et application d'une solution désinfectante iodée (Vétédine solution<sup>ND</sup>) sur la zone de ponction. Le sang a été recueilli sur 2 tubes : un tube sec et un tube EDTA, le bouchon de ce dernier ayant été préalablement nettoyé à l'alcool à 70°. Le tube sec était rempli en premier pour éviter que les contaminants résiduels ne pénètrent dans le tube EDTA. En effet, ce dernier sert à l'étude de la bactériémie tandis que le tube sec permet les analyses sérologiques (IFI et ELISA).

Les tubes EDTA ont été ensuite conservés à une température de +4°C pendant 12 heures au maximum avant congélation à une température de -80°C de façon à les conserver jusqu'à leur exploitation. Une fois le sérum et le culot séparés dans le tube sec, le sérum est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 5 minutes puis séparé des cellules et congelé à -80°C jusqu'à son utilisation.

## **II-2- BACTERIOLOGIE**

### **II-2-1- PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE**

Les géloses utilisées sont soit des géloses au sang de mouton achetées dans le commerce soit des géloses au sang de lapin préparées sur place.

Le milieu de culture au sang de lapin a comme support une gélose BHI (Brain Heart Infusion) (Difco, Detroit, Michigan, USA). Cette gélose est diluée dans de l'eau stérile à la concentration de 52 g/L. Cette solution est répartie dans des flacons de 500 mL, ensuite stérilisés puis placés au bain-marie à 49°C. Quand la température atteint 49°C, on ajoute 25 mL de sang de lapin dans chaque flacon. Le mélange est ensuite réparti dans des boîtes de Pétri (1 litre permet de fabriquer environ 40 géloses). Ces boîtes sont mises à l'étuve pendant 24 heures puis laissées à température ambiante pendant 24 heures. Leur utilisation doit être rapide pour permettre l'isolement des bartonelles (une semaine au maximum). Par contre, on peut les conserver jusqu'à un mois pour les repiquages.

### **II-2-2- METHODE**

La congélation permet de conserver les tubes EDTA jusqu'à leur exploitation. D'autre part, la décongélation permet la lyse des globules rouges et donc la libération des bartonelles. Elle a été effectuée à température ambiante pendant une heure. Les tubes EDTA ont ensuite été centrifugés pendant 75 minutes à 4500 tours par minute (1800 g). Le volume de sang a alors été mesuré et noté pour chaque tube. Ensuite, le travail s'est effectué sous hotte stérile pour éviter toute contamination. Le surnageant a été retiré à l'aide d'une pipette et on a ajouté 250 µL de milieu RPMI 1640 medium (Gibco Life Technologies), milieu préalablement filtré pour assurer sa stérilisation. Ce milieu est favorable au développement cellulaire. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'une pipette puis 250 µL du mélange obtenu ont été répartis et étalés sur 1 gélose au sang de lapin ou sur 2 géloses au sang : soit 2 géloses au sang de lapin soit une gélose au sang de mouton et une seule gélose au sang de lapin.

Les boîtes ont été ensuite transférées dans un incubateur (Sanyo) à 35°C dans une atmosphère à 5% de CO<sub>2</sub>. La première lecture des géloses a été effectuée dans les 48 heures pour vérifier l'absence de contaminants puis chaque semaine pendant un mois (temps nécessaire pour obtenir un résultat définitif).

La numération des colonies a été réalisée sur chaque gélose lorsque c'était possible. Le nombre de bactéries a été ramené à 5 mL.

## **II-3- SEROLOGIE**

### **II-3-1- IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE**

#### **II-3-1-1- TECHNIQUE DE FABRICATION DES LAMES D'IMMUNOFLUORESCENCE**

Les lames ont été fabriquées au laboratoire d'immunologie-microbiologie de l'ENVA, à partir de cellules Vero (cellules épithéliales de rein de singe gris d'Afrique) ou de cellules FCWF (*Felis Catus Whole cells*) (cellules macrophages-like dérivées de fœtus de chat). Nous n'avons pas effectué ce travail car les lames étaient déjà disponibles.

#### **II-3-1-1-1- CULTURE DES CELLULES**

Le milieu de culture utilisé est le suivant :

- ✓ MEM (Milieu de Eagle modifié par Dulbecco) pour les cellules Vero et MEM alpha pour les cellules FCWF
- ✓ 10% de sérum de veau fœtal
- ✓ 1% de glutamine à 2 mmol/mL
- ✓ 1% d'antibiotique (pénicilline à 100 U/mL et streptomycine à 100 µg/mL).

#### **II-3-1-1-2- REPIQUAGE DES CELLULES**

Les cellules sont conservées dans de l'azote liquide.

Pour chaque repiquage, 2 flacons de cellules de 25 mL sont placés à l'étuve à CO<sub>2</sub>. L'un des 2 sert pour le repiquage, l'autre est conservé en cas de problèmes rencontrés avec le premier. Les cellules doivent former un tapis au fond de la boîte, ce qui est vérifié au microscope inversé (grossissement ×150). Le milieu de culture est retiré du flacon. 1 mL de trypsine EDTA (0.05% d'EDTA et 0.02% de trypsine dans 1 solution saline) est réparti sur les cellules et retiré aussitôt afin de neutraliser le sérum de veau.

1 mL de trypsine EDTA est de nouveau réparti afin de décoller les cellules du fond de la boîte. La boîte est replacée à l'étuve à 37°C pendant 10 minutes. Les cellules sont décollées en tapotant sur la boîte. La suspension des cellules est vérifiée au microscope inversé (grossissement  $\times 150$ ). Si ce n'est pas le cas, l'opération est renouvelée. Quand toutes les cellules sont décollées, la boîte est placée à l'étuve à 37°C et à 5% de CO<sub>2</sub> pendant 3 jours après avoir rajouté du milieu de culture neuf. Cette étape peut être réalisée avec des flacons de 75 mL.

Les cellules Vero et FCWF poussent en formant une monocouche adhérente. Une fois par semaine, elles sont décollées en ajoutant 1 mL de trypsine EDTA pour 1 flacon de 25 mL et 2 mL pour 1 flacon de 75 mL.

### **II-3-1-1-3- PREPARATION DE L'ANTIGENE**

Les espèces utilisées sont *B. bovis* et Bartonelle bovine types II et III.

Une anse de platine de bactéries cultivées sur gélose au sang est prélevée et est placée dans 2 mL de milieu de culture cellulaire. La suspension bactérienne est placée dans 1 des 2 fioles de 75 mL, qui est mise à l'étuve à 5% de CO<sub>2</sub> pendant 72 heures. Les 2 fioles (normale et infectée) sont trypsinées. Elles sont mélangées et 20 mL de milieu cellulaire est ajouté. Les cellules sont dénombrées sur lame de Malassez et ajustées à 10<sup>5</sup> cellules/mL. 40  $\mu$ L de la suspension cellulaire sont déposés dans chaque puits des lames d'immunofluorescence. Ces lames sont placées à l'étuve à 5% de CO<sub>2</sub> dans de grandes boîtes de Pétri fermées pendant 16 à 24 heures. Elles sont lavées avec du PBS, fixées à l'acétone à froid (20 minutes) puis séchées. Elles sont conservées au congélateur (-20°C) jusqu'à leur utilisation.

### **II-3-1-2- TECHNIQUE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE**

#### **II-3-1-2-1- EQUIPEMENT**

- ✓ Sérums à tester, décongelés le matin de l'analyse
- ✓ Plaque de 96 puits
- ✓ Agitateur magnétique
- ✓ Porte-lames
- ✓ Pipettes multicanaux (20  $\mu$ L et 200  $\mu$ L)

- ✓ Cônes jaunes
- ✓ Tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7.2 : il est composé de 7.650 g de chlorure de sodium, de 0.724 g de phosphate disodique et de 0.210 g de phosphate monopotassique. Il se présente sous forme de cristaux à dissoudre dans un litre d'eau distillée sous agitateur magnétique. Le pH légèrement alcalin permet une fluorescence maximale des globulines marquées à l'isothiocyanate de fluorescéine.
- ✓ Témoin positif (sérum de mouton hyperimmunisé à *B. bovis* type I)
- ✓ Lames 12 puits (figure 6) décongelées le matin de l'analyse et lamelles
- ✓ Chambre humide
- ✓ Etuve à 37°C
- ✓ Pompe à vide
- ✓ Conjugué fluorescent
- ✓ Bleu d'Evans à 1% soit une goutte dans 5 mL de PBS : il est utilisé comme contre-colorant dans les réactions d'immunofluorescence. Il masque les fluorescences non spécifiques en les faisant apparaître rouge sombre et améliore ainsi les contrastes entre les réactions positives et négatives.
- ✓ Milieu de montage (Fluoprep<sup>ND</sup>, laboratoire Biomérieux) : ce gel est composé d'alcool polyvinylique, de glycérine et de tampon tris. Il permet de fixer la lamelle à la lame.
- ✓ Feuille de résultat (figure 6) présentant le numéro des bovins testés, le type de lame utilisée et la date de l'analyse
- ✓ Papier absorbant
- ✓ Microscope à fluorescence (objectif 100 à immersion).

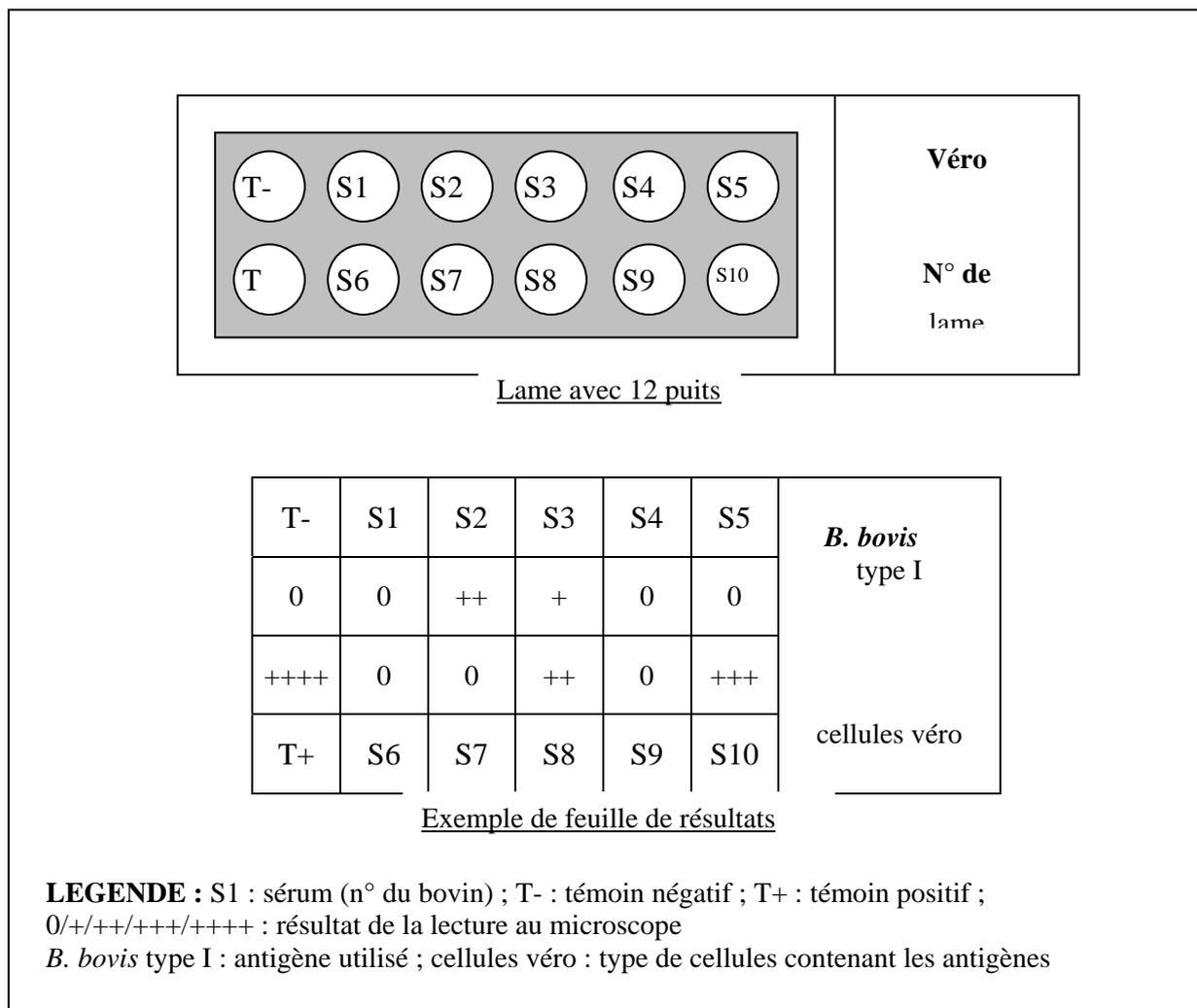
### **II-3-1-2-2- SCREENING DES SERUMS**

- ✓ Dilution des sérums à tester au 1/50 : on a déposé 245 µL de PBS dans les puits de la plaque puis 5 µL de chaque sérum. On a fait de même avec le témoin positif. On a mélangé le contenu de chaque puits avec la pipette multicanaux.
- ✓ Remplissage de la lame : on a déposé 25 µL du mélange sérum-PBS sur chaque puits. On a conservé deux puits pour les témoins positif et négatif (PBS).
- ✓ Incubation : les lames ont été placées en chambre humide et mises à l'étuve à 37°C pendant 20 minutes.
- ✓ Dilution de l'anticorps anti-immunoglobulines G au 1/50 dans le bleu Evans

- ✓ Rinçage des lames : on a aspiré le liquide à l'aide de la pompe à vide, on a lavé les lames dans un porte-lames contenant du PBS sous agitateur magnétique pendant 5 minutes. On a ré-aspiré l'excédent de liquide et on a laissé sécher les lames.
- ✓ Remplissage de la lame : on a déposé 25 µL du mélange anti-immunoglobuline G-bleu Evans sur chaque puits.
- ✓ Incubation (identique à la précédente)
- ✓ Rinçage des lames (identique au précédent)
- ✓ Préparation de la lame pour la lecture au microscope : on a déposé une goutte de Fluoprep<sup>ND</sup> sur chaque puits, on a recouvert la lame d'une lamelle et on a nettoyé l'excédent de Fluoprep<sup>ND</sup> avec du papier absorbant.
- ✓ Lecture au microscope : elle a été réalisée en double aveugle selon un barème prédéfini comme l'indique le tableau 7. Les résultats ont été indiqués sur la feuille de résultats comme l'indique la figure 6.

<b>RESULTAT</b>	<b>SIGNIFICATION</b>
<b>0</b>	Fluorescence non spécifique, puits identique au contrôle négatif
<b>+</b>	Bactéries visibles mais absence de fluorescence
<b>++</b>	Fluorescence modérée dans la plupart des cellules infectées
<b>+++</b>	Fluorescence dans toutes les cellules infectées et hors des cellules
<b>++++</b>	Fluorescence très intense dans et hors des cellules

**TABLEAU 7 : CORRESPONDANCE ENTRE LA FLUORESCENCE OBSERVEE ET LE RESULTAT DONNE**



**FIGURE 6 : EXEMPLE DE LAME D'IFI ET DE LA FEUILLE DE RESULTATS CORRESPONDANTE**

**II-3-1-2-3- TITRAGE**

Tout prélèvement ayant donné un résultat supérieur ou égal à ++ a été titré. Des dilutions successives ont été effectuées comme l'indique le tableau 8.

RESULTAT DU SCREENING	DILUTIONS
++	1/50 et 1/100
+++	1/50, 1/100 et 1/200
++++	1/50, 1/100, 1/200, 1/400 et 1/800

**TABLEAU 8 : DILUTIONS DU SERUM NECESSAIRES EN FONCTION DES RESULTATS DU SCREENING**

Les dilutions successives de raison  $\frac{1}{2}$  ont été effectuées sous un volume de 250  $\mu\text{L}$  (les témoins restent dilués au 1/50). On a déterminé ainsi à quelle dilution le sérum est positif (++ au minimum). Par exemple, un sérum à ++ au 1/50 et + au 1/100 a été considéré comme positif au 1/50.

## **II-3-2- ELISA**

### **II-3-2-1- EQUIPEMENT**

- ✓ Plaque 96 puits (Dynatech Immulon 1B)
- ✓ Antigène *B. bovis* types I et II préparé à partir de cultures de *B. bovis* récoltées en PBS stérile et congelées à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Il s'agit d'un extrait des protéines de membranes externes.
- ✓ Témoin négatif : sérum de bovin négatif
- ✓ Pipettes multicanaux (20  $\mu\text{L}$ )
- ✓ Agitateur magnétique
- ✓ Tampon de dilution des antigènes : on mélange 10.6 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.1M (MW=106) dans 1 L d'eau distillée. On ajuste le pH à 9.6 à l'aide d'HCl ou de NaOH.
- ✓ Tampon de lavage ELISA : on mélange 8.5 g de NaCl et 0.5 mL de Tween 20 dans 1 L d'eau distillée.
- ✓ Tampon de dilution ELISA : on mélange 8.77 g de NaCl 0.15M, 0.34 g d'EDTA 0.001M, 6.05 g de Tris-base 0.05M, 0.5 mL de Tween 20 0.05% et 50 g de poudre de lait. On ajuste le pH à 7.4 à l'aide d'HCl puis on ajoute 1 g de BSA (Bovine Serum Albumin) 0.1%.
- ✓ Tampon acide citrique (0.05M) : on mélange 10.5 g d'acide citrique (monohydrate, MW=210) dans 1 L d'eau distillée.
- ✓ Substrat : pour une plaque, on mélange 50  $\mu\text{L}$  de TMB 10 mg/mL (3,3',5,5', tétraméthylbenzidine SIGMA T-2885) dans du diméthylsulfoxyde (DMSO SIGMA D-8779) avec 50  $\mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{O}_2$  3% et 10 mL d'acide citrique (0.05M, pH 4).
- ✓ Solution d'acide sulfurique : on mélange 30 mL d'acide sulfurique concentré dans 470 mL d'eau distillée.

### **II-3-2-2- TECHNIQUE DE FABRICATION DES PLAQUES ELISA**

- ✓ Sensibilisation des plaques avec l'antigène : on dilue l'antigène (*B.bovis* type I ou type II) dans le tampon de dilution des antigènes au 1/1000. On répartit ce mélange à raison de 100 µL par puits sur la moitié de la plaque (une moitié servant à tester les sérums, l'autre moitié servant de contrôle). Les plaques protégées d'un couvercle sont laissées une nuit à la température ambiante sur un agitateur magnétique.
- ✓ Lavage des plaques : on vide les plaques et on les lave 5 fois avec du tampon de lavage ELISA.
- ✓ Ajout d'albumine bovine à 5 % : on dépose 250 µL d'albumine bovine par puits pour réduire le bruit de fond. Les plaques sont laissées à température ambiante pendant une heure.
- ✓ Lavage des plaques (identique au précédent).
- ✓ Conservation des plaques au congélateur à – 20°C.

### **II-3-2-3- TECHNIQUE DE L'ELISA**

- ✓ En vue de leur utilisation, les plaques ont été sorties du congélateur et laissées à température ambiante pendant 5 minutes.
- ✓ Lavage des plaques : on a vidé les plaques et on les a lavées 1 fois avec du tampon de lavage ELISA.
- ✓ Dilution des sérums (réalisée la veille car elle nécessite beaucoup de temps) : on a dilué les sérums au 1/50 dans le tampon de dilution ELISA.
- ✓ Remplissage de la plaque : on a déposé 100 µL de sérum dilué par puits.
- ✓ Incubation : les plaques ont été placées à l'étuve 1 heure à 37°C.
- ✓ Lavage des plaques : on a vidé les plaques et on les a lavées 5 fois avec du tampon de lavage ELISA.
- ✓ Dilution au 1/1000 du conjugué anti-bovin immunoglobuline G marqué à la peroxydase dans le tampon de dilution ELISA.
- ✓ Remplissage de la plaque : on a déposé 100 µL du conjugué dilué par puits.
- ✓ Incubation : les plaques ont été placées à l'étuve 1 heure à 37°C.
- ✓ Lavage des plaques : on a vidé les plaques et on les a lavées 5 fois avec du tampon de lavage ELISA.

- ✓ Ajout du substrat : on a déposé 100 µL de substrat par puits. 5 minutes ont été nécessaires pour que la réaction se fasse.
- ✓ Arrêt de la réaction : on a déposé 50 µL d'acide sulfurique par puits.
- ✓ Lecture des plaques : elle a été réalisée par un spectrophotomètre (Opsys MR Dynex) à 450 nm en utilisant 570 nm comme longueur d'onde de référence. Il détermine la densité optique pour chaque puits.
- ✓ Résultats : pour chaque sérum, on a effectué la différence de densité optique obtenue pour le sérum avec l'antigène et celle obtenue pour le sérum sans antigène.

## **II-4- PCR ET RFLP (RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM)**

### **II-4-1- EXTRACTION DE L'ADN**

Sous hotte stérile, 500 µL d'eau distillée et bifiltrée ont été prélevés d'un flacon stérilisé. Des colonies de bactéries ont été prélevées sur gélose au sang de lapin à l'aide d'une anse. L'eau et les bactéries ont été mélangées dans une topette sous hotte stérile. Le mélange a ensuite été placé au bain-marie pendant 10 à 15 minutes de façon à lyser les bactéries et à en « extérioriser » l'ADN. Il a alors été centrifugé à 4000 tours/minute pendant 10 minutes. 300 µL du surnageant par prélèvement ont été transférés dans une topette.

### **II-4-2- LA PCR PROPREMENT DITE**

Son principe consiste à produire de multiples réplifications d'un fragment d'ADN à l'aide de 2 amorces de la séquence à amplifier. L'ADN bactérien précédemment obtenu a été mélangé à de l'eau, du tampon, des nucléosides, de l'ADN polymérase et aux amorces 781 BhCS et 1137 BhCS spécifiques du gène codant pour la citrate synthase. La PCR a été effectuée selon plusieurs cycles dont chacun comporte 3 étapes :

- ✓ une étape de dénaturation à 93°C
- ✓ une étape d'hybridation des amorces à 54°C (température inférieure de 5 à 10°C de celle à laquelle 50% des brins d'ADN sont dénaturés)
- ✓ une étape d'élongation à 72°C permettant la polymérisation du brin complémentaire de l'ADN matrice.

Elle s'achève par une étape finale d'élongation à 72°C.

### **II-4-3- MIGRATION SUR GEL D'AGAROSE**

10 µL de produit PCR mélangé à 2 µL de bromophénol ont été déposés sur un gel d'agarose à 2% : 4 g d'agarose ont été mélangés à 200 mL de TBE 0.5X ou 1X et chauffés au micro-ondes pendant 7 minutes à la puissance 4. La migration s'effectue en tampon TBE 0.5X ou 1X (2L/cuve) et sous un champ électrique de 150 V pendant 1 heure. Un marqueur de masse moléculaire 100 pb (paire de bases) a été utilisé : 10 µL de marqueur 100 pb ont été mélangés à 10 µL de bleu de bromophénol et à 80 µL d'eau distillée. 5 µL de ce mélange ont été déposés sur le gel.

### **II-4-4- RFLP**

Cette technique utilise les différences mineures qui existent entre les séquences d'ADN et que l'on peut déceler car elles produisent des polymorphismes de taille des fragments de restriction ou RFLP.

Les enzymes de restriction utilisées pour différencier *B. bovis* type I, *B. bovis* type II et *B. bovis* type III ont été :

- ✓ Mse I pour différencier *B. bovis* type III de *B. bovis* type I et II.
- ✓ Taq I pour différencier *B. bovis* type I et *B. bovis* type II.

Les fragments de chaque échantillon d'amplifié ainsi digéré ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 2% : 20 µL du produit de digestion ont été mélangés à 4 µL de bleu de bromophénol puis ce mélange a été déposé sur le gel. Chaque bande correspond à un fragment de restriction d'ADN d'une certaine longueur. L'analyse de ces fragments a permis ainsi de différencier les 3 types de *B. bovis*.

## **III- RECOLTE DES TIQUES**

Le travail prévu était de mettre en évidence la présence de *B. bovis* par PCR chez les tiques récoltées dans les pâtures. Faute de temps, les PCR n'ont pu être réalisées. Ces analyses seront effectuées ultérieurement.

### **III-1- MATERIEL**

Le matériel utilisé pour la « chasse aux tiques » est constitué de :

- ✓ Un drapeau qui est en fait une vieille serviette de coton blanche fixée sur un manche. L'effilochure de la serviette permet aux tiques de s'y agripper.
- ✓ Des petits tubes remplis d'alcool non dénaturé pour conserver les tiques à raison d'une par tube.
- ✓ Une pince permettant de glisser les tiques dans les tubes.

### **III-2- LES PATURES**

Pour les élevages B, D, E, F, G, I et M, la recherche de tiques n'a eu lieu que dans les pâtures entourant les fermes.

Pour l'élevage K situé à Longfossé, les pâtures dans lesquelles nous avons recherché les tiques sont localisées à Wirwignes.

Pour l'élevage A, deux pâtures ont fait l'objet de recherche :

- ✓ Une à Réty, c'est-à-dire à proximité de la ferme, qui accueille les vaches allaitantes adultes.
- ✓ Une à Ambleuse sur laquelle broutent les génisses.

De même, les pâtures de l'élevage N se situent à deux endroits différents :

- ✓ Une à proximité de la ferme, à Nielles-lès-Bléquin, qui reçoit les vaches laitières.
- ✓ Une à Bléquin occupée par les vaches allaitantes.

