

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1

Institut des Sciences Vétérinaires

THESE DE DOCTORAT

en Sciences Vétérinaires

**Détection et génotypage des *Chlamydiaceae*
responsables de la chlamydie abortive chez les petits
ruminants dans certaines régions d'Algérie**

Par

Salah Eddine MERDJA

Devant le jury composé de :

M. BACHIR PACHA	Professeur, U. Blida 1	Président
A. GABLI	Professeur, U. Constantine 1	Examineur
A. HAKEM	Maitre de conférences (A), U. Djelfa	Examineur
A. BOUYOUCEF	Professeur, U. Blida1	Directeur de thèse
K. LAROUCAU	Maitre de recherche (HDR) ANSES, Paris	Co-directrice de thèse

Blida, octobre 2016

RESUME

La chlamydie abortive est une maladie largement répandue à travers le monde. Elle est causée essentiellement par *Chlamydia abortus*, bactérie à multiplication intracellulaire obligatoire, qui se transmet essentiellement par ingestion ou inhalation de matières infectées, causant principalement des avortements et des troubles de la reproduction chez les petits ruminants, accompagnés d'élimination de bactéries dans l'environnement, ce qui constitue aussi un risque pour la santé publique.

En Algérie, la situation épidémiologique est caractérisée par un manque d'informations relatives à cette maladie.

Notre travail a donc pour objectifs, de connaître le statut sérologique, de détecter et de procéder au génotypage des souches circulantes responsables de la chlamydie abortive, de les comparer aux souches de référence et enfin, de les cultiver sur les œufs embryonnés.

Afin de détecter la présence de ces bactéries, des sérums et des écouvillons vaginaux ont été collectés sur des brebis et des chèvres ayant avorté et mis-bas avec des antécédents d'avortements dans 35 cheptels répartis dans plusieurs régions du pays.

Au total, 226 prélèvements sanguins et 267 prélèvements vaginaux ont été collectés. Deux techniques de diagnostic ont été utilisées à savoir la technique ELISA indirecte et la PCR en temps réel. Ensuite, deux autres techniques (MLVA et MLST) ont été utilisées afin de procéder au génotypage et enfin, la mise en culture sur œufs embryonnés a été réalisée.

L'étude sérologique par la technique ELISA a montré que 15 des 226 échantillons de sérum soit (6.6 %) et 7 des 29 cheptels soit (24.1 %) étaient positifs.

Par la technique PCR en temps réel ciblant les *Chlamydiaceae*, 49 sur 267 soit (18.3%) des échantillons se sont révélés positifs. Ces quarante neuf (49) échantillons positifs ont été ré-analysés à l'aide des PCR en temps réel ciblant spécifiquement les espèces *C. abortus* et *C. pecorum*. Seize (16) échantillons soit (32.6 %) ont été typés comme appartenant à l'espèce *C. abortus* et 13

échantillons soit (26.5 %) ont été typés comme appartenant à l'espèce *C. pecorum*.

Un génotypage par MLVA a été réalisé pour les 16 échantillons appartenant à l'espèce *C. abortus*. Les résultats obtenus ont montré que 11 échantillons avaient le même profil et qu'ils étaient apparentés au génotype 2, génotype majoritairement observé parmi les souches françaises.

Par la technique MLST, 3 échantillons génotypés appartenant à l'espèce *C. pecorum* présentaient des séquences identiques et s'apparentaient au groupe des souches VB2, E58, AB10 et SBE, souches considérées comme étant fortement pathogènes. Un 4^{ème} échantillon positif en *C. pecorum* a montré un profil MLST différent après un séquençage.

La mise en culture sur œufs embryonnés de 15 échantillons vaginaux positifs en PCR en temps réel, n'a pas aboutit à leur isolement.

Les résultats obtenus par les différentes techniques utilisées, confirment donc une implication des souches de *C. abortus* et *C. pecorum* dans les avortements des petits ruminants en Algérie.

Mots clés: *Chlamydia*, Petits ruminants, ELISA indirect, PCR en temps réel, MLVA, MLST.

SUMMARY

Chlamydial abortion is a widespread disease throughout the world. This disease is mainly caused by *Chlamydia abortus*, obligate intracellular bacterium, which transmitted by ingestion or inhalation of infected materials, causing abortions and reproductive disorders in small ruminants, accompanied with shedding of bacteria in the environment, *may pose a public health risk*.

In Algeria, the epidemiological situation is characterized by a lack of information about this disease.

The aims of our work were to know the serological status, detect and genotyping of *Chlamydia* strains responsible for the abortive chlamydiosis, compare them with reference strains and cultivate positive samples in embryonated eggs.

In order to detect and genotype *Chlamydia* species, vaginal swabs and serums were collected from aborted females as well as normal-lambing females with antecedent of abortion were selected in 35 herds in several regions of Algeria.

A total of 226 blood samples and 267 vaginal swabs were collected. Two different diagnostic tools were used, indirect ELISA and real time PCR. Other molecular tools (MLVA and MLST) were used for the genotyping. Embryonated egg culture was also used in this study.

A serological study using ELISA test showed 15/ 226 samples (6.6%), from 7/29 farms (24.1%) were positive.

A real-time PCR (Polymerase Chain Reaction) detecting all *Chlamydiaceae*. was used, 49/267 samples (18.3%) were diagnosed positive. These samples (49) were all re-tested with *C. abortus* and *C. pecorum* specific real-time PCR.

Sixteen (16) samples of them (32.6%) were typed as *C. abortus*, thirteen of them (26.5%) were typed as *C. pecorum*.

Genotyping of 16 *C. abortus* samples by MLVA showed 11 samples assigned to the MLVA genotype '2' group which mainly includes French *C. abortus* isolates. Using MLST tool, three were successfully genotyped and showed identical MLST sequences to VB2, AB10, E58 and SBE, a group which includes *C. pecorum* isolates considered as highly pathogenic. A fourth positive sample showed a different MLST profile of *C. pecorum* after sequencing.

Fifteen (15/49) positive vaginal samples were *inoculated* in embryonated eggs, *all results were negative*.

The results obtained using the different diagnostic tools, confirm the involvement of *C. abortus* and *C. pecorum* strains in small ruminants abortions.

Keywords: *Chlamydia*, Small ruminants, Indirect ELISA, Real-time PCR, MLVA, MLST.

المخلص

الإجهاض الكلاميدي عند المجترات الصغيرة مرض واسع الانتشار في جميع أنحاء العالم. وهو ناتج أساسا عن *Chlamydia abortus* ، بكتيريا تتكاثر بصفة خاصة داخل خلايا حقيقيات النوى، من عائلة *Chlamydiaceae* هذه البكتيريا تنتقل عن طريق ابتلاع أو استنشاق مواد ملوثة بالبكتيريا حيث تتسبب في الإجهاض واضطرابات الجهاز التناسلي للحيوانات المجتررة الصغيرة، مصحوبا بتلوث البيئة بالبكتيريا ، والذي يشكل خطرا على الصحة العامة. في الجزائر، يتسم الوضع الوبائي بالافتقار إلى المعلومات حول هذا المرض.

في هذه الدراسة لدينا أهداف محددة وهي، معرفة الوضعية المصلية للحيوانات، الكشف والتنميط الجيني عن سلالات الكلاميديا المسؤولة عن الإجهاض، مقارنتها بالسلالات المرجعية وأخيراً، حقن الكلاميديا في أجنة الدجاج الحية.

من اجل الكشف عن هذه البكتيريا و تركيبها الوراثية، تم جمع عينات دم وعينات مهبلية من أنثى الأغنام و التي او وضعت عاديًا مع سوابق إجهاض الماعز و هذا من 35 قطاع في عدة مناطق من الجزائر. أجهضت 226 عينة دم و 267 عينة مهبلية جمعت و قد استخدم في هذه الدراسة طريقتين للتشخيص: المباشرة و الغير مباشرة.

أظهرت الدراسة المصلية بتقنية ELISA الغير مباشرة أن 15 عينة مصل الدم من 226 أي (6.6 %) كانت إيجابية و 7 قطعان من 29 أي (24.1%) كانت مصابة بالمرض .

كشف البحث الأولي على الكلاميديا ، بواسطة تقنية rt-PCR ، ان (18.3%) من العينات إيجابية. هذه الأخيرة خضعت للتحليل بنفس التقنية السابقة من اجل الكشف عن *C. abortus* و *C. pecorum* على وجه التحديد. ستة عشرة عينة و التي تمثل (32.6%) كانت من نوع *C. abortus* و ثلاثة عشرة منهم (26.5%) فهي من نوع *C. pecorum*

العينات المنتمية لـ *C. abortus* أخضعت للتنميط الجيني بواسطة تقنية MLVA . أثبتت النتائج المتحصل عليها، أن كل العينات تشبه النمط الجيني [2]، هذا الأخير لوحظ بشكل رئيسي بين السلالات البكتيرية الفرنسية.

أظهر التنميط الجيني، بواسطة تقنية MLST ، لثلاثة عينات من نوع *C. pecorum* أنهم من نوع السلالات SBE ، BE58 ، AB10 و VB2 التي تعتبر سلالات جد عدوانية. وأظهرت العينة الرابعة نوع MLST مختلف.

15 عينة مهبلية إيجابية استعملت لحقن الكلاميديا في أجنة الدجاج الحية، لسوء الحظ النتائج كانت سلبية.

النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة تؤكد دور سلالات *C. abortus* و *C. pecorum* في مرض الإجهاض الكلاميدي عند المجترات الصغيرة في الجزائر.

الكلمات المفتاحية:

كلاميديا، المجترات، الصغيرة، ELISA غير المباشرة ، rt-PCR ، MLVA ، MLST

REMERCIEMENTS

Je tiens avant tout à remercier, le Pr. Bouyoucef Abdallah, professeur de l'institut des sciences vétérinaires et chef d'équipe de recherche au laboratoire LBRA, pour m'avoir guidé tout au long de ce travail, et de la confiance qu'il m'a témoigné en m'accueillant dans son équipe de recherche, période dans laquelle j'ai pu jouir de ses enseignements, de sa sympathie et surtout de sa rigueur intellectuelle, mais aussi pour tout le temps qu'il a consacré à la correction de mon manuscrit, je lui suis particulièrement reconnaissant.

Je remercie, le Dr. Laroucau Karine pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire pendant les 18 mois de finalisation de ma thèse. Elle a toujours été disponible pour moi, malgré un emploi du temps assez chargé. Merci Karine pour ton soutien, ta patience et surtout la rigueur scientifique que tu m'as enseignée.

Je voudrais aussi remercier les membres du jury de thèse :
Monsieur le Professeur M. Bachir Pacha, Professeur à l'Université Blida1, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse, Hommages respectueux.

Monsieur le Professeur A. Gabli, Professeur à l'Université Constantine 1, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail, Hommages respectueux.

Docteur A. Hakem, Maître de Conférences à l'Université de Djelfa, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail, Hommages respectueux.

Je tiens aussi à remercier Hamza Khaled, Ali Dahmani, Karim Rahal et Nedjma Lounes pour leur disponibilité et leur sympathie et pour les échanges scientifiques intéressants.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance aux membres de l'unité UZB pour leurs conseils et surtout l'équipe « Chlam », Rachid Aaziz, Fabien Vorimore et Claire Bertin. Merci d'avoir contribué à ce travail.

A l'issue de cette thèse, j'aimerais remercier tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, ont participé à sa réalisation.

Enfin, je tiens à remercier toute ma famille pour m'avoir encouragé pendant ces années de thèse.

TABLE DES MATIÈRES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIÈRES	
LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES	
INTRODUCTION	17
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. HISTORIQUE ET TAXONOMIE DES <i>CHLAMYDIACEAE</i>	19
1.1. Historique	19
1.2. Taxonomie	21
1.3. Les principales <i>Chlamydiaceae</i> d'intérêt médical et vétérinaire	23
2. BIOLOGIE DES <i>CHLAMYDIACEAE</i>	25
2.1. Morphologie	25
2.2. Génétique	25
2.2.1. Génome	25
2.2.2. Plasmide	26
2.3. Différentes formes de <i>Chlamydiaceae</i>	27
2.3.1. Corps élémentaires (CE)	27
2.3.2. Corps réticulés (CR)	29
2.4. Cycle de développement des <i>Chlamydiaceae</i>	30
2.4.1. Attachement	30
2.4.2. Endocytose	30
2.4.3. Transformation des CE en CR	31

2.4.4. Multiplication des CR	31
2.4.5. Différenciation des CR en CE	32
2.4.6. Relargage des CE	33
2.4.7. Persistance	33
2.5. Antigènes des <i>Chlamydiaceae</i>	36
2.5.1. Antigènes non protéiques	36
2.5.1.1. Lipopolysaccharide (LPS)	36
2.5.1.1. Glycolipide	36
2.5.2. Antigènes protéiques	37
2.5.2.1. Protéine majeure de la membrane externe (MOMP)	37
2.5.2.2. Protéines polymorphiques de la membrane externe (Pmp)	39
2.5.2.3. Protéines de la membrane d'inclusion (Inc)	40
2.5.3. Système de sécrétion de type III (T3S) et les projections de surface	41
3. EPIDEMIOLOGIE DE LA CHLAMYDIOSE ABORTIVE CHEZ LES PETITS RUMINANTS	43
3.1. Répartition géographique et prévalence	43
3.2. Transmission des <i>Chlamydiaceae</i>	44
3.2.1. Excrétion de l'agent infectieux	44
3.2.2. Voie naturelle de transmission	44
3.2.3. Transmission entre animaux	44
3.2.4. Transmission à l'homme	45
3.3. Résistance dans le milieu extérieur	45
3.4. Cyclicité de la maladie	45
3.5. Facteurs de risque	46
3.5.1. Facteurs d'introduction	46
3.5.2. Facteurs de diffusion	46

4. EXPRESSION CLINIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIE	47
4.1. Expression clinique	47
4.2. Pathogénie	48
4.3. Immunité	49
4.3.1. Immunité à médiation cellulaire	49
4.3.2. Immunité à médiation humorale	49
4.4. Inoculation expérimentale	49
5. DIAGNOSTIC	51
5.1. Diagnostic direct	51
5.1.1. Prélèvements	51
5.1.2. Examen microscopique	52
5.1.3. Isolement	52
5.1.4. ELISA direct	53
5.1.5. Biologie moléculaire	54
5.1.5.1. Techniques de PCR	54
5.1.5.2. Géotypage moléculaire par les techniques MLVA et MLST	55
5.2. Diagnostic indirect	56
5.2.1. Test de la fixation du complément	56
5.2.2. Immuno-Fluorescence indirecte (IFI)	56
5.2.3. ELISA indirecte	57
6. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES, TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE	58
6.1. Sensibilité aux antibiotiques	58
6.1.1. Méthode d'étude de l'activité des antibiotiques	58
6.1.2. Sensibilité et résistance naturelle	59

6.2. Traitement des petits ruminants contre les infections à <i>Chlamydia</i>	60
6.3. Prophylaxie	61
6.3.1. Mesures d'hygiène	61
6.3.2. Vaccination	61
Conclusion de la partie bibliographique	63
PARTIE EXPERIMENTALE	
7. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE	66
8. MATÉRIEL ET MÉTHODES	
8.1. Animaux	68
8.1.1. Présentation de la zone d'étude	68
8.1.2. Période de l'étude	70
8.1.3. Choix des élevages et des animaux	70
8.1.4. Choix des prélèvements	70
8.1.5. Envoi des prélèvements au laboratoire Anses	72
8.1.6. Analyses des prélèvements au laboratoire Anses	72
8.2. Méthodes utilisées pour le diagnostic	74
8.2.1. Analyse sérologique par ELISA indirect	74
8.2.2. Biologie moléculaire	76
8.2.2.1. L'extraction d'ADN	76
8.2.2.2. Détection et identification des <i>Chlamydiaceae</i> par PCR	77
8.2.2.3. Génotypage de <i>C. abortus</i> par MLVA	81
8.2.2.4. Génotypage de <i>C. pecorum</i> par MLST	84
8.2.3. Isolement des <i>Chlamydia</i> à partir des échantillons positifs	88

9. RÉSULTATS ET DISCUSSION	89
9.1. Sérologie	89
9.2. Détection de <i>Chlamydiaceae</i> par rt-PCR	95
9.3. Détection des espèces de <i>Chlamydia</i> par rt-PCR spécifique espèce	101
9.4. Génotypage de <i>C. abortus</i> et <i>C. pecorum</i>	104
9.5. Isolement des <i>Chlamydia</i> à partir des échantillons positifs	116
10. DISCUSSION GENERALE	117
CONCLUSION GÉNÉRALE	121
RECOMMANDATIONS	123
PERSPECTIVES	124
REFERENCES	125
APPENDICES	153

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 :	Classification actuelle (2015) de la famille des <i>Chlamydiaceae</i>	22
Tableau 2.1 :	Résumé des caractéristiques du génome de <i>C. abortus</i> en comparaison avec les génomes séquencés des autres espèces de <i>Chlamydia</i>	26
Tableau 2.2 :	Présence de plasmides au sein de <i>Chlamydiales</i>	26
Tableau 2.3 :	Comparaison morphologique et fonctionnelle des deux formes de <i>Chlamydia</i>	29
Tableau 8.1:	Milieu réactionnel de la PCR en temps réel pour un échantillon	79
Tableau 8.2 :	Systèmes d'amorces et de sondes utilisés pour différentes PCR en temps réel mis en œuvre dans cette étude	80
Tableau 8.3 :	Mélange réactionnel de la technique MLVA pour un échantillon	82
Tableau 8.4 :	Mélange réactionnel de la technique MLST pour un échantillon	84
Tableau 8.5 :	Amorces utilisées et les conditions d'amplification pour la technique MLST « Yvonne Pannekoek »	85
Tableau 8.6 :	Liste des souches de <i>C. pecorum</i> utilisées dans cette étude	87
Tableau 9.1 :	Echantillons positifs géotypés par les techniques MLVA et/ou MLST	105

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	Modèle schématique de l'enveloppe des CE de <i>C. psittaci</i> 6BC	27
Figure 2.2	Représentation schématique d'un TTS3	28
Figure 2.3	Inclusion cytoplasmique après 15 heures d'une infection par <i>Chlamydia</i>	32
Figure 2.4	Persistance <i>in vivo</i> des <i>Chlamydia</i>	34
Figure 2.5	Cycle de réplication des <i>Chlamydiaceae</i>	35
Figure 2.6	Organisation de la protéine majeure de la membrane externe des <i>Chlamydiaceae</i>	39
Figure 8.1	Cartographie de la zone d'étude	69
Figure 8.2	Prise de sang sur une brebis ayant avortée	73
Figure 8.3	Ecouvillonnage vaginal prélevé sur une brebis ayant avortée	73
Figure 8.4	Lecteur ELISA « Thermo Scientific type Multiskan » à 450 nm utilisé lors du test sérologique	75
Figure 8.5	Kit QIAamp DNA Mini utilisé à l'extraction d'ADN (Qiagen, Courtaboeuf, France)	77
Figure 8.6	Thermocycleur Applied Biosystems (ABI) 7500	79
Figure 8.7	Microtubes préparés contenant le mélange réactionnel et l'ADN de l'échantillon à amplifier lors de la technique MLVA	82
Figure 8.8	Thermocycleurs utilisés pour réaction d'amplification d'ADN lors des techniques MLVA et MLST.	83
Figure 8.9	Appareillage pour migration sur gel d'agarose	83
Figure 8.10	Exemple d'alignement et de comparaison de la séquence du gène <i>fumC</i> de la souche locale (échantillon B032) de <i>C. pecorum</i> avec la séquence <i>fumC</i> des souches virulentes	86
Figure 9.1	Résultats sérologiques des élevages	90
Figure 9.2	Résultats sérologiques par wilaya	91

Figure 9.3	Résultats rt-PCR CH 23S dans chaque wilaya	95
Figure 9.4	Résultats rt-PCR CH23S par élevages	96
Figure 9.5	Expression des courbes d'amplification de la PCR quantitative en temps réel	97
Figure 9.6	Distribution des valeurs Ct des échantillons dans chaque élevage	98
Figure 9.7	Nombre des échantillons positifs des animaux ayant avortés/ mis-bas parmi la brebis et la chèvre	101
Figure 9.8	Photographie de la migration sur gel d'agarose, après amplification par la technique MLVA des 5/11 échantillons à tester	106
Figure 9.9	Séquence nucléotidique du gène oppA de l'échantillon d'ADN (AC069)	106
Figure 9.10	Séquence nucléotidique du gène gatA de l'échantillon d'ADN (AC069)	107
Figure 9.1	Séquence nucléotidique du gène hemN de l'échantillon d'ADN (AC069)	107
Figure 9.12	Séquence nucléotidique du gène enoA de l'échantillon d'ADN (AC069)	107
Figure 9.13	Séquence nucléotidique du gène fumC de l'échantillon d'ADN (AC069)	108
Figure 9.14	Séquence nucléotidique du gène gidA de l'échantillon (AC069)	108
Figure 9.15	Séquence nucléotidique du gène hflX de l'échantillon d'ADN (AC069)	108
Figure 9.16	Classement des souches de <i>C. pecorum</i> et des trois échantillons à partir des séquences de 7 gènes de ménage	112
Figure 9.17	Alignement des séquences oppA de l'échantillon AC069 de <i>C. pecorum</i> et de deux souches de référence de <i>C. pecorum</i> .	113
Figure 9.18	Fenêtre de présentation des données du chromatogramme de la séquence du gène oppA (échantillon d'ADN AC069)	113

Figure 9.19	Alignement des séquences <i>gatA</i> de l'échantillon AC069 de <i>C. pecorum</i> et de dix souches de référence de <i>C. pecorum</i>	114
Figure 9.20	Alignement des séquences <i>hemN</i> de l'échantillon AC069 de <i>C. pecorum</i> et de trois souches de référence de <i>C. pecorum</i>	115

INTRODUCTION

L'Algérie accorde un intérêt particulier à l'élevage des petits ruminants, ayant pour objectif principal l'amélioration des performances de la reproduction et donc de la production. L'avortement d'origine infectieuse constitue sans doute un lourd préjudice pour ces élevages.

Les pertes engendrées s'évaluent sur le plan économique, par la non-vente du produit, par le non-renouvellement des jeunes reproductrices, et par la diminution de la production laitière (en élevage laitier). Sur le plan sanitaire, par le risque de contamination de l'élevage, de l'environnement, ainsi que la transmission des maladies à caractère zoonotique.

Hormis, la brucellose qui fait l'objet d'un programme national de surveillance, les autres agents à l'origine d'avortements infectieux, ne sont pas systématiquement recherchés. Parmi ces agents, *Chlamydia (C.) abortus*, bactérie intracellulaire obligatoire, est responsable, de la chlamydie abortive, maladie largement répandue, affectant de nombreuses espèces animales ainsi que l'homme.

Dans les troupeaux de petits ruminants nouvellement infectés, jusqu'à 30 % des femelles gestantes peuvent avorter suite à une infection à *C. abortus*, ce taux peut même atteindre plus de 60 % pour les troupeaux caprins [1].

Les souches de *C. abortus* affectant les ruminants sont potentiellement transmissibles à l'homme et peuvent s'avérer dangereuses notamment pour les femmes enceintes [1].

Des souches de *C. pecorum* ont été aussi isolées à partir d'avortement de caprin en Tunisie et d'ovin au Maroc [2], [3]. Toutefois, l'incidence des souches de *C. pecorum* dans les avortements reste très faible.

En Algérie, le peu d'informations relatives à la recherche des *Chlamydia* responsables d'avortements nous a donc incités à aborder ce sujet, à commencer par une synthèse bibliographique permettant de nous éclairer sur les différents aspects de la chlamydie abortive, à savoir : les caractéristiques biologiques des espèces de *Chlamydia* impliquées dans les avortements, la répartition géographique, les modalités de transmission, les manifestations cliniques, la physiopathologie de l'infection, les méthodes de diagnostic et les mesures de

prophylaxie. Ensuite, sur la base des informations recueillies, nous estimons qu'il est intéressant d'étudier certains aspects liés à la situation épidémiologique de cette pathologie à savoir :

- Déterminer le statut sérologique des troupeaux par la technique ELISA indirecte.
- Identifier les espèces de *Chlamydia* impliquées dans les avortements par la technique PCR en temps réel.
- Procéder au génotypage moléculaire par les techniques MLVA et MLST.
- Procéder à la mise en culture sur les œufs embryonnés des échantillons positifs en PCR en temps réel.

1. HISTORIQUE ET TAXONOMIE DES *CHLAMYDIACEAE*

1.1. Historique

Les infections à *Chlamydia* sont parmi les premières dans l'humanité. Ils remontent à l'antiquité, des centaines d'années avant Jésus-Christ, avec des papyrus hébreux mentionnant des signes du trachome et son traitement. Ces infections sont connues pour avoir été répandues pendant la Grèce antique et l'empire Romain. Le nom du trachome a été utilisé pour la première fois par un médecin sicilien, Pedanius Dioscorides, en 60 après Jésus-Christ [4].

La lymphogranulomatose vénérienne (LGV), ou maladie de Nicolas-Favre, a probablement été décrite par John Hunter au XVIIIème siècle.

La psittacose a été décrite en 1874 et l'origine aviaire de l'infection a été montrée en 1892. La transmission d'un agent infectieux d'un perroquet à un homme, causant des symptômes similaires à la grippe a été rapportée. Le nom de "psittacose", du mot latin psittacus qui veut dire perroquet a été proposé en 1895 par Morange [4].

Les trois principales maladies induites par les *Chlamydia* qui ont marqué l'histoire sont le trachome, la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) et la psittacose.

Dans le but d'identifier l'agent responsable du trachome, Halberstädter et Von Prowasek ont remarqué pour la première fois en 1907, des inclusions basophiles intra cytoplasmiques dans des cellules conjonctivales de patients atteints de trachome. Pensant qu'ils étaient en présence de protozoaires, ils les ont appelés «Chlamydozoon » du grec Chlamus qui signifie «manteau », du fait de sa position intra cytoplasmique, au sein d'une vacuole [5].

L'agent de la psittacose a été cultivé sur œuf embryonné entre 1929-1930, après une pandémie de psittacose. Le nom de *Bedsonia* a alors été proposé. Il provient de Sir Samuel Bedson, qui fût le premier à décrire le cycle de développement des agents de ce groupe [6].

En 1931, Levaditi a décrit la LGV et son agent étiologique, puis il a été isolé par inoculation au singe et à la souris blanche, puis en 1935 sur œufs embryonnés par Miyagawa [4].

En 1934, Thygeson dans ces travaux sur le trachome chez l'homme a observé des inclusions intra cytoplasmiques similaires à celles de la psittacose chez les oiseaux [4].

En 1941, ces trois agents ont été inclus dans le groupe psittacosis-lymphogranulomatrachoma (PLT).

En 1950, pour la première fois un agent infectieux similaire a été identifié, comme cause d'avortement, chez les petits ruminants [7].

En 1965, un grand progrès a été réalisé par la description de la culture cellulaire, à partir d'un prélèvement urétral, sur cellules Mc Coy [8].

L'agent infectieux a été considéré comme un protozoaire au début, ensuite comme un virus à partir de 1930, et ce n'est qu'en 1966 que l'agent infectieux de la chlamydie a été finalement reconnu comme étant une bactérie [9].

En 1966, Page a proposé le nom de *Chlamydia* pour que tous les organismes du groupe PLT soient regroupés dans un même genre [10]. En parallèles, deux principales espèces au sein de ce genre ont été décrites, l'espèce *C. trachomatis* regroupant toutes les souches d'origine humaine et l'espèce *C. psittaci* pour les souches d'origine animale.

Dès 1971, le regroupement de ces différentes bactéries dans un seul ordre (*Chlamydiales*) comprenant une seule famille (*Chlamydiaceae*) avec un seul genre (*Chlamydia*) et deux espèces (*C. trachomatis* et *C. psittaci*) était admis [11].

En 1992, deux nouvelles espèces *C. pneumoniae* et *C. pecorum* ont été proposées [12].

En 1999, dans un travail sur les *Chlamydia*, Everett *et al.* ont pris en compte les données phylogénétiques, les homologues ADN - ADN et les caractères phénotypiques ce qui leur a permis de bouleverser la systématique bactérienne, au sein de l'ordre des *Chlamydiales* avec la création de deux genres au sein des *Chlamydiaceae* : *Chlamydophila* et *Chlamydia* [13]. Ce travail n'a cependant jamais été adopté uniformément par la communauté scientifique.

Aujourd'hui la classification en deux genres est abandonnée. On ne conserve que le genre *Chlamydia* et les anciennes espèces du genre *Chlamydophila* y sont rattachées [14].

1.2. Taxonomie

Le phylum *Chlamydia* est basé sur les analyses phylogénétiques du gène qui code la sous unité 16S de l'ARN ribosomique (ARNr 16S). La classification actuelle des *Chlamydia* les regroupe au sein d'une seule classe, *Chlamydia*, qui ne contient qu'un seul ordre, *Chlamydiales*, et compte huit familles : *Chlamydiaceae*, *Clavichlamydiaceae*, *Criblamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Piscichlamydiaceae*, *Rhabdochlamydiaceae*, *Simkaniaceae* et *Waddliaceae*.

Pendant longtemps, la famille des *Chlamydiaceae* ne comprenait qu'un seul genre, *Chlamydia*. Cette famille a fait l'objet d'une correction par l'ajout d'un nouveau genre, *Chlamydophila*, par Everett *et al.*, en 1999. À cette date, la famille des *Chlamydiaceae* était séparée en deux genres, *Chlamydia* et *Chlamydophila*. Le genre *Chlamydia* comportait 3 espèces : *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia suis* et *Chlamydia muridarum* et le genre *Chlamydophila* regroupait 6 espèces : *Chlamydophila pecorum*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila caviae*, *Chlamydophila felis* et *Chlamydophila abortus*. En 2011, le genre *Chlamydophila* a été abandonné et les 6 espèces qui le composait ont été rattachées au genre *Chlamydia* [14].

Trois nouvelles espèces du genre *Chlamydia* ont récemment été additionnées aux 9 espèces déjà existantes, *C. ibidis* [15], *C. avium*, et *C. gallinacea* [16] (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Classification actuelle (2015) de la famille des *Chlamydiaceae*

	Ancienne classification	Classification d'Everett et al. 1999		Classification actuelle
Genre	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydophila (Cph.)</i>	<i>Chlamydia</i>
Espèce	<i>C. trachomatis</i> <i>C. psittaci</i> <i>C. pecorum</i> <i>C. pneumoniae</i>	<i>C. trachomatis</i> <i>C. muridarum</i> <i>C. suis</i>	<i>Cph. psittaci</i> <i>Cph. abortus</i> <i>Cph. felis</i> <i>Cph. caviae</i> <i>Cph. pecorum</i> <i>Cph. pneumoniae</i>	<i>C. trachomatis</i> <i>C. muridarum</i> <i>C. suis</i> <i>C. psittaci</i> <i>C. abortus</i> <i>C. felis</i> <i>C. caviae</i> <i>C. pecorum</i> <i>C. pneumonia</i> <i>C. ibidis</i> <i>C. avium,</i> <i>C. gallinacea</i>

1.3. Les principales *Chlamydiaceae* d'intérêt médical et vétérinaire

Les chlamydioses strictement humaines dues à *C. trachomatis* et *C. pneumoniae* :

C. trachomatis est à l'origine d'infections urogénitales et oculaires chez l'homme [17], souvent asymptomatiques mais pouvant aussi entraîner des complications graves comme la stérilité ou la cécité. Même si les séquences des ARN 16S des souches diffèrent de moins de 0.65%, elles sont séparées en 3 biovars : oculaire, génital et Lymphogranulomatose vénérienne (LGV), en fonction des caractéristiques biologiques et en 18 sérovars en fonction des variations de séquence de la protéine majeure de la membrane externe (MOMP). Ces souches sont spécifiques à l'homme.

C. pneumoniae est un agent pathogène à tropisme respiratoire commun chez l'homme, responsable d'épidémies de pneumonies d'origine communautaires. La répartition des souches de cette espèce est en fonction de la spécificité de l'hôte, les différences antigéniques et les variations de séquence de la MOMP et de l'opéron ribosomal. Le biovar TWAR (Taiwan acute respiratory agent) est spécifique de l'homme et est à l'origine d'infections respiratoires. Les autres biovars correspondent respectivement au koala et aux chevaux [18], responsable d'infections asymptomatiques ou bénignes des voies respiratoires.

Les chlamydioses animales et humaines dues à *C. psittaci*, *C. abortus*, *C. felis* et *C. pecorum* :

C. psittaci est pathogène pour de nombreuses espèces d'oiseaux et mammifères mais aussi pour l'homme, induisant des symptômes très différents et notamment à l'origine des problèmes de reproduction, et d'inflammation des voies respiratoires chez les bovins, porcs, chevaux, chiens, et rats de laboratoire [19], [20].

C. abortus est responsable d'avortements notamment chez les petits ruminants et susceptible d'infecter d'autres espèces comme les bovins, porcs, chevaux et oiseaux. Les formes cliniques sont multiples : problèmes de reproduction, mammite, inflammation pulmonaire sub-clinique et chronique ainsi que des retards de croissance [19].

C. felis est à l'origine de conjonctivites aiguës et chroniques chez le chat et notamment chez les chatons. Elle peut être à l'origine de zoonoses rares et qui nécessitent un contact étroit avec l'animal [21].

A l'inverse des trois agents précédents, le rôle zoonotique de *C. pecorum* est mal connu. Il a été impliqué chez l'homme dans un certain nombre de maladies incluant : pneumonie, conjonctivite et polyarthrite [21], [20]. Les hôtes principaux de *C. pecorum* sont : les bovins, les ovins et les caprins. Le tableau clinique est large et dépend des espèces concernées. On y trouve notamment des polyarthrites, entérites, pneumonies, kératoconjonctivites, infections urogénitales, encéphalomyélites, inflammations pulmonaires sub-cliniques et chroniques ainsi que des retards de croissance [19].

2. BIOLOGIE DES *CHLAMYDIACEAE*

2.1. Morphologie

Les *Chlamydiaceae* sont de petites bactéries coccoïdes, immobiles et strictement intracellulaires. Ces bactéries ne peuvent pas pousser sur milieux acellulaires, et leur cycle de vie est complexe. Les *Chlamydiaceae* possèdent une paroi des bactéries Gram-, elle est constituée de deux membranes, une membrane cytoplasmique dépourvue de peptidoglycane et une membrane externe à double feuillet qui comprend du Lipopolysaccharide (LPS) et des protéines dont la protéine MOMP qui en assurerait la solidité grâce à des ponts disulfures [22].

2.2. Génétique

2.2.1. Génome

Les bactéries intracellulaires tendent à éliminer les gènes codant les fonctions disponibles chez la cellule hôte, de sorte que le génome est de taille réduite (généralement, moins de 2000 kpb) et présente une diminution du contenu en G+C %. Le génome de *Chlamydia* est parmi les génomes bactériens les plus petits : il compte entre 1050 kpb et 1230 kpb. Le chromosome de *Chlamydia* est une molécule circulaire, unique, dépourvu de séquences d'insertions et de séquences répétées [23].

Le génome de *C. abortus* est constitué d'un chromosome circulaire de 1144377 pb avec un taux total en G+C de 39.87%. Neuf cent soixante et une (961) séquences codantes (CDS), qui représentent une densité de codage de 88% (Tableau 2.1) [23].

Tableau 2.1 Résumé des caractéristiques du génome de *C. abortus* en comparaison avec les génomes séquencés des autres espèces de *Chlamydia* [23].

	<i>Cph. abortus</i> (S26/3)	<i>Cph. caviae</i> (GPIC)	<i>C.trachomatis</i> (serovar D)	<i>C. muridarum</i> (Nigg)	<i>Cph. pneumoniae</i> (AR39)
Taille du Génome (pb)	1144377	1173390	1042519	1072950	1229858
% G+C	39.87	39.22	41.31	40.34	40.57
% G+C de CDS^a	40.5	38.82	41.66	40.69	41.29
% codant	88.2	89.4	90.1	90.0	89.0
No. de CDS^a	961	1009	894	921	1130
No. de Pmp protéines	18	18	9	9	21

^aCDS : séquences codantes.

2.2.2. Plasmide

Les *Chlamydiaceae* possèdent un plasmide circulaire à ADN double brin d'environ 7.5 kpb, à raison de 7 à 10 copies par cellule. Ce plasmide n'est pas présent chez toutes les souches au sein d'une même espèce [23] (Tableau 2.2).

Tableau 2.2 : Présence de plasmide au sein des *Chlamydiales* [23]

Espèce ou genre	plasmide
<i>C. abortus</i>	Absent
<i>C. pecorum</i>	Présent
<i>C. pneumoniae</i>	Présent uniquement biovar equin
<i>C. felis</i>	Présent ou absent selon les souches
<i>C. caviae</i>	Présent (une seule souche)
<i>C. trachomatis</i>	Présent dans presque toutes les souches
<i>C. suis</i>	Présent
<i>Simkinia</i>	Absent
<i>Waddlia</i>	Absent

2.3. Différentes formes de *Chlamydiaceae*

2.3.1. Corps élémentaires (CE)

Les corps élémentaires sont petits, ronds à ovales, optiquement denses de 200 à 300 nm de diamètre. Ils représentent la forme infectieuse et sont métaboliquement inactifs, osmotiquement stable, leur ADN est condensé et ils assurent la survie des *Chlamydiaceae* en dehors de la cellule hôte (Tableau 2.1).

Chaque corps élémentaire est entouré par deux systèmes membranaires: une membrane interne qui correspond à la membrane cytoplasmique, et une membrane externe de 10 nm qui présente un réseau de sous-unités protéiques sur sa face interne, contenant un LPS. L'espace périplasmique ne contient pas de peptidoglycane. La rigidité du complexe membranaire est due principalement aux ponts disulfures créés entre les résidus de cystéine des protéines membranaires, notamment la MOMP [24] (Figure 2.1).

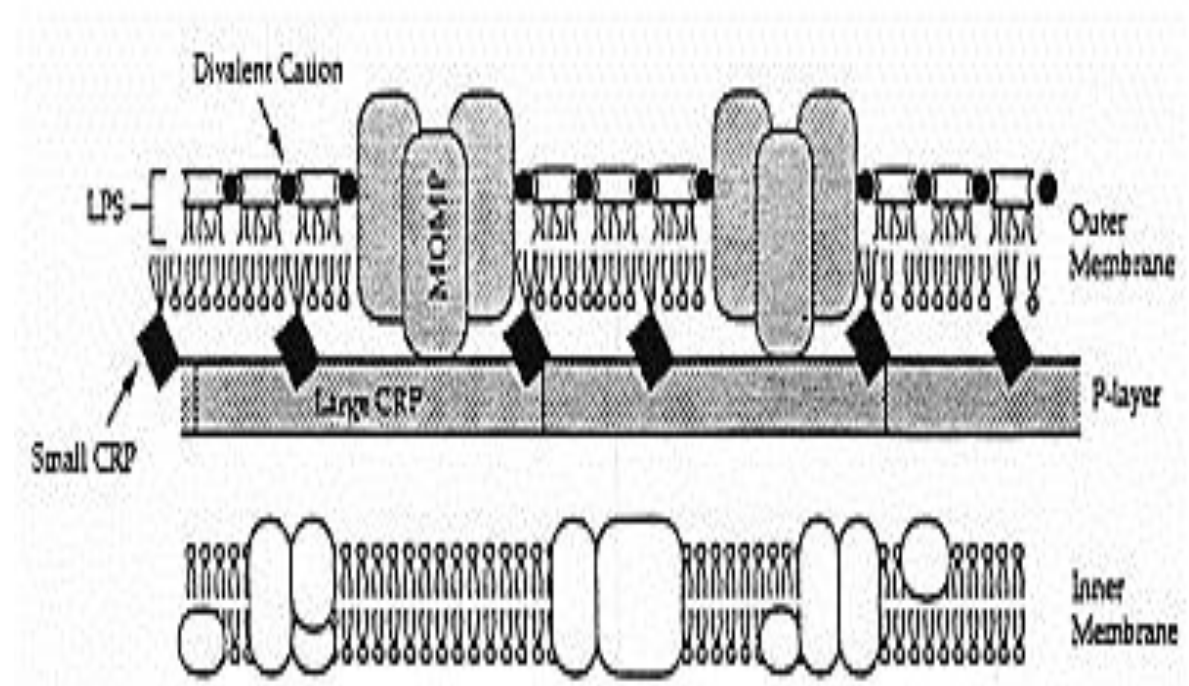


Figure 2.1 : Modèle schématique de l'enveloppe des CE de *C. psittaci* 6BC [28].

Divalent cation : cation bivalent, Outer membrane : membrane externe, p-layer : couche des protéines, Inner membrane : membrane interne, Small CRP et Large CRP (C-reactive protein): protéines

Des projections externes (10 nm de diamètre et 20 nm de longueur) et des canaux trans-membranaires ont été mis en évidence au niveau de la surface. Ces composants pourraient jouer un rôle dans l'attachement des CE aux cellules hôtes, dans l'acquisition de substances nutritives ou encore dans la communication avec la cellule parasitée (Système de sécrétion de type III) [25], [26], [27] (Figure 2.2).

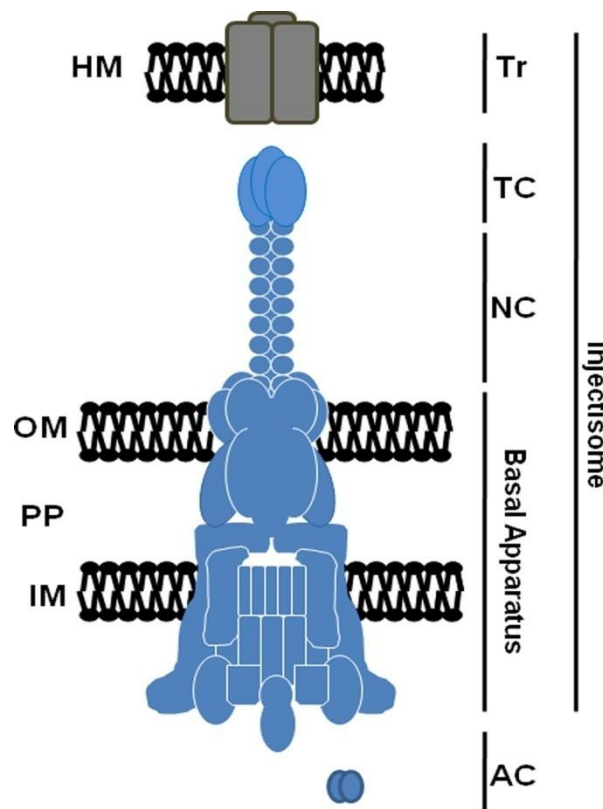


Figure 2.2 : Représentation schématique d'un T3S (Système de sécrétion de type III). Composants : translocateur (Tr), pointe (TC), complexe aiguille (NC), corps basal (Basal Apparatus), protéines auxiliaires cytoplasmiques (AC), membrane interne (IM), espace périplasmique (PP), membrane externe (OM), membrane de la cellule hôte (HM) [29].

2.3.2. Corps réticulés (CR)

Les corps réticulés sont de forme ronde à ovale, 1 μm de diamètre environ, soit 3 à 4 fois le diamètre du CE. Ils se multiplient par division binaire dans des vacuoles. L'ADN paraît diffus et fibrillaire. Ils sont non-infectieux et toujours intracellulaires. Les corps réticulés sont métaboliquement actifs, osmotiquement fragiles (Tableau 2.3).

Ils possèdent une membrane cytoplasmique et une membrane externe plus souple que celle des CE, des projections de surface en flèches identiques à celles des CE sont également observées mais avec une densité plus élevée (Figure 2.2).

Les *Chlamydiaceae* sont traditionnellement considérées comme des parasites énergétiques qui ne peuvent pas former d'ATP par elles-mêmes et doivent donc l'obtenir des cellules hôtes [30].

Tableau 2.3 : Comparaison morphologique et fonctionnelle des deux formes de *Chlamydia* [30].

