**Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaire de Mr Rahal Mohamed**

**Génotypage de coxiella burnetii, chlamydia spp et leptospira spp détectées dans des tissus placentaires chez des vaches laitières ayant avorté dans le nord de l'Algérie**

**Alger, École Nationale Supérieure Vétérinaire : 2019**

**Résumé** :

 L'avortement chez les ruminants représente une préoccupation économique importante pour les éleveurs. Les agents pathogènes, tels que, CoxiellaburnetiiChlamydiaspp, Leptospiraspp, sont parmi les principales causes infectieuses de l'avortement et nécessitent un diagnostic rapide et fiable. L'importance de l'infectiosité de ces bactéries est également due à leur potentiel zoonotique, qui représente un risque constant pour la santé humaine. La présente étude a été conçue pour rechercher la présence et le génotypage deC. burnetii, Chlamydia spp et Leptospirasppdans les tissus placentaires prélevés à partir des vaches laitières en cours de vêlage ou de l’avortement en Algérie, en utilisant la biologie moléculaire. Un total de 77 fragments de tissus placentaires ont été prélevés chez des vaches laitières. 73 échantillons ont été prélevés chez des vaches ayant avortées et quatre échantillons ont été prélevés chez des vaches avec vêlages naturels durant une période de deux ans, de janvier 2013 à mars 2015 dans quatre wilayas à savoir Blida, Médéa, Bouira et Bordj Bou Arreridjdu nord d’Algérie. La présence de Coxiellaburnetii, Chlamydia spp, et Leptospiraspp dans ces échantillons a été établi par PCR en temps réel (RT-PCR), ciblant les gènes IS1111 et IS30 A pour la recherche de coxiellaburnetii, le gène 23S rRNA pour la recherche des Chlamydia spp et le gène rrs (16 S) pour Leptospiraspp. Les amplicons positifs ont ensuite été séquencés pour la détermination des génotypes circulant au sein de notre population bovine, pour Coxiella burnetii on a procédé à un séquençage des zones intergéniques (MST) en utilisant sept paires de séquences à savoir (Cox2, Cox5, Cox18, Cox37, Cox56, Cox57, et Cox61). Alors que pour les Chlamydia spp on a utilisé cinq paires d’amorces qui sont 16S1, 16S2 ; rRNAla, rRNAlb ; rRNA01, rRNA02 ; rRNA03, rRNA04 ; rRNA4b, rRNA4a. Quatorze échantillons placentaires (19,1%) ont été trouvés positifs pour C. burnetii par RT-PCR ; 9 (12,3%) à de Blida et 5 (6,84%) à de Médéa. Le génotypage des amplicons correspondants a montré une identité de 100% avec le génotype MST20, ce qui confirme la circulation de ce génotype dans les fermes laitières algériennes. Alors que pour les Chlamydia douze échantillons (16.4 %) ont montré des résultats positifs par RT-PCR tout essai de séquençage a échoué à l’exception d’un seul prélèvement et avec un seul gène qui a montré une similarité de 94% (102/109 pb) avec la souche de Chlamydia psittaci. Pour ce qui est des leptospiraSpp sa recherche par RT-PCR a donné un résultat négatif pour tous les échantillons utilisés dans cette étude

**Abstract:**

Abortion in ruminants is an important economic problem. Pathogens bacteria, such as Coxiella burnetii, Chlamydia spp, and Leptospiraspp, are ranked among the most infectious causes of abortion that require rapid and reliable diagnosis. The importance of infectivity of these bacteria is also due to their zoonotic potential, which represents a constant risk to human health. The present study was designed to search for the presence and the genotyping of C. Burnetii, Chlamydia spp, and Leptospiraspp in placental tissues collected from aborted and normal calving dairy cows in Algeria, using molecular tools. A total of 77 placental tissue fragments were collected from dairy cows. 73 samples were collected from aborted cows and four samples were collected from natural calving cows over a period of two years from January 2013 to March 2015 in four provinces, which are Blida, Medea, BouiraetBordjBouArreridj. The presence of C. burnetii, Chlamydia spp., and Leptospirasppin these samples was screened by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), targeting two different genes, IS1111 and IS30 A for the research of C. burnetii, the gene 23S rRNA for Chlamydiaspp and rrs (16 S) forLeptospira spp. The positive ampliconswere subsequently sequenced to determine the circulating genotypes in dairy cattle, for C. burnetii the Multispacer Sequence Typing (MST) was chosen, using seven pairs of sequences (Cox2, Cox5, Cox18, Cox37, Cox56, Cox57, and Cox61). Whereas for Chlamydia spp five primer pairs were used which are 16S1, 16S2 ; rRNAla, rRNAlb ; rRNA01, rRNA02 ; rRNA03, rRNA04 ; rRNA4b, rRNA4a. Fourteen placental tissues (19.1%) were found to be positive for C. burnetii by qPCR; 9 (12.3%) from the city of Blida and 5 (6.84%) from the city of Medea. Genotyping of the corresponding amplicons displayed 100% identity with C. burnetii MST20 genotype, confirming the circulation of this clone in dairy farms from Algeria. While for Chlamydia Spp twelve samples (16.4%) showed positive results by RT-PCR all sequencing tests failed except for one sample and with a single gene that showed 94% similarity (102/109 pb) with Chlamydia psittacistarin. Concerning leptospiraSpp, its search by RT-PCR gave à negative result for all the samples used in this study