

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1**

**Institut des sciences vétérinaires**

## **MEMOIRE DE MAGISTER**

Spécialité : Sciences vétérinaires

Option : Microbiologie médicale des maladies zoonotiques

**ETUDE SEROLOGIQUE DE LA CHLAMYDIOSE ABORTIVE DES  
PETITS RUMINANTS DANS LA REGION CENTRE.**

Par

**Nabila BOUKHALFA**

Devant le jury composé de :

Mr. BERBER A.	Professeur	U. Blida 1	Président
Mr. BACHIR PACHA M.	Professeur	U. Blida 1	Examineur
Mr. HAKEM A.	M.C. (A)	U. Djelfa	Examineur
Mr. BOUYOUCHEF A.	Professeur	U. Blida 1	Promoteur

Blida, décembre 2014

## RESUME

Les avortements chez les petits ruminants est une préoccupation dominante pour les éleveurs vu les pertes sèches qu'ils engendrent. La Chlamydie abortive est l'une des maladies abortives, causée principalement par *C. abortus* une bactérie à multiplication intracellulaire de la famille des *Chlamydiaceae*.

Dans le but de rechercher la circulation de *C. abortus* chez les petits ruminants et les facteurs qui favorisent leur dissémination, une enquête a été réalisée durant la période allant de 2012 à 2013.

Le présent travail s'articule autour de deux volets. Le premier se présente sous forme d'une enquête par questionnaire destiné aux éleveurs des petits ruminants de la région Centre de l'Algérie afin d'évaluer leurs pratiques d'élevage et faire ressortir les facteurs de risque favorisant les avortements principalement, ceux liés à la Chlamydie abortive. L'analyse des réponses émanant des 154 éleveurs a montré que la majorité des pratiques suivies par les éleveurs, présentent des facteurs de risque favorisant la dissémination des agents pathogènes. Les mauvaises pratiques liées aux avortements et la méthode de renouvellement du cheptel paraissent les principaux facteurs de la suspicion de l'existence de la Chlamydie abortive dans les cheptels enquêtés.

Le second consiste à étudier la circulation de *C. abortus* dans trois wilayas de la région Centre (Médéa, Djelfa et Ain Defla). Le diagnostic sérologique, par l'ELISA indirect, a détecté des cas séropositifs dans les cheptels des trois wilayas enquêtées avec un taux d'atteinte de 28,6% au niveau du troupeau et 6,9% à l'échelle de l'individu. Selon l'analyse statistique, la taille et la composition du troupeau étaient les principaux facteurs influençant le taux. A l'échelle de l'individu, le stade physiologique et l'espèce animale montrent un effet sur le taux d'atteinte.

Pour conclure, la circulation de *C. abortus* a été mise en évidence par la technique ELISA indirect dans les élevages visités. Cette circulation a été favorisée par certains facteurs de risque.

**Mots clés :** *Chlamydia abortus*, petits ruminants, facteurs de risque, ELISA indirect.

## SUMMARY

The abortions in small ruminants are a major concern for farmers because of its losses. Abortive Chlamydiosis is one of the abortive diseases caused principally by *C. abortus* bacterium with intracellular multiplication of *Chlamydiaceae* family.

In order to search for the circulation of *C. abortus* in small ruminants and the factors that favor their dissemination, a survey was conducted during the period from 2012 to 2013.

The present work articulates on two sections. The first is in the form of a questionnaire survey intended to small ruminants breeders in the centre of Algeria to assess their practices of breeding and detect the risk factors that facilitate abortions, especially those associated with abortive chlamydiosis. The analysis of the responses of 154 breeders showed that the majority of practices followed by breeders are risk factors favor the dissemination of pathogens agents. Malpractice related with abortions and rebuilding methods of herd appear the main factors of suspicion of the existence of abortive Chlamydiosis in the flocks surveyed.

The second is to study the circulation of *C. abortus* in three provinces of the Center region (Medea, Djelfa and Ain Defla). Serological diagnosis by the indirect ELISA, detected positives cases in flocks of three surveyed provinces with a rate of 28.6% at the herd and 6.9% at individual ladder. According to statistical analysis, the size and composition of the flocks were the main factors influencing the rate. The physiological stage and animal species show an effect on individual rate.

In conclusion, the circulation of *C. abortus* was demonstrated by the indirect ELISA technique in the breeding visited. This circulation was favored by some risk factors.

**Keywords:** *Chlamydia abortus*, small ruminants, risk factors, indirect ELISA.

## ملخص

الإجهاض عند الحيوانات المجترة الصغيرة تمثل مصدر قلق للفلاحين نظرا للخسائر التي تسببها. *Chlamydiae abortive* هي واحدة من الأمراض المجهضة سببها الأساسي *C. abortus* بكتيريا تتكاثر داخل الخلايا من عائلة *Chlamydiaceae*

من اجل معرفة مدى انتشار *C. abortus* عند المجترات الصغيرة والعوامل التي تساعد على انتشارها , أجريت دراسة خلال الفترة الممتدة من 2012 الى 2013.

يركز هذا العمل على محورين، الأول في شكل بحث بواسطة أسئلة موجهة لمربي المجترات الصغيرة في ولايات الوسط لتقييم ممارساتهم خلال عمليات الإجهاض، وخاصة تلك المرتبطة ب *Chlamydiae abortive*.

أظهر تحليل أجوبة 154 مربي أن غالبية الممارسات المتبعة تمثل عوامل خطر تساعد على انتشار المكروبات المسببة للأمراض. سوء التصرف مع حالات الإجهاض وطرق تجديد القطيع تمثل العوامل الرئيسية لاشتباه وجود

*Chlamydiae abortive* في القطعان التي شملتها الدراسة.

الثاني هو دراسة مصلية ل *C. abortus* في ثلاث ولايات من منطقة الوسط (المدية، الجلفة وعين الدفلى). البحث غير المباشر بواسطة ELISA indirect اسفر عن وجود حالات ايجابية على مستوى القطعان التي شملتها الدراسة في الثلاث ولايات بنسبة 28,6% وبنسبة 6.9% على مستوى الفرد. أظهرت الإحصائيات أن حجم وتكوين القطيع هما العاملان الرئيسيان المؤثران على النسبة الموجودة على مستوى القطيع, أما المرحلة الفيزيولوجية والنوع الحيواني اظهرا تأثيرا على النسبة الفردية.

أخيرا نخلص أن الدراسة المصلية بواسطة ELISA indirect كشف عن انتشار *C. abortus* في القطعان التي شملتها الدراسة و أن هذا الانتشار محفز بواسطة بعض عوامل الخطر.

**الكلمات المفتاحية:** *Chlamydia abortus* , المجترات الصغيرة, عوامل الخطر, ELISA indirect .

## REMERCIEMENTS

Je tiens à saisir cette occasion et adresser mes profonds remerciements à :

\*ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.

\* plus chères personnes dans ma vie, mes parents, pour leurs prières et encouragements.

\* mes sœurs et frères pour leurs tendresses et encouragements.

\* mon promoteur le Professeur BOUYOUCHEF A. pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

\* Mr MERDJA S. pour les orientations et conseils qui ont été déterminants dans la réalisation de mon travail.

\* mon enseignant, collègue et frère, Mr KHALED H. pour leurs conseils, encouragements et sympathie dans les bons moments comme dans les mauvais.

\* membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.

\* tous mes amis(es) surtout ceux de la promotion 2011 option microbiologie et épidémiologie.

\* tous les vétérinaires du terrain surtout les Docteurs BOUKHALFA M. et MEDJBAR T. pour leur patience et aide pour la réalisation de l'enquête.

\*toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	6
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	9
INTRODUCTION	11
1. HISTORIQUE ET TAXONOMIE DES <i>CHLAMYDIACEAE</i>	
1.1. Historique	13
1.2. Taxonomie	14
2. RAPPEL SUR LA BIOLOGIE DES <i>CHLAMYDIACEAE</i>	
2.1. Morphologie et différentes formes des <i>Chlamydiaceae</i>	17
2.1.1. Corps élémentaires (CE)	17
2.1.2. Corps réticulés (CR)	18
2.2. Cycle de développement des <i>Chlamydiaceae</i>	19
2.2.1. Attachement	19
2.2.2. Endocytose	19
2.2.3. Transformation des CE en CR	19
2.2.4. Multiplication des CR	20
2.2.5. Différenciation des CR en CE	20
2.2.6. Libération des CE dans le milieu extracellulaire	20
2.2.7. Altération du cycle de développement	20
2.3. Caractères biochimiques	21
2.4. Caractères antigéniques	22
3. EPIDEMIOLOGIE DE LA CHALMYDIOSE ABORTIVE DES PETITS RUMINANTS	
3.1. Rappel sur la chlamyidiose abortive des petits ruminants	23

3.2. Epidémiologie descriptive et analytique	24
3.2.1. Répartition géographique et prévalence	25
3.2.2. Source de l'agent pathogène	26
3.2.3. Résistance dans le milieu extérieur	26
3.2.4. Transmission entre animaux	26
3.2.5. Transmission à l'homme	27
3.2.6. Cyclicité de la maladie	27
3.2.7. Facteurs de risque	28
3.2.7.1. Facteurs d'introduction	28
3.2.7.2. Facteurs de diffusion	28
4. DIAGNOSTIC	
4.1. Diagnostic clinique	30
4.2. Diagnostic différentiel	30
4. 3. Diagnostic de laboratoire	32
4.3.1. Diagnostic direct	32
4.3.1.1. Examen microscopique	32
4.3.1.2. Isolement	32
4.3.1.3. Technique ELISA	33
4.3.1.4. Immunofluorescence direct (IF)	33
4.3.1.5. Détection des acides nucléiques	34
4.3.2. Diagnostic indirect (sérologique)	34
4.3.2.1. Réaction de fixation du complément (RFC)	35
4.3.2.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)	35
4.3.2.3. Technique ELISA	35
5. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE	
5.1. Traitement	36
5.2. Prophylaxie	36
5.2.1. Prophylaxie sanitaire	36



5.2.2. Prophylaxie médicale	37
<b>6. PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
6.1. Problématique	49
6.2. Volet 1 : Enquête par questionnaire	41
6.2.1. Présentation de la zone d'étude	41
6.2.2. Modalité du recueil des données	42
6.2.3. Données collectées	42
6.2.4. Traitement des données et résultats	42
6.2.5. Discussion	49
6.2.5.1. Etude des facteurs de risque liés aux avortements	49
6.2.5.2. Définition des facteurs de risque liés à la chlamydia abortive	51
6.3. Volet 2 : Enquête sérologique	53
6.3.1. Matériel et méthodes	53
6.3.1.1. Présentation de la zone d'étude	53
6.3.1.2. Prélèvements	54
6.3.1.3. Analyse de laboratoire	54
6.3.2. Résultats	55
6.3.3. Discussion	63
<b>CONCLUSION</b>	<b>67</b>
<b>RECOMMANDATIONS</b>	<b>68</b>
<b>PERSPECTIVES</b>	<b>69</b>
<b>APENDICE :</b>	
A. Liste des symboles et des abréviations	70
B. Questionnaire destiné aux éleveurs des petits ruminants	72
C. Prélèvements réalisés et résultats	74
D. Kit ELISA utilisé, composition et mode opératoire	76
<b>REREFENCES</b>	<b>79</b>

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 2.1. Modèle schématique de l'enveloppe des CE de <i>C. psittaci</i> 6BC	18
Figure 2.2. Cellule infectée avec des corps élémentaire et corps réticulé de <i>Chlamydia</i> .	18
Figure 2.3. Cycle de multiplication de <i>Chlamydia Trachomatis</i>	21
Figure 6.1. Carte géographique de la zone d'étude	41
Figure 6.2. Nombre d'années d'expérience des éleveurs enquêtés	43
Figure 6.3. Fréquence des avortements observés	43
Figure 6.4. Description des avortements selon l'allure	44
Figure 6.5. Description des avortements selon le stade de gestion	45
Figure 6.6. Description des avortements selon la saison	45
Figure 6.7. Symptômes associés aux avortements	46
Figure 6.8. Réaction des éleveurs en cas d'avortement	46
Figure 6.9. Façon de renouvellement de cheptel	47
Figure 6.10. Réaction en cas d'introduction d'un nouvel animal	48
Figure 6.11. Carte géographique des trois wilayas étudiées	53
Figure 6.12. Répartition des cas positifs au niveau des élevages	56
Figure 6.13. Répartition des cas positifs en fonction de la taille des troupeaux	57
Figure 6.14. Répartition des cas positifs selon les antécédents d'avortements	58
Figure 6.15. Répartition des cas positifs en fonction de la promiscuité ovins/caprin	59
Figure 6.16. Répartition des cas positifs selon l'âge des animaux	60

Figure 6.17. Distribution des cas positifs selon l'espèce	61
Figure 6.18. Distribution des cas positifs en fonction des symptômes	62
Tableau 1.1. Classification de la famille des <i>Chlamydiaceae</i>	16
Tableau 6.1. Répartition des cas positifs au sein des élevages	56
Tableau 6.2. Répartition des cas positifs en fonction de la taille des troupeaux	57
Tableau 6.3. Répartition des cas positifs selon les antécédents d'avortements	58
Tableau 6.4. Répartition des cas positifs en fonction de la promiscuité ovins/caprins	59
Tableau 6.5. Répartition des cas positifs selon l'âge des animaux	60
Tableau 6.6. Distribution des cas positifs selon l'espèce	61
Tableau 6.7. Distribution des cas positifs en fonction des symptômes	62

## INTRODUCTION

En Algérie, l'élevage des petits ruminants joue un rôle très important aussi bien dans le développement de l'agriculture que dans l'économie nationale. Selon les statistiques de l'année 2012, le cheptel ovin Algérien est de plus de 25 millions de têtes [1]. Celui de caprins est estimé de 4 millions de têtes [2]. Néanmoins nos élevages sont exposés à plusieurs risques, parmi eux les avortements.

Les avortements peuvent être de nature très diverse (nutritionnelle, physique, génétique et autre), mais la part d'intervention des causes infectieuses est une donnée très importante à connaître dans chaque région pour le choix judicieux des mesures de lutte afin de limiter la transmission des agents pathogènes.

La Chlamydie abortive est l'une des causes infectieuses abortives. C'est une maladie d'origine bactérienne, elle provoque des avortements et des troubles de la reproduction chez les bovins et les petits ruminants. Elle fait partie de la liste des zoonoses bactériennes, potentiellement dangereuse pour la femme enceinte. L'effet économique peut être désastreux parce que la maladie est responsable des avortements en masse [3].

La Chlamydie abortive reste une maladie inconnue par les vétérinaires algériens car elle ne fait pas partie du programme national de dépistage, comme c'est le cas de la brucellose.

A ce jour, peu d'études ont été menées sur la Chlamydie abortive chez les petits ruminants et les autres espèces [4], [5] Pour pallier à ce manque et afin de connaître l'implication de cette maladie sur les élevages des petits ruminants dans la région Centre, un questionnaire a été élaboré ayant pour objectifs :

- Etude des facteurs de risque liés aux avortements.
- Définition des facteurs de risque liés à la chlamydie abortive.

Une étude sérologique a été réalisée ayant pour objectif :

- Etude de la circulation de *C. abortus* dans les cheptels des petits ruminants enquêtés.

## CHAPITRE 1

### HISTORIQUE ET TAXONOMIE DES *CHLAMYDIACEAE*

#### 1.1. Historique :

L'histoire des infections à *chlamydia* débute à l'Antiquité, une description du trachome est faite dans un papyrus égyptien dit d'Ebert (environ 1500 avant Jésus-Christ), ainsi que dans des textes chinois anciens [6].

En 1907 HALBERSTADTER et VON PROWAZEK visualisent une inclusion dans les cellules de grattage de conjonctive, colorées au Giemsa d'un sujet atteint du trachome [7]. Pensant qu'ils étaient en présence de protozoaires, ils les appelèrent «Chlamydozoon » du grec Chlamus qui signifie «manteau », indiquant la manière dont le micro-organisme est présent dans une cellule [8].

En 1929-1930, suite à l'importation de perruches d'Argentine, une épidémie de pneumonies atypiques a surgi aux Etats Unis, en Europe et en Afrique. Par la suite, le germe responsable a pu être isolé et cultivé sur œufs embryonnés [9].

L'agent de la lymphogranulomatose vénérienne a pour sa part été isolé chez le singe en 1931 et sur œuf en 1935. A la même époque, la différenciation entre corps élémentaire et corps réticulé était faite [10].

En 1941, les agents (celui du trachome, psittacose et lymphogranulomatose vénérienne) ont été inclus dans le groupe de *psittacosis-lymphogranuloma-trachoma*) [11].

En 1950 la démonstration de la division binaire a été apportée, et la nature de cet agent n'était mise en évidence qu'à la fin des années 60. Cependant, les chlamydies ont longtemps été considérées soit comme des virus car la culture en milieu synthétique n'était pas possible et l'effet cytopathogène était caractérisé par

une inclusion intracytoplasmique, soit comme des formes intermédiaires entre virus et bactéries [12].

En 1966, Moulder a finalement prouvé qu'elles s'agissaient des bactéries, parce qu'elles possèdent plusieurs caractéristiques communes aux autres bactéries. Elles possèdent de l'ADN et de l'ARN, et se divisent par fission binaire, sont sensibles aux antibiotiques et leur enveloppe cellulaire ressemble à celle des bactéries à Gram négatif malgré l'absence de peptidoglycane [13]. *Chlamydozoa*, *Miyagawanella*, *Bedsonia* et *Neorickettsia*, étaient les appellations qu'il a pris cet agent, il est classé actuellement parmi les *Chlamydia* [7].

## 1.2. Taxonomie :

En 1948, les agents responsables de la psittacose, trachome et la lymphogranulomatose vénérienne sont classés dans l'ordre des *Rickettsiales*, la famille des *Chlamydozoceae* avec 3 genres : *Chlamydozoon*, *Miyagawanella* et *Colesiota*. Par la suite ces agents sont classés dans l'ordre des *Chlamydiales* avec un seul genre *Chlamydia* [14].

La classification au sein de l'ordre *Chlamydiales* a subi au cours de ces dernières années des changements importants grâce à la découverte d'autres microorganismes appartenant à cet ordre et à une application plus large des outils de biologie moléculaire. Se basant sur l'analyse phylogénique des gènes 16S et 23S des ARN ribosomiaux, EVERETT et al., [15], ont proposé de séparer les souches d'un seul genre *Chlamydia*, en deux genres *Chlamydia* et *Chlamydophila*.

Au sein de l'ordre *Chlamydiales* quatre familles sont décrites : *Chlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Parachlamydiaceae* et *Waddliaceae*, comprenant six genres et treize espèces [10].