	Corps élémentaire	Corps réticulé
Taille	0,3 μm	0,5-1 μm
Paroi cellulaire	rigide	fragile
Ultrasons	résistant	fragile
Trypsine	résistant	lyse
Enveloppe cellulaire	sous-unitaire	pas de sous unité
Infectieux	oui	non
Adaptation	survie extracellulaire	développement intracellulaire
Activités métaboliques	Relativement inactif	Actif, forme de réplication
Projections externes	±	+++

2.4. Cycle de développement des *Chlamydiaceae*

Le cycle de multiplication des *Chlamydiaceae* comporte des étapes intra- et extracellulaires faisant alterner principalement deux formes distinctes qui interviennent à des moments bien précis au cours du cycle : les corps élémentaires (CE) et les corps réticulés (CR).

2.4.1. Attachement

L'adhésion des *Chlamydiaceae* implique des forces physiques non spécifiques de type électrostatique, hydrophobe et des liaisons spécifiques aux récepteurs de la cellule hôte.

Les CE sont comme les autres particules chargées négativement. Les polycations et polyanions augmentent ou diminuent respectivement l'attachement des *Chlamydiaceae* à la surface de cellules. L'attachement est augmenté par les cations bivalents de calcium et magnésium qui peuvent diminuer la répulsion électrostatique [31].

Les microvilli des domaines exposés à la surface constituent une région de préférence pour l'attachement des CE aux cellules hôtes. L'héparine et le sulfate d'héparane qui se trouvent à la surface des cellules de mammifères jouent un rôle important dans les interactions avec de nombreux germes pathogènes dont les *Chlamydiaceae* [32].

La protéine de la membrane externe (MOMP) joue un rôle d'une adhésine de *Chlamydia* à la cellule hôte [33]. Fan et Stephens ont montré que des anticorps dirigés contre des épitopes de la MOMP neutralisent l'attachement des CE aux cellules hôtes [34].

2.4.2. Endocytose

Deux principaux modes d'entrée ont été avancés concernant la pénétration des *Chlamydiaceae* : pinocytose, processus indépendant des microfilaments, et par phagocytose, processus reposant sur recrutement de microfilaments.

Il semble que les *Chlamydiaceae* utilisent en fait des mécanismes d'endocytose variés, en fonction du mode de présentation à l'hôte, de la souche chlamydienne et de la cellule hôte elle-même [25].

Au sein de l'endosome, certaines souches de *Chlamydia*, sont capables de bloquer le processus normal de dégranulation lysosomiale dans l'endosome. Des expériences menées sur la membrane des *Chlamydiaceae* ont montré que leur surface devait être intacte pour empêcher la fusion endosomiale.

2.4.3. Transformation des CE en CR

Le passage du CE au CR implique notamment une modification de la composition de la structure membranaire, avec entre autres la réduction des ponts dissulfures entre les protéines mb dont la MOMP. Les CE perdent leur nucléoïde proéminent dense et leur taille passe de 0,3 à 1,0 μm . Lors de cette transformation le cytoplasme devient granuleux suite à la production de ribosomes [35].

2.4.4. Multiplication des CR

Les CR se divisent par fission binaire comme toute bactérie mais ne contiennent pas de cytochromes ou d'autres composants de la chaîne respiratoire. Ils sont donc incapables de synthétiser, de conserver et d'utiliser des molécules de fort potentiel énergétique. L'énergie nécessaire pour les transports actifs de la lysine et les autres nutriments essentiels à travers la membrane plasmique provient de l'ATP de la cellule hôte.

Il va donc devoir prélever l'énergie nécessaire dans la cellule hôte. Pour ce faire, le CR plaque son endosome contre les mitochondries de la cellule hôte et grâce à l'intermédiaire d'une ATPase spécifique (translocase), il parasite son ATP. Par la suite, grâce à la division binaire, se forme alors un groupe de un à plusieurs centaines (100 à 500) de CR. Ce groupe prend le nom d'inclusion (ou « corps de Levinthal-Cole-Lillie ») (Figure 2.3).

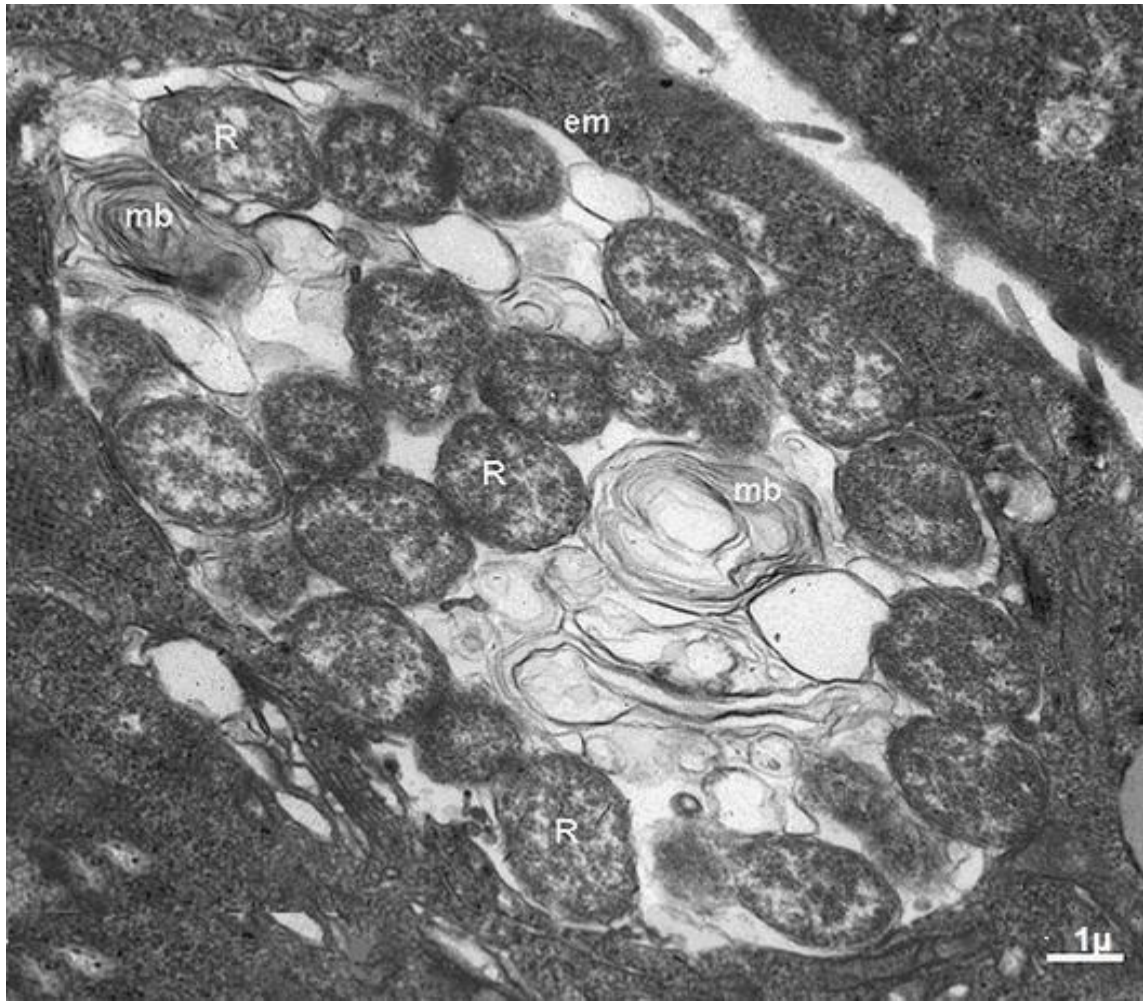


Figure 2.3. Une inclusion cytoplasmique après 15 heures d'une infection par *C. trachomatis* LGV 404 [36]. (Photographie de la Microscopie électronique). Corps réticulés (R), Membrane endosome (em) et les bulles de matière membraneuse (mb)

2.4.5. Différenciation des CR en CE

Les signes de modifications morphologiques apparaissent 36-48 h après l'infection. Des CR qui sont caractérisés par la réapparition d'un nucléoïde central simple ou multiple, une formation de liaisons disulfates entre les résidus cystéines des protéines membranaires formant une membrane rigide, un éloignement des CR de la membrane d'inclusion [37]. Les niveaux d'énergie baissent dans les CR et par conséquent une réduction des activités métaboliques des CR, est un des signaux de la transformation de CR en CE.

2.4.6. Relargage des CE

Avant la libération des CE, les organites cellulaires présentent des altérations dégénératives et nécrotiques : perte par la cellule hôte de ribosomes et de polysomes, dilatation et vésiculation du réticulum endoplasmique, vésiculation et perte des microvilli. Les mitochondries et les noyaux sont affectés en dernier. Les CE sont libérés 48 à 72 h après l'infection soit par lyse de la cellule hôte [38], soit par exocytose [39]. Les CE envahissent alors de nouvelles cellules hôtes ou sont disséminés à l'extérieur.

2.4.7. Persistance

La persistance indique un état d'infection dans lequel la cellule hôte ne peut pas éliminer la bactérie, ce qui induit des dommages continus. Certaines conditions conduisent à l'altération du cycle de développement, où le CR ne se transforme pas en CE mais persiste dans une forme altérée, appelée corps aberrant [40] (Figure 2.4). De nombreuses études ont décrit des CR agrandis et pléomorphes dans l'état de persistance qui inhibe leur fission binaire et leur différenciation en CE. Ces changements sont généralement réversibles lors du dégagement de facteurs inhibiteurs de croissance. A part la persistance, les *Chlamydiaceae* ont la capacité d'inhiber l'apoptose des cellules infectées utilisant des mécanismes tels que l'inhibition de la libération du cytochrome C des mitochondries, et l'activation des voies de survie des cellules en empêchant l'activation de certaines caspases responsables de la dégradation des protéines [41], [42].

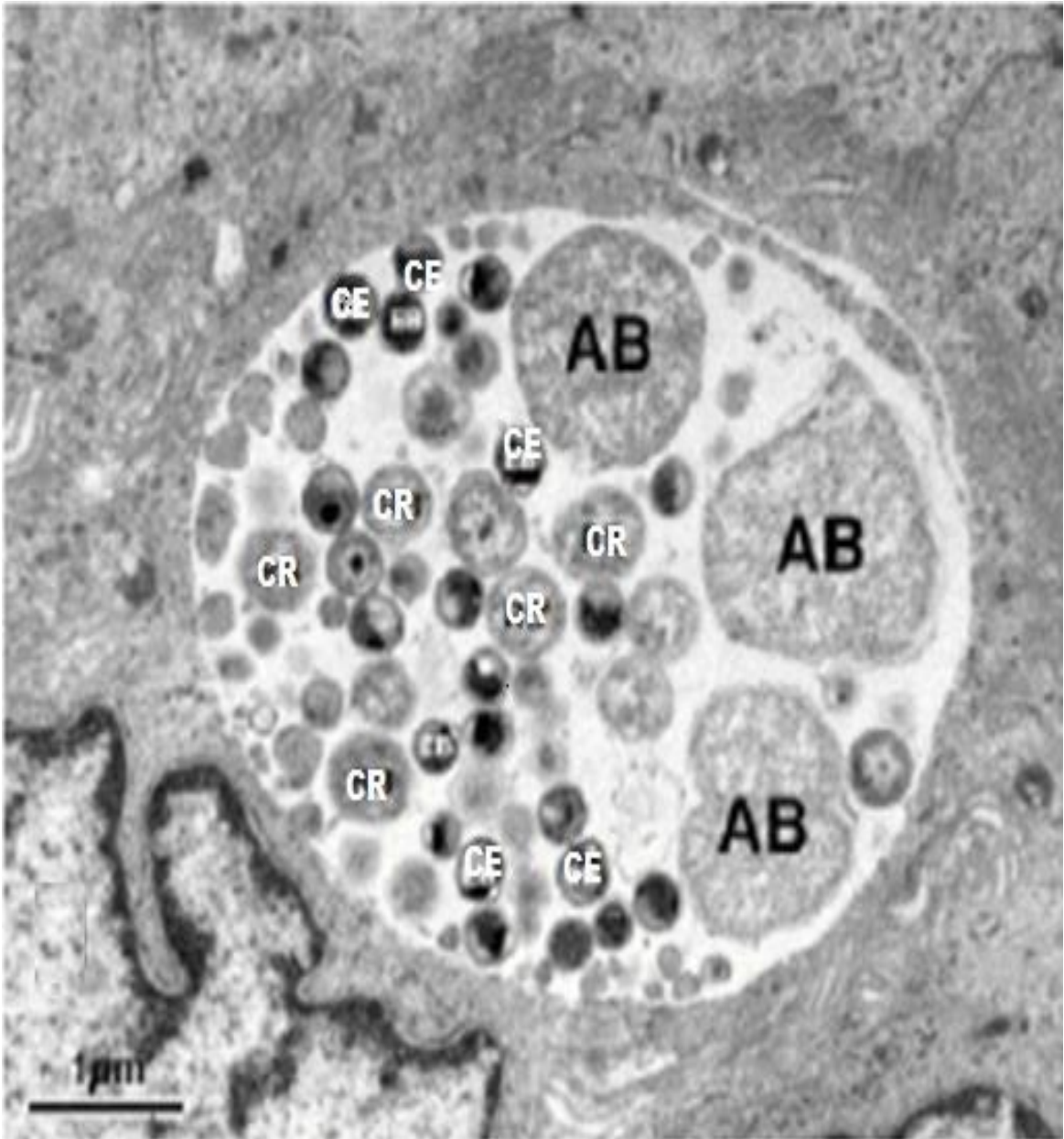


Figure 2.4: Persistance *in vivo* des *Chlamydia* [43]. (Microscopie électronique).
Inclusion d'une infection persistante *in vivo* de cellules intestinales de porc par *C. suis*
contenant des formes anormales de CR (AB « aberrant body » : corps aberrant).

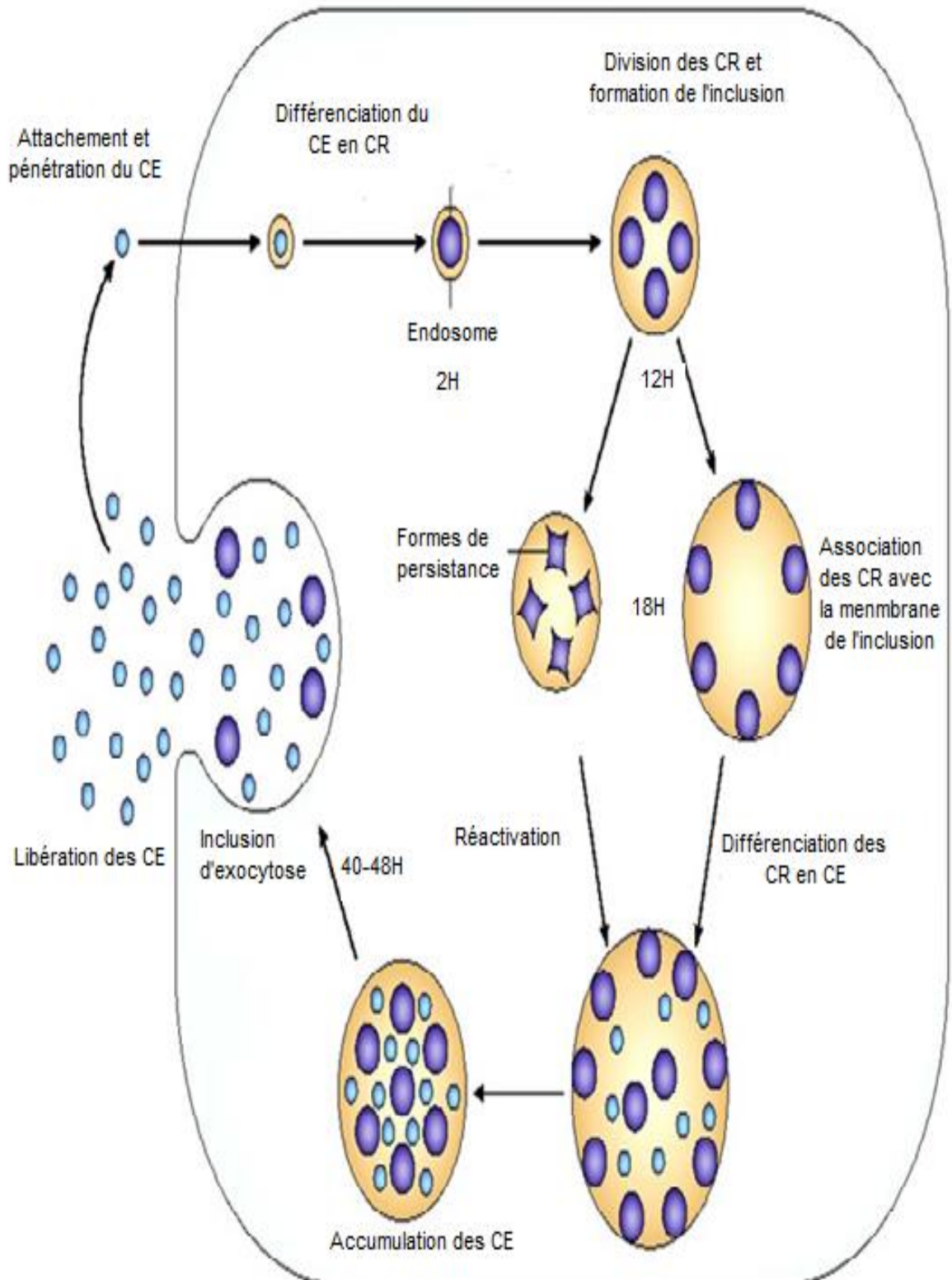


Figure 2.5: Cycle de répliation des *Chlamydiaceae* [44].

2.5. Antigènes des *Chlamydiaceae*

2.5.1. Antigènes non protéiques

2.5.1.1. Lipopolysaccharide (LPS)

Les *Chlamydiaceae* possèdent un LPS tronqué, il présente en outre des particularités propres : le trisaccharide formé par L'acide 3-désoxy-D-*manno*-oct-2-ulosonique (KDO), qui fait partie du « core » oligosaccharidique, possède une liaison 2 → 8 unique, formant ainsi un trisaccharide linéaire :

α - Kdo-(2→8)- α Kdo-(2→4)- α -Kdo. Cette structure commune induit la formation d'anticorps dirigés contre tous les membres de la famille des *Chlamydiaceae*.

L'unité diglucosamine GlcN-(β -1,6)-GlcN du glycolipide A porte un nombre de molécules d'acides gras plus faible que celui habituellement présent chez les bactéries à Gram négatif : cinq molécules d'acides gras contre six ou sept chez les entérobactéries. De plus, les acides gras chez les *Chlamydiaceae* sont plus longs (C₁₈ à C₂₀) que ceux des entérobactéries (C₁₂ à C₁₄). Ceci confère un domaine hydrophobe important au LPS chlamydien, qui est probablement la cause d'une activité endotoxinique faible [45].

Le LPS possède des épitopes qui sont uniques aux *Chlamydiaceae* mais également des déterminants antigéniques communs aux LPS des autres bactéries à Gram négatif [46]. Birkelund et ses collègues ont caractérisé deux anticorps monoclonaux dirigés contre le LPS de *Chlamydia*, l'un réagit seulement avec les CE et l'autre réagit seulement avec les CR suggérant que le LPS pourrait être impliqué dans des rôles différents durant le cycle de développement [47].

Le LPS de *Chlamydia* se lierait à la MOMP pour potentiellement moduler l'exposition des sites antigéniques de celle-ci à la surface des CE [48].

2.5.1.1. Glycolipide

Le glycolipide de la membrane externe bactérienne des *Chlamydiaceae* a un rôle dans l'attachement des bactéries aux cellules hôtes. Il a été identifié chez les *Chlamydiaceae* (l'exo-antigène de glycolipide). Il est associé à la membrane externe bactérienne, à la membrane d'inclusion et pourrait être trouvé aussi dans le cytoplasme de la cellule hôte [49].

2.5.2. Antigènes protéiques

2.5.2.1. Protéine majeure de la membrane externe (MOMP)

La MOMP est une protéine majeure riche en cystéines, de poids moléculaire d'environ 40 kDa qui fait partie de la membrane externe des *Chlamydiaceae* [50]. Elle contribue à la rigidité du corps élémentaire et joue un rôle dans l'adhésion. Par ailleurs, sa position transmembranaire en forme de complexe trimérique lui permet de fonctionner comme une porine, une fois que les ponts disulfures sont rompus [37].

Le gène *ompA* qui code pour la protéine majeure de la membrane externe (MOMP) est un gène très variable dans le génome des *Chlamydiaceae*. En raison de cette variabilité génétique, on peut l'utiliser pour les études de typage et d'épidémiologie [51].

L'analyse des séquences nucléotidiques qui codent pour cette protéine a permis d'identifier quatre régions variables ou épitopes : RV I à RV IV, séparées entre elles par des régions conservées. Le modèle d'organisation de la MOMP basé sur le profil hydrophobe des acides aminés déduits de la séquence nucléotidique prévoit l'exposition externe des quatre épitopes (Figure 2.6). En utilisant des techniques immunologiques, il a été démontré que les RV I et RV II portent les déterminants antigéniques pour la formation d'anticorps spécifiques à des sérotypes, tandis que le RV IV induit la formation d'anticorps spécifiques des sérogroupes et des espèces [52], [53].

Le séquençage de ces régions a permis de définir de nouveaux génotypes. Ces nombreux types antigéniques favoriseraient les réinfections. L'existence de domaines variables de la protéine permettrait une variation antigénique, permettant à la bactérie de contourner la réponse immunitaire de l'hôte. Ce phénomène déjà décrit pour de nombreux micro-organismes, favorise l'établissement d'infections chroniques [51].

Cependant, une sélection immunologique n'a pas été démontrée, et la forte variabilité de la MOMP semble être limitée à *C. trachomatis*, avec plus de 15 sérotypes. *C. psittaci* possède seulement 8 sérotypes, tandis que les 3 sérotypes identifiables chez *C. pneumoniae* correspondent aux 3 biovars spécifiques d'hôtes différents. Les différents immunotypes identifiés chez *C. pecorum* ne semblent pas

être déterminés par la MOMP et les autres espèces ne présentent aucune variabilité de la protéine et présentent chacune un sérotype unique.

La faible réponse humorale spécifique contre la MOMP induite par l'infection à *C. pneumoniae* et *C. caviae* a conduit également à l'hypothèse selon laquelle, chez ces espèces, cette protéine est moins exposée à la surface de la bactérie. [37].

Une autre explication de ces différences de structure de la MOMP met en cause le tropisme cellulaire de ces différentes espèces, en considérant le rôle d'adhésine joué par la MOMP. La forte variabilité de la protéine chez *C. trachomatis* expliquerait le tropisme cellulaire différent montré par les sérotypes, en raison de la nécessité de reconnaissance spécifique de différents récepteurs chez un même hôte. En revanche, la plupart des autres espèces ont la capacité d'infecter différents hôtes et en plusieurs sites. Cette propriété serait liée à l'existence d'une adhésine « générique » capable de reconnaître un récepteur commun aux différents types de cellules. Cela se traduirait par la possession d'une MOMP à séquence presque invariable pour les souches d'une même espèce. C'est le cas de *C. pneumoniae* dont toutes les séquences de MOMP qui ont été déterminées ne diffèrent que de 2 ou 3 acides aminés. Cette bactérie peut infecter des cellules aussi différentes que les macrophages, les cellules des muqueuses respiratoires, les cellules d'endothéliums vasculaires et les cellules musculaires lisses [53].

La MOMP est considérée comme la cible la plus importante pour induire une réponse immunitaire forte et protectrice. Pour cette raison, elle reste le candidat vaccinal principal contre les infections par les différentes espèces de *Chlamydia*.

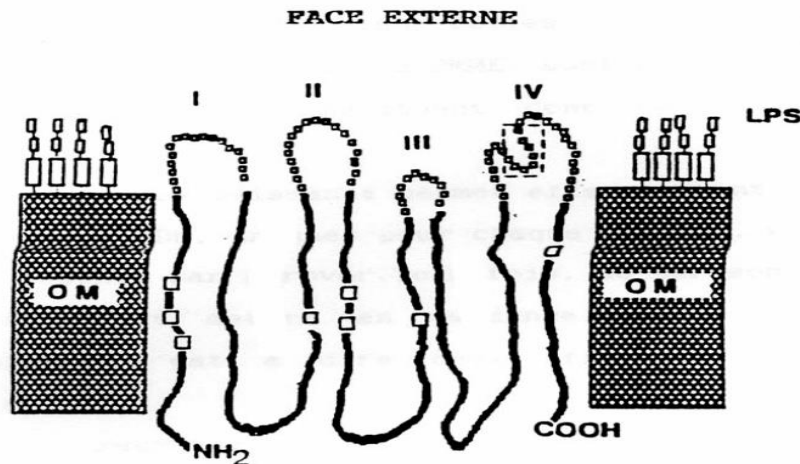


Figure 2.6: Organisation de la protéine majeure de la membrane externe des *Chlamydiales* [45]. OM : membrane externe

2.5.2.2. Protéines polymorphiques de la membrane externe (polymorphic membrane proteins « Pmp »

Les protéines polymorphes de membrane (Pmp) représentent une nouvelle famille de protéines chlamydiennes découvertes grâce au séquençage du génome. Elles ne possèdent pas d'homologie de séquences significatives, mais sont caractérisées par la présence des deux térapeptides GGA (L, V, I) et FXXN, répétés plusieurs fois de façon alternée.

Le séquençage des génomes a permis d'identifier 9 Pmp différents chez *C. trachomatis*, 21 chez *C. pneumoniae*, et au moins 6 protéines de la famille Pmp (90-98kDa), ont été identifiées dans la membrane externe de *C. abortus* [54], [55], [56].

Il a été démontré que certaines de ces protéines, de 90 à 180 kDa, sont exprimées à la surface de la cellule, et sont immunogènes.

Le rôle joué par Pmp est inconnu : plusieurs gènes codant les Pmp sont probablement non fonctionnels, présentant des glissements de cadre de lecture qui conduisent à la formation de protéines tronquées. Les micro-organismes comme les *Chlamydiaceae*, en raison de leur parasitisme obligatoire, ont

tendance à évoluer vers une réduction de leur génome. La présence de paralogues multiples des Pmp indique donc un rôle important joué par ces protéines. Il a été suggéré qu'une activation différentielle des paralogues des Pmp entraîne un phénomène de variabilité antigénique chez les *Chlamydiaceae*.

2.5.2.3. Protéines de la membrane d'inclusion (Inc)

Les protéines Inc sont codées par le génome chlamydien, et sont intégrées dans la membrane de l'inclusion, exposées à la surface externe, baignant donc dans le cytoplasme de la cellule hôte. La première protéine Inc, mise en évidence, nommée IncA chez *C. caviae*, a été identifiée en comparant la réponse sérologique des animaux infectés par des *Chlamydiaceae* vivantes et celles des animaux immunisés par des *Chlamydiaceae* tuées [57].

Plusieurs gènes paralogues qui codent les protéines Inc ont été détectés dans les génomes chlamydiens après séquençage.

L'infection de la cellule par plusieurs corps élémentaires mène à la formation de plusieurs inclusions. Celles-ci tendent à fusionner pour donner une inclusion unique dans le cas de *C. trachomatis*, l'inclusion finale peut héberger des *Chlamydiaceae* de sérotypes différents. Au contraire, la fusion vésiculaire des inclusions initiales n'a pas lieu chez la plupart des espèces du genre. De plus chez certaines espèces, l'inclusion initiale tend à se diviser en plusieurs inclusions finales.

La membrane de l'inclusion joue sûrement un rôle important dans les interactions entre les *Chlamydiaceae* et la cellule hôte. La modification de la membrane de l'inclusion exige la synthèse par les *Chlamydiaceae* de protéines de la membrane de l'inclusion, les protéines Inc qui sont impliquées dans les interactions entre l'inclusion et les composants cytoplasmiques [58].

2.5.3. Système de sécrétion de type III (T3S) et les projections de surface

Chez les *Chlamydia*, des projections à la surface des corps réticulés en contact avec la membrane d'inclusion ont été décrits par Matsumoto [26]. Ces projections pourraient être des canaux du système de sécrétion de type III (T3S) des *Chlamydia*

Le système T3S est activé par l'attachement à la cellule eucaryote et permet la translocation de facteurs de virulence des bactéries dans le cytoplasme de la cellule eucaryote soit l'invasion de la cellule eucaryote par la bactérie (par exemples : le système des invasines de *Salmonella* et *Shigella*), soit le blocage des macrophages (par exemple : système anti-phagocytaire de *Yersinia*). Le T3S se compose de plusieurs protéines formant un appareil supramoléculaire continu entre la membrane cytoplasmique, le périplasme et la membrane externe de la bactérie. Cet appareil est structurellement et évolutivement très proche du système d'assemblage du flagelle bactérien.

Les gènes codant le T3S sont concentrés dans des régions, soit du chromosome, soit du plasmide qui, par leurs contenus en G+C et les codons utilisés, sont nettement différents du reste du génome.

La machinerie de T3S de *Chlamydiaceae*, y compris toutes les familles de l'ordre *Chlamydiales*, se compose approximativement de 25 protéines codées par au moins trois clusters de gènes différents. En 2008, plus de 20 protéines de T3S de *C. trachomatis* et *C. pneumoniae* ont été détectées dans le cytoplasme de la cellule infectée [59]. De plus, la fonction possible de 26 gènes de T3S de *C. psittaci* a été identifiée par détection de l'ARN messager de ces gènes au cours de l'infection [60]. Ces études suggèrent que la machinerie de T3S pourrait être fonctionnelle pour les différentes espèces de *Chlamydiaceae*. CopN (chlamydial outer protein) est une des premières protéines de T3S identifiées. Cette protéine est présente sur les CE, les CR, à la surface de la membrane de l'inclusion et dans le cytoplasme de la cellule hôte.

Les protéines de T3S dans la cellule hôte changent au cours de l'infection, suggérant que ces protéines jouent différents rôles selon les étapes du cycle de développement des *Chlamydiaceae*. L'interaction entre le T3S et la membrane de l'inclusion induirait activation du corps élémentaire en corps réticulé. Les protéines Inc ne possèdent pas de peptides signaux. Elles sont donc probablement

transloquées depuis le cytoplasme bactérien à la membrane de l'inclusion par le T3S [59]. Une fois localisée à la surface cytoplasmique de l'inclusion, les protéines contrôlent ainsi la maturation de l'inclusion. Une autre caractéristique de l'inclusion chlamydienne est la juxtaposition des CR avec la membrane vacuolaire tandis que les nouveaux CE au centre de l'inclusion. La réorganisation en CE est asynchrone, et de nouveaux CE apparaissent alors que les CR sont encore en phase de division. Un mécanisme de contrôle dépendant du T3S a été proposé. Le CR resterait actif tant qu'il est en contact par le T3S avec la membrane vacuolaire. Avec le temps, l'espace disponible diminue et quelques CR se détachent de la membrane vacuolaire, inactivant le T3S. Cette inactivation induirait alors la réorganisation du CR en CE. L'horloge moléculaire du développement chlamydien serait donc déterminée non pas par stade de développement de la bactérie, mais par sa localisation dans la vacuole [61], [62].

3. EPIDEMIOLOGIE DE LA CHLAMYDIOSE ABORTIVE CHEZ PETITS RUMINANTS

3.1. Répartition géographique et prévalence

La chlamydiose abortive des petits ruminants est décrite pour la première fois en Grande-Bretagne et en Ecosse en 1950 sous l'appellation d'avortements enzootiques des brebis [63]. Cette maladie a une répartition mondiale.

La première détection de *Chlamydia* chez les petits ruminants en Algérie a été réalisée par Dumas à la fin des années 70 dans la région de l'Hoggar en utilisant la réaction de fixation du complément [64].

Récemment, une enquête de séroprévalence au Nord-est de l'Algérie menée sur des brebis sélectionnées au hasard (âgées entre 29 et 56 mois) avait révélé 70.4% des troupeaux infectés par des *Chlamydiaceae*. Le test utilisé est l'ELISA kit LSIVET Ruminant Serum Chlamydiosis [65].

D'autres études réalisées aux pays du Maghreb montrent des taux de séroprévalence variables. En effet, 25.4% à 65% des troupeaux visités en Tunisie étaient positifs [66]. Un taux de 28.6% a été trouvé au Maroc [67]. Plusieurs études ont été menées dans d'autres pays à savoir la Jordanie avec un taux de 21.8% pour les ovins et 11.4% des caprins [68]. En Irlande la prévalence était de 4.75% [69]. En Turquie le taux était de 9.86% [70].

Toutefois, la comparaison de ces études est entravée par plusieurs paramètres tels que le type de l'enquête, la taille et la gestion de l'élevage et les techniques utilisées lors du diagnostic (ELISA, TFC et autres).

3.2. Transmission des *Chlamydiaceae*

3.2.1. Excrétion de l'agent infectieux

Les femelles infectées de chlamydieose excrètent un grand nombre de *C. abortus* lors des avortements ou la mise bas où elles contaminent massivement l'environnement. Mais parfois chez les brebis, des saignements vaginaux riches en *Chlamydia* sont observés deux semaines avant un avortement. Cela peut expliquer l'augmentation de l'incidence des avortements dans les troupeaux caprins nouvellement infectés. L'excrétion peut persister plusieurs semaines après l'avortement, pas de façon continue mais par intermittence. Avec le temps, le nombre de bactéries présent dans les sécrétions diminue [71].

3.2.2. Voie naturelle de transmission

La voie naturelle de transmission est considérée comme essentiellement par ingestion ou inhalation de matières infectées, par exemple, dans les pâturages contaminés [72], [73], [74].

3.2.3. Transmission entre animaux

La transmission directe par voie respiratoire, orale et oculaire suite à l'inhalation d'aérosols dans un environnement contaminé, l'ingestion de microorganismes présents dans la nourriture ou de l'eau contaminée, le léchage d'animaux contaminés par les tissus ou les liquides placentaires joue un rôle majeur. La transmission indirecte par voie transplacentaire et vénérienne joue aussi un rôle non négligeable [73], [1].

Une étude réalisée en 2006 suggère le rôle des amibes, retrouvées dans les sols et les milieux aquatiques, comme réservoirs potentiels de *Chlamydia* [75].

C. abortus est aussi isolé chez les chats et les chiens vivant dans des fermes abritant des ruminants infectés [76].

3.2.4. Transmission à l'homme

La chlamydie abortive est une zoonose particulièrement dangereuse pour les femmes enceintes [1]. La suspicion que *C. abortus*, responsable des avortements des petits ruminants, est le même responsable des avortements chez les femmes est documenté en 1967 [77]. La suspicion a été confirmée suite à l'isolement de *C. abortus* à partir du placenta et le fœtus d'une femme qui a assisté un agnelage dans une ferme où des brebis ayant avortées [78], [79].

La transmission de l'infection chez l'Homme se fait en général par l'inhalation d'aérosols infectés [80], par voie orale ou respiratoire suite au contact avec un animal infecté ou de leurs produits (les eaux fœtales, placenta, fluide vaginal) [81], [82].

Chez la femme enceinte la maladie commence sous forme d'une grippe associée généralement à des douleurs abdominales suivies par un avortement associant parfois des complications telles que l'insuffisance rénale et hépatique [83]. L'infection chez l'homme s'exprime par des conjonctivites ou syndrome grippal [84]. Les avortements causés par *C. abortus* chez les femmes ont été rapportés dans plusieurs pays comme les pays bas [85], la Suisse [86], la France [87], l'Italie [88].

3.3. Résistance dans le milieu extérieur

C. abortus est relativement stable dans le milieu extracellulaire sous forme de CE [89]. Durant la saison d'agnelage les CE peuvent résister dans l'environnement et conserver leur pouvoir infectieux pendant des jours, voire des mois à très basse température [90]. La survie des bactéries est de 4 à 5 jours dans le placenta et 48 heures dans les urines [91].

3.4. Cyclicité de la maladie

Lors de la primo- infection d'un troupeau, les avortements peuvent prendre un caractère enzootique avec un taux avoisinant 30% chez les brebis gravides [90], [92]. Après la primo-infection le taux d'avortement diminue pour atteindre 10% des femelles gestantes, puis un nouvel épisode abortif se produit sur les primipares et

les animaux nouvellement introduits qui s'infectent par les *Chlamydia* excrétées des femelles ayant déjà avortées et dès lors immunisées [1], [93].

3.5. Facteurs de risque

3.5.1. Facteurs d'introduction

L'introduction dans un cheptel de nouveaux animaux (brebis, béliers ou agnelles et agneaux), dont le statut infectieux est inconnu, constitue un facteur de risque d'introduction, si les animaux étaient des infectés latents par *C. abortus* [90], [94], [95].

La lutte naturelle est parmi les pratiques couramment réalisées, sauf que les béliers peuvent s'infecter et excréter les bactéries dans leurs semences après une lutte naturelle avec des brebis infectées [96], [97].

3.5.2. Facteurs de diffusion

Après les avortements dus à des *Chlamydiaceae*, les gestations et les agnelages ultérieurs sont normaux suite à une immunité suffisante, mais les brebis excrètent les bactéries pendant au moins 2.5 à 3 ans [98], [99]. Certains auteurs ont démontré la possibilité d'excrétion de *C. abortus* par des brebis ayant déjà avortées lors des ovulations et des mise-bas suivantes [92], [100]. Chez les chèvres, les sécrétions peuvent contenir des bactéries neuf jours ou même parfois deux semaines avant et deux semaines après l'avortement [90], [93]. Donc le fait de ne pas séparer les femelles ayant avortées du reste de cheptel, conduit à la diffusion de *C. abortus*.

Le placenta et l'avorton constituent une source importante de *C. abortus*, la contamination placentaire moyenne est de 2.7×10^7 bactéries par microgramme de cotylédon infecté [101]. S'ils ne sont pas ramassés, ils peuvent souiller la litière qui à son tour contamine les femelles saines [90].

Une enquête algérienne avait montré que l'âge, la région, l'hygiène et mortinatalité avaient une influence sur la séropositivité liée aux infections par les *Chlamydiaceae*. L'étude ne montrait pas d'association de séropositivité avec la taille des troupeaux et ni de l'historique des avortements [65].

4. EXPRESSION CLINIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIE

4.1. Expression clinique

Les brebis et chèvres infectées par les *Chlamydiaceae* ne montrent pas des signes cliniques jusqu'à ce que l'avortement soit imminent. Dans la majorité des cas, l'avortement se produit dans le dernier mois de gestation. Ces animaux guérissent rapidement après l'avortement. Des complications peuvent être observées comme l'arthrite, la pneumonie, la rétention placentaire et la métrite, et peuvent parfois être mortelles principalement chez la chèvre en comparaison avec la brebis.

Il est rare qu'une brebis avorte deux fois de chlamydie car l'immunité acquise lors d'une primo-infection la protège [102], [103], [104], [105], [101]. Dans les placentas ou les sécrétions vaginales, le nombre des *Chlamydiaceae* diminuent rapidement en post-partum [106], [81], [101], [71], [74].

La lésion majeure, régulièrement associée à la chlamydie abortive est la placentite avec des cotylédons multifocaux nécrosés et l'accumulation d'exsudat rouge-brunâtre dans le placenta [107]. Les Lésions macroscopiques spécifiques n'ont pas été observées chez le fœtus. Sur le plan histologique, la placentite est parfois accompagnée par une pneumonie ou une encéphalite chez le fœtus [11], [108], [21], [109].

4.2. Pathogénie

Le mécanisme d'avortement dû à *C. abortus* est encore mal connu et pourrait être lié à l'association de plusieurs facteurs [110]. Le premier serait la destruction des placentomes à cause de l'invasion des *Chlamydia* qui commence après le 90^{ème} jour de gestation, plus probablement autour du 110^{ème} au 120^{ème} jour [111], [112], [113], [105] provoquant une réponse inflammatoire, qui semble être suffisante pour contrôler la diffusion des *C. abortus* dans le placenta de la mère, mais ce n'est pas le cas dans la partie fœtale, où une infection très étendue des cellules trophoblastiques a été observée, ce qui suggère que ces cellules sont l'une des principales cibles de la multiplication et la dissémination de *C. abortus* [113]. Ces cellules trophoblastiques, ainsi que les macrophages fœtaux libèrent des médiateurs inflammatoires, par exemple, le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) et l'interleukine-8 [114], induisant une réponse inflammatoire qui peut provoquer des lésions placentaires [115]. En effet, le TNF- α et l'interféron- γ (IFN- γ) peuvent avoir des effets néfastes sur le placenta [116], la libération d'IFN- γ pourrait aider dans la prévention contre la dissémination de *C. abortus*.

En outre, il a été montré que *C. abortus* pourrait perdre l'opéron de biosynthèse du tryptophane, grâce à l'IFN- γ qui induit l'expression de l'indoléamine 2,3-dioxygénase, (IDO), ce dernier dégrade le tryptophane et prive donc les *Chlamydia* de ce produit. Il est encore inconnu comment *Chlamydia* peut se multiplier dans le placenta, bien que plusieurs hypothèses pertinentes aient été faites [117].

4.3. Immunité

4.3.1. Immunité à médiation cellulaire

Comme pour toute bactérie à croissance intracellulaire, la réponse immunitaire de type cellulaire semble capitale pour contrôler la dissémination des *Chlamydiaceae*.

Cette immunité cellulaire pourrait être mise en jeu par l'intermédiaire de la protéine chaperonne (Hsp 60), produite en réponse au stress. L'infection à *Chlamydia* provoquerait une production d'Interféron gamma introduisant un état de latence de la bactérie avec une expression accrue de la Hsp 60 et une diminution de l'expression de la MOMP. Il s'établirait alors un état d'hypersensibilité retardée sous la dépendance des lymphocytes CD4Th1 [115].

4.3.2. Immunité à médiation humorale

Elle est importante mais varie dans son intensité et dans son expression selon la bactérie en cause. La présence d'IgG, d'IgM et d'IgA spécifiques peut être détectée chez l'homme ou l'animal infecté par ce microorganisme. En cas d'atteinte limitée aux muqueuses, seules des IgA sécrétoires sont régulièrement mises en évidence (larmes, sécrétions génitales) [117].

Dans les infections plus diffuses (psittacose, lymphogranulomatose vénérienne...), des IgM et des IgG apparaissent dans le sérum [117].

4.4. Inoculation expérimentale

Les facteurs influant la transmission de la maladie ont été étudiés, à travers de nombreuses infections expérimentales. La sensibilité des brebis et chèvres à l'infection peut varier en fonction de l'état physiologique de la femelle, ainsi que selon la voie d'infection. Les brebis et chèvre dans leur troisième mois de gestation semblent être plus sensibles, de sorte que le premier avortement peut devenir une source importante d'infection pour les autres femelles en fin de gestation.

Dans le cadre d'une étude, les brebis inoculées au 105^{ème} jour de la gestation n'avaient pas avorté, mais avaient donné naissance à des agneaux vivants mais

faibles [118]. Les agnelles nées vivantes infectées peuvent avorter lors de leur première gestation. Elles conservent l'infection dans le troupeau et peuvent la transmettre à d'autres troupeaux.

Lors des agnelages intensifs, la contamination au moment de l'agnelage peut conduire à des avortements pendant les périodes de gestations ultérieures.

L'infection au 50^{ème} jour de gestation par *C. abortus* peut conduire à la perte du fœtus avant le 105^{ème} jour de la vie embryonnaire. Par la suite, les éleveurs peuvent considérer ces animaux comme «stériles» sans se rendre compte du rôle potentiel de *C. abortus* [112].