### **III-3- METHODE**

Les moments privilégiés pour la recherche des tiques se situent en fin de matinée (à partir de 11 heures) ou en fin d'après-midi (à partir de 16 heures).

La recherche doit bien sûr être la plus exhaustive possible. Cependant, il faut bien insister sur les lisières des pâtures, en particulier les bords délimités par des buissons ou des haies. Dans le cas de pâture en pente, il faut rechercher les tiques préférentiellement du côté le plus bas.

La technique consiste à laisser traîner le drapeau dans les hautes herbes et de regarder tous les 10 mètres environ les deux faces de la serviette. Dans le cas de buisson, on peut les remuer avec le drapeau afin de faciliter la capture des tiques. Chaque tique trouvée est plongée dans l'alcool.

## **CHAPITRE B- RESULTATS**

L'ensemble des résultats ayant permis l'élaboration des différentes figures qui suivent constitue l'annexe 2.

Notre étude a porté sur 239 bovins de 14 élevages du Pas-de-Calais.

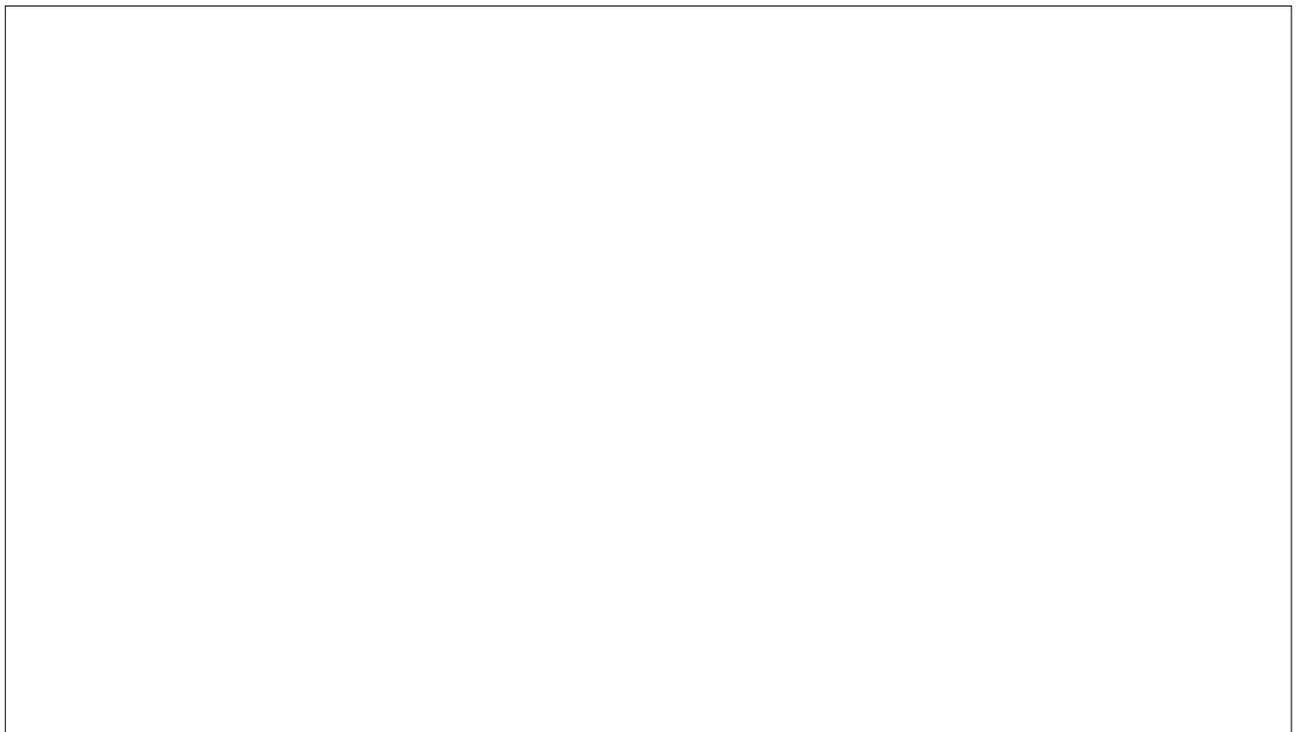
Nous allons dans un premier temps étudier la bactériémie. Puis nous étudierons la sérologie aussi bien pour les résultats obtenus par l'IFI que par l'ELISA. Ensuite, nous comparerons les résultats bactériémiques et sérologiques. Enfin, nous étudierons rapidement la récolte des tiques.

# **I- ETUDE DE LA BACTERIEMIE**

Sur les 239 bovins prélevés, 215 animaux ont été exploitables en ce qui concerne l'étude de la bactériémie. Les résultats non exploitables ont été ceux concernant les animaux dont les tubes ont été cassés à la décongélation et ceux dont les géloses présentaient des contaminants envahissants et qui ont été rapidement jetées (durée de conservation de moins de 5 jours).

## **I-1- PAR ELEVAGE**

Cette étude a porté sur 215 animaux. Les résultats sont présentés dans la figure 7.



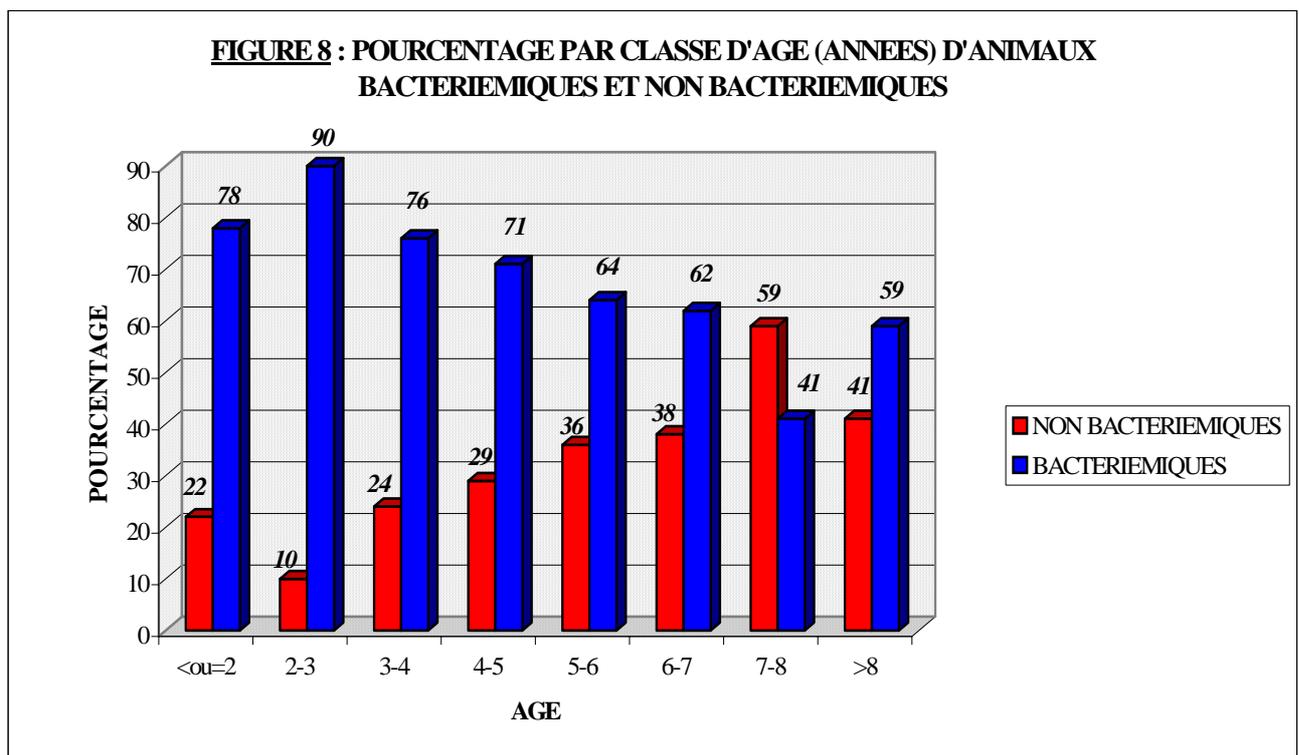
## I-2- PAR CLASSE D'AGE

La classe d'âge 2-3 regroupe les animaux dont l'âge est supérieur à 2 ans et inférieur ou égal à 3 ans. Il en est de même pour les classes d'âge suivantes.

L'âge retenu correspond à celui des animaux au moment du prélèvement. Il varie entre 324 jours et 4398 jours.

### I-2-1- ETUDE QUALITATIVE

Cette étude a porté sur 210 animaux (l'âge de 5 animaux est inconnu) parmi lesquels 27 animaux de moins de 2 ans, 39 animaux de 2 à 3 ans, 33 animaux de 3 à 4 ans, 28 animaux de 4 à 5 ans, 11 animaux de 5 à 6 ans, 26 animaux de 6 à 7 ans, 17 animaux de 7 à 8 ans et 29 animaux de plus de 8 ans.



Pour chaque tranche d'âge (sauf 7-8 ans), le pourcentage d'animaux bactériémiques est supérieur à celui des animaux non bactériémiques (cf. figure 8). De 2 à 8 ans, le pourcentage d'animaux bactériémiques diminue (de 90% à 41%).

## **I-2-2- ETUDE QUANTITATIVE**

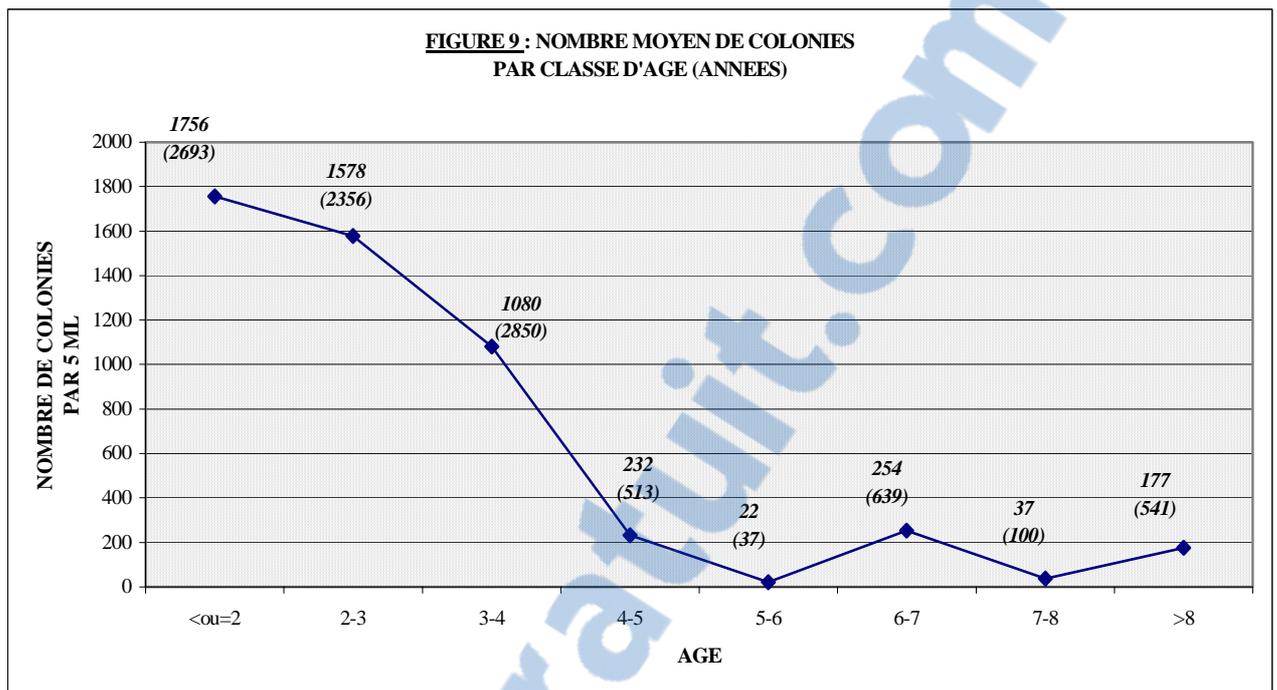
L'ensemencement a été majoritairement réalisé sur 2 géloses : 1 au sang de lapin et 1 au sang de mouton. Nous avons comparé le développement des bartonelles sur ces 2 types de gélose tout d'abord pour les animaux dont le prélèvement a été ensemencé sur 1 gélose au sang de lapin et 1 gélose au sang de mouton. Nous avons obtenu une moyenne de 209 colonies par gélose au sang de lapin et 69 colonies par gélose au sang de mouton. Un test de l'écart-réduit avec un risque de 5% nous a indiqué que la différence est significative ( $\varepsilon=2.85$ ). Nous avons ensuite comparé toutes les géloses au sang de lapin avec celles au sang de mouton. Les moyennes obtenues ont été 227 par gélose au sang de lapin et toujours 69 par gélose au sang de mouton. Là encore, le test de l'écart-réduit avec le même risque a indiqué que la différence est significative ( $\varepsilon=4.09$ ). Ainsi les bartonelles se développent mieux sur une gélose au sang de lapin. C'est pourquoi seules les géloses au sang de lapin ont été utilisées pour déterminer le nombre moyen de colonies/5 mL.

Quand le prélèvement a été étalé sur 1 gélose au sang de lapin, le nombre de colonies obtenues a été retenu. Quand le prélèvement a été étalé sur 2 géloses au sang de lapin, le nombre de colonies de chaque gélose a été additionné. Quand le prélèvement a été étalé sur 1 gélose au sang de lapin et 1 gélose au sang de mouton, le nombre de colonies obtenues sur la première a été multiplié par 2 (chaque prélèvement a été réparti sous un volume identique pour chaque gélose). Cependant, pour 4 animaux, la gélose d'isolement au sang de lapin était inexploitable (contamination) : elles n'ont pu faire l'objet d'une numération.

Nous avons décidé de qualifier de TMTC (Too Much To Count) les géloses présentant un nombre de colonies non comptabilisables à l'œil nu. Nous avons considéré que les géloses TMTC présentaient 1500 colonies.

Cette étude a porté sur 206 animaux parmi lesquels 27 animaux de moins de 2 ans, 39 animaux de 2 à 3 ans, 32 animaux de 3 à 4 ans, 27 animaux de 4 à 5 ans, 11 animaux de 5 à 6 ans, 25 animaux de 6 à 7 ans, 17 animaux de 7 à 8 ans et 28 animaux de plus de 8 ans.

Les résultats sont présentés dans la figure 9.

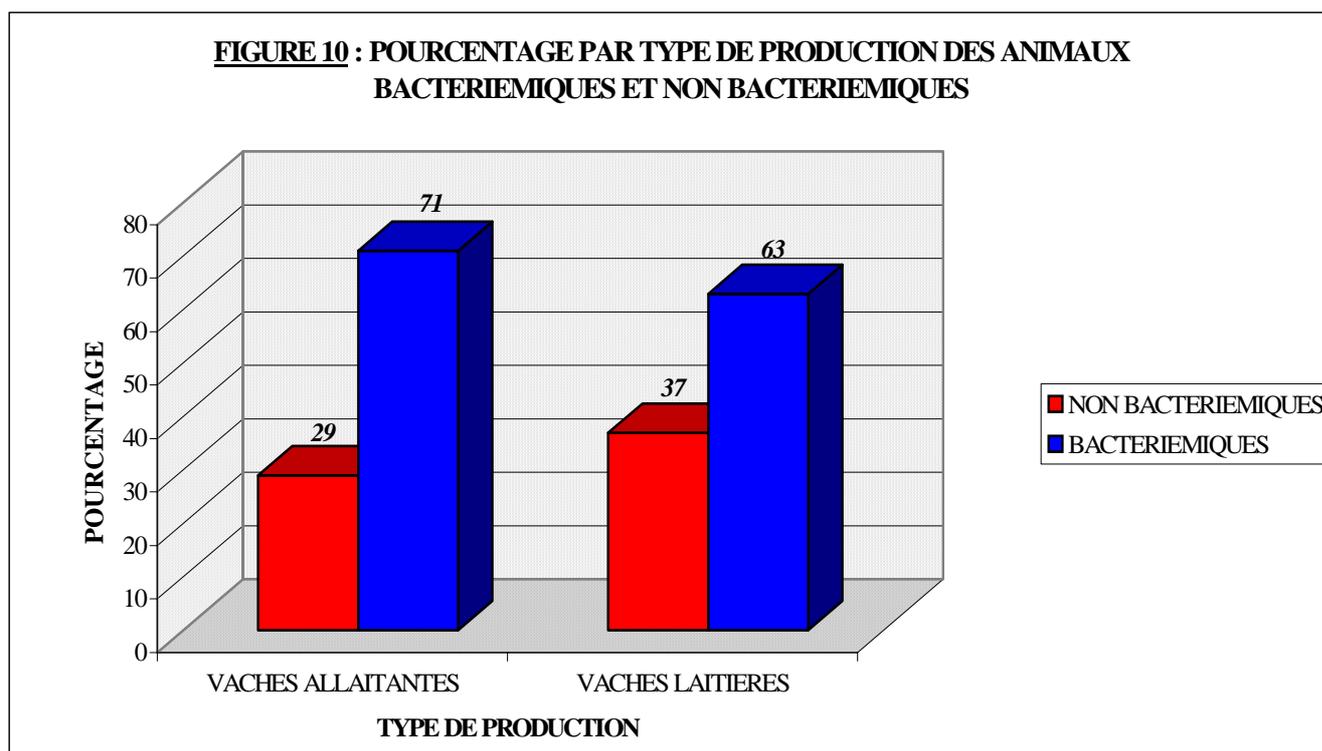


Le nombre affiché entre parenthèses correspond à l'écart type pour chaque classe d'âge. Le nombre de colonies est maximum dans les classes d'âge de 0 à 4 ans (<ou= 2 ans : 1756 colonies/5 mL, 2-3 ans : 1578 colonies/5 mL et 3-4 ans : 1080 colonies/5 mL). Il oscille entre 22 et 254 colonies/5 mL après 4 ans.

### **I-3- PAR TYPE DE PRODUCTION**

Cette étude a porté sur 212 animaux (la race de 3 animaux est inconnue) répartis selon 2 types de production :

- ✓ 30 animaux de race Prim'Holstein pour la production laitière.
- ✓ 182 animaux pour la production allaitante dont 90 vaches de race charolaise, 38 vaches issues de croisement, 18 vaches de race Blonde d'Aquitaine, 15 vaches de race Maine Anjou, 14 vaches de race Blanc Bleu Belge, 2 vaches de race Limousine, 2 vaches de race Montbéliarde, 1 vache de race Salers, 1 vache de race Simmental Française et 1 vache de race Prim'Holstein.



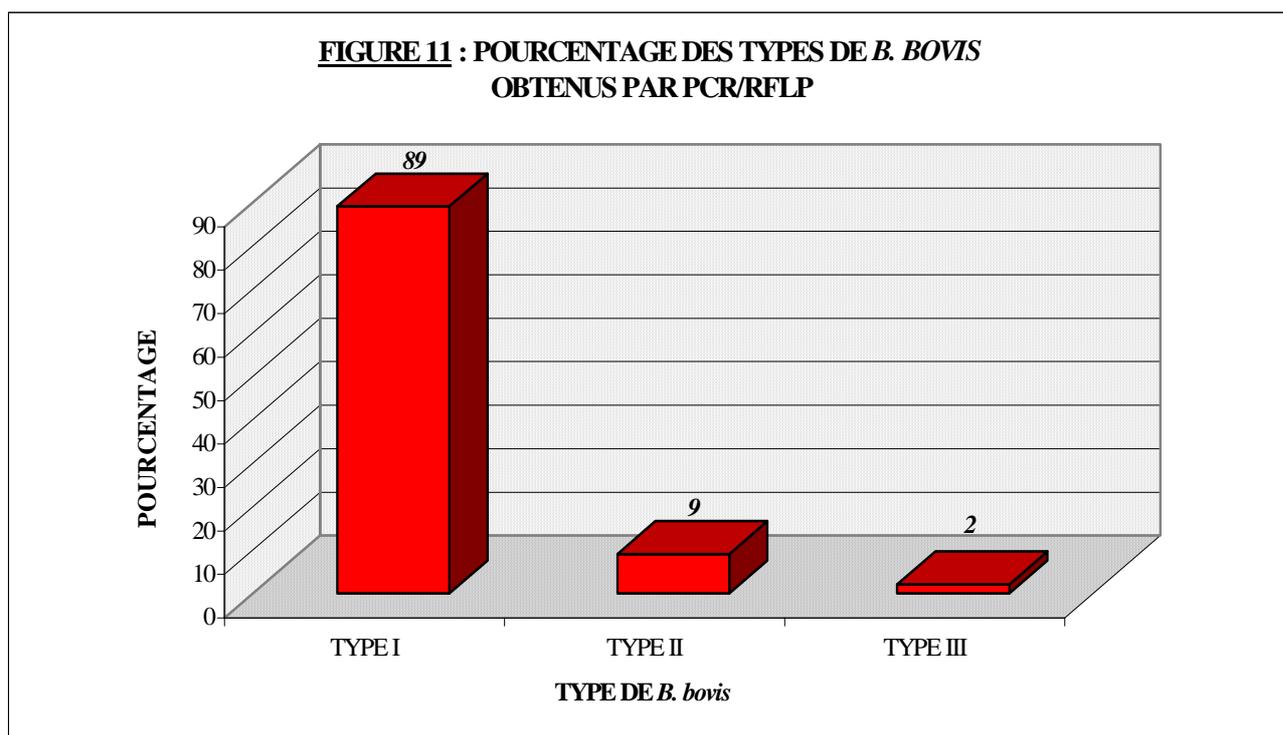
Que ce soit chez les vaches allaitantes ou chez les vaches laitières, le pourcentage d'animaux bactériémiques dépasse largement celui des animaux non bactériémiques (71% contre 29% et 63% contre 37%). Les proportions respectives sont similaires chez les vaches allaitantes et les vaches laitières.

Il n'y a pas de différence significative entre les vaches allaitantes et les vaches laitières d'après le test du chi deux avec un risque de 5% et un degré de liberté=1 ( $\chi^2=0.82$ ).

#### **I-4- TYPAGE DES BARTONELLES PAR PCR/RFLP**

La PCR a été effectuée sur 93 souches isolées de 46 animaux. 83 souches présentent le profil RFLP de *B. bovis* type I, 8 le profil RFLP de *B. bovis* type II et 2 le profil RFLP de *B. bovis* type III. Le type I a été détecté chez 40 animaux, le type II chez 3 et le type III chez 1 animal. 2 animaux présentent une co-infection par les types I et II.

Les résultats sont présentés dans la figure 11.



Les études par PCR/RFLP montrent une prédominance de *B. bovis* type I (89%) et un faible pourcentage de *B. bovis* type II (9%) et de *B. bovis* type III (2%).

## **II- ETUDE DE LA SEROLOGIE**

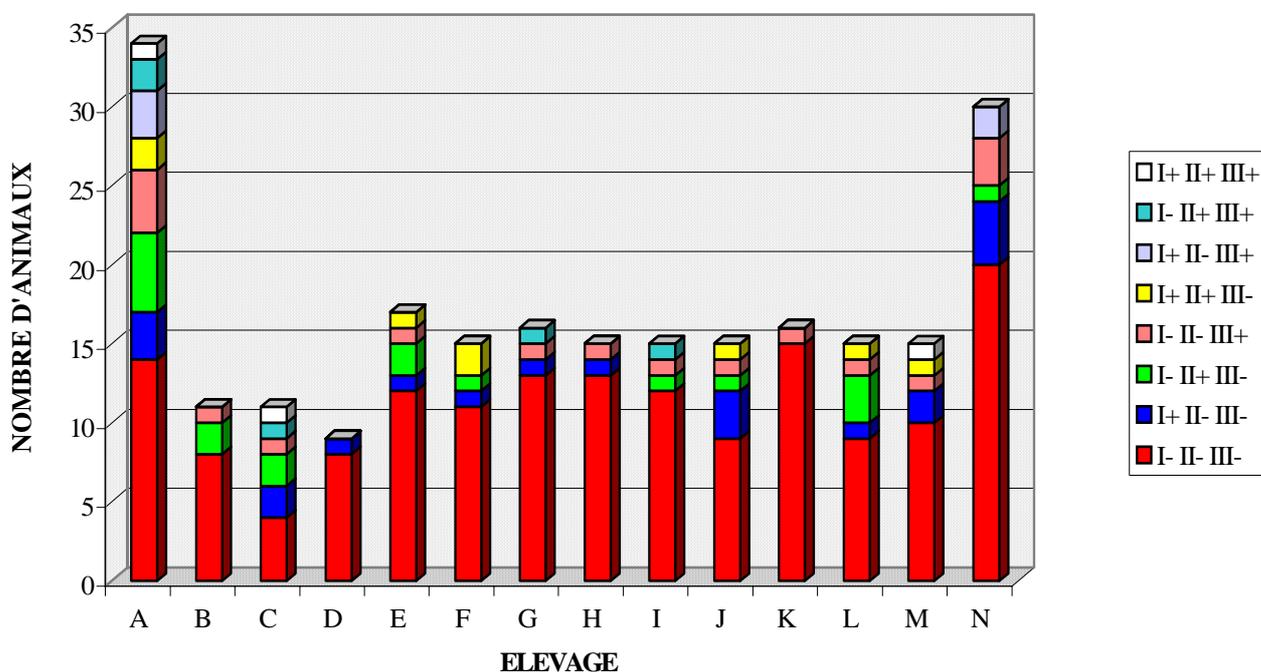
### **II-1- IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE**

Sur les 239 bovins prélevés, 234 animaux ont été exploitables en ce qui concerne l'étude de l'immunofluorescence indirecte (excepté la partie II-1-2-2 consacré aux titres). 5 sérums n'ont pas pu être exploités : les résultats de l'IFI n'étaient pas connus pour les 3 types de *B. bovis*, soit l'analyse n'a pas été effectuée, soit elle n'a pas pu être interprétée (lame non lisible).