La famille des *Chlamydiaceae* comporte deux genres *Chlamydia* et *Chlamydophila* et neuf espèces, trois pour le genre *Chlamydia* (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia muridarum*, *Chlamydia suis*). L'espèce *C. trachomatis* est divisée en

deux biovars (1- Trachoma : souches responsables du trachome et des infections oculaires et génitales, 2- Lymphogranuloma venereum LYG) et dix-neuf sérovars.

*C. muridarum* comprend les souches isolées chez la souris et le hamster, et *C. suis* regroupe les souches responsables de conjonctivite, entérite et de pneumonie chez le porc.

Les six espèces du genre *Chlamydophila* : *C. pneumoniae* (homme, cheval) comporte trois biovars selon la spécificité d'hôte (Tawar, Koala, Equine), *C. psittaci* (oiseau). Les souches isolées des ruminants sont divisées en trois biotypes : Biotype 1 inclut les souches provoquant des avortements (*C. abortus*) Biotype 2 concerne les souches induisant des polyarthrites, encéphalomyélite et conjonctivites et biotype 3 comporte les souches isolées des matières fécales. Ces deux derniers biotypes correspondent à *C. pecorum* (ruminants, porc, koala). *C. felis* (chat), *C. caviae* (cobaye) [16], [7], [17].

Contrairement à *C. abortus* qui présente peu de souche [18], *C. psittaci* présente 6 sérovars (de A à F) [19]. De plus *C. pecorum* est similaire à *C. abortus* du point de vue phénotypique, cycle de développement et morphologie des corps élémentaires (CE), corps réticulés (CR) [20].

La nouvelle classification était adoptée par plusieurs chercheurs mais elle était aussi rejetée par d'autres [21]. La bifurcation des souches en deux genres n'était pas nécessaire parce que les analyses phylogéniques des gènes confirment l'ultime relation entre les membres des chlamydies avec un degré de rapprochement > 97% sauf pour *C. caviae* et *C. muridarum* [22]. La classification est en cours de révision et le genre *Chlamydophila* devrait disparaître pour ne laisser qu'un seul genre, *Chlamydia* [23].



Tableau 1.1 : classification de la famille des *Chlamydiaceae* [22], [15].

Ancienne classification		Classification d'EVERETT		Classification actuelle
Genre	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydophila</i>	<i>Chlamydia</i>
Espèce	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. trachomatis</i>	<i>Cph. psittaci</i>	<i>C. trachomatis</i>
	<i>C. psittaci</i>		<i>Cph. abortus</i>	<i>C. muridarum</i>
	<i>C. pecorum</i>	<i>C. muridarum</i>	<i>Cph. felis</i>	<i>C. suis</i>
	<i>C. pneumoniae</i>	<i>C. suis</i>	<i>Cph. caviae</i>	<i>C. psittaci</i>
			<i>Cph. pecorum</i>	<i>C. abortus</i>
			<i>Cph. pneumoniae</i>	<i>C. felis</i>
				<i>C. caviae</i>
				<i>C. pecorum</i>
				<i>C. pneumoniae</i>

## CHAPITRE 2

### RAPPEL SUR LA BIOLOGIE DES *CHLAMYDIACEAE*

#### 2.1. Morphologie et différentes formes des *Chlamydiaceae* :

Les *Chlamydiaceae* sont de petites bactéries coccoïdes, immobiles intracellulaires obligatoires [24]. Ce dernier caractère avait pu les rapprocher des virus mais se sont des bactéries, possèdent une paroi de structure proche de celle des bactéries Gram négatif. Elles contiennent à la fois de l'ADN et de l'ARN, synthétisent leurs propres protéines, acides nucléiques et lipides et sont sensibles aux antibiotiques [25].

Les *Chlamydiaceae* existent essentiellement sous deux formes, le corps élémentaire (CE) et le corps réticulé (CR).

#### 2.1.1. Corps élémentaires (CE) :

Le CE est la forme extracellulaire responsable de l'infection. Ce sont des petites sphères métaboliquement inactives d'une taille de 0,2 à 0,4 $\mu$ m de diamètre, limitées par une enveloppe externe rigide de 10nm, contenant un lipopolysaccharide (LPS) proche de celui des bactéries à Gram négatif et une membrane interne. Cependant une caractéristique remarquable de la paroi est l'absence de peptidoglycane [26]. La membrane externe comporte plusieurs protéines riches en cystéine : la MOMP (Major Outer Membrane Protein), omp2 et omp3 (Outer membrane complex). Ces protéines sont responsables de la rigidité de la membrane et de la résistance des CE dans le milieu extérieur [27].

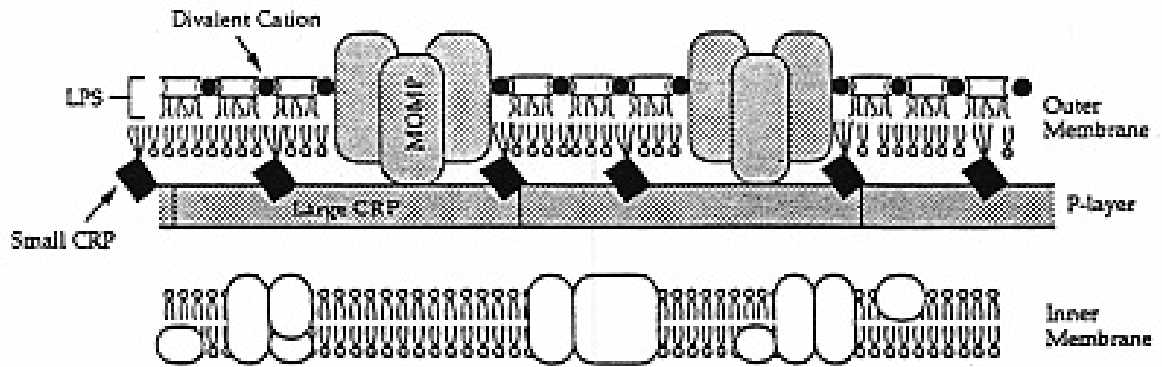


Figure 2.1 : modèle schématique de l'enveloppe des CE de *C. psittaci* 6BC [28]

### 2.1.2. Corps réticulés (CR) :

Au contraire des CE, les CR sont non infectieux, métaboliquement actifs, plus gros car ils mesurent environ 0,5 à 1  $\mu\text{m}$ , fragiles dans l'environnement extracellulaires et moins denses en microscopie électronique [29]. Chaque CR est entouré de deux systèmes membranaires trilamellaires distincts : la paroi cellulaire et les membranes cytoplasmiques. Ils sont toujours intracellulaires [26].

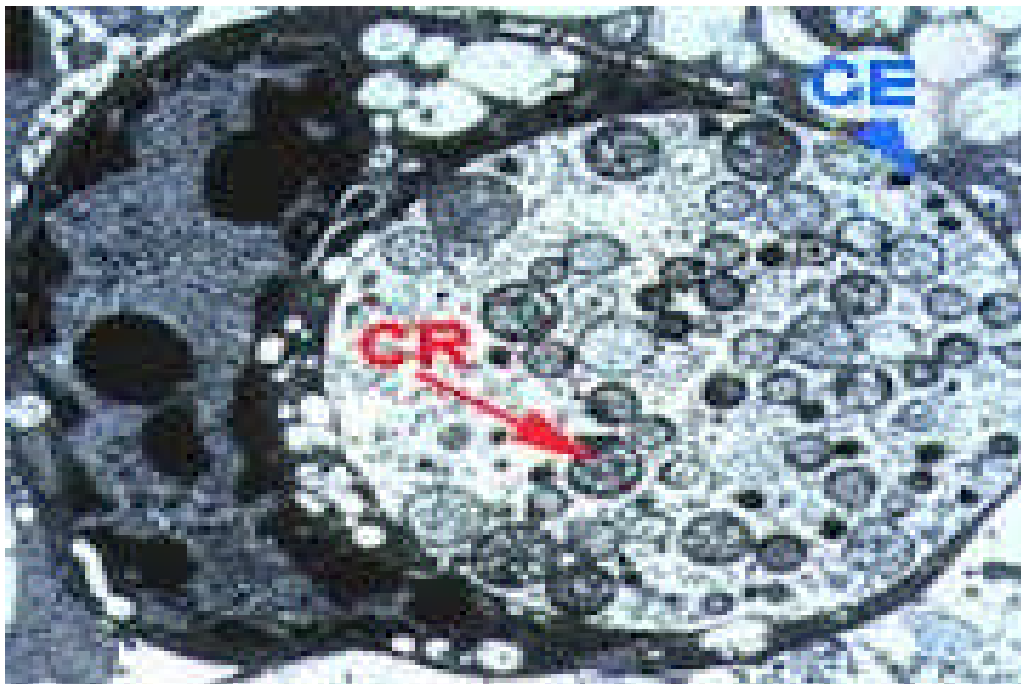


Figure 2.2 : cellule infectée avec des corps élémentaire et corps réticulé de *Chlamydia* [30].

## 2.2. Cycle de développement des *Chlamydiaceae* :

Les *Chlamydiaceae* sont des bactéries intracellulaires obligatoires, incapable de se multiplier dans les milieux artificiels [31]. Elles présentent un cycle de vie très particulier qui comporte deux stades de développement, un stade infectieux et un stade répliatif. Ce cycle est identique quelque soit l'espèce malgré les différences morphologiques entre les inclusions [7].

Le cycle peut être divisé en plusieurs étapes :

### 2.2.1. Attachement :

Les chlamydies préfèrent s'attacher à des endroits pouvant favoriser une entrée rapide et efficace [32]. Le CE s'attache aux microvillosités de la surface apicale de la cellule-hôte (tropisme pour les cellules épithéliales bordant les muqueuses respiratoires et digestives). Il pénètre la cellule eucaryote via des invaginations de sa membrane plasmique formant ainsi des vésicules abritant les CE [33].

### 2.2.2. Endocytose :

Les CE induisent leur propre ingestion sauf que le mode d'entrée varie selon les espèces soit par pinocytose (processus indépendant des microfilaments), et/ou par phagocytose (processus dépendant des microfilaments) [34]. Après ingestion, les CE sont contenus dans une vacuole dont la membrane est dérivée de la membrane cellulaire modifiée par le micro-organisme [24]. Les défenses de la cellule hôte sont contournées par inhibition de la fusion du phagosome et des lysosomes cellulaires.

### 2.2.3. Transformation des CE en CR :

La transformation du CE en CR se caractérise par une modification de la structure des protéines de la membrane externe par réduction des ponts disulfure ,décondensation du chromosome, augmentation de la taille, augmentation du

nombre de ribosomes, 8 à 12 heures de l'infection, la population est presque entièrement formée de CR [7].

#### 2.2.4. Multiplication des CR :

Les CR se rassemblent le long de la membrane de la vacuole et projettent des flagelles creux en contact avec le cytoplasme cellulaire dont le rôle est le passage des nutriments [7]. Une fois mature le CR se multiplie, ce qui est étonnant c'est que toutes les espèces bactériennes même les chloroplastes se divisent grâce à une protéine nécessaire pour scission binaire sauf les chlamydies sont dépourvues de cette protéine [35]. Un CR se divise en plus de deux cellules filles dans des inclusions cytoplasmiques.

#### 2.2.5. Différenciation des CR en CE :

La transformation du CR en CE passe par une forme intermédiaire et s'accompagne d'une réduction de la taille, condensation du nucléoïde et de la formation d'une membrane externe rigide par polymérisation de la MOMP [7].

#### 2.2.6. Libération des CE dans le milieu extracellulaire :

48 à 72 heures après l'infection, les nouveaux éléments infectieux sont expulsés de la cellule hôte par lyse de celle-ci ou par exocytose [15]. Les nouveaux CE libérés dans le milieu extérieur, peuvent aller infecter d'autres cellules voisines en initiant un nouveau cycle.

#### 2.2.7. Altération du cycle de développement :

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 [23]. A part la persistance, les chlamydies 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 [36].

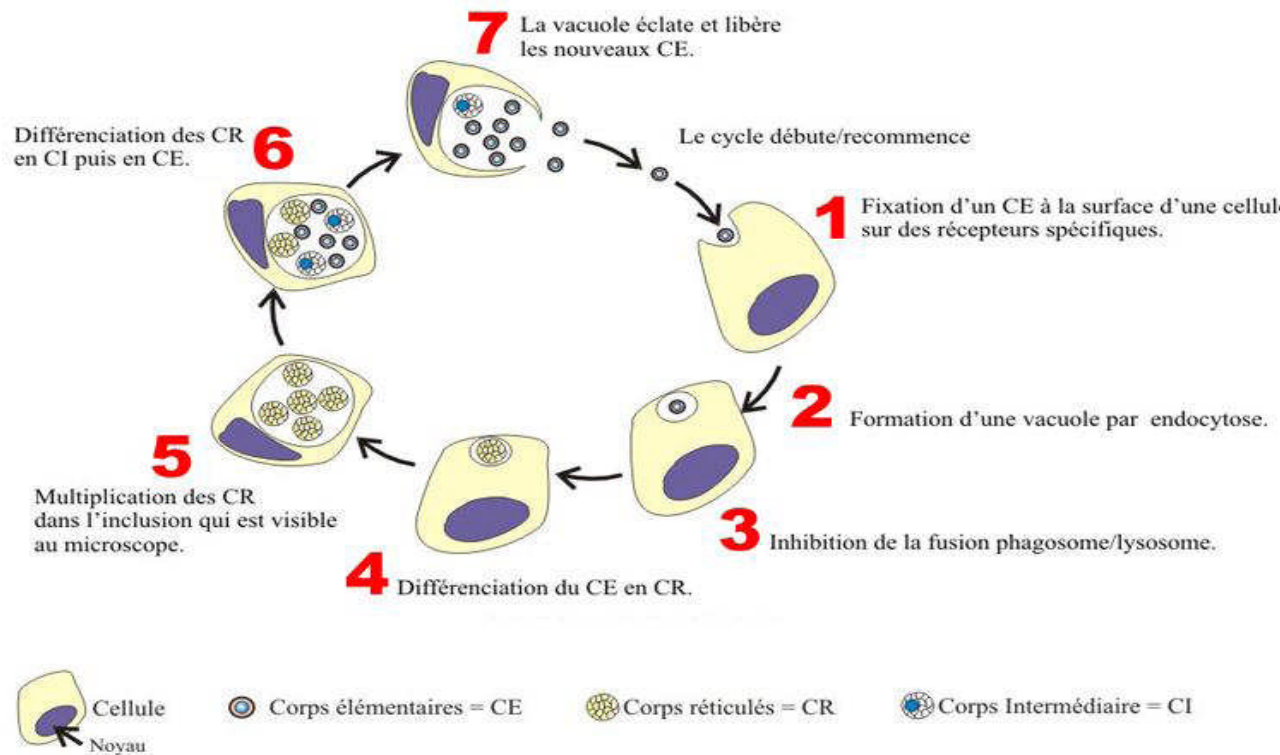


Figure 2.3 : cycle de multiplication de *Chlamydia trachomatis* [37]

### 2.3. Biochimie des *Chlamydiaceae* :

Vu la nature des *Chlamydia* qui ne sont pas cultivables sur milieu acellulaire, leur identification et la recherche des caractères biochimiques spécifiques est difficile [38]. L'analyse des séquences a révélé des points importants dont le parasitisme obligatoire des *Chlamydia* l'a expliqué : l'abondance des systèmes du transport impliqués dans le transfert des acides aminés et oligoéléments, nécessaires à la synthèse des macromolécules, et les systèmes de sécrétion type III qui assurent les échanges entre la cellule et la bactérie [39]. La croissance de *Chlamydia* est assurée par l'interaction des projections à la surface de la bactérie avec la membrane de l'inclusion [40].

#### 2.4. Caractères antigéniques :

Comme pour les bactéries à Gram négatif, le LPS est l'un des composants majeurs de la membrane externe de toutes les espèces des *Chlamydiaceae* [41]. Le LPS est considéré l'antigène de genre, il existe d'autres antigènes propres à chaque espèce de nature protéique ou non [25].

Parmi les antigènes protéiques la MOMP joue un rôle dans l'attachement des CE à la cellule hôte [42], elle constitue la cible la plus importante pour induire une réponse immunitaire forte et protectrice. La membrane externe comporte aussi la omp3 et la omp2 qui sont des protéines riches en cystéines [43]. Les Pmp (polymorphic membrane proteins), jouent un rôle de tropisme de *C. abortus* à leur hôte [44]. Au moins 6 protéines de la famille Pmps ont été identifiées dans la membrane externe de *C. abortus* [45], [46], [47].

Les *Chlamydiaceae* possèdent plusieurs autres antigènes comme les porines, les protéines de choc thermique, les protéines de la membrane d'inclusion dont le rôle est l'interaction entre l'inclusion et le cytoplasme de la cellule hôte [48], les systèmes de sécrétion de type III et les projections de surface (est un système d'injection de molécules effectrices de la virulence) [49], [50], [51].

## CHAPITRE 3

### EPIDEMIOLOGIE DE LA CHLAMYDIOSE ABORTIVE DES PETITS RUMINANTS.

#### 3.1. Rappel sur la Chlamydie abortive des petits ruminants :

La Chlamydie abortive est une infection bactérienne due à *C. abortus* responsable de troubles de la fertilité, d'avortements et de métrites chez les ruminants. Il s'agit de l'une des principales causes d'avortements chez les ovins et les caprins, mais elle peut toucher également les bovins, les équins et les porcins [29], [52], [53].

La maladie se traduit principalement par des avortements deux à trois semaines avant la fin de la gestation. Chez les ovins l'évolution est généralement favorable, la brebis est rarement malade sauf qu'elle présente des écoulements vulvaires avant l'avortement [29]. L'infection peut se traduire également par des atteintes inflammatoires localisées au niveau de l'appareil génital occasionnant des métrites [54]. Au début de la gestation l'infection peut causer la mortalité embryonnaire qui passe inaperçue, la brebis revient en chaleur tardivement [55]. Si la brebis s'infecte après 110 jours de la gestation, elle ne sera pas exposée à l'avortement dans cette gestation [56]. Parfois les brebis peuvent aller jusqu'au terme et donner naissance à des agneaux mort-nés ou chétifs [16].

Chez les caprins l'infection par *C. abortus* se caractérise par des avortements à n'importe quel stade de la gestation, mais la plupart des avortements se situent dans les 2 à 3 semaines de la fin de la gestation, des mort-nés ou des naissances prématurées des chevreaux faibles. Les chèvres peuvent avorter et se manifestent en plus de la rétention placentaire qui est fréquemment observée par rapport aux brebis suite à l'avortement [57], [58], [59].



Les souches de *C. abortus* sont également responsables de nombreuses infections locales. Les agneaux infectés in utero peuvent survivre et présenter des entérites, arthrites, ou des problèmes respiratoires [60]. Chez les béliers et les boucs, *C. abortus* peut causer des orchites, des épидidymites et des vesiculites [61]. En plus des avortements, les chèvres peuvent manifester des rétentions de l'arrière-faix, des pneumonies secondaires, des conjonctivites, des polyarthrites ou des mammites [62], [63].