Les inoculations orale [71], intradermique [119] ou sous-cutanée [98] des femelles non gestantes sont souvent asymptomatiques et induisent l'avortement chez un nombre réduit d'animaux lors de gestation ultérieure, mais les animaux acquièrent une protection contre une nouvelle infection pendant la gestation [98]. Les conséquences de l'inoculation intranasale varient en fonction de la dose inoculée, une faible dose induit des taux d'avortement élevés par rapport à une dose élevée, cela pourrait stimuler une immunité protectrice [74], 95% des brebis donnent naissance à des agneaux vivants après une inoculation intranasale de 5×10^7 IFU (inclusion forming units) avant la gestation, tandis que l'inoculation intranasale de 5×10^3 ou 5×10^5 IFU conduit à 59% ou 67% d'avortement; l'inoculation sous-cutanée de 4×10^6 IFU au 70ème jour de la gestation a conduit à un taux de 50% d'avortement. D'autre part, l'inoculation intravaginale de brebis non gravides induit à 100% d'avortements [98], ce qui suggère un potentiel de transmission vénérienne important de *C. abortus*.

Les béliers infectés excrètent les *Chlamydia* dans le sperme qui est habituellement de qualité insuffisante pour la fécondation. Ils peuvent développer une épididymite, vésiculite, des infections des testicules et glandes génitales qui conduisent à la stérilité et l'infertilité [120], [97].

Enfin, si la transmission vénérienne de *C. abortus* semble possible, elle ne constitue pas un facteur principal dans la transmission de la maladie. L'inoculation parentérale, pourrait permettre l'instauration d'une infection persistante qui peut provoquer un avortement dans une gestation ultérieure [121].

5. DIAGNOSTIC

5.1. Diagnostic direct

Historiquement, la présence de *Chlamydia* a été mise en évidence par la coloration de Stamp sur les frottis de cotylédons placentaires présentant des lésions [7]. Cependant, ce test manque de sensibilité et de spécificité, en raison que *C. abortus* ressemble à *Coxiella burnetii* en morphologie et en coloration. Le diagnostic a pu par la suite être amélioré par le développement de méthodes basées sur la détection d'antigènes de *Chlamydia* par immunofluorescence, marquage immunohistochimique [122], [123] ou immuno-enzymatique (ELISA) [119], [124], qui sont spécifiques et plus sensibles, mais nécessitent l'utilisation d'équipements sophistiqués et sont coûteux à réaliser. Cependant, ces tests ne permettent généralement pas l'identification de l'espèce ou du sérotype [125]. L'accès à des séquences de génome entier pour identifier des peptides spécifiques à l'espèce, ouvrent des perspectives intéressantes de recherche [126].

5.1.1. Prélèvements

Les *Chlamydiaceae* responsables de la chlamydie abortive peuvent être recherchées dans les sécrétions vaginales, les placentas et à partir de tissus prélevés sur les avortons, ces deux derniers doivent être placés dans des sacs en plastiques solides qui sont ensuite envoyés à un des laboratoires de microbiologie vétérinaire. Si les placentas ne sont pas disponibles, les écouvillons doivent être immédiatement prélevés dans le vagin et des zones humides sur les avortons pour déterminer la présence du microorganisme. *C. abortus* peut être isolé à partir d'échantillons de tissus infectés, tels que les cotylédons, les membranes intercotylédonaires et le foie fœtal. Il faut éviter la contamination fécale, car des souches commensales de *C. abortus* et *C. pecorum* ont été mises en évidence après une infection intestinale ovine [127], [128].

5.1.2. Examen microscopique

Différentes colorations sont utilisées pour la mise en évidence des inclusions cytoplasmiques. La recherche de la bactérie au microscope après colorations de Stamp, Giemsa, Gimenez ou Machiavello sur des prélèvements (placenta, fœtus et échantillon vaginal), s'effectue le plus tôt possible après l'avortement [63], [90]. La coloration de Stamp présente une technique de routine du diagnostic de la chlamydie abortive en médecine vétérinaire où les *Chlamydia* apparaissent sous forme des petits points rouges brillants [63].

Le défaut majeur de toutes ces méthodes de colorations est leur manque de sensibilité et de spécificité. Il est souvent difficile de distinguer *C. abortus* de *Brucella* et de *Coxiella* [3]. Elles ne permettent donc d'établir qu'un diagnostic de présomption. Elles ont en revanche l'avantage d'être rapides, de pouvoir être exécutées dans de nombreux laboratoires, de pouvoir être conservées longtemps et éventuellement d'être envoyées à un laboratoire spécialisé pour confirmation.

5.1.3. Isolement

L'isolement de *Chlamydia* sur culture cellulaire ou œufs embryonnés, reste le moyen le plus efficace pour étudier la bactérie, sauf que l'isolement est pratiqué dans quelques établissements de recherche.

Le prélèvement pour l'isolement doit être choisi de façon à donner le maximum de chances d'isoler les *Chlamydia*. Il doit donc être infecté, ne pas être cytotoxique et permettre une bonne conservation de la survie des *Chlamydia*. Des précautions doivent être prises pour éviter la perte du pouvoir infectieux des bactéries pendant le stockage et le transport, cela permet d'augmenter considérablement la possibilité d'isoler l'agent. La contamination par d'autres bactéries peut influencer l'isolement. La gentamicine et la streptomycine sont utilisées pour réduire les risques de contamination [125].

L'utilisation des œufs embryonnés est devenue jusqu'à aujourd'hui, une des méthodes les plus utilisées dans les laboratoires de microbiologie pour cultiver les *Chlamydia*. Cependant cette technique est trop longue (5 à 12 jours) et trop laborieuse pour être utilisée en routine pour l'isolement. *C. abortus* peut être cultivée sur une variété de lignées cellulaires. Les cellules McCoy, L929, et des

cellules de rein de bébé hamster, sont le plus souvent utilisées [90]. La pénétration des *Chlamydia* dans les cellules en culture peut être augmentée par la centrifugation et/ou par le traitement chimique des cellules cultivées, avant ou pendant l'infection, en utilisant par exemple la cycloheximide et le diethylaminoethyl-dextran [125]. Le taux de multiplication varie selon la lignée cellulaire et l'espèce de *Chlamydia* cultivée. La multiplication des bactéries peut être détectée par diverses méthodes de bactérioscopie, la plus utilisée est l'immunofluorescence [90].

La culture cellulaire est uniquement utilisée dans le cadre de recherches scientifiques, et non en routine. De plus, des méthodes plus sensibles de dépistage basées sur la recherche de matériel génétique ont permis de démontrer que la culture cellulaire est moins sensible que précédemment estimée.

5.1.4. ELISA direct

La technique ELISA directe (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est réalisée grâce à des kits de diagnostic commercialisés. Ils contiennent essentiellement des plaques de microtitration avec des puits sensibilisés par les anticorps anti-*Chlamydia*, ce test nécessite aussi des anticorps monoclonaux spécifiques couplés à la phosphatase alcaline dirigés contre le LPS [3], [81].

Les tests ELISA ont été, à l'origine, développés pour identifier *C. trachomatis* chez l'homme. Si l'animal est positif en ELISA mais en bonne santé, le vétérinaire doit vérifier l'excrétion de l'antigène par isolement du germe. Si un animal cliniquement atteint et avec un résultat ELISA direct négatif, un diagnostic de chlamydiose ne peut pas être exclu sans d'autres tests. Il faut prendre en compte aussi les tissus qui pourraient être utilisés pour préparer les échantillons. Par exemple, lors d'avortement chez les ruminants, les échantillons les plus utilisés sont préparés à partir de membranes placentaires, de cotylédons ou à partir d'écouvillons vaginaux prélevés au moment de l'avortement ou du liquide gastrique ou du poumon des foetus avortés [119], [21].

5.1.5. Biologie moléculaire

5.1.5.1. Techniques de PCR

Au cours des 15 dernières années, la PCR est devenue un outil important pour la détection de *Chlamydia*. De nombreux tests ont été publiés dans la littérature ciblant la région du gène de l'ARN ribosomique [129], [130], [131], ou du gène de *omp1* [132], [133], [134], [125], permettant l'identification de l'espèce. Plusieurs kits commerciaux sont disponibles. La détection de l'ADN de *C. abortus* dans les échantillons provenant de fœtus avortés est suffisante pour conclure que *C. abortus* avait provoqué l'avortement. D'autre part, la présence de l'ADN de *Chlamydia* dans les prélèvements vaginaux ou placentaire ne peut pas toujours être associée à l'avortement, *C. abortus* est souvent détectée dans les prélèvements vaginaux et le placenta de brebis ou de chèvres après parturition normale. Gutierrez et *al.* (2011) ont montré que seules les membranes fœtales contenant plus de 107 bactéries par gramme de tissu à partir de lésions typiques qui ont conduit à l'avortement. Il est essentiel de quantifier la quantité de *Chlamydia* pour réaliser le diagnostic, ce qui est impossible avec la PCR classique [71].

En revanche, des tests de PCR en temps réel qui permettent d'évaluer la charge bactérienne dans les échantillons, sont les outils les plus pratiques pour le diagnostic de l'avortement à *Chlamydia* et le nombre de protocoles de PCR en temps réel est en constante augmentation [130], [135], [136], [125], tout comme le nombre de kits disponibles dans le commerce.

Récemment, des tests ADN microarray d'hybridation utilisant le « Array Tube platform » ont été développés et ils sont très prometteurs pour la détection directe et l'identification des microorganismes à partir des prélèvements [137], [138], [139].

5.1.5.2. Génomotypage moléculaire par les techniques MLVA et MLST

Plusieurs techniques de typage des souches de *Chlamydia* impliquées dans les avortements chez les ruminants ont été essayées pour différencier entre *C. abortus* et *C. pecorum* ou de différencier entre les souches au sein des espèces.

C. abortus est une espèce très homogène. Seules trois souches de *C. abortus*, deux souches grecques LLG et POS isolées à partir d'une chèvre et d'une brebis avortées, respectivement [140] et de la souche AB16, isolée en France à partir d'une brebis ayant avortée dans un troupeau vacciné [141] ont présenté une diversité antigénique avec des anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines membranaires polymorphiques (Pmp) [142], [141].

En outre, les inclusions morphologies des souches LLG et POS et la réactivité de leurs anticorps monoclonaux de protection contre la protéine majeure de la membrane externe (MOMP) diffèrent des autres souches de *C. abortus* [143].

Le séquençage du génome entier de *C. abortus* a rendu possible le développement de techniques de génotypage, ces dernières facilitent les études épidémiologiques de la chlamydie ovine et caprine. La technique Multi-Loci VNTR « variable number of Tandem Repeats » Analysis (MLVA) a permis le génotypage direct d'échantillons [144].

Aussi, une autre technique, la Multilocus Sequence Typing (MLST) a été récemment utilisée, cette dernière permet de distinguer les souches « hautement pathogène » de *C. pecorum* des autres souches « moins pathogènes » [145].

5.2. Diagnostic indirect

5.2.1. Test de la fixation du complément

Le diagnostic sérologique de la chlamydie abortive par le TFC a été couramment le plus utilisé pour la détection d'anticorps anti-*Chlamydia* dans les sérums des animaux. Ce test a été recommandé par le bureau international des épizooties pendant très longtemps.

Les sérums collectés au moment de l'avortement et au plus tard 3 semaines après, peuvent révéler une élévation du titre d'anticorps [146], [147]. Souvent l'antigène utilisé est un antigène de groupe commun à tous les membres du genre *Chlamydia*, le TFC détecte le contact de l'animal avec toutes les *Chlamydiaceae*. Ceci a amené à standardiser la méthode et définir un seuil à partir duquel les animaux sont considérés comme atteints de chlamydie abortive.

Après l'avortement, le taux des anticorps dirigés contre l'antigène (LPS) spécifique du genre augmente, et coïncide avec un développement de l'immunité protectrice chez la brebis. Cette augmentation du titre d'anticorps est souvent détectée par le TFC [90]. Cependant, les antigènes en communs entre *C. abortus* et *C. pecorum*, ainsi que d'autres bactéries gram négatives, telles que *Acinetobacter*, peuvent compliquer l'interprétation des résultats, en particulier lorsque les titres détectés ne sont pas élevés [92], [90].

Le TFC manque de spécificité car son antigène se compose principalement de LPS, qui est commun à toutes les espèces de la famille *Chlamydiaceae* [148].

5.2.2. Immuno-Fluorescence indirecte (IFI)

L'immuno-fluorescence indirecte s'avère souvent plus sensible que la fixation du complément. Cette technique utilise des lames qui sont commercialisées avec l'antigène déjà fixé, les anticorps présents dans le sérum à tester réagissent avec cet antigène fixé pour former un complexe, les anticorps liés sont révélés grâce à une globuline anti-IgG ou des anticorps anti-immunoglobulines marqués à la fluorescéine. La lecture est effectuée à l'aide d'un microscope à fluorescence [147], [3].

5.2.3. ELISA indirect

Des tests immuno-enzymatiques ont été développées en utilisant comme antigène, des corps élémentaires semi-purifiés [149], [150] ou des antigènes solubles [151], [146], [152], [153]. Aucun de ces tests, toutefois, n'était suffisamment sensible et spécifique. La mise au point de l'ELISA compétitif basé sur des anticorps monoclonaux dirigés contre des zones variables de la MOMP de *C. abortus* augmente la spécificité de la détection.

Cependant, le vrai progrès dans la spécificité des tests a été obtenu avec l'utilisation d'antigènes recombinants [147], [128], [154], [125], principalement avec des antigènes recombinants qui expriment une partie des Pmp [155], [156], [157], [158], [159]. Un test disponible dans le commerce basé sur la famille Pmp est disponible, il a été prouvé être le plus spécifique [155], [156], [158], bien que légèrement moins sensible par rapport à d'autres tests sérologiques [125].

Par ailleurs, un ELISA spécifique de *C. pecorum* utilisant la protéine recombinante IncA comme antigène [160], pourrait fournir également des outils efficaces pour les études épidémiologiques de la chlamydie abortive.

La sérologie a l'inconvénient majeur de détecter une exposition à un microorganisme, plutôt que de préciser si l'infection active est encore présente.

6. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES, TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

6.1. Sensibilité aux antibiotiques

6.1.1. Méthode d'étude de l'activité des antibiotiques

L'étude de la sensibilité des souches isolées ne se fait pas en routine étant donné la lourdeur des techniques. La méthode usuelle de détermination de la sensibilité de *Chlamydia* aux antibiotiques comporte une étape de culture de la bactérie sur lignées cellulaires en présence de concentration croissantes d'antibiotique, suivie d'une détection au microscope des inclusions chlamydiennes colorées le plus souvent par un anticorps fluorescent [161]. Le manque de standardisation des protocoles explique les différences de résultats observés entre les études. Les différences se situent dans la nature des cellules utilisées, le support, tubes ou plaques, la taille de l'inoculum bactérien, de 10^2 à 10^7 UFI (unités formant inclusion), les conditions de température, de temps d'incubation, de vitesse de centrifugation et l'intervalle de temps entre le moment de l'infection et l'ajout de l'antibiotique. Enfin, la subjectivité de la lecture constitue un facteur de variabilité important dans la détermination de la CMI définie comme la dernière dilution inhibant la formation de toute inclusion. En effet, pour des concentrations proches de la CMI, une réduction importante de la taille et de la fluorescence des inclusions de *Chlamydia* est observée. Une lecture plus objective en cytométrie en flux a été mise au point [162]. Par cette technique, l'activité des antibiotiques est évaluée par le calcul de la concentration inhibitrice 50%, qui provoque une diminution de 50% de l'intensité de fluorescence comparée au témoin de cellules infectées cultivées sans antibiotiques qui représente le 100%. Ces valeurs présentent l'avantage d'être indépendantes de la gamme de concentrations testées et de la taille de l'inoculum. Des techniques de biologie moléculaire ont été développées pour des bactéries à croissance difficile. Elles consistent à mesurer l'inhibition de la croissance bactérienne par quantification soit de l'ADN ou ARN par PCR en temps réel.

6.1.2. Sensibilité et résistance naturelle

Etant donné le cycle de développement particulier des *Chlamydiaceae*, les antibiotiques susceptibles d'avoir une activité doivent traverser plusieurs membranes, celle de la cellule hôte, celle de la vacuole et celle de la bactérie. Peu d'antibiotiques sont naturellement actifs sur ces bactéries [161]. Parmi les antibiotiques potentiellement actifs, on trouve par ordre d'activité décroissante in vitro, la rifampicine avec les CMI les plus basses, les tétracyclines, notamment la minocycline et la doxycycline, les fluoroquinolones les plus récentes (sparfloxacin, moxifloxacin, gémifloxacin et gatifloxacin), les macrolides vrais (érythromycine, roxithromycine, azithromycine) et certaines fluoroquinolones moins récentes (ofloxacin, ciprofloxacin).

Les *Chlamydiaceae* présentent une résistance naturelle aux aminosides, à la vancomycine, aux quinolones de première génération, au métronidazole et à la colimycine. Parmi les β -lactamines, seule la pénicilline G et l'amoxicilline présentent une certaine activité en empêchant la différenciation du CR en CE, entraînant la formation de formes morphologiquement anormales, non cultivables [163].

6.2. Traitement des petits ruminants contre les infections à *Chlamydia*

Les *Chlamydiaceae* sont sensibles aux certains antibiotiques et l'administration en intramusculaire de l'oxytétracycline, avec deux injections à deux semaines d'intervalle (dosage: 20 mg /1kg de poids animal) peut réduire la gravité de l'infection [164]. Pendant le dernier mois de gestation, ce traitement est utilisé pour réduire la proportion des cas d'avortement et le nombre de *Chlamydia* excrété, mais ça n'empêche pas l'excrétion de micro-organismes à la naissance [165] ou de la propagation de l'infection dans la ferme.

Par conséquent, l'administration d'antibiotiques ne doit pas être utilisée systématiquement comme traitement prophylactique, car il pourrait promouvoir l'émergence de la résistance. La fréquence de l'apparition de résistance à la tétracycline pour *C. abortus*, n'est pas encore étudiée. Il est préférable de réserver le traitement à des circonstances exceptionnelles. La vaccination et la bonne gestion du troupeau permettent le contrôle de l'infection.

En cas d'un taux d'avortements important dans une ferme nouvellement infectées, toutes les femelles gestantes doivent être traitées avec des antibiotiques, afin de réduire les pertes dues à des avortements. Ensuite, tous les animaux doivent être vaccinés.

6.3. Prophylaxie

6.3.1. Mesures d'hygiène

Après l'avortement, les brebis doivent être immédiatement isolées. Lors de la période de l'agnelage, les brebis infectées doivent être rapidement identifiées et isolées. Pendant la période des avortements à *Chlamydia*, la transmission des bactéries aux animaux sains et l'environnement peut être évitée ou réduite, en détruisant tous les agneaux mort-nés et placentas afin d'empêcher leur ingestion par les carnivores domestiques ou sauvages, qui pourraient diffuser la maladie. Aussi, les nouveau-nés doivent être à l'abri des contaminations, dans un endroit propre et désinfecté. Le matériel de la ferme contaminé, doit être lavé et désinfecté pour limiter le risque de propagation des germes. Il est également essentiel que les mains soient soigneusement lavées après avoir touché les animaux malades et le matériel utilisé.

Des mesures préventives doivent être prises, avant l'introduction des nouveaux animaux dans les fermes indemnes. Un simple test sérologique sur des nouveaux animaux ne suffit pas, même si, les animaux sont séronégatifs, car les titres d'anticorps de jeunes ovins et caprins qui sont nés de mères infectées, sont généralement faibles et ne sont pas détectables par les tests de diagnostic sérologiques actuellement disponibles, alors que ces animaux peuvent avorter au cours de leurs premières gestations. Le choix des nouveaux animaux de remplacement pourrait être fait par une recherche des *Chlamydiaceae* dans les écouvillons conjonctivaux au moment des chaleurs. Gutierrez et al., 2011 ont montré que la plupart des frottis conjonctivaux recueillies au premier œstrus après l'infection, contenaient des ADN de *C. abortus* [71].

6.3.2. Vaccination

Le premier contact des petits ruminants à *C. abortus* induit une immunité forte ce qui permet de résister à une deuxième introduction de ces germes [165], l'avortement à *Chlamydia* chez les brebis et chèvres pourrait être contrôlé par vaccination.

Les deux vaccins atténué [166] ou inactivé [167] de *C. abortus* ont été développés et sont disponibles dans la plupart des pays.

Les vaccins inactivés (Huile émulsionnée) ont été utilisés pendant des décennies pour contrôler l'avortement à *C. abortus* [168]. L'efficacité des ces vaccins peut être testée chez des lapins par la mesure du niveau d'anticorps en utilisant le test de fixation du complément; néanmoins, ces anticorps ne sont pas protecteurs [169]. En outre, ces vaccins ne réduisent pas l'excrétion de *Chlamydia* pendant l'agnelage [118], ce qui pourrait avoir de graves conséquences en santé humaine (femmes enceintes) et animales, ainsi que sur l'épidémiologie de la maladie.

Un vaccin atténué utilisant une souche de *C. abortus* [170] sensible à la température a été développé [166]. Les vaccins atténués ont été connus pour être efficaces, pas chers et nécessitant généralement une seule injection pour induire une bonne immunité. Le vaccin atténué (Cevac® Chlamydia, Ovilis® Enzovax) est efficace dans la prévention de l'avortement contre toutes les souches sauvages testées [171], [94], [134], [95]. Ce vaccin pourrait également être associé aux vaccins *Brucella Rev1* et / ou le vaccin *Salmonella RV6* [172], vaccin contre *Toxoplasma* [94] ou un vaccin *Coxiella burnetii* [3].

Une vaccination est suffisante pour protéger pendant plus de trois ans. La vaccination annuelle est recommandée dans les zones endémiques. Par conséquent, dans les foyers d'avortements à *Chlamydia*, d'abord, tout le troupeau doit être vacciné, quatre à six semaines avant la saillie des brebis et les animaux de remplacement dans les années suivantes. [173], [93], [1].

Contrairement aux vaccins inactivés, ce vaccin atténué contre *C. abortus* réduit considérablement l'excrétion de ces bactéries comme a été prouvé dans les analyses sur des échantillons vaginaux [166], [171] ou dans la formation des inclusions dans les cultures cellulaires [94].

Les béliers doivent également être vaccinés dans la mesure où le risque de transmission vénérienne de *C. abortus* n'est pas exclu [97] et pour prévenir l'hypofertilité suite aux orchites et des épидидymites après une phase de chlamydémie [174], [175].

Compte tenu des pertes économiques (avortement en masse) et le risque zoonotique engendrées par *C. abortus*, la vaccination peut jouer un rôle primordial lors de la prévention. Plusieurs pays vaccinent leurs cheptels contre la chlamydie abortive des petits ruminants. En Algérie aucune vaccination contre la chlamydie abortive n'est utilisée.

CONCLUSION DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Les *Chlamydia* sont de petites bactéries coccoïdes, immobiles et strictement intracellulaires. Ces bactéries ne peuvent pas pousser sur les milieux acellulaires, et leur cycle de vie est complexe. Le génome de *C. abortus* est très petit environ 15% de la taille du génome d'*Escherichia coli*, et code pour environ 500 protéines.

Le cycle de multiplication des *Chlamydiaceae* comporte des étapes intra- et extra-cellulaires faisant alterner principalement deux formes distinctes qui interviennent à des moments bien précis au cours du cycle: les corps élémentaires (CE) et les corps réticulés (CR).

Les antigènes des *Chlamydiaceae* peuvent être regroupés en types différents : Les antigènes de genre : ils sont communs à toutes les *Chlamydia*. Trois épitopes de genre ou plus sont portés par le LPS. D'autres antigènes sont portés par des protéines telles la MOMP.

Les antigènes d'espèce : certains déterminants antigéniques de la MOMP permettent la distinction des espèces de *Chlamydia*. Cette protéine est considérée comme la cible la plus importante pour induire une réponse immunitaire forte et protectrice. Pour cette raison, elle reste le candidat vaccinal principal contre les infections par les différentes espèces de *Chlamydia*. Aussi, certaines protéines des Pmp exprimées à la surface de la cellule, sont immunogènes.

Les *Chlamydia* chez les petits ruminants sont à l'origine d'avortements en fin de gestation sans signes cliniques et de mises bas prématurées ou à terme de produits chétifs, de troubles de la reproduction, des atteintes ostéo-articulaire et respiratoire. Les femelles ayant avortées développent une bonne immunité cellulaire.

La transmission de la maladie entre les animaux s'effectue principalement par voie transplacentaire (verticale) et par la voie vénérienne (horizontale). Le placenta, les sécrétions vaginales et le fœtus des femelles infectées constituent les sources principales de *C. abortus*.

La chlamydie abortive est une zoonose particulièrement dangereuse pour les femmes enceintes qui s'infectent suite au contact avec les femelles infectées ayant avortées ou de leurs produits d'avortement.

Dans un troupeau la maladie circule d'une façon cyclique où elle prend un caractère enzootique avec des taux d'avortements élevés qui diminuent par la suite. Un pic abortif se produit sur les primipares et les animaux nouvellement introduits.

Il est essentiel d'établir à un bon diagnostic, en vue d'adopter les mesures de contrôle appropriées pour limiter ou prévenir la propagation de l'infection. Un diagnostic présomptif d'infection à *Chlamydia* peut être fait sur la base de l'historique de l'animal, les résultats cliniques, et des conditions épidémiologiques locales. Cependant, tous ces paramètres ne sont pas spécifiques. Par exemple, les avortements à *Chlamydia* peuvent être facilement confondus avec des avortements dus à *Brucella* ou à *Coxiella*. Un diagnostic définitif doit être confirmé par des examens de laboratoire à savoir le diagnostic indirect et le diagnostic direct. La culture des *Chlamydia* sur les œufs embryonnés ou culture cellulaire, reste le moyen le plus efficace, sauf que cette dernière n'est pratiquée que dans des établissements de recherche spécialisés.

L'utilisation des tétracyclines en particulier l'oxytétracycline chez les brebis infectées et chez les nouveaux nés permet d'éviter la propagation du germe aux autres animaux sains sans pour autant assurer la disparition totale du germe dans l'élevage.

Le contrôle des animaux nouvellement introduits, l'isolation des animaux atteints de chlamydie abortive, et l'hygiène dans les locaux d'élevage limitent considérablement la contamination des troupeaux sains.

La vaccination annuelle est recommandée dans les zones endémiques. Par conséquent, dans les foyers d'avortements à *Chlamydia*, tout le troupeau doit être vacciné quatre à six semaines avant la saillie des brebis et les animaux de

remplacement dans les années suivantes. L'utilisation d'un vaccin atténué est suffisante pour protéger les femelles pendant plus de trois ans.

7. PROBLEMATIQUE et OBJECTIFS DE L'ETUDE

Parmi les avortements infectieux des petits ruminants, la part d'intervention des *Chlamydia*, est une donnée très importante à connaître.

Chez les petits ruminants, le nombre élevé d'avortements à *Chlamydia* se maintient généralement pendant 2 à 3 ans avant de diminuer fortement, affectant alors moins de 10% des femelles gravides et tout se passe comme si la maladie semblait disparaître de l'élevage. Mais après quelques années, la chlamydiose peut se manifester à nouveau par pic d'avortements survenant chez la quasi totalité des primipares [174], [104].

Au moment de l'avortement, une quantité importante de *Chlamydia* présente dans le placenta et le liquide amniotique est excrétée dans l'environnement. L'excrétion vaginale peut commencer quelques jours avant la mise bas chez la chèvre. Elle peut persister plusieurs jours, mais elle devient très rapidement intermittente et moins intense. Les *Chlamydia* sont également excrétées dans le lait, les fèces et l'urine [176], [177].

Au Maghreb, très peu d'études ont été réalisées, et ont rapporté des séroprévalences cheptels variables selon les pays : Tunisie 20.7% à 25.4% [66], Maroc 28.6% [67].

En Algérie, très peu d'études sérologiques ont été menées, la seule publiée par Hireche, a rapporté un taux élevé de 70.4% [65]. Aucune étude relative au génotypage moléculaire des *Chlamydia* n'a été rapportée.

Vu le manque de toutes ces informations, nous nous sommes fixés donc certains objectifs, devant nous permettre de mieux apprécier la situation épidémiologique de cette pathologie dans les régions de notre étude, à savoir :

- Estimer la séroprévalence de *C. abortus*, principalement responsable des avortements dans les élevages des petits ruminants par le biais d'un test ELISA indirect.
- Détecter les espèces de *Chlamydia* responsables de la chlamydiose abortive chez les petits ruminants dans les régions visitées par la technique PCR en temps réel.
- Procéder au génotypage des *Chlamydiaceae* par deux nouvelles techniques de biologie moléculaire à savoir MLVA et MLST.

- Comparer les souches algériennes à celles isolées jusqu'à présent sur différents continents (essentiellement en Europe).
- Mettre en culture les échantillons positifs sur les œufs embryonnés.

8. MATÉRIEL ET MÉTHODES

8.1. Animaux

8.1.1. Présentation de la zone d'étude

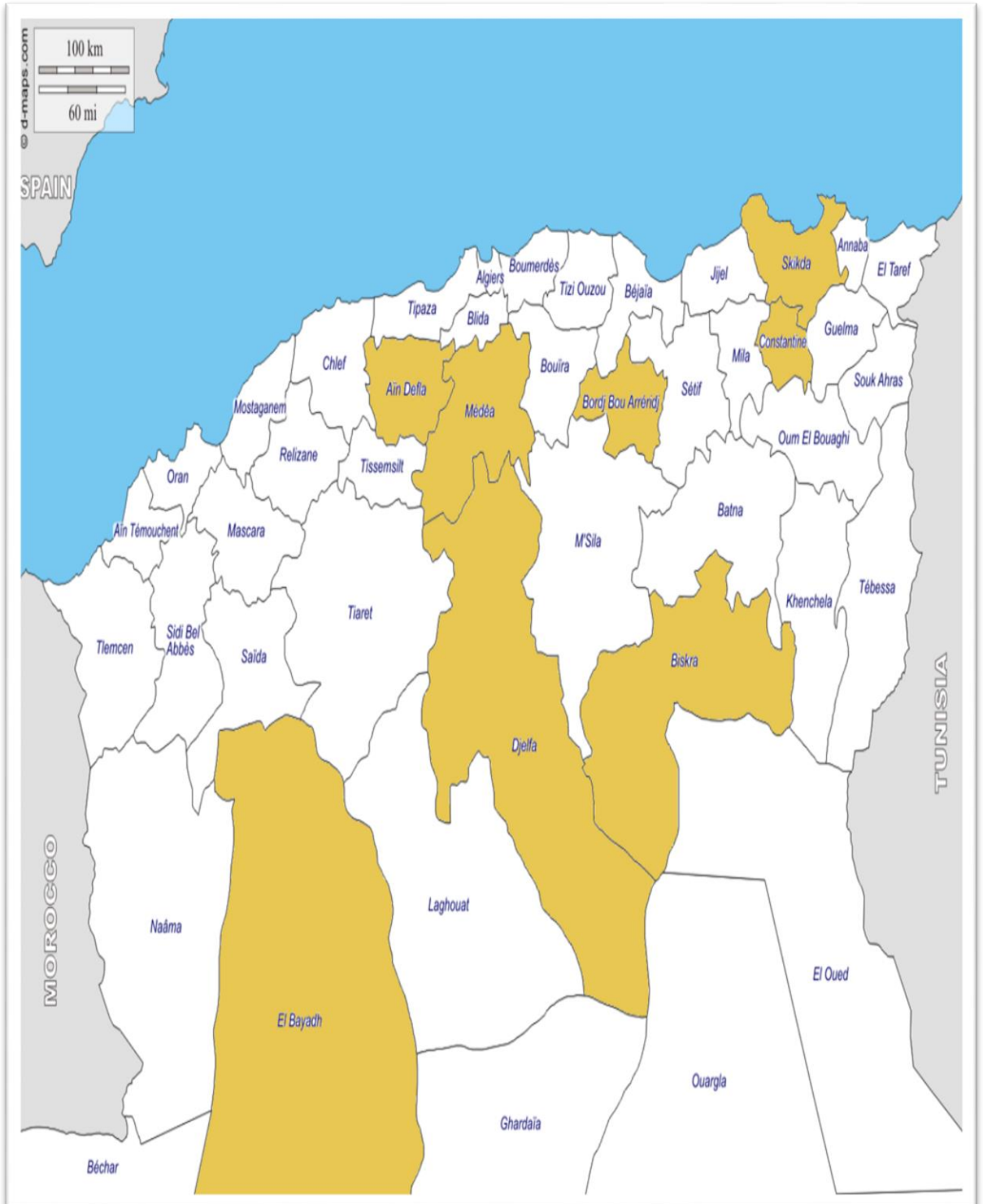
La zone d'étude s'étend sur huit wilayas de l'Algérie à savoir : Ain Defla, Bordj Bou Arreridj, Biskra, Constantine, Djelfa, El Bayadh, Médéa et Skikda (Figure 8.1). Trente cinq élevages ont été visités dans ces wilayas. La zone d'étude se situe entre la côte méditerranéenne et l'Atlas saharien. Elle jouit d'un climat tempéré, de type méditerranéen, et caractérisée par des précipitations essentiellement hivernales, irrégulières et inégalement réparties. La pluviométrie se situe entre 100 et 1000 mm/an. En hiver, la température peut chuter au dessous de - 5°C, alors qu'en été elle dépasse parfois les 40°C.

L'élevage ovin est de type sédentaire et en stabulation pendant la période hivernale. Il est très souvent associé à l'élevage des caprins. La taille des troupeaux est petite, de 30 à 80 brebis suivant la taille des exploitations. Les disponibilités fourragères sont très faibles en zone de montagne.

Certaines wilayas des hauts plateaux possèdent des cheptels de reproduction au sud, pratiquant de la transhumance à longueur d'année, et des cheptels d'engraissement au nord, qui vendent leurs productions dans les grandes villes du Nord.

Nous avons tenu compte du statut abortif des troupeaux. La vaccination contre la chlamydie abortive n'est pas pratiquée en Algérie.

Pour mieux comprendre la situation épidémiologique de la maladie, n'ont été choisies que des élevages sédentaires, en pâture, dans les alentours des villages. Les élevages d'engraissement, dont les animaux sont achetés dans les marchés et qui ne reflètent pas tout à fait la situation de ces régions ont été exclus de l'étude.



En jaune les huit wilayas visitées

Figure 8.1. Cartographie de la zone d'étude.

8.1.2. Période de l'étude

Notre étude s'est déroulée durant la période d'octobre 2011 jusqu' à septembre 2013. Elle a concerné les périodes d'avortements/ mise-bas, périodes irrégulières, en raison des problèmes de synchronisation des chaleurs.

8.1.3. Choix des élevages et des animaux

Nous avons ciblé des animaux appartenant aux élevages des petits ruminants de type sédentaire. La taille moyenne des troupeaux variait de 60 à 100 têtes. Un nombre de 35 exploitations de petits ruminants a été visité, celles-ci avaient un taux d'avortements supérieur à 5%, (taux inférieur est considéré comme normal dans un élevage et n'attire pas l'attention de l'éleveur). Les femelles qui ont avorté ou mis-bas (avec un antécédent d'avortements) ont été choisies (Appendice C). Ces femelles étaient âgées de 3 à 5 ans.

Nous avons remarqué que les animaux n'étaient pas identifiés et que la composition des troupeaux changeait très fréquemment par la vente des animaux ou l'introduction de nouvelles têtes.

8.1.4. Choix des prélèvements

Les animaux choisis pour les prélèvements ont été isolés et ont subi une contention. Sur le même animal, nous avons réalisé les prélèvements suivants :

- Sang : il a été prélevé à partir de la veine jugulaire et laissé décanter à la température ambiante. Les sérums au nombre de 226 ont été recueillis dans des tubes secs type Eppendorf de 2 ml, et ont été centrifugés à 1500 g pendant 10 min. Les sérums ont été stockés à -20°C jusqu'à leur analyse (Figure 8.2).

Notons que les échantillons de sang n'ont été collectés que dans 29 des 35 élevages inclus dans l'étude.

- Ecouvillonnage vaginal : Un nettoyage soigneux de la vulve a été effectué, en particulier si celle-ci était souillée. Après avoir entrouvert les lèvres de la vulve, nous avons utilisé des écouvillons à tige en plastique. L'écouvillon a été introduit sur toute sa longueur (de l'ordre de

15 à 20 cm). Il s'agissait de prélever la muqueuse vaginale ce qui imposait de la froter pendant 15 à 20 secondes environ. Vu que les *Chlamydia* sont des germes à multiplication intracellulaire, il est indispensable d'obtenir un prélèvement riche en cellules (Figure 8.3).

Ces germes étant fragiles, les produits pathologiques ont été immédiatement introduits dans un milieu de transport : 2 Sucrose Phosphate « 2SP » + Sérum Veau Fœtal « SVF » + antibiotiques (Vancomycine, Gentamycine, Amphotéricine B) [144].

Les échantillons vaginaux au nombre de 267 ont été transportés dans une glacière et conservés à - 20 ° C avant d'être soumis à l'extraction de l'ADN.

Tous les prélèvements ont été réalisés entre le premier et le quinzième jour suivant l'avortement ou la mise-bas.

Le choix de l'association des deux types de prélèvements dans notre travail a été défini en prenant en considération l'importance relative des différentes voies de détection et d'excrétion des *Chlamydia* à savoir :

- Le sang : La recherche des anticorps anti-*Chlamydia* dans les sérums constitue un témoin intéressant de la circulation des *Chlamydia* dans les élevages d'ovins et de caprins.
- L'écouvillonnage vaginal : En absence de placenta et de fœtus, l'écouvillonnage vaginal peut constituer une alternative pour rechercher ces bactéries dans le mucus vaginal. L'association de ces deux types de prélèvements est demandée sur le plan réglementaire pour la chlamydie abortive en se référant aux recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE) [178].

Le non recours à des analyses sur des prélèvements de lait ainsi que des matières fécales dans notre étude a été justifié par le fait que ces voies d'excrétion de bactéries ne constituaient pas sur le plan épidémiologique des voies de propagation majeure au niveau des élevages et de leur environnement, ainsi qu'en matière de risque en santé publique.

8.1.5. Envoi des prélèvements au laboratoire Anses

Chaque prélèvement était accompagné d'une fiche commémorative, recueillie auprès des éleveurs, précisant les informations relative à l'animal telles que l'espèce, l'âge, la race, les antécédents de la reproduction et autres (Appendice B).

Tous les prélèvements ont été rassemblés dans des sacs hermétiques qui, à leur tour ont été mis dans des boîtes étanches avec la carboglace. Pour le troisième emballage, il s'agit de carton bien fermé à l'aide de ruban adhésif. Sur le côté du carton, nous avons collé les documents officiels de transport avec les autorisations des services de douanes.

La société de transport et de logistique aérien a assuré l'arrivée des échantillons au laboratoire de l'Anses (Maisons-Alfort, France) dans un délai ne dépassant pas les 24 heures.

8.1.6. Analyses des prélèvements au laboratoire de santé animale de l'Anses

Tous les échantillons vaginaux et sérums ont été analysés au niveau du Laboratoire de Santé Animale de l'Anses (LSA), par nous même sous la direction du Pr. Bouyoucef et du Dr. Laroucau, en utilisant des techniques nouvelles de biologie moléculaire et la technique ELISA indirect en sérologie.

Le laboratoire de santé animale de l'Anses est situé à Maisons-Alfort (France) sur le campus de l'École nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA). Il est le laboratoire de référence OIE pour la chlamydie aviaire et la chlamydie abortive. Le laboratoire met en œuvre un ensemble d'actions qui concourent à une traçabilité et une maîtrise de ses performances, pour garantir la qualité de ses résultats. Le respect de la bonne mise en œuvre fait l'objet d'audits internes et externes.



Figure 8.2 : Prise de sang obtenue à partir d'une brebis ayant avortée (photographie personnelle).



Figure 8.3: Ecouvillonnage vaginal réalisé sur une brebis ayant avortée (photographie personnelle).

8.2. Méthodes utilisées pour le diagnostic

8.2.1. Analyse sérologique par ELISA indirecte

Des échantillons de sérums au nombre de 226 ont été analysés avec le kit ELISA « ID VET » (Innovative Diagnostics, Montpellier - France) spécifique pour la détection des anticorps dirigés contre *C. abortus*. Les composants du kit « IDVET » sont dans l'Appendice D.

Ce test ELISA a été réalisé selon le mode opératoire suivant :

Avant de commencer le test ELISA, tous les réactifs ont été ramenés à température ambiante (21°C , $\pm 5^{\circ}\text{C}$) et homogénéisés par retournement ou à l'aide d'un vortex. Par la suite, le test a été réalisé selon les étapes suivantes, nous avons:

- distribué 90 μl de tampon de dilution 13 dans chaque puits.
- 10 μl de Contrôle Négatif dans les cupules A1 et B1.
- 10 μl de Control Positif dans les cupules C1 et D1.
- 10 μl de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.
- incubé 45 min \pm 4 min à 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).
- vidé les puits, et lavé 3 fois chaque cupule avec environ 300 μl de Solution de lavage, et évité le dessèchement des cupules entre les lavages.
- préparé le Conjugué 1X en diluant le Conjugué 10X au 1/10ème en Tampon de dilution 3.
- distribué 100 μl de Conjugué 1X dans chaque cupule.
- incubé 30 min \pm 3min à 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).
- vidé les puits, et lavé 3 fois chaque cupule avec environ 300 μl de Solution de lavage.
- distribué 100 μl de Solution de révélation dans chaque cupule.
- incubé 15 min \pm 2 min à 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) à l'obscurité.
- distribué 100 μl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.
- mesuré et enregistré les densités optiques, en utilisant le lecteur ELISA « Thermo Scientific type Multiskan » à 450 nm (Figure 8.4).

Le test est validé si :

- La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{cp}) est supérieure à 0,350. ($\text{DO}_{\text{cp}} > 0,350$)

- Le rapport entre la moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{cp}) et la moyenne de densité optique des contrôles négatifs (DO_{cn}) est supérieur à 3.

$$DO_{cp}/DO_{cn} > 3.$$

Interprétation :

- calculé le pourcentage S/P pour chaque échantillon:

$$S/P = (DO_{\text{échantillon}} / DO_{cp}) \times 100$$

Les échantillons présentant un S/P :

- Inférieur ou égal à 50% sont considérés comme négatifs.
- Compris entre 50% et 60% sont considérés comme douteux.
- Supérieur ou égal à 60% sont considérés comme positifs.

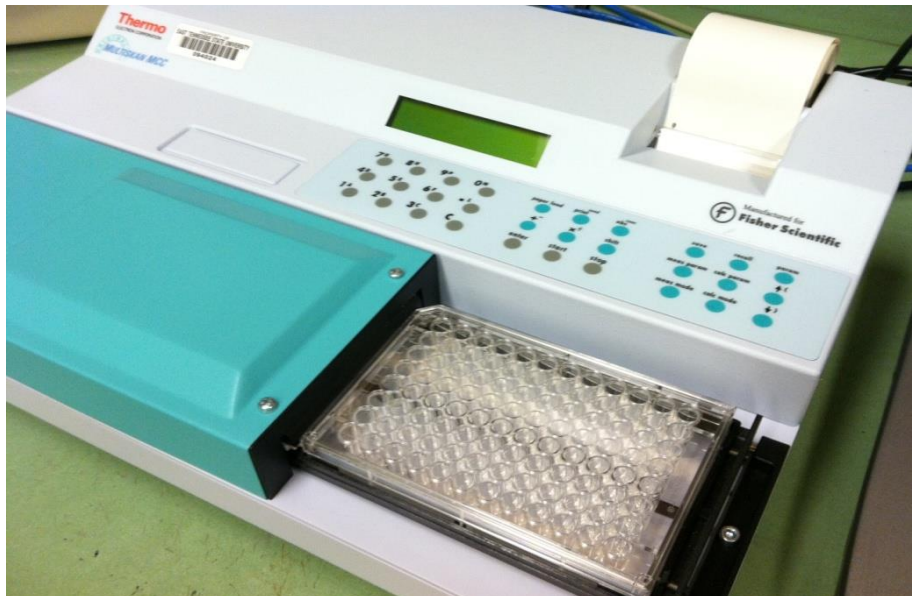


Figure 8.4 : Lecteur ELISA « Thermo Scientific type Multiskan » à 450 nm utilisé lors du test sérologique.