#### **II-1-1- PAR ELEVAGE**

Cette étude a porté sur 234 animaux. Les résultats sont présentés dans la figure 12 et le tableau 9.

**FIGURE 12 : REPARTITION PAR ELEVAGE DES ANIMAUX SELON LES RESULTATS SEROLOGIQUES PAR IFI POUR *B. BOVIS* TYPES I, II ET III**



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.
- ✓ III+ (respectivement III-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type III.

ELEVAGES	I- II- III-	I+ II- III-	I- II+ III-	I+ II+ III-	I- II- III+	I+ II- III+	I- II+ III+	I+ II+ III+	POURCENTAGE D'ANIMAUX SEROPOSITIFS
A	14	3	5	4	2	3	2	1	59
B	8	0	2	1	0	0	0	0	27
C	4	2	2	1	0	0	1	1	64
D	8	1	0	0	0	0	0	0	11
E	12	1	2	1	1	0	0	0	29
F	11	1	1	0	2	0	0	0	27
G	13	1	0	1	0	0	1	0	19
H	13	1	0	1	0	0	0	0	13
I	12	0	1	1	0	0	1	0	20
J	9	3	1	1	1	0	0	0	40
K	15	0	0	1	0	0	0	0	6
L	9	1	3	1	1	0	0	0	40
M	10	2	0	1	1	0	0	1	33
N	20	4	1	3	0	2	0	0	33

**TABLEAU 9 : RESULTATS DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE POUR LES ANIMAUX DE CHAQUE ELEVAGE (EN NOMBRE D'ANIMAUX ET EN POURCENTAGE DE SEROPOSITIFS PAR ELEVAGE)**

Tous les élevages sauf A et C présentent plus d'animaux séronégatifs (I-II-III-) que séropositifs (positifs à au moins un type de *B. bovis*). En fonction de l'élevage, les animaux ont des anticorps dirigés contre un seul type de bartonelles (B, D, H et K) ou contre plusieurs types de bartonelles (A, E, F, G, I, J, L, M et N). Seul l'élevage A présente toutes les catégories. Dans l'élevage K, l'animal séropositif a des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type III et dans l'élevage D, l'animal séropositif a des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I. Par contre, les animaux de l'élevage B ont des anticorps dirigés contre *B. bovis* types II et III. Seuls 3 élevages présentent un animal dont les anticorps sont dirigés à la fois contre *B. bovis* types I, II et III (A, C et M).

## **II-1-2- PAR CLASSE D'AGE**

La classe d'âge 2-3 regroupe les animaux dont l'âge est supérieur à 2 ans et inférieur ou égal à 3 ans. Il en est de même pour les classes d'âge suivantes.

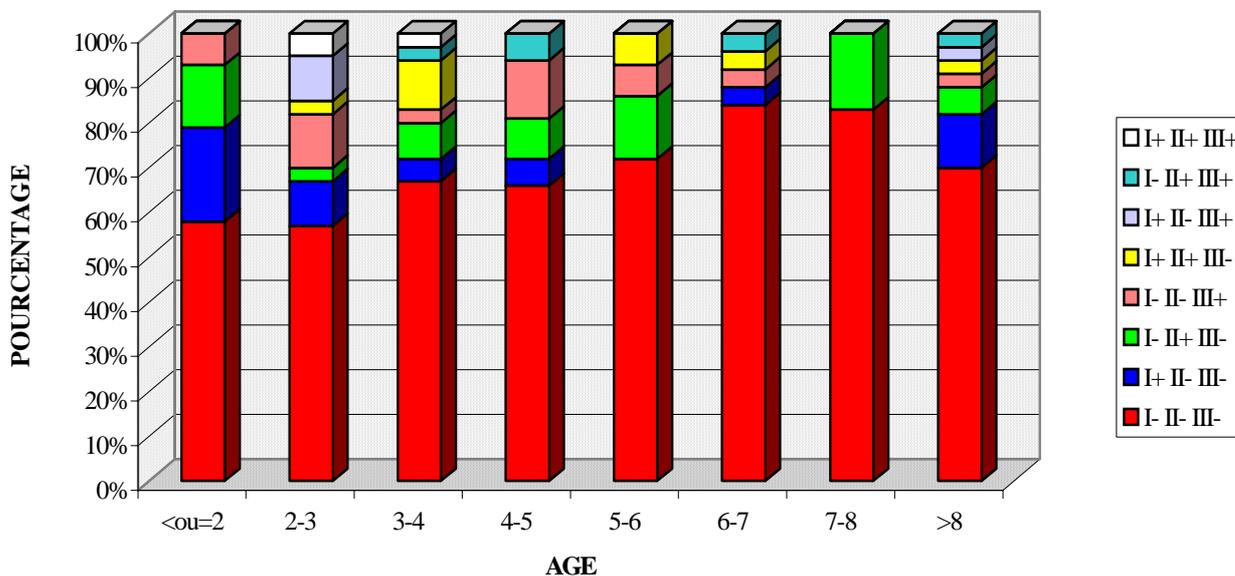
L'âge retenu correspond à celui des animaux au moment du prélèvement. Il varie entre 324 jours et 4398 jours.

### **II-1-2-1- RESULTATS SEROLOGIQUES**

Cette étude a porté sur 230 animaux (l'âge de 4 animaux est inconnu) parmi lesquels 29 animaux de moins de 2 ans, 40 animaux de 2 à 3 ans, 37 animaux de 3 à 4 ans, 32 animaux de 4 à 5 ans, 14 animaux de 5 à 6 ans, 26 animaux de 6 à 7 ans, 18 animaux de 7 à 8 ans et 34 animaux de plus de 8 ans.

Les résultats sont présentés dans la figure 13 et le tableau 10.

**FIGURE 13 : POURCENTAGE PAR CLASSE D'AGE (ANNEES) DES ANIMAUX SELON LES RESULTATS SEROLOGIQUES PAR IFI POUR *B. BOVIS* TYPES I, II ET III**



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.
- ✓ III+ (respectivement III-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type III.

CLASSES D'AGE	I- II- III-	I+ II- III-	I- II+ III-	I- II- III+	I+ II+ III-	I+ II- III+	I- II+ III+	I+ II+ III+
<ou=2	58	21	14	7	0	0	0	0
2-3	57	10	3	12	3	10	0	5
3-4	67	5	8	3	11	0	3	3
4-5	66	6	9	13	0	0	6	0
5-6	72	0	14	7	7	0	0	0
6-7	84	4	0	4	4	0	4	0
7-8	83	0	17	0	0	0	0	0
>8	70	12	6	3	3	3	3	0

**TABLEAU 10 : RESULTATS EN POURCENTAGE D'ANIMAUX SEROPOSITIFS ET SERONEGATIFS EN IFI POUR LES 3 ANTIGENES DANS CHAQUE CLASSE D'AGE**

Quelle que soit la classe d'âge, le pourcentage d'animaux séronégatifs (I-II-III-) est supérieur à celui des animaux séropositifs (positifs à au moins un type de *B. bovis*). Jusqu'à 8 ans, le pourcentage d'animaux séronégatifs augmente (de 58% à 83%). Les animaux de moins de 2 ans n'ont que des anticorps dirigés contre un seul type de *B. bovis*. Les animaux de 7 à 8 ans n'ont que des anticorps dirigés contre *B. bovis* type II. Les classes d'âge 2-3 ans, 3-4 ans

et >8 ans présentent 6 des 8 catégories. Toutes les classes d'âge sauf les classes 5-6 ans et 7-8 ans présentent des animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I. Toutes les classes d'âge sauf la classe 6-7 ans présentent des animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type II. Toutes les classes d'âge sauf la classe 7-8 ans présentent des animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type III. Seules les classes 2-3 ans et 3-4 ans présentent au moins un animal dont les anticorps sont dirigés à la fois contre *B. bovis* types I, II et III.

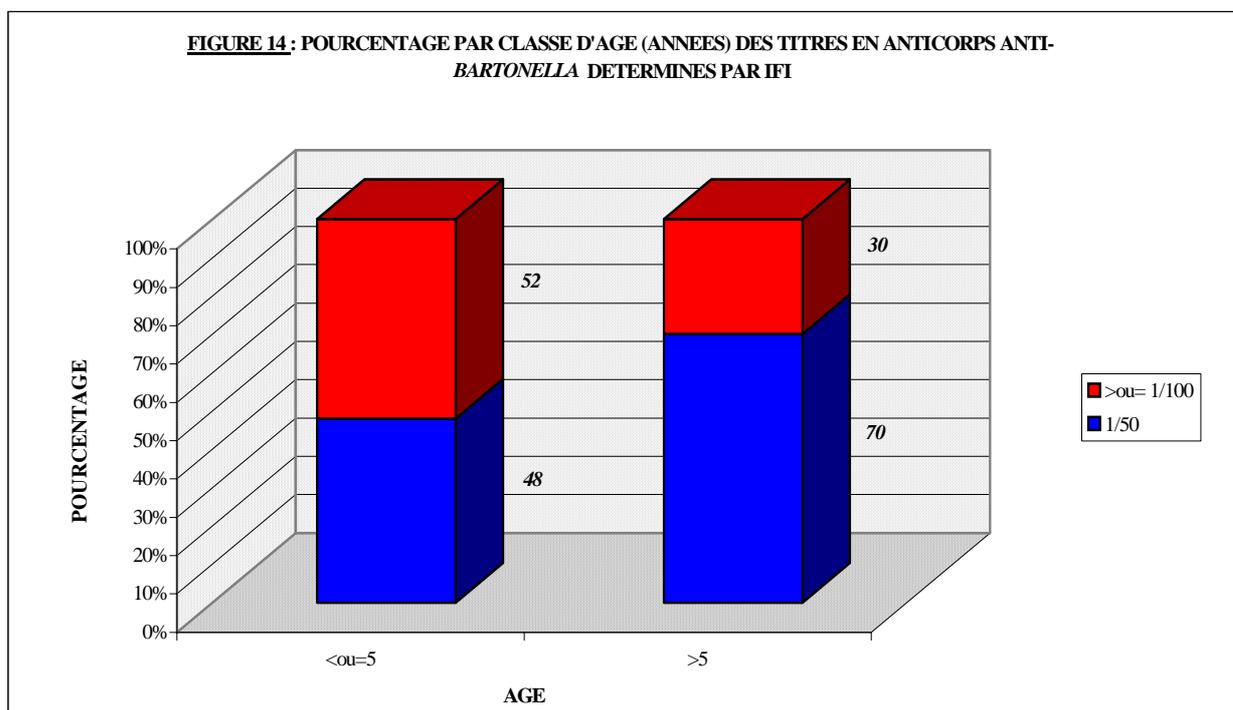
### II-1-2-2- TITRES

74 animaux ont été trouvés séropositifs en screening.

Nous avons obtenu 3 titres en anticorps différents : 1/50 (++) à la dilution 1/50), 1/100 (++) à la dilution 1/100) et 1/200 (++) à la dilution 1/200). Certains sérums n'ont pas été suffisamment dilués (++) à la dernière dilution) : nous les avons qualifiés de « positifs ».

Pour les 2 classes d'âge concernées (inférieur ou égal à 5 ans ou supérieur à 5 ans), nous avons comptabilisé les titres en anticorps au 1/50 quel que soit le type de *B. bovis*. Nous en avons fait de même pour les titres en anticorps au 1/100, 1/200 et les animaux « positifs » et nous les avons regroupés dans la catégorie «  $\geq 1/100$  ».

Nous avons ainsi obtenu 71 résultats chez les 53 animaux de moins de 5 ans (un animal peut être positif à 2 voire aux 3 types de *B. bovis*) et 27 chez les 21 animaux de plus de 5 ans.



Chez les animaux de moins de 5 ans, les pourcentages de résultats 1/50 et de résultats  $\geq 1/100$  sont équivalents (48% contre 52%)(cf. figure 14). Chez les animaux de plus de 5 ans, le pourcentage de résultats 1/50 est très supérieur aux résultats  $\geq 1/100$  (70% contre 30%). A noter que seuls 4 animaux (de moins de 5 ans) présentent des titres en anticorps à 1/200.

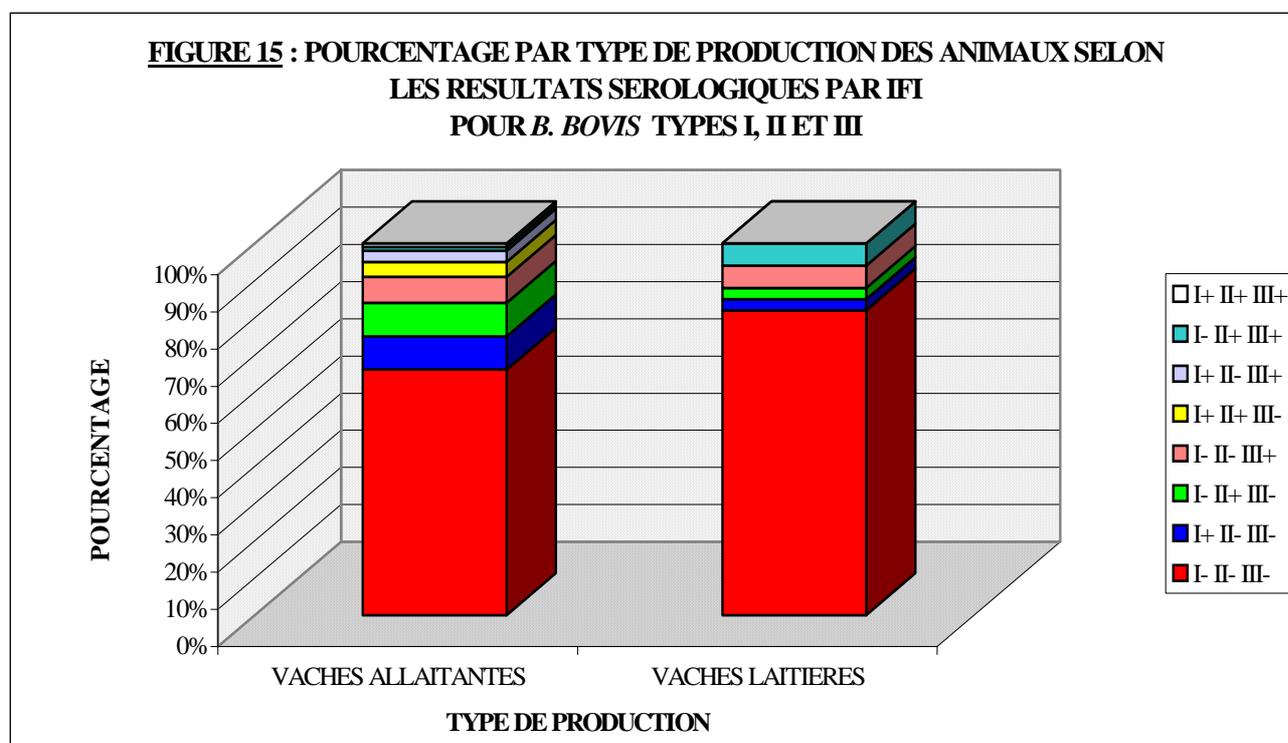
Un test du chi deux avec un risque de 5% montre que la différence observée entre les 2 classes d'âge est significative ( $\chi^2=3.99$ ).

### **II-1-3- PAR TYPE DE PRODUCTION**

Cette étude a porté sur 232 animaux (la race de 2 animaux est inconnue) :

- ✓ 31 animaux de race Prim'Holstein pour la production laitière.
- ✓ 201 animaux pour la production allaitante dont 98 vaches de race charolaise, 43 vaches issues de croisement, 20 vaches de race Blonde d'Aquitaine, 16 vaches de race Maine Anjou, 17 vaches de race Blanc Bleu Belge, 2 vaches de race Limousine, 2 vaches de race Montbéliarde, 1 vache de race Salers, 1 vache de race Simmental Française et 1 vache de race Prim'Holstein.

Les résultats sont présentés dans la figure 15 et le tableau 11.



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.
- ✓ III+ (respectivement III-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type III.

TYPE DE PRODUCTION	I- II- III-			I+ II+ III+			I- II+ III+		
	I- II- III-	I+ II+ III+	I- II+ III+	I- II- III+	I+ II+ III-	I+ II- III+	I- II+ III+	I+ II+ III+	
VACHES ALLAITANTES	66	9	9	7	4	3	1	1	
VACHES LAITIÈRES	82	3	3	6	0	0	6	0	

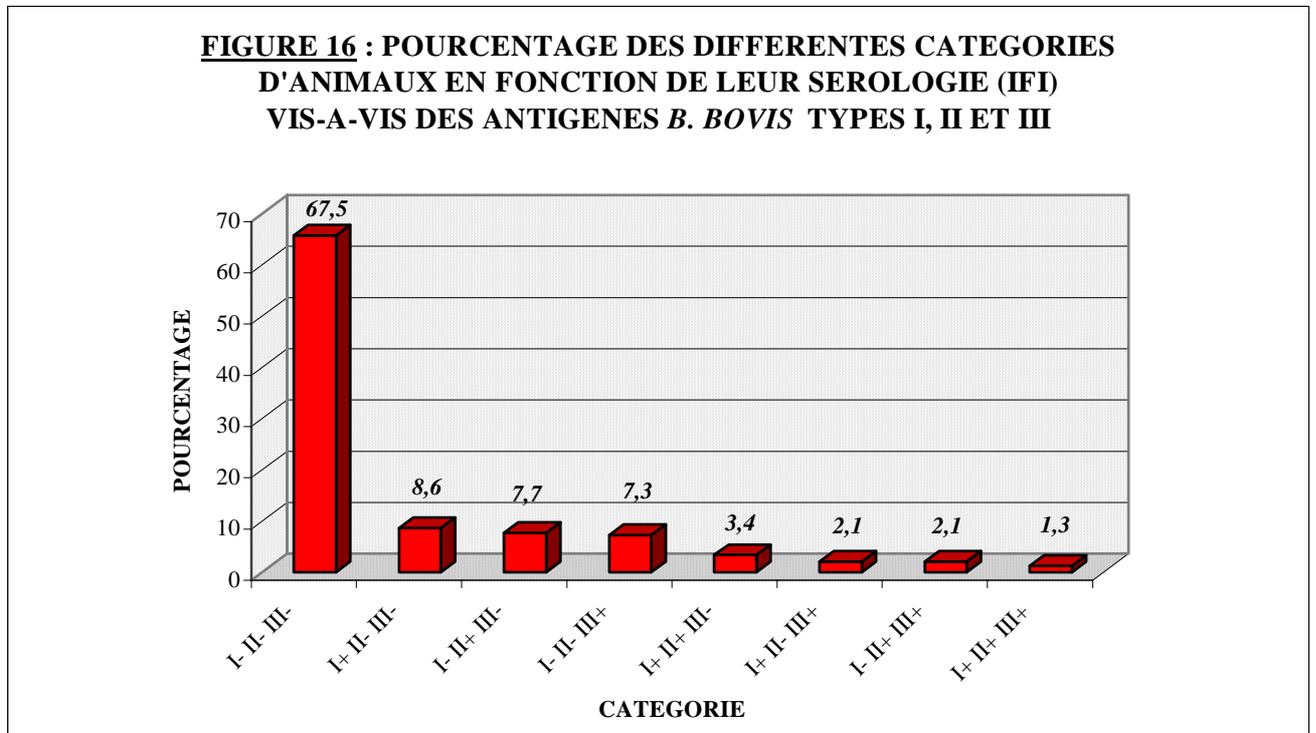
**TABLEAU 11 : RESULTATS EN POURCENTAGE D'ANIMAUX SEROPOSITIFS ET SERONEGATIFS EN IFI POUR LES 3 ANTIGENES DANS LES DEUX TYPES DE PRODUCTION**

Que ce soit chez les vaches allaitantes ou chez les vaches laitières, le pourcentage d'animaux séronégatifs (I-II-III-) est supérieur à celui des animaux séropositifs (positifs à au moins un type de *B. bovis*) : 66% contre 34% et 82% contre 18%. Il est plus important chez les vaches laitières que chez les vaches allaitantes (82% contre 66%). En ce qui concerne les vaches allaitantes, les pourcentages d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I, II ou III sont presque identiques (9% pour les types I et II et 7% pour le type III). Par contre, chez les vaches laitières, les pourcentages d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I ou II sont inférieurs à celui des animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type III (3% pour les types I et II contre 6% pour le type III). Les vaches allaitantes présentent toutes les catégories tandis que les vaches laitières présentent plus d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* types I, II ou III que d'animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre 2 types au moins de *B. bovis* (0% d'animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II, I et III et I, II et III).

Un test du chi deux avec un risque de 5% montre que la différence d'animaux séropositifs et séronégatifs entre les 2 types de production n'est pas significative ( $\chi^2=2.6$ ).

## II-1-4- RESULTATS EN FONCTION DES TYPES ANTIGENIQUES

Cette étude a porté sur 234 animaux. Les résultats sont présentés dans la figure 16.



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.
- ✓ III+ (respectivement III-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type III.

Le pourcentage d'animaux séronégatifs (I- II- III-) représente le double des animaux séropositifs (positifs à au moins un type de *B. bovis*) : 67.5% contre 32.5%. Les pourcentages d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I, II ou III sont équivalents (respectivement 8.6%, 7.7% et 7.3%). De même, les pourcentages d'animaux ayant des anticorps dirigés contre *B. bovis* types I et II, I et III, II et III sont équivalents (respectivement 3.4%, 2.1 % et 2.1%). Enfin, le pourcentage d'animaux ayant des anticorps dirigés contre *B. bovis* types I, II et III n'est que de 1.3%.

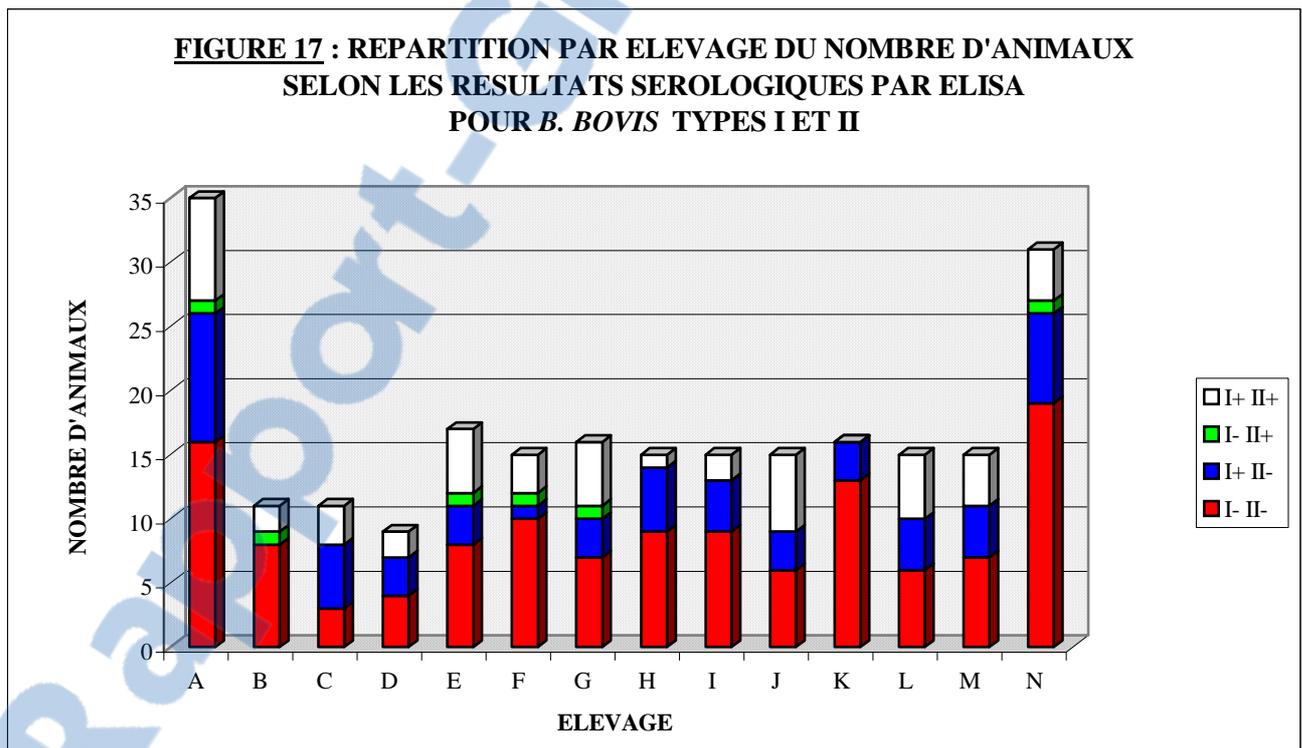
## II-2- ELISA

Le seuil de positivité a été fixé à 0.2 sur des critères propres au laboratoire et provenant de résultats antérieurs portant sur des sérums de bovins et contre les 3 types d'antigènes.

Sur les 239 bovins prélevés, 236 animaux ont été exploitables en ce qui concerne l'étude de l'ELISA : 3 sérums n'ont pas été analysés.

### II-2-1- PAR ELEVAGE

Cette étude a porté sur 236 animaux. Les résultats sont présentés dans la figure 17 et le tableau 12.



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.