Une infection naturelle à *C. abortus* donne lieu à l'immunité acquise à médiation cellulaire, cette dernière permet de prévenir l'avortement lors de la gestation suivante et même à vie chez les brebis [64], [65], [66]. C'est une infection latente, elle ne peut être détectée qu'à partir de 90<sup>ème</sup> jour de la gestation [67]. Les brebis développent une réponse à séroconversion contre MOMP ou POMP de *Chlamydia* [68]. Après une infection expérimentale durant la gestation ou avant la lutte il y a un pic de production d'anticorps anti-*chlamydia* qui décline rapidement. Le taux reste bas jusqu'à la gestation suivante durant laquelle la bactérie se multiplie provoquant une placentite avec augmentation du titre d'anticorps jusqu'à des taux très élevés et persiste pendant au moins deux ans [60] [,69], [70].

L'infection persistante peut se mettre en place suite à certains mécanismes qui font appel à la production de cytokines, en particulier les INF- $\gamma$ , et à l'activation de réactions biochimiques intracellulaires qui limitent la multiplication de *Chlamydia* [66], [71].

### 3.2. Epidémiologie descriptive et analytique :

La Chlamydie abortive est l'une des maladies figurant dans la liste de l'Office International des Epizootie (OIE) «catégorie des maladies et des infections des ovins et des caprins » pour limiter sa propagation, ce qui signifie qu'elle possède les critères d'inclusion dans cette liste :

- Propagation internationale de l'agent pathogène.
- Transmission naturelle à l'homme et l'infection humaine est associée à des conséquences graves.
- La maladie provoque une morbidité ou une mortalité significative.
- Existence d'une méthode de détection et de diagnostic fiable [72].

### 3.2.1. Répartition géographique et prévalence :

La Chlamydie 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 [65].

Cette maladie a une répartition mondiale. Des études réalisées aux pays du Maghreb montrent de variables taux de séroprévalence. En effet 25,4% à 65% des troupeaux visités en Tunisie étaient positives [73]. Un taux de 28,6% a été trouvé au Maroc [74]. 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% pour les caprins [75]. En Irlande la prévalence était de 4,75% [76]. En Turquie le taux était de 9,86% [77]. La séropositivité était de 21,3% chez les brebis ayant avortées au Mexique [78].

La première détection de *Chlamydia* chez les petits ruminants en Algérie a été réalisée par Dumas les années 70 dans la région de l'Hoggar utilisant la réaction de fixation du complément (RFC) comme utile de diagnostic [4]. Récemment, une enquête de séroprévalence au Nord-Est de l'Algérie menée sur des brebis sélectionnées au hasard (âgées entre 29 et 56 mois) révèle 70,4% des troupeaux infectés par des *Chlamydiaceae* (si un cas est positif tout le cheptel est considéré comme infecté). Le test utilisé est l'ELISA kit LSIVET Ruminant Serum Chlamydiosis, France [5].

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 de diagnostic (ELISA, RFC, PCR, et autres).

### 3.2.2. Source de l'agent pathogène :

Les femelles infectées et exposées à l'avortement constituent la source principale de *C. abortus*. Ce dernier est excrété massivement dans le placenta et les eaux fœtales des animaux qui avortent et d'une moindre importance dans les urines, les fèces et le lait [79], [80], [81]. La transmission de *C. abortus* dans le lait ou le colostrum n'était pas prouvée [82], [83], [84]. Les béliers peuvent s'infecter et excréter les bactéries dans leurs semences après une lutte naturelle avec des brebis infectées [85]. Une brebis infectée peut transmettre *C. abortus* à ses agneaux in utero. Les agnelles nées de brebis ayant avortées et conservées pour le renouvellement du troupeau, sont prédisposées à avorter à leur tour lors de leurs premières saisons de la reproduction et une autre source de *C. abortus* se forme [29], [55], [86], [87]. Les agneaux infectés in utero ou par voie uro-nasale seront des béliers porteurs et excréteront *C. abortus* dans le sperme [88].

### 3.2.3. Résistance dans le milieu extérieur :

*C. abortus* est relativement stable dans le milieu extracellulaire sous forme de CE [27]. 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 [55]. La survie des bactéries est de 4 à 5 jours dans le placenta et 48 heures dans les urines [89].

### 3.2.4. 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 [69], [90]. Une étude réalisée en 2006 prouve le rôle de l'amibe, retrouvée dans le sol et les milieux aquatiques, comme réservoir

potentiel de *Chlamydia* [91]. *C. abortus* est aussi isolé chez les chats et les chiens vivant dans des fermes abritant des ruminants infectés [18].

### 3.2.5. Transmission à l'homme :

La Chlamydie abortive est une zoonose particulièrement dangereuse pour les femmes enceintes [90]. La suspicion que *C. abortus*, responsable des avortements des petits ruminants, est le même responsable des avortements chez les femmes est documentée en 1967 [92]. La suspicion est 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 [93], [94]. La transmission s'effectue par voie orale ou respiratoire suite au contact avec un animal infecté ou de leurs produits (les eaux fœtales, placenta, fluide vaginal) [70], [95]. Chez la femme enceinte la maladie commence sous forme d'une grippe associée généralement à des douleurs abdominales suivie d'avortement avec parfois des complications telles que l'insuffisance rénale et hépatique [96]. L'infection chez l'homme s'exprime par des conjonctivites ou syndrome grippale [97]. Les avortements causés par *C. abortus* chez les femmes sont confirmés dans plusieurs pays comme les pays bas [98], la Suisse [99], la France [100], l'Italie [101].

### 3.2.6. Cyclicité de la maladie :

Lors de la primo- infection d'un troupeau, les avortements peuvent prendre un caractère enzootique avec un taux arrive à 30% des brebis gravides [55], [65]. Après la primo-infection le taux d'avortement diminue pour atteindre 10% des gestantes, puis un nouvel épisode abortif se produit sur les primipares et les animaux nouvellement introduits qui s'infectent par les *Chlamydia* excrétés des femelles ayant déjà avortées immunisées mais séropositives [90], [102],[103].

### 3.2.7. Facteurs de risque :

#### 3.2.7.1. 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* [55], [104], [105].

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 [85], [88].

#### 3.2.7.2. Facteurs de diffusion :

Après les avortements dus à des chlamydies, les gestations et les agnelages ultérieurs sont normaux suite à une immunité suffisante, mais les brebis excrètent des bactéries par leur appareil reproducteur pendant au moins 2,5 à 3 ans [60], [106]. Certains auteurs prouvent la possibilité d'excrétion de *C. abortus* par des brebis ayant déjà avortées lors des ovulations et des mise-bas suivantes [65], [107]. Chez les chèvres, les sécrétions peuvent contenir des bactéries neuf jours ou même parfois deux semaines avant et deux semaines après l'avortement [55], [59]. Donc le fait de ne pas séparer les femelles ayant avortées de reste du 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  $2,7 \cdot 10^7$  bactéries par microgramme de cotylédon infecté [108], s'ils ne sont pas ramassés peuvent souiller la litière qui à son tour contamine les femelles placées dans l'endroit des celles ayant avortées, en cas où la litière n'est pas changée [55].

Dans le but de renouveler le cheptel les éleveurs procèdent à garder les descendants alors que si les brebis sont infectées par *C. abortus* elles peuvent le transmettre à ses agneaux in utero et une autre source de *C. abortus* est constituée [29], [55], [86], [87].

Le problème des facteurs de risque était l'objectif de certaines études. Celle réalisée en Tunisie a ramené comme résultats : l'historique d'avortement, l'emprunt de bélier, l'avortement l'année précédente à l'enquête, l'avortement chez les voisins et la présence de bovins avec le troupeau des petits ruminants présentent les principaux facteurs ayant une influence sur les avortements. Alors que l'introduction de nouveaux animaux, le contact avec d'autres troupeaux, l'achat de nouvelles brebis et la race n'ont aucune influence [109].

Une enquête algérienne a montrée que l'âge, la région, la désinfection, le problème de morts nés et agneaux chétifs ou avec septicémie ont une influence sur la séropositivité lié aux infections par les chlamydies. Alors que pas d'association de séropositivité avec la taille de troupeau et l'historique des avortements [5]

## CHAPITRE 4

### DIAGNOSTIC

#### 4.1. Diagnostic clinique :

Lors de la Chlamydie abortive les femelles infectées présentent rarement d'autres signes cliniques que l'avortement. Les avortements se produisent principalement en dernier tiers de la gestation avec un taux dépasse les 25% des femelles gestantes dans un cheptel. Des mises-bas prématurées ou à terme de produits chétifs, de troubles de la reproduction et des atteintes ostéo-articulaires, respiratoires et nerveuses peuvent être aussi observés [54], [58]. En absence des signes cliniques et des lésions spécifiques, le diagnostic ne pourra être établi que par les examens du laboratoire.

#### 4.2. Diagnostic différentiel :

Maladie et agent pathogène	Période d'avortement	Signes cliniques	Lésions
Chlamydie abortive <b><i>C. abortus</i></b>	Fin de gestation	Avortement, métrite, arthrite, pneumonie, conjonctivite, épидидymite, orchite (chez le male).	Placenta : lésions non spécifiques, cotylédons nécrosés Foetus : œdème, pétéchies sur le nez, la bouche, la conjonctive et les organes internes.
Fièvre Q <b><i>Coxiella burnetii</i></b>	Fin de gestation surtout.	Avortement, rétention placentaire, métrite et infertilité, pneumonie [110].	Placenta : lésions non spécifiques, cotylédons nécrosés Foetus : œdème,

			pétéchies sur le nez, la bouche, la conjonctive et les organes internes [54].
Brucellose <b><i>B. melitensis</i></b> <b><i>B. abortus</i></b> <b><i>B. ovis</i></b>	Fin de gestation	Avortement, Epididymites, orchites, arthrite, métrite (rare) [54].	Placentite toujours présente sans lésions caractéristique [58].
Campylobactériose <b><i>C. foetus</i></b> <b><i>C. jejuni</i></b>	Fin de gestation	Avortement, métrite, péritonite.	Gros foyer de nécrose (de 1 à 3 cm de diamètre) sur le foie de fœtus ovins [58].
Listériose <b><i>L. monocytogenes</i></b>	Dernier tiers de gestation	Signes d'atteintes nerveuses (Circling Disease), Mammite [111].	Petits foyers de nécrose sur le foie et les cotylédons [112].
Salmonellose <b><i>S. abortus ovis</i></b>	Deuxième moitié de gestation et même des périodes plus précoces [113].	Avortement, forme pulmonaire et septicémie chez les agneaux [113], [114].	
Border Disease <b>BDV</b>	La fin de deuxième mois de gestation [115].	Avortement, naissances d'agneaux prématurés, trembleurs chétifs ou malformés Les chèvres gravides présentent des placentites sévères et un fort taux de mortalité fœtale.	
Toxoplasmose <b><i>Toxoplasma gondii</i></b>	Fin de gestation	L'avortement est caractérisé par des agneaux apparemment sains et un fœtus momifié chez la même femelle [97].	Placenta : foyers de nécrose blanchâtres d'aspect crayeux (calcification de 2 cm) Fœtus : momifié [97].



### 4.3. Diagnostic de laboratoire :

#### 4.3.1. Diagnostic direct :

Le diagnostic de la Chlamydie abortive dépend de l'isolement de l'agent causal. Les prélèvements les plus indiqués sont présentés par les cellules vaginales prélevées, des femelles des petits ruminants, le jour de l'avortement ou quelques jours plus tard à l'aide des écouvillons vaginaux stériles. Les prélèvements tissulaires tels que les cotylédons atteints, les membranes placentaires, les poumons ou le foie du fœtus sont aussi indiqués [108], [116].

#### 4.3.1.1. Examen microscopique :

Bien que l'examen microscopique soit peu sensible et peu spécifique et s'il est souvent difficile de distinguer *C. abortus* de *Brucella* et *Coxiella* [54], les lames colorées peuvent être conservées et envoyées à un laboratoire spécialisé pour la confirmation [117].

La bactérioscopie correspond à la recherche de la bactérie au microscope après coloration de Stamp, Gimenez ou Machiavello sur des frottis à partir du contenu stomacal de l'avorton, écouvillons vaginaux de la mère prélevés le plus tôt possible de l'avortement ou un calque de cotylédon [55], [65]. La coloration de Stamp présente une technique de routine de diagnostic de la Chlamydie abortive en médecine vétérinaire où les *Chlamydia* apparaissent sous forme de petits points rouge brillants [117].

#### 4.3.1.2. Isolement :

Les chlamydies peuvent être isolées sur des œufs embryonnés de poulet ou des cultures cellulaires. L'isolement nécessite des prélèvements riches en cellules infectées par *Chlamydia* et indemnes de toute contamination [118].

**Les œufs embryonnés :** L'échantillon à analyser, à partir des mucus vaginaux ou des plages obtenues sur des cultures cellulaires, est inoculé dans le sac vitellin d'embryons âgés de 6 à 8 jours incubés à 37 °C. Les embryons infectés meurent entre le 4<sup>e</sup> et 13<sup>e</sup> jour suivant l'inoculation. A la mort de l'embryon, l'œuf est

autopsié, pour confirmer l'implication de *Chlamydia* [116], [118]. Un prélèvement pourrait être réalisé sur l'œuf autopsié et cela pour l'analyser par Polymerase Chain Reaction en temps réel (PCR-RT).

**Culture cellulaire :** La culture de *C. abortus* dans le but de l'isoler, peut être effectuée sur les cellules McCoy (lignée de cellules synoviales humaines), BGM (Buffalo green monkey) ou BHK (Baby hamster kidney) [119], [120].

La culture sur BGM dans le but d'isoler des chlamydies, consiste à cultiver les cellules BGM dans un milieu additionné de 5% de sérum fœtal et 5% de CO<sub>2</sub> à 37°C. Les cellules monocouches obtenues après incubation sont utilisées pour tester le prélèvement, quelque soit des écouvillons vaginaux ou organes. Deux à dix jours après l'incubation les monocouches subissent un test réactif, ce dernier consiste à utiliser des anticorps fluorescents monoclonaux dirigés contre le LPS chlamydial. Le prélèvement est considéré positif si des inclusions, spécifiques du genre *Chlamydia*, sont observées [121].

#### 4.3.1.3. Technique ELISA :

La détection des antigènes par Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) à partir d'un broyat de placenta ou écouvillon vaginal dans les trois jours suivant l'avortement est possible grâce à des trousse commercialisées de diagnostic. Sur des coupes histologiques, la détection des antigènes peut être réalisée en utilisant des anticorps anti-*Chlamydia* couplés à la phosphatase alcaline dirigés contre le LPS [70], [54].

#### 4.3.1.4. Immunofluorescence direct (IF) :

Le principe de l'IF direct ressemble à celui de l'ELISA direct, il repose sur la mise en évidence d'antigènes bactériens, à l'aide d'anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine [122].

Le diagnostic direct par immunofluorescence présente l'avantage d'être beaucoup plus sensible et spécifique bien qu'en médecine vétérinaire l'utilisation de cette technique pour la mise en évidence des *Chlamydiaceae* est rare [117].

#### 4.3.1.5. Détection des acides nucléiques :

L'amplification génomique est la méthode de choix pour la détection de *Chlamydia*, la Polymerase Chain Reaction (PCR) de par sa sensibilité très élevée et sa rapidité de mise en œuvre. L'utilisation d'amorces spécifiques pour cette amplification permet de distinguer aisément les différentes espèces de *Chlamydia* [15], [123], [124]. En premier temps le prélèvement (écouvillon vaginal) est soumis à une extraction d'ADN à l'aide du kit Qiamp DNA mini kit (Qiagen). L'ADN élué avec 150 µl de tampon AE, est analysé ensuite à l'aide d'une PCR en temps réel permettant la détection quantitative de toutes les bactéries appartenant à la famille des *Chlamydiaceae* [124]. Les échantillons positifs sont ré-analysés à l'aide de PCR en temps réel spécifiques des espèces *C. abortus* et *C. pecorum*.

Afin de bien comprendre les relations génétiques entre les différentes souches dans une espèce donnée, un génotypage plus approfondi des échantillons analysés par PCR -RT est mis en œuvre, reposant sur la technique de MLST (Multilocus Sequence Typing). Le principe est de comparer des séquences d'ADN de gènes de ménage (housekeeping gene) et de gènes de virulence de différents fragments [125].

L'ADN peut être également analysé par MLVA (Multi-Loci VNTR « variable number of Tandem Repeats » Analysis). Cette technique consiste à rechercher les séquences répétées présentes sur le génome de l'échantillon à étudier [126].

#### 4.3.2. Diagnostic indirect (sérologique) :

Si parfois il n'a pas été possible d'isoler *C. abortus*, il est possible de rechercher la preuve de son intervention par la présence d'anticorps spécifiques. Une sérologie positive ne peut établir qu'un diagnostic de présomption. Elle permet uniquement de refléter le contact de l'animal avec l'agent abortif, sans dire si l'infection est encore active ou non et sans distinguer une infection latente d'un épisode abortif [54].

#### 4.3.2.1. Réaction de fixation du complément (RFC) :

Le diagnostic sérologique de la Chlamydie abortive par la RFC a été couramment le plus utilisé pour détecter l'infection, et il est recommandé par OIE [127].

Les sérums collectés au moment de l'avortement et au plus tard 3 semaines après peuvent révéler une élévation du titre d'anticorps [116]. Comme l'antigène utilisé est un antigène de groupe commun à tous les membres du genre *Chlamydia*, la RFC détecte le contact de l'animal avec toutes les chlamydies.

Ceci a amené à standardiser la méthode et définir un seuil à partir duquel les animaux sont considérés comme atteints de Chlamydie abortive [117].

#### 4.3.2.2. Immunofluorescence indirecte (IFI) :

L'immunofluorescence indirecte s'avère souvent plus sensible que la fixation du complément. Elle exige un examen au microscope qui n'est pas automatisable et elle est peu utilisable en médecine vétérinaire [54]. L'inconvénient pour cette technique c'est qu'elle présente des réactions croisées avec *C. pecorum* à cause de l'utilisation des mêmes antigènes que la fixation de complément [128].

#### 4.3.2.3. Technique d'ELISA :

Le test ELISA est rapide, simple et permet de tester un grand nombre de prélèvements car il est facilement automatisable [54]. Plusieurs tests d'ELISA ont été proposés pour le diagnostic de la Chlamydie abortive en utilisant du LPS purifié des CE [129] ou un extrait protéique total des CE [130].

Le test rELISA (recombinant ELISA) utilise un antigène recombinant, ne différencie pas entre *C. abortus* et *C. pecorum* [128].

Le test cELISA (compétition ELISA) consiste à utiliser des anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre la MOMP dont la fixation est empêchée par la présence des anticorps de sérum positifs [131].

Les tests rELISA et cELISA sont plus sensibles et plus spécifiques que la RFC [116].