8.2.2. Biologie moléculaire

8.2.2.1. L'extraction d'ADN

Les écouvillons vaginaux au nombre de 267 ont été soumis à une extraction d'ADN en utilisant le kit QIAamp DNA Mini (Qiagen, Courtaboeuf, France) selon les instructions du fabricant (Figure 8.5).

Avant de commencer l'extraction, nous avons:

- 1- préparé les tampons AW1 et AW2 et la Protéinase K fournis dans le Kit, selon les recommandations. Ces tampons sont fournis sous forme concentré, un volume d'éthanol (96%-100%) a été ajouté.
- 2- équilibré le tampon (AE) à l'eau distillée.
- 3- Si un précipité s'est formé dans le tampon AL, le dissoudre à 56°C.

Procédure de l'extraction :

- 1- placé l'écouvillon dans un tube de 2 ml et en appuyant sur le bout de la tige, pour séparer le coton du bâton.

On a ajouté 600 µl de PBS (phosphate buffer salin) à l'échantillon.

- 2- ajouté 20µl de QIAGEN protéase (protéinase k) et 600µl tampon AL à l'échantillon, mixé immédiatement avec le Vortex pendant 15 secondes et incubé à 56 pendant toute la nuit.
 - 3- ajouté 600 µl de (Ethanol 96% - 100%), mixé et Centrifugé à 6000 x g (8000rpm) pendant 1 min.
 - 4- Une quantité de 700 µl du mélange de l'étape précédente est appliqué à la colonne QIAamp mini.
 - 5- ouvert la colonne QIAamp mini, ajouté 500 µl tampon AW1 et centrifugé à 6000 x g (8000rpm) pendant 1 min.
 - 6- placé la colonne QIAamp mini dans un tube collecteur de 2ml.
- Nous avons ouvert délicatement la colonne QIAamp mini et ajouté AW2 (500µl), centrifugé 20000 x g (14000rpm) pendant 3 min.
- 7- placé la colonne QIAamp mini dans un tube collecteur de 1.5 ml.
- Nous avons ajouté 150ml du tampon AE, incubé à la température ambiante et centrifugé à 6000 x g (8000rpm) pendant 1 min.
- L'ADN a été stocké à - 20 ° C.



Figure 8.5: Kit QIAamp DNA Mini utilisé à l'extraction d'ADN (Qiagen, Courtaboeuf, France)

8.2.2.2. Détection et identification des *Chlamydiaceae* par rt-PCR

Analyse des échantillons d'ADN par la rt-PCR

Dans un premier temps, 267 échantillons d'ADN ont été analysés à l'aide d'une PCR en temps réel permettant la détection des bactéries appartenant à la famille des *Chlamydiaceae* (PCR CH23S). Les échantillons positifs ont ensuite tous été réanalysés à l'aide d'une PCR en temps réel spécifique de l'espèce. Les échantillons positifs en PCR en temps réel CH23S et négatifs en PCR en temps réel *C. abortus* ont été réanalysés à l'aide d'une PCR en temps réel spécifique de l'espèce *C. pecorum*.

La réaction de la PCR se déroule, classiquement en trois grandes étapes :

- Une première étape de dénaturation à 95C° qui permet de déshybrider l'ADN double brins, d'activer la polymérase et de dénaturer les éventuelles autres enzymes qui pourraient se trouver dans le milieu réactionnel.
- L'étape d'hybridation (entre 56C° - 64C° en général) permet aux amorces de s'hybrider à l'ADN cible.
- L'étape d'élongation à 72C° pendant la quelle la polymérase va synthétiser le brin d'ADN complémentaire à l'aide dNTPs présents dans le milieu réactionnel. A la fin, le thermocycleur est réglé à 4°C pour conservation le mélange réactionnel jusqu'à son utilisation.

La PCR en temps réel repose sur le même principe qu'une PCR classique mais une sonde marquée à un fluorochrome est utilisée, dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits, permettant ainsi de visualiser en temps réel l'amplification en utilisant un thermocycleur Applied 7500 (Figure 8.6). Cette sonde correspond à une séquence comprise entre les deux amorces ciblant le fragment d'intérêt.

Le milieu réactionnel utilisé pour l'amplification par PCR en temps réel est mentionné dans le (Tableau 8.1). Il se compose du Tampon 2X (enzyme polymérase, de désoxyribonucléotides triphosphates « d'NTPs »), d'amorces sens et anti-sens, d'une sonde spécifiques de la zone à amplifier, l'eau et de l'ADN à tester.

Les amorces et sondes spécifiques utilisées pour la détection des *Chlamydiaceae*, de *C. abortus* ou encore de *C. pecorum* sont décrites dans le (Tableau 8.2). Pour chaque série d'analyse, un témoin positif (un ADN extrait d'une souche de référence) (Appendice E) et un témoin négatif (de l'eau) ont systématiquement été inclus aux échantillons à tester.

Une fois l'amplification achevée, les courbes d'amplification ont été analysées. La série d'analyse n'était validée que si le témoin positif était amplifié et si le témoin négatif ne donnait lieu à aucune amplification.

Les échantillons ont ensuite été analysés : si la courbe de l'échantillon formait une sigmoïde ressemblant à celle du témoin positif, l'ADN a été considéré comme positif.

Cette technique offre l'avantage de permettre une quantification, c'est-à-dire d'apprécier le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon à tester.

Cette notion est appréciée par le biais du Cycle Threshold (Ct). Le Ct correspond au nombre de cycles de PCR au bout duquel la fluorescence dépasse une valeur seuil fixée selon l'appareil utilisé pour la réaction. Plus le Ct est faible, plus l'échantillon est concentré en ADN de *Chlamydia*. On considère qu'un ADN qui présente un Ct inférieur à 35 est suffisamment concentré pour être génotypé.

Tableau 8.1: Milieu réactionnel de la PCR en temps réel pour un échantillon

Composition du milieu	Volume
Tampon 2X	10µl
Amorce 1	0.5 µl
Amorce 2	0.5 µl
Sonde à 1µm	2 µl
H ₂ O	5 µl
ADN	2 µl

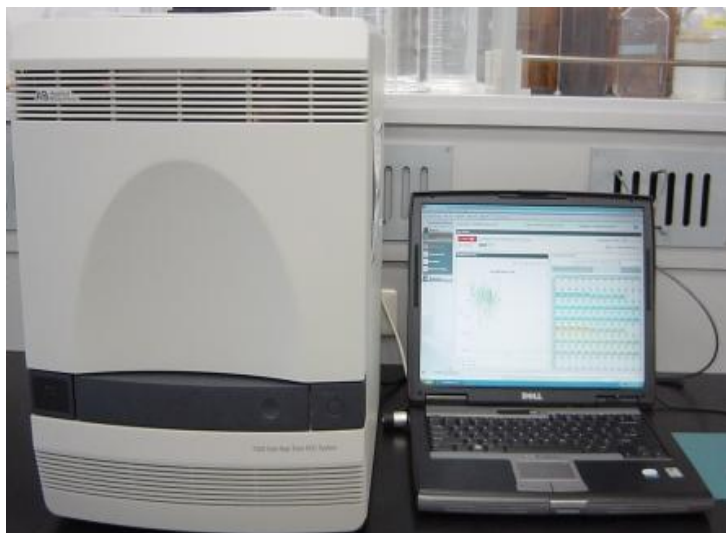


Figure 8.6 : Thermocycleur Applied Biosystems (ABI) 7500 utilisé pour la réaction d'amplification d'ADN par rt-PCR (Photographie personnelle)

Tableau 8.2 : Systèmes d'amorces et de sondes utilisés pour différentes PCR en temps réel mis en œuvre dans cette étude

Noms des amorces	Nom de la sonde	Séquence 5'-3'	Système spécifique
Ch23S forward*		CTGAAACCAGTAGCTT ATAACCGGT	rt-PCR CH23S <i>Chlamydiaceae</i>
Ch23S reverse*		ACCTCGCCGTTTAACT TAACTCC	
	Ch23S	CTCATCATGCAAAAGG CACGCCG	
<i>C. abortus</i> - forward		GCAACTGACACTAAGT CGGCTACA	rt-PCR <i>C. abortus</i>
<i>C. abortus</i> - reverse		ACAAGCATGTTCAATC GATAAGAG	
	<i>C. abortus</i> -P	TAAATACCACGAATGG CAAGTTGGTTTAGCG	
<i>C. pecorum</i> - forward		CCATGTGATCCTTGCG CTACT	rt-PCR <i>C. pecorum</i>
<i>C. pecorum</i> - reverse		TGTCGAAACATAATCTC CGTAAAAT	
	<i>C. pecorum</i> -P	TGCGACGCGATTAGCT TACGCGTAG	

*Amorces sens (forward) et anti sens (reverse)

8.2.2.3. Génotypage de *C. abortus* par la technique MLVA

Analyse des échantillons par la technique MLVA:

Onze (11) échantillons d'ADN de *C. abortus* suffisamment concentrés ont été analysés à l'aide d'un panel de 5 amorces (ChlaAb_300, ChlaAb_457, ChlaAb_581, ChlaAb_620, et ChlaAb_914), afin de déterminer le génotype MLVA de la souche étudiée.

En fonction de l'espèce ciblée, le mélange réactionnel est réalisé pour n+2 échantillons (Tableau 8.3), dans des microtubes de meilleure qualité optique (Figure 8.7).

L'ADN des souches de référence *C. abortus* AB7, S26/3 et POS (ou ADN de souches présentant des profils équivalents) ont systématiquement été ajoutés en tant que contrôles. Le témoin H₂O est réalisé en ajoutant 2 µl d'eau au mélange réactionnel. Les tubes sont insérés dans le thermocycleur. Deux thermocycleurs ont été utilisés pour la réaction d'amplification d'ADN, Bio-Rad MyCycle et Eppendorf MasterCycler gradient (Figure 8.8). Les conditions d'amplification sont les suivantes: 95°C pendant 10 min, puis 40 cycles selon le programme (95°C pendant 30 secondes, 58°C pendant 30 secondes, 72°C pendant 45 secondes), puis 10 minutes à 72°C [179].

Cinq (5) µl de produit d'amplification de chaque tube ont été déposés dans un gel d'agarose (Metaphor/standard) à 4%, le produit EZ vision a été ajouté dans le gel. L'électrophorèse a été effectuée à 110 volts pendant deux heures. Un marqueur de poids moléculaire de 100pb (Euromedex, France) a été inclus dans chaque série de migration sur gel. Les migrations des produits d'amplification sont révélées par un système de prise de vue Bio-Rad, cet appareil permet principalement la visualisation des gels d'agarose traités par des réactifs détectables aux ultraviolets à 302 nm. Les gels ont été photographiés avec le système (Figure 8.9).

Tableau 8.3 : Mélange réactionnel de la technique MLVA pour un échantillon

Composition du milieu	Volume
Tampon 10X	1.5 μ l
dNTPs 25μM	0.15 μ l
Amorces forw + rev 10 μM	1.5 μ l x2
H₂O	9.77 μ l
Enzyme hot start	0.08 μ l
ADN à tester	2 μ l
Volume final	15 μ l

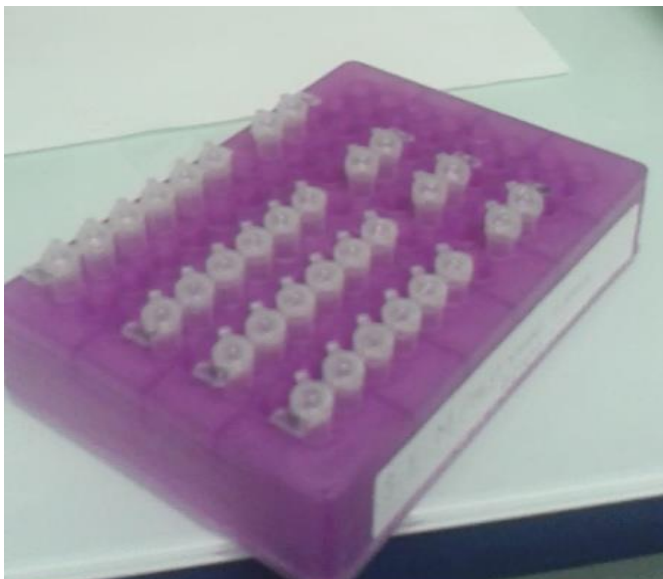


Figure 8.7 : Microtubes préparés contenant le mélange réactionnel et l'ADN de l'échantillon à amplifier lors de la technique MLVA (Photographie personnelle)



Figure 8.8 : Thermocycleurs utilisés pour la réaction d'amplification d'ADN lors des techniques MLVA et MLST. (Photo à gauche) Thermocycleur Bio-Rad MyCycler, (Photo à droite) Thermocycleur Eppendorf MasterCycler gradient (Photographie personnelle)



Figure 8.9 : Appareillage pour la migration sur gel d'agarose en utilisant une cuve d'électrophorèse (photo à gauche), branchée à un générateur de courant (photo au centre). Le système d'imagerie Bio-Rad pour photographier le gel après migration (photo à droite) (Photographies personnelles)

8.2.2.4. Génotypage de *C. pecorum* par la technique MLST :

Analyse des échantillons par la technique MLST :

Un nombre de 4 échantillons d'ADN de *C. pecorum* suffisamment concentrés, ont été soumis à l'analyse par MLST. Elle consiste à l'amplification de sept gènes de ménage, des séquences de 400 – 500 pb (*enoA*, *fumC*, *hemN*, *gatA*, *gidA*, *oppA* et *hflX*). Les milieux réactionnels utilisés pour cette technique de typage par MLST (Tableau 8.4) [180].

Les amorces utilisées et les conditions d'amplification sont listées dans (Tableau 8.5) pour chacun des systèmes. Les produits d'amplification d'ADN (amplicons) ont été envoyés à séquencer chez un prestataire de service, Eurofins MWG Operon (Ebersberg, Allemagne).

Tableau 8.4: Mélange réactionnel de la technique MLST pour un échantillon

Composition du milieu	Master Mix 1 (<i>enoA</i>, <i>fumC</i>, <i>gatA</i>, <i>gidA</i> et <i>oppA</i>)	Master Mix 2 (<i>hflX</i>, <i>hemN</i>)
Tampon10X	2.5 µl	5 µl
dNTPs	0.25 µl	0.25 µl
Amorce 1	0.5 µl	0.5 µl
Amorce 2	0.5 µl	0.5 µl
H₂O	19.15 µl	16.65 µl
Enzyme	0.1 µl	0.1µl
ADN	2 µl	2 µl

Tableau 8.5 : Amorces utilisées et conditions d'amplification pour la technique MLST « Yvonne Pannekoek » [180]

Gène spécifique	Noms des amorces	Séquence 5' – 3'	Conditions de PCR		
<i>enoA</i>	ZE_enoA_1	GMG CCA ATG CGA TTC TWG G	94°C 94°C 49°C 72°C 72°C 16°C	2 min	
	ZE_enoA_2	CCA KCC TTC AWA ATC TTC CTC		1 min	
<i>fumC</i>	ZE_fumC_1	AAA TGW GCA GCA AAG GC		1 min	
	ZE_fumC_2	GCM GGA AYA AAA GGC TC		1 min	
<i>oppA</i>	ZE_oppA_1	GTA TTT CTC CAT GTG CAA CAT CC		2 min	
	ZE_oppA_2	GTT ATG GGA AGG GCA GAA GG		2 min	
<i>hflX</i>	ZE_hflX_1	GTD TTR GAT CGB ACA GAG		∞	
	ZE_hflX_2	GCW ARD GGA TGV GAA GCA TC			
<i>gidA</i>	ZE_gidA_7	GCG CCT TCT GGA GAA AAC TG			
	ZE_gidA_8	ACA GCA GCT TCT AAG CCA CG			
<i>gatA</i>	ZE_gatA_1	ATG TAT MGT AAG AGT GCT TTA GAC			
	ZE_gatA_2	CGA ATM GAT CCW CCT GTA TC			
<i>hemN</i>	ZE_hemN_1	TTG GAG GAG GMA CTC CTA G		94°C	2 min
				94°C	1 min
			60°C	1 min	
	ZE_hemN_2	AAG RTC TTC TTC RGG AGG	72°C	1 min	
			72°C	1 min	
		16°C	∞		

} X 40

} X 40

Séquençage

Les séquences des 7 gènes de ménage (enoA, fumC, hemN, gatA, gidA, oppA et hflX) amplifiées des quatre échantillons lors de la technique MLST, ont été envoyées pour le séquençage. Pour cela, 15 à 20 µl de produit d'amplification ont été fournis ainsi que les amorces correspondantes nécessaires au séquençage à la concentration de 10 µM sous un volume de 10µl.

L'entreprise a procédé au séquençage des échantillons d'ADN et a fourni les chromatogrammes ainsi que des séquences brutes correspondants à chaque échantillon. Les séquences ont alors été contrôlées, corrigées si nécessaire par les chromatogrammes, puis comparées aux autres séquences de 21 souches de référence de *C. pecorum* (Tableau 8.6) (Appendice H).

L'alignement des séquences a été réalisé à l'aide du logiciel « Multalin » (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html>) (Figure 8.10).

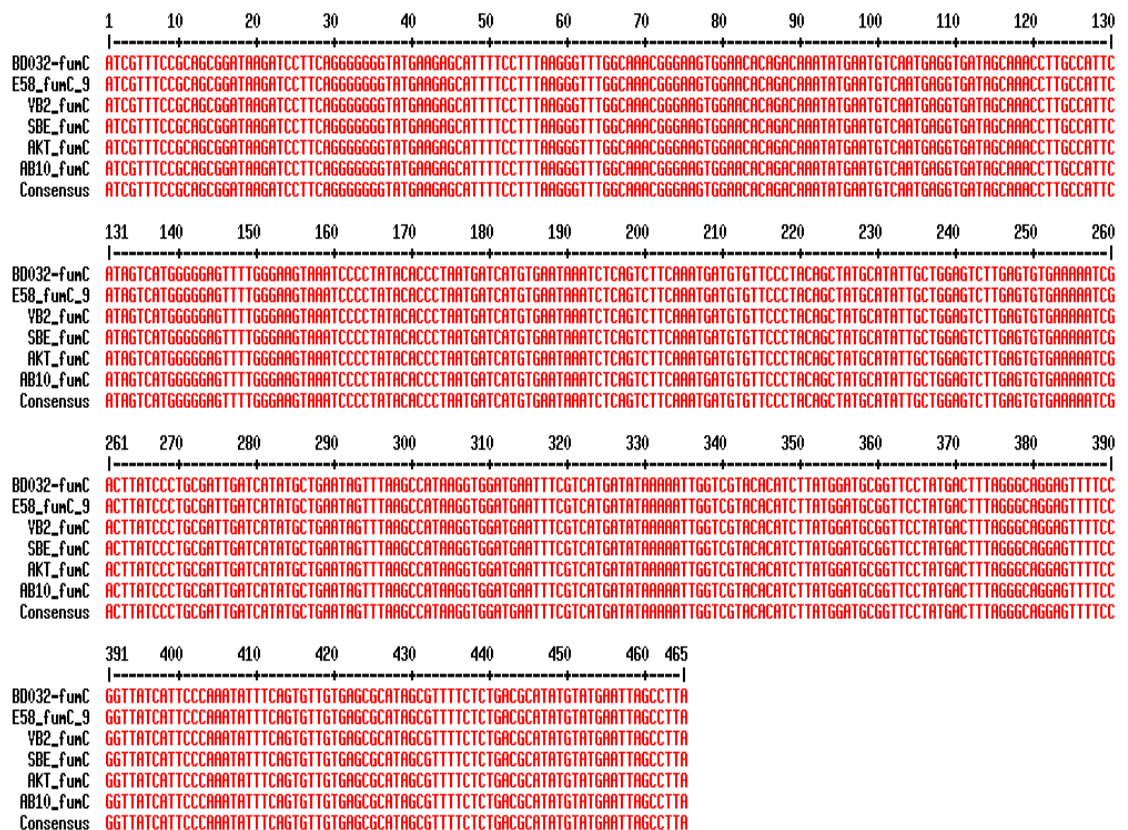


Figure 8.10 : Exemple d'alignement et de comparaison de la séquence du gène fumC de la souche locale (échantillon B032) de *C. pecorum* avec la séquence fumC des souches virulentes *C. pecorum* E58, VB2, SBE, AKT et AB10 à l'aide du logiciel en ligne « Multalin »

Tableau 8.6 : Liste des souches de *C. pecorum* utilisées dans cette étude

Espèce	Souche	Hôte	Origine géographique	Pathologie
<i>C. pecorum</i>	M14	Caprin	Maroc	Avortement
	AKT	Ovin	Tunisie	Avortement
	AB10	Ovin	France	Avortement
	VB2	Ovin	France	Orchite
	SBE	Bovin	Angleterre	Encéphalite
	824	Ovin	Ecosse	Conjonctivite
	BE53	Bovin	Angleterre	Pas de signe clinique
	iB1	Ovin	France	Pas de signe clinique
	iB2	Ovin	France	Pas de signe clinique
	iB3	Ovin	France	Pas de signe clinique
	iB4	Ovin	France	Pas de signe clinique
	iB5	Ovin	France	Pas de signe clinique
	R69	Ovin	Irlande	Pas de signe clinique
	W73	Ovin	Irlande	Pas de signe clinique
	iC2	Caprin	France	Pas de signe clinique
	iC3	Caprin	France	Pas de signe clinique
	iC4	Caprin	France	Pas de signe clinique
	L573	Ovin	-	-
	AB19a	Ovin	France	Avortement
	P13914	Bovin	États-Unis	-
E58	Bovin	États-Unis	Encéphalite	

8.2.3. Isolement des *Chlamydia* à partir des échantillons vaginaux positifs

Culture sur œufs embryonnés

Quinze œufs embryonnés (embryons vivants âgés de 3 à 8 jours en incubation) ont été inoculés stérilement par voie intra vitelline au moyen d'une aiguille de 5 cm de long avec une suspension de 0,2 ml d'une suspension de *Chlamydia*. Le point d'inoculation est rebouché avec de la paraffine et l'incubation poursuivie. Le temps de survie est proportionnel à la concentration de l'inoculum et à la virulence des souches.

Dans le cas où les œufs étaient morts, ils étaient par la suite autopsiés, et la membrane vitelline prélevée stérilement et ensuite elle est broyée. Une PCR en temps réel est réalisée pour confirmer la présence des *Chlamydiaceae*. Les *Chlamydiaceae* cultivées sur œufs embryonnés se conservent plus de 10 ans à - 80°C sans perdre le pouvoir infectieux.

Quinze échantillons positifs en rt-PCR espèces et suffisamment concentrés ont été inoculés dans des œufs embryonnés, les identifiants des échantillons concernés sont : Y048, AI086, AI087, AJ013, AJ026, Y077, Y086, Y087, Y088, Y089, BD065, AI089, AJ018, BD032, AC069.

9. RÉSULTATS ET DISCUSSION

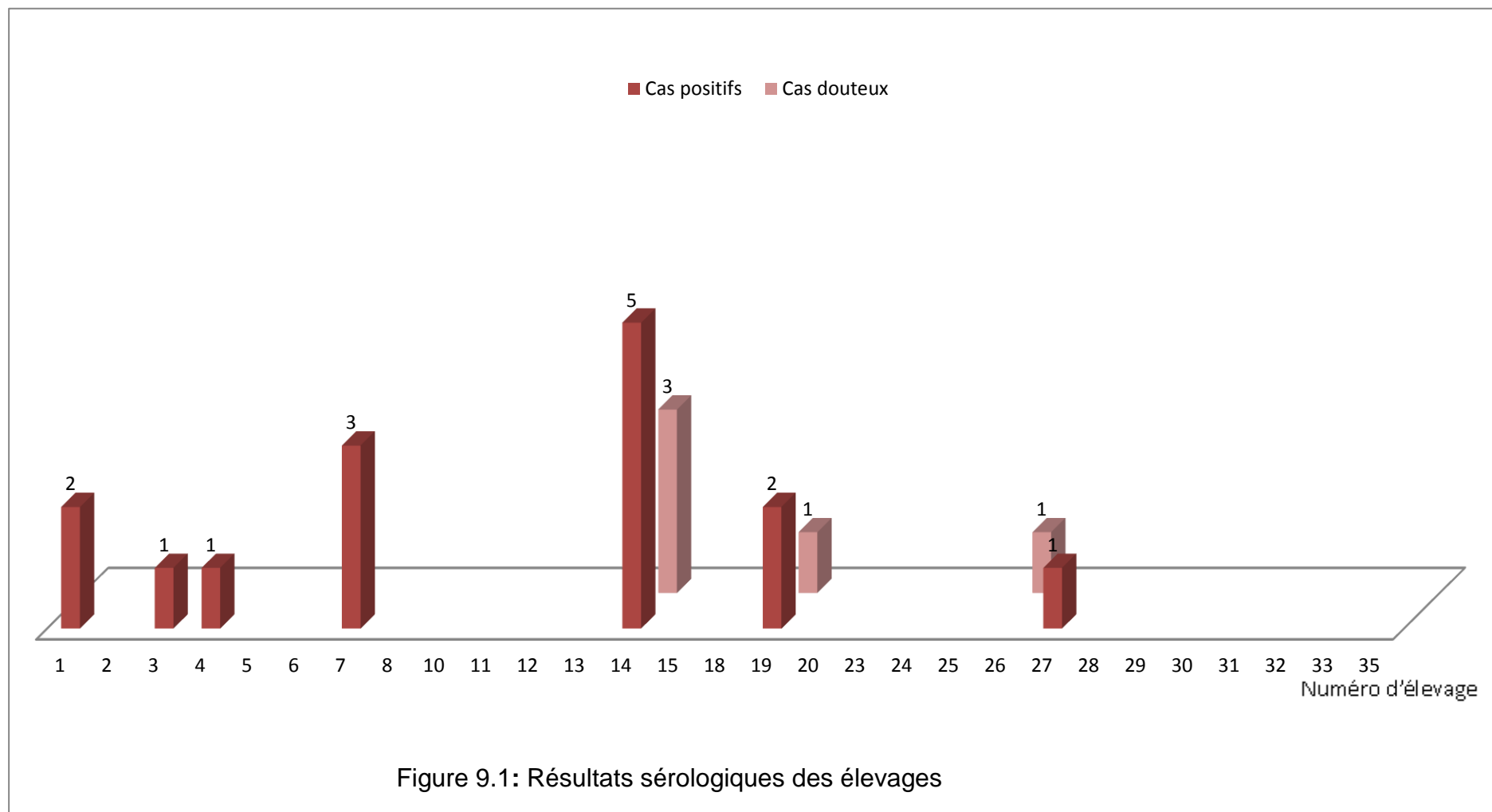
9.1. Sérologie

9.1.1. Résultats

Un total de 226 sérums a été analysé par la technique ELISA dans 29 élevages. La présence d'anticorps de *C. abortus* a été mise en évidence dans quinze échantillons (6.6%) provenant de sept élevages (24.1%). Cinq animaux (2.2%) ont donné un résultat douteux. A l'échelle troupeau, 24.1% des élevages avaient au moins un animal séropositif (Appendice F).

Les sept élevages des animaux séropositifs se répartissent géographiquement sur quatre wilayas : Biskra, Ain Defla, Médéa et Djelfa. Il s'agit des numéros d'élevage (1, 3, 4, 7, 14, 19 et 27). Quatre élevages (1, 7, 14 et 19) avaient plusieurs cas d'animaux séropositifs. Au moins un animal était séropositif dans trois élevages (3, 4 et 27). Des cas douteux ont également été observés dans les élevages (14, 19 et 26) (Figure 9.1).

Les résultats obtenus montrent une différence très significative entre la prévalence des anticorps anti-*Chlamydia* et la localisation géographique des animaux testés. Le taux de séropositivité le plus élevé est noté à l'est du pays plus précisément dans la wilaya de Biskra (19.2 %) suivi par les wilayas de Ain Defla (9.5 %), Médéa (5.5 %) et Djelfa (4.3 %). Toutefois, des taux de prévalence nuls ont été observés dans 2 wilayas : Constantine, et Bordj Bou Arreridj (BBA) (Figure 9.2). Il est à noter que, les élevages (9, 16, 17, 21, 22 et 34) n'étaient pas concernés par la sérologie car on n'avait pas reçu des sérums de ces élevages et le sérum AC072 de l'élevage 14 était perdu lors de l'envoi pour analyse.



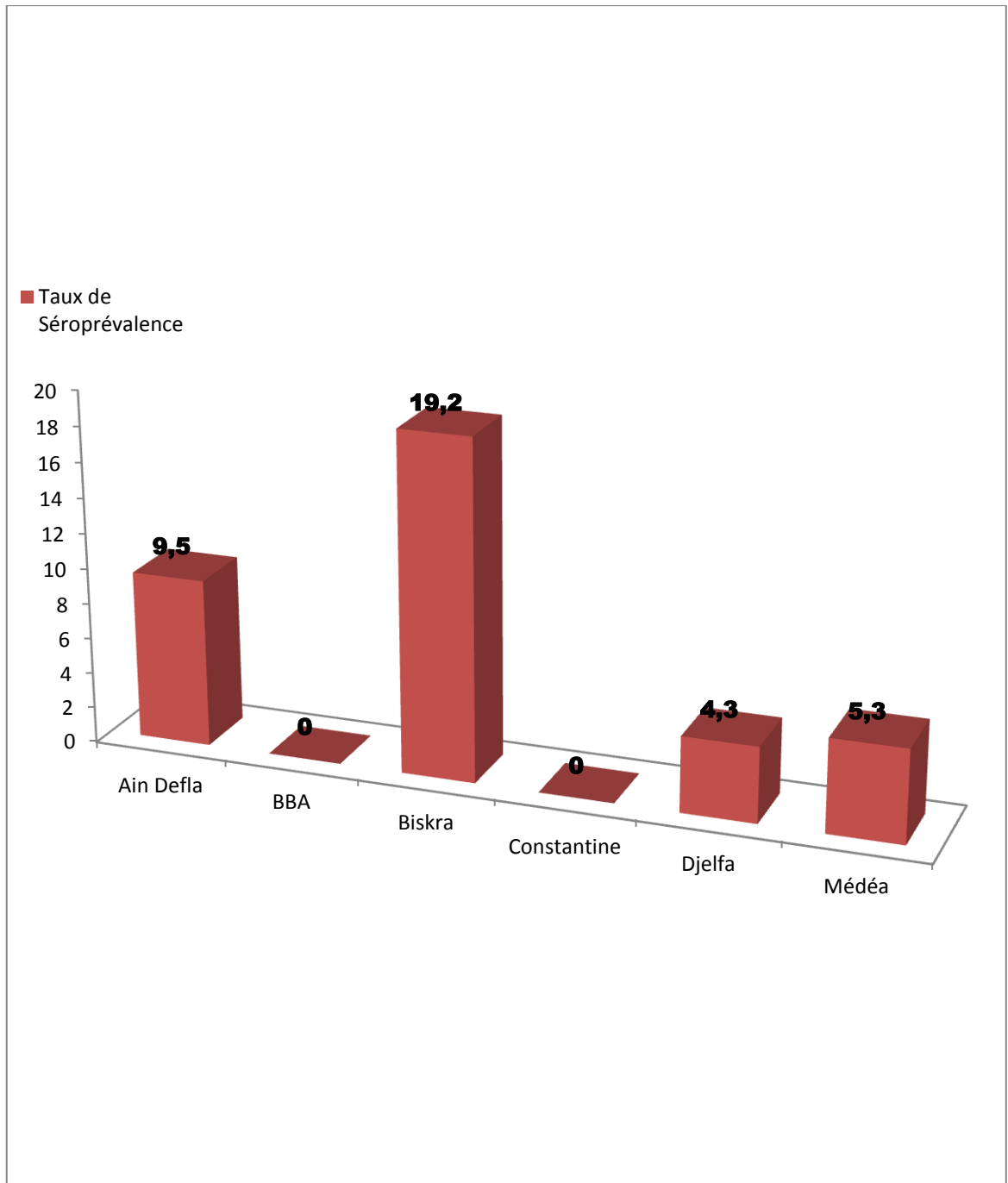


Figure 9.2 : Résultats sérologiques par wilaya

9.1.2. Discussion

Choix de la technique

Nous avons opté pour la technique ELISA indirecte qui utilise un antigène synthétique issu de la Momp présentant une grande spécificité pour *C. abortus*, car elle permet d'éliminer les réactions croisées avec *C. pecorum* qui sont parfois associés à des infections entériques inapparentes [12]. Cette technique est efficace et plus spécifique que les autres techniques disponibles aujourd'hui.

Le kit iELISA que nous avons utilisé, est très performant, par rapport à un certain nombre de kits qui ont été développés récemment. Ces derniers utilisent comme antigène, les corps élémentaires semi-purifiés [149], [150] ou des antigènes solubles [151], [146], [152], [153]. Aucun de ces kits, toutefois, n'est suffisamment sensible et spécifique.

Le test de fixation du complément (TFC) basé sur les corps bactériens entiers ou le LPS, utilisé souvent dans nos laboratoires, est peu sensible [146], [147] et peu spécifique, car il détecte également des anticorps contre *C. pecorum* et les autres bactéries.

Séroprévalence à l'échelle individuelle

Dans notre travail 226 sérums ont été collectés dans 29 des 35 exploitations incluses dans l'étude. Ces sérums sont issus des mêmes animaux ayant fait l'objet d'un prélèvement vaginal, et ont été analysés à l'aide d'un kit ELISA ciblant spécifiquement l'espèce *C. abortus* (ID-Vet). Quinze échantillons (6.6%) se sont révélés positifs. La vaccination contre la chlamydie des petits ruminants n'est pas pratiquée en Algérie, les résultats de cette étude sérologique témoignent donc d'une réponse naturelle à l'infection.

Une enquête réalisée récemment chez des ovins par Hireche et al (2014), a montré une séroprévalence individuelle élevée (45.6 %) [65]. L'utilisation d'un test ELISA ciblant des anticorps dirigés contre toutes les *Chlamydiaceae* pourrait expliquer le taux élevé de séroprévalence dans cette enquête à la différence de nos résultats qui ont ciblé spécifiquement les anticorps dirigés contre *C. abortus*. L'âge des femelles sélectionnées peut aussi avoir une influence sur les résultats.

En effet, les femelles âgées de 1 à 3 ans sont connues pour être plus sensibles à la chlamydie [66], et dans notre travail, les femelles étaient plus âgées, entre 3 et 5 ans. Le taux d'animaux séropositifs était faible, cela pourrait aussi s'expliquer par le fait que les échantillons de sang ont été prélevés entre 0-15 jours après l'avortement ou l'agnelage. Vu que la réponse en anticorps augmente généralement plus tard, à partir de la troisième semaine après l'avortement [176].

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Zaiet et *al.* (2009) en Tunisie (6.04 %) [181] et par Salih Alj Debarh et *al.* (2002) au Maroc (13%) [182].

Au proche orient, des séroprévalences supérieures aux notre ont été rapportées par Al-Qudah *et al.* (2004) au nord de la Jordanie et par Gokce *et al.* (2007) en Turquie où des taux de séroprévalence de 22 % et 14 % ont été respectivement observés [68], [183]. En revanche, les résultats obtenus dans cette étude semblent proches de ceux rapportés par Riyadh *et al.* (2012) en Arabie-Saoudi avec un taux de 7.52% [184].

En Europe, la séroprévalence de l'avortement enzootique des brebis est de 70 % des troupeaux en Allemagne [185], de 51 % en Espagne [186], de 36% en Slovaquie [187] et de 4.8% en Sardaigne [188].

Des séroprévalences ont été rapportées par Carolina *et al.* (2012), dans une enquête au Brésil, et par Jiménez-Estrada *et al.* (2008) au Mexique où des taux de séroprévalence de 21.3 % et 9.3 % ont été respectivement observés [189], [190].

Toutefois, une comparaison entre toutes ces enquêtes ne serait pas pertinente en raison des nombreux paramètres tels que les différences de conception de l'étude, la gestion et la taille du troupeau, ainsi que les différentes techniques utilisées (TFC, ELISA ...). Il est possible que nos résultats soient minorés par le prélèvement sanguin unique réalisé aux alentours de l'avortement (la majorité a été effectuée entre J0 et J7 post avortement ou mise bas). En effet, le pic dans le titre d'anticorps dirigés contre *C. abortus* suite à un avortement est plus élevé, quatre semaines après l'avortement [176].

Séroprévalence à l'échelle troupeau

Un taux de séroprévalence de 24.1 % a été obtenu dans notre étude, il est inférieur à celui observé dans une enquête de séroprévalence menée sur des brebis sélectionnées au hasard dans le nord-est de l'Algérie. Cette dernière avait révélé 70.4% des troupeaux infectés par les *Chlamydia* [65].

D'autres études menées dans les pays du Maghreb ont montré des taux variables de séroprévalence. En effet, 25.4% à 65% des troupeaux ont été testés positifs à une enquête menée en Tunisie en 2005 [66]. Un taux de 28.6% a été observé dans une enquête marocaine [67].

Des séroprévalences supérieures à nos résultats ont été rapportées, en Allemagne avec un taux de 47% des troupeaux positifs [191], le même taux a été observé dans une enquête réalisée au nord-est de la Turquie [183] et en Suisse, un taux de 29% des troupeaux positifs a été rapporté [192]. En revanche, des résultats inférieurs aux nôtres, ont été observés en Pologne où 4,2% des élevages étaient séropositifs [193]. Au Brésil, 50% des troupeaux testés étaient positifs selon l'enquête de Carolina et al. (2012) [189].

Les différences constatées dans la séroprévalence de la chlamydie abortive par rapport aux enquêtes mentionnées, sont probablement dues aux différentes techniques de diagnostic utilisées (TFC et différentes ELISA), aux choix des animaux lors de l'échantillonnage, aux conditions climatiques et environnementales des pays. Des études ont montré que le TFC était moins sensible et moins spécifique que l'ELISA. Dans l'étude de Vretou et al. (2007), trois tests ELISA différents ont été comparés au TFC. Celle-ci est apparue comme étant moins sensible et moins spécifique par rapport aux trois tests ELISA [158].

Par ailleurs, le sérodiagnostic des infections à *Chlamydia*, bien qu'il soit d'utilisation courante en médecine vétérinaire, est cependant d'interprétation délicate. Pour confirmer la forte suspicion sérologique, il est indispensable de recourir à un diagnostic direct comme la bactérioscopie, la mise en évidence des antigènes ou des acides nucléiques.

9.2. Détection de *Chlamydiaceae* par real time- PCR

9.2.1. Résultats

Au total, 267 échantillons, provenant de huit wilayas (Médéa, Djelfa, Bordj-Bou-Argeridj, El Bayadh, Ain Defla, Constantine, Biskra, Skikda), ont été collectés entre octobre 2011 et septembre 2013. Ces échantillons sont répartis en deux catégories, les échantillons issus d'ovins (n= 226), issus de caprins (n= 41). Ces échantillons ont été analysés à l'aide d'une PCR en temps réel ciblant spécifiquement la famille des *Chlamydiaceae*.

Quarante neuf sur deux cents soixante sept (49/267) échantillons (18.3%) se sont révélés positifs dans 25/35 élevages (71.4%). Les élevages positifs se répartissent géographiquement sur huit wilayas à savoir : Ain Defla, Bordj Bou Argeridj, Biskra, Constantine, Djelfa, El Bayadh, Médéa et Skikda (Figure 9.3). Les taux d'animaux positifs dans chaque élevage sont représentés dans la Figure 9.4.

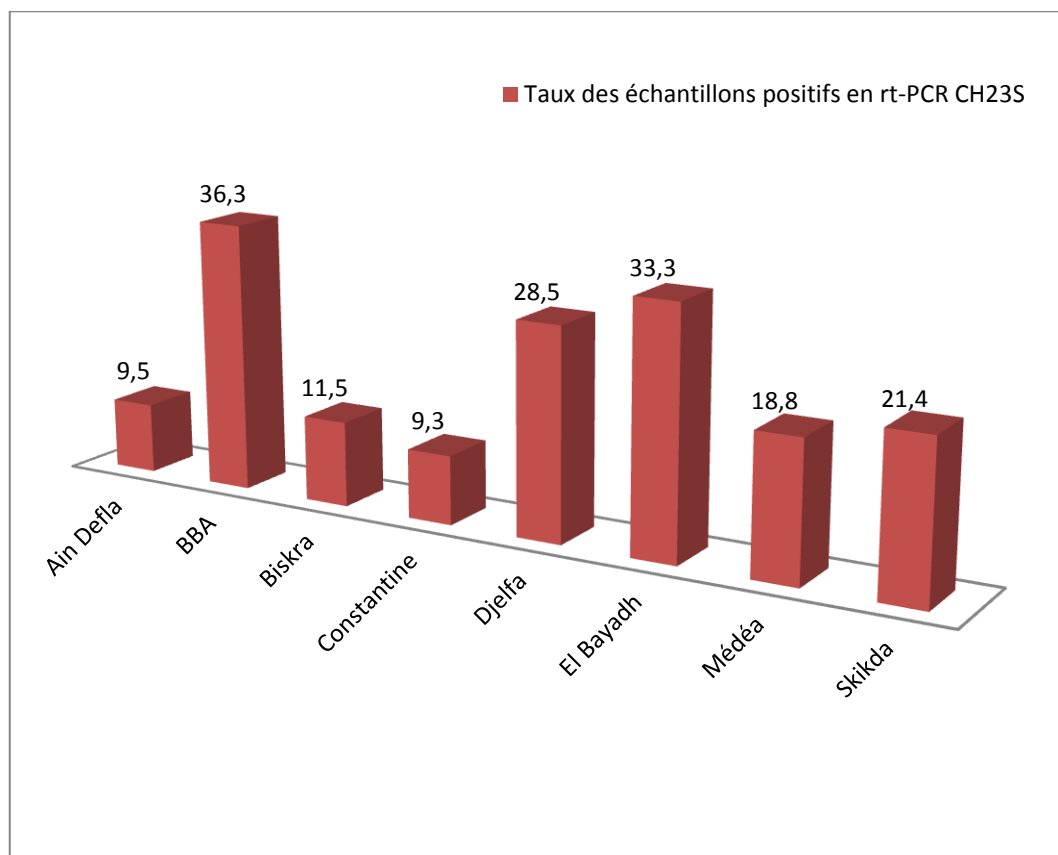


Figure 9.3: Résultats de rt-PCR CH23S dans chaque wilaya

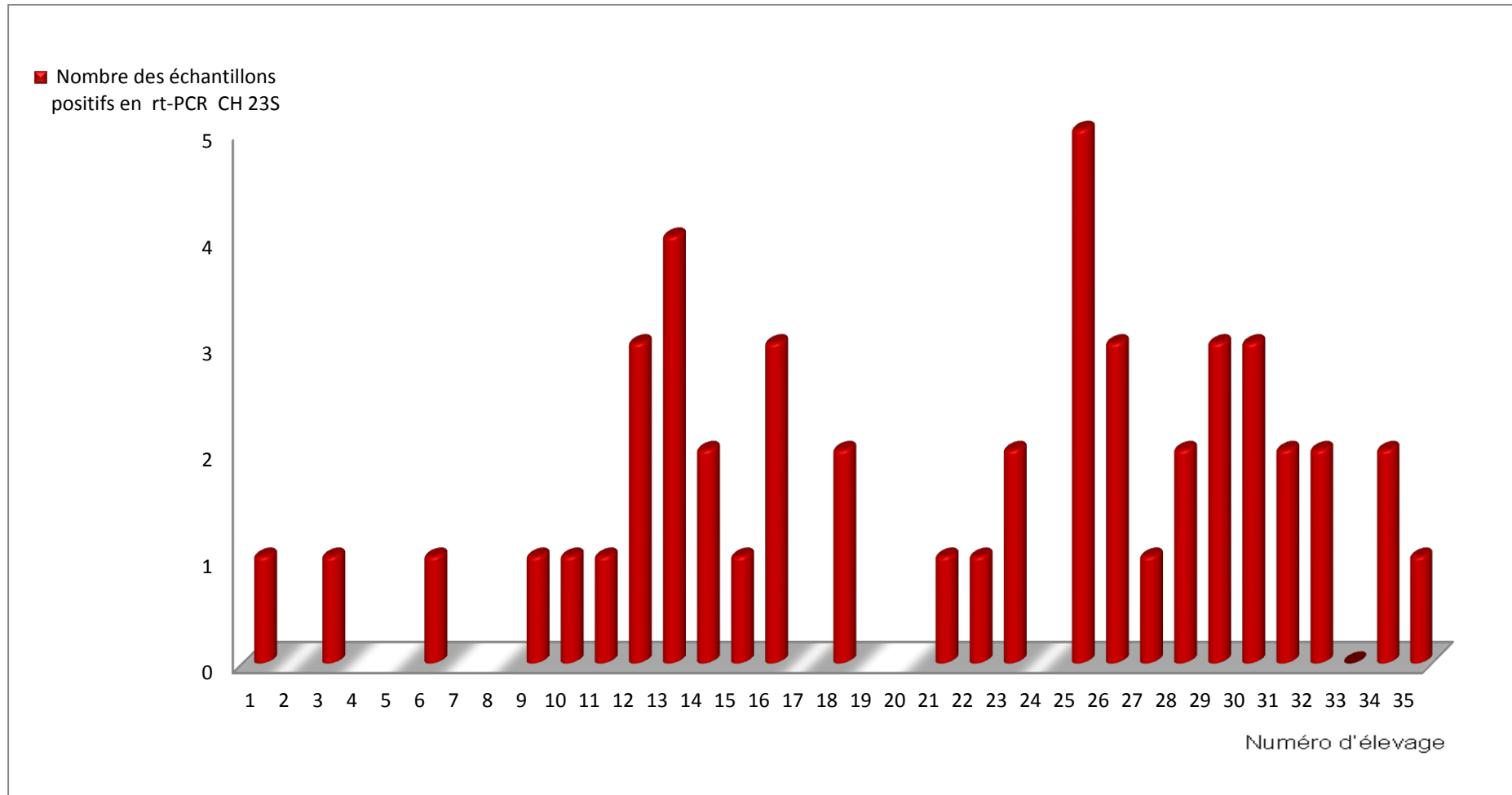


Figure 9.4 : Résultats de la rt-PCR CH 23S des élevages

Lors de la réalisation de la PCR en temps réel, la quantité d'ADN amplifiée ou d'amplicon a été mesurée grâce à des sondes fluorescentes. Ces dernières se fixent sur une séquence d'ADN précise (technologie Taqman). Un seuil de fluorescence est établi par le programme de l'appareil de PCR en temps réel (thermocycleur). Une fois que la quantité d'ADN permet aux sondes fluorescentes de dépasser ce seuil, on obtient alors un numéro de cycle PCR appelé "Ct" pour "Cycle Threshold" ou cycle seuil (Figure 9.5). Donc, la PCR en temps réel nous a permis d'avoir une idée de la charge bactérienne présente dans la suspension d'ADN analysée. D'une façon arbitraire, on considère un échantillon d'ADN présentant un Ct inférieur à 25 comme fortement positif, un ADN présentant un Ct compris entre 25 et 35 comme moyennement positif et un ADN avec un Ct supérieur à 35 comme étant faiblement positif.