ELEVAGE	I- II-	I+ II-	I- II+	I+ II+
A	16	10	1	8
B	8	0	1	2
C	3	5	0	3
D	4	3	0	2
E	8	3	1	5
F	10	1	1	3
G	7	3	1	5
H	9	5	0	1
I	9	4	0	2
J	6	3	0	6
K	13	3	0	0
L	6	4	0	5
M	7	4	0	4
N	19	7	1	4

**TABLEAU 12 : NOMBRE D'ANIMAUX EN FONCTION DES RESULTATS DE L'ELISA POUR CHAQUE ELEVAGE**

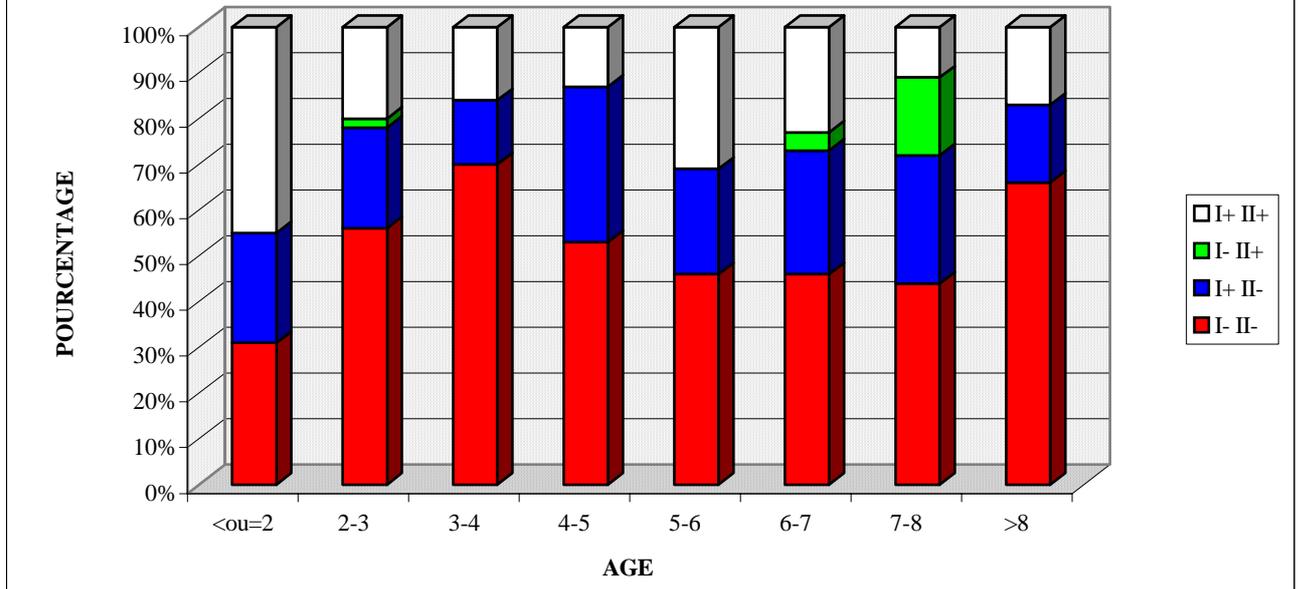
Le nombre d'animaux séropositifs (positifs à au moins 1 type de *B. bovis*) est supérieur à celui des animaux séronégatifs (I- II-) pour 8 élevages (A, C, D, E, G, J, L et M). Tous les élevages sauf B présentent des animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I. Tous les élevages sauf K présentent des animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II. Par contre, les animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type II sont rares (1 animal par élevage pour les élevages A, B, E, F, G et N). Tous les élevages sauf K présentent plus d'animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II que d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type II.

### **II-2-2- PAR CLASSE D'AGE**

Cette étude a porté sur 231 animaux (l'âge de 5 animaux est inconnu) parmi lesquels 29 animaux de moins de 2 ans, 41 animaux de 2 à 3 ans, 37 animaux de 3 à 4 ans, 32 animaux de 4 à 5 ans, 13 animaux de 5 à 6 ans, 26 animaux de 6 à 7 ans, 18 animaux de 7 à 8 ans et 35 animaux de plus de 8 ans.

Les résultats sont présentés dans la figure 18 et le tableau 13.

**FIGURE 18 : POURCENTAGE PAR CLASSE D'AGE (ANNEES) DES ANIMAUX SELON LES RESULTATS SEROLOGIQUES PAR ELISA POUR *B. BOVIS* TYPES I ET II**



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.

CLASSE D'AGE	I- II-	I+ II-	I- II+	I+ II+
<ou=2	31	24	0	45
2-3	56	22	2	20
3-4	70	14	0	16
4-5	53	34	0	13
5-6	46	23	0	31
6-7	46	27	4	23
7-8	44	28	17	11
>8	66	17	0	17

**TABLEAU 13 : POURCENTAGE D'ANIMAUX SELON LES RESULTATS DE L'ELISA POUR CHAQUE CLASSE D'AGE**

Le pourcentage d'animaux séronégatifs (I- II-) augmente jusqu'à 4 ans (de 31% à 70%) puis diminue jusqu'à 8 ans (de 70% à 44%) et atteint une valeur de 66% chez les animaux de plus de 8 ans. Le pourcentage d'animaux séropositifs (positifs à au moins 1 type de *B. bovis*) est supérieur à celui des animaux séronégatifs chez les animaux de moins de 2 ans et chez ceux âgés de 5 à 8 ans. Le contraire est observé pour les animaux âgés de 2 à 5 ans et ceux qui ont plus de 8 ans. Toutes les classes d'âge présentent des animaux ayant des

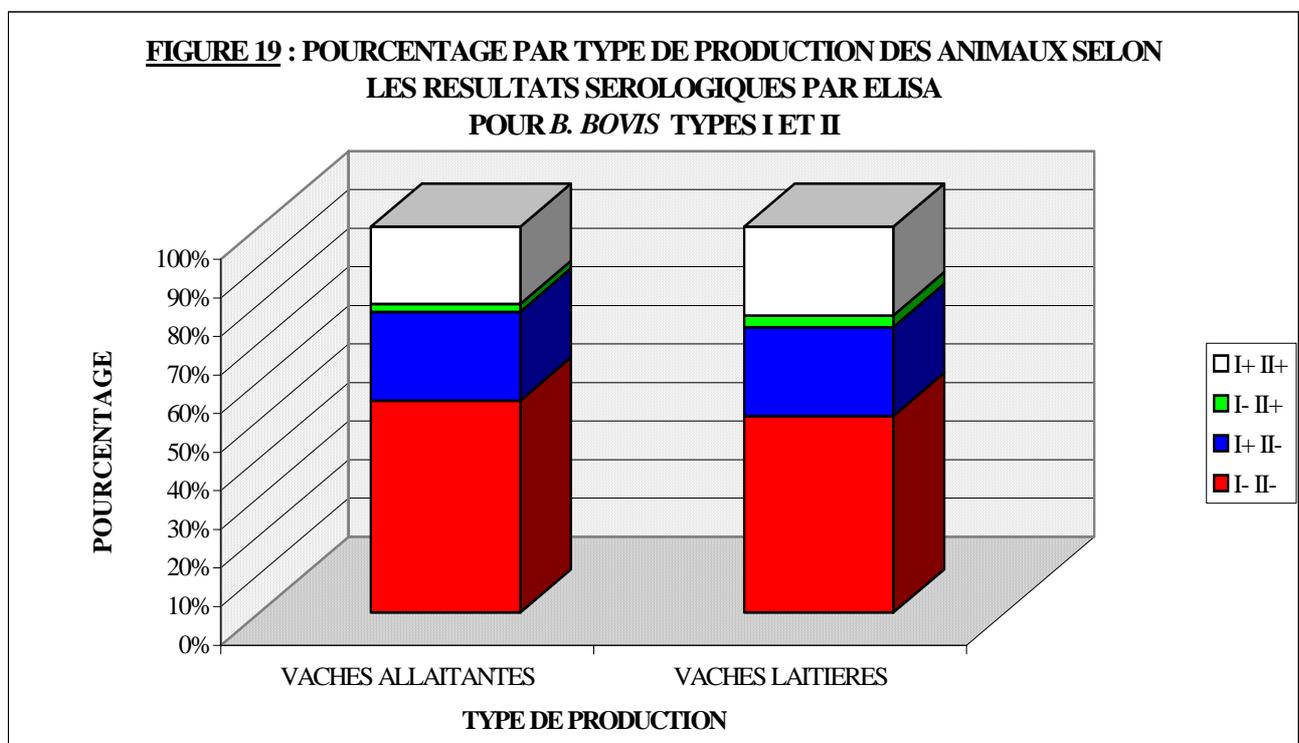
anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I et des animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II. On remarque que le pourcentage des animaux de moins de 2 ans ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II (45%) est supérieur aux autres. Seules 3 classes d'âge (2-3 ans, 6-7 ans et 7-8 ans) présentent des animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type II avec une valeur remarquable (17%) chez les animaux âgés de 7 à 8 ans.

### **II-2-3- PAR TYPE DE PRODUCTION**

Cette étude a porté sur 233 animaux (la race de 3 animaux est inconnue) :

- ✓ 31 animaux de race Prim'Holstein pour la production laitière.
- ✓ 202 animaux pour la production allaitante dont 100 vaches de race charolaise, 43 vaches issues de croisement, 19 vaches de race Blonde d'Aquitaine, 16 vaches de race Maine Anjou, 17 vaches de race Blanc Bleu Belge, 2 vaches de race Limousine, 2 vaches de race Montbéliarde, 1 vache de race Salers, 1 vache de race Simmental Française et 1 vache de race Prim'Holstein.

Les résultats sont présentés dans la figure 19 et le tableau 14.



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est

✓

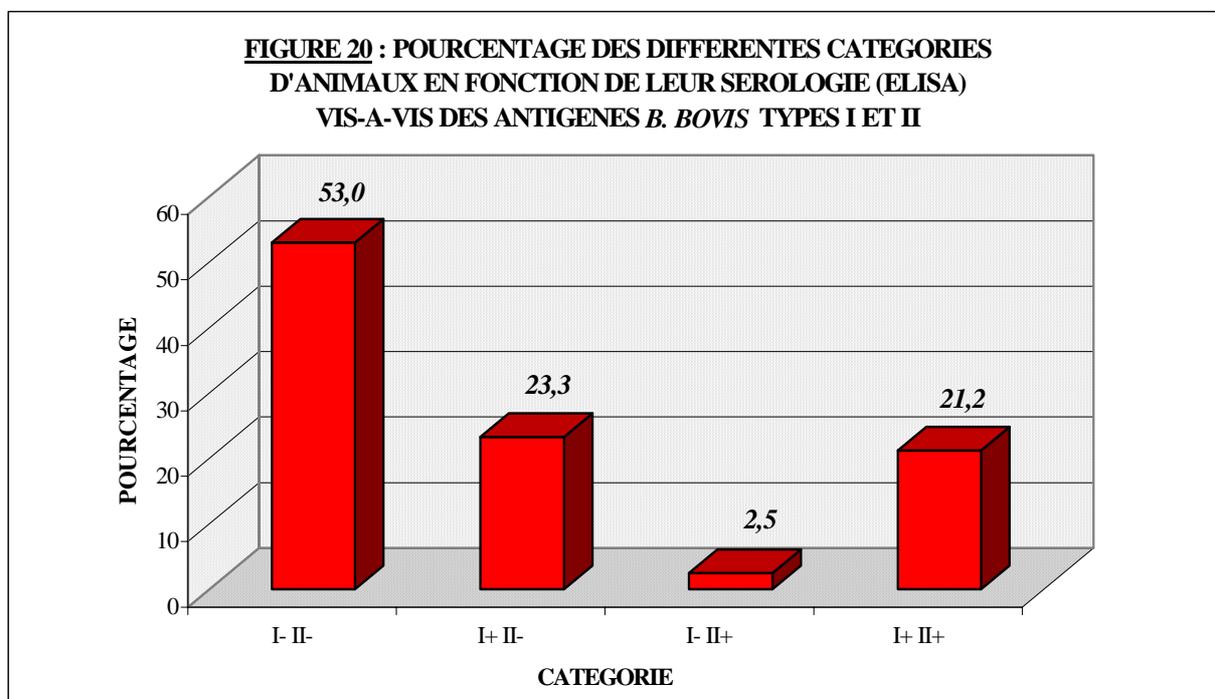
TYPE RACIAL	I- II-	I+ II-	I- II+	I+ II+
VACHES ALLAITANTES	55	23	2	20
VACHES LAITIÈRES	51	23	3	23

**TABLEAU 14 : POURCENTAGE D'ANIMAUX SELON LES RESULTATS DE L'ELISA PAR TYPE DE PRODUCTION**

Aussi bien pour les vaches allaitantes que pour les vaches laitières, le pourcentage d'animaux séronégatifs (I- II-) (respectivement 55% et 51%) équivaut à celui des animaux séropositifs (positifs à au moins 1 type de *B. bovis*) (respectivement 45% et 49%). Pour les vaches allaitantes et les vaches laitières, les pourcentages d'animaux séronégatifs, d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I (23%), d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type II (2% et 3%) et d'animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II (20% et 23%) sont similaires.

#### **II-2-4- RESULTATS EN FONCTION DES TYPES ANTIGENIQUES**

Cette étude a porté sur 236 animaux. Les résultats sont présentés dans la figure 20.

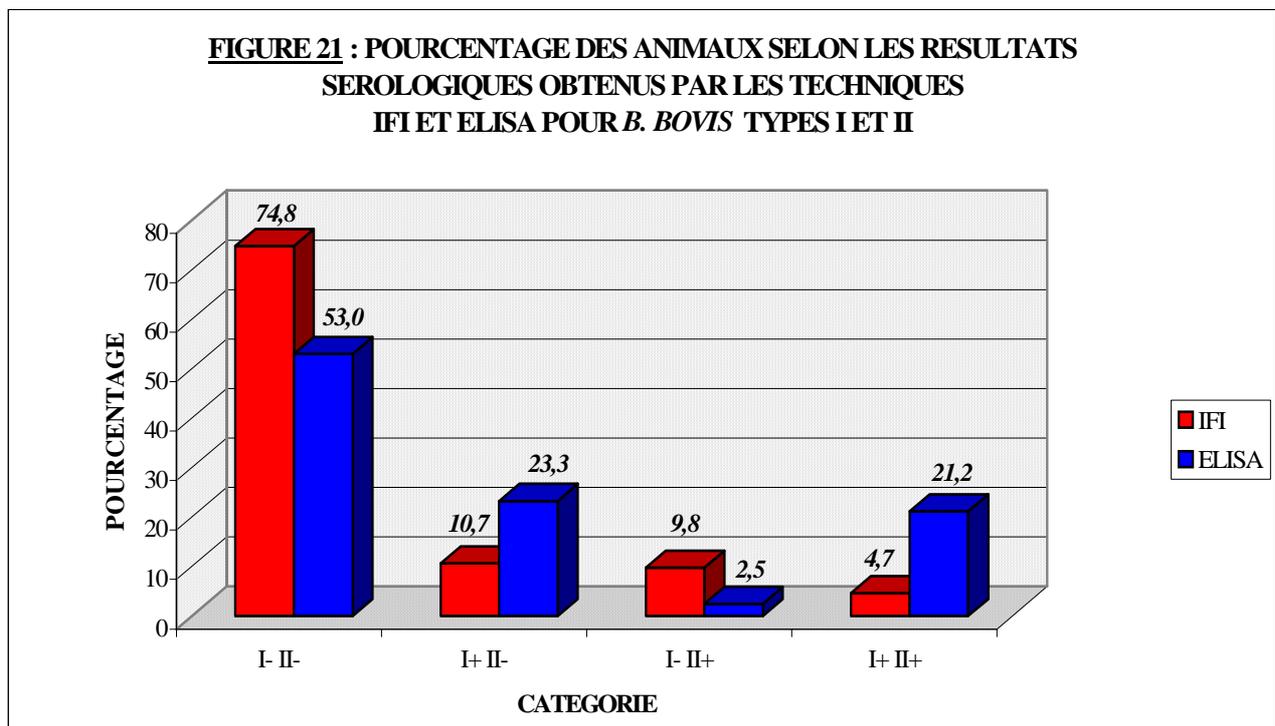


- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.

Le pourcentage d'animaux séronégatifs (I- II-) (53.0%) est légèrement supérieur à celui des animaux séropositifs (positifs à au moins 1 type de *B. bovis*)(47.0%). Le pourcentage d'animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type II est 2.5%. Il est similaire pour les animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I (23.3%) et ceux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II associés (21.2%).

### **III- COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS PAR L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET PAR ELISA**

La comparaison (figure 21) a porté sur les résultats obtenus avec les 2 techniques pour les antigènes *B. bovis* types I et II : les 234 sérums testés par IFI ont été comparés aux 236 sérums testés par ELISA.



- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
- ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.

Le pourcentage d'animaux séronégatifs (I- II-) obtenu par la méthode de l'IFI (74.8%) est supérieur à celui obtenu par la méthode ELISA (53.0%). Le test du chi deux avec un risque de 5% montre que cette différence est significative ( $\chi^2=24.2$ ).

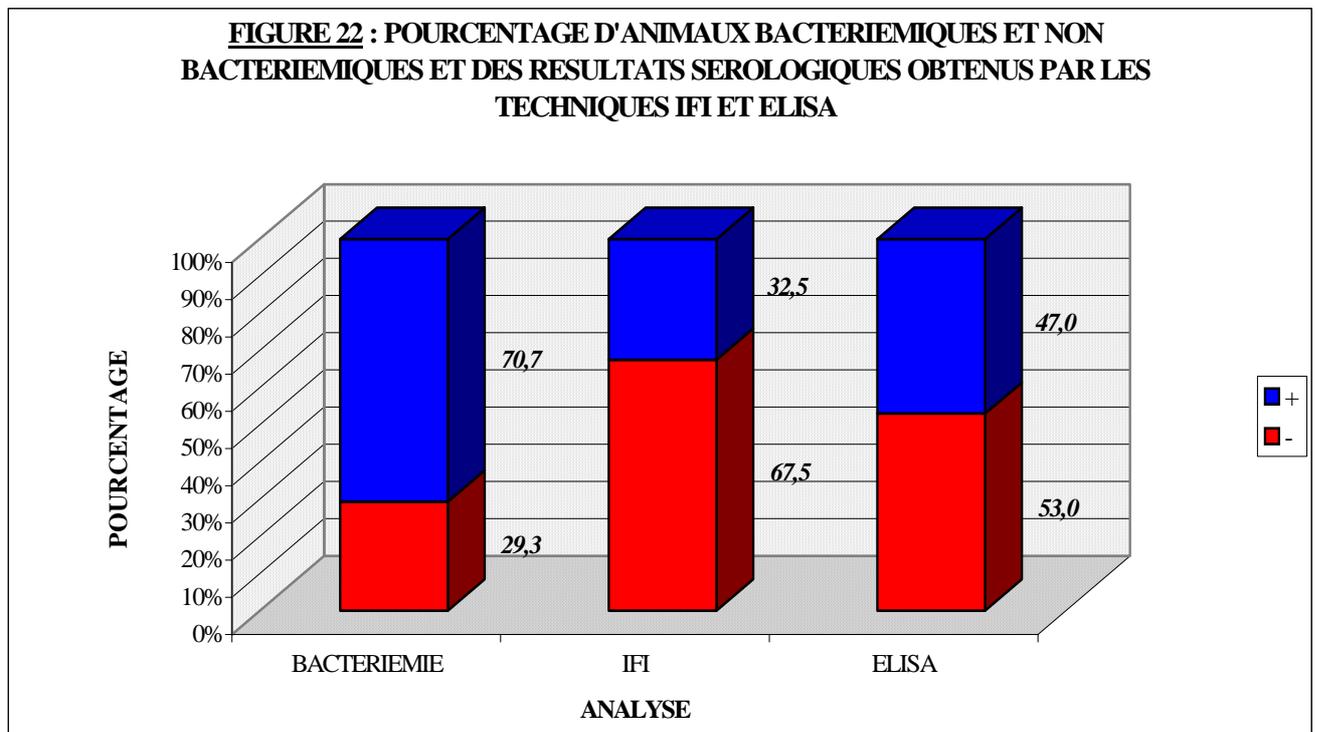
Les pourcentages d'animaux présentant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I et à la fois contre *B. bovis* types I et II obtenus par la méthode ELISA (respectivement 23.3% et 21.2%) sont supérieurs à ceux obtenus par la méthode de l'IFI (respectivement 10.7% et 4.7%). Par contre, le pourcentage d'animaux présentant des anticorps uniquement contre *B. bovis* type II obtenu par la méthode de l'IFI (9.8%) est supérieur à celui obtenu par la méthode ELISA (2.5%).

## IV- COMPARAISON DES RESULTATS DE LA BACTERIEMIE ET DE LA SEROLOGIE

### IV-1- RESULTATS GENERAUX

Cette comparaison a porté sur les 215 animaux exploités pour la bactériémie, les 234 animaux exploités pour l'IFI et les 236 animaux exploités pour l'ELISA.

Les résultats sont présentés dans la figure 22.

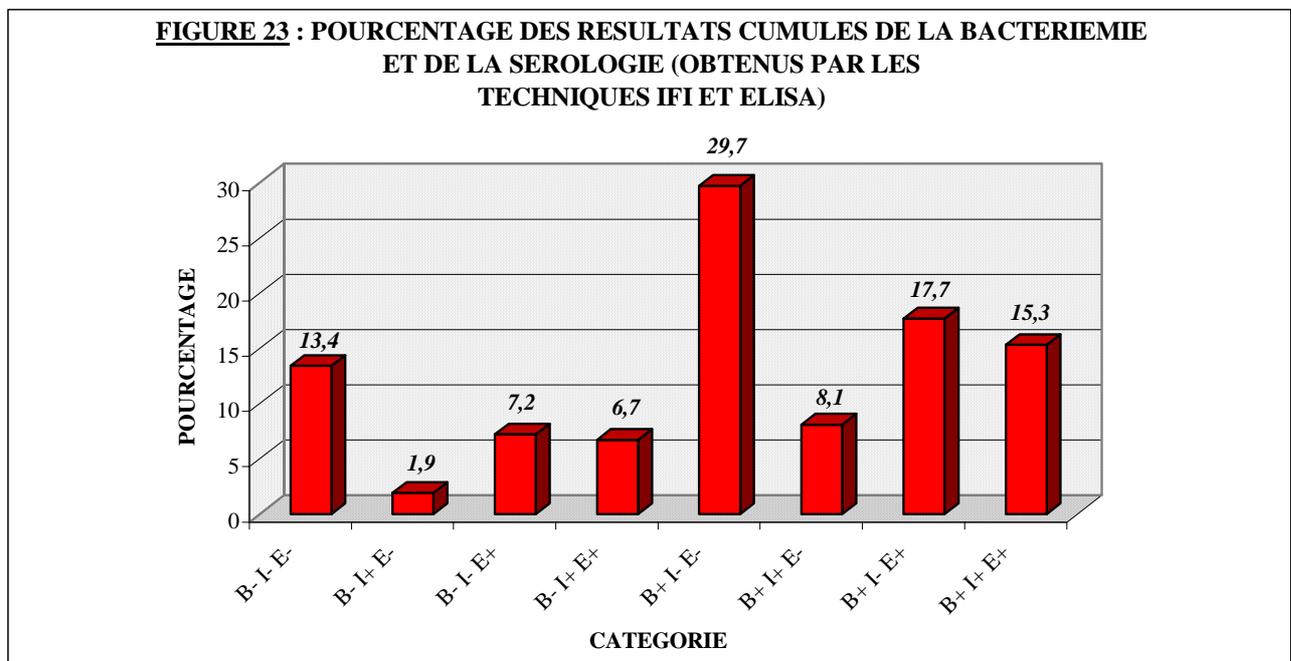


Le pourcentage d'animaux bactériémiques est élevé (70.7%). Par contre, le pourcentage d'animaux séropositifs est plus faible (32.5% pour l'IFI et 47.0% pour l'ELISA). Le pourcentage d'animaux séropositifs par la méthode ELISA (47.0%) est supérieur à celui obtenu par la méthode de l'IFI (32.5%).

## **IV-2- RESULTATS CUMULES**

Cette étude a porté sur 209 animaux, à savoir ceux pour lesquels les résultats de la bactériémie, de l'IFI et de l'ELISA étaient connus.

Les résultats sont présentés dans la figure 23.



- ✓ B+ (respectivement B-) signifie que l'animal est bactériémique (respectivement non bactériémique).
- ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est séropositif (respectivement séronégatif) par la technique IFI.
- ✓ E+ (respectivement E-) signifie que l'animal est séropositif (respectivement séronégatif) par la technique ELISA.

Le pourcentage le plus important est observé chez les animaux bactériémiques séronégatifs (29.7%). Le plus faible est observé chez les animaux séropositifs par IFI mais non bactériémiques et séronégatifs par ELISA (1.9%). 15.3% des animaux sont

bactériémiques et séropositifs par IFI et ELISA. 13.4 % des animaux sont non bactériémiques et séronégatifs. 17.7% des animaux sont bactériémiques et séropositifs uniquement par ELISA. Par contre, 8.1% des animaux sont bactériémiques et séropositifs uniquement par IFI.

De plus, cette figure nous permet de calculer les sensibilités et spécificités de l'IFI et de l'ELISA. Rappelons que la sensibilité est l'aptitude d'un test à fournir une réponse positive chez un animal infecté et que la spécificité est l'aptitude d'un test à fournir une réponse négative chez un animal indemne.

Pour l'IFI, la sensibilité est de 33.1% et la spécificité est de 70.5%.

Pour l'ELISA, la sensibilité est de 46.6% et la spécificité est de 52.5%.