## CHAPITRE 5

### TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

#### 5.1. Traitement :

L'oxytetracycline longue action est le traitement de choix pour la Chlamydie abortive. Son efficacité a été contrôlée en infection expérimentale uniquement pour *C. abortus* [90]. Des traitements à base de tétracycline administrés durant la première moitié de la gestation peut contrôler et limité la gravité de la placentite, bien que le taux de succès est limité [58], [63], [132].

Pour réduire le nombre d'avortements, des injections de l'oxytetracycline longue action à la dose de 20 mg/kg administrées en intramusculaire à des brebis gravides dans le dernier mois de la gestation sont couramment réalisées [55]. Le traitement est habituellement renouvelé à intervalle de 15 à 20 jours jusqu'à la fin des mises bas [3].

Les molécules citées empêchent la croissance de la bactérie mais n'éliminent pas l'infection ni la sévérité des lésions placentaires préalablement installées.

#### 5.2. Prophylaxie :

##### 5.2.1. Prophylaxie sanitaire :

Le contrôle sanitaire des avortements enzootiques fait appel à une amélioration des pratiques d'élevage, dont les mesures classiques d'hygiène et de précautions lors de l'introduction de nouveaux animaux dans un troupeau indemne peuvent être efficaces [55]. Dans un troupeau infecté les femelles prêtes à mettre bas doivent être séparées des femelles ayant avortées. Les placentas, les avortons et les agneaux morts nés doivent être éliminés [120], parce que les corps élémentaires peuvent conserver leur pouvoir infectieux pendant des jours dans l'environnement, voire des mois à très basse température ce qui signifie que les

produits de l'avortement peuvent constituer un réservoir et jouer le rôle de vecteurs passifs dans la transmission de *C. abortus* aux brebis [120], [29].

A fin de limiter la transmission de la maladie d'un pays à l'autre l'OIE a fixé des règles lors d'importation d'ovins ou de caprins de reproduction, de semence d'ovins ou d'embryon d'ovins. Les produits cités ne peuvent être importés sans certificat vétérinaire international attestant que :

- Les animaux sont indemnes et présentent des résultats négatifs lors des épreuves du diagnostic.
- Les géniteurs ayant fourni la semence et les femelles donneuses d'embryons ne présentaient aucuns signes cliniques de Chlamydiose abortive le jour de collecte de semence et d'embryons, et ont séjourné dans des exploitations indemnes [133].

#### 5.2.2. Prophylaxie médicale :

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, comme la France, vaccinent leurs cheptels contre la Chlamydiose abortive des petits ruminants sauf qu'en Algérie cette pratique n'existe pas.

La vaccination annuelle est recommandée dans les zones endémiques, quatre à six semaines avant la saillie des brebis avec une seconde dose un mois plus tard [58]. Le vaccin vivant atténué est la seule solution à l'assainissement d'un troupeau infecté mais elle atteint ses limites tant que le cheptel subsiste des animaux infectés latents [105].

Pour éradiquer l'infection dans un troupeau il faut environ 3 ans si tout le troupeau est vacciné la première année et les animaux de renouvellement les années suivantes. Il faudra environ 5 ans si la vaccination annuelle concerne seulement les jeunes [90], [102].

Pour obtenir les résultats souhaitables le protocole de vaccination doit être respecté. En une seule injection, le vaccin est introduit à la dose de 2 ml par la voie sous cutané ou intramusculaire [134].

Après le traitement des femelles gestantes à la tétracycline longue action tout le troupeau doit être vacciné dont :

- les femelles ayant déjà avortées étant immunisées, le vaccin n'est pas nécessaire car il ne modifie pas le cours de l'infection.
- la vaccination des agnelles infectées in utero ne sera pas protectrice donc la vaccination des femelles gestantes est inutile [90].
- Les agnelles et les chevrettes doivent être vaccinées dès l'âge de 3 mois, car les anticorps colostraux dirigés contre *C. abortus* persistent chez les agneaux de brebis infectées pendant six semaines [69].

Les béliers doivent également être vaccinés dans la mesure où le risque de transmission vénérienne de *C. abortus* n'est pas exclu [88] et pour prévenir l'hypofertilité suite aux orchites et des épидидymites après une phase de chlamydémie [29], [61].

## CHAPITRE 6

### PARTIE EXPERIMENTALE

#### 6.1. Problématique :

Les métrites, les infertilités et les avortements sont les principaux problèmes de la reproduction des ruminants. Parmi ces problèmes, les avortements sont à l'origine des grosses pertes économiques liées à la perte sèche des fœtus, à la production laitière ainsi qu'aux coûts d'entretien des femelles non productives.

En Algérie, les avortements chez les ruminants ont été abordés par certains auteurs [135], [136], qui ont bien montré l'importance des avortements dans les cheptels. Selon KHALED et al., [137], les avortements chez les ruminants sont favorisés par certains facteurs de risque. Vu l'importance des facteurs de risque qui favorisent les avortements, une enquête par questionnaire a été réalisée dans le but d'étudier ces facteurs et principalement ceux liés à la Chlamydie abortive chez les petits ruminants.

La Chlamydie abortive est une infection bactérienne pouvant affecter de nombreuses espèces animales. L'importance de cette maladie apparaît dans les troupeaux des petits ruminants nouvellement infectés parce que 30 % des femelles gestantes peuvent avorter suite aux chlamydies, le taux d'avortement pouvant même atteindre plus de 60 % pour les troupeaux caprins [90]. Chez les petits ruminants, le nombre élevé d'avortements se maintient généralement pendant 2 à 3 ans avant de diminuer fortement. Ils affectent alors moins de 10% des femelles gravides et tout se passe comme si la maladie semblait disparaître de l'élevage. Après quelques années, la chlamydie se remanifeste par un nouveau pic d'avortements survenant chez la quasi-totalité des primipares [29], [87]. A part l'avortement, l'infection peut donner comme résultat des agneaux chétifs développent des problèmes respiratoires, articulaires et digestifs [3].



Cette maladie s'avère souvent prépondérante chez les petits ruminants avec des taux variables selon les pays : en Tunisie 25,4% à 65% [73], au Maroc 28,6% [74], en Irlande 4,75% [76], en Turquie 9,86% [77], au Mexique 21,3% [78]. En Algérie très peu d'études ont été réalisées, on cite l'enquête réalisée par DUMAS [4], et celle réalisée par HIRECHE qui a déterminé un taux de 70,4% [5]. En plus la Chlamydiose abortive chez nous, ne fait pas partie d'un programme national de dépistage systématique, contrairement à la brucellose. Le manque d'études réalisées et les informations épidémiologiques sur la Chlamydiose abortive nous ont conduits à entreprendre des études sur l'importance de cette pathologie dans les élevages des petits ruminants, les espèces bactériennes impliquées et la séroprévalence de cette pathologie en Algérie.

La Chlamydiose abortive est une zoonose qui a été longtemps négligée en Algérie, car elle est souvent confondue avec la brucellose. Les souches bactériennes affectant les ruminants sont potentiellement transmissibles à l'homme et peuvent s'avérer dangereuses notamment pour les femmes enceintes, la maladie se traduira chez elles par des nausées, des vertiges, des avortements, voire des mortinatalités [90], sauf que l'implication de la maladie chez les femmes n'était pas parmi nos objectifs.

Pour répondre aux questions posées, nous avons entamé le présent travail en nous fixant les objectifs suivants :

- 1- Etude des facteurs de risque liés aux avortements chez les petits ruminants, par le biais d'une enquête par questionnaire.
- 2- Définition des facteurs de risque liés à la Chlamydiose abortive à partir de l'enquête par questionnaire.
- 3- Etude de la circulation de *C. abortus* dans certaines wilayas de la région Centre.

## 6.2. VOLET 1 : Enquête par questionnaire :

Afin d'avoir une idée sur les avortements infectieux et les facteurs favorisant la persistance des agents pathogènes dans les cheptels des petits ruminants, il a été jugé pertinent de procéder à une enquête par questionnaire destiné aux éleveurs des petits ruminants de la région Centre de l'Algérie.

### 6.2.1. Présentation de la zone d'étude :

La région Centre de l'Algérie se situe entre la région côtière méditerranéenne et l'Atlas saharien. Elle jouit d'un climat tempéré, de type méditerranéen, est caractérisé par des précipitations essentiellement hivernales, irrégulières et inégalement réparties. La moyenne des températures minimales du mois le plus froid est comprise entre 0 et 9 °C et la moyenne des températures maximales du mois le plus chaud varie de 28 °C à 31 °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 10 à 20 brebis suivant la taille des exploitations. Les disponibilités fourragères sont très faibles en zone de montagne [138].

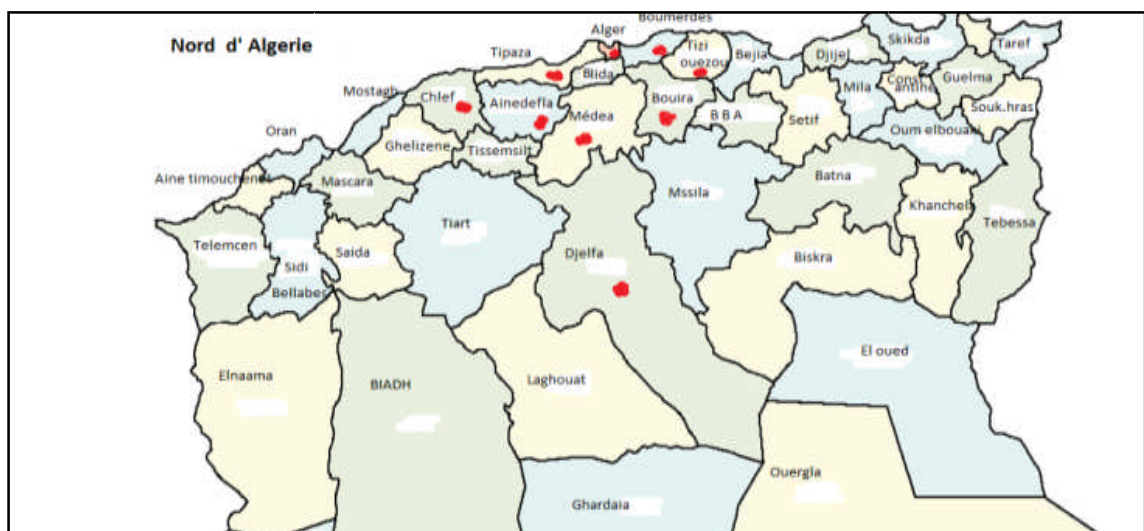


Figure 6.1 : carte géographique de la zone d'étude

### 6.2.2 .Modalité du recueil des données :

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire (Appendice B) destiné aux éleveurs des petits ruminants et distribué aux vétérinaires praticiens, de la région Centre de l'Algérie, qui ont posé les questions aux éleveurs à l'occasion de leurs visites du travail.

### 6.2.3. Données collectées :

Les informations recueillies par un questionnaire constitué de questions fermées font appel au système de réponse à choix multiple, le vétérinaire n'ayant qu'à coché la case correspondante à la réponse de l'éleveur. Ce système présente une meilleure exploitation grâce au bon taux de réponse des personnes enquêtées.

Le questionnaire est formé de 7 questions, dont le but de chaque question est :

- ancienneté : l'ancienneté de l'éleveur nous permet d'obtenir des réponses, relatives aux avortements, plus fiables.
- mise en évidence la fréquence des avortements.
- description des avortements selon l'allure, la saison et le stade de gestation.
- description des symptômes associés aux avortements afin de limiter les agents de suspicion.
- détermination des facteurs de risque qui favorisent la dissémination des agents pathogènes dans les cheptels.

### 6.2.4. Traitement des données et résultats :

Le questionnaire était tiré au nombre de 200 exemplaires, nous avons pu récupérer 154 questionnaires dont les réponses n'étaient pas complètes pour les 7 questions en cas où l'éleveur répond qu'il n'a jamais observé des avortements, il n'a pas répondu à la 3ème, 4ème et 5ème question.

### Question N° 1

Depuis quand êtes vous dans le domaine de l'élevage ?

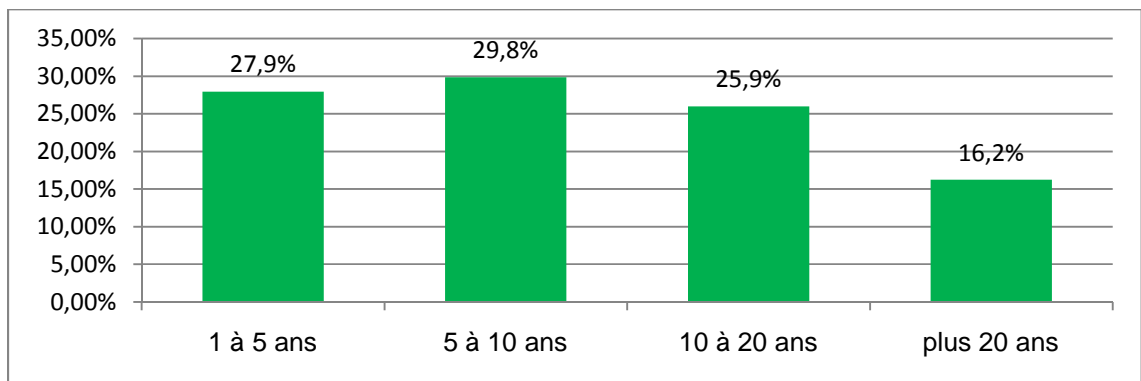


Figure 6.2 : nombre d'années d'expérience des éleveurs enquêtés

Les résultats obtenus montrent que la plupart des éleveurs ont une expérience moyenne allant de 1 à 10 ans. 29,8% représente la majeure partie des éleveurs avec 5 à 10 années d'expérience, la seconde catégorie est représentée par 27,9% avec 1 à 5 années d'expérience.

### Question N°2

Rencontrez-vous des avortements dans vos élevages ?

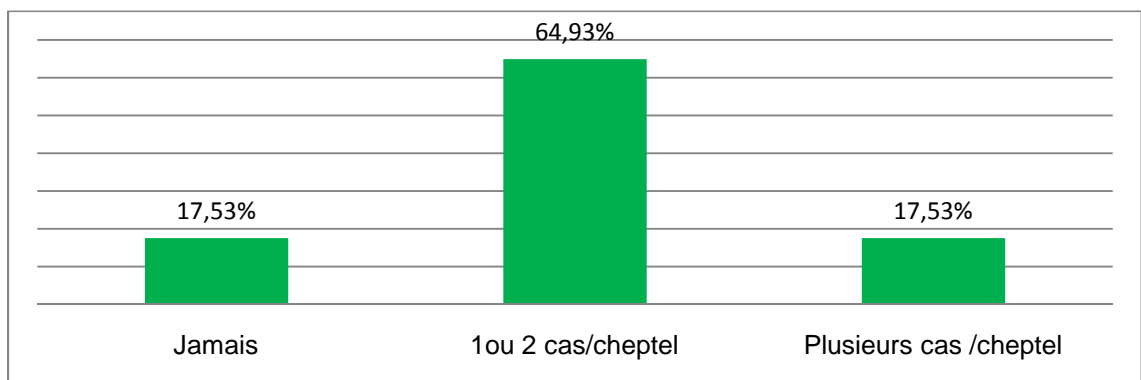


Figure 6.3 : fréquence des avortements observés

La plupart des réponses étaient de 1 ou 2 cas d'avortement par cheptel par an avec un pourcentage de 64,9%, certains éleveurs ont donné même un pourcentage de 3 à 5% pour cette proposition. Les propositions jamais et

plusieurs cas par cheptel par an sont présentées par un même pourcentage qui est de 17,5%.

### Question N°3

Comment se présentent les avortements ?

Cette question permet de donner une description des avortements selon 3 paramètres : l'allure, le stade de gestation et la saison. La description nous oriente vers la suspicion des maladies abortives d'origine infectieuse.

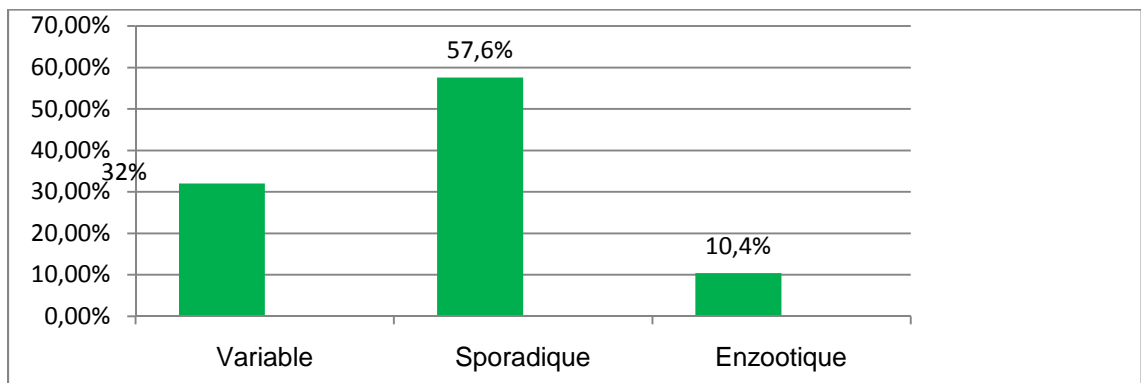


Figure 6.4 : description des avortements selon l'allure

Les résultats indiquent que la majeure partie des avortements observés par les éleveurs ont une allure sporadique pour 57,6% des cas ou faiblement enzootique pour 10,4%.

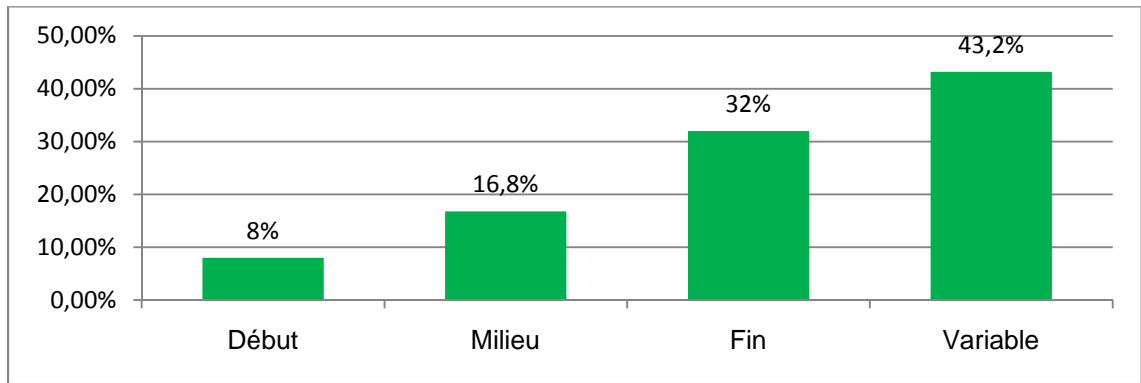


Figure 6.5 : description des avortements selon le stade de gestion

Selon les réponses des éleveurs la plupart des avortements surviennent en fin de gestation avec un pourcentage de 32%, et en au milieu de gestation pour 16,8% des cas. La part des avortements observés au début des gestations ne dépasse pas les 8%.