Nos résultats montrent : 6/49 échantillons positifs (12.2%) avaient une forte charge bactérienne ($Ct < 25$), 11/49 (22.4%) avaient une charge bactérienne modérée ($Ct [25-35]$) et 32/49 (65.3%) avaient une charge bactérienne faible ($Ct > 35$) (Figure 9.6).

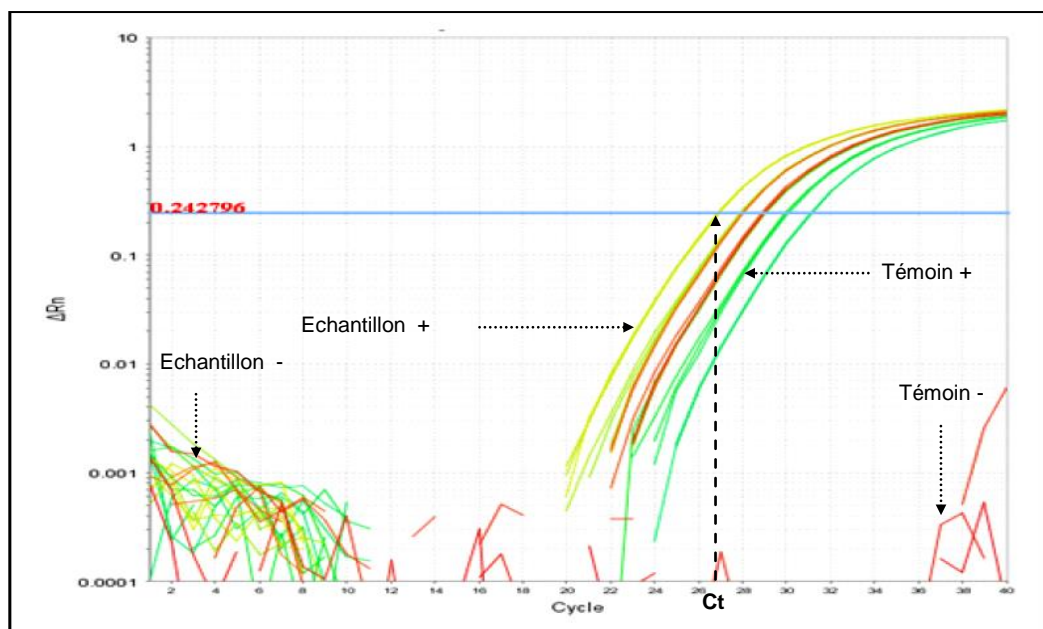


Figure 9.5: Expression des courbes d'amplification de la PCR quantitative en temps réel

Nombre d'échantillons

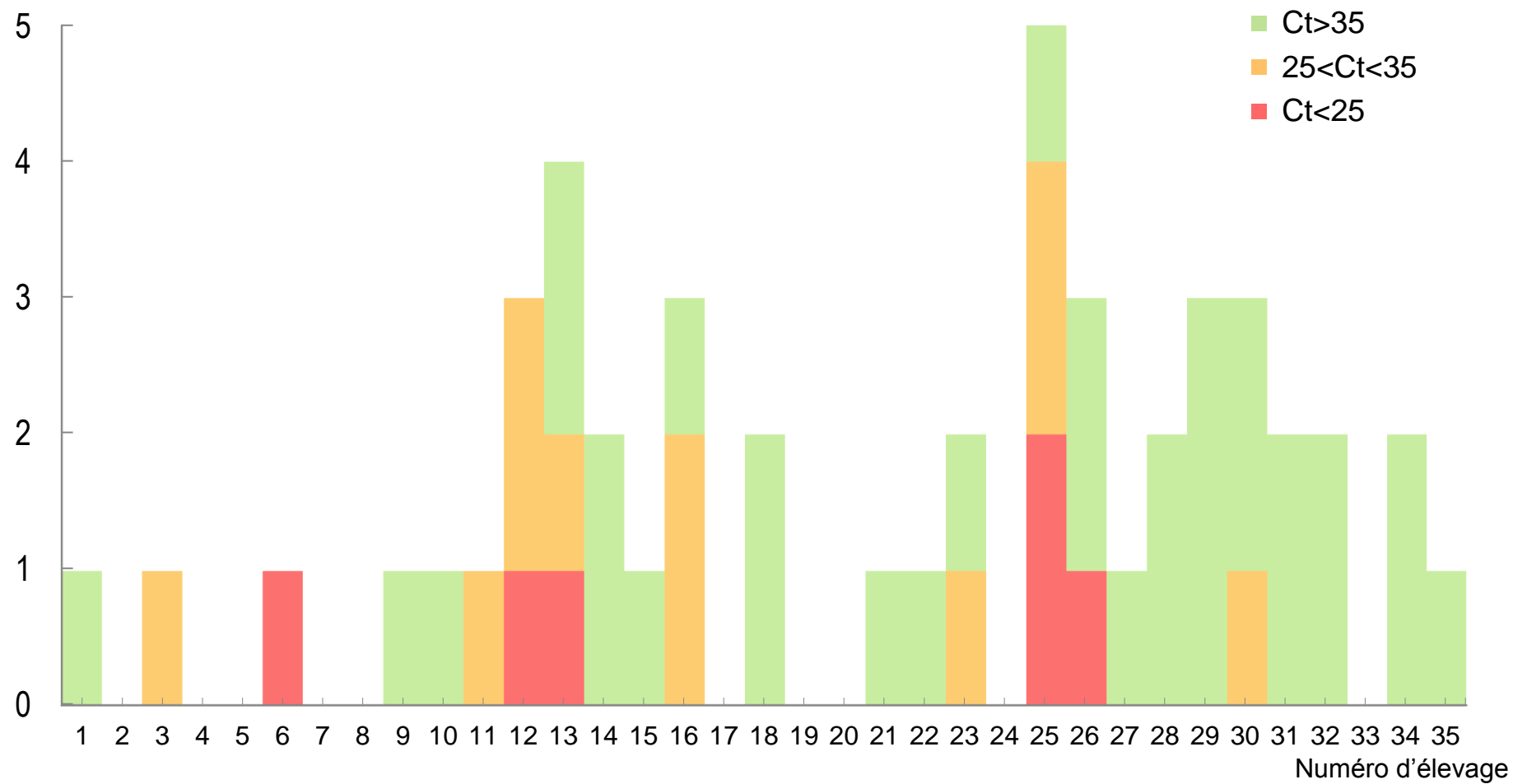


Figure 9.6: Distribution des valeurs Ct des échantillons positifs dans chaque élevage

9.2.2. Discussion :

Choix de la technique

La détection de l'ADN de *Chlamydia* dans les écouvillons vaginaux par PCR a radicalement changé le diagnostic des infections à *Chlamydia* chez les petits ruminants [125]. Cette technique présente l'avantage de la facilité d'utilisation et la disponibilité rapide des résultats, elle est plus sensible et plus appropriée que l'immunodétection d'antigènes et permet de traiter un grand nombre de spécimens. La PCR en temps réel permet d'évaluer la charge bactérienne dans les échantillons, elle est l'outil le plus pratique pour le diagnostic des avortements à *Chlamydia* [130], [135], [136], [125].

Détection des *Chlamydia* dans nos échantillons

Nos résultats ont montré que 18.3% des prélèvements vaginaux contenaient des *Chlamydia*, ce qui représente un taux assez faible mais significatif compte tenu du nombre important de causes possibles et de la difficulté à les détecter.

Un nombre de 267 d'échantillons a été collecté, provenant de 35 élevages dans huit wilayas du pays et ne sont donc pas représentatifs de l'ensemble du territoire national; notamment des régions d'élevage telles que le nord ouest.

Dans notre étude, la présence des *Chlamydiaceae* a été mise en évidence par la PCR en temps réel, et 49 échantillons (18.3%) se sont révélés positifs dans 25 élevages (71.4%). Une étude similaire menée au Maroc en 2004 sur des animaux ayant avortés, avait montré un taux de prévalence de l'infection à *Chlamydia* de 29% [2], cette différence pourrait être lié à la synchronisation des œstrus ainsi qu'à la date de prélèvement dans cette étude marocaine. Un taux élevé de prévalence a été montré dans une étude tunisienne menée en 2002 sur un petit effectif, en utilisant un test ELISA direct à base d'antigène. En effet, 13/15 (86,6%) des troupeaux ovins et caprins et 29/50 (58%) des animaux ont été diagnostiqués positifs, suite à un nombre important d'avortements enregistrés dans cette région [194].

D'autres études en Europe ont été effectuées dans des troupeaux présentant plusieurs cas d'avortement. Des taux variables entre 50 - 71% en Allemagne [195], 5 - 50% au Royaume-Uni [196], et la prévalence chez les petits ruminants était 11% au sud d'Italie [197]. Plusieurs tests ont été utilisés, à savoir : Le test ELISA, la culture, ou encore la PCR classique, ce qui pourrait expliquer cette différence.

Dans notre travail, 25 élevages avaient au moins un animal positif, ce qui montre une circulation importante des *Chlamydiaceae* dans ces troupeaux. Après un avortement, un nombre important de *Chlamydia* contamine l'environnement des animaux et transmettre les bactéries par voie orale à d'autres animaux [21].

En ce qui concerne la charge bactérienne de nos échantillons, 34.6 % présentaient un Ct inférieur à 35 (n= 17). Ces échantillons d'ADN étaient donc suffisamment concentrés pour être génotypés. Pour les échantillons dont le Ct est inférieur à 30, les *Chlamydiaceae* sont à l'origine de l'avortement de l'animal. Au contraire, cette affirmation ne peut être faite dans le cas où le Ct est compris entre 30 et 35. Il n'est pas rare d'observer des infections multiples chez les petits ruminants [198]. Cependant, dans plus de 60% des échantillons d'ADN, le Ct était supérieur à 35 ce qui semble trop peu concentrés pour être directement impliqués dans l'avortement. Un certain nombre de prélèvements a été effectué tardivement, tel le cas des brebis (AJ025, Y079, BD029, BD033, BD070). Cependant, l'excrétion des bactéries diminue après une semaine de l'avortement / agnelage, surtout chez la brebis, où l'excrétion de *C. abortus* est massive dans les deux premiers jours qui suivent l'avortement [94], [199], [95], ce qui explique nos faibles Ct pour les échantillons de ces brebis.

9.3. Détection des espèces de *Chlamydia* par rt-PCR spécifique espèce

9.3.1. Résultats

Sur 267 échantillons, seulement 49 se sont révélés positifs, ces derniers étaient tous ré-analysés avec une PCR en temps réel spécifique espèces (*C. abortus* ou *C. pecorum*). 16/49 (32.6%) ont été identifiés comme appartenant à l'espèce *C. abortus*, 13/49 (26.5%) ont été identifiés comme appartenant à l'espèce *C. pecorum*, soit un total de 29 échantillons qui ont été identifiés comme appartenant aux deux espèces bactériennes et les 20 (40.8%) échantillons restants n'ont pas pu être identifiés en raison de leur faible charge bactérienne (Appendice G). Cinq (5/49) cas de détection simultanée de ces deux espèces dans un même échantillon ont été observés dans cinq élevages différents 5/35 (14.2%). vingt (20/29) échantillons testés à l'aide d'une PCR en temps réel spécifique espèces, provenaient des femelles ayant avortées (68.9%). seize (16) échantillons typés concernaient les brebis ayant avortées, les 4 autres échantillons positifs concernaient les chèvres (Figure 9.7).

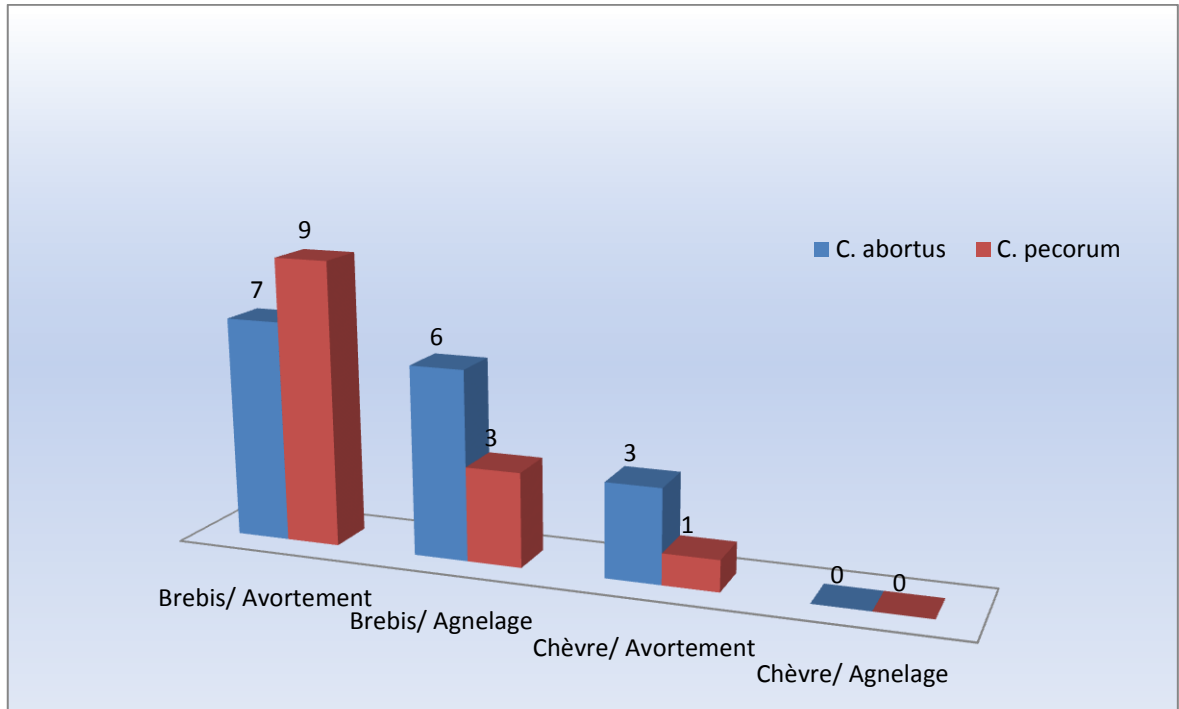


Figure 9.7: Nombre des échantillons positifs des animaux ayant avortés / mis-bas chez la brebis et la chèvre

9.3.2. Discussion

Un nombre de 16/49 échantillons soit (32.6%) appartenait à l'espèce *C. abortus* a été identifié, après PCR en temps réel spécifique à *C. abortus*. Ce nombre est cohérent avec les données publiées à ce jour montrant que *C. abortus* est la principale espèce impliquée dans les avortements chez les ruminants [1].

Parmi les échantillons diagnostiqués positifs à l'aide de la PCR CH23S, 33/49 n'ont pas réagi à la PCR en temps réel spécifique *C. abortus*. Parmi ceux-ci, 13 appartenaient à *C. pecorum*, après une PCR en temps réel spécifique à cette espèce. Ces résultats montrent que l'espèce bactérienne *C. pecorum* est impliquée dans 18.3 % des échantillons positifs provenant des brebis ayant avortées. Des études au Maroc et en Tunisie ont rapporté l'isolement de *C. pecorum* à partir de cas d'avortements ovins [3], [200].

Pendant longtemps, l'espèce *C. abortus* a été considérée comme la principale espèce responsable d'avortements chez les petits ruminants [144]. Toutefois, l'utilisation d'outils de détection moléculaire, PCR en temps réel spécifiques à des espèces de *Chlamydiaceae* [130], à puces à ADN [137] a permis de mettre à jour une diversité plus importante qu'initialement suspectée. Ainsi, les espèces *C. pecorum*, *C. psittaci* et *C. suis* ont été mises en évidence chez des ruminants, présentant ou pas des signes cliniques [198].

Dans notre étude, 4/13 échantillons positifs de *C. pecorum* présentaient un Ct inférieur ou égal à 35, suggérant une implication dans l'avortement. Les échantillons concernés sont : AC069, AI089, BD032 et BD065, tous ces échantillons provenaient de femelles ayant avortées. Des études ont montré l'implication des souches de *C. pecorum* dans les troubles de reproduction chez les petits ruminants [3], [201].

Des infections mixtes par *C. abortus* et *C. pecorum* ont été observées dans 5 élevages différents soit 14.2%. Cinq échantillons étaient concernés, 2 d'entre eux (AI089 et AJ018) avaient une charge bactérienne élevée en *C. pecorum* (Ct: 31 et 35) et de très faibles charges de *C. abortus* (Ct: 40 et 41). Par contre, deux autres échantillons (AJ013 et AJ026) avaient une forte charge en *C. abortus* (Ct : 19 et 32) et de très faible charge de *C. pecorum* (Ct : 43 et 40).

Un 5^{ème} échantillon avait une très faible charge pour les deux espèces bactériennes. Tous ces animaux ont avorté ou mis-bas avec un antécédent d'avortements. Agés de 3 à 5 ans, ils ont été prélevés [0-15j] après l'avortement.

Il serait pertinent de savoir si *C. pecorum* peut provoquer l'avortement indépendamment de *C. abortus* ou si la présence simultanée de deux espèces de *Chlamydia* dans les échantillons est tout simplement une coïncidence. Des infections mixtes ont déjà été décrites dans une étude Italienne chez les buffles [202]. En Allemagne, Lenzko et *al.* (2011) avaient rapporté la possibilité d'infection mixte chez les ovins par des espèces de *Chlamydia*, 25% des troupeaux testés étaient concernés par ces infections simultanées [191].

9.4. Génotypage de *C. abortus* et *C. pecorum*

9.4.1. Résultats

Onze échantillons positifs de *C. abortus* étaient suffisamment concentrés pour envisager un génotypage par MLVA. Tous appartenait aux profils MLVA génotype'2' (Tableau 9.1) (Figure 9.8). Quatre échantillons positifs de *C. pecorum* étaient suffisamment concentrés pour le génotypage par la technique MLST. Trois échantillons génotypés par MLST appartenant à l'espèce *C. pecorum* présentaient des séquences identiques et s'apparentaient au groupe des souches *C. pecorum* VB2, E58, AB10 et SBE (Tableau 9.1). Le 4^{ème} échantillon (AC069) ne s'apparentait à aucun groupe. Le séquençage de cet échantillon montre un profil différent. La comparaison par alignement multiple des séquences nucléotidiques des 7 gènes de ménage a montré que trois d'entre eux (*oppA*, *gatA* et *hemN*), étaient différentes de toutes les séquences des gènes (*oppA*, *gatA* et *hemN*) des souches de référence, les séquences des gènes (*oppA*, *gatA* et *hemN*) sont illustrées dans les (Figure 9.9, Figure 9.10 et Figure 9.11). En revanche, les autres séquences des gènes (*enoA*, *fumC*, *gidA* et *hflX*) du même échantillon ressemblaient toutes aux séquences des gènes des souches de référence (Figure 9.12, Figure 9.13, Figure 9.14 et Figure 9.15). Cet échantillon a été obtenu à partir d'un écouvillonnage vaginal d'une brebis ayant avortée.

Les autres échantillons (cinq échantillons *C. abortus* et neuf échantillons *C. pecorum*), n'ont pu être génotypés en raison de leur faible charge bactérienne.

Tableau 9.1 Echantillons positifs géotypés par les techniques MLVA et MLST

Identifiant Echantillon	Espèce animale	Statut de l'animal	Résultats du Géotypage
Y048	Ovine	Agnelage	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
AI086	Caprine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
AI087	Caprine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
AJ013	Ovine	Agnelage	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
AJ026	Ovine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
Y077	Ovine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
Y086	Ovine	Agnelage	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
Y087	Ovine	Agnelage	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
Y088	Caprine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
Y089	Caprine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
BD065	Ovine	Avortement	<i>C. abortus</i> MLVA genotype [2] pattern
AI089	Caprine	Avortement	<i>C. pecorum</i> VB2, E58, AB10 et SBE
AJ018	Ovine	Avortement	<i>C. pecorum</i> VB2, E58, AB10 et SBE
BD032	Ovine	Avortement	<i>C. pecorum</i> VB2, E58, AB10 et SBE
AC069	Ovine	Avortement	<i>C. pecorum</i> "profil MLST différent?"

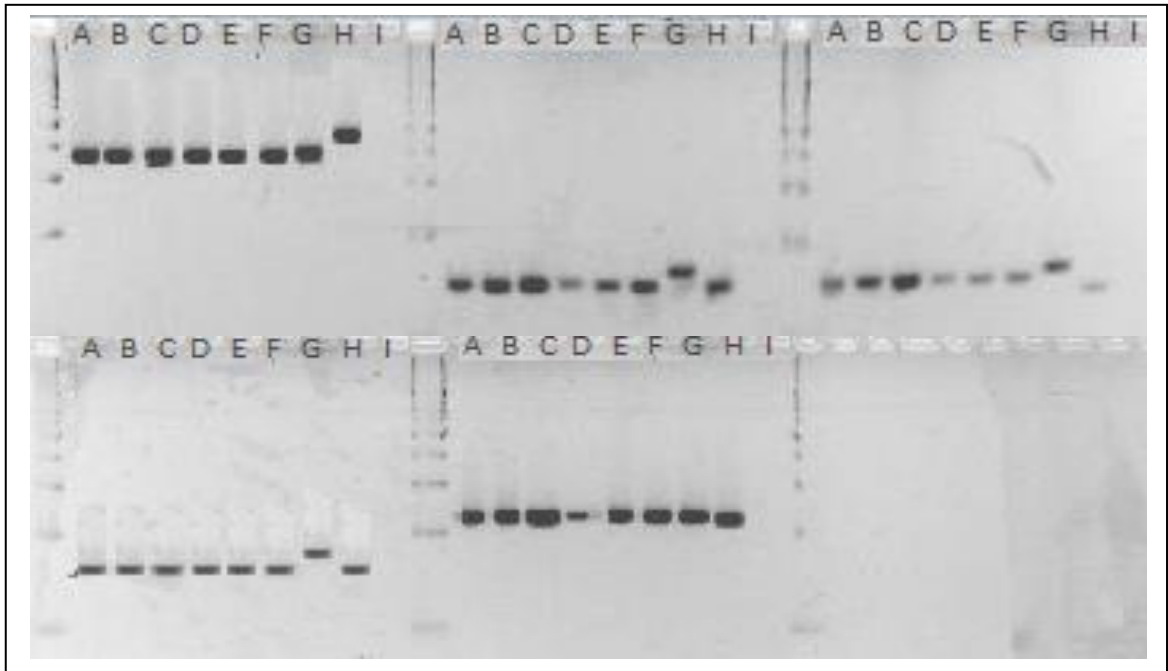


Figure 9.8: Photographie de la migration sur gel d'agarose, après une amplification par la technique MLVA des 5/11 échantillons à tester : (A, B, C, D, et E), les souches de référence de *C. abortus* comme contrôles positifs : AB7 (F), S26/3 (G) et POS (H) et un contrôle négatif (I) : H₂O

> 11-3258 AC069_oppA

```
AGCTGCCACAGAAAGAGCCTCCAGAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAAGCGATCCCA
GCTCTTTAAATCCGATGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAATCTCATCAAGCAAATGTA
TGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAGAGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAG
TTACACGATTTTCGGAGGATAAAACTACATATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTG
ATGGCTCAGCAATCACAGCTCAAGATTTTGTAGACTCTTGAAACAGGTTGTCTCTCAGGA
AGTCACGGGAATCTATGCCTTCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAA
GGCTCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAAATTCTACTACTTTAGAAGTCGT
TCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGATACTTTTC
```

Figure 9.9 : Séquence nucléotidique du gène oppA de l'échantillon d'ADN (AC069)

```

> 11-3258 AC069_gatA
GCCTCTGAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGAAATCGGCG
CATTATTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCTCATGTAGATGCTAAAC
GAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTGCAGGGGTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAAT
ATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGTGCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCACGCG
CCATTTTCATGCAACTGTTATAGAAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAG
CTCAATATGGACGAGTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACA
CACAATCCCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC

```

Figure 9.10 : Séquence nucléotidique du gène *gatA* de l'échantillon d'ADN (AC069)

```

> 11-3258 AC069_hemN
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAAGCGACGG
CAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTCAAAGAGCTGGGCTTTACTAGC
ATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAACCCGTCACACCTTTGCGCAAATA
TCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCGGATCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCC
TTGGATCAAACCGCACCAAAAAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAA
TTTGCGATATACTACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGA
TGGATCATTTTTCTTCCC GAAGATCCCTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACATTAATT

```

Figure 9.11 : Séquence nucléotidique du gène *hemN* de l'échantillon d'ADN (AC069)

```

> 11-3258_AC069 - enoA
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGATTGGGGCG
CACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCCATGCTTTGAAAAACCTCT
TAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGATGAAGGAGGCTTTGCTCCGAACCTAC
GCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTCTCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCC
TGGGGAGGAAGTTTCTTTAGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACA
AAAACCTATCACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGGAGC
GGTTTCCTATAGACTCT

```

Figure 9.12 : Séquence nucléotidique du gène *enoA* de l'échantillon d'ADN (AC069)

```

> 11-3258 AC069_fumC
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATTTCCTTTAAGG
GTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAATGAGGTGATAGCAAAC
CTTGCCATTTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGTAAATCCCCTATACACCCTAATGATC
ATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGATGTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTC
TTGAGTGTGAAAAATCGACTTATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAA
GGTGGATGAATTTTCGTCATGATATAAAAATTGGTTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCT
ATGACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGGTGTGAGCGCA
TAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

```

Figure 9.13: Séquence nucléotidique du gène *fumC* de l'échantillon d'ADN (AC069)

```

> 11-3258 AC069_gidA
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGCGTAATTTTT
CTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGACTCCCTGAGACAAAGAGG
TTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCCCGCGTTATTGGCCTCTTCTATTGAT
TTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGGAGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAG
CCGTTTGTCCCTCCTTACCTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAA
GCAAATTATAGAGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTT
GGGCCTCGCTATTGTCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGGAGCGTC
ACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

```

Figure 9.14: Séquence nucléotidique du gène *gidA* de l'échantillon d'ADN (AC069)

```

> 11-3258 AC069_hflx
CGGTTAATTGCGAGTAGGCTTATCTTTAGAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGC
GAAGTATTTACTTCCAAGACTCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGA
GGAGGAGCTGGAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAG
GATGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAAGCAACG
TGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTTTGCATTGATTGGCTA
TACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAACTGCCGCCGATACCTACACTGAG
GATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAACGAGAACATCTGTACTTCTGGGGGACGGC
GTGTTCTTGTACAGATACTGTAGGGTTTATACGGAAGCTTCCCACACATTAGTGGCGGC
ATTTAAGAGTACACTAGAGGCTGCTTTCATGAAGATGTGCTTCTGCACGTTGTAGATGCT
TCCCCCCCCCTAGAACA

```

Figure 9.15 : Séquence nucléotidique du gène *hflX* de l'échantillon d'ADN (AC069)

9.4.2. Discussion

Choix de la technique MLVA :

La méthode de génotypage qualifié de Multi-Loci VNTR « variable number of Tandem Repeats » Analysis (MLVA) est basé sur la recherche des séquences répétées dans le génome bactérien. La méthode a été utilisée avec succès pour de nombreux agents pathogènes, y compris *C. psittaci* l'agent de la chlamydie aviaire. Contrairement à la technique MLVA, les méthodes utilisant des anticorps monoclonaux, l'analyse RFLP du gène *ompA*, l'ARN ribosomal et le séquençage du gène *ompA* ont constamment échoué à révéler des différences entre les souches de *C. abortus* [204], [76], [130].

La technique MLVA développée est capable de classer un panel de 150 souches de *C. psittaci* et les classer en 20 groupes [179].

Au moment de l'analyse de nos échantillons, MLVA sort à peine de la phase de recherche et commence à être largement appliquée. Il aura donc fallu près de quinze ans pour que les VNTRs s'imposent comme des marqueurs moléculaires de premier choix. Ces loci sont aujourd'hui les plus commodes et les plus pertinents pour étudier la diversité bactérienne.

Génotypage des échantillons *C. abortus* par la technique MLVA :

Un génotypage par la technique MLVA a été réalisé pour 11 échantillons appartenant à l'espèce *C. abortus*, cette technique consiste à amplifier des séquences d'ADN répétées en tandem et est, à ce jour, la technique de génotypage la plus discriminante pour cette espèce [144].

Onze échantillons ont ainsi pu être génotypés. Les résultats obtenus ont montré que les échantillons avaient tous le même profil et qu'ils étaient apparentés au génotype '2', génotype majoritairement observé chez les souches françaises de *C. abortus*.

Dans une étude tunisienne, les souches de *C. abortus* ont également ressemblé aux souches françaises [194]. La similitude entre les souches algériennes, tunisiennes et françaises pourrait être expliquée par les liens économiques et historiques entre ces pays. D'autres méthodes de génotypage

alternatifs tels que le typage SNP ou le séquençage du génome entier ont été évoqués récemment [205] et permettrait une meilleure discrimination au sein de cette espèce.

Choix de la technique MLST:

Le génotypage MLVA pour l'espèce *C. pecorum* n'est pas encore appliqué. Nous avons donc opté pour la technique MLST pour génotyper les souches de l'espèce *C. pecorum*. Cette technique a été publiée pour le génotypage de *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* [180], *C. psittaci* [206] et *C. felis* [207]. Elle représente un outil moléculaire intéressant pour comprendre les relations génétiques entre des différentes souches dans une espèce bactérienne donnée et l'importance de l'évolution due à des mutations ou des événements latéraux de transfert [208]. Les données de la MLST ont été également exploitées dans des investigations épidémiologiques et dans des études de biologie des populations et de la pathogénicité des bactéries [209]

La MLST est la technique de génotypage la plus utilisée pour les différentes espèces bactériennes grâce à la diminution des prix du séquençage et au développement rapide des technologies informatiques et en particulier l'internet qui assure les échanges des informations et des résultats obtenus entre des différents laboratoires [210].

Génotypage des échantillons *C. pecorum* par la technique MLST:

L'espèce *C. pecorum*, classiquement associée à un portage intestinal avirulent, a été aussi détectée, à partir de prélèvements réalisés sur des femelles ayant avortées [211]. Nos travaux ont également permis de mettre en évidence cette espèce à partir de prélèvements réalisés sur des femelles ayant avortées. La charge bactérienne détectée était parfois importante et un génotypage par la technique MLST a pu être entrepris pour quatre d'entre eux qui provenaient de cheptels différents. A notre connaissance, aucune technique MLVA appliquée à l'espèce *C. pecorum* n'est encore publiée. La technique de génotypage MLST, en cours de développement pour l'espèce *C. pecorum*, repose sur le séquençage de 7 gènes de ménage [180].

Trois des quatre échantillons positifs de *C. pecorum* (Tableau 9.1) ont présenté des séquences identiques et s'apparentaient au groupe des souches *C. pecorum* déjà identifié "hautement pathogène" E58 [180] et SBE (encéphalomyélite), VB2 (orchite) et AB10 (avortement) [203] (Figure 9.16). Deux souches de *C. pecorum* isolées d'un mouton (AKT) et une chèvre (M14) en Tunisie et au Maroc, respectivement, partagent un profil MLST différent avec ces trois échantillons de *C. pecorum* algériens [203]. Les charges élevées de bactéries détectées dans ces trois échantillons (Ct 21, Ct 27 et Ct 31) suggèrent une implication de *C. pecorum* dans ces avortements. L'implication de *C. pecorum* dans les avortements reste encore mal connue. Les carences nutritionnelles ou les infestations parasitaires sont souvent évoquées dans les élevages au Maghreb qui pourraient être des facteurs favorables pour la virulence des *C. pecorum* [3].

Le 4^{ème} échantillon d'ADN (AC069) de *C. pecorum* montrait un profil différent, le séquençage des différents gènes de ménage et les alignements des séquences ont permis de révéler que trois séquences des gènes (*oppA*, *gatA* et *hemN*) de l'échantillon AC069 étaient différentes des séquences des mêmes gènes des souches de référence. Les alignements de ces trois séquences des gènes avec les séquences des mêmes gènes des souches de référence sont illustrés dans les Figures (9.17, 9.19 et 9.20).

Plusieurs nucléotides de la séquence du gène *oppA* de la souche algérienne étaient différents des nucléotides des souches de référence. La visualisation du chromatogramme de séquençage de cet échantillon nous a permis de valider la qualité de la séquence (Figure 9.18). Les chromatogrammes de séquençage pour les gènes *gatA* et *hemN* ont également permis de valider la qualité des séquences.

Cette souche algérienne (nouveau profil ?) de *C. pecorum* pourrait être impliquée dans les cas d'avortements. Néanmoins, la confirmation nécessite d'autres investigations et des travaux de génotypage devraient être plus élargis pour cette espèce de *Chlamydiaceae*.

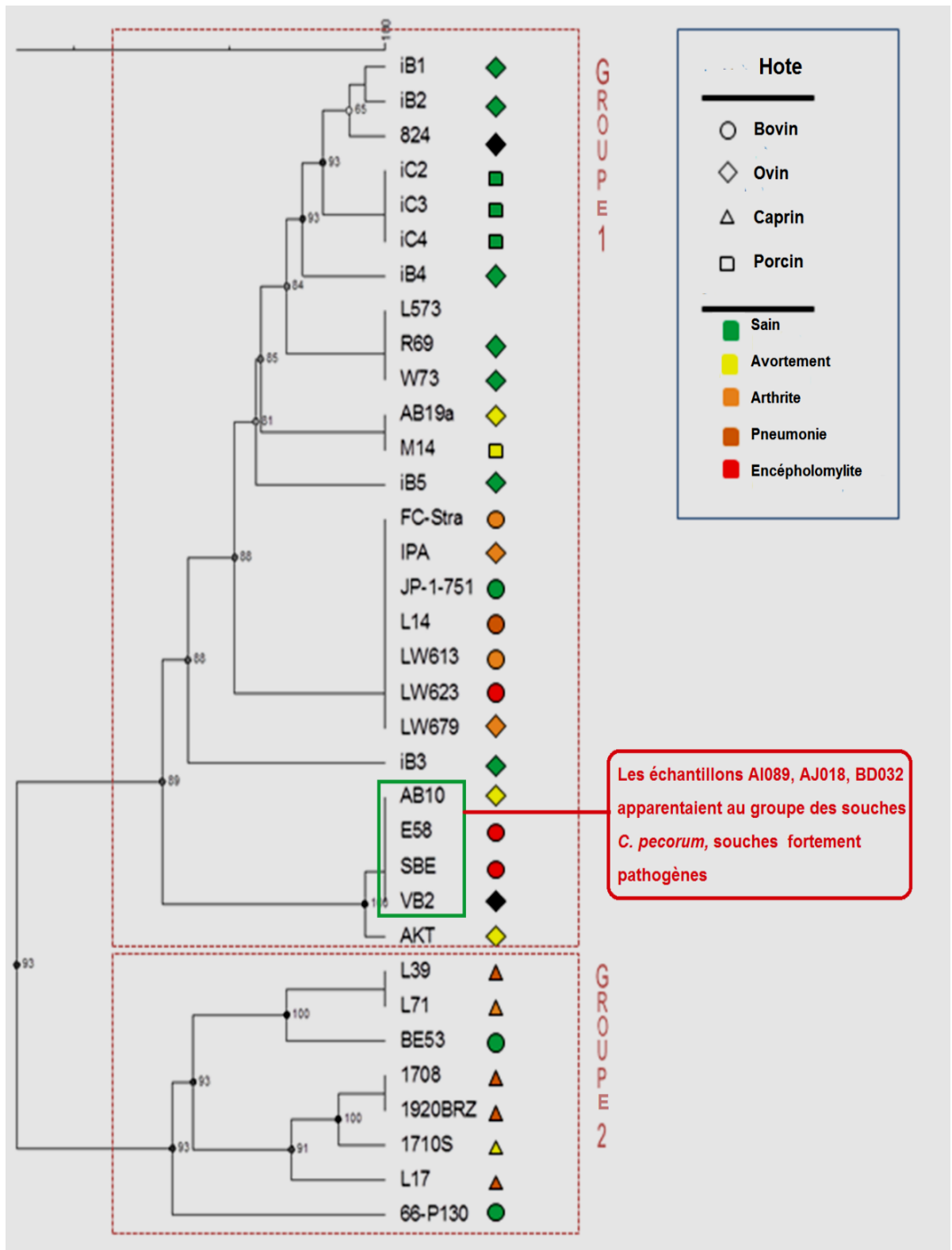


Figure 9.16 : Classement des souches de *C. pecorum* et des trois échantillons à partir des séquences de 7 gènes de ménage (*enoA*, *fumC*, *hemN*, *gatA*, *gidA*, *oppA* et *hfIX*) selon la technique « Yvonne Pannekoek » [203].

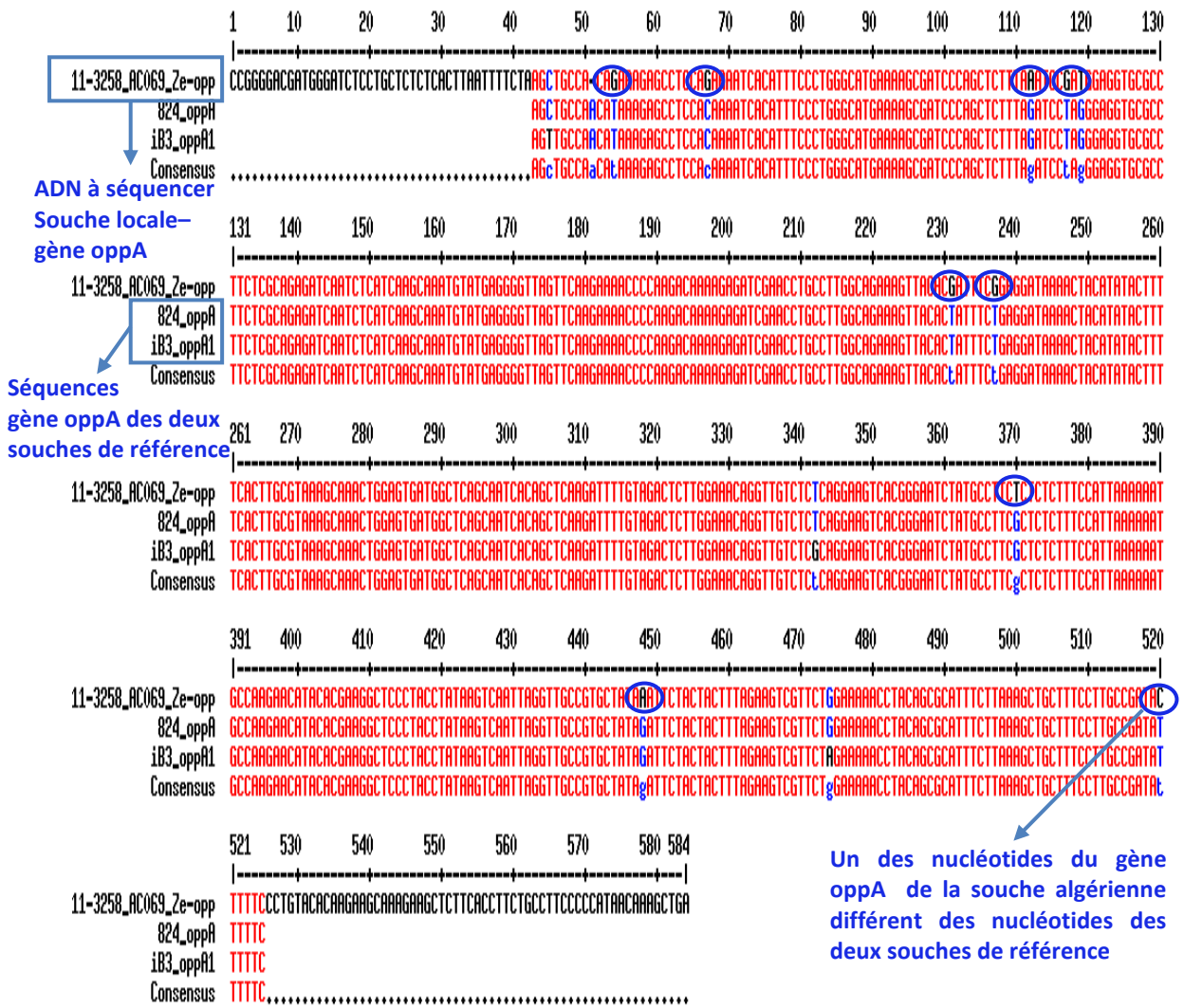


Figure 9.17 : Alignement des séquences oppA de l'échantillon AC069 de *C. pecorum* et de deux souches de référence de *C. pecorum*.