### **IV-3- COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS PAR L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET PAR L'IDENTIFICATION DES TYPES ISOLES**

Cette étude a porté sur 45 animaux, à savoir ceux pour lesquels nous avons à la fois un résultat de PCR et les résultats de l'IFI pour les 3 types de *B. bovis*. Les résultats sont présentés dans le tableau 15.

TYPE DE <i>B. BOVIS</i> ISOLE	IFI					
		I- II- III-	I+ II- III-	I- II+ III-	I- II- III+	I+ II+ III-
I	25	6	3	2	3	
II	2		1			
III	1					
I/II	1			1		

**TABLEAU 15 : LIEN ENTRE LE TYPE DE *BARTONELLA BOVIS* MIS EN EVIDENCE PAR PCR/RFLP ET LES RESULTATS SEROLOGIQUES OBTENUS PAR LA TECHNIQUE IFI**

- Pour l'IFI :
  - ✓ I+ (respectivement I-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type I.
  - ✓ II+ (respectivement II-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type II.
  - ✓ III+ (respectivement III-) signifie que l'animal est positif (respectivement négatif) à *B. bovis* type III.
- Pour la PCR :
  - ✓ I (respectivement II et III) signifie que *B. bovis* type I (respectivement II et III) a été mise en évidence.
  - ✓ I/II signifie que *B. bovis* types I et II ont été mises en évidence chez le bovin.

29 animaux chez lesquels une bartonelle a été typée par PCR sont séronégatifs par IFI. Pour *B. bovis* type I, 6 animaux se sont avérés séropositifs au type I, 3 au type II, 2 au type III et 3 à la fois à *B. bovis* types I et II. Pour *B. bovis* type II, 2 animaux sont séronégatifs et 1 est séropositif à *B. bovis* type II. Quant aux animaux chez lesquels *B. bovis* types I et II ont été mises en évidence, 1 est séronégatif, l'autre est séropositif à *B. bovis* type III.

## **V- LA RECOLTE DES TIQUES**

Initialement, des PCR auraient dû être réalisées sur les tiques récoltées afin de mettre en évidence la présence éventuelle de *B. bovis* chez celles-ci, voire le type de *B. bovis* porté par ces tiques. Mais faute de temps, nous n'avons réalisé que la récolte. Les tiques seront analysées ultérieurement.

Nous sommes rentrés bredouille des pâtures des élevages B, D, E, F, G et I. Nous sommes allés 2 fois sur la pâture de l'élevage K : nous y avons récolté 14 tiques le 24/04/02 et 15 le lendemain. La pâture de l'élevage A située à Ambleteuse fut certainement la plus infestée. En effet, nous y avons récolté 17 tiques le 17/04/02, 12 le 19/04/02 et 16 le 22/04/02. Notons que la végétation y était principalement constituée de genêts. La pâture de l'élevage M nous a permis de récolter 10 tiques le 24/04/02. Enfin, nous avons récolté 9 tiques sur la pâture de l'élevage N proche de la ferme. Sur l'autre qui accueille les vaches allaitantes, nous avons récolté 11 tiques le 23/04/02 et 12 le surlendemain.

# **CHAPITRE C- DISCUSSION**

## **I- DISCUSSION METHODOLOGIQUE ET TECHNIQUE**

### **I-1- LES LIMITES DE LA CULTURE BACTERIENNE**

Du prélèvement sanguin à la lecture de la gélose, plusieurs points peuvent être à l'origine d'une sous-estimation ou d'une surestimation de la quantité de bartonelles.

#### **I-1-1- LA CONTAMINATION DES PRELEVEMENTS**

La contamination, pouvant intervenir du prélèvement sanguin à l'étable aux manipulations de laboratoire, est la principale source de sous-estimation de la quantité de bartonelles. En effet, les contaminants poussent plus vite, encombrant la gélose et peuvent même inhiber la croissance déjà difficile des bartonelles.

Ainsi, certaines géloses contaminées ont été rapidement jetées (durée de conservation de moins de 5 jours). Pour chaque prélèvement sanguin, 1 ou 2 géloses au sang ont étéensemencées. Si cette ou ces géloses ont été jetées, le nombre d'animaux exploitables a diminué. En effet, sur les 236 prises de sang (239 moins 3 tubes cassés), 21 ont été contaminées et leur(s) gélose(s) jetée(s) (soit 8.9%).

Deux phénomènes peuvent expliquer cette contamination :

- ✓ La difficulté d'effectuer des prises de sang stériles sur le terrain et ce, sur 239 animaux prélevés dans différents élevages et, donc, dans des conditions de contention variables.
- ✓ Le site de ponction situé sur la face ventrale de la queue, bien que nettoyé par un mélange d'alcool et d'une solution iodée, est en contact permanent avec les fèces de l'animal.

Les conséquences de cette contamination sont multiples : si 1 des 2 géloses a été jetée et si la restante est vierge de bartonelles, l'animal a été considéré non bactériémique. Or, la gélose jetée aurait pu présenter des colonies de bartonelles. De même, si les 2 géloses sont conservées mais que l'une et/ou l'autre est faiblement contaminée, on sous-estime peut-être le nombre de colonies (non visualisées à cause des contaminants).

## **I-1-2- LA TECHNIQUE DE L'ENSEMENCEMENT**

Lors de l'ensemencement, le culot doit être séparé du fond du tube de prélèvement sanguin de façon à récupérer toutes les bartonelles présentes dans le sang.

La lecture des géloses s'effectue à l'œil nu. Les colonies visibles ont été qualifiées de colonies de bartonelles uniquement à partir de critères macroscopiques ce qui a pu engendrer des erreurs par excès.

Nous avons considéré arbitrairement que les géloses TMTC présentaient 1500 colonies. Or, certaines géloses TMTC portaient peut-être 1000 ou 2000 colonies.

## **I-2- LES LIMITES DE LA SEROLOGIE**

### **I-2-1- LES LIMITES DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE**

L'IFI est la méthode de référence pour mettre en évidence des anticorps dirigés contre des bartonelles. La lecture des lames peut être à l'origine d'erreurs d'interprétation liées à l'hétérogénéité des lames, à la qualité des sérums, aux titrages, à la dilution des sérums ainsi qu'à la subjectivité des lecteurs.

#### **I-2-1-1- HETEROGENEITE DES LAMES**

Les lames sont fabriquées au service d'immunologie-microbiologie de l'ENVA. Certains puits ne contiennent ainsi pas suffisamment de cellules et/ou de bactéries pour interpréter correctement la fluorescence.

#### **I-2-1-2- QUALITE DES SERUMS**

La qualité des sérums constitue un autre facteur limitant de l'IFI. En effet, certains puits présentaient des traces d'impureté se traduisant au microscope par des points fluorescents sur toute la lame aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des cellules, rendant sa lecture très difficile.

### **I-2-1-3- VOLUMES UTILISES**

Les volumes utilisés sont infimes. Ainsi, une erreur d'une goutte (en plus ou en moins) dans les manipulations peut être à l'origine de variations de concentration.

Certains sérums positifs après le criblage (ou screening) sont négatifs au titrage :

- ✓ 23 soit 46% des sérums positifs après criblage pour le type I
- ✓ 17 soit 41% des sérums positifs après criblage pour le type II
- ✓ 13 soit 41% des sérums positifs après criblage pour le type III.

Ces résultats ont donc été considérés comme négatifs et n'ont en rien entravé l'interprétation des résultats.

A l'inverse, certains sérums négatifs (+/++) après le criblage sont positifs au titrage :

- ✓ 8 soit 50% des sérums +/++ après criblage pour le type I
- ✓ 10 soit 42% des sérums +/++ après criblage pour le type II
- ✓ 10 soit 48% des sérums +/++ après criblage pour le type III.

Normalement, ces dilutions n'auraient pas dû être réalisées. Cependant, des lames étaient disponibles et ont permis de ne pas considérer à tort ces animaux comme séronégatifs.

### **I-2-1-4- TITRAGES**

La dilution des sérums s'effectue en fonction des résultats du screening. Certaines dilutions furent insuffisantes (++ à la dernière dilution). Le titre précis en anticorps est alors inconnu (animaux qualifiés de « positifs »). C'est pourquoi nous n'avons pu établir que 2 catégories : les animaux ayant un titre en anticorps égal à 1/50 et ceux ayant un titre supérieur ou égal à 1/100.

### **I-2-1-5- SUBJECTIVITE DE LA LECTURE DES RESULTATS**

Le facteur le plus limitant de cette technique reste la subjectivité des lecteurs. Bien que la lecture se fasse en double aveugle, les résultats peuvent être discordants. En effet, le temps écoulé entre les 2 lectures est responsable d'une diminution de la fluorescence et de l'apparition de bulles d'air sur la lame. De plus, chaque lecteur interprète personnellement la fluorescence.

## **I-2-2- LES LIMITES DE L'ELISA**

Comme pour l'immunofluorescence indirecte, les limites de la technique ELISA sont liées à l'hétérogénéité des plaques et à la qualité des sérums. Pour cette technique intervient également le seuil de positivité.

### **I-2-2-1- HETEROGENEITE DES PLAQUES**

Les plaques fabriquées au service d'immunologie-microbiologie de l'ENVA peuvent présenter une certaine hétérogénéité pouvant modifier la densité optique lue par le spectrophotomètre.

### **I-2-2-2- QUALITE DES SERUMS**

La qualité du sérum peut modifier le résultat en particulier s'il est hémolysé.

### **I-2-2-3- SEUIL DE POSITIVITE**

Le seuil de positivité a été déterminé à partir d'analyses réalisées sur des bovins dans un autre département et non dans le Pas-de-Calais.

## **II- DISCUSSION PROPREMENT DITE**

### **II-1- ETUDE DE LA BACTERIEMIE**

#### **II-1-1- PAR ELEVAGE**

On peut regrouper les élevages en 3 catégories :

✓ Les élevages ayant moins de 5 animaux bactériémiques sur 10 : B (3/7), C (3/7) et D (2/8).

On ne peut pas interpréter convenablement ces résultats car les effectifs sont trop petits (respectivement 7, 7 et 8).

✓ Les élevages ayant entre 50% et 75% d'animaux bactériémiques : E (63%), G (53 %), H (71%), I (73%) , K (60%) et M (64%).

✓ Les élevages ayant plus de 75% d'animaux bactériémiques : A (79%), F (75%), J (77%), L (100%) et N (88%).

Comme nous l'indique la figure 8, le pourcentage d'animaux bactériémiques est supérieur chez les animaux les plus jeunes : il oscille entre 71 et 90% chez les animaux de moins de 5 ans. Comparons donc la moyenne d'âge entre les élevages des 2 dernières catégories. La moyenne d'âge des animaux des élevages E, G, H, I, K et M est 2006 j avec un écart-type ( $\sigma$ ) égal à 923 j. Celle des animaux des élevages A, F, J, L et N est 1549 j avec  $\sigma=940$  j. Un test de l'écart-réduit avec un risque de 5% nous confirme que la différence observée est significative ( $\varepsilon=3.33$ ). La différence des pourcentages d'animaux bactériémiques observée entre les 2 dernières catégories pourrait donc être imputée à l'âge des animaux.

#### **II-1-2- PAR CLASSE D'AGE**

De 2 à 8 ans, le pourcentage d'animaux bactériémiques diminue. Il semblerait donc que les animaux jeunes sont plus sensibles ou qu'ils sont plus exposés à la bactérie. Après 8 ans, le pourcentage d'animaux bactériémiques augmente. Il semblerait donc que les animaux de cette classe sont plus sensibles.

Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par l'étude d'une exploitation de Bissy (72). Par contre, 78% des animaux de moins de 2 ans (parmi lesquels seulement 2 sur 27 ont moins de 1 an) sont bactériémiques alors qu'à Bissy, 95% des animaux de 1 à 2 ans le sont.

### **II-1-3- PAR TYPE DE PRODUCTION**

Aucune différence significative n'apparaît entre les vaches allaitantes et les vaches laitières. Cela est peut-être dû au fait que, pour les 2 types de production, les animaux sont à l'étable en hiver et en pâture du printemps à l'automne.

### **II-1-4- TYPAGE DES BARTONELLES PAR PCR/RFLP**

Au niveau national, lorsque *B. bovis* est isolée d'un bovin, il s'agit dans 95% des cas du type I, dans 5% des cas du type II et dans moins de 1% des cas du type III. Dans le Pas-de-Calais, on observe également une prédominance du type I (89%) mais des pourcentages supérieurs pour les types II et III (respectivement 9% et 2%).

Soit il n'existe pas de réelle différence, le nombre d'analyses faisant peut-être défaut (93 PCR réalisées sur des souches isolées de 46 animaux). Soit les proportions de *B. bovis* types II et III sont réellement supérieures dans ce département.

Notons par ailleurs que ces PCR ont permis de déceler 2 animaux co-infectés par *B. bovis* types I et II.

## **II-2- ETUDE DE LA SEROLOGIE (IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE)**

### **II-2-1- PAR ELEVAGE**

L'élevage D présente 1 seul animal séropositif avec des anticorps dirigés contre *B. bovis* type I. Une PCR/RFLP a été réalisée sur une souche isolée de cet animal bactériémique confirmant le type de *B. bovis*.

L'élevage K présente également 1 seul animal séropositif avec des anticorps dirigés contre *B. bovis* type III. Malheureusement, cet animal est non bactériémique et aucune PCR n'a été réalisée sur aucune souche isolée des autres animaux de cet élevage.

L'élevage H présente 2 animaux séropositifs avec des anticorps dirigés respectivement contre *B. bovis* type I et type III. 2 PCR/RFLP ont porté sur des souches isolées de 2 autres animaux de cet élevage : *B. bovis* type I a été mise en évidence.

L'élevage I présente 3 animaux séropositifs avec des anticorps dirigés respectivement contre *B. bovis* type II, type III et à la fois contre les types II et III. Aucune PCR n'a été réalisée pour les souches isolées de 2 de ces animaux. La PCR/RFLP concernant une souche isolée de l'animal ayant des anticorps contre *B. bovis* type III a identifié *B. bovis* type I et *B. bovis* type II. Dans cet élevage, les autres PCR/RFLP ont mis en évidence *B. bovis* type I quatre fois.

Les résultats de l'IFI semblent donc être en désaccord avec ceux de la PCR/RFLP.

## **II-2-2- PAR CLASSE D'AGE**

### **II-2-2-1- RESULTATS SEROLOGIQUES**

Jusqu'à l'âge de 8 ans, le pourcentage d'animaux séronégatifs augmente. Avec l'âge, le système immunitaire semble moins stimulé. En effet, le pourcentage d'animaux bactériémiques diminue de 2 à 8 ans.

Après 8 ans, le pourcentage d'animaux séropositifs augmente. Parallèlement, le pourcentage d'animaux bactériémiques augmente pour cette classe d'âge.

Les animaux de moins de 2 ans ont des anticorps dirigés contre un seul type de bartonelles. On peut supposer qu'à cet âge-là, ils n'ont encore rencontré qu'un seul type de bartonelles. On constate par ailleurs grâce à la PCR que les animaux co-infectés par *B. bovis* types I et II ont 4.4 ans et 5.3 ans.

### **II-2-2-2- TITRES**

48% des titres en anticorps pour les animaux de moins de 5 ans sont 1/50 contre 70% chez les plus de 5 ans. 52% des titres en anticorps pour les animaux de moins de 5 ans ont un titre en anticorps  $\geq 1/100$  contre 30% chez les plus de 5 ans. Parallèlement, le nombre moyen de colonies par 5 mL se situe entre 232 et 1756 pour les animaux de moins de 5 ans et entre 22 et 254 pour les autres.

Il semblerait donc qu'il existe une corrélation entre le nombre moyen de colonies par 5 mL et le titre en anticorps. Nous n'avons pas suffisamment de données pour corroborer cette observation.

### **II-2-3- PAR TYPE DE PRODUCTION**

Aucune différence significative n'apparaît entre les vaches allaitantes et les vaches laitières. On peut évoquer les mêmes raisons que celles de la partie II-1-3 concernant la bactériémie.

### **II-3- COMPARAISON DES DEUX METHODES SEROLOGIQUES**

Les résultats obtenus par l'IFI et par l'ELISA sont discordants. Cette discordance porte sur leurs sensibilité et spécificité, le pourcentage d'animaux séropositifs, les résultats par élevage, par classe d'âge et en fonction des types.

#### **II-3-1- SENSIBILITE ET SPECIFICITE**

Les sensibilités respectives de l'IFI et de l'ELISA sont 33.1% et 46.6%. Les spécificités respectives de l'IFI et de l'ELISA sont 70.5% et 52.5%.

#### **II-3-2- POURCENTAGE D'ANIMAUX SEROPOSITIFS**

La technique ELISA semble plus en accord avec les résultats bactériologiques que l'immunofluorescence indirecte : le pourcentage d'animaux séropositifs est significativement plus élevé pour l'ELISA (47%) que pour l'IFI (32.5%) et plus proche du pourcentage d'animaux bactériémiques (70.7%).

#### **II-3-3- RESULTATS PAR ELEVAGE**

7 élevages (ELISA) contre 2 (IFI) présentent un nombre d'animaux séropositifs supérieur à celui des animaux séronégatifs. Or, 11 élevages sur 14 présentent un nombre d'animaux bactériémiques supérieur à celui des animaux non bactériémiques.

Là-encore, la technique ELISA semble la plus proche de la réalité.

### **II-3-4- RESULTATS PAR CLASSE D'AGE**

La technique ELISA montre une progression irrégulière du pourcentage d'animaux séronégatifs au cours du temps contrairement à l'IFI. Par classe d'âge, les résultats de l'IFI semblent plus proche des résultats de la bactériémie : de 2 à 8 ans, le pourcentage d'animaux bactériémiques diminue pendant que le pourcentage d'animaux séronégatifs augmente.

### **II-3-5- RESULTATS EN FONCTION DES TYPES DE BARTONELLA BOVIS**

Pour l'IFI, les pourcentages d'animaux présentant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I, *B. bovis* type II et *B. bovis* type III sont respectivement 8.6%, 7.7% et 7.3%. Cela suggère qu'il n'existe pas de séropositivité croisée. Cependant 3.4% des animaux ont des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II, 2.1% contre *B. bovis* types I et III, 2.1% contre *B. bovis* types II et III et 1.3% contre *B. bovis* types I,II et III. Ces animaux auraient donc été en contact avec plusieurs types de bartonelles.

Pour l'ELISA, 23.3% des animaux ont des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I et 2.5% contre *B. bovis* type II. Cela suggère comme pour l'IFI qu'il n'existe pas de réactions croisées. Les 21.2% des animaux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II auraient donc été en contact avec ces 2 types de bartonelles. On pourrait supposer que ces derniers soient plus âgés que ceux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I. En effet, la probabilité pour un bovin de rencontrer *B. bovis* type I (respectivement type II) est 89% (respectivement 9%) (cf. figure 11). Ainsi, plusieurs années semblent nécessaires pour qu'un bovin ait rencontré les 2 types de bartonelles. Cependant, les moyennes d'âge ne sont pas significativement différentes d'après un test de l'écart-réduit avec un risque de 5% : 1755 j avec  $\sigma=839$  j pour les animaux ayant des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I, 1616 j avec  $\sigma=1064$  j pour ceux ayant des anticorps dirigés à la fois contre *B. bovis* types I et II ( $\varepsilon=0.72$ ).

Enfin, les résultats obtenus par ELISA sont plus proches des résultats de la bactériémie que ceux obtenus par IFI. La figure 11 nous indique que 89% des bartonelles isolées sont de type I, 9% de type II et 2% de type III. L'ELISA révèle que 91% (respectivement 9%) des animaux ont des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I (respectivement type II)

alors que l'IFI révèle que 36% (respectivement 33% et 31%) des animaux ont des anticorps dirigés uniquement contre *B. bovis* type I (respectivement types II et III).

### **II-3-6- RESULTATS CUMULES**

D'après la figure 23, les résultats de l'immunofluorescence indirecte et de la technique ELISA sont discordants dans 34.9% des cas. Cela signifie que, pour 73 animaux, lorsque l'immunofluorescence indirecte a abouti à un résultat positif, la technique ELISA a donné un résultat négatif et vice-versa, et ce indépendamment de la bactériémie.

### **II-3-7- HYPOTHESES EXPLIQUANT CES DISCORDANCES**

La discordance des résultats peut être due à la différence des antigènes employés dans les 2 techniques. La méthode ELISA utilise des protéines membranaires tandis que la méthode IFI utilise des cellules infectées par la bactérie.

De plus, faute de moyens, l'ELISA s'est bornée à la recherche d'anticorps anti-*B. bovis* types I et II et non type III.

Les seuils de positivité (++ au 1/50 pour l'IFI et DO=0.2 pour l'ELISA) retenus sont peut-être à affiner.

Enfin, comme nous l'avons déjà dit dans le paragraphe I-2-1-5-, la lecture des lames d'IFI est subjective et peut être source d'erreurs.

D'après ces études, aucune réaction croisée ne semble intervenir dans le cadre de ces 2 méthodes. D'autre part, comme l'indique le paragraphe II-3-6-, les résultats obtenus par ces dernières sont discordants. Enfin, il semblerait que la technique ELISA soit plus proche de la réalité que l'immunofluorescence indirecte. Cela s'observe aussi bien au niveau de la sensibilité des méthodes, du pourcentage d'animaux séropositifs obtenus, des résultats par élevage et des anticorps mis en évidence (résultats proches de ceux obtenus par la PCR/RFLP).

## **II-4- COMPARAISON BACTERIEMIE-SEROLOGIE**

### **II-4-1- ANIMAUX SEROPOSITIFS NON BACTERIEMIQUES**

Ils représentent 15.8% des 209 animaux étudiés (soit 33 animaux).

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette discordance :

- ✓ L'immunité observée peut être liée à une infection passée à l'origine de l'apparition d'anticorps protecteurs. Ces derniers empêchent les bartonelles de coloniser le torrent sanguin.
- ✓ Au moment du prélèvement, il se peut que les bactéries soient réellement absentes de l'organisme, le système immunitaire les ayant éliminées.
- ✓ D'autre part, la bactériémie pourrait être intermittente et devenir non détectable voire nulle. Ce phénomène a en effet été mis en évidence lors de bactériémie au long cours chez le chat (48, 60).
- ✓ Ces animaux seraient réellement infectés mais la présence de bactéries n'a pas été mise en évidence par les méthodes employées.

### **II-4-2- ANIMAUX SERONEGATIFS BACTERIEMIQUES**

Ils représentent 29.7% des 209 animaux étudiés (soit 62 animaux).

Cette discordance peut être inhérente au matériel sérologique utilisé ou à l'animal lui-même. En effet, les antigènes utilisés dans le cadre des 2 techniques (IFI et ELISA) proviennent de bovins de la région parisienne (exploitation de Bissy). Il est probable que les bovins du Pas-de-Calais présentent des souches antigéniquement différentes. L'état immunologique de l'animal au moment du prélèvement peut être en cause. Au moment du prélèvement, il se peut que la séroconversion n'ait pas encore eu lieu du fait d'une infection trop récente. Dans ce cas, des prélèvements ultérieurs en vue de nouvelles analyses sérologiques auraient permis de réfuter ou non cette hypothèse.

### **II-4-3- L'AGE DES ANIMAUX EST-IL EN CAUSE ?**

On peut penser que l'âge intervient au niveau de la production d'anticorps. En effet, les animaux âgés peuvent faire l'objet d'une immunodépression. De même, les animaux

adultes ont des anticorps sans bactériémie associée car ils ont été plus souvent soumis à un risque d'infection contrairement aux plus jeunes.

La moyenne d'âge des animaux séropositifs non bactériémiques est de 2015 j avec  $\sigma=977$  j. Celle des animaux séronégatifs bactériémiques est de 1780 j avec  $\sigma=876$  j. Un test de l'écart-réduit avec un risque de 5% montre que la différence des moyennes d'âge entre ces 2 catégories d'animaux n'est pas significative ( $\varepsilon=1.13$ ).

Ainsi, dans ce cas, les différentes catégories d'animaux observées ne sont pas liées à une différence d'âge entre les animaux.

Les 2 techniques sérologiques présentent un pourcentage d'animaux séropositifs faible par rapport au nombre d'animaux bactériémiques dans le Pas-de-Calais. Elles semblent donc être en désaccord avec la bactériémie observée. La détection des anticorps par la technique ELISA semble cependant être plus « réaliste » que celle par l'immunofluorescence indirecte.

## CONCLUSION

Cette étude montre que le département du Pas-de-Calais présente un pourcentage élevé d'animaux bactériémiques (70.7%). Il semble que l'âge intervient dans ce résultat. En effet, les animaux de moins de 3 ans présentent une bactériémie plus élevée que les autres classes d'âge. Par contre, aucune différence n'apparaît en fonction des types de production. Dans ce département, une prédominance du type I de *B. bovis* a été mise en évidence (89%).

Les animaux de moins de 5 ans présentent des titres en anticorps supérieurs à ceux des animaux de plus de 5 ans. Il semblerait qu'il existe une corrélation entre ces titres et le nombre moyen de colonies de bartonelles obtenues par la mise en culture.

Les résultats sérologiques ne sont pas en accord avec les résultats bactériologiques en ce qui concerne les bovins (bien que la technique ELISA s'en rapproche plus que l'immunofluorescence indirecte), fait déjà observé pour les rongeurs (communication personnelle). De plus, cette étude met en avant les discordances (dans 34.9% des cas) entre l'immunofluorescence indirecte et la technique ELISA qui aboutissent à des résultats différents. Ces observations nous font préférer la technique ELISA pour la recherche d'anticorps anti-*B. bovis* chez un bovin.