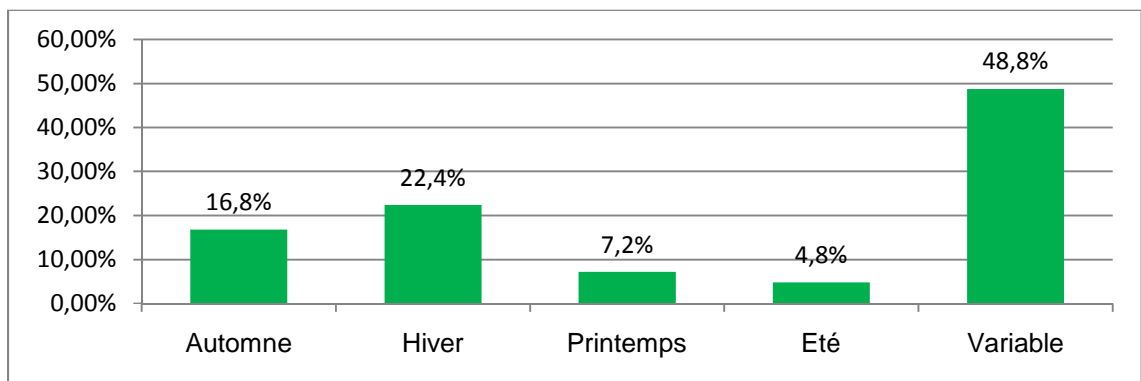


Figure 6.6 : description des avortements selon la saison

Pour la saison d'observation des avortements, les résultats indiquent que les avortements surviennent tout au long de l'année avec un pourcentage élevé en hiver avec 22,4%, en automne pour 16,8% puis en printemps et l'été en faible pourcentage qui présente 7,2% et 4,8% respectivement.

#### Question N°4

Quels sont les symptômes qui sont associés aux avortements ?

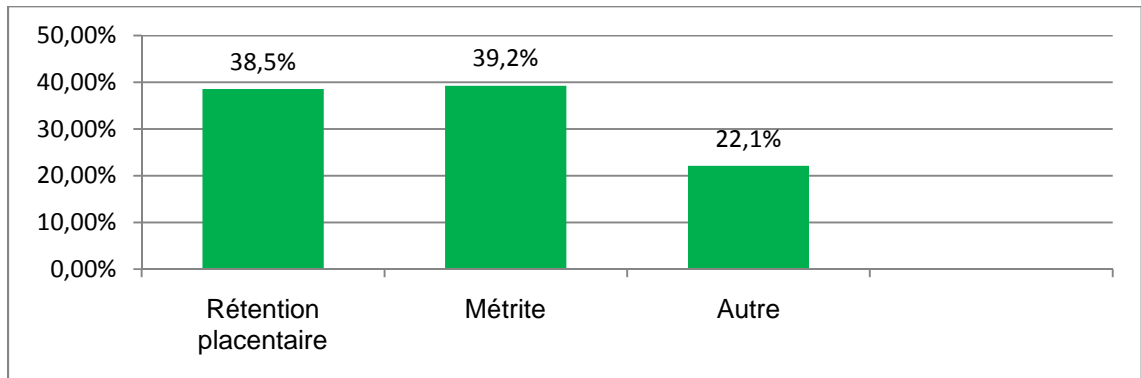


Figure 6.7 : symptômes associés aux avortements

D'après nos résultats la majeure partie des avortements était associée à des métrites (39,2%) et des rétentions placentaires (38,5%). Pour la proposition \*autre\* certains éleveurs ont répondu que les avortements sont accompagnés parfois des mammites, fièvre et anorexie.

#### Question N°5

Comment réagissez-vous devant un avortement ?

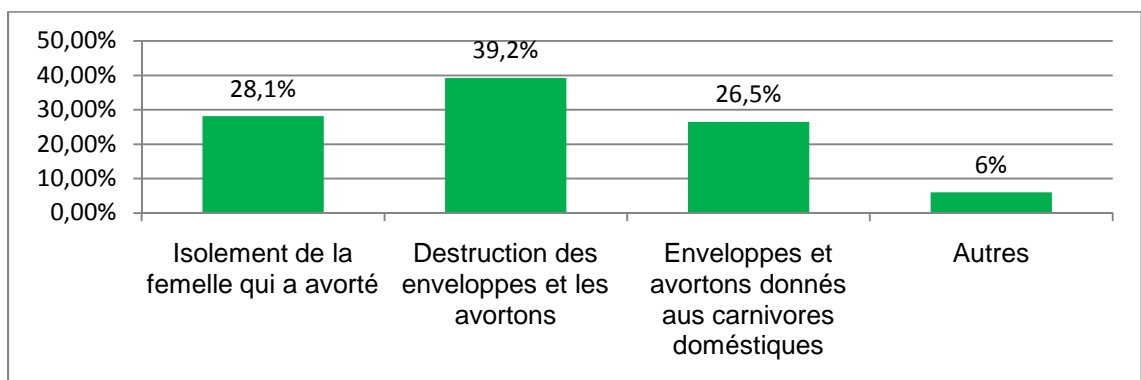


Figure 6.8 : réaction des éleveurs en cas d'avortement

La plupart des éleveurs (39,22%) font la destruction de l'avorton et les enveloppes fœtales. Le pourcentage des éleveurs qui isolent la femelle qui a avorté est de 28,1%. La catégorie des éleveurs, distribuant les enveloppes et les

avortons aux carnivores domestiques, représente 26,5%. Pour la proposition \*autre\* les éleveurs ont répondu qu'ils procédaient à la désinfection de l'endroit de l'avortement.

### Question N°6

Quelle est la façon de renouvellement de cheptel ?

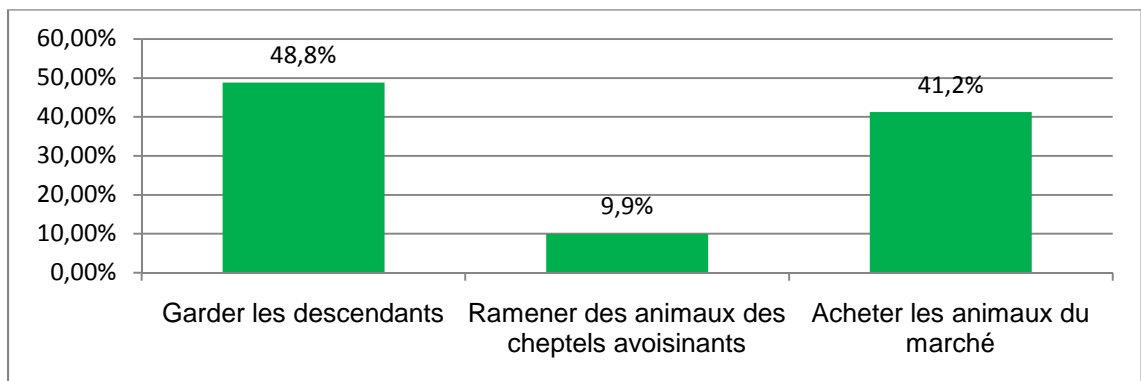


Figure 6.9 : façon de renouvellement de cheptel

La majorité des éleveurs (48,8%) gardent les descendants pour le renouvellement de cheptel. Dans 41,2% des cas les éleveurs préfèrent acheter des animaux du marché afin de renouveler le cheptel, alors que 9,9% des éleveurs ramènent les animaux des cheptels avoisinants.



### Question N°7

Comment réagissez-vous devant un nouvel animal dans l'exploitation ?

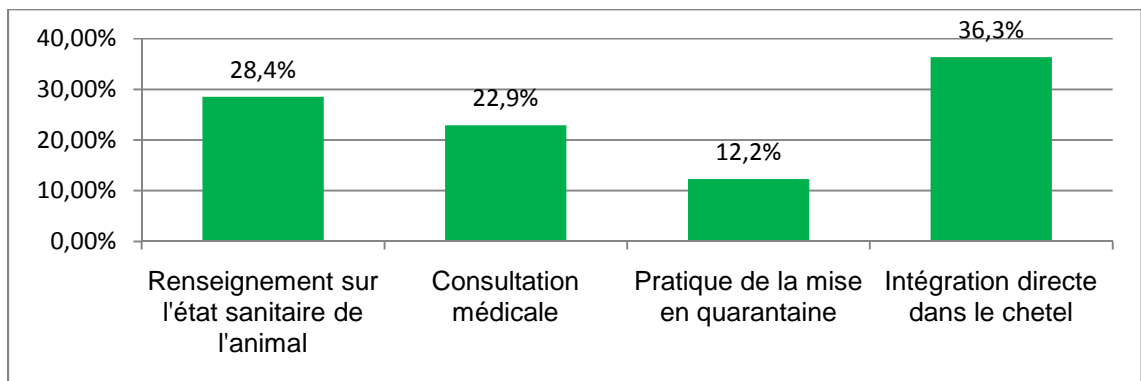


Figure 6.10 : réaction en cas d'introduction d'un nouvel animal

La plupart des éleveurs (36,3%) intègrent le nouvel animal directement dans le cheptel. Certains d'autres (28,4%) se renseignent sur l'état sanitaire de l'animal auprès de son ancien propriétaire, ou lui ramènent un vétérinaire pour une consultation médicale. La mise en quarantaine est pratiquée par 12,2% des éleveurs.

### 6.2.5. Discussion :

#### 6.2.5.1. Etude des facteurs de risque liés aux avortements :

Le questionnaire élaboré et destiné aux éleveurs des petits ruminants a touché les wilayas de la région Centre de l'Algérie. Les éleveurs enquêtés (154 éleveurs) ne possèdent pas une grande expérience (entre 1 à 5 ans et 5 à 10 ans) de nature héréditaire (transfert de la profession d'une génération à une autre) ou d'investissement.

D'après les réponses obtenues, on constate que les avortements chez les femelles des petits ruminants sont fréquents et ils sont rencontrés 1 ou 2 cas par cheptel par an (64,9%) ou parfois plusieurs cas par cheptel par an (17,5%). Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par LOUNES, [136].

Ces avortements sont observés tout au long de l'année mais beaucoup plus en hiver (22,4) et en automne (16,8). La plupart des avortements observés ont une allure sporadique (57,6%) ou faiblement enzootique (10,4%), surviennent en milieu (16,8%) et en fin (32%) de la gestation. Ces résultats nous orientent vers la suspicion des différentes maladies abortives d'origine infectieuse qui pour la plupart surviennent en milieu ou en fin de la gestation et ont une allure sporadique ou faiblement enzootique à l'exception de quelques maladies comme la brucellose [139], [140].

Concernant les symptômes associés aux avortements, la majorité des éleveurs ont remarqué que les avortements s'accompagnent de métrite (39,2%) et de rétention placentaire (38,5%). Ces résultats pourraient limiter les agents de suspicion des maladies abortives. Les plus suspectés sont : la brucellose, la salmonellose, la chlamydie, la fièvre Q, la campylobactériose [56].

Pour les réactions des éleveurs face aux avortements nos résultats indiquent que 39,2% des éleveurs détruisent les placentas et les enveloppes fœtales. L'isolement systématique de la femelle qui a avorté n'est appliqué que dans 28,1% des cas, ce résultat est proche de celui trouvé par KHALED et BOUYOUCEF, [137] qui ont rapporté 27%. Le non isolement de la femelle qui a avorté favorise la dissémination des germes dans le cheptel suite au contact des

animaux sains avec la femelle qui a avorté ou avec les produits de l'avortement [140].

La part des éleveurs qui donnent les placentas et les enveloppes fœtales aux carnivores domestiques présente un pourcentage non négligeable. Ces carnivores permettent la dissémination des germes d'une façon directe par le biais des produits de l'avortement qui circulent entre les animaux ou indirectement après que les carnivores soient infectés et devenus excréteurs des germes surtout par les sécrétions génitales [141], [142].

Notre étude rapporte que 48,8% des éleveurs des petits ruminants gardent les descendants pour renouveler leurs cheptels de telle façon que toutes les femelles soient gardées et un seul mâle est gardé pour la reproduction. Bien que les agnelles, nées de brebis ayant avortées et conservées pour le renouvellement du troupeau, sont exposées à l'avortement à leur tour lors de leurs premières saisons de reproduction, parce que une brebis infectée peut transmettre l'agent pathogène à ses agneaux in utero ou par contact direct en cas de Chlamydie abortive, ce qui présente un facteur de transmission, des femelles génitrices aux femelles de renouvellement, de l'un des principaux agents abortifs [55], [29]. 41,2% des éleveurs préfèrent acheter des animaux du marché. Un pourcentage de 9,95% des éleveurs ramènent des animaux, principalement le mâle, des cheptels avoisinants pour renouveler leurs cheptels, or l'emprunt de mâle qui est une pratique courante en période de lutte n'est pas sans risque, car les mâles peuvent être infectés et transmettre par voie vénérienne de multiples germes. Ceci a été prouvé pour la brucellose [143], la Chlamydie [90]. Cette pratique présente à la fois un facteur de diffusion des germes dans le cheptel parce que le mâle est destiné à toutes les femelles, et un facteur d'introduction parce qu'il est ramené des cheptels avoisinants qui peuvent être infectés.

En ce qui concerne la réaction de l'éleveur face à un nouvel animal dans l'exploitation nous avons constaté que la majorité (36,3%) intègrent le nouvel animal directement dans le cheptel. 28,4% des éleveurs extraient les informations nécessaires sur l'état de santé de l'animal auprès de leur ancien propriétaire. Ces résultats montrent l'existence d'un facteur de risque très important qui est le facteur d'introduction de nombreux agents pathogènes notamment les agents

bactériens abortifs, par le biais des femelles qui ont présenté des antécédents d'avortements ou les mâles dont leur rôle est précédemment expliqué.

#### 6.2.5.2. Définition des facteurs de risque liés à la Chlamydie abortive à partir de l'enquête par questionnaire :

Les résultats de la 2<sup>ème</sup> question (appendice B) montrent que les avortements sont rencontrés chaque année avec de faibles taux. L'explication revient aux animaux infectés et après être immunisés continuent à excréter les germes et infectent les nouveaux animaux et les jeunes, c'est le cas de *Chlamydia* [65] et d'autres agents. Dans l'enquête menée par KHAMMASSI-KHABOU et al., [109], le paramètre historique de l'avortement représente un facteur de risque avec une différence significative pour les principales maladies abortives dont la Chlamydie abortive est la plus importante.

Selon les résultats de la 5<sup>ème</sup> question, la réaction de l'éleveur face aux avortements favorise la dissémination de *C. abortus* surtout le non isolement de la femelle qui a avorté et la non destruction des produits de l'avortement.

La plupart des agents abortifs se transmettent par voie transplacentaire de la mère au fœtus, cela signifie que les descendants peuvent être infectés ce qui constitue une source de diffusion des agents pathogènes. Les résultats de la 6<sup>ème</sup> question indiquent que la majorité des cheptels sont renouvelés par les descendants, ramènent des animaux des cheptels avoisinants ou achètent des animaux du marché. Les réponses de la 7<sup>ème</sup> question montrent que dans la plupart des cas, les nouveaux animaux sont introduits directement dans le cheptel. KHAMMASSI-KHABOU et al., [109], dans ses études ont trouvé que l'emprunt de bélier, l'introduction de nouveaux animaux et l'avortement chez les voisins sont des facteurs de risque impliqués dans la survenue de l'avortement et principalement la Chlamydie abortive.

D'après la synthèse bibliographique certains facteurs favorisent la Chlamydie abortive. Se sont les facteurs d'introduction de *C. abortus* suite à l'introduction d'un nouvel animal, qui peut être infecté, dans un cheptel sain, les facteurs de

diffusion lors de renouvellement du cheptel et les réactions des éleveurs après un avortement. Les résultats de notre enquête montrent que la majorité des éleveurs enquêtés pratiquent ces risques (question 5, 6, 7).

L'addition de ces résultats nous oriente vers la suspicion de l'existence probable de *C. abortus* parmi les autres agents abortifs. Cet agent infectieux touche les petits ruminants dont l'infection se traduit par des avortements, des métrites et des rétentions placentaires [54].

Sur la base de l'enquête par questionnaire, on a constaté que la majorité des pratiques suivies par les éleveurs constituent des facteurs de risque favorisant la dissémination de plusieurs agents pathogènes notamment celui responsable de la Chlamydie abortive. La suspicion que *C. abortus* est l'un des agents responsables d'avortements n'étant pas exclue. Ceci nécessite une confirmation qui a constitué notre objectif dans le second volet de la présente étude.

## 6.3. VOLET 2 : Enquête sérologique

### 6.3.1. Matériel et méthodes :

#### 6.3.1.1. Présentation de la zone d'étude :

Les wilayas de Médéa, Ain Defla et Djelfa constituent notre zone d'étude. La wilaya de Médéa se situe au cœur de l'Atlas Tellien, elle est caractérisée par ses reliefs qui divisent la wilaya en quatre zones : Le tell montagneux : c'est une région au relief marqué, au climat rude, peu peuplée. Le tell collinéen : région de peuplement avec activité agricole, les plaines du tell : vouées à la céréaliculture et élevage et le piémont méridional du tell : une zone de transition vers les hautes plaines steppiques où la céréaliculture est la plus répandue [144]. La wilaya de Ain Defla occupe une position centrale relais entre l'Est et L'Ouest, le Nord et le Sud. Elle présente un climat méditerranéen semi-aride avec un caractère de continentalité très marqué. La superficie agricole totale présente 51,8% de la superficie totale de la wilaya [145]. La wilaya de Djelfa est située dans la partie centrale de l'Algérie du Nord au-delà des piémonts Sud de l'Atlas Tellien. Le climat est nettement semi-aride à aride. Djelfa est une wilaya steppique où prédomine l'élevage ovin extensif [146].