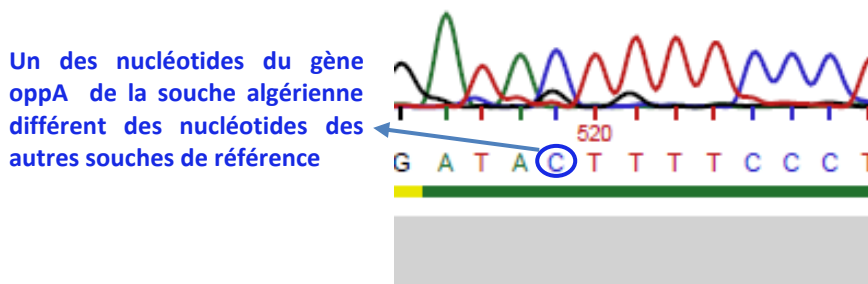


Figure 9.18 : Fenêtre de présentation des données du chromatogramme de la séquence du gène oppA (échantillon d'ADN AC069)

Un des deux nucléotides du gène gatA de la souche algérienne différent des nucléotides des dix souches de référence

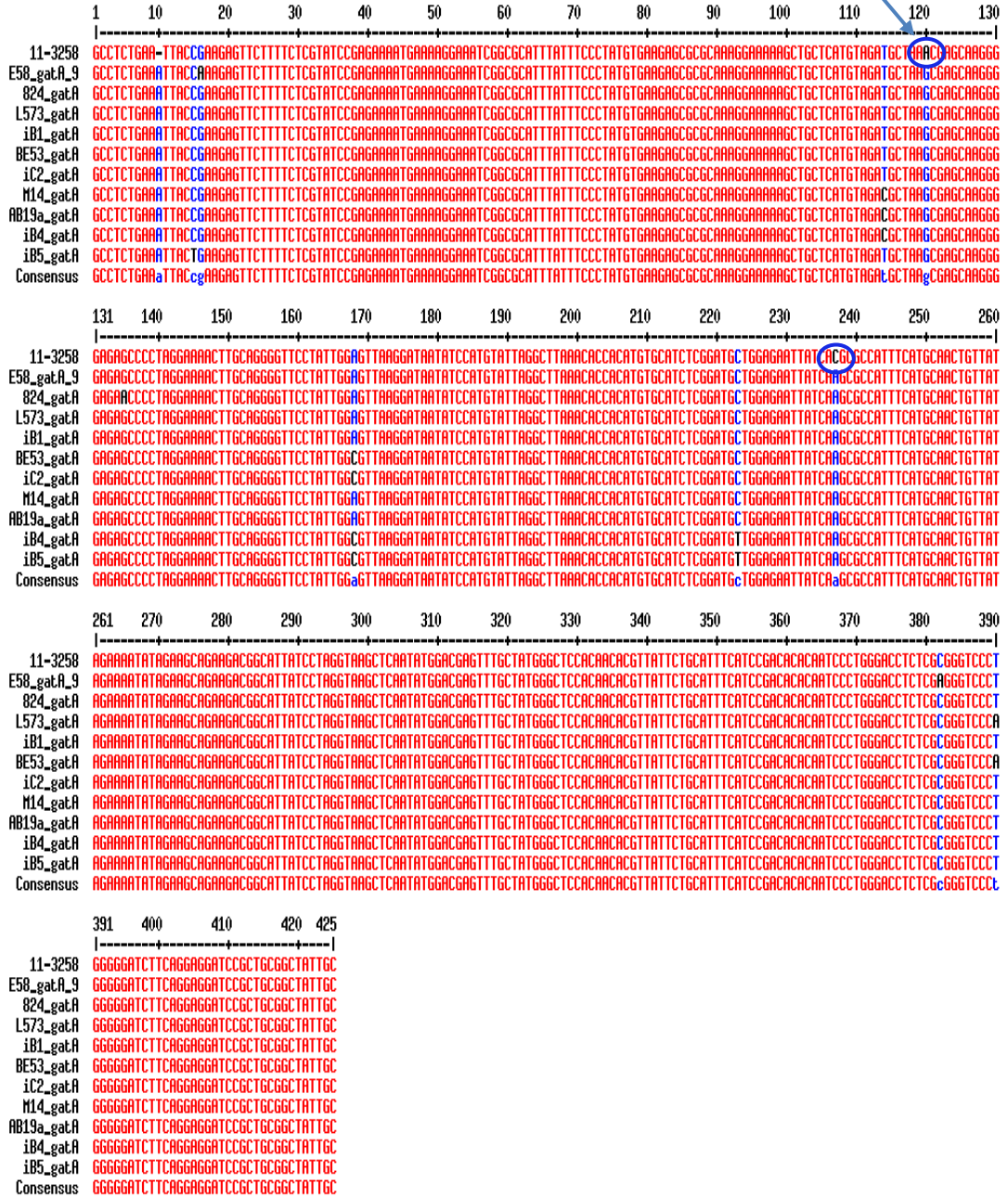


Figure 9.19 : Alignement des séquences gatA de l'échantillon AC069 de *C. pecorum* et de dix souches de référence de *C. pecorum*

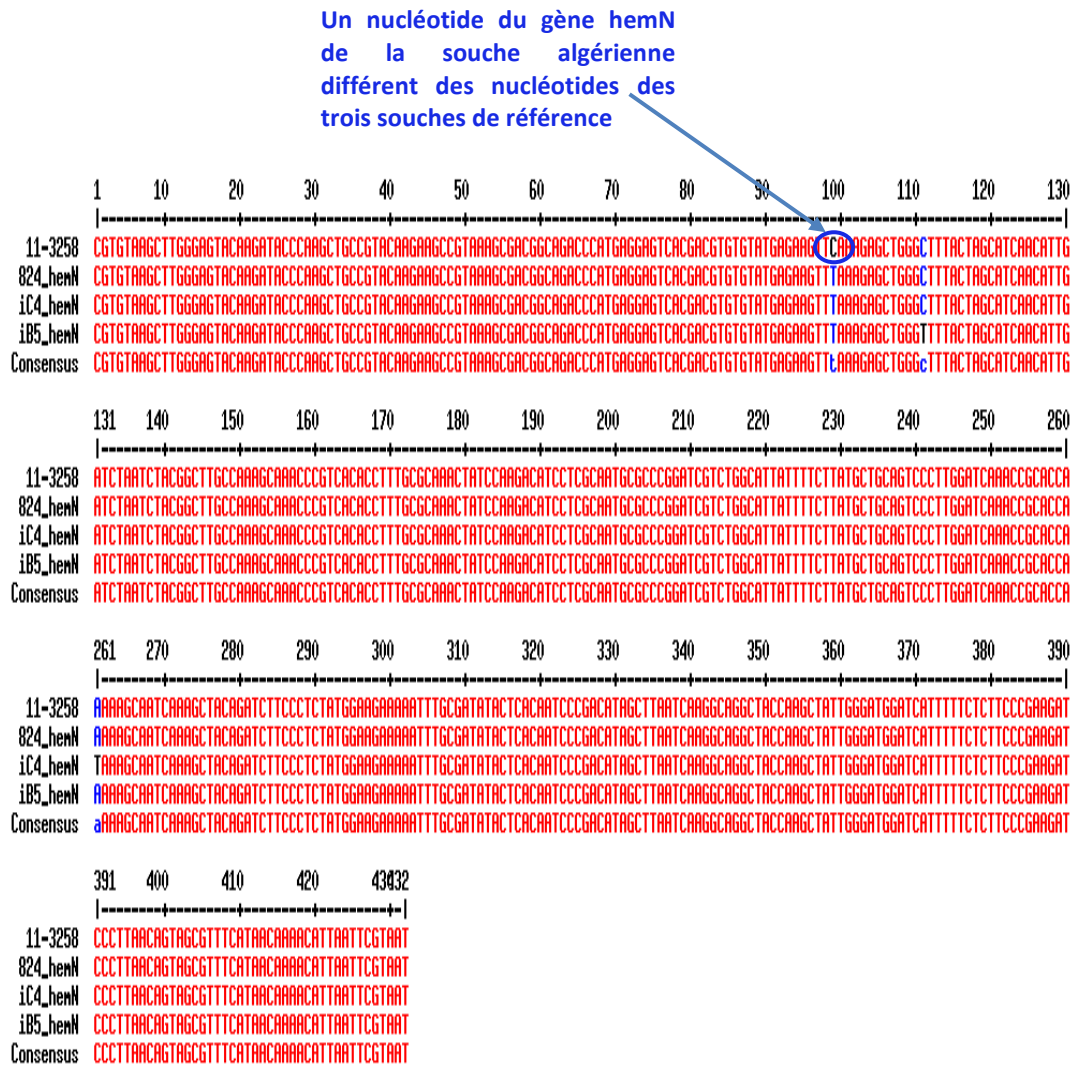


Figure 9.20 : Alignement des séquences hemN de l'échantillon AC069 de *C. pecorum* et de trois souches de référence de *C. pecorum*

9.5. Isolement des *Chlamydia* à partir des échantillons positifs

Résultats et discussion de la culture sur œufs embryonnés

La culture des *Chlamydiaceae* sur œufs embryonnés est effectuée, à partir d'échantillons vaginaux positifs dans le but de multiplier les bactéries. Elles sont inoculées dans la vésicule vitelline de l'embryon de l'œuf et se multiplient dans les cellules des vaisseaux de la membrane vitelline. A la mort de l'embryon, l'œuf est autopsié et on récupère la membrane vitelline riche en bactéries. La présence de *Chlamydia* est vérifiée par rt-PCR.

Nos résultats étaient décevants puisque l'on s'attendait à obtenir au moins deux à cinq œufs morts compte tenu du niveau de contamination présumé des prélèvements vaginaux. Ces résultats signifient que, soit la conservation des prélèvements a altéré la survie des *Chlamydiaceae*, soit les œufs ont subi des dommages ne permettant pas une bonne multiplication des bactéries.

Certains écouvillons vaginaux ont été prélevés par les vétérinaires mêmes et conservés au réfrigérateur ou au congélateur à - 20°C, ce qui altère fortement la viabilité des *Chlamydiaceae* [212]. D'autre part, l'isolement de ces bactéries après conservation à + 4°C pendant plus de quatre jours n'est possible que si la concentration de départ en bactéries est très élevée [213].

Les *Chlamydiaeae* étant très fragiles, elles doivent être conservées à une température inférieure ou égale à - 80°C. Le jaune d'œuf constitue un excellent cryoprotecteur. Cette fragilité des *Chlamydiaceae* est l'un des principaux facteurs limitant leur isolement en médecine vétérinaire [214].

En effet les prélèvements qui ne sont plus infectieux à l'arrivée du laboratoire donnent de faux résultats négatifs. Les prélèvements peuvent être contaminés par des bactéries résistantes aux antibiotiques du milieu de transport, qui peuvent donc ensuite détruire les cellules.

Nous avons du faire face à plusieurs contraintes techniques qui ont diminué nos chances d'isoler les espèces de *Chlamydia* vivantes à partir de ces écouvillons vaginaux.

10. DISCUSSION GENERALE

La réalisation des prélèvements n'a pas toujours été effectuée selon le protocole indiqué. Malgré notre insistance sur la réalisation des prélèvements sanguins et vaginaux dans tous les élevages visités, certains vétérinaires n'ont effectué que le prélèvement vaginal. La coopération entre les éleveurs et la disponibilité des vétérinaires étaient difficiles.

Dans notre étude, les prélèvements sanguins ont été collectés dans 29 des 35 exploitations incluses. Ainsi, 226 sérums ont été analysés à l'aide d'un kit ELISA ciblant spécifiquement l'espèce *C. abortus* (ID-Vet). Quinze échantillons (6.6 %) provenant de 7 fermes (22.5 %) se sont révélés positifs. Vu que la vaccination contre la chlamydie abortive n'étant pas pratiquée en Algérie, les résultats de cette enquête sérologique ne peuvent donc que refléter une réponse naturelle à l'infection.

Récemment, une enquête de séroprévalence menée sur des brebis sélectionnées au hasard, a révélé 70.4% des troupeaux infectés par les *Chlamydia* dans le nord-est de l'Algérie [65]. L'utilisation d'un test ELISA ciblant des anticorps dirigés contre tous les *Chlamydiaceae* pourrait justifier le taux élevé de séroprévalence dans cette enquête à la différence de notre travail qui ne s'est axé que sur *C. abortus*. L'âge des femelles sélectionnées peut aussi avoir une influence sur les résultats. En effet, les femelles âgées de 1 à 3 ans sont connues pour être plus sensibles à la chlamydie [66], dans notre travail, les femelles étaient âgées entre 3 et 5 ans. Le taux d'animaux séropositifs était faible, cela pourrait aussi s'expliquer par le fait que les échantillons de sang ont été pris entre 0-15 jours après l'avortement ou l'agnelage. La réponse en anticorps augmente généralement plus tard, à partir de la troisième semaine après l'avortement [176].

D'autres études menées dans les pays du Maghreb ont montré des taux variables de séroprévalence. En effet, 25.4% à 65% des troupeaux ont été testés positifs lors d'une enquête menée en Tunisie en 2005 [66]. Un taux de 28.6% a été révélé dans une enquête marocaine [67]. Toutefois, une comparaison entre toutes ces enquêtes ne serait pas pertinente en raison des nombreux paramètres tels que les différences de conception de l'étude, la gestion et la taille du troupeau, et les différentes techniques utilisées (TFC, ELISA ...).

Dans notre étude, la présence des *Chlamydiaceae* a été mise en évidence par la PCR en temps réel, 49 échantillons (18.3%) se sont révélés positifs dans 25 élevages (71.4%). Une étude similaire menée au Maroc en 2004 sur des animaux ayant avortés a montré un taux de prévalence de l'infection à *Chlamydia* de 29% [2]. Un taux élevé de prévalence a été montré aussi dans une étude tunisienne menée en 2002 sur un petit effectif, utilisant un test ELISA direct à base d'antigène. En effet, 13/15 (86,6%) des troupeaux ovins et caprins et 29/50 (58%) des animaux ont été diagnostiqués positifs. Ces troupeaux ont été sélectionnés en raison des avortements enregistrés dans cette région [194]. D'autres études en Europe ont été effectuées sur des échantillons de troupeaux présentant plusieurs cas d'avortement. Des taux variables entre 50-71% en Allemagne [195], 5-50% au Royaume-Uni [196], et 11% de prévalence chez les petits ruminants au sud d'Italie [197]. Plusieurs tests ont été utilisés, à savoir, l'ELISA, la culture, la PCR classique, ce qui pourrait expliquer cette différence.

Dans cette étude, 25 élevages avaient au moins un animal positif, ce qui montre une circulation importante des *Chlamydia* dans ces troupeaux. Après un avortement, un nombre important de *Chlamydia* pourrait contaminer l'environnement des animaux et transmettre ainsi les bactéries par voie orale à d'autres animaux [21].

Des différences entre les résultats sérologiques et moléculaires ont été observées dans notre étude. Le prélèvement de sang et l'échantillon vaginal ont été pris au même temps de la même femelle après un avortement ou un agnelage. Les *Chlamydia* ne persistent pas longtemps dans le mucus vaginal après l'avortement, alors qu'il faut au moins deux semaines pour voir la réponse en anticorps, ce que pourrait expliquer cette différence de résultats.

C. abortus (32.6%) sont les espèces les plus fréquemment détectées dans notre étude, suivies par *C. pecorum* (26.5%). Cinq échantillons positifs ont été identifiés lors des infections mixtes à *C. abortus* et *C. pecorum*. Deux d'entre eux (AI089, AJ018) respectivement, avaient une charge élevée en *C. pecorum* (Ct: 31 et 35) et de très faibles charges en *C. abortus* (Ct: 40 et 41). Cependant, deux autres échantillons (AJ013, AJ026) respectivement, avaient une forte charge en *C. abortus* (Ct : 19, 32) et de très faible charge de *C. pecorum* (Ct 43 et 40). Un 5^{ème} échantillon avait une très faible charge pour les deux espèces bactériennes. Il serait pertinent de savoir si *C. pecorum* pouvait provoquer l'avortement

indépendamment de *C. abortus*, ou la présence des deux espèces de *Chlamydia* dans les échantillons est tout simplement une coïncidence. Ces infections mixtes ont déjà été citées dans une étude italienne chez les buffles [202].

La technique de génotypage MLVA a révélé que tous les échantillons positifs de *C. abortus* appartenaient au profil MLVA génotype '2', qui comprend la plupart des souches françaises. Dans une étude tunisienne, les souches de *C. abortus* ont également ressemblé aux souches françaises [194]. La similitude entre les souches algériennes, tunisiennes et françaises pourrait être expliquée par les liens économiques et historiques entre ces pays.

D'autres méthodes de génotypage alternatifs tels que le typage SNP ou le séquençage du génome entier ont été évoquées récemment [205] et permettraient une meilleure discrimination au sein de cette espèce.

Une technique de génotypage, en cours de développement pour l'espèce *C. pecorum*, repose sur le séquençage de 7 gènes de ménage [180]. Trois échantillons positifs de *C. pecorum* ont présenté des séquences identiques et s'apparentaient au groupe des souches *C. pecorum* déjà identifiés "hautement pathogène" E58 [180] et SBE (encéphalomyélite), VB2 (orchite) et AB10 (avortement) [203]. Deux souches de *C. pecorum* isolées d'un mouton (AKT) et une chèvre (M14) en Tunisie et au Maroc, respectivement, partagent un profil MLST différent avec les quatre échantillons de *C. pecorum* algériens [203]. Les charges élevées de bactéries détectées dans ces trois échantillons (Ct 21, Ct 27 et Ct 31) suggèrent une implication de *C. pecorum* dans ces avortements. L'implication de *C. pecorum* dans les avortements reste encore mal connue. Les carences nutritionnelles ou les infestations parasitaires sont souvent évoquées dans les élevages au Maghreb pouvant être des facteurs favorables pour la virulence des *C. pecorum* [3].

Un 4^{ème} échantillon d'ADN positif en *C. pecorum* a montré un profil MLST différent avec toutes les souches de référence disponibles actuellement. Un séquençage de cet échantillon nous a permis de le comparer avec les autres souches de référence (21 souches), les séquences des gènes *oppA*, *gatA* et *hemN* de notre échantillon ADN étaient différentes.

Nos échantillons positifs en rt-PCR et suffisamment concentrés ont été inoculés dans des œufs embryonnés. Le choix des écouvillons vaginaux s'est porté dans un premier temps sur des brebis dont les écouvillons vaginaux se sont

révélés fortement positifs en PCR. Les résultats après incubation des œufs inoculés étaient négatifs. Nous avons dû faire face à plusieurs contraintes techniques qui ont diminué nos chances d'isoler les *Chlamydia* à partir des écouvillons vaginaux.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude nous a permis de mieux connaître l'importance de la chlamydie abortive dans les troupeaux des petits ruminants. Il en ressort que l'infection à *Chlamydia* existe sur le terrain ce qui en plus des pertes économiques engendrées, constitue une source de contamination pour l'animal, l'environnement, ainsi que l'homme.

Les recherches sérologiques effectuées à l'aide de l'ELISA indirect, nous ont permis de détecter la circulation de *C. abortus* dans les élevages étudiés.

En effet, la prévalence individuelle des anticorps vis-à-vis de *C. abortus* a été estimée à 6.6%. Celle des troupeaux a été de 24.1%. La présence des anticorps anti-*Chlamydia* dans les sérums testés témoigne du passage de cette bactérie dans plusieurs troupeaux enquêtés.

Les espèces de *C. abortus* sont les plus fréquemment détectées, suivies par *C. pecorum*. Des infections simultanées par *C. abortus* et *C. pecorum* ont été observées.

Après un génotypage, Les échantillons appartenant à l'espèce *C. abortus*, avaient tous le même profil, ils étaient apparentés au profil MLVA génotype '2'. L'espèce *C. pecorum*, classiquement associée à un portage intestinal avirulent, a été aussi détectée. Nos travaux ont également permis de mettre en évidence cette espèce à partir de prélèvements réalisés sur des femelles ayant avorté. Trois échantillons génotypés ont présenté des séquences identiques et s'apparentaient au groupe des souches *C. pecorum* VB2, E58, AB10 et SBE, souches considérées comme étant fortement pathogènes, un 4^{ème} échantillon présentait un nouveau profil MLST, différent des autres souches de référence connues jusqu'à maintenant.

L'étude s'est déroulée essentiellement dans les zones connues d'élevage des petits ruminants. Néanmoins, des difficultés ont été rencontrées dans la collecte des prélèvements, suite au manque de collaboration de certains éleveurs.

Enfin, cette étude confirme la présence des *C. abortus* dans les troupeaux algériens. En outre, l'espèce *C. pecorum* a également été détectée à partir d'animaux ayant avorté. Ces nouvelles données devraient inciter les autorités

concernées à envisager des enquêtes épidémiologiques nationales afin de proposer des mesures de lutttes adéquates.

RECOMMANDATIONS

Compte tenu de la menace causée par l'existence des *Chlamydia* dans les troupeaux de petits ruminants, nous recommandons aux responsables en charge de la santé animale de :

1. Généraliser les enquêtes épidémiologiques permettant de proposer des mesures de luttés adaptées au contexte de notre pays.
2. Doter tous les laboratoires du secteur de l'agriculture, d'outils récents et performants de diagnostic, leur permettant de procéder au typage des *Chlamydia* afin de contribuer à la traçabilité de l'origine des souches isolées.
3. Créer un laboratoire de référence des *Chlamydia*

Aux vétérinaires et éleveurs de :

1. Organiser des journées dans le but de les sensibiliser sur l'existence et les risques liés à cette maladie.
2. Ne pas introduire des animaux dont le statut sanitaire est inconnu. Si des animaux doivent être achetés pour le renouvellement, ils doivent provenir des cheptels indemnes ou au moins bénéficier d'un contrôle sanitaire.
3. Ne pas laisser les placentas, les avortons et les agneaux morts nés à la disposition des carnivores.
4. Séparer les femelles prêtes à mettre bas des femelles ayant avortées. Si possible, un emplacement spécifique désinfecté doit être réservé aux nouveaux nés.
5. Encourager les éleveurs à collaborer en matière de lutte contre les avortements.

PERSPECTIVES

Cette étude a permis de mettre en évidence l'implication de la chlamydie dans les avortements de petits ruminants dans certaines régions de notre pays. Il serait intéressant de la compléter par des études ultérieures, à savoir :

- Elargir les enquêtes sur les différentes espèces (bovine, équine, cameline, féline...), ainsi que sur une zone d'étude plus étendue.
- Réaliser des enquêtes sérologiques sur les populations des zones rurales, afin de mesurer les risques de cette pathologie en santé publique.
- Inclure dans les kits ELISA qui détectent uniquement *C. abortus*, un marqueur ciblant les souches de *C. pecorum* pressenties comme étant virulentes.
- Remplacer les techniques sérologiques qui demeurent la méthode principale de dépistage des maladies abortives dans notre pays par un dépistage des animaux excréteurs sans signes cliniques, en utilisant les nouvelles techniques de biologie moléculaire telles que les puces à ADN ou les SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) permettant ainsi d'offrir de nouvelles approches.
- Isoler les *Chlamydia*, en utilisant la technique de la culture cellulaire, permettant la production d'un vaccin à partir de souches de *Chlamydia* circulantes en Algérie.

REFERENCES

1. Rodolakis, A., "Chlamydirose et Fièvre Q, similitudes et différences entre ces deux zoonoses ", Rencontres au tour des Recherches des Ruminants, INRA, V. 13, (2006), 395 -402.
2. El Jai, S., Remmal, A.H., Rodolakis, A., Souriau, A., El Idrissi, A.H., "Application de la réaction de polymérisation en chaîne au diagnostic direct de la chlamydirose abortive (*Chlamydomphila abortus* et *Chlamydomphila pecorum*) des petits ruminants au Maroc", Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, V. 57, (2004), 21–29.
3. Rekiki, A., Bouakane, A., Hammami, S., El Idrissi, A. H., Bernard, F., and Rodolakis, A., "Efficacy of live *Chlamydomphila abortus* vaccine 1B in protecting mice placentas and foetuses against strains of *Chlamydomphila pecorum* isolated from cases of abortion", Veterinary Microbiology, V. 99, (2004), 295-299.
4. Thygeson, P., "Trachoma virus: historical background and review of isolates", Annals of the New York Academy of Sciences, V. 98, (1962), 6-13.
5. Halberstadter, L., and von Prowazek, S., "Über zellieinschlüsse parasitärer natur beim trachom Arb", Gesundheitsamt Berlin, V. 26, (1907), 44-47.
6. Bedson, S.P., Western, G.T., Simpson, S.L., "Observations on the ethiology of psittacosis", Lancet, V. 1, (1930), 235–236.
7. Stamp, J.T., McEwen, A.D., Watt, J.A.A., Nisbet, D.J., "Enzootic abortion in ewes. Transmission of the disease", Veterinary Record, V. 62, (1950), 251–254.
8. Gordon, F. B., and Quan, A. L., "Isolation of the Trachoma Agent in Cell Culture", Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, V. 118, (1965), 354-359.

9. Moulder, J. W., "The relation of the psittacosis group (Chlamydiae) to bacteria and viruses", *The Annual Review of Microbiology*, V. 20, (1966), 107-130.
10. Page, L. A., "Interspecies transfer of psittacosis-LGV-trachoma agents: pathogenicity of two avian and two mammalian strains for eight species of birds and mammals", *American Journal Veterinary Research*, V. 27, (1966), 397-407.
11. Storz, J., and Page, L. A., "Taxonomy of the *Chlamydiae*: reasons for classifying organisms of the genus *Chlamydia*, family *Chlamydiaceae* , in a separate order, Chlamydiales ord. nov.", *International Journal of Systematic Bacteriology*, V. 21, (1971), 332-334.
12. Fukushi, H., and Hirai, K., "Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants", *International Journal of Systematic Bacteriology*, V. 42, (1992), 306-308.
13. Everett, K. D., Bush, R. M., and Andersen, A. A., "Emended description of the order Chlamydiales, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms", *International Journal of Systematic Bacteriology*, V.49, (1999), 415-440.
14. Kuo, C.C., Stephens, R.S., Bavoil, P.M., Kaltenboeck, B., "Genus I. *Chlamydia*", *In* Krieg NR, et al., editors (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd edition, Springer, New York, V. 4 , (2011), 846-865.
15. Vorimore, F., Hsia, R.C., Huot-Creasy, H., Bastian, S., Deruyter, L., Passet, A., Sachse, K., Bavoil, P., Myers, G., Laroucau, K., "Isolation of a New *Chlamydia* species from the Feral Sacred Ibis (*Threskiornis aethiopicus*): *Chlamydia ibidis*", *Plos One*, V. 8, (2013), e74823.

16. Sachse, K., Laroucau, K., Riege, K., Wehner, S., Dilcher, M., Creasy, H. H., Weidmann, M., Myers, G., Vorimore, F., Vicari, N., Magnino, S., Liebler-Tenorio, E., Ruetzger, A., Bavoil, P.M., Hufert, F. T., Rosselló-Móra, R., Marz, M., "Evidence for the existence of two new members of the family *Chlamydiaceae* and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov.", *Systematic and Applied Microbiology*, V. 37, (2014), 79-88.
17. Moulder, J.W., Hatch, T.P., Kuo, C.C., Schachter, J., Storz, J., "Genus *Chlamydia*" In: NR Krieg (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore, V.1, (1984), 729-739.
18. Storey, C., Lusher, M., Yates, P., Richmond, S., "Evidence for *Chlamydia pneumoniae* of non-human origin", *Journal of General Microbiology*, V. 139, n° 11, (1993), 2621-2626.
19. Reinhold, P., Sachse, K., Kaltenboeck, B., "*Chlamydiaceae* in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens?", *Veterinary Journal*, V. 189, (2011), 257-267.
20. Lenzko, H., Moog, U., Henning, K., Lederbach, R., Diller, R., Menge, C., Sachse, K., Sprague, L.D., "High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks", *BMC Veterinary Research*, V. 7, (2011), 29.
21. Longbottom, D., and Coulter, L. J., "Animal chlamydioses and zoonotic implications". *Journal of Comparative Pathology*, V. 128, (2003), 217-244.
22. Wyrick, P.B., Richmond, S.J., "Biology of *Chlamydiae*", Reports from the Symposium on Avian Chlamydiosis, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, V. 195, (1989), 1507-1511.

23. Thomson, N.R., Yeats, C., Bell K., Holden, M.T., Bentley, S.D., Livingstone, M., Cerdeño-Tárraga, A.M., Harris, B., Doggett, J., Ormond, D., Mungall, K., Clarke, K., Feltwell, T., Hance, Z., Sanders, M., Quail, M.A., Price, C., Barrell, B.G., Parkhill, J., Longbottom, D., “The *Chlamydomonas reinhardtii* genome sequence reveals an array of variable proteins that contribute to interspecies variation”, *Genome Research*, V. 15, (2005), 629–640.
24. Hatch, T. P., “Disulfide cross-linked envelope proteins: the functional equivalent of peptidoglycan in Chlamydiae?”, *Journal of Bacteriology*, V.178, (1996), 1-5.
25. Bavoil, P. M., and Hsia, R. C., “Type III secretion in *Chlamydia*: a case of deja vu?”, *Molecular Microbiology*, V. 28, (1998), 860-862.
26. Matsumoto, A., “Surface projections of *Chlamydia psittaci* elementary bodies as revealed by freeze-deep-etching”, *Journal of Bacteriology*, V. 151, (1982), 1040-1042.
27. Matsumoto, A., Fujiwara, E., and Higashi, N., “Observations of the surface projections of infectious small cell of *Chlamydia psittaci* in thin sections”, *Journal of Electron Microscopy*, Tokyo, V. 25, (1976), 169-170.
28. Everett, K. D., and Hatch, T. P., “Architecture of the cell envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC”, *Journal of Bacteriology*, V. 177, (1995), 877-882.
29. Betts-Hampikian, H.J., and Fields, K. A.,” The chlamydial type III secretion mechanism: revealing cracks in a tough nut”, *Frontiers in Microbiology, Cellular and Infection Microbiology*, V. 1, 114, (2010), 1-13.
30. Prescott, L.M., Harley J. P., Klein D. A., “Microbiology”, Fifth Edition, McGraw-Hill Higher Education, (2001), 316 p.

31. Hatch, T. P., Vance, D. W., Jr., and Al-Hossainy, E., "Attachment of *Chlamydia psittaci* to formaldehyde-fixed and unfixed L cells". *Journal of General Microbiology*, V. 125, (1981), 273-283.
32. Rostand, K. S., and Esko, J. D., "Microbial adherence to and invasion through proteoglycans", *Infection and Immunology*, V. 65, (1997), 1-8.
33. Su, H., Raymond, L., Rockey, D. D., Fischer, E., Hackstadt, T., and Caldwell, H. D., "A recombinant *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein binds to heparin sulfate receptors on epithelial cells", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, V. 93, (1996), 11143-11148.
34. Fan, J., and Stephens, R. S., "Antigen conformation dependence of *Chlamydia trachomatis* infectivity neutralization", *Journal of Infectious Diseases.*, V. 176, (1997), 713-721.
35. Hatch, T. P., Miceli, M., and Sublett, J. E., "Synthesis of disulfide-bonded outer membrane proteins during the developmental cycle of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis*", *Journal of Bacteriology*, V. 165, (1986), 379-385.
36. Ward, M.E., 2011 : Photographie de la Microscopie électronique, Page consulté le : 05/09/2015. Disponible sur : http://chlamydiae.com/twiki/images/ArchiveDocsBiologyBioIDevcycle_3.gif
37. Bavoil, P., Ohlin, A., and Schachter, J., "Role of disulfide bonding in outer membrane structure and permeability in *Chlamydia trachomatis*", *Infection and Immunity*, V. 44, (1984), 479-85.
38. Moulder, J. W., "Interaction of chlamydiae and host cells in vitro", *Microbiological Reviews*, V.55, (1991), 143-90.

39. Todd, W. J., and Caldwell, H. D., "The interaction of *Chlamydia trachomatis* with host cells: ultrastructural studies of the mechanism of release of a biovar II strain from HeLa 229 cells", *Journal of Infectious Diseases*, V. 151, (1985), 1037-1044.
40. Stephens, R. S., Myers, G., Eppinger, M., and Bavoil, P. M., "Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of *Chlamydia* resolved", *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, V. 55, (2009), 115-119.
41. Jacquier, N., Viollier, P., Greub, G., "The role of peptidoglycan in chlamydial cell division: towards resolving the chlamydial anomaly", *FEMS Microbiology Reviews*, V. 39, (2015), 262-275.
42. Jacquier, N., Frandi, A., Pillonel, T., Viollier, P., Greub, G., "Cell wall precursors are required to organize the chlamydial division septum", *Nature Communications*, V. 5, (2014), 3578.
43. Pospischil, A., Borel, N., Chowdhury, E. H., and Guscetti, F., "Aberrant chlamydial developmental forms in the gastrointestinal tract of pigs spontaneously and experimentally infected with *Chlamydia suis*", *Veterinary Microbiology*, V. 135, (2009), 147-56.
44. Brunham, R.C., Rey Ladino, J., "Immunology of *Chlamydia* infection: implications for a *Chlamydia trachomatis* vaccine", *Nature Reviews Immunology*, V.5, (2005), 149-161.
45. Corsaro, D., Le Faou, A., "*Chlamydia*", *Collection Monographies de Microbiologie, Éditions Médicales Internationales*, (2002), 126p.
46. Caldwell, H. D., and Hitchcock, P. J., "Monoclonal antibody against a genus-specific antigen of *Chlamydia* species: location of the epitope on chlamydial lipopolysaccharide" *Infection and Immunity*, V. 44, (1984), 306-314.

47. Birkelund, S., Lundemose, A. G., and Christiansen, G., "Chemical cross-linking of *Chlamydia trachomatis*", *Infection and Immunity*, V. 56, (1988), 654-659.
48. Vretou, E., Psarrou, E., and Spiliopoulou, D., "The role of lipopolysaccharide in the exposure of protective antigenic sites on the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*", *Journal of General Microbiology*, V. 138, (1992), 1221-1227.
49. Stuart, E. S., Wyrick, P. B., Choong, J., Stoler, S. B., and MacDonald, A. B., "Examination of chlamydial glycolipid with monoclonal antibodies: cellular distribution and epitope binding", *Immunology*, V. 74, (1991), 740-747.
50. Newhall, W. J. t., "Biosynthesis and disulfide cross-linking of outer membrane components during the growth cycle of *Chlamydia trachomatis*", *Infect Immun.*, V. 55, (1987), 162-168.
51. Brunelle, B. W., and Sensabaugh, G. F., "The ompA gene in *Chlamydia trachomatis* differs in phylogeny and rate of evolution from other regions of the genome", *Infection and Immunity*, V. 74, (2006), 578-85.
52. Batteiger, B. E., Lin, P. M., Jones, R. B., and Van Der Pol, B. J., "Species-serogroup, and serovar-specific epitopes are juxtaposed in variable sequence region 4 of the major outer membrane proteins of some *Chlamydia trachomatis* serovars", *Infection and Immunity*, V. 64, (1996), 2839-2841.
53. Caldwell, H. D., and Judd, R. C., "Structural analysis of chlamydial major outer membrane proteins", *Infection and Immunity*, V. 38, (1982), 960-968.
54. Longbottom, D., Findlay, J., Vretou, E., and Dunbar, S. M., "Immunoelectron microscopic localisation of the OMP90 family on the outer membrane surface of *Chlamydia psittaci*", *FEMS Microbiology Letters*, V. 164, (1998), 111-117.

55. Longbottom, D., Russell, M., Jones, G. E., Lainson, F. A., and Herring, A. J., "Identification of a multigene family coding for the 90 kDa proteins of the ovine abortion subtype of *Chlamydia psittaci*", *FEMS Microbiology Letters*, V. 142, (1996), 277-281.
56. Souriau, A., Salinas, J., De Sa, C., Layachi, K., and Rodolakis, A., "Identification of subspecies- and serotype 1-specific epitopes on the 80- to 90-kilodalton protein region of *Chlamydia psittaci* that may be useful for diagnosis of chlamydial induced abortion", *American Journal of Veterinary Research*, V. 55, (1994), 510-514.
57. Rockey, D. D., and Rosquist, J. L., "Protein antigens of *Chlamydia psittaci* present in infected cells but not detected in the infectious elementary body", *Infection and Immunology*, V. 62, (1994), 106-112.
58. Scidmore, M. A., Rockey, D. D., Fischer, E. R., Heinzen, R. A., and Hackstadt, T., "Vesicular interactions of the *Chlamydia trachomatis* inclusion are determined by chlamydial early protein synthesis rather than route of entry", *Infection and Immunology*, V. 64, (1996), 5366-5372.
59. Kleba, B., and Stephens, R. S., "Chlamydial effector proteins localized to the host cell cytoplasmic compartment", *Infection and Immunology*, V. 76, (2008), 4842-4850.
60. Beeckman, D. S., Geens, T., Timmermans, J. P., Van Oostveldt, P., and Vanrompay, D. C., "Identification and characterization of a type III secretion system in *Chlamydia psittaci*", *Veterinary Research*, (2008), 39, 27.
61. Peters, J., Wilson, D. P., Myers, G., Timms, P., and Bavoil, P. M., "Type III secretion in *Chlamydia*", *Trends in Microbiology*, V. 15, (2007), 241-51.

62. Hoare, A., Timms, P., Bavoil, P. M., and Wilson, D. P., "Spatial constraints within the chlamydial host cell inclusion predict interrupted development and persistence", *BMC Microbiology*, V. 8, (2008), 5 p.
63. Rodolakis, A., "Diagnostic de la Chlamydie et de la fièvre Q", Association pour l'Etude de la Reproduction Animale, (1998), 49-54.
64. Dumas, N., "Rickettsiosis and chlamydiosis in Hoggar (Republic of Algeria): Epidemiological sampling", *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*, V. 77, (1984), 278–283.
65. Hireche, S., Bouaziz, O., Djenna, D., Boussena, S., Aimeur, R., Kabouia, R., Bererhi, E., "Seroprevalence and risk factors associated with *Chlamydochlamydia* spp. infection in ewes in the northeast of Algeria", *Tropical Animal Health and Production*, V. 46, (2014), 467-473.
66. Rekiki, A., Thabti, F., Dlissi, I., Russo, P., Sanchis, R., Pepin, M., Hammami, A., "Enquête sérologique sur les principales causes d'avortements infectieux chez les petits ruminants en Tunisie", *Revue de Médecine Vétérinaire*, V. 156, (2005), 395-401.
67. El Jai, S., Bouslikhane, M., El Idrissi, A. H., "Suivi épidémiologique des avortements de petits ruminants dans les zones pastorales du Maroc", *Actes Institut Agronomique et Vétérinaire, Maroc*, V. 23, (2003), 95–100.
68. Al-Qudah, K.M., Sharif, L.A., Raouf, R.Y., Hailat, N.Q., AL-Domy, F.M., "Seroprevalence of antibodies to *Chlamydochlamydia abortus* shown in awassi sheep and local goats in Jordan", *Veterinari Medicina*, V. 49, (2004), 460-466.
69. Wilson, K., Sammin, D., Harmeyer, S., Nath, M., Livingstone, M., Longbottom, D., "Seroprevalence of chlamydial infection in cattle in Ireland", *The Veterinary Journal*, V. 193, (2012), 583-585.

70. Kalender, H., Kilic, A., Eroksuz, H., Muz, A., Kilinc U., Tasdemir, B., "Identification of *Chlamydophila abortus* infection in aborting ewes and goats in Eastern Turkey", *Revue de Médecine Vétérinaire*, V.164, (2013), 295-301.
71. Gutierrez, J., Williams, E.J., O'Donovan, J., Brady, C., Proctor, A.F., Marques, P.X., Worrall, S., Nally, J.E., McElroy, M., Bassett, H.F., Sammin, D.J., Markey, B.K., "Monitoring clinical outcomes, pathological changes and shedding of *Chlamydophila abortus* following experimental challenge of periparturient ewes utilizing the natural route of infection", *Veterinary Microbiology*, V. 147, (2011), 119-126.
72. McEwen, A.D., Stamp, J.T., Littlejohn, A.I., "Enzootic abortion in ewes. Immunization and infection experiments", *Veterinary Record*, V. 63, (1951), 197-201.
73. Wilsmore, A. J., Parsons, V., Dawson, M., "Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion", *British Veterinary Journal*, V. 140, (1984), 380-391.
74. Longbottom, D., Entrican, G., Wheelhouse, N., Brough, H., Milne, C., "Evaluation of the impact and control of enzootic abortion of ewes", *Veterinary Journal*, V. 195, (2013), 257-259.
75. Thomas, V., Casson, N., and G. Greub., "Criblamydia sequanensis, a new intracellular Chlamydiales isolated from Seine river water using amoebal co-culture", *Environmental Microbiology*, V. 8, (2006), 2125-2135.
76. Salinas, J., Souriau, A., Cuello, F., Rodolakis, A., "Antigenic diversity of ruminant *Chlamydia psittaci* strains demonstrated by the indirect microimmunofluorescence test with monoclonal antibodies", *Veterinary Microbiology*, V. 43, (1995), 219-226.
77. Roberts, W., Grist, N.R., Giroud, P., "Human abortion associated with infection by ovine abortion agent", *British Medicine Journal*, V. 4, (1967), 37 - 39.

78. Buxton, D., "Potential danger to pregnant women of *Chlamydia psittaci* from sheep", *Veterinary Record*, V. 118, (1986), 510-511.
79. Wong, S.Y., Gray, E.S., Buxton, D., Finlayson, J., Johnson, F.W., "Acute placentitis and spontaneous abortion caused by *Chlamydia psittaci* of sheep origin: a histological and ultrastructural study", *Journal of Clinical Pathology*, V. 38, (1985), 707-711.
80. Dubreuil, P., Arsenault, J., "Les avortements chez les petits ruminants", *Le Médecin Vétérinaire du Québec*, V. 33, (2003), 6-9.
81. Papp, J.R., Shewen, P.E., Gartley, C.J., "Abortion and subsequent excretion of chlamydiae from the reproductive tract of sheep during estrus", *Infection and Immunology*, V. 62, (1994), 3786-3792.
82. Rodolakis, A., Boulet, C., Souriau, A., "*Chlamydia psittaci* experimental abortion in goats", *American Journal of Veterinary Research*, V. 45, (1984), 2086-2089
83. Beer, R.J., Bradford, W.P., Hart, R.J., "Pregnancy complicated by psittacosis acquired from sheep", *British Medical Journal*, V. 284, (1982), 1156-1157.
84. Brugère-Picoux, J., "Maladies des moutons", *Manuel pratique*, 2^e édition, Edition France Agricole, (2004), 183-192.
85. Meijer, A., Brandenburg, A., De Vries, J., Beentjes, J., Roholl, P., Dercksen, D., "*Chlamydophila abortus* infection in a pregnant woman associated with indirect contact with infected goats", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, V. 23, (2004), 487-490.
86. Pospischil, A., Thoma, R., Hilbe, M., Grest, P., Zimmermann, D., Gebbers, J.O., "Abortion in humans caused by *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci* serovar1)", *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, V. 144, (2002), 463-466.

87. Villemonteix, P., Agius, G., Ducroz, B., Rouffineau, J., Plocoste, V., Castets, M., Magnin, G., "Pregnancy complicated by severe *Chlamydia psittaci* infection acquired from a goat flock: a case report", *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, V. 37, (1990), 91-94.
88. Walder, G., Hotzel, H., Brezinka, C., Gritsch, W., Tauber, R., Wurzner, R., Ploner, F., "An unusual cause of sepsis during pregnancy: recognizing infection with *Chlamydophila abortus*", *Obstetrics & Gynecology*, V. 106, (2005), 1215-1217.
89. Raulston, J.A., "Chlamydial envelope components and pathogen-host cell interactions", *Molecular Microbiology*, V. 15, (1995), 607-616.
90. Aitken, I. D., "Chlamydial abortion". In: Martin, W.B., Aitken, I.D., *Diseases of sheep*, 3rd ed., Blackwell Science, Oxford, (2000), 81-86.
91. Tainturier D., Fieni, F., Bruyas, J. F., Battut, I., "Etiologie des avortements chez la vache", *Point Vétérinaire*, V. 28, (1997), 1231-1243.
92. Rodolakis, A., Salinas, J., Papp, J., "Recent advances on ovine chlamydial abortion", *Veterinary Research*, V. 29, (1998), 275-288.
93. Rodolakis, A., "La fièvre Q passe souvent inaperçue", *La semaine vétérinaire*, (Avril 2001), p 40.
94. Chalmers, W.S., Simpson, J., Lee, S.J., Baxendale, W., "Use of a live chlamydial vaccine to prevent ovine enzootic abortion", *Veterinary Record*, V. 141, (1997), 63-67.
95. Bouakane, A., Rekiki, A., Rodolakis, A., "Protection of pregnant mice against placental and splenic infection by tree strains of *Chlamydophila abortus* with a live 1B vaccine", *Veterinary Record*, V. 157, (2005), 771-774.