Bien que les études et les publications sur les bartonelles sont à ce jour multiples, plusieurs questions restent sans réponse à propos de *B. bovis*. En effet, ses vecteurs ne sont pas encore connus. Après avoir recherché chez les tiques la preuve de leur rôle (qui paraît minime) dans ce domaine, la tendance actuelle émet l'hypothèse de l'intervention de vecteurs ailés dans la transmission des bartonelles. De même, ses réservoirs sont encore méconnus ainsi que sa pathogénie au niveau des élevages bovins. Ainsi, d'autres études sont nécessaires afin de répondre à ces questions, études qui permettront également de déterminer les meilleurs moyens de lutte contre les bartonelloses humaines et animales.



## **BIBLIOGRAPHIE**

- (1) Amerein, M.P; De Briel, D; Jaulhac, B; Meyer, P; Monteil, H; Piemont, Y. Diagnostic value of the indirect immunofluorescence assay in cat scratch disease with *Bartonella henselae* and *Afipia felis* antigens. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1996; **3** : 200-204.
- (2) Anderson, B.E; Neuman, M.A. *Bartonella* spp. as emerging human pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; **10** : 203-219.
- (3) Barrau, K; Brouqui, P; Jean, P; Lafay, V; Tissot-Dupont, H; Raoult, D. Poux de corps, patients sans domicile fixe : les risques infectieux actuels. *In : Bull. Epid. Hebdo.* 2000. [<http://www.invs.santé.fr/beh/2000/0017>] (consulté en avril 2001).
- (4) Bass, J. W; Vincent, J.M; Person, D.A. The expanding spectrum of *Bartonella* infections: I. Bartonellosis and trench fever. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997; **16** : 2-10.
- (5) Bass, J. W; Vincent, J.M; Person, D.A. The expanding spectrum of *Bartonella* infections : II. Cat-scratch disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1997; **16** : 163-179.
- (6) Batterman, H.J; Peek, J.A ; Loutit, J.S ; Falkow, S ; Tompkins, L.S. *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* adherence to and entry into cultured human epithelial cells. *Infect. Immun.* 1995 Nov; **63**(11) : 4553-4556.
- (7) Bermond, D; Boulouis, H.J; Heller, R; Van, L.G; Monteil, H; Chomel, B.B; Sander, A; Dehio, C; Piemont, Y. *Bartonella bovis* Bermond et al. sp. nov. and *Bartonella capreoli* sp. nov., isolated from European ruminants. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002 Mar; **52**(2) : 383-90.
- (8) Birtles, R.J; Harrison, T.G; Saunders, N.A; Molyneux, D.H. Proposal to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromysci*, comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995; **45** : 1-8.
- (9) Birtles, R.J; Canales, J; Ventosilla, P; Alvarez, E; Guerra, H; Llanos-Cuentas A. et al. Survey of *Bartonella* species infecting intradomicillary animals in the Huayllacallan Valley, Ancash, Peru, a region endemic for human bartonellosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999; **60** : 799-805.
- (10) Blanchard, H; Arlet, G; Philippon, A. *Bartonella henselae* : maladie des griffes du chat ou angiomatose bacillaire ? *AAEIP.* 199 ; **158** : 11-15.
- (11) Boulouis, H.J; Chomel, B. Actualités sur les bartonelloses. *Bull. Acad. Nat. Méd.* 1999; **7** : 1399-1412.
- (12) Breitschwerdt, E.B; Atkins, C.E. *Bartonella vinsonii* subsp *berkhoffii* and related members of the alpha subdivision. *J. Clin. Microbiol.* 1999; **37** : 3618-3626.

- (13) Breitschwerdt, E.B; Kordick, D.L. *Bartonella* infection in animals : carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; **13** : 428-437.
- (14) Breitschwerdt, E.B; Hegarty, B.C; Hancock, S.I. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. *J.Clin.Microbiol.* 1998; **36** : 2465-2651.
- (15) Breitschwerdt, E.B; Sontakke, S; Cannedy, A; Hancock, S.I; Bradley, J.M. Infection with *Bartonella weissii* and detection of Nanobacterium antigens in a North Carolina beef herd. *J. Clin. Microbiol.* 2001 Mar; **39**(3) : 879-82.
- (16) Brenner, D.J; O'Connor, S.P; Winkler, H.H; Steigerwalt, A.G. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; **43** : 777-786.
- (17) Brouqui, P; Raoult, D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001 Jan; **14**(1) : 177-207.
- (18) Bussieras, J; Chermette, R. Parasitologie vétérinaire, Entomologie. ENVA. Service de parasitologie. 1991; 163 p.
- (19) Chang, C.C; Yamamoto, K; Chomel, B.B. Seroepidemiology of *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* infection in California coyotes, 1994-1998. *Em. Inf. Dis.* 1999; **5** : 711-715.
- (20) Chang, C.C; Kasten, R.W; Chomel, B.B; Simpson, D.C. Coyotes (*Canis latrans*) as the reservoir for a human pathogenic *Bartonella* sp. : molecular epidemiology of *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* infection in coyotes from central coastal California. *J. Clin. Microbiol.* 2000; **38** : 4193-4200.
- (21) Chang, C.C; Chomel, B.B; Kasten, R.W; Romano, V; Tietze, N. Molecular evidence of *Bartonella* spp. in questing adult *Ixodes pacificus* ticks in California. *J. Clin. Microbiol.* 2001 Apr; **39**(4) : 1221-6.
- (22) Childs, J.E; Ellis, B.A; Nicholson, W.L; Kosoy, M; Summer, J.W. Shared vector-borne zoonoses of the Old World and the New World grown or translocated ? *Schweiz. Med. Wochenschr.* 1999 ; **129** : 1099-1105.
- (23) Chomel, B.B; Gurfield, A.N; Boulouis, H.J; Kasten, R.W; Piemont, Y. Réservoir félin de l'agent de la maladie des griffes du chat, *Bartonella henselae*, en région parisienne : résultats préliminaires. *Rec. Med. Vet.* 1995; **171** : 841-845.
- (24) Chomel, B.B; Kasten, R.W; Floyd-Hawkins, K; Chi, B; Yamamoto, K; Roberts-Wilson, J; Gurfield, A.N; Abbott, R.C; Pedersen, N.C; Koehler, J.E. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *J. Clin. Microbiol.* 1996; **34** : 1952-1956.

- (25) Chomel, B.B; Boulouis, H.J; Gurfield, A.N; Heller, R; Piemont, Y; Pilet, C. Cat scratch disease and associated infections. *Bull. Acad. Natl. Med.* 1997; **181** : 407-454.
- (26) Compagnon, S. *Contribution à l'étude de Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii chez le chien*. Thèse Med. Vet., Alfort. 2001.
- (27) Debré, R; Lamy, M; Jammet, M.L; Costil, L; Mozziconacci, P. La maladie des griffes du chat. *Sem. Hop. Paris*. 1950; 1895-1904.
- (28) Dehio, C. Pathogenesis of *Bartonella (Rochalimaea)* infections. *Bull. Inst. Pasteur*. 1997; **95** : 197-207.
- (29) Dehio, C. Interactions of *Bartonella henselae* with vascular endothelial cells. *Current Opinion in Microbiology*. 1999; **2** : 78-82.
- (30) Dehio C. *Bartonella* interactions with endothelial cells and erythrocytes. *Trends Microbiol.* 2001 Jun; **9**(6) : 279-85.
- (31) Dehio, C; Sander, A. First International Conference on *Bartonella* as emerging pathogens. 1999 March 5-7, Tübingen, Germany. *J. Microbiol. Methods*. 1999; **37** : 267-295.
- (32) Donatien, A; Lestoquard, F. Sur une *Bartonella* nouvelle du boeuf, *Bartonella bovis* n. sp. *Bull. Soc. Path. Ex.* 1934; **7** : 652-654.
- (33) Droz, S; Chi, B. *Bartonella koehlerae* sp. nov., isolated from cats. *J. Clin. Microbiol.* 1999; **37** : 1117-1122.
- (34) Ellis, B.A; Regnery, R.L; Beati, L; Bacellar, F; Rood, M; Glass, G.G et al. Rats of the genus *Rattus* are reservoir hosts for pathogenic *Bartonella* species : an Old World origin for a New World disease ? *J. Infect. Dis.* 1999; **180** : 220-224.
- (35) Euzeby, J. List of bacterial names with standing in nomenclature : a folder available on the internet. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; **47** : 590-2.
- (36) Grando, D; Sullivan, L.J. *Bartonella henselae* associated with parinaud's oculoglandular syndrome. *Clin. Infect. Dis.* 1999; **28** : 1156-1158.
- (37) Greene, C.E; McDermott, M; Jameson, P.H; Atkins, C.L; Marks, A.M. *Bartonella henselae* infection in cats : evaluation during primary infection, treatment, and rechallenge infection. *J. Clin. Microbiol.* 1996; **34** : 1682-1685.
- (38) Guptill, L; Slater, L. Immune response of neonatal specific pathogen-free. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999; **71** : 233-243.
- (39) Hinrichsen, V.L; Whitworth, U.G; Breitschwerdt, E.B; Hegarty, B.C; Mather, T.N. Assessing the association between the geographic distribution of deer ticks and seropositivity rates to various tick-transmitted disease organisms in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001 Apr 1; **218**(7) : 1092-7.

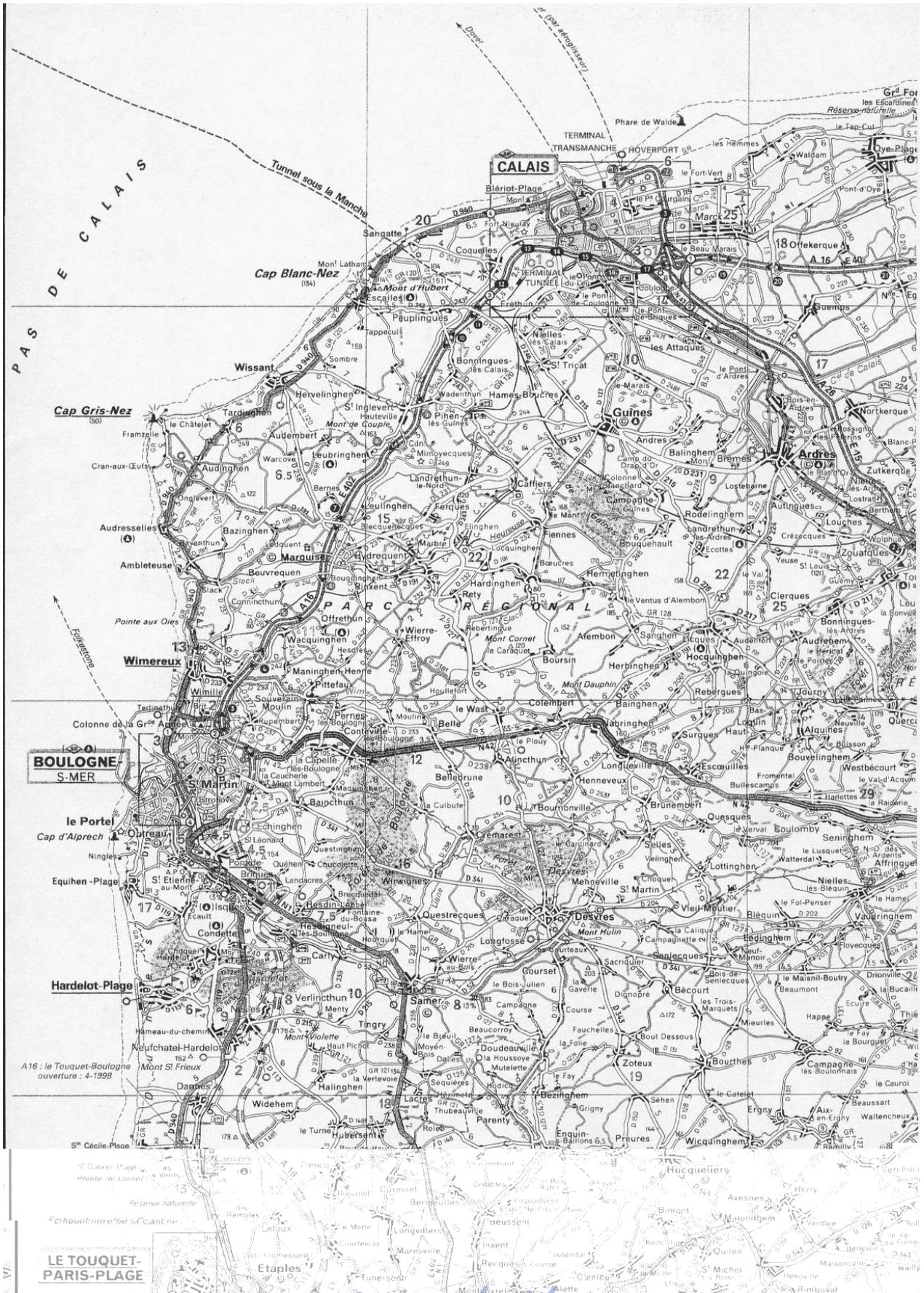
- (40) Houpiqian, P; Fournier, P.E; Raoult, D. Protein, Nucleotide Phylogenetic position of *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis* based on 16S rDNA and *gltA* gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001 Jan; **51**(Pt 1) : 179-82.
- (41) Houpiqian, P; Raoult D. Molecular phylogeny of the genus *Bartonella*: what is the current knowledge? *FEMS Microbiol. Lett.* 2001 Jun 12; **200**(1) : 1-7.
- (42) Houpiqian, P; Raoult, D. 16S/23S rRNA Intergenic Spacer Regions for Phylogenetic Analysis, Identification, and Subtyping of *Bartonella* Species. *J. Clin. Microbiol.* 2001 Aug; **39**(8) : 2768-78.
- (43) Jacomo, V; Kelly, P.J; Raoult, D. Natural History of *Bartonella* Infections (an Exception to Koch's Postulate). *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002 Jan; **9**(1) : 8-18.
- (44) Jensen, W.A; Fall, M.Z. Rapid identification and differentiation of *Bartonella* species. *J. Clin. Microbiol.* 2000; **38** : 1717-1722.
- (45) Karem, K.L; Paddock, C.D; Regnery, R.L. *Bartonella henselae*, *B. quintana*, and *B. bacilliformis* : historical pathogens of emerging significance. *Microbes and infection.* 2000; 1193-1205.
- (46) Kitchell, B.E; Fan, T.M; Kordick, D; Breitschwerdt, E.B; Wollenberg, G; Lichtensteiger, C.A. *et al.* Peliosis hepatis in dog infected with *Bartonella henselae*. *J. Clin. Microbiol.* 2000; **216** : 519-523.
- (47) Koesling, J; Aebischer, T; Falch, C; Schulein, R ; Dehio, C. Cutting edge : antibody-mediated cessation of hemotropic infection by the intraerythrocytic mouse pathogen *Bartonella grahamii*. *J. Immunol.* 2001 Jul 1; **167**(1) : 11-4.
- (48) Kordick, D.L; Wilson, K.H; Sexton, D.J; Hadfield, T.L; Berkhoff, H.A; Breitschwerdt, E.B. Prolonged *Bartonella* bacteriemia in cats associated with cat-scratch disease patients. *J. Clin. Microbiol.* 1995; **33** : 3245-3251.
- (49) Kusaba, N; Yoshida, H; Shimokawa, Y; Sata, M. Two cases of suspected *Bartonella henselae* infection from a dog (summary). *Kansenshogaku Zasshi.* 1999; **73** : 930-934.
- (50) La Scola, B; Raoult, D. Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae*. *J. Clin. Microbiol.* 1999; **37** : 1899-1905.
- (51) Loutit, J.S. *Bartonella* infections : diverse and elusive. In : *NCBI*. 1998. [<http://www.Ncbi.nlm.nih.gov>] (consulté en avril 2001)
- (52) Maeno, N; Oda, H. Live *Bartonella henselae* enhances endothelial cell. *Microbiol. Patho.* 1999; **27** : 419-427.
- (53) Maguina, C; Gotuzzo, E. Bartonellosis. *Inf. Dis. Clin. North America* 2000; **14** : 1-22.
- (54) Maurin, M; Raoult, D. Bartonelloses. *Med. Mal. Infect.* 1996; **26** : 371-375.

- (55) Maurin, M; Birtles, R; Raoult, D. Current knowledge of *Bartonella* species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1997; **16** : 487-506.
- (56) Minnick, M.F; Anderson, B.E. *Bartonella* interactions with host cells. *Subcell. Biochem.* 2000; **33** : 97-123.
- (57) Nayler, S.J; Allard, U. HHV-8(KSHV) is not associated with bacillary angiomatosis. *J. Clin. Pathol.* 1999; **52** : 345-348.
- (58) Pappalardo, B.L; Correa, M.T; York, C.C; Peat, C.Y; Breitschwerdt, E.B. Epidemiologic evaluation of the risk factors associated with exposure and seroreactivity to *Bartonella vinsonii* in dogs. *AJVR.* 1997; **58** : 467-471.
- (59) Pappalardo, B.L; Brown, T; Gookin, J.L; Morill, C.L; Breitschwerdt, E.B. Granulomatous disease associated with *Bartonella* infection in 2 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2000; **14** : 37-42.
- (60) Philippon, A; Arlet, G; Blanchard, H. *La maladie des griffes du chat.* BAYER Santé animale. 1999 ; 21 p.
- (61) Piémont, Y; Bermond D. Maladies provoquées par les *Bartonella*. *Ann. Biol. Clin.* 2001 ; **59**(5) : 593-603.
- (62) Pollard, M; Parmer ,D.G. Observation on a *Bartonella* organism in cattle. *Tex. Ref. Biol. Med.* 1952; **10** : 73-75.
- (63) Raoult, D; Roux, V. The body louse as a vector of reemerging human diseases. *Clin. Infect. Dis.* 1999; **29** : 888-911.
- (64) Raoult, D; Birtles, R.J; Montoya, M; Perez, E; Tissot-Dupont, H; Roux, V et al. Survey of three bacterial louse-associated diseases among rural Andean communities in Peru : prevalence of epidemic typhus, trench fever, and relapsing fever. *Clin. Infect. Dis.* 1999; **29** : 343-346.
- (65) Raoult, D; Foucault, C; Brouqui P. Infections in the homeless. *Lancet. (Infect. Dis.)*. 2001 Sep; **1**(2) : 77-84.
- (66) Roux, V; Raoult, D. Body lice as tools for diagnosis and surveillance. *J. Clin. Microbiol.* 1999; **37**: 596-599.
- (67) Sander, A; Posselt, M; Oberle, K; Bredt, W. Seroprevalence of antibodies to *Bartonella henselae* in patients with cat-scratch disease and in healthy controls : evaluation and comparison of two commercial serological test. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 1998; **5** : 486-490.
- (68) Schouls, L.M; Van De Pol, I; Rijpkema, S.G.T; Schot, C.S. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Bartonella* species in dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J. Clin. Microbiol.* 1999; **37** : 2215-2222.
- (69) Schulein, R; Seubert, A; Gille, C; Lanz, C; Hansmann, Y; Piemont, Y; Dehio, C. Invasion and persistent intracellular colonization of erythrocytes. A unique parasitic strategy of the emerging pathogen *Bartonella*. *J. Exp. Med.* 2001 May 7; **193**(9) : 1077-86.

- (70) Seubert, A; Schulein, R; Dehio, C. Bacterial persistence within erythrocytes: a unique pathogenic strategy of *Bartonella* spp. *Int. J. Med. Microbiol.* 2002 Feb; **291**(6-7) : 555-60.
- (71) Shaw, S.E; Birtles, R.J; Day, M.J. Arthropod-transmitted infectious diseases of cats. *J. Feline Med. Surg.* 2001 Dec; **3**(4) : 193-209.
- (72) Simméon, C. *Contribution à l'étude de l'infection des bovins par les bartonelles.* Thèse Med. Vet., Alfort. 2001.
- (73) Tsukahara, M; Tsuneoka, H; Lino, H; Ohno, K; Murano, I. *Bartonella henselae* infection from a dog. *Lancet.* 1998; **352** : 1682.
- (74) Van Saceghem, R. La bartonellose des bovidés au Ruanda. *Bull. Soc. Path. Exot.* 1947; **40** : 334-336.
- (75) Zeaiter, Z; Fournier, P.E; Ogata, H; Raoult D. Phylogenetic classification of *Bartonella* species by comparing *groEL* sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002 Jan; **52**(Pt 1) : 165-71.

# ANNEXES





LE TOUQUET-PARIS-PLAGE

Rapport-gratuit.com

LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES





# **EXPLICATIONS PERMETTANT LA LECTURE DES TABLEAUX 16 A 31**

## **EXPLICATIONS COMMUNES AUX TABLEAUX BACTERIOLOGIQUES (16 A 23) ET SEROLOGIQUES (24 A 31) DE L'ANNEXE 2**

✓ Colonne « RACE »

- 23 : Salers
- 25 : Blanc Bleu Belge
- 34 : Limousine
- 35 : Simmental française
- 38 : Charolaise
- 39 : Croisée
- 41 : Maine Anjou
- 46 : Montbéliarde
- 66 : Prim'Holstein
- 79 : Blonde d'Aquitaine

✓ « delta date (j) » : date du prélèvement – date de naissance = âge au prélèvement

## **EXPLICATIONS PROPRES AUX TABLEAUX BACTERIOLOGIQUES (16 A 23) DE L'ANNEXE 2**

✓ Colonne « GELOSES »

- Nombres (de 50 à 66) et lettres (AB, A, C et D) : géloses au sang de lapin
- MT : géloses au sang de mouton
- c : tube cassé pendant la centrifugation

✓ Colonne « CONTAMINATION »

- + à ++++ : faible à forte contamination de la gélose
- j à +++j : gélose contaminée ou non et ayant été rapidement jetée (moins de 5 jours après ensemencement)

✓ Colonne « TYPAGE PAR PCR »

- I, II, III, I/II : type de *B. bovis* mise en évidence par PCR

## **EXPLICATIONS PROPRES AUX TABLEAUX SEROLOGIQUES (24 A 31) DE L'ANNEXE 2**

- ✓ « Pas de c » : pas de cellules sur la lame qui n'est donc pas interprétable
- ✓ Colonne « IF Ig I » (respectivement II et III) : résultat de l'immunofluorescence pour *B. bovis* type I (respectivement II et III) après screening
- ✓ Colonne « titre IF Ig I » (respectivement II et III) : titre en anticorps anti-*B. bovis* type I (respectivement II et III) après dilution
- ✓ « positif » : dilution insuffisante (++) au 1/50) donc animal ayant un titre en anticorps  $\geq 1/100$
- ✓ Colonne « ELISA T1 » (respectivement T2) : densité optique du sérum associé à l'antigène *B. bovis* type I (respectivement II)
- ✓ Colonne « ELISA C1 » (respectivement C2) : densité optique de contrôle (sérum sans antigène)
- ✓ Colonne « ELISA T1-C1 » (respectivement T2-C2) : densité optique retenue comme résultat

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
A	608	F	79	25/10/93	18/12/01	2976	1,5	62	8		63	0	j	
A	620	F	38	22/11/93	18/12/01	2948	4	63	11					
A	657	F	79	12/07/94	18/12/01	2716	2	60	1		62	0	j	
A	679	F	38	05/09/94	18/12/01	2661	3	60	0		62	0		
A	816	F	79	21/02/91	18/12/01	3953	2	62	0	j	63	0	j	
A	826	F	38	04/11/91	18/12/01	3697	2,5	60	1	++	62	1	++	
A	898	F	38	21/11/92	18/12/01	3314	2	63	0	+++j				
A	901	F	38	10/06/91	18/12/01	3844	1		0	+++j				
A	916	F	38	18/04/91	18/12/01	3897	4	62	3		63	0		
A	1297	F	79	31/07/95	18/12/01	2332	2,5	60	0					
A	1317	F	79	12/12/95	18/12/01	2198	3	60	100		62	1		
A	1321	F	38	16/02/96	18/12/01	2132	4,5	62	50		63	50		

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
B	227	F	38	01/02/91	16/01/02	4002	3	55	0		57	0	+	
B	247	F	38	01/03/92	16/01/02	3608	1,5	55	0	j	57	0	j	
B	404	F	38	01/03/94	16/01/02	2878	2	55	4		57	1		
B	406	F	38	01/03/94	16/01/02	2878	2	55	0		57	0		
B	408	F	38	01/03/94	16/01/02	2878	4	55	0		57	0		
B	4568	F	38	26/02/96	16/01/02	2151	2	55	0	j	57	0	j	
B	4636	F	38	07/03/97	16/01/02	1776	2	55	0	j	57	0	j	
B	4638	F	38	16/02/97	16/01/02	1795	2	55	0	+	57	0	+	
B	4645	F	38	14/03/97	16/01/02	1769	2	55	0	+++	57	1000		
B	4697	F	38	09/03/98	16/01/02	1409	2,5	55	124		57	131		
B	4715	F	38	06/04/98	16/01/02	1381	3	55	0	j	57	0	j	
C	341	F	25	22/03/98	19/12/01	1368	3,5	55	1		57	1		
C	1376	F	25	20/09/97	19/12/01	1551	4	c			c			
C	2101	F	25	08/01/98	19/12/01	1441	4	55	3		57	2		
C	2132	F	25	24/03/98	19/12/01	1366	4	c			c			
C	2528	F	25	28/11/97	19/12/01	1482	4	55	0	j	57	0	++	
C	2648	F	25	03/02/98	19/12/01	1415	4	55	0	j	57	0	j	
C	6021	F	25	12/01/98	19/12/01	1437	3	55	0		57	0		
C	9100	F	25	10/10/96	19/12/01	1896	2	55	0	+	57	0		
C	9443	F	25	28/03/94	19/12/01	2823	4	55	0		57	0		
C	9444	F	25	25/01/97	19/12/01	1789	4	57	1	+				
C	9538	F	25	21/03/97	19/12/01	1734	4	c			c			
D	636	F	38	10/01/95	17/01/02	2564	2	65	0	+++	MT	0	+++	
D	640	F	38	23/02/94	17/01/02	2885	2	66	0	+++j	MT	0	+++j	
D	650	F	38	11/03/94	17/01/02	2869	2,5	54	0	++	MT	0	++j	
D	995	F	38	24/03/93	17/01/02	3221	4	54	0		MT	0		
D	2602	F	38	19/02/95	17/01/02	2524	2	AB	0	+	MT	0		
D	2659	F	38	19/02/98	17/01/02	1428	1	AB	0	+++j	MT	0	+++j	
D	2664	F	38	24/02/98	17/01/02	1423	2	AB	0	+	MT	0	+	
D	2730	F	38	17/04/00	17/01/02	640	2,5	AB	0	++	MT	0	++	
D	2735	F	38	06/07/00	17/01/02	560	2	AB	1500	+++	MT	1500		I
D	5303	M	38	29/11/98	17/01/02	1145	2,5	53	26		MT	1		