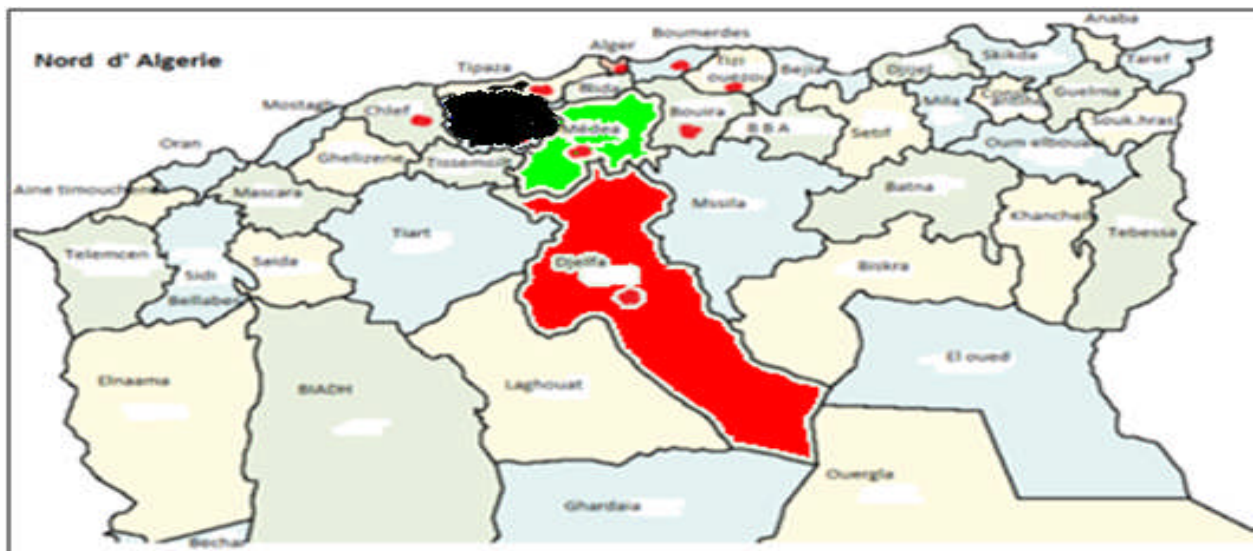


Figure 6.11 : carte géographique des trois wilayas étudiées

### 6.3.1.2. Prélèvement :

Les échantillons ont été prélevés à partir des animaux appartenant aux élevages de type sédentaire, non vaccinés contre la Chlamydie abortive. La taille moyenne des troupeaux est de 60 têtes.

Durant la période de décembre 2012 à avril 2013 un total de 102 prélèvements sanguins a été réalisé, sur des femelles adultes des petits ruminants (brebis et chèvres) ayant avortées ou mis bas, dans 14 élevages sélectionnés au hasard, répartis dans trois wilayas du Centre. Les animaux dont on a prélevé le sang n'ont pas été marqués et la composition des cheptels change fréquemment.

Le sang a été prélevé de la veine jugulaire des brebis et des chèvres à l'aide des seringues stériles. Des tubes secs ont été utilisés pour la récolte. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche commémorative, recueillie auprès des éleveurs, correspondant aux références de l'animal notamment l'espèce, l'âge, les antécédents de la reproduction et autres (Appendis C). Le sang est laissé décanter à la température de laboratoire puis centrifuger à 1500 X pendant 10 minutes. Les sérums sont versés dans les eppendorfs et conservés à - 20°C.

### 6.3.1.3. Analyse de laboratoire :

Les sérums ont été envoyés en France pour les analyser au laboratoire Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), laboratoire de santé animale, Maison-Alfort. France, par la technique ELISA indirect.

Le kit ELISA utilisé est **ID VET** (innovative diagnostics, Montpellier - France), pour la recherche des anticorps de *C. abortus* (appendice D). La particularité de ce test c'est qu'il utilise un antigène synthétique issu de la MOMP (Majeur Outer Membrane Protein) présentant une spécificité pour *C. abortus*, ce qui élimine les réactions croisées avec *C. pecorum*.

### 6.3.2. Résultat :

Sur les 102 sérums prélevés 7 sérums étaient positifs. Lorsqu'au moins un animal présente une sérologie positive, nous avons considéré l'élevage positif. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel STATISTICA, une marge d'erreur de 5% a été choisie. L'interprétation a pris en considération certains paramètres :

- **A l'échelle du troupeau selon :**
  1. Taille.
  2. Antécédents d'avortements.
  3. Composition du troupeau (ovins/caprins).
  
- **A l'échelle de l'individu selon :**
  1. Age.
  2. Espèce.
  3. Symptômes.



## 1. A l'échelle du troupeau :

Tableau 6.10 : répartition des cas positifs au sein des élevages

Elevage	Nombre d'animaux testés	Nombre d'animaux positifs	Pourcentage
Elevage 1	7	0	0,0%
Elevage 2	8	2	25%
Elevage 3	6	0	0,0%
Elevage 4	5	0	0,0%
Elevage 5	7	1	14,3%
Elevage 6	7	0	0,0%
Elevage 7	6	0	0,0%
Elevage 8	8	0	0,0%
Elevage 9	10	3	30%
Elevage 10	7	0	0,0%
Elevage 11	8	0	0,0%
Elevage 12	6	0	0,0%
Elevage 13	8	1	12,5%
Elevage 14	9	0	0,0%

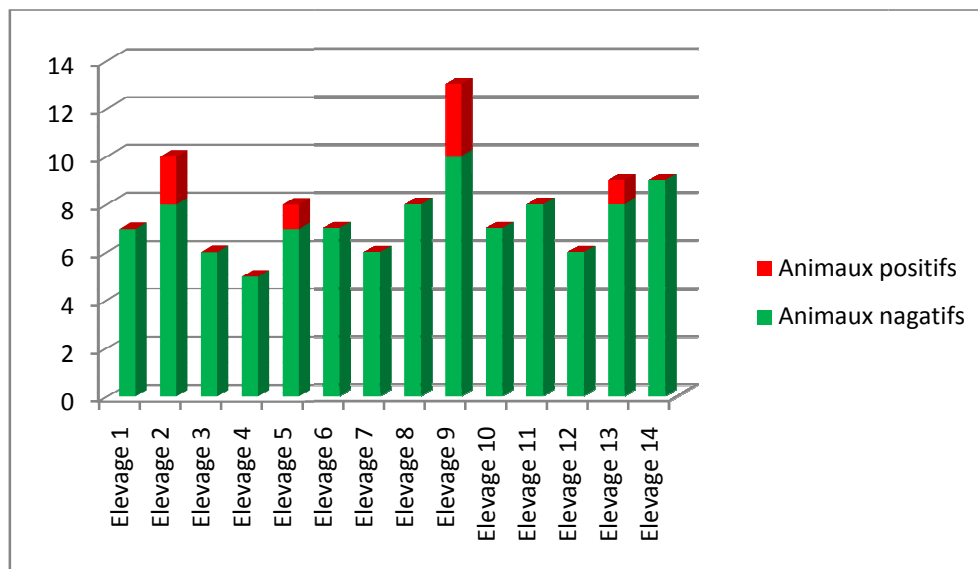


Figure 6.12 : répartition des cas positifs au niveau des élevages

Les taux d'atteinte étaient très variables selon les élevages, avec une différence nettement significative vérifiée par le test du Chi-deux. Seulement 4 élevages, parmi les 14 prélevés, étaient séropositifs parce qu'ils ont présentés au moins 1 animal séropositif. Le taux d'atteinte à l'échelle du troupeau est de 28,6%. Les proportions des animaux séropositifs des 4 élevages ne dépassent pas les 30%.

### 1.1. Taille :

Tableau 6.11 : répartition des cas positifs en fonction de la taille des troupeaux

Taille	Nombre de troupeau testé	Nombre de troupeau positif	Pourcentage
≥ 100	5	3	60%
< 100	9	1	11,2%

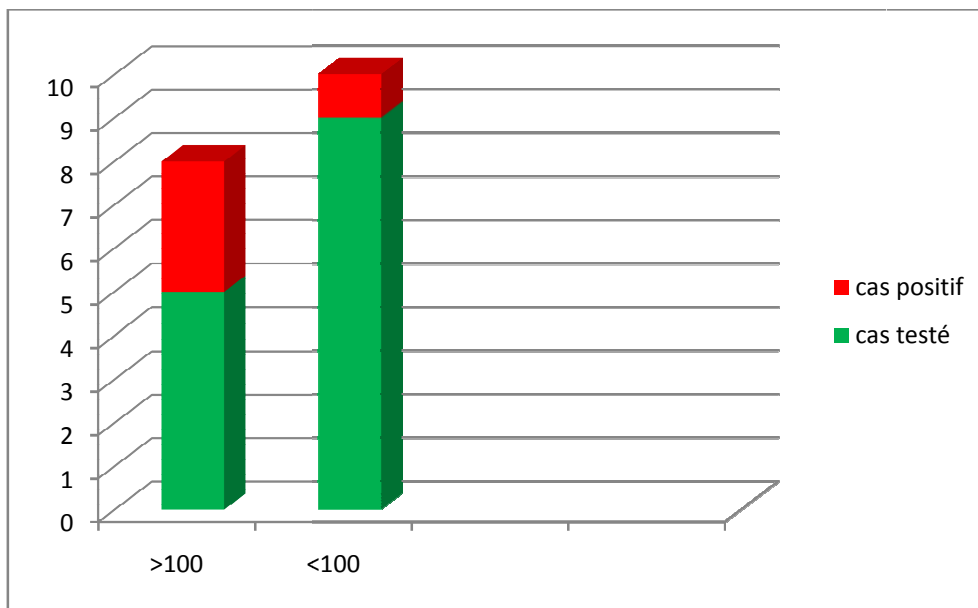


Figure 6.13 : répartition des cas positifs en fonction de la taille des troupeaux

Selon la taille, les troupeaux étaient divisés en deux catégories. La première qui englobe 100 animaux ou plus a présenté un taux de 60%, quant à la deuxième, elle a comporté des troupeaux avec moins de 100 individus et n'ont présenté qu'un pourcentage de 11,2%. L'analyse statistique indique l'existence de différence significative avec un  $p=0,05$ .

## 1.2. Antécédents d'avortements :

Tableau 6.12 : répartition des cas positifs selon les antécédents d'avortements

Antécédents d'avortements	Nombre de troupeau testé	Nombre de troupeau positif	pourcentage
Avec	8	3	37,5%
Sans	6	1	16,7%

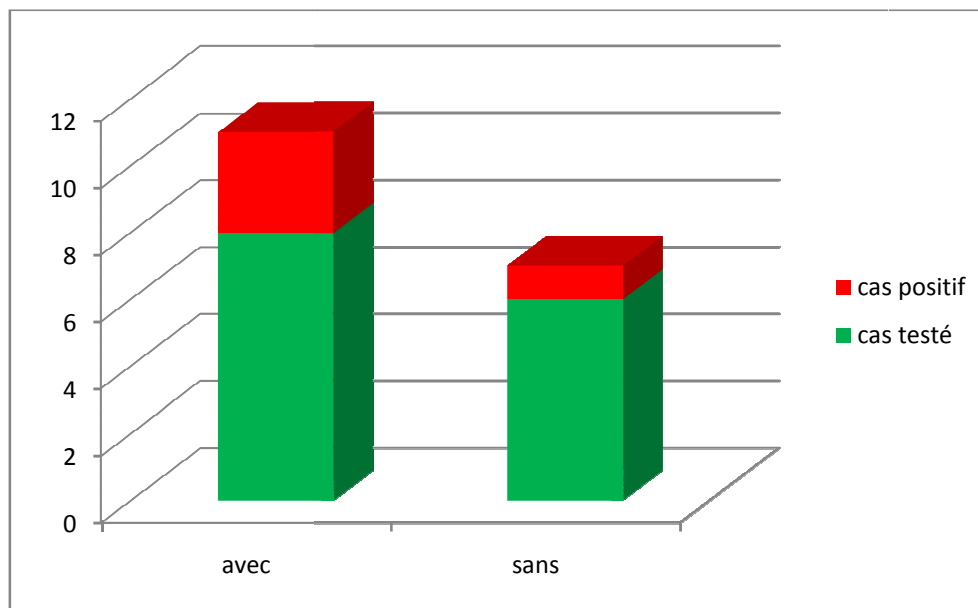


Figure 6.14 : répartition des cas positifs selon les antécédents d'avortements

Parmi les élevages avec des antécédents d'avortements, un taux d'atteinte moyen a été observé. Un pourcentage de 37,5% pour 3/8 élevages enquêtés possédaient au moins un animal séropositif. Seulement 1 élevage parmi les 6 sans antécédent était séropositif, soit un taux de 16,7%. L'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative,  $p=0,39$ .

### 1.3. Composition du troupeau :

Tableau 6.13 : répartition des cas positifs en fonction de la promiscuité ovins/caprins

Cohabitation	Nombre de troupeau testé	Nombre de troupeau positif	Pourcentage
Avec	6	1	16,7%
Sans	8	3	37,5%

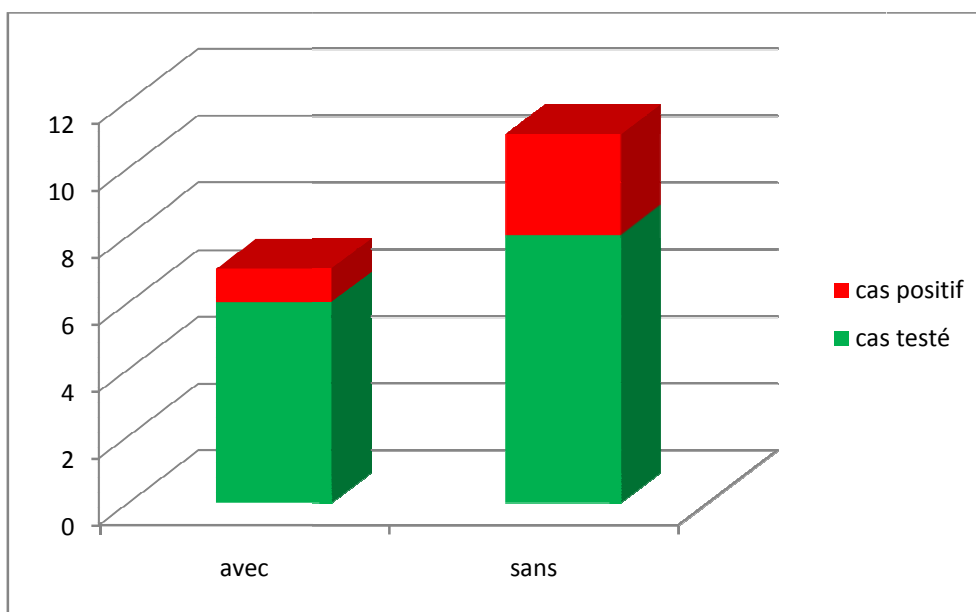


Figure 6.15 : répartition des cas positifs en fonction de la promiscuité ovins/caprins

Les taux d'atteinte étaient variables selon la composition des cheptels, avec une différence significative. Uniquement 1 élevage parmi les 6, dont les animaux vivent en promiscuité, était séropositif avec un taux de 16,7%. Un taux plus élevé (37,5%) était observé pour les troupeaux d'ovins sans cohabitation avec les caprins.

## 2. A l'échelle de l'individu :

### 2.1. Tranche d'âge :

Tableau 6.14 : répartition des cas positifs selon l'âge

Age	Nombre d'animaux testés	Nombre d'animaux positifs	pourcentage
2 ans	21	1	4,8%
3 ans	21	0	0,0%
4 ans	24	4	16,7%
5 ans	26	1	3,9%
6 ans	10	1	10%

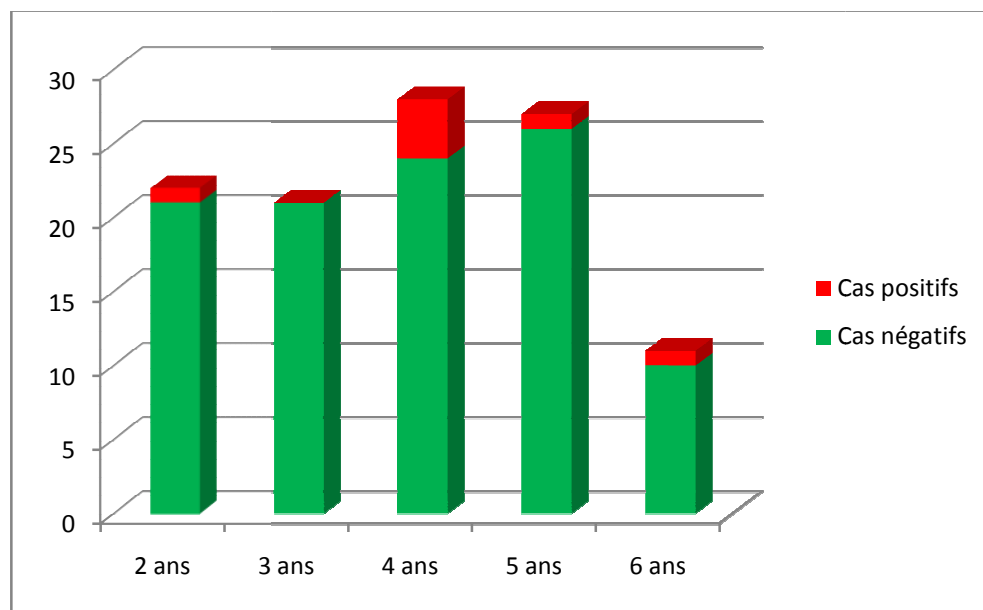


Figure 6.16 : répartition des cas positifs selon la tranche d'âge

Le test statistique n'a pas montré de différence significative entre la séropositivité et la tranche d'âge ( $p=0,21$ ). Le taux le plus élevé (16,7%) était observé chez les femelles multipares âgées de 4 ans avec 4 cas positifs parmi les 24 testées. Les femelles âgées de 6 ans ont présenté un taux de 10% avec 1/10 était positif. Les primipares (femelles âgées de 2 ans) n'ont présenté que 4,8% de séropositivité avec 1/21 testés.

## 2.2. Espèce :

Tableau 6.15 : distribution des cas positifs selon l'espèce

Espèce	Nombre d'animaux testés	Nombre d'animaux positifs	Pourcentage
Ovine	84	7	8,33%
Caprine	18	0	0,0%

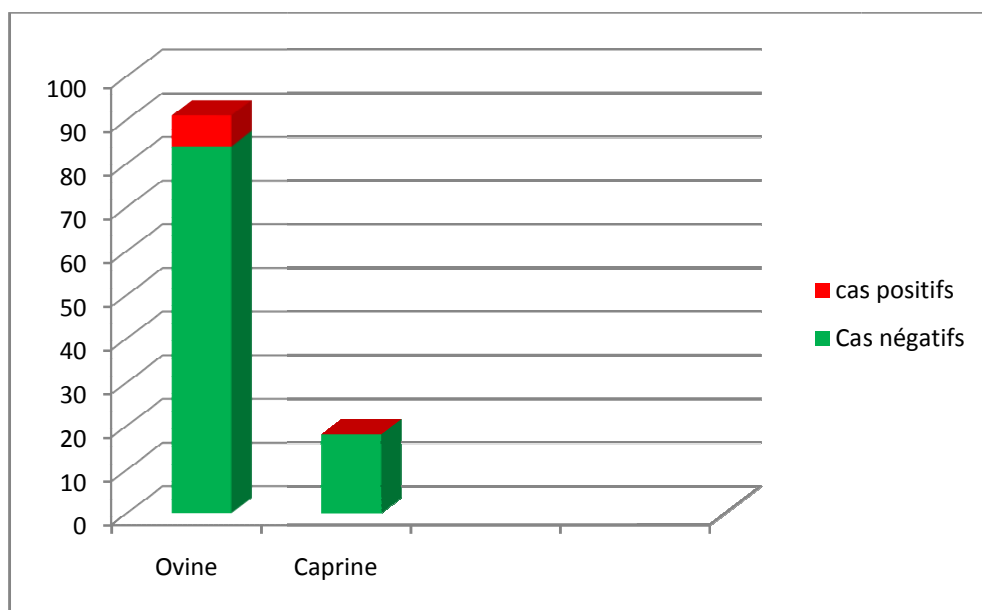


Figure 6.17 : distribution des cas positifs selon l'espèce

Les 7 cas positifs constatés étaient des ovins avec un taux de 8,33%. Aucun cas n'est trouvé chez les caprins prélevés. Le test de Chi-deux a révélé une différence nettement significative entre la séropositivité et l'espèce ( $p < 0,05$ ).