96. Papp, J.R, Shewen, P.E., “*Chlamydia psittaci* infection in sheep: a paradigm for human reproductive tract infection”, *Journal of Reproductive Immunology*, V. 34, (1997), 185-202.
97. Rodolakis, A., Bernard, K., « Isolement de *Chlamydophila* des organes génitaux de béliers atteints d'épididymite », *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, V. 50, (1977), 65-70.
98. Papp, J.R., Shewen, P.E., “Pregnancy failure following vaginal infection of sheep with *Chlamydia psittaci* prior to breeding”, *Infection and Immunity* V. 64, (1996), 1116-1125.
99. Papp, J.R., Shewen, P.E., Thorn, C.E., Andersen, A.A., “Immunocytologic detection of *Chlamydia psittaci* from cervical and vaginal samples of chronically infected ewes”, *Canadian Journal of Veterinary Research*, V. 62, (1998), 72-74.
100. Stuen, S., Longbottom, D., “Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats”, *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, V. 27, (2011), 213-233.
101. Livingstone, M., Wheelhouse, N., Maley, S.W., Longbottom, D., “Molecular detection of *Chlamydophila abortus* in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing”. *Veterinary Microbiology*, V. 135, (2009), 134-141.
102. Kerr, K., Entrican, G., McKeever, D., Longbottom, D., “Immunopathology of *Chlamydophila abortus* infection in sheep and mice”, *Research in Veterinary Science*, V. 78, (2005), 1-7.
103. Sammin, D.J., Markey, B.K, Quinn, P.J., McElroy, M.C., Bassett, H.F., “Comparison of fetal and maternal inflammatory responses in the ovine placenta after experimental infection with *Chlamydophila abortus*”, *Journal of Comparative Pathology*, V.135, (2006), 83-92.

104. Milne, C.E., Gunn, G.J., Entrican, G., Longbottom, D., "Epidemiological modeling of chlamydial abortion in sheep flocks", *Veterinary Microbiology*, V. 135, (2009), 128-133.
105. Rocchi, M. S., Wattegedera, S., Meridiani, I., Entrican, G., "Protective adaptive immunity to *Chlamydophila abortus* infection and control of ovine enzootic abortion (OEA)", *Veterinary Microbiology*, V. 135, (2009), 112-121.
106. Wilsmore, A., J., Izzard K., A., Wilsmore B. C., Dagnall, G.J., "Breeding performance of sheep infected with *Chlamydia psittaci* (ovis) during their preceding pregnancy", *Veterinary Record*, V. 126, (1990), 40-41.
107. Robert, B. Moeller, Jr., "Disorders of sheep and goats". In: Kirkbride's diagnosis of abortion and neonatal loss in animals, Njaa Bradley, L. (ed). 4e edition. John Wiley and Sons, Ltd, UK, (2012).
108. Miller, M.A., Turk, J.R., Nelson, S.L., Van Der Lek, A.P., Solorzano, R., Fales, W.H., Morehouse, L.G., Gosser, H.S., "Chlamydial infection in aborted and stillborn lambs", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, V. 2, (1990), 55-58.
109. Maley, S.W., Livingstone, M., Rodger, S. M., Longbottom, D., Buxton, D. "Identification of *Chlamydophila abortus* and the development of lesions in placental tissues of experimentally infected sheep", *Veterinary Microbiology*, V. 135, (2009), 122-127.
110. Entrican, G., Wattegedera, S., Wheelhouse, N., Allan, A., Rocchi, M., "Immunological paradigms and the pathogenesis of ovine chlamydial abortion", *American Journal of Reproductive Immunology*, V.64, (2010), 287-294.
111. Buxton, D., Barlow, R.M., Finlayson, J., Anderson, I.E., Mackellar, A., "Observations on the pathogenesis of *Chlamydia psittaci* infection of pregnant sheep", *Journal of Comparative Pathology*, V. 102, (1990), 221-237.

112. Papp, J.R., Shewen, P.E., Gartley, C.J., "*Chlamydia psittaci* infection and associated infertility in sheep", Canadian Journal of Veterinary Research, V. 57, (1993), 185-189.
113. Navarro, J.A., Garcia de la Fuente, J.N., Sanchez, J., Martinez, C.M., Buendia, A.J., Gutierrez-Martin, C.B., Rodriguez-Ferri, E.F., Ortega, N., Salinas, J., "Kinetics of infection and effects on the placenta of *Chlamydomphila abortus* in experimentally infected pregnant ewes", Veterinary Pathology, V. 41, (2004), 498-505.
114. Wheelhouse, N., Wattegedera, S., Stanton, J., Maley, S., Watson, D., Jepson, C., Deane, D., Buxton, D., Longbottom, D., Baszler, T., Entrican, G., "Ovine trophoblast is a primary source of TNFalpha during *Chlamydomphila abortus* infection", Journal of Reproductive Immunology, V. 80, (2009), 49-56.
115. Buxton, D., Anderson, I.E., Longbottom, D., Livingstone, M., Wattegedera, S., Entrican, G., "Ovine chlamydial abortion: characterization of the inflammatory immune response in placental tissues", Journal of Comparative Pathology, V. 127, (2002), 133-141.
116. Entrican, G., "Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion", Journal of Comparative Pathology, V. 126, (2002), 79-94.
117. Entrican, G., "IDO: a crossroads of immunology and physiology?", Journal of Reproductive Immunology, V. 61, (2004), 63-65.
118. Rodolakis, A., Souriau, A., "Clinical evaluation of commercial vaccine against chlamydophilal abortion of ewes", Annales de Recherches Vétérinaires, V. 10, (1979), 41-48.
119. Souriau, A., Rodolakis, A., "Rapid detection of *Chlamydia psittaci* in vaginal swabs of aborted ewes and goats by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)", Veterinary Microbiology, V. 11, (1986), 251-259.

120. Storz, J., Carroll, E.J., Stephenson, E.H., Ball, L., Eugster, A.K., "Urogenital infection and seminal excretion after inoculation of bulls and rams with *Chlamydiae*" American Journal of Veterinary Research, V. 37, n° 5, (1976), 517-522.
121. Entrican, G., Wheelhouse, N.M., "Immunity in the female sheep reproductive tract", Veterinary Research, V. 37, (2006), 295-309.
122. Finlayson, J., Buxton, D., Anderson, I.E., Donald, K.M., "Direct immunoperoxidase method demonstrating *Chlamydia psittaci* in tissue sections", Journal Clinical Pathology, V. 38, (1985), 712-714.
123. Kunz, U.S., Pospischill, A., Paccaud, M.F., "Immunohistochemical detection of Chlamydiae in formalin-fixed tissue sections: comparison of a monoclonal antibody with yolk derived antibody (IgY)", Zentralblatt fur Veterinarmedizin-Reihe B, V. 38, (1991), 292-298.
124. Sanderson, T.P., Andersen, A.A., "Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of *Chlamydia psittaci* in vaginal secretions, placentas, and fetal tissues from aborting ewes", Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, V. 1, (1989), 309-315.
125. Sachse, K., Vretou, E., Livingstone, M., Borel, N., Pospischil, A., Longbottom, D., "Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections", Veterinary Microbiology, V. 135, (2009), 2-21.
126. Rahman, K.S., Chowdhury, E.U., Poudel, A., Ruettger, A., Sachse, K., Kaltenboeck, B., "Defining species-specific immunodominant B cell epitopes for molecular serology of *Chlamydia* species", Clinical Vaccine Immunology, (2015), V. 22, 539-552.

127. Salti-Montesanto, V., Tsoli, E., Papavassiliou, P., Psarrou, E., Markey, B.K., Jones, G.E., Vretou, E., "Diagnosis of ovine enzootic abortion, using a competitive ELISA based on monoclonal antibodies against variable segments 1 and 2 of the major outer membrane protein of *Chlamydia psittaci* serotype 1", American Journal of Veterinary Research, V. 58, (1997), 228-235.
128. Gut-Zangger, P., Vretou, E., Psarrou, E., Pospischil, A. and Thoma, R., "Chlamydial abortion in sheep: possibilities of serological diagnosis with a competitive ELISA and insight into the epidemiological situation in Switzerland", Schweizer Archiv fur Tierheilkunde, V. 141, (1999), 361-366.
129. Meijer, A., Kwakkel, G.J., De Vries, A., Schouls, L.M., Ossewaade, J.M., "Species identification of *Chlamydia* isolates by analysis restriction fragment length polymorphism of the 16S-23S rRNA spacer region", Journal of Clinical Microbiology, V. 35, (1997), 1179-1183.
130. Everett, K.D., Hornung, L.J., Andersen, A.A., "Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other Families in the order Chlamydiales: Three PCR Tests", Journal of Clinical Microbiology, V. 37, (1999), 575-580.
131. Corsaro, D., Greub, G., "Pathogenic potential of novel Chlamydiae and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria", Clinical Microbiological Reviews, V. 19, (2006), 283-297.
132. Herring, A.J., "Typing *Chlamydia psittaci*: a review of methods and recent findings", British Veterinary Journal, V. 149, (1993), 455-475.
133. Yoshida, H., Kishi, Y., Hagiwara, T., "Differentiation of *Chlamydia* species by combined use of polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis", Microbiology and Immunology, V. 42, (1998), 411-414.

134. Berri, M., Bernard, F., Lecu, A., Ollivet-Courtois, F., Rodolakis, A., "Molecular characterization and ovine live vaccine 1B evaluation toward a *Chlamydomphila abortus* strain isolated from springbok antelope abortion", *Veterinary Microbiology*, V. 103, (2004), 231-240.
135. DeGraves, F.J., Gao, D., Kaltenboeck, B., "High-sensitivity quantitative PCR platform", *Biotechniques*, V. 34, (2003), 106-115.
136. Pantchev, A., Sting, R., Bauerfeind, R., Tyczka, J., Sachse, K., "New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydomphila psittaci* and *Chlamydomphila abortus* from tissue samples", *The Veterinary Journal*, V. 181, (2009), 145-150.
137. Sachse, K., Hotzel, H., Slickers, P., Ellinger, T., Ehricht, R., "DNA microarray-based detection and identification of *Chlamydia* and *Chlamydomphila* spp.", *Molecular and Cellular Probes*, V. 19, n°1, (2005), 41-50.
138. Borel, N., Kempf, E., Hotzel, H., Schubert, E., Torgerson, P., Slickers, P., Ehricht, R., Tasara, T., Pospischil, A., Sachse, K., "Direct identification of Chlamydiae from clinical samples using a DNA microarray assay-a validation study", *Molecular Cell*, V. 22, (2008),55-64.
139. Runge, M., Binder, A., Schotte, U., Ganter, M., "Investigations concerning the prevalence of *Coxiella burnetii* and *Chlamydia abortus* in sheep in correlation with management systems and abortion rate in Lower Saxony in 2004", *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, V. 125, (2012), 138-143.
140. Siarkou, V., Lambropoulos, A.F., Chrisafi, A., Kotsi, A., Papadopoulos, O., "Subspecies variations in Greek strains of *Chlamydomphila abortus*", *Veterinary Microbiology*, V. 85, (2002), 145-157.
141. Laroucau, K., Souriau, A., Rodolakis, A., "Isolation of new pmp sequence in serotype-1 *Chlamydia psittaci* strains. In: Saikku, P., (ed.) *Chlamydia Research*, V. 4, Universitas Helsingienis, (2000), 38 p.

142. Vretou, E., Loutrari, H., Mariani, L., Costelidiou, K., Eliades, P., Conidou, G., Karamanou, S., Mangana, O., Siarkou, V., Papadopoulos, O., "Diversity among abortion strains of *Chlamydia psittaci* demonstrated by inclusion morphology, polypeptide profiles and monoclonal antibodies", *Veterinary Microbiology*, V. 51, (1996), 275-289.
143. Vretou, E., Psarrou, E., Kaisar, M., Vlisidou, I., Salti-Montesanto, V., Longbottom, D., "Identification of protective epitopes by sequencing of the major outer membrane protein gene of a variant strain of *Chlamydia psittaci* serotype 1 (*Chlamydia abortus*)", *Infection and Immunology*, V. 69, (2001), 607-612.
144. Laroucau, K., Vorimore, F., Bertin, C., Yousef Mohamad, K., Thierry, S., Hermann, W., Maingourd, C., Pourcel, C., Longbottom, D., Magnino, S., Sachse, K., Vretou, E., Rodolakis, A., "Genotyping of *Chlamydomphila abortus* strains by multilocus VNTR analysis", *Veterinary Microbiology*, V. 137, (2009), 335-334.
145. Sachse, K., Laroucau, K., Hotzel, H., Schubert, E., Ehricht, R., Slickers, P., "Genotyping of *Chlamydomphila psittaci* using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of ompA genes", *BMC Microbiology*, V. 8, (2008), 63-74.
146. Markey, B.K., McNulty, M.S., Todd, D., "Comparison of serological tests for the diagnosis of *Chlamydia psittaci* infection of sheep", *Veterinary Microbiology*, V. 36, (1993), 233-252.
147. Griffiths, P.C., Plater, J.M., Horigan, M.W., Rose, M.P., Venables, C., Dawson, M., "Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by comparative inclusion immunofluorescence assay, recombinant lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay, and complement fixation test", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 34, (1996), 1512-1518.
148. Brade, H., Brade, L., and Nano, F. E., "Chemical and serological investigations on the genus-specific lipopolysaccharide epitope of *Chlamydia*", *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, V.84, (1987), 2508-2512.

149. Pepin, M., Bailly, L., Souriau, A., Rodolakis, A., "An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of chlamydial antibodies in caprine sera", *Annales de Recherches Vétérinaires*, V. 16, n° 4, (1985), 393-398.
150. Rodolakis, A., Souriau, A., "Chlamydiosis", In Rodolakis, A., Nettleton, P., Benkirane, A., (eds) *Manual for laboratory diagnosis of infectious abortions in small ruminants*, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, (1998), 67-96.
151. Sting, R., Hafez, H.M., "Purification of *Chlamydia psittaci* antigen by affinity chromatography on polymixin B agarose for use in the Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)", *Zentralbl fur Bakteriologie*, V. 277, (1992), 436-445.
152. Anderson, I.E., Herring, A.J., Jones, G.E., Low, J.C., Greig, A., "Development and evaluation of an indirect ELISA to detect antibodies to abortion strains of *Chlamydia psittaci* in sheep sera", *Veterinary Microbiology*, V. 43, (1995), 1-12.
153. Jones, G.E., Low, J.C., Machell, J., Armstrong, K., "Comparison of five tests for the detection of antibodies against chlamydial (enzootic) abortion of ewes", *Veterinary Record*, V. 141, (1997), 164-168.
154. Longbottom, D., Psarrou, E., Livingstone, M., Vretou, E., "Diagnosis of ovine enzootic abortion using an indirect ELISA (rOMP91B iELISA) based on a recombinant protein fragment of the polymorphic outer membrane protein POMP91B of *Chlamydophila abortus*. *FEMS Microbiology Letters*, V. 195, (2001), 157-161.
155. Buendia, A.J., Cuello, F., Del Rio, L., Gallego, M.C., Caro, M.R., Salinas, J., "Field evaluation of a new commercially available ELISA based on a recombinant antigen for diagnosing *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) infection", *Veterinary Microbiology*, V. 78, (2001), 229-239.

156. Rekiki, A., Hammami, S., Rodolakis, A., “Comparative evaluation of a new commercial recombinant ELISA and the complement fixation test for the diagnosis of *Chlamydomphila abortus* infection in naturally infected flocks in Tunisia”, *Small Ruminants Research*, V. 66, (2006), 58-63.
157. McCauley, L.M., Lancaster, M.J., Young, P., Butler, K.L., Ainsworth, C.G., “Comparison of ELISA and CFT assays for *Chlamydomphila abortus* antibodies in ovine sera”, *Australian Veterinary Journal*, V. 85, (2007), 325–328.
158. Vretou, E., Radouani, F., Psarrou, E., Kritikos, I., Xylouri, E., Mangana, O., “Evaluation of two commercial assays for the detection of *Chlamydomphila abortus* antibodies”, *Veterinary Microbiology*, V. 123, (2007), 153-161.
159. McCauley, L.M., Lancaster, M.J., Butler, K.L., Ainsworth, C.G., “Serological analysis of *Chlamydomphila abortus* in Australian sheep and implications for the rejection of breeder sheep for export”, *Australian Veterinary Journal*, V. 88, (2010), 32-38.
160. Mohamad, K.Y., Rekiki, A., Berri, M., Rodolakis, A., “Recombinant 35-kDa inclusion membrane protein IncA as a candidate antigen for serodiagnosis of *Chlamydomphila pecorum*”, *Veterinary Microbiology*, V. 143, (2010), 424-428.
161. De Barbeyrac, B., Bébéar, C., “Chlamydial pathogenesis: diagnostic and therapeutic consequences”, *Archives of Pediatrics.*, V.12, (2005), 26-31.
162. Dessus-Babus, S., Belloc, F., Bébéar, C.M., Poutiers, F., Lacombe, F., Bébéar, C., de Barbeyrac, B., “Antibiotic susceptibility testing for *Chlamydia trachomatis* using flow cytometry”, *Cytometry*, V. 31, (1998), 37-44.
163. Chopra, I., Storey, C., Falla, T. J., and Pearce, J. H., “Antibiotics, peptidoglycan synthesis and genomics: the chlamydial anomaly revisited”, *Microbiology*, V.144, (1998), 2673-2678.

164. Aitken, I. D., Robinson, G. W., Anderson, I. E., "Long-acting oxytetracycline in the treatment of enzootic abortion of ewes", *Veterinary Record*, (1982), 111, 446.
165. Rodolakis, A., Souriau, A., "Clinical evaluation of immunity following experimental or natural infection of ewes with *Chlamydia psittaci* (var. ovis)", *Annales de Recherches Vétérinaires*, V. 11, (1980), 215-223.
166. Rodolakis, A., Souriau, A., "Response of Ewes to Temperature-sensitive Mutants of *Chlamydia psittaci* (var ovis) obtained by NTG Mutagenesis", *Annales de Recherches Vétérinaires*, V.14, (1983), 155-161.
167. Littlejohn, A.I., Foggie, A., McEwen, A.D., "Enzootic abortion in ewes: field trials of vaccine" I. *Veterinary Record*, V. 64, (1952), 858-862.
168. Longbottom, D., Livingstone, M., "Vaccination against chlamydial infections of man and animals", *Veterinary Journal*, V. 171, (2006), 263-275.
169. Salinas, J., Sanchez, J., Buendia, A.J., Souriau, A., Rodolakis, A., Bernabe, A., Cuello, F., "The LPS localization might explain the lack of protection of LPS-specific antibodies in abortion-causing *Chlamydia psittaci* infections", *Research in Microbiology*, V. 145, (1994), 611-620.
170. Rodolakis, A., "In vitro and in vivo properties of chemically induced temperature-sensitive mutants of *Chlamydia psittaci* var ovis: screening in a murine model", *Infection Immunology*, V. 42, (1983), 525-530.
171. Rodolakis, A., Souriau, A., "Response of goats to vaccination with temperature-sensitive mutants of *Chlamydia psittaci* obtained by NTG mutagenesis", *American Journal of Veterinary Research*, V. 47, n°12, (1986), 2627-2631.

172. Souriau, A., Bosseray, N., Rodolakis, A., Lantier, F., Plommet, M., "Anti-chlamydial immunity in ewes conferred by vaccination with a combination of three live *Chlamydia*, *Brucella* and *Salmonella* vaccines", *Veterinary Record*, V. 123(1988), 29-32.
173. Matthews, J., "Abortion. In: Diseases of Goat", Oxford, Blackwell Science, (1999), 167-186.
174. Nietfeld, J.C., "Chlamydial infections in small ruminants", *The Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, V. 17, n° 2, (2001), 301-314.
175. Appleyard, W.T., Aitken, I.D., Anderson, I.E., "Attempted venereal transmission of *Chlamydia psittaci* in sheep", *Veterinary Record*, V. 116, (1985), 535-538.
176. Rodolakis, A., "Chlamydie abortive : diagnostic et prévention", *Bulletins des GTV.*, V. 7, (2000), 133-137.
177. Ongör, H., Cetinkaya, B., Acik, M. N., Karahan, M., Bulut, H., "Detection of *Chlamydophila abortus* in Ovine Milk by Immunomagnetic Separation-Polymerase Chain Reaction", *Journal of Veterinary Medicine*, V. 51, (2004), 43-45.
178. World Organization for Animal Health (OIE), Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis), chapter 2.7.7., Version adopted by the World Assembly of Delegates, May 2012.
179. Laroucau, K. , Thierry, S., Vorimore, F., Blanco, K., Kaleta, E., Hoop, R., Magnino, S., Vanrompay, D., Sachse , K., Myers, G.S., Bavoil, P. M., Vergnaud, G., Pourcel, C. , " High resolution typing of *Chlamydophila psittaci* by multilocus VNTR analysis (MLVA)", *Infection, Genetics and Evolution*, V. 8, n°2, (2008), 171–181.

180. Pannekoek, Y., Morelli, G., Kusecek, B., Morré, S.A., Ossewaarde, J.M., Langerak, A. A., Van der Ende, A., "Multi locus sequence typing of Chlamydiales: clonal groupings within the obligate intracellular bacteria *Chlamydia trachomatis*", BMC Microbiology, V. 8, (2008), 42–52.
181. Zaibet, L., Hammami, S., Jabbar, M., "Durabilité des systèmes d'élevage des petits ruminants en Tunisie: Une approche de santé animale et marketing", In: Institute, I.L.R. (Ed.), Discussion paper N°17, (2009), p. 138.
182. Salih Alj Debbah, H., Touhami, M., El Idrissi, A., Souriau, A., Saïle, R., Rodolakis, A., "Chlamydie abortive des petits ruminants au Maroc : opportunité d'améliorer le diagnostic sérologique", Revue de Médecine Vétérinaire, V.153, (2002), 101-106.
183. Gokce HI., Kacar C., Genc, O., Sozmen, M., "Seroprevalance of *Chlamydophila abortus* in aborting ewes and dairy cattle in the north-east part of Turkey", Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, V. 51, (2007), 9-13.
184. Riyadh S., Aljumaah and Mansour F., Hussein, "Serological prevalence of ovine and caprine chlamydophilosis in Riyadh region, Saudi Arabia", African Journal of Microbiology Research, V. 6, (2012), 2654-2658.
185. Bostedt, H., Dedie, K., "Chlamydien abort". In: Bostedt, H. (Ed.), Schafkrankheiten, Eugen-Ulmer-Verlag, Stuttgart, (1996), 38.
186. Mainar-Jaime, R.C., De La Cruz, C., Vázquez-Boland, J.A., "Epidemiological study of chlamydial infection in sheep farms in Madrid", Small Ruminant Research, V. 28, (1998), 131-138.
187. Trávníč, M., Kováčová, D., Bhide, MR., Zubrický, P., Čisláková, L., "Detection of IgG Antibodies against *Chlamydophila abortus* in Sheep with Reproductive Disorders", *Acta Veterinaria Brunensis*, V. 72, (2003), 95-99.

188. Masala, G., Porcu, R., Sanna, G., Tanda, A., Tola, S., "Role of *Chlamydomphila abortus* in ovine and caprine abortion in Sardinia, Italy", *Veterinary Research Communications*, V. 29, (2005), 117-123.
189. Carolina S.A.B., Santos, Rosa M., Piatti, Sérgio S., Azevedo, Clebert J., Alves, Severino S.S., Higino, Maria L.C.R., Silva, Arthur W.L., Brasil and Solange M., Gennari, "Seroprevalence and risk factors associated with *Chlamydomphila abortus* infection in dairy goats in the Northeast of Brazil", *PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA* V. 32(2012), 1082-1086.
190. Jiménez-Estrada, J.M., Escobedo-Guerra, M. R., Arteaga-Troncoso, G., López-Hurtado, M., Haro-Cruz, M., Montes de Oca Jiménez, R. and Guerra-Infante, F.M., "Detection of *Chlamydomphila abortus* in Sheep (*Ovis aries*) in Mexico", *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, V.3 (2008), 91-95.
191. Lenzko, H., Moog,U., Henning, K., Lederbach, R., Diller, R., Menge, C., Sachse, K., Sprague, L.D., "High frequency of chlamydial coinfections in clinically healthy sheep flocks", *BMC veterinary research*, V.7, (2011), 29.
192. Borel, N., Doherr, M.G., Vretou, E., Psarrou, E., Thoma, R., Pospischil, A., "Seroprevalences for ovine enzootic abortion in Switzerland", *Preventive Veterinary Medicine*, V. 65, (2004), 205-216.
193. Czopowicz, M., Kaba, J., Szalus-Jordanow, O., Nowicki, M., Witkowski, L., Nowicka, D., Frymus, T., "Prevalence of antibodies against *Chlamydomphila abortus* and *Coxiella burnetii* in goat herds in Poland", *Polish Journal of Veterinary Sciences*, V. 13, (2010), 175-179.
194. Rekiki, A., Sidi-Boumedine, K., Souriau, A., Jemli, J., Hammami, S., Rodolakis, A., "Isolation and characterisation of local strains of *Chlamydomphila abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) from Tunisia, *Veterinary Research*, V. 33, (2002), 215–222.

195. Sting, R., Nagel, C., Steng, G., "Significance of causes of infectious abortion in sheep flocks in northern Baden-Württemberg with special reference to *Chlamydia psittaci*", Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift , V.110, (1997), 5-11.
196. Clarkson, M.J., Philips, H.L., "Isolation of faecal *Chlamydia* from sheep in Britain and their characterization by cultural properties", The Veterinary Journal, V.153, (1997), 307–310.
197. Greco, G., Totaro, M., Madio, A., Tarsitano, E., Fasanella, A., Lucifora, G., Buonavoglia, D., "Detection of *Chlamydophila abortus* in sheep and goat flocks in southern Italy by PCR using four different primer sets", Veterinary Research Communications, V. 29, (2005), 107–115.
198. Pantchev, A., Sting, R., Bauerfeind, R., Tyczka, J., Sachse, K., "Detection of all *Chlamydophila* and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays", Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, V. 33, (2010), 473-484.
199. Philips, H.L., Clarkson, M.J., "Investigation of pre-natal *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci*) exposure of female lambs and the outcome of their first pregnancy", The Veterinary Journal, V. 163, (2002), 329-330.
200. Berri, M., Rekiki, A., Boumedine, K.S., Rodolakis, A. "Simultaneous differential detection of *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR", BMC Microbiology, V. 9, (2009), 130.
201. Giannitti, F., Anderson, M., Miller, M., Rowe, J., Sverlow, K., Vasquez, M., Cantón G. J., "*Chlamydia pecorum*: fetal and placental lesions in sporadic caprine abortion", Journal of Veterinary Diagnostic Investigation., V. 28, (2016), 184-9.

202. Greco, G., Corrente, M., Buonavoglia, D., Campanile, G., Pablo, R., Martella, V., Bellacicco, A.L., D'Abramo, M., Buonavoglia, C., "Epizootic abortion related to infections by *Chlamydomphila abortus* and *Chlamydomphila pecorum* in water buffalo (*Bubalus bubalis*)", *The rirogenology*, V. 69, (2008), 1061–1069.
203. Laroucau, K., Hulin, V., Aaziz, R., Vorimore, F., Kaltenboeck, B., Van der Ende, A., Pannekoek, Y., "Multi-locus sequence typing of *Chlamydia pecorum* allows distinction between host species and between isolates associated with different clinical features", 2nd European Meeting on Animal Chlamydioses and Zoonotic Implications (EMAC2), Jena, June 13 and 14, 2013.
204. Denamur, E., Sayada, C., Souriau, A., Orfila, J., Rodolakis, A., Elion, J., "Restriction pattern of the major outer-membrane protein gene provides evidence for a homogeneous invasive group among ruminant isolates of *Chlamydia psittaci*", *Journal of General Microbiology*, V. 137, (1991), 2525–2530.
205. Sait, M., Livingstone, M., Flockhart, A., Aitchison, K., Sachse, K., Laroucau, K., Siarkou, V.I., Caro Vergara, M.R., Vretou, E., Seth-Smith, H.M.B., Thomson, N.R., Longbottom, D., "Genotyping of *Chlamydia abortus* by PCR targeting single nucleotide polymorphisms identified from whole-genome sequencing", 2nd European Meeting on Animal Chlamydioses and Zoonotic Implications. (EMAC2) Jena, June 13 and 14, 2013.
206. Pannekoek, Y., Dickx, V., Beeckman, D.S.A., Keith, A., Jolley, K.A., Keijzers, W.C., Vretou, E., Maiden, M.C.J., Vanrompay, D., van der Ende, A., "Multi Locus Sequence Typing of *Chlamydia* reveals an association between *Chlamydia psittaci* genotypes and host species", *Plos One*, V. 5, (2010), e14179.
207. Laroucau, K., Di Francesco, A., Vorimore, F., Thierry, S., Pingret, J. L., Bertin, C., Willems, H., Bölske, G., and Harley, R., "Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis Scheme for *Chlamydia felis* Genotyping: Comparison with Multilocus Sequence Typing", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 50, n° 6, (2012), 1860 –1866.

208. Guttman, D. S., and Dykhuizen, D. E., "Clonal divergence in *Escherichia coli* as a result of recombination, not mutation", *Science*, V. 266, (1994), 1380-1383.
209. Maiden, M. C., "Multilocus sequence typing of bacteria", *Annual Review of Microbiology*, V. 60, (2006), 561-588.
210. Klint, M., Fuxelius, H. H., Goldkuhl, R. R., Skarin, H., Rutemark, C., Andersson, S. G., Persson, K., and Herrmann, B., "High-Resolution Genotyping of *Chlamydia trachomatis* Strains by Multilocus Sequence Analysis", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 45, (2007), 1410-1414.
211. Yousef Mohamad, K., Roche, S. M., Myers, G., Bavoil, P. M., Laroucau, K., Magnino, S., Laurent, S., Rasschaert, D., and Rodolakis, A., "Preliminary phylogenetic identification of virulent *Chlamydophila pecorum* strains", *Infection Genetics and Evolution*, V. 8, (2008), 764-71.
212. Prentice, M. J. and Farrant, J., "Survival of *Chlamydiae* After Cooling to -196°C", *Journal of Clinical Microbiology*, V. 6, (1977), 4-9.
213. Reeve, P., Owen, J., Oriel, J. D., "Laboratory procedures for the isolation of *Chlamydia trachomatis* from the human genital tract", *Journal of Clinical Pathology*, V. 28, (1975), 910-914.
214. Canfield, P.J., Hartley, W.J., "Tyzzer's disease (*Bacillus piliformis*) in Australian marsupials", *Journal of Comparative Pathology*, (1991), 167-173.

APPENDICE A

LISTES DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléase

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARN: Acide ribonucléique

ARNr16S : ARN ribosomique constituant la petite sous unité des ribosomes.

ATP : Adénosine Tri- Phosphate

Avort. : Avortement

BBA : Bordj Bou Arreridj

C. : *Chlamydia*

cELISA : Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay

CD4Th1 : Lymphocyte T auxiliaire

CDS : séquences codantes

CE : Corps élémentaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice d'un antibiotique

Cph : *Chlamydophila*

CR : Corps réticulé

Ct : Cycle Threshold

dNTP : Mélange des quatre désoxyribonucléotides : dATP (désoxy-adénine tri-phosphate), dCTP (désoxy-cytosine tri-phosphate), dGTP (désoxy-guanine tri-phosphate), dTTP (désoxy-thymine tri-phosphate).

DO : Densité optique

DO_{cp} : Densité optique des contrôles positifs

DO_{cn} : Densité optique des contrôles des contrôles négatifs

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

EZ vision : Fluorescent d'ADN permet une visualisation immédiate de l'ADN dans des gels d'agarose à l'aide d'un transilluminator UV standard.

g : force relative à la centrifugation

G+C: Guanine + Cytosine

Hsp 60: Heat shock protein 60

IF : Immunofluorescence directe

IFI : Immunofluorescence indirecte
Inc A : Inclusion membrane protein
IgA : Immunoglobulines de type A
IgG : Immunoglobulines de type G
IgM : Immunoglobulines de type M
j: jour
KDO : L'acide 3-désoxy-D-*manno*-oct-2-ulosonique
Kpb : kilo paire de bases
kDa : kilo dalton
LGV : Lymphogranulomatose vénérienne
LPS: Lipopolysaccharide
LSA : laboratoire de santé animale
Mb. : Mise bas
Min. : Minute
MLST: Multilocus Sequence Typing.
MLVA: Multi-Loci VNTR « variable number of Tandem Repeats » Analysis
MOMP : Major outer membrane protein
Mtn. : mortalité
OIE : Office international des épizooties
pb : paire de bases
PCR : polymerase chain reaction
rt-PCR: Polymerase chain reaction real time (PCR en temps réel)
PLT : Psittacosis-lymphogranulomatrachoma
Pmp : Polymorphic membrane proteins
RFLP : Restriction fragment length polymorphism
SP : Sucrose Phosphate
SVF : Sérum Veau Foétale
T3S : Système de sécrétion de type III
TFC: Test de fixation du complément
VNTR: Variable number tandem repeat
UFI : Unités formant inclusion.

APPENDICE B
FICHE DE RENSEIGNEMENTS SUR L'ANIMAL

Nom de l'éleveur :

Date :

Adresse:

Numéro de téléphone :

Race :

N° d'identification de la femelle :

Age de la femelle : 12-23 mois 24-35 mois 36-47 mois 48-59 mois

Nombre de mise bas :

Provenance de la femelle: Née à la ferme Achetée du marché local

Vaccination contre la brucellose : Oui Non

Avortements dans l'élevage :

Symptômes associés aux avortements :

Renouvellement de cheptel :

Pathologies les plus fréquemment observées :

Taux de mortalité chez les jeunes :

Statut hygiénique du bâtiment :

APPENDICE C

PRELEVEMENTS REALISES DANS DIFFERENTES REGIONS D'ALGERIE

Région / N° d'élevage	Date du prélèvement	N° du prélèvement	Espèce	Commémoratif
Médéa /1	21/10/11	AC054	Ovine	Avort. depuis 6 j.
	21/10/11	AC055	Ovine	Avort. depuis 7 j.
	21/10/11	AC056	Ovine	Avort. depuis 8 j.
	21/10/11	AC057	Ovine	Avort. depuis 8 j.
	21/10/11	AC058	Ovine	Avort. depuis 7 j.
	21/10/11	AC059	Ovine	Avort. depuis 8 j.
	21/10/11	AC060	Caprine	Avort. depuis 7 j.
	21/10/11	AC061	Caprine	Mb. depuis 0j.
	21/10/11	AC062	Ovine	Mb. depuis 0j.
	21/10/11	AC063	Ovine	Mb. depuis 0j.
	21/10/11	AC064	Ovine	Mtn. depuis 5j.
Médéa /2	21/10/11	AC065	Ovine	Mb. depuis 7j.
	22/10/11	AC066	Ovine	Avort. depuis 6j
	22/10/11	AC067	Ovine	Avort. depuis 2j.
	22/10/11	AC068	Ovine	Avort. depuis 7j.
	10/03/12	Y062	Ovine	Avort. depuis 7j.
Médéa /3	22/03/12	Y063	Ovine	Avort. depuis 7j.
	22/10/11	AC069	Ovine	Avort. depuis 7j.
	22/10/11	AC070	Ovine	Avort. depuis 4j.
	22/10/11	AC071	Ovine	Mb. depuis 0j.
	10/03/12	Y064	Ovine	Avort. depuis 4j.

	10/03/12	Y065	Ovine	Mb. depuis 6j.
	10/03/12	Y066	Ovine	Avort. depuis 4j.
	10/03/12	Y067	Ovine	Avort. depuis 7j.
Médéa /4	28/10/11	AC072	Ovine	Avort. depuis 15j.
	28/10/11	AC073	Ovine	Avort. depuis 15j.
	28/10/11	AC074	Ovine	Avort. depuis 12j.
	28/10/11	AC075	Ovine	Mb. depuis 0j.
	28/10/11	AC076	Ovine	Mb. depuis 0j.
	28/10/11	AC077	Caprine	Avort. depuis 10j.
	28/10/11	AC078	Caprine	Avort. depuis 8j.
	28/10/11	AC079	Caprine	Avort. depuis 8j.
	Médéa /5	29/10/11	AC080	Ovine
29/10/11		AC081	Ovine	Mtn. depuis 8j.
29/10/11		AC082	Ovine	Mtn. depuis 6 j
29/10/11		AC083	Ovine	Mtn. depuis 6 j
29/10/11		AC084	Ovine	Mtn. depuis 5 j
29/10/11		AC085	Ovine	Mb. depuis 4 j
29/10/11		AC086	Ovine	Mb. depuis 5 j
29/10/11		AC087	Caprine	Avort. depuis 7 j
29/10/11		AC088	Caprine	Avort. depuis 4j
Médéa /6	05/11/11	AC089	Ovine	Avort. depuis 2 j
	05/11/11	AC090	Ovine	Avort. depuis 2 j
	05/11/11	AC091	Ovine	Avort. depuis 6 j
	05/11/11	AC092	Ovine	Avort. depuis 9 j
	05/11/11	AC093	Ovine	Avort. depuis 9 j
	05/11/11	AC094	Ovine	Mb. depuis 0 j

	05/11/11	AC095	Ovine	Avort. depuis 3 j
	05/11/11	AC096	Ovine	Avort. depuis 2 j
	05/11/11	AC097	Ovine	Mb. depuis 0 j
	05/11/11	AC098	Ovine	Avort. depuis 10 j
	05/11/11	AC099	Ovine	Mtn. depuis 2j
	05/11/11	AC100	Ovine	Mtn. depuis 8j
	05/11/11	AD001	Ovine	Avort. depuis 7j
	05/11/11	AD002	Ovine	Avort. depuis 8j.
	05/11/11	AD003	Ovine	Avort. depuis 2j.
	05/11/11	AD004	Ovine	Mb. depuis 0j.
	05/11/11	AD005	Ovine	Mb. depuis 7j.
	06/11/11	AD006	Ovine	Mtn. depuis 2j.
	06/11/11	AD007	Ovine	Mtn. depuis 5j.
	06/11/11	AD008	Ovine	Mtn. depuis 4j.
Médéa /7	06/11/11	AD009	Ovine	Avort. depuis 15j.
	06/11/11	AD010	Ovine	Avort. depuis 15j.
	06/11/11	AD011	Ovine	Mtn. depuis 3j.
	06/11/11	AD012	Ovine	Mb. depuis 0j.
	06/11/11	AD013	Ovine	Mb. depuis 2j.
	06/11/11	AD014	Ovine	Mb. depuis 1j.
	01/03/12	AI086	Caprine	Avort. depuis 3j.
	01/03/12	AI087	Caprine	Avort. depuis 3j.
Médéa /8	01/03/12	AI088	Caprine	Avort. Depuis 2j.
	01/03/12	AI089	Caprine	Avort. depuis 1j.
	01/03/12	AI090	Caprine	Mb. depuis 2j.
Djelfa /9	06/03/12	AI091	Ovine	Avort. depuis 1j.

	06/03/12	AI092	Ovine	Avort. depuis 1j.
	06/03/12	AI093	Ovine	Avort. depuis 1j.
	03/03/12	AI094	Ovine	Avort. depuis 3j.
	03/03/12	AI095	Ovine	Avort. depuis 3j.
Constantine /10	05/04/12	AI096	Caprine	Mtn. depuis 1j.
	05/04/12	AI097	Caprine	Mtn. depuis 1j.
	12/04/12	AI098	Ovine	Avort. depuis 1j.
	12/04/12	AI099	Ovine	Avort. depuis 1j.
	12/04/12	AI100	Ovine	Avort. depuis 2j.
	12/04/12	AJ001	Ovine	Avort. depuis 4j.
	12/04/12	AJ002	Ovine	Avort. depuis 4j.
Constantine /11	04/04/12	AJ003	Ovine	Avort. depuis 2j.
	04/04/12	AJ004	Ovine	Avort. depuis 2j.
	04/04/12	AJ005	Ovine	Avort. depuis 2j.
	25/02/13	Y059	Ovine	Avort. depuis 7j.
	25/02/13	Y060	Caprine	Avort. depuis 4j.
	25/02/13	Y061	Caprine	Avort. depuis 4j.
Médéa /12	19/09/12	AJ006	Ovine	Avort. depuis 6j.
	19/09/12	AJ007	Ovine	Avort. depuis 4j.
	19/09/12	AJ008	Ovine	Mb. depuis 2j.
	19/09/12	AJ009	Ovine	Mb. depuis 0j.
	19/09/12	AJ010	Ovine	Mb. depuis 4j.
	20/09/12	AJ011	Ovine	Mb. depuis 2j.
	20/09/12	AJ012	Ovine	Mb. depuis 5j.
	20/09/12	AJ013	Ovine	Mb. depuis 2j.
	20/09/12	AJ014	Caprine	Avort. Depuis 0j.

	20/09/12	AJ015	Ovine	Mb. depuis 3j.
	20/09/12	AJ016	Ovine	Mb. depuis 1j.
Médéa /13	20/09/12	AJ017	Ovine	Mb. depuis 4j.
	12/03/13	Y068	Ovine	Mb. depuis 7j.
	12/03/13	Y069	Ovine	Avort. depuis 7j.
	27/08/12	AJ018	Ovine	Avort. depuis 7j.
	27/08/12	AJ019	Ovine	Avort. depuis 14j.
	27/08/12	AJ020	Ovine	Avort. depuis 15j.
	27/08/12	AJ021	Ovine	Avort. depuis 15j.
	27/08/12	AJ022	Ovine	Avort. depuis 4j.
	27/08/12	AJ023	Ovine	Avort. depuis 14j.
	27/08/12	AJ024	Ovine	Avort. depuis 10j.
	27/08/12	AJ025	Ovine	Avort. depuis 15j.
	27/08/12	AJ026	Ovine	Avort. depuis 14j.
Biskra /14	27/08/12	AJ027	Ovine	Avort. depuis 7j.
	27/08/12	AJ028	Ovine	Avort. depuis 5j.
	27/08/12	AJ029	Ovine	Avort. depuis 14j.
	27/08/12	AJ030	Ovine	Avort. depuis 4j.
	27/08/12	AJ031	Ovine	Avort. depuis 12j.
	27/08/12	AJ032	Ovine	Avort. depuis 6j.
	27/08/12	AJ033	Ovine	Avort. depuis 3j.
	27/08/12	AJ034	Ovine	Avort. depuis 8j.
	27/08/12	AJ035	Ovine	Avort. depuis 1j.
	27/08/12	AJ036	Ovine	Avort. depuis 0j.
	27/08/12	AJ037	Ovine	Avort. depuis 1j.
Constantine	05/09/12	AJ038	Ovine	Avort. depuis 13j.