**TABLEAU 17 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DES ELEVAGES « B, C, D »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
E	499	F	38	19/12/94	17/01/02	2586	3	66	1		MT	0		
E	540	F	38	11/02/91	17/01/02	3993	4	50	0		MT	0		
E	3403	F	38	01/01/93	17/01/02	3303	1,5	AB	0	+++j	MT	8	+	III
E	3445	F	38	11/02/93	17/01/02	3262	1,5	AB	0	+++j	MT	0	+++j	
E	4163	F					5	50	4	+	MT	0		I
E	5255	F	38	08/01/97	17/01/02	1835	4	50	2	+++j	53	3	+++j	
E	5279	F	38	16/12/97	17/01/02	1493	1	63	0	++	MT	0	+	
E	5325	F	38	01/12/99	17/01/02	778	2,5	53	0		63	0		
E	5334	F	38	26/02/00	17/01/02	691	3	53	33		MT	6	+++	
E	5338	F	38	30/03/00	17/01/02	658	2,5	53	0		MT	0		
E	5339	F	38	04/04/00	17/01/02	653	4,5	53	1	++j	MT	2	+	
E	5341	F	38	12/04/00	17/01/02	645	3	53	450		MT	500	++	
E	5343	F	38	20/04/00	17/01/02	637	3	61	0	+++	MT	0	+	
E	5345	F	38	20/07/00	17/01/02	546	4	53	9		MT	14		
E	5348	F	38	03/12/00	17/01/02	410	3	AB	0	+++	MT	0	+++	
E	5350	M	38	05/12/00	17/01/02	408	2,5	AB	500	+	MT	5	+	I
E	5355	F	38	01/01/01	17/01/02	381	2	AB	1500	+	MT	20	+	I
F	332	F	39	26/08/94	21/01/02	2705	4	53	4	+	MT	0		
F	747	F	38	12/03/91	21/01/02	3968	4	AB	0		MT	0		
F	3263	F	38	09/02/98	21/01/02	1442	2,5	50	80	++	MT	6	+	I
F	3268	F	38	23/02/98	21/01/02	1428	4	AB	1500		MT	0	+	I
F	3274	F	38	14/03/98	21/01/02	1409	5	53	83		MT	19		II
F	4878	F	39	07/08/95	21/01/02	2359	4	AB	0		MT	0	++	
F	4881	F	39	25/08/95	21/01/02	2341	2,5	AB	0	+++	MT	3	++	
F	4882	F	39	17/09/95	21/01/02	2318	2,5	AB	5		MT	19		I
F	4941	F	25	11/04/97	21/01/02	1746	3,5	AB	350		MT	0		I
F	4943	F	39	27/04/97	21/01/02	1730	2,5	AB	0	+	MT	0	+	
F	4950	F	25	27/09/97	21/01/02	1577	2	AB	0	+	MT	0	+	
F	4962	F	25	05/12/97	21/01/02	1508	4	AB	80		MT	0		I
F	5005	F	38	01/10/98	21/01/02	1208	5	53	23	+++j	MT	0		
F	5011	F	38	19/01/99	21/01/02	1098	4	AB	43		MT	12		I
F	5020	F	38	13/03/99	21/01/02	1045	3,5	53	500		MT	1	++	
F	8106	F	38	16/02/98	21/01/02	1435	3	53	50	+	MT	15	+	I

**TABLEAU 18 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DES ELEVAGES « E, F »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
G	710	F	66	08/09/93	23/01/02	3059	3,5	56	30					
G	2572	F	66	07/12/95	23/01/02	2239	2,5	59	150					
G	2881	F	66	23/12/98	23/01/02	1127	3	56	30	+j				
G	3921	F	66	16/02/96	23/01/02	2168	3,5	56	0					
G	4032	F	66	01/03/95	23/01/02	2520	2	59	30					
G	4042	F	66	20/12/95	23/01/02	2226	3,5	59	1000					
G	4050	F	66	20/10/96	23/01/02	1921	3	56	0					
G	4078	F	66	01/02/98	23/01/02	1452	2,5	56	0					
G	4122	F	66	15/06/99	23/01/02	953	3	59	1000					
G	4765	F	66	25/11/95	23/01/02	2251	2	56	0					
G	4934	F	66	10/05/96	23/01/02	2084	3,5	59	0	j				
G	6263	F	66	24/09/95	23/01/02	2313	3,5	56	0					
G	6535	F	66	28/08/95	23/01/02	2340	1	56	0	+				
G	6538	F	66	31/08/95	23/01/02	2337	3,5	59	1					
G	6684	F	66	15/05/99	23/01/02	984	2,5	56	80					
G	7198	F	66	20/06/98	23/01/02	1313	3,5	59	0					
H	703	F	66	01/10/90	31/01/02	4140	3	57	0	+	MT	0		
H	5040	F	39	17/04/95	31/01/02	2481	2,5	66	0		MT	52		I
H	5041	F	39	19/04/95	31/01/02	2479	2,5	57	0	+	MT	6	++	
H	5042	F	39	23/04/95	31/01/02	2475	4	57	0		MT	0		
H	5049	F	39	10/11/95	31/01/02	2274	2,5	A	15		MT	5	+	
H	5078	F	38	22/03/97	31/01/02	1776	2	C	31		MT	25		
H	5083	F	39	30/03/97	31/01/02	1768	2,5	D	0	+++j	MT	0	+++j	
H	5091	F	39	15/01/98	31/01/02	1477	2,5	57	0	+	MT	15	+	I
H	5092	F	39	20/01/98	31/01/02	1472	3	A	200	+	MT	140		
H	5096	F	39	15/02/98	31/01/02	1446	3,5	57	0		MT	0		
H	5098	F	38	21/02/98	31/01/02	1440	3	66	0		MT	0		
H	5099	F	39	23/02/98	31/01/02	1438	2,5	D	60	+	MT	100	+	
H	5104	F	39	28/02/98	31/01/02	1433	3	A	50	++	MT	0	+++	
H	5114	F	39	20/05/98	31/01/02	1352	3	57	0	+++	MT	3		
H	5133	F	39	02/04/99	31/01/02	1035	2,5	A	1	+	MT	15		

**TABLEAU 19 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DES ELEVAGES « G, H »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
I	1911	F	66	07/10/97	31/01/02	1577	2,5	55	4	+++	MT	0	+++j	
I	3617	F	66	17/09/95	31/01/02	2328	2	64	2	+++	MT	0	+	
I	5075	F	66	10/08/95	31/01/02	2366	3,5	55	6	++	MT	0	+++j	
I	5085	F	66	05/10/95	31/01/02	2310	3,5	55	0	+	MT	0		
I	5090	F	66	23/11/95	31/01/02	2261	2	54	0	+++j	MT	0	+	
I	5116	F	66	12/09/96	31/01/02	1967	4	61	1		MT	6		I
I	5151	F	66	10/04/97	31/01/02	1757	3	61	0	+++	MT	60	+++	
I	5154	F	66	27/08/97	31/01/02	1618	4	54	80		MT	3	+	I / II
I	5169	F	66	28/11/97	31/01/02	1525	3	61	2	+++j	MT	0	+++j	
I	5171	F	66	10/12/97	31/01/02	1513	2,5	50	0	+++j	MT	0	++	
I	5172	F	66	12/12/97	31/01/02	1511	4	54	200	++	MT	0	+++j	I
I	5178	F	66	05/01/98	31/01/02	1487	3,5	50	3		MT	1		I
I	5200	F	66	07/09/98	31/01/02	1242	4	50	45	+++	MT	0		
I	5202	F	66	22/09/98	31/01/02	1227	3,5	54	30	+	MT	0	+++j	I
I	5209	F	66	21/11/98	31/01/02	1167	3	50	0	+++j	MT	0		
J	628	F	79	20/09/94	31/01/02	2690	2,5	55	45	+	MT	4	+	I
J	702	F	38	28/01/91	31/01/02	4021	4	55	33	+	MT	2	+	I
J	1510	F	39	10/02/00	31/01/02	721	2	54	100	+++	MT	12	++	
J	1537	F			31/01/02		4	55	1		MT	0	+++	I
J	1540	F	38	06/03/98	31/01/02	1427	2,5	55	60		MT	0	+	I
J	2073	F	38	24/05/98	31/01/02	1348	3	54	110		MT	1		I
J	4444	F	39	12/04/98	31/01/02	1390	3	54	0	+	MT	0	+	I
J	4463	F	39	05/05/99	31/01/02	1002	3	54	1500	+	MT	25	+++j	I
J	4475	F	39	13/05/00	31/01/02	628	3	54	0	+++j	MT	0	+++j	
J	4477	F	38	19/05/00	31/01/02	622	3	54	8	++++	MT	0	+	
J	4479	F	39	18/06/00	31/01/02	592	2,5	54	1500		MT	450		I
J	4482	F	38	30/08/00	31/01/02	519	3	55	120	+++	MT	200	+++	
J	4483	F	39	10/03/01	31/01/02	327	2	55	0	+++j	MT	0	++j	
J	4484	F	39	13/03/01	31/01/02	324	1	55	0	++	MT	0		
J	6815	F	25	25/06/95	31/01/02	2412	3	54	0	++	MT	0	+	

**TABLEAU 20 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DES ELEVAGES « I, J »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
K	6	F	41	02/03/94	31/01/02	2892	2,5	D	100	++	MT	4	++	
K	51	F	41	08/03/95	31/01/02	2521	2,5	D	300	+	MT	31		
K	347	F	41		31/01/02		4,5	65	13		MT	0		
K	369	F	41	02/01/91	31/01/02	4047	3	61	0	++	MT	0	+	
K	430	F	41		31/01/02		4	65	0		MT	0	+	
K	562	F	41	09/01/95	31/01/02	2579	3,5	A	10	+	MT	0		
K	606	F	41	10/06/91	31/01/02	3888	4	64	0	++	MT	0	++	
K	630	F	41	22/03/95	31/01/02	2507	4	D	80	++	MT	80		
K	654	F	41	19/01/93	31/01/02	3299	3,5	61	0		MT	0		
K	672	F	41	20/06/93	31/01/02	3147	2,5	64	0	+++j	MT	0	+++j	
K	766	F	41	19/06/92	31/01/02	3513	2,5	D	0	++	MT	0	+++	
K	861	F	41	01/01/94	31/01/02	2952	3	61	20		MT	0		
K	886	F	41	25/10/92	31/01/02	3385	1,5	C	6	++	MT	1	j	
K	892	F	41	14/12/94	31/01/02	2605	3,5	A	0		MT	0		
K	1005	F	41	19/12/95	31/01/02	2235	3,5	C	1000		MT	73		
K	1009	F	41	21/01/96	31/01/02	2202	3	D	1	+	MT	1	+	
L	412	F	23	15/03/90	01/02/02	4341	2	54	70		MT	0	+	I
L	2998	F	38	16/07/98	01/02/02	1296	1	54	1500	+	MT	5	+	
L	3011	F	38	16/10/98	01/02/02	1204	3	53	1500		MT	300		I
L	3032	F	39	15/07/99	01/02/02	932	2	53	5		MT	0	+++j	I
L	3035	F	39	18/08/99	01/02/02	898	4	53	1500		MT	3		I
L	3044	F	39	03/10/99	01/02/02	852	3	53	36	+	MT	0		I
L	3050	F	39	08/03/00	01/02/02	695	2	53	1500	+++	MT	1500	++	
L	3052	F	39	09/03/00	01/02/02	694	3	53	9		MT	0		II
L	3053	F	39	20/03/00	01/02/02	683	2	53	500	+	MT	1		I
L	3054	F	39	04/04/00	01/02/02	668	3	53	12		MT	0		I
L	3056	F	46	21/04/00	01/02/02	651	2,5	54	1500		MT	1500	+	I
L	3057	F	39	01/05/00	01/02/02	641	3	53	1500		MT	15		I
L	3058	F	39	19/05/00	01/02/02	623	1	54	14		MT	0	+	I
L	3232	F	35	06/10/96	01/02/02	1944	2	53	3	+++	MT	11		I / II
L	9562	F	46	10/01/94	01/02/02	2944	2	54	500		MT	500		II

**TABLEAU 21 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DES ELEVAGES « K, L »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géluses	nombre de colonies	contamination	géluses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
M	28	F	79	20/10/93	01/02/02	3026	3	66	0	+	MT	300		
M	31	F	79	12/10/93	01/02/02	3034	3,5	66	0		MT	0		
M	71	F	34	20/06/94	01/02/02	2783	2	66	0		MT	0		
M	79	F	34	05/06/94	01/02/02	2798	2	66	0		MT	0		
M	134	F	39	10/02/92	01/02/02	3644	3	66	0		MT	2		
M	137	F	39	15/02/92	01/02/02	3639	2,5	57	0	j	MT	0	j	
M	138	F	39	15/02/92	01/02/02	3639	1,5	57	0		MT	0		
M	183	F	38	10/05/93	01/02/02	3189	3,5	57	0		MT	50	+	I
M	4179	F	39	05/08/96	01/02/02	2006	2	53	17		MT	3		I
M	4211	F	39	26/02/97	01/02/02	1801	3	57	0		MT	90		I
M	4227	F	39	20/08/97	01/02/02	1626	3,5	66	0		MT	0		
M	4242	F	39	28/10/97	01/02/02	1557	2,5	66	0		MT	13	+	I
M	4251	F	39	23/11/97	01/02/02	1531	1	54	60		MT	9		I
M	4252	F	39	26/11/97	01/02/02	1528	3,5	66	0		MT	14		
M	4361	F	25	10/08/99	01/02/02	906	3	54	1500	++	MT	0	+++	

**TABLEAU 22 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DE L'ELEVAGE « M »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	volume du prélèvement (mL)	géloses	nombre de colonies	contamination	géloses	nombre de colonies	contamination	typage par PCR/RFLP
N	218	F	38	15/10/93	05/12/01	2973	4	50	0		53	0		
N	304	F	38	20/11/89	05/12/01	4398	2	50	0		53	70		
N	729	F	38	08/11/92	05/12/01	3314	2	50	1		53	2	+	
N	744	F	38	09/01/93	05/12/01	3252	4	50	300		53	1000		
N	757	F	38	28/01/94	05/12/01	2868	2	50	0		53	0		
N	4527	F			05/12/01		3	50	2		53	1		
N	5303	F	79	25/03/96	05/12/01	2081	2	50	3	+	53	4		
N	5390	F	38	23/02/97	05/12/01	1746	1,5	50	60		53	60		
N	5507	F	38	14/12/97	05/12/01	1452	3,5	50	1500		64	1500		
N	5517	F	38	02/03/98	05/12/01	1374	4	50	1500		53	1500		
N	5523	F	79	11/01/99	05/12/01	1059	3,5	50	0		53	0		
N	5524	F	79	11/01/99	05/12/01	1059	2,5	50	0	j	64	78		
N	5525	F	38	12/01/99	05/12/01	1058	2	50	22		53	27		
N	5545	F	79	23/01/99	05/12/01	1047	2,5	50	0		53	0		
N	5548	F	25	25/01/99	05/12/01	1045	4	50	0		53	3	+	
N	5549	F	38	26/01/99	05/12/01	1044	3	50	0	+	53	800		
N	5551	F	38	27/01/99	05/12/01	1043	1,5	50	1500		64	1500		
N	5554	F	38	30/01/99	05/12/01	1040	1,5	50	70		64	200		
N	5555	F	38	31/01/99	05/12/01	1039	3	50	100		64	150		
N	5556	F	38	01/02/99	05/12/01	1038	3	50	17		53	28		
N	5559	F	38	01/02/99	05/12/01	1038	4	50	22		64	20		
N	5560	F	38	02/02/99	05/12/01	1037	4	50	70		53	100		
N	5577	F	38	08/04/99	05/12/01	972	4	50	100		53	200		
N	5579	F	38	04/09/99	05/12/01	823	4	50	90		64	80		
N	5581	F	38	10/04/99	05/12/01	970	4	50	1500		64	1500		
N	5582	F	79	10/04/99	05/12/01	970	3	50	0		53	4		
N	5583	F	38	11/04/99	05/12/01	969	4	50	1		53	2		
N	5587	F	38	13/04/99	05/12/01	967	3,5	50	1500		64	1500		
N	5588	F	38	15/04/99	05/12/01	965	4	50	1500		64	1500		
N	5599	F	38	31/05/99	05/12/01	919	4	50	60		64	60		
N	5601	F	79	02/06/99	05/12/01	917	3	50	60		53	60		
N	5603	F	38	05/06/99	05/12/01	914	3,5	50	1500		64	1500		

**TABLEAU 23 : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DE L'ELEVAGE « N »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2	
A	608	F	79	25/10/93	18/12/01	2976	0	0	++	positif	0/+	1/50	0,367	0,042	0,325	0,165	0,047	0,118	
A	620	F	38	22/11/93	18/12/01	2948	0	0			+	0	0,401	0,044	0,357	0,182	0,046	0,136	
A	657	F	79	12/07/94	18/12/01	2716	0	0	+ / ++	1/50	0/+	0	0,219	0,041	0,178	0,250	0,045	0,205	
A	679	F	38	05/09/94	18/12/01	2661	+	0	0/+	0	+	0	0,248	0,048	0,200	0,136	0,048	0,088	
A	816	F	79	21/02/91	18/12/01	3953	++	1/50	0/+	0	++	1/50	0,570	0,042	0,528	0,422	0,059	0,363	
A	826	F	38	04/11/91	18/12/01	3697	0	0	0/+	0	+ / ++	0	0,198	0,046	0,152	0,117	0,047	0,070	
A	898	F	38	21/11/92	18/12/01	3314	0	0	++	0	+ / + / + / +	1/50	0,610	0,041	0,569	0,124	0,047	0,077	
A	901	F	38	10/06/91	18/12/01	3844	+ / + / +	1/50	0	0	++	0	0,232	0,045	0,187	0,156	0,044	0,112	
A	916	F	38	18/04/91	18/12/01	3897	0	0	0/+	0	0	0	0,318	0,046	0,272	0,206	0,047	0,159	
A	1297	F	79	31/07/95	18/12/01	2332	+ / + / +	0	0/+	0	0/+	0	0,531	0,045	0,486	0,468	0,048	0,420	
A	1317	F	79	12/12/95	18/12/01	2198	0	0	0/+	0	+	0	0,283	0,044	0,239	0,242	0,049	0,193	
A	1321	F	38	16/02/96	18/12/01	2132	0	0	0/+	0	0	0	0,211	0,041	0,170	0,121	0,044	0,077	
A	1322	F	38	26/02/96	18/12/01	2122	+ / + / + / +	0	+ / ++	1/100	0/+	0	0,253	0,043	0,8(21)Tj0	10.02	-10.02	0	222.

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
B	227	F	38	01/02/91	16/01/02	4002	0	0	0	0	0	0	0,228	0,044	0,184	0,207	0,043	0,164
B	247	F	38	01/03/92	16/01/02	3608	0	0	+	0	0	0	0,167	0,040	0,127	0,090	0,043	0,047
B	404	F	38	01/03/94	16/01/02	2878	0	0	+ /+++	0	0	0	0,097	0,051	0,046	0,070	0,041	0,029
B	406	F	38	01/03/94	16/01/02	2878	0	0	++ /++++	1/100	0	0	0,144	0,041	0,103	0,359	0,046	0,313
B	408	F	38	01/03/94	16/01/02	2878	0	0	+	0	0	0	0,463	0,042	0,421	0,294	0,037	0,257
B	4568	F	38	26/02/96	16/01/02	2151	0	0	0	0	0	0	0,274	0,041	0,233	0,258	0,045	0,213
B	4636	F	38	07/03/97	16/01/02	1776	0	0	0	0	+	0	0,174	0,043	0,131	0,204	0,044	0,160
B	4638	F	38	16/02/97	16/01/02	1795	0	0	0/+	0	0	0	0,131	0,043	0,088	0,109	0,045	0,064
B	4645	F	38	14/03/97	16/01/02	1769	0	0	0	0	++	1/50	0,123	0,049	0,074	0,102	0,042	0,060
B	4697	F	38	09/03/98	16/01/02	1409	0	0	+ /+++	1/50	+	0	0,216	0,043	0,173	0,212	0,056	0,156
B	4715	F	38	06/04/98	16/01/02	1381	0	0	0	0	+ /+++	0	0,084	0,038	0,046	0,084	0,046	0,038
C	341	F	25	22/03/98	19/12/01	1368	++	1/50	++	0	0/+	0	0,266	0,043	0,223	0,298	0,046	0,252
C	1376	F	25	20/09/97	19/12/01	1551	0	0	++	0	++	1/50	0,336	0,044	0,292	0,212	0,048	0,164
C	2101	F	25	08/01/98	19/12/01	1441	+	0	++	1/50	+ /+++	1/50	0,164	0,042	0,122	0,095	0,041	0,054
C	2132	F	25	24/03/98	19/12/01	1366	0	0	++	0	0	0	0,183	0,043	0,140	0,135	0,047	0,088
C	2528	F	25	28/11/97	19/12/01	1482	+	0	++ /++++	0	0	0	0,238	0,044	0,194	0,223	0,046	0,177
C	2648	F	25	03/02/98	19/12/01	1415	+ /+++	positif	+++	1/200	++	1/50	1,043	0,048	0,995	0,801	0,046	0,755
C	6021	F	25	12/01/98	19/12/01	1437	0	0	++	0	++ /++++	0	0,464	0,045	0,419	0,138	0,046	0,092
C	9100	F	25	10/10/96	19/12/01	1896	0	0	+ /+++	1/50	0/+	0	0,265	0,045	0,220	0,255	0,046	0,209
C	9443	F	25	28/03/94	19/12/01	2823	0	0	0	0	0/+	0	0,420	0,043	0,377	0,191	0,055	0,136
C	9444	F	25	25/01/97	19/12/01	1789	++ /++++	1/200	+	0	0/+	0	0,292	0,045	0,247	0,186	0,045	0,141
C	9538	F	25	21/03/97	19/12/01	1734	+	0	++	positif	+	0	0,321	0,042	0,279	0,199	0,047	0,152
D	636	F	38	10/01/95	17/01/02	2564	0	0	+ /+++	0	0/+	0	0,187	0,042	0,145	0,114	0,039	0,075
D	640	F	38	23/02/94	17/01/02	2885	0	0	0	0	++	0	0,134	0,046	0,088	0,135	0,046	0,089
D	650	F	38	11/03/94	17/01/02	2869	++	0	0	0	0	0	0,314	0,044	0,270	0,128	0,055	0,073
D	995	F	38	24/03/93	17/01/02	3221	0	0	0	0	0	0	0,120	0,046	0,074	0,112	0,046	0,066
D	2602	F	38	19/02/95	17/01/02	2524	0	0	0	0	0	0	0,294	0,046	0,248	0,137	0,044	0,093
D	2659	F	38	19/02/98	17/01/02	1428	0	0	0	0	0	0	0,265	0,045	0,220	0,254	0,048	0,206
D	2664	F	38	24/02/98	17/01/02	1423	pas de c		++	0	0	0	0,183	0,045	0,138	0,138	0,045	0,093
D	2730	F	38	17/04/00	17/01/02	640	+	0	0	0	0	0	0,423	0,038	0,385	0,175	0,042	0,133
D	2735	F	38	06/07/00	17/01/02	560	+ /+++	1/100	+	0	+	0	0,800	0,055	0,745	0,390	0,062	0,328
D	5303	M	38	29/11/98	17/01/02	1145	0	0	0	0	0/+	0						