### 3.2. Stade physiologique/ symptômes :

Tableau 6.16 : distribution des cas positifs en fonction des symptômes

Symptômes	Nombre d'animaux testés	Nombre d'animaux positifs	pourcentage
Mise bas	32	3	9,4%
Avortement	59	1	1,7%
Mortinatalité	11	3	27,3%

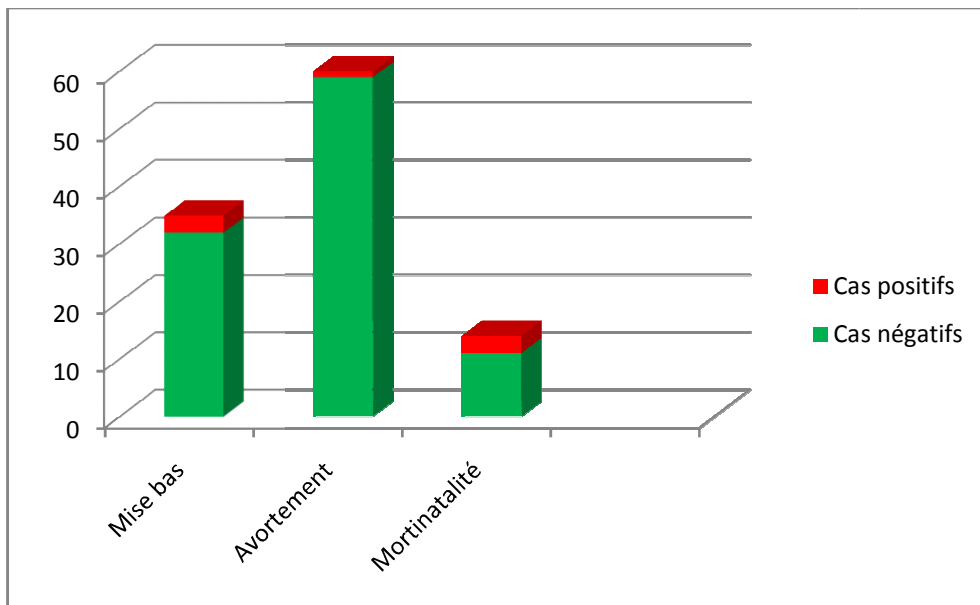


Figure 6.18 : distribution des cas positifs en fonction des symptômes

Les femelles testées étaient en stade physiologique normal présentées par celles ayant mi-bas sans symptômes spécifiques, ou les femelles présentant des troubles de reproduction spécialement l'avortement ou la mortinatalité (nouveau-né meurt à la naissance ou quelques heures après). Le taux d'atteinte était de 27,3% pour les femelles avec mortinatalité et 9,4% pour celles sans troubles. Alors qu'un seul cas séropositif est trouvé chez les femelles ayant avortées malgré le nombre élevé de ces dernières. Les différences observées entre les résultats sont statistiquement significatives ( $p < 0,05$ ).

### 6.3.3. Discussion :

La Chlamydie abortive des petits ruminants paraît l'une des causes engendrant les avortements en Algérie [4], [5], néanmoins la vraie situation épidémiologique reste mal connue. Ceci est dû au manque de sensibilisation des vétérinaires praticiens, dont la majorité ignore le rôle des *Chlamydiaceae* dans les avortements des ruminants, et de données concernant l'éventuelle importance de la Chlamydie abortive dans les cheptels algériens. Dans le présent travail, on a essayé d'étudier la circulation de *C. abortus* dans certaines wilayas de la région Centre à savoir Médéa, Djelfa et Ain Defla. Comme la vaccination contre la Chlamydie abortive des petits ruminants n'est pas pratiquée en Algérie, les anticorps détectés impliquent une réponse naturelle contre *C. abortus*.

Le test utilisé dans notre enquête est l'ELISA indirect bien que l'OIE recommande la RFC pour le diagnostic de la Chlamydie [127]. L'inconvénient de RFC qu'elle ne peut être utilisée pour l'analyse des sérums individuels et doit être fait trois semaines après l'avortement ou la mise bas [16]. Plusieurs auteurs ont privilégié le test ELISA après la comparaison des résultats obtenus par l'ELISA et la RFC. ALJ DEBBARH et al., [147], [148], dans les études réalisées au Maroc, ont montré que la RFC présente beaucoup de limites concernant la non distinction entre une infection à *C. abortus* et une infection à *C. pecorum*, les réactions croisées, et la différenciation entre animaux infectés et ceux vaccinés. KHAMMASSI-KHABOU et al., [109], ont trouvé aussi que l'ELISA est plus performante que la RFC.

D'après les résultats obtenus par ELISA, un taux d'atteinte de 28,6% a été déterminé à l'échelle du troupeau. Les 10 élevages dans lesquels toutes les femelles étaient séronégatives ne pouvaient en aucun cas être considérés indemnes de Chlamydie abortive. Ce résultat est probablement dû à la technique d'échantillonnage ce qui suggère donc une séropositivité probable suivant le nombre d'animaux prélevés concernant les élevages 1, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12 et 14. Notre taux d'atteinte est inférieur à celui trouvé par HIRECHE et al., [5] dans le Nord-Est de l'Algérie qui représente 70,4%, la différence peut être due à la taille de l'échantillon prélevé ou bien au kit ELISA utilisé. HIRECHE a utilisé



le kit « LSIVET Ruminant Serum Chlamydiosis, France » qui détecte à la fois les anticorps anti-*C. abortus* et anti-*C. pecorum* sans faire la différence entre les deux espèces, quant à notre kit (ID VET « innovative diagnostics, Montpellier – France » détecte seulement les anticorps anti-*C. abortus*. Comparant notre résultat avec ceux trouvés dans les pays avoisinants, on trouve qu'au Maroc, EL JAI et al., [74], ont rapporté le même résultat (28,6%) au niveau des troupeaux des petits ruminants dans les zones pastorales mais inférieur à celui rapporté par BENKIRANE, et al.,[149] et EL IDRISSE, et al. [150], qu'ils ont trouvé 39% et 72,2% respectivement. En Tunisie REKIKI et al., [73], ont rapporté que 65% des troupeaux étaient séropositifs quant à KHAMMASSI-KHABOU et al., [109], ont trouvé un taux inférieur représenté par 6,25%. Dans la majorité des études citées la RFC était l'outil de diagnostic et l'échantillon a ciblé les femelles ayant avortées ou mi-bas normalement.

La majorité des sérums positifs a appartenu aux troupeaux dont la taille était de 100 animaux ou plus avec un taux de 60%. L'analyse statistique avec le Chi-deux a révélé de différence significative entre la taille du troupeau et la séropositivité ( $p=0,05$ ). Ce résultat est le même trouvé en Jordanie par AL. QUDAH et al., [75]. Donc plus la taille du troupeau est élevée plus la chance de détection d'anticorps anti-*C. abortus* est importante, parce que s'il y a une femelle infectée dans un grand troupeau elle va jouer le rôle de réservoir et contaminer le reste des femelles grâce à ses sécrétions vaginales chargées de germe chez les ovins et les caprins [65], [55].

L'étude de l'influence des antécédents de l'avortement sur la séropositivité a reflété un taux 37,5% pour les troupeaux avec antécédent contre 16,7% pour les troupeaux sans antécédent bien que l'analyse statistique n'a pas confirmé la différence significative ( $p>0,05$ ). Notre résultat est identique à celui trouvé par HIRECHE et al., [5]. KHAMMASSI-KHABOU et al., [109], ont rapporté une différence nettement significative ( $p<0,0001$ ) entre les antécédents abortifs et la survenue des avortements, notamment en cas de la Chlamydie abortive et ont donné comme explication que même après être immunisés, les femelles infectées, continuent à excréter les germes et infectent les nouveaux animaux et les jeunes.

Une différence significative était confirmée ( $p < 0,05$ ) entre la composition du troupeau et le taux d'atteinte. 16,7% était le taux trouvé à l'échelle des troupeaux dont les animaux vivent en promiscuité alors que les troupeaux sans promiscuité ont présenté un taux de 37,5%. Ceci ne supprime pas le rôle de la cohabitation parce que *C. abortus* touche aussi bien les ovins et les caprins [29]. Le résultat pourrait être expliqué par le nombre limité de caprins existants dans les troupeaux d'ovins prélevés.

Le taux d'atteinte à l'échelle individuel était de 6,9%. Comparant notre taux avec ceux déterminés dans les autres pays avoisinants, on le trouve presque identique au taux déterminé en Tunisie (6,05%) [108], et inférieur à celui trouvé par REKIKI et al., [73], qui représente 21% et par KALENDER, et al., [77] en Turquie (9,86%)

Le taux d'atteinte semble élevé chez les femelles multipares âgées de 4 à 6 ans (10 à 16,7%) que chez les primipares âgées de 2 ans (4,8%) quoique le test de Chi-deux n'a pas montré de différence significative ( $p > 0,05$ ). Ceci peut être dû à l'échantillonnage parce qu'on n'a pas ciblé des lots à âge particulier, si on revient à notre tableau de prélèvement (appendice C) on trouve que l'échantillon était constitué en grande partie soit de multipares ou de primipares. HIRECHE et al., [5], ont trouvé une différence significative et la séropositivité augmente avec l'âge, au contraire AL. QUDAH et al., [75], ont rapporté un taux plus élevé chez les jeunes femelles (1 à 2 ans) où pas de différence significative n'est signalée.

Une différence nettement significative était confirmée par le test de Chi-deux ( $p < 0,05$ ) entre la séropositivité et l'espèce, le taux d'atteinte était 8,33% pour l'espèce ovine. L'espèce caprine n'a révélé aucun résultat positif (0%), ceci peut être lié au nombre limité de caprins prélevés, 18 caprins contre 84 ovins. Dans notre étude on n'a pas prélevé des troupeaux constitués seulement de caprins mais des cas où généralement une tradition consiste à mettre 2 ou 3 tête de caprins avec les ovins, en plus le nombre de têtes de caprins reste inférieur à celui des ovins (4 millions de caprins/ 25 millions d'ovins) [1], [2]. HIRECHE et al., [5], ont indiqué un taux de 24,5% chez les ovins. Les taux trouvés chez les ovins étaient 21,5% au Maroc [150] et 49,3% en Cote d'Ivoire [151]. En Jordanie 21,8%

et 11,4% étaient les taux détectés chez les ovins et les caprins respectivement [75].

Les femelles ayant perdues leurs nouveaux nés ont présenté le taux le plus élevé (27,3%) suivi par celles sans troubles (9,4%), alors qu'un seul cas séropositif (1,7%) était trouvé chez les femelles ayant avortées malgré le nombre élevé de ces dernières. L'analyse statistique a bien révélé l'existence de différence significative ( $p < 0,05$ ). La mortinatalité est l'un des symptômes de la Chlamydie abortive chez les petits ruminants [16], dans notre échantillon parmi les 11 cas de femelles avec mortinatalité 8 femelles sont des multipares ce qui suggère que ces femelles après être infectées elles ont acquis une immunité les protégeant contre l'avortement mais pas contre les autres symptômes comme la mortinatalité. Concernant les cas ayant une sérologie positive sans avoir des troubles, on suggère qu'ils étaient infectés auparavant et après l'installation de l'immunité ils restent séropositifs pendant longtemps [3], [60] [69], [70].

Un taux de 1,7% a été trouvé chez femelles ayant avortées malgré le nombre élevé de ces dernières, pour ce cas on suggère que les avortements étaient soit causés par d'autres agents abortifs (*Brucella*, *Coxiella* et autres) soit de nature non biologique. Comparant nos résultats avec ceux rapportés par HIRECHE et al., [5], on les trouve identiques, concernant la mortinatalité ils ont montré que la chance de trouver les anticorps anti-*Chlamydia* augmente chez les femelles exprimant des problèmes de mortinatalité. Au Maroc BENKIRANE et al., [149] et EL IDRISSE et al., [150], ont rapporté que les résultats positifs chez les brebis ayant avortées étaient plus élevés que ceux des brebis ayant mi-bas normalement, avec un taux de 24%/11% et 14,8%/6,7% pour chaque catégorie respectivement.

Sous la lumière des résultats constatés, on déduit que la Chlamydie abortive des petits ruminants causée par *C. abortus* sévit dans notre zone d'étude (Médéa, Djelfa et Ain Defla). La taille de troupeau et leur composition paraissent les principaux paramètres influençant le taux d'atteinte au niveau du troupeau. Le taux d'atteinte individuel se différencie avec l'espèce animale (ovine ou caprine) et le stade physiologique des femelles.

## CONCLUSION

La Chlamydie abortive chez les petits ruminants est une maladie abortive, qui en plus des pertes économiques engendrées, elle constitue une source de contamination pour l'homme. La prévention des risques causés par cette maladie ne peut être établie que par la recherche des facteurs favorisant sa présence, le diagnostic et l'estimation de l'importance de la Chlamydie abortive dans nos cheptels.

Les résultats de la présente étude, nous ont montré que la majorité des pratiques suivies par les éleveurs favorisent la dissémination d'une panoplie d'agents pathogènes. La réaction des éleveurs face aux avortements et la façon de renouvellement du cheptel favorisent principalement la Chlamydie abortive. L'étude sérologique, à l'aide de l'ELISA indirect, nous a prouvé la suspicion de la circulation de *C. abortus* dans les cheptels des petits ruminants avec un taux de 28,6% mais seulement dans trois wilayas de la région centre (Médéa, Djelfa et Ain Defla).

## RECOMMANDATION

A l'issue du présent travail, afin de contrôler la circulation des agents abortifs principalement celui responsable de la Chlamydie abortive et les problèmes qui peuvent en découler, il est recommandé de :

### 1. Au niveau du pouvoir public :

- organisation des journées de sensibilisation des éleveurs vers les bonnes pratiques de l'élevage.
- En cas de la Chlamydie abortive, si la sérologie est le seul moyen disponible de diagnostic, il est souhaitable d'utiliser des kits ELISA spécifiques pour une espèce, particulièrement le kit IDVET qui détecte seulement les anticorps spécifiques de *C. abortus* et qui est utilisé comme kit de référence.
- utilisation des outils récents de diagnostic de la Chlamydie abortive.

### 2. Au niveau de l'élevage :

- 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.
- interdire le changement des mâles entre les troupeaux.
- ne pas laisser les placentas, les avortons et les agneaux morts nés à la disposition des carnivores.
- séparer les femelles prêtes à mettre bas des femelles ayant avortées.

## PERSPECTIVES

En Algérie la sérologie était depuis longtemps et demeure la méthode principale de dépistage des maladies abortives.

D'une manière générale et principalement pour la Chlamydie abortive le dépistage sérologique ne présente pas l'outil de choix compte tenu, de ses inconvénients qui se résument par les réactions croisées et la confusion entre animaux vaccinés et ceux infectés. Donc pour avoir des résultats fiables il est souhaitable d'utiliser des méthodes récentes de diagnostic.

Il est aussi intéressant d'élargir les enquêtes sur les différentes espèces (bovins, équins,...) ainsi que sur une zone d'étude plus étendue.

## APPENDICE A

### LISTES DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

Avort : Avortement

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire

BGM : Buffalo green monkey

BHK : Baby hamster kidney

*C* : *Chlamydia*

*Cph* : *Chlamydophila*

C° : Degré celsius

CE : Corps élémentaire

cELISA : Compétition ELISA

CR : Corps réticulé

DO : Densité optique

DO<sub>cp</sub> : Densité optique des contrôles positifs

DO<sub>cn</sub> : Densité optique des contrôles des contrôles négatifs

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

IF : Immunofluorescence

IFI : Immunofluorescence indirecte

LGV : lymphogranulomatose vénérienne

LPS : lipopolysaccharide

Mb	: Mise-bas
McCoy	: Lignée de cellules synoviales humaines
Min	: Minute
MLST	: Multilocus Sequence Typing.
MLVA	: Multi-Loci VNTR « variable number of Tandem Repeats » Analysis
MOMP	: Major outer membrane protein
Mtn	: Mortinatalité
Nm	: Nanomètre
Omp	: Outer membrane complex
OIE	: Office international des épizooties
PCR	: Polymerase chain reaction
PCR-RT	: Polymerase chain reaction en temps réel
Pmp	: Polymorphic membrane proteins
rELISA	: Recombinant ELISA
RFC	: Réaction de fixation du complément
µm	: Micromètre
µl	: Microlitre



## APPENDICE B

### Questionnaire destiné aux éleveurs des petits ruminants.

Questionnaire destiné aux éleveurs des petits ruminants dans le but d'obtenir des informations sur les avortements et les facteurs de risque.

Remarque: les termes scientifiques sont simplifiés par le vétérinaire chargé de faire le questionnaire.

Région :.....

Questionnaire N° :.....

Nom de l'éleveur :....

#### 1-De puis quand êtes vous dans le domaine de l'élevage ?

- 1 à 5 ans.
- 5 à 10 ans.
- 10 à 20 ans.
- Plus de 20 ans.

#### 2-Rencontrez-vous des avortements dans vos élevages ?

- Jamais.
- 1 ou 2 cas par cheptel par an.
- Plusieurs cas par cheptel par an.

#### 3-Comment se présentent les avortements?

##### Allure :

- Sporadique
- Enzootique
- Variable

##### Stade de gestation :

- Début
- Milieu
- Fin
- Variable

##### saison :

- Automne
- Hiver
- Printemps
- Été
- Variable

#### 4-Quels sont les symptômes qui sont associés aux avortements ?

- Rétentions placentaires.
- Métrite.
- Autre.

### **5-comment réagissez-vous devant un avortement ?**

- Vous isolez la femelle qui a avorté.
- Vous détruisez les enveloppes et les avortons.
- Vous donnez l'avorton et ses enveloppes aux carnivores domestiques.
- Autre :

### **6-Quelle est la façon de renouvellement de cheptel ?**

- Vous gardez les descendants.
- Vous ramenez d'autres animaux des cheptels avoisinants.
- Vous achetez les animaux du marché.