/15	05/09/12	AJ039	Ovine	Avort. depuis 14j.
	05/09/12	AJ040	Ovine	Avort. depuis 15j.
	05/09/12	AJ041	Ovine	Avort. depuis 15j.
Skikda /16	12/11/12	Y009	Ovine	Mb. depuis 4j.
	12/11/12	Y010	Ovine	Avort. depuis 1j.
	12/11/12	Y011	Ovine	Avort. depuis 2j.
	19/11/12	Y012	Ovine	Avort. depuis 4j.
	19/11/12	Y013	Ovine	Avort. depuis 8j.
	19/11/12	Y014	Ovine	Mb. depuis 8j.
Skikda /17	04/10/13	Y015	Ovine	Mb. depuis 4j.
	04/10/13	Y016	Ovine	Mb. depuis 5j.
	04/10/13	Y017	Ovine	Mb. depuis 4j.
	04/10/13	Y018	Ovine	Avort. depuis 1j.
	10/10/13	Y019	Ovine	Avort. depuis 2j.
	10/10/13	Y020	Ovine	Avort. depuis 5j.
	10/10/13	Y021	Ovine	Avort. depuis 4j.
	10/10/13	Y022	Ovine	Avort. depuis 2j.
Ain Defla /18	24/12/12	Y023	Ovine	Avort. depuis 0j.
	24/12/12	Y024	Ovine	Mtn. depuis 1j.
	24/12/12	Y025	Ovine	Mb. depuis 2j.
	30/12/12	Y026	Caprine	Avort. depuis 1j.
	30/12/12	Y027	Caprine	Avort. depuis 2j.
Ain Defla /19	30/12/12	Y028	Caprine	Mb. depuis 4j.
	30/12/12	Y029	Ovine	Mb. depuis 4j.
	26/12/12	Y030	Ovine	Avort. depuis 2j.
	26/12/12	Y031	Ovine	Mtn. depuis 2j.

	26/12/12	Y032	Ovine	Mtn. depuis 5j.
	26/12/12	Y033	Caprine	Avort. depuis 4j.
	26/12/12	Y034	Caprine	Mb. depuis 5j.
	05/01/13	Y035	Caprine	Avort. depuis 3j.
	05/01/13	Y036	Caprine	Avort. depuis 3j.
	05/01/13	Y037	Ovine	Mb. depuis 2j.
	05/01/13	Y038	Ovine	Avort. depuis 4j.
	05/01/13	Y039	Ovine	Avort. depuis 4j.
Ain Defla /20	05/01/13	Y040	Caprine	Mb. depuis 5j.
	05/01/13	Y041	Caprine	Mtn. depuis 5j.
	10/01/13	Y042	Caprine	Avort. depuis 4j.
	10/01/13	Y043	Caprine	Mb. depuis 4j.
	24/01/13	Y044	Ovine	Avort. depuis 3j.
	24/01/13	Y045	Ovine	Mb. depuis 3j.
	24/01/13	Y046	Ovine	Avort. depuis 3j.
Constantine /21	24/01/13	Y047	Ovine	Mb. depuis 4j.
	24/01/13	Y048	Ovine	Mtn. depuis 4j.
	03/02/13	Y049	Caprine	Mtn. depuis 4j.
	03/02/13	Y050	Caprine	Avort. depuis 4j.
	03/02/13	Y051	Caprine	Avort. Depuis 5j.
	26/01/13	Y052	Ovine	Mtn. depuis 2j.
	26/01/13	Y053	Ovine	Mb. depuis 2j.
Constantine /22	26/01/13	Y054	Ovine	Mb. depuis 3j.
	26/01/13	Y055	Ovine	Avort. depuis 3j.
	26/01/13	Y056	Ovine	Mtn. depuis 2j.
	28/01/13	Y057	Ovine	Mtn. depuis 1j.

	28/01/13	Y058	Ovine	Avort. depuis 1j.
	10/03/13	Y070	Ovine	Avort. depuis 3j.
	10/03/13	Y071	Ovine	Mb. depuis 8j.
	10/03/13	Y072	Caprine	Avort. depuis 8j.
Médéa /23	10/03/13	Y073	Caprine	Mb. depuis 7j.
	10/03/13	Y074	Ovine	Avort. depuis 5j.
	10/03/13	Y075	Ovine	Mb. depuis 7j.
	10/03/13	Y076	Ovine	Avort. depuis 7j.
	11/03/13	Y077	Ovine	Avort. depuis 1j.
	11/03/13	Y078	Ovine	Avort. depuis 6j.
Médéa /24	11/03/13	Y079	Ovine	Mb. depuis 8j.
	11/03/13	Y080	Ovine	Mb. depuis 6j.
	11/03/13	Y081	Ovine	Mb. depuis 5j.
	11/03/13	Y082	Ovine	Avort. depuis 8j.
	12/03/13	Y083	Ovine	Mb. depuis 4j.
	12/03/13	Y084	Ovine	Mb. depuis 7j.
	12/03/13	Y085	Ovine	Avort. depuis 5j.
Médéa /25	12/03/13	Y086	Ovine	Mb. depuis 8j.
	12/03/13	Y087	Ovine	Mb. depuis 1j.
	12/03/13	Y088	Ovine	Avort. depuis 6j.
	12/03/13	Y089	Ovine	Avort. depuis 3j.
	12/03/13	Y090	Ovine	Avort. depuis 2j.
	05/09/13	BD029	Ovine	Avort. depuis 8j.
Djelfa /26	05/09/13	BD030	Ovine	Avort. depuis 1j.
	05/09/13	BD031	Ovine	Avort. depuis 1j.
	05/09/13	BD032	Ovine	Avort. depuis 8j.

	05/09/13	BD033	Ovine	Avort. depuis 8j.	
	05/09/13	BD034	Ovine	Avort. depuis 4j.	
Djelfa /27	06/09/13	BD035	Ovine	Avort. depuis 8j.	
	06/09/13	BD036	Ovine	Avort. depuis 7j.	
	06/09/13	BD037	Ovine	Avort. depuis 5j.	
	06/09/13	BD038	Ovine	Avort. depuis 7j.	
	06/09/13	BD039	Ovine	Mb. depuis 7j.	
	06/09/13	BD040	Ovine	Mb. depuis 4j.	
	06/09/13	BD041	Ovine	Mb. depuis 4j.	
	06/09/13	BD042	Ovine	Mb. depuis 4j.	
	Médéa /28	10/09/13	BD043	Ovine	Avort. depuis 3j.
		10/09/13	BD044	Caprine	Mb. depuis 8j.
10/09/13		BD045	Caprine	Mb. depuis 4j.	
10/09/13		BD046	Caprine	Avort. depuis 2j.	
10/09/13		BD047	Ovine	Mb. depuis 1j.	
10/09/13		BD048	Ovine	Avort. depuis 5j.	
10/09/13		BD049	Ovine	Mb. depuis 3j.	
Médéa /29	12/09/13	BD050	Ovine	Avort. depuis 4j.	
	12/09/13	BD051	Ovine	Avort. depuis 8j.	
	12/09/13	BD052	Ovine	Avort. depuis 5j.	
	12/09/13	BD053	Ovine	Avort. depuis 5j.	
	12/09/13	BD054	Ovine	Avort. depuis 2j.	
	12/09/13	BD055	Ovine	Mb. depuis 1j.	
	12/09/13	BD056	Ovine	Mb. depuis 2j.	
	12/09/13	BD057	Ovine	Avort. depuis 2j.	
Djelfa /30	12/09/13	BD058	Ovine	Mb. depuis 4j.	

	12/09/13	BD059	Ovine	Avort. depuis 5j.
	12/09/13	BD060	Ovine	Avort. depuis 5j.
	12/09/13	BD061	Ovine	Avort. depuis 4j.
	12/09/13	BD062	Ovine	Mtn. depuis 7j.
	12/09/13	BD063	Ovine	Mtn. depuis 5j.
	12/09/13	BD064	Ovine	Avort. depuis 5j.
	12/09/13	BD065	Ovine	Avort. depuis 8j.
	12/09/13	BD066	Ovine	Avort. depuis 8j.
Bordj Bou Arreridj /31	1/11/13	BD067	Ovine	Avort. depuis 5j.
	1/11/13	BD068	Ovine	Avort. depuis 5j.
	1/11/13	BD069	Ovine	Avort. depuis 5j.
	1/11/13	BD070	Ovine	Mtn. depuis 8j.
	1/11/13	BD071	Ovine	Mtn. depuis 8j.
	1/11/13	BD072	Ovine	Mb. depuis 2j.
	1/11/13	BD073	Ovine	Mb. depuis 2j.
Bordj Bou Arreridj /32	1/11/13	BD074	Ovine	Avort. depuis 0j.
	1/11/13	BD075	Ovine	Avort. depuis 1j.
	1/11/13	BD076	Ovine	Avort. depuis 2j.
	1/11/13	BD077	Ovine	Mb. depuis 3j.
	1/11/13	BD078	Ovine	Avort. depuis 7j.
	1/11/13	BD079	Ovine	Avort. depuis 7j.
Biskra /33	25/10/13	BD080	Ovine	Mtn. depuis 2j.
	25/10/13	BD081	Ovine	Mtn. depuis 4j.
	25/10/13	BD082	Ovine	Avort. depuis 4j.
	25/10/13	BD083	Ovine	Mb. depuis 5j.
	25/10/13	BD084	Caprine	Avort. depuis 5j.

	25/10/13	BD085	Caprine	Avort. depuis 5j.
Bayadh /34	06/05/13	BD086	Ovine	Avort. depuis 3j.
	06/05/13	BD087	Ovine	Mb. depuis 3j.
	06/05/13	BD088	Ovine	Avort. depuis 4j.
	08/05/13	BD089	Ovine	Avort. depuis 1j.
	08/05/13	BD090	Ovine	Avort. depuis 2j.
	08/05/13	BD091	Ovine	Avort. depuis 3j.
	Médéa /35	27/10/13	BD092	Ovine
27/10/13		BD093	Ovine	Avort. depuis 7j.
27/10/13		BD094	Caprine	Avort. depuis 3j.
27/10/13		BD095	Caprine	Avort. depuis 3j.
27/10/13		BD096	Caprine	Avort. depuis 7j.

APPENDICE D

COMPOSANTS DU KIT « ID VET »

C. abortus est fréquemment à l'origine d'avortement chez les ruminants. Le diagnostic traditionnel sérologique basé sur les corps bactériens entiers (TFC ou ELISA) manque de spécificité du fait des réactions croisées avec LPS de *C. pecorum* et autres bactéries. Ce test utilise un antigène synthétique issu de la Momp présentant une spécificité pour *C. abortus*.

Composants du kit :

- Microplaques sensibilisées avec un antigène *C.*
- Conjugué Concentré (10X).
- Contrôle Positif.
- Contrôle négatif.
- Tampon de dilution 13.
- Tampon de dilution 3.
- Solution de lavage concentrée (20X).
- Solution de révélation.
- Solution d'arrêt (H_2SO_4 0,5 M).

Autre matériel :

- Pipette de précision mono ou multicanaux capable.
- Embouts de pipette à usage unique.
- Lecteur de microplaque.
- Eau distillée ou désionisée.
- Système de lavage manuel ou automatique.

APPENDICE E
TEMOINS POSITIFS DES REACTIONS

Témoins positifs utilisés pour la PCR en temps réel :

C. abortus AB20 au 1/100^{ème} ----- rt-PCR CH23S / rt-PCR *C. abortus*.

C. pecorum AB10 au 1/100^{ème} ----- rt-PCR *C. pecorum*

Témoins positifs pour le génotypage MLST des échantillons de *C. pecorum* :

C. pecorum M14 au 1/100^{ème}

C. pecorum iB1 au 1/100^{ème}

Témoin positif pour le génotypage MLVA des échantillons de *C. abortus* :

C. abortus AB7 au 1/100^{ème}

C. abortus S26/3 au 1/100^{ème}

C. abortus Pos au 1/100^{ème}

APPENDICE F

RESULTATS SEROLOGIQUES

Région / N° d'élevage	N° du prélèvement	Espèce	Résultats sérologiques	
Médéa /1	AC054	Ovine	n	
	AC055	Ovine	n	
	AC056	Ovine	n	
	AC057	Ovine	n	
	AC058	Ovine	p	
	AC059	Ovine	p	
	AC060	Caprine	n	
	AC061	Caprine	n	
	AC062	Ovine	n	
	AC063	Ovine	n	
	AC064	Ovine	n	
	AC065	Ovine	n	
	Médéa /2	AC066	Ovine	n
		AC067	Ovine	n
AC068		Ovine	n	
Y062		Ovine	n	
Y063		Ovine	n	
Médéa /3	AC069	Ovine	n	
	AC070	Ovine	n	
	AC071	Ovine	p	
	Y064	Ovine	n	

	Y065	Ovine	n
	Y066	Ovine	n
	Y067	Ovine	n
	AC072	Ovine	-
	AC073	Ovine	n
	AC074	Ovine	n
	AC075	Ovine	n
Médéa /4	AC076	Ovine	n
	AC077	Caprine	p
	AC078	Caprine	n
	AC079	Caprine	n
	AC080	Ovine	n
	AC081	Ovine	n
	AC082	Ovine	n
	AC083	Ovine	n
Médéa /5	AC084	Ovine	n
	AC085	Ovine	n
	AC086	Ovine	n
	AC087	Caprine	n
	AC088	Caprine	n
	AC089	Ovine	n
	AC090	Ovine	n
	AC091	Ovine	n
Médéa /6	AC092	Ovine	n
	AC093	Ovine	n
	AC094	Ovine	n

	AC095	Ovine	n
	AC096	Ovine	n
	AC097	Ovine	n
	AC098	Ovine	n
	AC099	Ovine	n
	AC100	Ovine	n
	AD001	Ovine	n
	AD002	Ovine	n
	AD003	Ovine	n
	AD004	Ovine	n
	AD005	Ovine	n
	AD006	Ovine	p
	AD007	Ovine	n
	AD008	Ovine	n
	AD009	Ovine	n
Médéa /7	AD010	Ovine	n
	AD011	Ovine	p
	AD012	Ovine	n
	AD013	Ovine	p
	AD014	Ovine	n
	AI086	Caprine	n
	AI087	Caprine	n
Médéa /8	AI088	Caprine	n
	AI089	Caprine	n
	AI090	Caprine	n
Djelfa /9	AI091	Ovine	-

	AI092	Ovine	-
	AI093	Ovine	-
	AI094	Ovine	-
	AI095	Ovine	-
Constantine /10	AI096	Caprine	n
	AI097	Caprine	n
	AI098	Ovine	n
	AI099	Ovine	n
	AI100	Ovine	n
	AJ001	Ovine	n
	AJ002	Ovine	n
Constantine /11	AJ003	Ovine	n
	AJ004	Ovine	n
	AJ005	Ovine	n
	Y059	Ovine	n
	Y060	Caprine	n
	Y061	Caprine	n
Médéa /12	AJ006	Ovine	n
	AJ007	Ovine	n
	AJ008	Ovine	n
	AJ009	Ovine	n
	AJ010	Ovine	n
	AJ011	Ovine	n
	AJ012	Ovine	n
	AJ013	Ovine	n
	AJ014	Caprine	n

	AJ015	Ovine	n
	AJ016	Ovine	n
Médéa /13	AJ017	Ovine	n
	Y068	Ovine	n
	Y069	Ovine	n
	AJ018	Ovine	n
	AJ019	Ovine	p
	AJ020	Ovine	n
	AJ021	Ovine	d
	AJ022	Ovine	n
	AJ023	Ovine	n
	AJ024	Ovine	p
	AJ025	Ovine	n
	AJ026	Ovine	p
	AJ027	Ovine	n
Biskra /14	AJ028	Ovine	d
	AJ029	Ovine	n
	AJ030	Ovine	n
	AJ031	Ovine	n
	AJ032	Ovine	p
	AJ033	Ovine	p
	AJ034	Ovine	n
	AJ035	Ovine	n
	AJ036	Ovine	d
	AJ037	Ovine	n
Constantine	AJ038	Ovine	n

/15	AJ039	Ovine	n
	AJ040	Ovine	n
	AJ041	Ovine	n
Skikda /16	Y009	Ovine	-
	Y010	Ovine	-
	Y011	Ovine	-
	Y012	Ovine	-
	Y013	Ovine	-
	Y014	Ovine	-
	Y015	Ovine	-
Skikda /17	Y016	Ovine	-
	Y017	Ovine	-
	Y018	Ovine	-
	Y019	Ovine	-
	Y020	Ovine	-
	Y021	Ovine	-
	Y022	Ovine	-
Ain Defla /18	Y023	Ovine	n
	Y024	Ovine	n
	Y025	Ovine	n
	Y026	Caprine	n
	Y027	Caprine	n
	Y028	Caprine	n
	Y029	Ovine	n
Ain Defla /19	Y030	Ovine	p
	Y031	Ovine	p

	Y032	Ovine	d
	Y033	Caprine	n
	Y034	Caprine	n
	Y035	Caprine	n
	Y036	Caprine	n
	Y037	Ovine	n
	Y038	Ovine	n
	Y039	Ovine	n
Ain Defla /20	Y040	Caprine	n
	Y041	Caprine	n
	Y042	Caprine	n
	Y043	Caprine	n
	Y044	Ovine	-
	Y045	Ovine	-
	Y046	Ovine	-
Constantine /21	Y047	Ovine	-
	Y048	Ovine	-
	Y049	Caprine	-
	Y050	Caprine	-
	Y051	Caprine	-
	Y052	Ovine	-
	Y053	Ovine	-
Constantine /22	Y054	Ovine	-
	Y055	Ovine	-
	Y056	Ovine	-
	Y057	Ovine	-

	Y058	Ovine	-
	Y070	Ovine	n
	Y071	Ovine	n
	Y072	Caprine	n
Médéa /23	Y073	Caprine	n
	Y074	Ovine	n
	Y075	Ovine	n
	Y076	Ovine	n
	Y077	Ovine	n
	Y078	Ovine	n
Médéa /24	Y079	Ovine	n
	Y080	Ovine	n
	Y081	Ovine	n
	Y082	Ovine	n
	Y083	Ovine	n
	Y084	Ovine	n
	Y085	Ovine	n
Médéa /25	Y086	Ovine	n
	Y087	Ovine	n
	Y088	Ovine	n
	Y089	Ovine	n
	Y090	Ovine	n
	BD029	Ovine	n
	BD030	Ovine	n
Djelfa /26	BD031	Ovine	n
	BD032	Ovine	n

	BD033	Ovine	n
	BD034	Ovine	d
Djelfa /27	BD035	Ovine	n
	BD036	Ovine	n
	BD037	Ovine	n
	BD038	Ovine	n
	BD039	Ovine	n
	BD040	Ovine	n
	BD041	Ovine	p
	BD042	Ovine	n
	BD043	Ovine	n
	Médéa /28	BD044	Caprine
BD045		Caprine	n
BD046		Caprine	n
BD047		Ovine	n
BD048		Ovine	n
BD049		Ovine	n
Médéa /29		BD050	Ovine
	BD051	Ovine	n
	BD052	Ovine	n
	BD053	Ovine	n
	BD054	Ovine	n
	BD055	Ovine	n
	BD056	Ovine	n
	BD057	Ovine	n
Djelfa /30	BD058	Ovine	n

	BD059	Ovine	n
	BD060	Ovine	n
	BD061	Ovine	n
	BD062	Ovine	n
	BD063	Ovine	n
	BD064	Ovine	n
	BD065	Ovine	n
	BD066	Ovine	n
	BD067	Ovine	n
	BD068	Ovine	n
	BD069	Ovine	n
Bordj Bou Arreridj /31	BD070	Ovine	n
	BD071	Ovine	n
	BD072	Ovine	n
	BD073	Ovine	n
	BD074	Ovine	n
	BD075	Ovine	n
Bordj Bou Arreridj /32	BD076	Ovine	n
	BD077	Ovine	n
	BD078	Ovine	n
	BD079	Ovine	n
	BD080	Ovine	n
	BD081	Ovine	n
Biskra /33	BD082	Ovine	n
	BD083	Ovine	n
	BD084	Caprine	n

	BD085	Caprine	n
	BD086	Ovine	-
	BD087	Ovine	-
	BD088	Ovine	-
Bayadh /34	BD089	Ovine	-
	BD090	Ovine	-
	BD091	Ovine	-
	BD092	Ovine	n
	BD093	Ovine	n
Médéa /35	BD094	Caprine	n
	BD095	Caprine	n
	BD096	Caprine	n

APPENDICE G

RESULTATS DES DIFFERENTES rt-PCR

Région / N° d'élevage	N° du prélèvement	Espèce	Résultats rt-PCR (Ct) Ch23S	Résultats rt-PCR (Ct) <i>C. abotus</i>	Résultats rt-PCR (Ct) <i>C. pecorum</i>
Médéa /1	AC054	Ovine	n	n	n
	AC055	Ovine	n	n	n
	AC056	Ovine	n	n	n
	AC057	Ovine	n	n	n
	AC058	Ovine	n	n	n
	AC059	Ovine	n	n	n
	AC060	Caprine	n	n	n
	AC061	Caprine	n	n	n
	AC062	Ovine	n	n	n
	AC063	Ovine	38,91	n	n
	AC064	Ovine	n	n	n
	AC065	Ovine	n	n	n
	Médéa /2	AC066	Ovine	n	n
AC067		Ovine	n	n	n
AC068		Ovine	n	n	n
Y062		Ovine	n	n	n
Y063		Ovine	n	n	n
Médéa /3	AC069	Ovine	26,95	n	26.92
	AC070	Ovine	n	n	n
	AC071	Ovine	n	n	n
	Y064	Ovine	n	n	n

	Y065	Ovine	n	n	n
	Y066	Ovine	n	n	n
	Y067	Ovine	n	n	n
Médéa /4	AC072	Ovine	n	n	n
	AC073	Ovine	n	n	n
	AC074	Ovine	n	n	n
	AC075	Ovine	n	n	n
	AC076	Ovine	n	n	n
	AC077	Caprine	n	n	n
	AC078	Caprine	n	n	n
	AC079	Caprine	n	n	n
		AC080	Ovine	n	n
Médéa /5	AC081	Ovine	n	n	n
	AC082	Ovine	n	n	n
	AC083	Ovine	n	n	n
	AC084	Ovine	n	n	n
	AC085	Ovine	n	n	n
	AC086	Ovine	n	n	n
	AC087	Caprine	n	n	n
	AC088	Caprine	n	n	n
		AC089	Ovine	n	n
Médéa /6	AC090	Ovine	n	n	n
	AC091	Ovine	n	n	n
	AC092	Ovine	n	n	n
	AC093	Ovine	n	n	n
	AC094	Ovine	n	n	n

	AC095	Ovine	n	n	n
	AC096	Ovine	n	n	n
	AC097	Ovine	n	n	n
	AC098	Ovine	n	n	n
	AC099	Ovine	n	n	n
	AC100	Ovine	n	n	n
	AD001	Ovine	n	n	n
	AD002	Ovine	n	n	n
	AD003	Ovine	n	n	n
	AD004	Ovine	n	n	n
	AD005	Ovine	n	n	n
	AD006	Ovine	n	n	n
	AD007	Ovine	n	n	n
	AD008	Ovine	n	n	n
	AD009	Ovine	n	n	n
Médéa /7	AD010	Ovine	n	n	n
	AD011	Ovine	n	n	n
	AD012	Ovine	n	n	n
	AD013	Ovine	n	n	n
	AD014	Ovine	n	n	n
	AI086	Caprine	25,04	26.43	n
	AI087	Caprine	23,35	25.42	n
Médéa /8	AI088	Caprine	-	n	n
	AI089	Caprine	27,29	n	31.56
	AI090	Caprine	n	n	n
Djelfa /9	AI091	Ovine	n	n	n

	AI092	Ovine	n	n	n
	AI093	Ovine	n	n	n
	AI094	Ovine	33,62	n	37.44
	AI095	Ovine	n	n	n
Constantine /10	AI096	Caprine	n	n	n
	AI097	Caprine	n	n	n
	AI098	Ovine	39,29	n	n
	AI099	Ovine	n	n	n
	AI100	Ovine	n	n	n
	AJ001	Ovine	n	n	n
	AJ002	Ovine	n	n	n
Constantine /11	AJ003	Ovine	n	n	n
	AJ004	Ovine	n	n	n
	AJ005	Ovine	38,65	n	43.65
	Y059	Ovine	n	n	n
	Y060	Caprine	n	n	n
	Y061	Caprine	n	n	n
Médéa /12	AJ006	Ovine	n	n	n
	AJ007	Ovine	n	n	n
	AJ008	Ovine	39,41	39.79	n
	AJ009	Ovine	38,64	n	n
	AJ010	Ovine	n	n	n
	AJ011	Ovine	n	n	n
	AJ012	Ovine	n	n	n
	AJ013	Ovine	17,46	19.67	n
	AJ014	Caprine	34,98	37.19	n

	AJ015	Ovine	n	n	n
	AJ016	Ovine	38,82	n	n
Médéa /13	AJ017	Ovine	38,34	41.10	n
	Y068	Ovine	n	n	n
	Y069	Ovine	n	n	n
	AJ018	Ovine	31,65	n	35.48
	AJ019	Ovine	n	n	n
	AJ020	Ovine	n	n	n
	AJ021	Ovine	n	n	n
	AJ022	Ovine	n	n	n
	AJ023	Ovine	n	n	n
	AJ024	Ovine	n	n	n
	AJ025	Ovine	38,72	n	n
	AJ026	Ovine	32,49	32.81	n
Biskra /14	AJ027	Ovine	n	n	n
	AJ028	Ovine	n	n	n
	AJ029	Ovine	n	n	n
	AJ030	Ovine	n	n	n
	AJ031	Ovine	n	n	n
	AJ032	Ovine	n	n	n
	AJ033	Ovine	n	n	n
	AJ034	Ovine	n	n	n
	AJ035	Ovine	n	n	n
	AJ036	Ovine	n	n	n
	AJ037	Ovine	n	n	n
Constantine	AJ038	Ovine	n	n	n

/15	AJ039	Ovine	n	n	n
	AJ040	Ovine	n	n	n
	AJ041	Ovine	n	n	n
Skikda /16	Y009	Ovine	n	n	n
	Y010	Ovine	n	n	n
	Y011	Ovine	44,66	n	n
	Y012	Ovine	39,90	n	n
	Y013	Ovine	n	n	n
	Y014	Ovine	n	n	n
	Y015	Ovine	n	n	n
Skikda /17	Y016	Ovine	39,27	n	n
	Y017	Ovine	n	n	n
	Y018	Ovine	n	n	n
	Y019	Ovine	n	n	n
	Y020	Ovine	n	n	n
	Y021	Ovine	n	n	n
	Y022	Ovine	n	n	n
Ain Defla /18	Y023	Ovine	n	n	n
	Y024	Ovine	n	n	n
	Y025	Ovine	n	n	n
	Y026	Caprine	n	n	n
	Y027	Caprine	n	n	n
	Y028	Caprine	n	n	n
Ain Defla /19	Y029	Ovine	n	n	n
	Y030	Ovine	n	n	n
	Y031	Ovine	n	n	n

	Y032	Ovine	n	n	n
	Y033	Caprine	n	n	n
	Y034	Caprine	n	n	n
	Y035	Caprine	n	n	n
	Y036	Caprine	n	n	n
	Y037	Ovine	39,06	n	40.06
	Y038	Ovine	n	n	n
	Y039	Ovine	n	n	n
Ain Defla /20	Y040	Caprine	n	n	n
	Y041	Caprine	n	n	n
	Y042	Caprine	n	n	n
	Y043	Caprine	37,66	n	n
	Y044	Ovine	n	n	n
	Y045	Ovine	n	n	n
	Y046	Ovine	n	n	n
Constantine /21	Y047	Ovine	n	n	n
	Y048	Ovine	23,54	22.76	n
	Y049	Caprine	n	n	n
	Y050	Caprine	n	n	n
	Y051	Caprine	n	n	n
	Y052	Ovine	n	n	n
	Y053	Ovine	n	n	n
Constantine /22	Y054	Ovine	n	n	n
	Y055	Ovine	n	n	n
	Y056	Ovine	n	n	n
	Y057	Ovine	n	n	n

	Y058	Ovine	n	n	n
	Y070	Ovine	n	n	n
	Y071	Ovine	n	n	n
	Y072	Caprine	n	n	n
Médéa /23	Y073	Caprine	n	n	n
	Y074	Ovine	n	n	n
	Y075	Ovine	n	n	n
	Y076	Ovine	n	n	n
	Y077	Ovine	34,95	34.09	n
	Y078	Ovine	n	n	n
	Y079	Ovine	41,92	n	n
Médéa /24	Y080	Ovine	n	n	n
	Y081	Ovine	n	n	n
	Y082	Ovine	n	n	n
	Y083	Ovine	38,50	n	n
	Y084	Ovine	n	n	n
	Y085	Ovine	n	n	n
	Y086	Ovine	23,73	22.76	n
Médéa /25	Y087	Ovine	24,62	24.49	n
	Y088	Ovine	27,13	26.48	n
	Y089	Ovine	28,43	27.69	n
	Y090	Ovine	n	n	n
	BD029	Ovine	40,97	n	40.88
	BD030	Ovine	n	n	n
Djelfa /26	BD031	Ovine	n	n	n
	BD032	Ovine	21,48	n	21.37

	BD033	Ovine	37,95	n	41.02
	BD034	Ovine	n	n	n
	BD035	Ovine	n	n	n
	BD036	Ovine	38,68	n	38.99
	BD037	Ovine	n	n	n
	BD038	Ovine	n	n	n
Djelfa /27	BD039	Ovine	n	n	n
	BD040	Ovine	n	n	n
	BD041	Ovine	n	n	n
	BD042	Ovine	n	n	n
	BD043	Ovine	n	n	n
	BD044	Caprine	n	n	n
	BD045	Caprine	n	n	n
Médéa /28	BD046	Caprine	n	n	n
	BD047	Ovine	n	n	n
	BD048	Ovine	40,97	n	39.99
	BD049	Ovine	37,19	n	39.90
	BD050	Ovine	39,12	n	n
	BD051	Ovine	n	n	n
	BD052	Ovine	38,05	n	40.07
	BD053	Ovine	n	n	n
Médéa /29	BD054	Ovine	39,86	n	n
	BD055	Ovine	n	n	n
	BD056	Ovine	n	n	n
	BD057	Ovine	n	n	n
Djelfa /30	BD058	Ovine	41,12	n	n

	BD059	Ovine	n	n	n
	BD060	Ovine	n	n	n
	BD061	Ovine	n	n	n
	BD062	Ovine	n	n	n
	BD063	Ovine	39,62	n	n
	BD064	Ovine	-	n	n
	BD065	Ovine	31,42	31.89	n
	BD066	Ovine	n	n	n
Bordj Bou Arreridj /31	BD067	Ovine	n	n	n
	BD068	Ovine	n	n	n
	BD069	Ovine	39,31	40.49	n
	BD070	Ovine	39,12	n	n
	BD071	Ovine	n	n	n
	BD072	Ovine	n	n	n
	BD073	Ovine	n	n	n
Bordj Bou Arreridj /32	BD074	Ovine	n	n	n
	BD075	Ovine	39,08	n	n
	BD076	Ovine	n	n	n
	BD077	Ovine	n	n	n
	BD078	Ovine	n	n	n
	BD079	Ovine	39,90	n	n
Biskra /33	BD080	Ovine	n	n	n
	BD081	Ovine	n	n	n
	BD082	Ovine	n	n	n
	BD083	Ovine	n	n	n
	BD084	Caprine	n	n	n

	BD085	Caprine	n	n	n
	BD086	Ovine	n	n	n
Bayadh /34	BD087	Ovine	38,36	38.68	n
	BD088	Ovine	n	n	n
	BD089	Ovine	37,37	n	n
	BD090	Ovine	n	n	n
	BD091	Ovine	n	n	n
		BD092	Ovine	n	n
Médéa /35	BD093	Ovine	n	n	n
	BD094	Caprine	38,84	n	n
	BD095	Caprine	n	n	n
	BD096	Caprine	n	n	n

APPENDICE H

SEQUENCES NUCLEOTIDIQUES DES SEPT GENES DE MENAGES DES SOUCHES DE REFERENCE *C. PECORUM* EMPLOYEES DANS L'ALIGNEMENT

Gène enoA

>E58_enoA_12

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACCTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGTGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAACG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> 824_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACCTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> AB10_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACCTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGTGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAACG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> AB19a_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAAATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

>AKT_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGTGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAACG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> BE53_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGAGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGAGATGTATTCCA
TGCCTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGATG
AAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTCT
CATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAGGTTTCTTTA
GCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATCA
CGGTAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCGG
TTTCCTATAGACTCT
```

> iB1_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```


> iB2_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> iB3_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> iB4_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> iB5_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> iC2_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> iC3_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> iC4_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> L573_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> M14_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAAATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> R69_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

>SBE_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGTGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAACG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> VB2_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGTGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAACG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> W73_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCAGAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATAGAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTT
AGCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATC
ACGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCG
GTTTCCTATAGACTCT
```

> P13914_enoA

```
GGGATGCACGCAGATAATGGCCTGGAATTTCAAGAATTTATGATCCGTCCGA
TTGGGGCGCACTCTATGCACGAGGCGGTATCTATGGGGGCGGATGTATTCC
ATGCTTTGAAAAACCTCTTAAAGTCACGTCATTTAGCTACAGGAGTAGGCGAT
GAAGGAGGCTTTGCTCCGAACTTACGCTCCAATGCACAAGCTTTAGAGCTTC
TCATGACTGCAATATAAGCCGCAGGTTTTGTCCCTGGGGAGGAAGTTTCTTTA
GCTCTAGATTGCGCAGCATCTTCTTTTTTACGAAGCAGCGACAAAAACCTATCA
CGGCAGACCTTATGATGCACAGATAGAGATTCTTAAAGAGCTTTGCGAGCGG
TTTCCTATAGACTCT
```

Gène fumC

>E58_fumC_9

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGTTATCATTCCCAAATATTTAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

> 824_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGTTATCATTCCCAAATATTTAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

> AB10_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGTTATCATTCCCAAATATTTAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

> AB19a_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

>AKT_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

> BE53_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGGCT
CATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

> iB1_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> iB2_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> iB3_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> iB4_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> iB5_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> iC3_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> iC4_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> L573_fumC-1

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> M14_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> R69_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

>SBE_fumC

ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
 CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
 TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
 AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
 GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
 TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
 TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
 ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
 GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA

> VB2_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

> W73_fumC

```
ATCGTTTCCGCAGCGGATAAGATCCTTCAGGGGGGGTATGAAGAGCATT TTC
CTTTAAGGGTTTGGCAAACGGGAAGTGGAACACAGACAAATATGAATGTCAA
TGAGGTGATAGCAAACCTTGCCATTCATAGTCATGGGGGAGTTTTGGGAAGT
AAATCCCCTATACACCCTAATGATCATGTGAATAAATCTCAGTCTTCAAATGAT
GTGTTCCCTACAGCTATGCATATTGCTGGAGTCTTGAGTGTGAAAAATCGACT
TATCCCTGCGATTGATCATATGCTGAATAGTTTAAGCCATAAGGTGGATGAAT
TTCGTCATGATATAAAAATTGGTCGTACACATCTTATGGATGCGGTTCCCTATG
ACTTTAGGGCAGGAGTTTTCCGGTTATCATTCCCAAATATTTTCAGTGTTGTGA
GCGCATAGCGTTTTCTCTGACGCATATGTATGAATTAGCCTTA
```

Gène hflX

>E58_hflX_10

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

>SBE_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

> AB19a_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

>AKT_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGAGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

> BE53_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCTCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

> L573_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

> iB1_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

> iB2_hflX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> iB3_hflX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> iB4_hflX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> iC3_hflX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> iC4_hfIX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> M14_hfIX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> VB2_hfIX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> W73_hfIX

GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
 TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
 GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
 TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
 GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
 GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
 TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
 CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
 AGGGTTTATACGGAAGCTT

> R69_hfIX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

>824_hfIX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

>AB10_hfIX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

>iB5_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```

>iC2_hflX

```
GAGGCGGGACTTCAGGTAGAGCTTGCCCAGGCGAAGTATTTACTTCCAAGAC
TCAAGAGAATGTGGGGGCATCTTTCCCGACAGAAATCTGGAGGAGGAGCTG
GAGGGTTTGTCAAGGGAGAAGGAGAAAAGCAAATAGAGCTGGATCGGAGGA
TGGTGCAGGAGAAGATCCATAAGCTCTCAGCGCAGATACGGGAGATTGAAAA
GCAACGTGAGGGAAGGAGAAAGGCTAAAGTTCGCAGTGGGATCCCTACTTTT
GCATTGATTGGCTATACGAACTCGGGGAAGAGTTCGTTATTAATGTTTTAAC
TGCCGCCGATACCTACACTGAGGATAAGTTATTTGCCACTTTGGATCCCAAAA
CGAGAACATCTGTACTTCCTGGGGGACGGCGTGTTCTTGTTACAGATACTGT
AGGGTTTATACGGAAGCTT
```


Gène *gatA*

>E58_gatA_9

```
GCCTCTGAAATTACCAAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGAGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> 824_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAACCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> AB10_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCAAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGAGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> AB19a_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGACGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

>AKT_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGAGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> BE53_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGCGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATG
TGCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAG
AAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGA
GTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATC
CCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCAGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC
```

> iB1_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> iB2_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> iB3_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> iB4_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGACGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGCGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATG
TGCATCTCGGATGTTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAG
AAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGA
GTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATC
CCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC
```

> iB5_gatA

```
GCCTCTGAAATTACTGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGCGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATG
TGCATCTCGGATGTTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAG
AAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGA
GTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATC
CCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC
```

> iC2_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCATTGGCGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATG
TGCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAG
AAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGA
GTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATC
CCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC
```

> iC3_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCATTGGCGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATG
TGCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAG
AAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGA
GTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATC
CCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC
```

> iC4_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCATTGGCGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATG
TGCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAG
AAAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGA
GTTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATC
CCTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGG
CTATTGC
```

> L573_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCAGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> M14_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGACGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

>SBE_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCAAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGAGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> VB2_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCAAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGAGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> W73_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCAGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

> P13914_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCTGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

>R69_gatA

```
GCCTCTGAAATTACCGAAGAGTTCTTTTCTCGTATCCGAGAAAATGAAAAGGA
AATCGGCGCATTATTTCCCTATGTGAAGAGCGCGCAAAGGAAAAAGCTGCT
CATGTAGATGCTAAGCGAGCAAGGGGAGAGCCCCTAGGAAAACCTTGCAGGG
GTTCCCTATTGGAGTTAAGGATAATATCCATGTATTAGGCTTAAACACCACATGT
GCATCTCGGATGCTGGAGAATTATCAAGCGCCATTTTCATGCAACTGTTATAGA
AAATATAGAAGCAGAAGACGGCATTATCCTAGGTAAGCTCAATATGGACGAG
TTTGCTATGGGCTCCACAACACGTTATTCTGCATTTTCATCCGACACACAATCC
CTGGGACCTCTCGCGGGTCCCAGGGGGATCTTCAGGAGGATCCGCTGCGGC
TATTGC
```

Gène gidA

>E58_gidA_12

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
 AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
 CTCAAATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
 AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
 GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
 AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

> 824_gidA

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
 AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
 CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
 AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
 GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
 AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

> AB10_gidA

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
 AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
 CTCAAATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
 AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
 GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
 AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

>AKT_gidA

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
 AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
 CTCAAATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
 AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
 GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
 AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

> BE53_gidA

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTTGATGGAAGAGCAGCCAGGA
 GATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTACC
 TCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAGA
 GGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGGG
 CCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGGA
 GCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

> iB1_gidA

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
 AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
 CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
 AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
 GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATCGTCAAATTCGCAGATAAGG
 AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

> iB2_gidA

GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
 GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
 TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
 CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
 AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
 CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
 AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
 GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
 AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT

> iB3_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTGTCTGAC
TCCCTGAAACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> iB4_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> iB5_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> iC2_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> iC4_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> L573_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGGA
CCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATCGTCAAATTCGCAGATAAGGA
GCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> M14_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCGGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> R69_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGGA
CCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATCGTCAAATTCGCAGATAAGGA
GCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

>SBE_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAAATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> VB2_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAAATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> W73_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGAACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGGA
CCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATCGTCAAATTCGCAGATAAGGA
GCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

> iC3_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCCGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

>AB19a_gidA

```
GTAGTTCTTTCCTCTGGGACGTTTATGCAGGGGTTAATCCACATTGGAGAGC
GTAATTTTTCTGGAGGTCGTTTAGGAGATCCAGCTTCTTTAGGATTATCTGAC
TCCCTGAGACAAAGAGGTTTTCCCTTGGCAGGCTAAAAACAGGCACTCCCC
CGCGGTTATTGGCCTCTTCTATTGATTTTTCGTCGATGGAAGAGCAGCCAGG
AGATCCTGGCGTCGGTTTTGTACATAGAAATGAGCGGTTTGTCCCTCCTTTAC
CTCAGATATCTTGTTATATCACCCATACTACGTCTGCTACAAAGCAAATTATAG
AGGAAAATCTTCATTGTTCTGCGCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGAGTTGG
GCCTCGCTATTGTCCTTCTATTGAGGATAAGATTGTCAAATTCGCAGATAAGG
AGCGTCACCACATCTTTTTAGAACCTGAGGGGCTCTATACCCAAGAGATCTAT
```

Gène oppA

>E58_oppA_12

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> 824_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> AB10_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> AB19a_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

>AKT_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> BE53_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> iB1_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> iB2_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> iB3_oppA1

```
AGTTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAAG
CGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAAT
CTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCGCAGGAAGTCACGGGA
ATCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGG
CTCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGA
AGTCGTTCTAGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGA
TATTTTTTC
```

> iB4_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCCTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> iB5_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCCTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> iC2_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCCTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```


> iC3_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> iC4_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

>L573_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TCTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTTC
```

> M14_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCCTAAAGCAAAGTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTC
```

>SBE_oppA_12

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCCTAAAGCAAAGTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTC
```

> VB2_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGCCTAAAGCAAAGTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTAATAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTC
```

> W73_oppA

```
AGCTGCCAACATAAAGAGCCTCCACAAAATCACATTTCCCTGGGCATGAAAA
GCGATCCCAGCTCTTTAGATCCTAGGGAGGTGCGCCTTCTCGCAGAGATCAA
TTCATCAAGCAAATGTATGAGGGGTTAGTTCAAGAAAACCCCAAGACAAAAG
AGATCGAACCTGCCTTGGCAGAAAGTTACACTATTTCTGAGGATAAACTACA
TATACTTTTCACTTGGCGTAAAGCAAACCTGGAGTGATGGCTCAGCAATCACAGC
TCAAGATTTTGTAGACTCTTGGAAACAGGTTGTCTCTCAGGAAGTCACGGGAA
TCTATGCCTTCGCTCTCTTTCCATTA AAAAATGCCAAGAACATACACGAAGGC
TCCCTACCTATAAGTCAATTAGGTTGCCGTGCTATAGATTCTACTACTTTAGAA
GTCGTTCTGGAAAAACCTACAGCGCATTTCTTAAAGCTGCTTTCCTTGCCGAT
ATTTTTC
```

Gène hemN

>hemN_E58

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> 824_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> AB10_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> AB19a_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

>AKT_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> BE53_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> iB1_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> iB2_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> iB3_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> iB4_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> iB5_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGTTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> iC2_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> iC3_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAATA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> L573_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> M14_hemN

TCGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTA
 AAGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAG
 AGCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAA
 ACCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGG
 ATCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAA
 AAAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATA
 CTCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATG
 GATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACA
 TTAATTCGTAAT

> R69_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

>SBE_hemN

CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
 AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
 GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
 CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
 TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
 AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
 TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
 ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
 TAATTCGTAAT

> VB2_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```

> W73_hemN

```
CGTGTAAGCTTGGGAGTACAAGATACCCAAGCTGCCGTACAAGAAGCCGTAA
AGCGACGGCAGACCCATGAGGAGTCACGACGTGTGTATGAGAAGTTTAAAGA
GCTGGGCTTTACTAGCATCAACATTGATCTAATCTACGGCTTGCCAAAGCAAA
CCCGTCACACCTTTGCGCAAACCTATCCAAGACATCCTCGCAATGCGCCCGGA
TCGTCTGGCATTATTTTCTTATGCTGCAGTCCCTTGGATCAAACCGCACCAAA
AAGCAATCAAAGCTACAGATCTTCCCTCTATGGAAGAAAAATTTGCGATATAC
TCACAATCCCGACATAGCTTAATCAAGGCAGGCTACCAAGCTATTGGGATGG
ATCATTTTTCTCTTCCCGAAGATCCCTTAACAGTAGCGTTTCATAACAAAACAT
TAATTCGTAAT
```