**TABLEAU 25 : RESULTATS SEROLOGIQUES DES ELEVAGES «B, C, D »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
E	499	F	38	19/12/94	17/01/02	2586	0	0	0	0	0	0	0,176	0,041	0,135	0,108	0,043	0,065
E	540	F	38	11/02/91	17/01/02	3993	++	1/100	+ / ++	1/50	+ / ++	0	0,369	0,044	0,325	0,348	0,051	0,297
E	3403	F	38	01/01/93	17/01/02	3303	0	0	0	0	0	0	0,098	0,036	0,062	0,111	0,042	0,069
E	3445	F	38	11/02/93	17/01/02	3262	0	0	+	0	0	0	0,219	0,046	0,173	0,160	0,042	0,118
E	4163	F					0		0	0	++	1/50	0,199	0,044	0,155	0,328	0,046	0,282
E	5255	F	38	08/01/97	17/01/02	1835	++ ?	0	+	0	0	0	0,268	0,049	0,219	0,133	0,047	0,086
E	5279	F	38	16/12/97	17/01/02	1493	0	0	+ / ++	0	0	0	0,209	0,046	0,163	0,137	0,044	0,093
E	5325	F	38	01/12/99	17/01/02	778	0	0	0	0	0	0	0,103	0,041	0,062	0,094	0,047	0,047
E	5334	F	38	26/02/00	17/01/02	691	0	0	0	0	+	0	0,218	0,040	0,178	0,093	0,043	0,050
E	5338	F	38	30/03/00	17/01/02	658	0	0	++	1/50	0	0	0,386	0,041	0,345	0,326	0,041	0,285
E	5339	F	38	04/04/00	17/01/02	653	0	0	0	0	0	0	0,185	0,038	0,147	0,148	0,042	0,106
E	5341	F	38	12/04/00	17/01/02	645	0	0	+	0	+ / ++	0	0,429	0,045	0,384	0,374	0,043	0,331
E	5343	F	38	20/04/00	17/01/02	637	0	0	0	0	0	0	0,142	0,047	0,095	0,116	0,048	0,068
E	5345	F	38	20/07/00	17/01/02	546	0	0	0	0	0	0	0,482	0,046	0,436	0,194	0,047	0,147
E	5348	F	38	03/12/00	17/01/02	410	0	0	++	1/50	0	0	0,725	0,042	0,683	0,439	0,040	0,399
E	5350	M	38	05/12/00	17/01/02	408	0	0	0	0	0	0	0,251	0,048	0,203	0,177	0,041	0,136
E	5355	F	38	01/01/01	17/01/02	381	++ / +++	1/100	0	0	+	0	0,985	0,042	0,943	0,575	0,037	0,538
F	332	F	39	26/08/94	21/01/02	2705	0	0	0	0	0	0	0,223	0,047	0,176	0,261	0,048	0,213
F	747	F	38	12/03/91	21/01/02	3968	0	0	0	0								
F	3263	F	38	09/02/98	21/01/02	1442	0	0	++	0	0	0	0,179	0,044	0,135	0,152	0,048	0,104
F	3268	F	38	23/02/98	21/01/02	1428	++ / +++	1/100	++ / +++	1/100	0 / +	0	0,563	0,043	0,520	0,376	0,045	0,331
F	3274	F	38	14/03/98	21/01/02	1409	0	0	+	0	0	0	0,235	0,039	0,196	0,119	0,040	0,079
F	4878	F	39	07/08/95	21/01/02	2359	+	0	0	0	0	0	0,271	0,038	0,233	0,341	0,044	0,297
F	4881	F	39	25/08/95	21/01/02	2341	0	0	+ / ++	0	0	0	0,154	0,046	0,108	0,223	0,048	0,175
F	4882	F	39	17/09/95	21/01/02	2318	++	1/50	+ / ++	0	0	0	0,290	0,043	0,247	0,207	0,046	0,161
F	4941	F	25	11/04/97	21/01/02	1746	0	0	+ / ++	0	++	0	0,199	0,045	0,154	0,194	0,050	0,144
F	4943	F	39	27/04/97	21/01/02	1730	0	0	+ / ++	1/50	++	0	0,427	0,038	0,389	0,429	0,047	0,382
F	4950	F	25	27/09/97	21/01/02	1577	0	0	0	0	+ / ++	0	0,185	0,043	0,142	0,130	0,043	0,087
F	4962	F	25	05/12/97	21/01/02	1508	0	0	0	0	+	0	0,101	0,043	0,058	0,094	0,045	0,049
F	5005	F	38	01/10/98	21/01/02	1208	0	0	0	0	+++	0	0,182	0,042	0,140	0,103	0,049	0,054
F	5011	F	38	19/01/99	21/01/02	1098	+ / ++	1/100	++	1/100	+ / ++	0	0,194	0,040	0,154	0,191	0,041	0,150
F	5020	F	38	13/03/99	21/01/02	1045	++	0	0	0	+	0	0,161	0,043	0,118	0,148	0,047	0,101
F	8106	F	38	16/02/98	21/01/02	1435	0	0	0	0	0	0	0,136	0,043	0,093	0,178	0,043	0,135

**TABLEAU 26 : RESULTATS SEROLOGIQUES DES ELEVAGES «E, F »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
G	710	F	66	08/09/93	23/01/02	3059	++	1/100	++	0	0	0	0,291	0,047	0,244	0,240	0,047	0,193
G	2572	F	66	07/12/95	23/01/02	2239	++	0	0	0	0	0	0,186	0,044	0,142	0,105	0,042	0,063
G	2881	F	66	23/12/98	23/01/02	1127	0/+	0	+/++	0	+	0	0,428	0,044	0,384	0,209	0,048	0,161
G	3921	F	66	16/02/96	23/01/02	2168	+	0	0/+	0	0	0	0,227	0,041	0,186	0,086	0,040	0,046
G	4032	F	66	01/03/95	23/01/02	2520	0	0	+	0	0	0	0,245	0,047	0,198	0,263	0,048	0,215
G	4042	F	66	20/12/95	23/01/02	2226	0	0	0	0	0	0	0,219	0,044	0,175	0,159	0,051	0,108
G	4050	F	66	20/10/96	23/01/02	1921	0	0	++	0	0	0	0,315	0,040	0,275	0,652	0,045	0,607
G	4078	F	66	01/02/98	23/01/02	1452	++	0	+	0	0	0	0,288	0,057	0,231	0,179	0,045	0,134
G	4122	F	66	15/06/99	23/01/02	953	0	0	+/++	0	0	0	0,401	0,046	0,355	0,306	0,042	0,264
G	4765	F	66	25/11/95	23/01/02	2251	++/+++	0	0	0	++/+++	1/100	0,469	0,050	0,419	0,359	0,054	0,305
G	4934	F	66	10/05/96	23/01/02	2084	+	0	0	0	0	0	0,232	0,045	0,187	0,181	0,047	0,134
G	6263	F	66	24/09/95	23/01/02	2313	0	0	0	0	0	0	0,162	0,043	0,119	0,155	0,046	0,109
G	6535	F	66	28/08/95	23/01/02	2340	0	0	++	1/50	+++	1/50	0,633	0,046	0,587	0,349	0,061	0,288
G	6538	F	66	31/08/95	23/01/02	2337	++	0	+	0	0	0	0,393	0,046	0,347	0,408	0,049	0,359
G	6684	F	66	15/05/99	23/01/02	984	++	0	0	0	0	0	0,155	0,049	0,106	0,099	0,041	0,058
G	7198	F	66	20/06/98	23/01/02	1313	++	0	0	0	0	0	0,127	0,044	0,083	0,106	0,040	0,066
H	703	F	66	01/10/90	31/01/02	4140	0	0	0	0	0	0	0,347	0,040	0,307	0,295	0,045	0,250
H	5040	F	39	17/04/95	31/01/02	2481	0/+	0	+	0	0	0	0,133	0,040	0,093	0,112	0,043	0,069
H	5041	F	39	19/04/95	31/01/02	2479	++	0	0	0	0	0	0,310	0,044	0,266	0,185	0,042	0,143
H	5042	F	39	23/04/95	31/01/02	2475	0	0	0	0	0/+	0	0,234	0,041	0,193	0,133	0,038	0,095
H	5049	F	39	10/11/95	31/01/02	2274	0	0	0	0	0	0	0,229	0,038	0,191	0,187	0,043	0,144
H	5078	F	38	22/03/97	31/01/02	1776	0	0	0	0	0	0	0,180	0,041	0,139	0,119	0,040	0,079
H	5083	F	39	30/03/97	31/01/02	1768	0	0	0	0	0	0	0,247	0,037	0,210	0,230	0,045	0,185
H	5091	F	39	15/01/98	31/01/02	1477	0	0	0	0	0	0	0,392	0,047	0,345	0,173	0,042	0,131
H	5092	F	39	20/01/98	31/01/02	1472	0	0	0	0	0	0	0,165	0,040	0,125	0,104	0,039	0,065
H	5096	F	39	15/02/98	31/01/02	1446	0	0	0	0	+/++	1/100	0,374	0,043	0,331	0,147	0,053	0,094
H	5098	F	38	21/02/98	31/01/02	1440	0	0	0	0	0/+	0	0,139	0,041	0,098	0,106	0,041	0,065
H	5099	F	39	23/02/98	31/01/02	1438	0	0	0	0	0	0	0,104	0,041	0,063	0,083	0,045	0,038
H	5104	F	39	28/02/98	31/01/02	1433	0	0	0	0	+	0	0,196	0,044	0,152	0,160	0,044	0,116
H	5114	F	39	20/05/98	31/01/02	1352	+/++	1/50	+++	0	+	0	0,173	0,046	0,127	0,116	0,042	0,074
H	5133	F	39	02/04/99	31/01/02	1035	+	0	0	0	+	0	0,260	0,043	0,217	0,153	0,041	0,112

**TABLEAU 27 : RESULTATS SEROLOGIQUES DES ELEVAGES «G, H »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
I	1911	F	66	07/10/97	31/01/02	1577	++	0	0	0	+	0	0,258	0,036	0,222	0,317	0,041	0,276
I	3617	F	66	17/09/95	31/01/02	2328	0	0	+	0	+	0	0,328	0,040	0,288	0,180	0,039	0,141
I	5075	F	66	10/08/95	31/01/02	2366	++	0	0	0	0	0	0,267	0,044	0,223	0,196	0,043	0,153
I	5085	F	66	05/10/95	31/01/02	2310	++	0	0	0	0	0	0,190	0,043	0,147	0,121	0,045	0,076
I	5090	F	66	23/11/95	31/01/02	2261	+	0	++	0	0	0	0,189	0,052	0,137	0,113	0,041	0,072
I	5116	F	66	12/09/96	31/01/02	1967	0	0	0	0	0	0	0,135	0,043	0,092	0,105	0,042	0,063
I	5151	F	66	10/04/97	31/01/02	1757	+/++	0	0	0	0	0	0,129	0,042	0,087	0,083	0,041	0,042
I	5154	F	66	27/08/97	31/01/02	1618	++/+++	0	+	0	+/++	1/50	0,346	0,041	0,305	0,171	0,050	0,121
I	5169	F	66	28/11/97	31/01/02	1525	0/+	0	++	1/50	+/++	1/100	0,215	0,038	0,177	0,225	0,042	0,183
I	5171	F	66	10/12/97	31/01/02	1513	+/++	0	+/++	1/100	0	0	0,476	0,055	0,421	0,269	0,045	0,224
I	5172	F	66	12/12/97	31/01/02	1511	0	0	0	0	0	0	0,145	0,041	0,104	0,101	0,041	0,060
I	5178	F	66	05/01/98	31/01/02	1487	+/++	0	0	0	+	0	0,265	0,050	0,215	0,225	0,040	0,185
I	5200	F	66	07/09/98	31/01/02	1242	0	0	0	0	0	0	0,130	0,041	0,089	0,093	0,043	0,050
I	5202	F	66	22/09/98	31/01/02	1227	0	0	0	0	0	0	0,108	0,043	0,065	0,089	0,049	0,040
I	5209	F	66	21/11/98	31/01/02	1167	+	0	0	0	0	0	0,163	0,043	0,120	0,140	0,047	0,093
J	628	F	79	20/09/94	31/01/02	2690	++/+++	0	++	1/50	0	0	0,281	0,040	0,241	0,198	0,041	0,157
J	702	F	38	28/01/91	31/01/02	4021	0	0	0	0	0	0	0,144	0,040	0,104	0,145	0,041	0,104
J	1510	F	39	10/02/00	31/01/02	721	+	0	0	0	+/++	1/50	0,313	0,047	0,266	0,174	0,038	0,136
J	1537	F			31/01/02		+/++	1/50	++	0	+	0	0,354	0,056	0,298	0,262	0,042	0,220
J	1540	F	38	06/03/98	31/01/02	1427	0	0	0	0	0	0	0,160	0,040	0,120	0,173	0,041	0,132
J	2073	F	38	24/05/98	31/01/02	1348	+	0	0	0	0	0	0,132	0,042	0,090	0,095	0,040	0,055
J	4444	F	39	12/04/98	31/01/02	1390	0	0	0	0	0	0	0,122	0,047	0,075	0,087	0,041	0,046
J	4463	F	39	05/05/99	31/01/02	1002	0	0	0	0	0	0	0,133	0,044	0,089	0,114	0,046	0,068
J	4475	F	39	13/05/00	31/01/02	628	++	0	0	0	0	0	0,892	0,041	0,851	0,130	0,037	0,093
J	4477	F	38	19/05/00	31/01/02	622	0	0	0	0	++/+++	0	0,572	0,044	0,528	0,379	0,045	0,334
J	4479	F	39	18/06/00	31/01/02	592	0/+	0	0	0	0	0	0,080	0,038	0,042	0,066	0,040	0,026
J	4482	F	38	30/08/00	31/01/02	519	0	0	0	0	0	0	0,282	0,040	0,242	0,287	0,044	0,243
J	4483	F	39	10/03/01	31/01/02	327	++/+++	1/200	++/+++	0	+	0	0,713	0,043	0,670	0,532	0,042	0,490
J	4484	F	39	13/03/01	31/01/02	324	+++/>++	1/50	0	0	++	0	1,129	0,044	1,085	0,759	0,049	0,710
J	6815	F	25	25/06/95	31/01/02	2412	+/++	1/50	++	1/50	0	0	0,797	0,043	0,754	0,375	0,047	0,328

**TABLEAU 28 : RESULTATS SEROLOGIQUES DES ELEVAGES «I, J »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
K	6	F	41	02/03/94	31/01/02	2892	0	0	0	0	0	0	0,120	0,042	0,078	0,086	0,042	0,044
K	51	F	41	08/03/95	31/01/02	2521	0	0	0	0	0	0	0,151	0,044	0,107	0,104	0,041	0,063
K	347	F	41		31/01/02		0	0	0	0	0	0	0,243	0,042	0,201	0,189	0,046	0,143
K	369	F	41	02/01/91	31/01/02	4047	0	0	0/+	0	0	0	0,148	0,041	0,107	0,089	0,043	0,046
K	430	F	41		31/01/02		0	0	0	0	0 ou +++	1/100	0,134	0,040	0,094	0,088	0,045	0,043
K	562	F	41	09/01/95	31/01/02	2579	0	0	0	0	+	0	0,275	0,046	0,229	0,202	0,042	0,160
K	606	F	41	10/06/91	31/01/02	3888	0	0	0	0	+	0	0,216	0,043	0,173	0,175	0,038	0,137
K	630	F	41	22/03/95	31/01/02	2507	0	0	0	0	0	0	0,100	0,039	0,061	0,083	0,043	0,040
K	654	F	41	19/01/93	31/01/02	3299	+	0	0/+	0	0	0	0,238	0,043	0,195	0,105	0,040	0,065
K	672	F	41	20/06/93	31/01/02	3147	0	0	0	0	0	0	0,102	0,040	0,062	0,082	0,043	0,039
K	766	F	41	19/06/92	31/01/02	3513	+	0	0	0	0	0	0,151	0,044	0,107	0,091	0,042	0,049
K	861	F	41	01/01/94	31/01/02	2952	0	0	0	0	0	0	0,167	0,041	0,126	0,105	0,040	0,065
K	886	F	41	25/10/92	31/01/02	3385	0	0	0	0	0	0	0,161	0,045	0,116	0,106	0,042	0,064
K	892	F	41	14/12/94	31/01/02	2605	++/+++	0	0	0	0	0	0,196	0,042	0,154	0,169	0,039	0,130
K	1005	F	41	19/12/95	31/01/02	2235	0	0	0	0	0	0	0,276	0,040	0,236	0,148	0,037	0,111
K	1009	F	41	21/01/96	31/01/02	2202	0	0	0	0	0	0	0,235	0,039	0,196	0,161	0,042	0,119
L	412	F	23	15/03/90	01/02/02	4341	0	0	++	1/50	0	0	0,169	0,043	0,126	0,132	0,044	0,088
L	2998	F	38	16/07/98	01/02/02	1296	++	1/100	++/+++	1/50	+	0	0,726	0,044	0,682	0,188	0,048	0,140
L	3011	F	38	16/10/98	01/02/02	1204	0	0	++	1/50	+ / ++	0	0,158	0,042	0,116	0,141	0,041	0,100
L	3032	F	39	15/07/99	01/02/02	932	0	0	0	0	+ / ++	1/50	0,225	0,044	0,181	0,228	0,049	0,179
L	3035	F	39	18/08/99	01/02/02	898	0	0	0	0	0	0	0,297	0,045	0,252	0,261	0,047	0,214
L	3044	F	39	03/10/99	01/02/02	852	0	0	0/+	0	0	0	0,265	0,044	0,221	0,154	0,044	0,110
L	3050	F	39	08/03/00	01/02/02	695	0	0	0	0	0	0	0,134	0,045	0,089	0,096	0,046	0,050
L	3052	F	39	09/03/00	01/02/02	694	0	0	+++	1/100	0/+	0	1,022	0,043	0,979	0,757	0,049	0,708
L	3053	F	39	20/03/00	01/02/02	683	0	0	0	0	0	0	0,127	0,042	0,085	0,094	0,046	0,048
L	3054	F	39	04/04/00	01/02/02	668	0	0	0	0	++	0	0,697	0,044	0,653	0,265	0,045	0,220
L	3056	F	46	21/04/00	01/02/02	651	++/+++	1/100	+ / ++	0	0	0	0,718	0,044	0,674	0,240	0,047	0,193
L	3057	F	39	01/05/00	01/02/02	641	+ / ++	0	+ / ++	0	0	0	0,355	0,045	0,310	0,251	0,045	0,206
L	3058	F	39	19/05/00	01/02/02	623	0	0	0	0	+ / ++	0	0,906	0,045	0,861	0,409	0,048	0,361
L	3232	F	35	06/10/96	01/02/02	1944	0	0	0	0	0	0	0,365	0,043	0,322	0,226	0,043	0,183
L	9562	F	46	10/01/94	01/02/02	2944	0	0	++	0	0	0	0,185	0,045	0,140	0,172	0,051	0,121

**TABLEAU 29 : RESULTATS SEROLOGIQUES DES ELEVAGES «K, L »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
M	28	F	79	20/10/93	01/02/02	3026	0	0	+ / ++	0	0	0	0,393	0,042	0,351	0,519	0,050	0,469
M	31	F	79	12/10/93	01/02/02	3034	++ / +++	1/50	0 / +	0	+	0	0,189	0,044	0,145	0,217	0,047	0,170
M	71	F	34	20/06/94	01/02/02	2783	0	0	0	0	0	0	0,152	0,042	0,110	0,150	0,048	0,102
M	79	F	34	05/06/94	01/02/02	2798	0	0	0	0	0	0	0,635	0,042	0,593	0,375	0,046	0,329
M	134	F	39	10/02/92	01/02/02	3644	+++	0	0	0	0	0	0,190	0,045	0,145	0,155	0,047	0,108
M	137	F	39	15/02/92	01/02/02	3639	0	0	0	0	0	0	0,189	0,044	0,145	0,178	0,049	0,129
M	138	F	39	15/02/92	01/02/02	3639	+ / ++	0	0	0	0	0	0,183	0,039	0,144	0,107	0,053	0,054
M	183	F	38	10/05/93	01/02/02	3189	0	0	0 / +	0	+	0	0,127	0,041	0,086	0,132	0,047	0,085
M	4179	F	39	05/08/96	01/02/02	2006	++	1/50	+++	1/100	++ / +++	0	0,347	0,052	0,295	0,181	0,050	0,131
M	4211	F	39	26/02/97	01/02/02	1801	+	0	+ / ++	0	++ / +++	1/100	0,334	0,043	0,291	0,133	0,047	0,086
M	4227	F	39	20/08/97	01/02/02	1626	0	0	0	0	+	0	0,234	0,042	0,192	0,169	0,043	0,126
M	4242	F	39	28/10/97	01/02/02	1557	++	0	0	0	0	0	0,450	0,043	0,407	0,190	0,049	0,141
M	4251	F	39	23/11/97	01/02/02	1531	++ / +++	1/200	0	0	++	0	0,697	0,038	0,659	0,435	0,049	0,386
M	4252	F	39	26/11/97	01/02/02	1528	0	0	+	0	0	0	0,334	0,043	0,291	0,199	0,045	0,154
M	4361	F	25	10/08/99	01/02/02	906	++	positif	++	1/50	++	1/50	1,033	0,047	0,986	0,655	0,051	0,604

**TABLEAU 30 : RESULTATS SEROLOGIQUES DE L'ELEVAGE «M »**

nom de l'élevage	numéro du bovin	sexe	race	date de naissance	date du prélèvement	delta date (j)	IF IgG I	titre IF IgG I	IF IgG II	titre IF IgG II	IF IgG III	titre IF IgG III	ELISA T1	ELISA C1	T1-C1	ELISA T2	ELISA C2	T2-C2
N	218	F	38	15/10/93	05/12/01	2973	0	0	++	1/50	0	0	0,348	0,044	0,304	0,442	0,053	0,389
N	304	F	38	20/11/89	05/12/01	4398	++	positif	++	0	0	0	0,322	0,044	0,278	0,301	0,052	0,249
N	729	F	38	08/11/92	05/12/01	3314	0	0	0	0	+++	0	0,189	0,052	0,137	0,115	0,041	0,074
N	744	F	38	09/01/93	05/12/01	3252	0/+	0	+/>++	0	0	0	0,355	0,043	0,312	0,204	0,053	0,151
N	757	F	38	28/01/94	05/12/01	2868	+	0	0	0	0	0	0,203	0,044	0,159	0,169	0,049	0,120
N	4527	F			05/12/01		+/>++	0			0/+	0	0,484	0,043	0,441	0,226	0,045	0,181
N	5303	F	79	25/03/96	05/12/01	2081	+	0	+/>++	0	0	0						
N	5390	F	38	23/02/97	05/12/01	1746	0	0	0	0	0	0	0,215	0,045	0,170	0,158	0,051	0,107
N	5507	F	38	14/12/97	05/12/01	1452	0	0	0	0	0	0	0,138	0,042	0,096	0,119	0,046	0,073
N	5517	F	38	02/03/98	05/12/01	1374	++	0	0	0	0	0	0,150	0,044	0,106	0,125	0,046	0,079
N	5523	F	79	11/01/99	05/12/01	1059	0	0	0/+	0	+/>++	0	0,256	0,042	0,214	0,080	0,042	0,038
N	5524	F	79	11/01/99	05/12/01	1059	++	0	0	0	0	0	0,233	0,044	0,189	0,230	0,043	0,187
N	5525	F	38	12/01/99	05/12/01	1058	0	0	0	0	0	0	0,290	0,043	0,247	0,098	0,044	0,054
N	5545	F	79	23/01/99	05/12/01	1047	+	0	0	0	0/+	0	0,189	0,042	0,147	0,276	0,043	0,233
N	5548	F	25	25/01/99	05/12/01	1045	0	0	0	0	0	0	0,075	0,040	0,035	0,072	0,039	0,033
N	5549	F	38	26/01/99	05/12/01	1044	+/>++	0	0	0	0	0	0,158	0,042	0,116	0,143	0,046	0,097
N	5551	F	38	27/01/99	05/12/01	1043	++	1/50	0	0	0	0	0,231	0,041	0,190	0,191	0,041	0,150
N	5554	F	38	30/01/99	05/12/01	1040	0	0	0	0	+	0	0,189	0,044	0,145	0,165	0,047	0,118
N	5555	F	38	31/01/99	05/12/01	1039	0	0	0	0	++	0	0,226	0,041	0,185	0,143	0,044	0,099
N	5556	F	38	01/02/99	05/12/01	1038	++	1/50	0	0	+/>++	0	0,282	0,039	0,243	0,222	0,041	0,181
N	5559	F	38	01/02/99	05/12/01	1038	0/+	0	0	0	0	0	0,352	0,045	0,307	0,171	0,048	0,123
N	5560	F	38	02/02/99	05/12/01	1037	++	0	0	0	+/>++	1/100	0,213	0,043	0,170	0,182	0,045	0,137
N	5577	F	38	08/04/99	05/12/01	972	0	0	++	0	0	0	0,144	0,044	0,100	0,124	0,043	0,081
N	5579	F	38	04/09/99	05/12/01	823	0	0	0	0	+/>++	1/50	0,311	0,045	0,266	0,315	0,047	0,268
N	5581	F	38	10/04/99	05/12/01	970	+++	1/100	0	0	++	1/50	0,249	0,047	0,202	0,220	0,049	0,171
N	5582	F	79	10/04/99	05/12/01	970	++	1/50	+	0	0	0	0,143	0,041	0,102	0,127	0,045	0,082
N	5583	F	38	11/04/99	05/12/01	969	0	0	0	0	0	0	0,194	0,046	0,148	0,175	0,048	0,127
N	5587	F	38	13/04/99	05/12/01	967	0	0	0	0	0	0	0,131	0,042	0,089	0,105	0,047	0,058
N	5588	F	38	15/04/99	05/12/01	965	0	0	0	0	0	0	0,167	0,045	0,122	0,146	0,047	0,099
N	5599	F	38	31/05/99	05/12/01	919	0	0	0	0	++	1/100	0,191	0,044	0,147	0,109	0,046	0,063
N	5601	F	79	02/06/99	05/12/01	917	++	positif	+	0	+/>++	1/50	0,221	0,074	0,147	0,131	0,044	0,087
N	5603	F	38	05/06/99	05/12/01	914	+	0			++	1/100	0,341	0,046	0,295	0,290	0,047	0,243

**TABLEAU 31 : RESULTATS SEROLOGIQUES DE L'ELEVAGE «N »**