### **7-Comment réagissez-vous devant un nouvel animal dans l'exploitation ?**

- Vous vous renseignez sur son état sanitaire auprès de son ancien propriétaire.
- Vous lui ramenez un vétérinaire pour une consultation médicale.
- Vous le pratiquez une mise en quarantaine.
- Vous l'intégrez directement avec les autres animaux.

## APPENDICE C

### Prélèvements réalisés et résultats.

Région/taille du troupeau	Elevage	Espèce	Age	commémoratif	Antécédent d'avortement	Résultat	DO
Ain Defla (80)	1	Ovine	2 ans	Avort. depuis 0 J	Oui	N	0,123
		Ovine	3 ans	Mtn. depuis 1 J		N	0,118
		Ovine	2 ans	Avort. depuis 1 J		N	0,087
		Caprine	3 ans	Mb. depuis 2 J		N	0,082
		Caprine	4 ans	Avort. depuis 2 J		N	0,391
		Caprine	5 ans	Mb. depuis 4 J		N	0,085
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 4 J		N	0,100
Ain Defla (120)	2	Ovine	5 ans	Avort. depuis 2 J	Oui	P	2,992
		Ovine	6 ans	Mtn. depuis 2 J		P	1,968
		Ovine	4 ans	Mtn. depuis 5 J		D	0,772
		Caprine	4 ans	Mb. depuis 5 J		N	0,080
		Caprine	4 ans	Avort. depuis 4 J		N	0,062
		Caprine	3 ans	Avort. depuis 3 J		N	0,096
		Caprine	3 ans	Avort. depuis 3 J		N	0,073
		Ovine	3 ans	Mb. depuis 2 J		N	0,068
Ain Defla (50)	3	Ovine	2 ans	Avort. depuis 4 J	Non	N	0,096
		Ovine	2 ans	Avort. depuis 4 J		N	0,081
		Caprine	2 ans	Mb. depuis 5 J		N	0,109
		Caprine	2 ans	Mtn. depuis 5 J		N	0,195
		Caprine	3 ans	Avort. depuis 4 J		N	0,519
		Caprine	3 ans	Mb. depuis 4 J		N	0,170
Médéa (40)	4	Ovine	2 ans	Avort. depuis 6 j	Non	N	0,085
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 2 j		N	0,101
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 7 j		N	0,151
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 2 J		N	0,098
		Ovine	6 ans	Avort. depuis 2 J		N	0,172
Médéa (50)	5	Ovine	6 ans	Avort. depuis 7 j	Oui	N	0,090
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 4 j		N	0,184
		Ovine	4 ans	Mb. depuis 0 j		P	2,952
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 4 J		N	0,124
		Ovine	4 ans	Mb. depuis 6 J		N	0,175
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 4 J		N	0,096
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 7 J		N	0,066
Médéa (60)	6	Ovine	2 ans	Avort. depuis 3 J	Oui	N	0,203
		Ovine	2 ans	Mb. depuis 8 J		N	0,141
		Caprine	4 ans	Avort. depuis 8 J		N	0,105
		Caprine	4 ans	Mb. depuis 7 J		N	0,110
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 5 J		N	0,135
		Ovine	6 ans	Mb. depuis 7 J		N	0,148
		Ovine	6 ans	Avort. depuis 7 J		N	0,082
		Ovine	6 ans	Avort. depuis 7 J		N	0,082
Médéa (50)	7	Ovine	5 ans	Avort. depuis 1 J	Oui	N	0,082
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 6 J		N	0,175
		Ovine	6 ans	Mb. depuis 8 J		N	0,088
		Ovine	6 ans	Mb. depuis 6 J		N	0,098
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 5 J		N	0,153
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 8 J		N	0,287
Médéa (100)	8	Ovine	2 ans	Mb. depuis 4 J	Oui	N	0,087
		Ovine	3 ans	Mb. depuis 7 J		N	0,093
		Ovine	3 ans	Mb. depuis 5 J		N	0,089
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 8 J		N	0,101
		Ovine	4 ans	Mb. depuis 1 J		N	0,078
		Caprine	5 ans	Avort. depuis 6 J		N	0,111
		Caprine	6 ans	Avort. depuis 3 J		N	0,159
		Ovine	6 ans	Avort. depuis 2 J		N	0,161
Médéa (120)	9	Ovine	2 ans	Mtn. depuis 2j	Oui	N	0,234
		Ovine	2 ans	Mtn. depuis 8j		P	2,674
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 7j		N	0,182
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 8 j.		N	0,216
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 2 j.		N	0,181
		Ovine	6 ans	Mb. depuis 0j		N	0,525
		Ovine	4 ans	Mb. depuis 7j		P	2,587
		Ovine	4 ans	Mtn. depuis 2j		N	0,062
		Ovine	4 ans	Mtn. depuis 5 j.		P	2,227
Ovine	5 ans	Mtn. depuis 4 j.	N	0,092			

Médéa (60)	10	Ovine	2 ans	Avort. depuis 3J	Non	N	0,081
		Caprine	3 ans	Mb. depuis 8J		N	0,099
		Caprine	3 ans	Mb. depuis 4J		N	0,093
		Caprine	2 ans	Avort. depuis 2J		N	0,276
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 1J		N	0,141
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 5 J		N	0,237
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 3J		N	0,106
Médéa (90)	11	Ovine	4 ans	Avort. depuis 4J	Non	N	0,191
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 8J		N	0,169
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 5J		N	0,314
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 5J		N	0,053
		Ovine	2 ans	Avort. depuis 2J		N	0,313
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 1J		N	0,119
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 2J		N	0,125
Djelfa (90)	12	Ovine	3 ans	Avort. depuis 2J	Oui	N	0,139
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 8J		N	0,194
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 1J		N	0,321
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 1J		N	0,148
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 8J		N	0,247
		Ovine	2 ans	Avort. depuis 4J		N	0,4
Djelfa (100)	13	Ovine	2 ans	Avort. depuis 8J	Non	D	0,754
		Ovine	2 ans	Avort. depuis 8j.		N	0,382
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 7j.		N	0,086
		Ovine	3 ans	Avort. depuis 5j.		N	0,049
		Ovine	2 ans	Avort. depuis 7j.		N	0,226
		Ovine	2 ans	Mb. depuis 7j.		N	0,119
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 4j.		N	0,113
Ovine	4 ans	Mb. depuis 4j.	P	0,925			
Djelfa (100)	14	Ovine	2 ans	Mb. depuis 4j.	Non	N	0,383
		Ovine	5 ans	Mb. depuis 4J		N	0,383
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 5J		N	0,297
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 5J		N	0,061
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 4J		N	0,122
		Ovine	5 ans	Mtn. depuis 7J		N	0,369
		Ovine	5 ans	Mtn. depuis 5J		N	0,078
		Ovine	5 ans	Avort. depuis 5J		N	0,137
		Ovine	4 ans	Avort. depuis 8J		N	0,341
Ovine	4 ans	Avort. depuis 8J	N	0,091			

## APPENDICE D

### Composants du Kit IDVET et leur mode opératoire.

#### **Description et principe du test :**

Les copules sont sensibilisées avec de l'extrait antigénique spécifique de *Chlamydia*.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les copules. Les anticorps spécifiques de *Chlamydia*, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Après lavage, un conjugué anti-multi-espèces marqué à la peroxydase (Po) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-Po.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB).

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :

- En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.
- En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

#### **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 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  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.

**Mode opératoire :**

Les réactifs doivent être placés à température ambiante ( $21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ ) avant l'emploi et homogénéiser par retournement ou à l'aide d'un vortex.

1- Distribuer 90 $\mu\text{l}$  de tampon de dilution 13 dans chaque puits.

2- Distribuer :

-10  $\mu\text{l}$  de Contrôle Négatif dans les cupules A1 et B1.

-10  $\mu\text{l}$  de Control Positif dans les cupules C1 et D1.

-10 $\mu\text{l}$  de chaque échantillon à tester dans les cupules restantes.

3- Incuber 45 minutes  $\pm$  4 minutes à  $21^\circ\text{C}$  ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ).

4-Vider les puits. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 $\mu\text{l}$  de Solution de lavage. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.

5- Préparer le Conjugué 1X en diluant le Conjugué 10X au 1/10<sup>ème</sup> en Tampon de dilution 3.

6- Distribuer 100 $\mu\text{l}$  de Conjugué 1X dans chaque cupule.

7- Incuber 30 min  $\pm$  3min à  $21^\circ\text{C}$  ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ).

8- Vider les puits. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 $\mu\text{l}$  de Solution de lavage.

9- Distribuer 100µl de Solution de révélation dans chaque cupule.

10- Incuber 15 min +/- 2 min à 21°C (+/- 5°C) à l'obscurité.

11- Distribuer 100µl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.

12- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm

Le test est validé si :

- La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs ( $DO_{cp}$ ) > 0,350
- $DO_{cp}/DO_{cn} > 3$ .

### **Validation :**

Le test est validé si :

- La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs ( $DO_{CP}$ ) est supérieure à 0,350.
- Le rapport entre la moyenne des contrôles positifs ( $DO_{CP}$ ) et la moyenne des contrôles négatifs ( $DO_{CN}$ ) est supérieure à 3.

### **Interprétation :**

- Pour chaque échantillon calculer le pourcentage S/P :
- $S/P = DO \text{ échantillon} / DO_{cp} \times 100$ .
- Les échantillons présentant un S/P inférieur ou égale à 50% considérés comme négatifs.
- Compris entre 50% et 60% considérés comme douteux.
- Supérieur ou égal à 60% sont considérés comme positifs [152].

Résultat	Statut
$S/P \leq 50\%$	NIGATIF
$50\% < S/P < 60\%$	DOUTEUX
$S/P \geq 60\%$	POSITIF

## REFERENCES

1. Statistique du ministère de l'agriculture et du développement rural, (2012).
2. Statistique du ministère de l'agriculture et du développement rural, (2013).
3. Poncelet, J.L., «Les avortements (Chlamydieuse, Fièvre Q, Toxoplasmose) Maîtrise par la vaccination» In : *Comptes rendus des Journées nationales GTV*. Clermont Ferrand, 30-31mai et 1er juin 2001. Paris : SNGTV, (2001), 209 - 213.
4. Dumas, N., «Rickettsiosis and chlamydiosis in Hoggar», (Republic of Algeria): Epidemiological sampling, Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales, 77, (1984), 278 - 83.
5. Hireche, S., Bouaziz, O., Djenna, D., Boussena, S., Aimeur, R., Kabouia, R., Bererhi, E., « Seroprevalence and risk factors associated with *Chlamydomphila spp.* infection in ewes in the northeast of Algeria», Trop. Anim. Health. Prod, n°46, (2014), 467- 473.
6. Thygeson, P., «Trachoma virus: historical background and review of isolates», Ann N Y Acad Sci. 98, (1962), 6 -13.
7. Freney, J., Renaud, F., Leclercq, R. et Riegel, P., «Précis de bactériologie clinique». 2<sup>e</sup> édition ESKA Paris, (2007). 1606 -1620p
8. Halberstadter, L., and Von Prowasek, S., «Uber zellieinschlüsse parasitärer natur bein trachom», Arb. Gesundheitsamt Berlin, 26 (1907), 44 - 47.
9. Bedson, S. P., Western, G. T., and Simpson, S. L., «Observations on the ethiology of psittacosis», Lancet 1, (1930), 235 - 236.
10. Corsaro, D., Le Faou, A., « Chlamydia », (monographies de microbiologie), collection dirigée par Jean-Paul Larpent. Editions Médicales internationales, LAVOISIER, Paris (2002), 3 -15p.



11. Gordon, F. B. et Quan, A. L., «Occurrence of Glycogen in Inclusions of the *Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma* Agents», J Infect Dis, (1965), 186 - 96.
12. Bernkopf, H., Masiah, P., Becker, Y., «Correlation between morphological and biochemical changes and the appearance of infectivity in FL cell cultures infected with trachoma agent», Ann. N. Y. Acad. Sci. 98, (1962), 62 - 81.
13. Moulder, J. W., « The relation of the psittacosis group (*Chlamydiae*) to bacteria and viruses», Annu Rev Microbiol 20, (1966), 107- 30.
14. Storz, J., Page, L.A., «Taxonomy of the *Chlamydiae*: reasons for classifying organisms of the genus *Chlamydia*, Family *Chlamydiaceae*, in a separate order, *Chlamydiales* ord», nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 21, (1971), 332 - 334.
15. Everett, K.D., Bush, R.M., 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». *Int.J.Syst.Bacteriol.*49, (1999), 415 - 440.
16. Rodolakis, A., « Chlamydirose abortive : diagnostic et prévention ». Bull. Group.Tech .Vét, 7, (2000), 133 - 137.
17. Rodolakis, A., Mohamad, K. Y., « Zoonotic potential of *Chlamydophila*», *Veterinary Microbiology*, 140, (2010), 382 - 391.
18. Salinas, J., Souriau, A., Cuello, F., Rodolakis, A., «Antigenic diversity of ruminant *Chlamydia psittaci* strains demonstrated by the indirect microimmunofluorescence test with monoclonal antibodies», *Vet. Microbiol.* 43, (1995), 219 - 226.
19. Andersen, A.A., «Two new serovars of *Chlamydia psittaci* from North American birds». *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, (1997), 159 - 164.
20. Fukushi, H., Hirai, K., «Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants», *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42, (1992), 306 - 308.

21. Schachter, J., Stephens, R.S., Timms, P. et al., « Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet», *Int J Syst Evol Microbiol* 51, (2001) 251 - 243.
22. Stephens, R. S., Myers G., Eppinger, M., Bavoil, P. M., « Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved». *FEMS Immunol Med Microbiol* 55, (2009), 115 - 119.
23. Denis, F., Poly M., Martin C., Bingen E, Quentin R., « Bactériologie médicale », Techniques usuelles. 2<sup>e</sup> édition : ELSEVIER, Masson., Paris (2011), 746 - 747p.
24. Moulder, J.W., « Interaction of chlamydiae and host cells in vitro», *Microbiol Rev* 55, (1991), 143 - 190.
25. Fauchere, J-L., Avri, J-L., «Bactériologie générale et médicale». ELLIPSES édition Marketing S.A. France (2002), 353 - 354p.
26. Matsumoto, A., « Structural characteristics of chlamydial bodies. In: Barron AL. *Microbiology of Chlamydia*», CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. (1988), 27-31p.
27. Raulston, J.A., «Chlamydial envelope components and pathogen-host cell interactions», *Mol Microbiol* 15, (1995), 607 - 616.
28. Everett, K.D., Hatch T-P., «Architecture of the cell envelope of Chlamydia psittaci 6BC», *J Bacteriol*, 177, (1995), 877 - 82.
29. Nietfield, J. C., « Chlamydial infections in small ruminants», *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 17, 2, (2001), 301 - 314.
30. [www.microbes-edu](http://www.microbes-edu)
31. Charles, N., Jean-Louis V., « Bactériologie médicale », 2<sup>e</sup> édition Masson, Paris, (2005), 211 - 215 p.
32. Hodinka, R. L., Davis, C. H., Choong, J., and Wyrick, P. B., «Ultrastructural study of endocytosis of Chlamydia trachomatis by McCoy cells», *Infect Immun*, 56, (1988), 1456 - 63.

33. Andre, J.P., « La chlamydie aviaire à *Chlamydia psittaci* chez les oiseaux de cage », Revue de médecine vétérinaire. (Décembre 1994).
34. Bavoil, P. M., and Hsia, R. C., «Type III secretion in Chlamydia: a case of déjà vu», Mol Microbiol, 28, (1998), 860 - 2.
35. Greub, G ., Viollier, P., «Etude des mystérieux mécanismes de division et de différenciation des chlamydiae», Fondation Leenaards (2011).
36. Faherty, C. S., and Maurelli, A. T., «Staying alive: bacterial inhibition of apoptosis during infection». Trends Microbiol,16, (2008), 173 - 80.
37. <http://pedagogie.acmontpellier.fr>
38. Andersen, A. A., Vanrompay D., « Avian chlamydiosis ». OIE Rev. Sci. Tech.19, (2000), 396 - 404.
39. Bavoil, P.M., Ojcius, M., Dautry-Varsat, A., Souriau, A., Bernard, F., Rodolakis, A. and Hsia, R., «*Chlamydia trachomatis*, ennemi intérieur: de la biologie moléculaire aux modèles animaux », Med Mal infect , 29, (1999), 23 - 27.
40. Subtil, A and Dautry Varsat, A., «Chlamydia: five years AG (after genome) », Current Opinion in Microbiology, 7, (2004), 85 - 92.
41. Kosma, P., «Chlamydial lipopolysaccharide», Biochim Biophys Acta. 1455, (1999), 387 - 402.
42. Fan, J., and Stephens, R. S., «Antigen conformation dependence of Chlamydia trachomatis infectivity neutralization». J Infect Dis. 176, (1997), 713 - 21.
43. Everett, K. D., Desiderio, D. M., and Hatch, T. P., «Characterization of lipoprotein EnvA in Chlamydia psittaci 6BC». J Bacteriol. 176, (1994), 6082 -7.
44. [www.scbt.com](http://www.scbt.com). inc., santa cruz biotechnology. C. abortus MOMP(4 /11): sc101594.

45. 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 Microbiol Lett. 164, (1998), 111 - 7.
46. 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 Microbiol Lett. 142, (1996), 277 - 81.
47. 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». Am J Vet Res. 55, (1994), 510 - 4.
48. 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», Infect Immun. 64, (1996), 5366 - 72.
49. Hsia, R.C., Pankoeck, Y., Ingerowski, E., and Bavoil, P.M. «Type III secretion genes identify a putative virulence locus of *Chlamydia*», Molecular Microbiology 25, (1997), 351 - 59.
50. Matsumoto, A., Izutsu, H., Miyashita, N., and Ohuchi, M., «Plaque formation and plaque cloning of *Chlamydia trachomatis* biovar trachoma», Journal of clinical Microbiology 36, (1998), 3013 - 19.
51. Stephens, R.S., Kalman, S., Lammel, C., Fan, J., Marathe, R., Aravind, L., Mitchell, W., Olinger, L., Tatusov, R.L., Zhao, Q. et al. «Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*», Science 23, (1998), 638 - 39.
52. Barbier, L., Roobrouck, A., «Sondage des maladies abortives chez les angulés sauvages et domestiques en Alpage », Faune sauvage. n°268, (septembre 2005), 24 - 32.
53. Longbottom, D., Coulter, L.J., «Animal chlamydioses and zoonotic implications», J. Comp. Pathol. 128, (2003), 217 - 244

54. Rekiki, A., Rodolakis, A., « Diagnostic des avortements chez les petits ruminants ». Le point vétérinaire, N° 243 (mars 2004) ,2 - 9.
55. Aitken, I. D., «Chlamydial abortion ». In: MARTIN W.B., AITKEN I.D., «Diseases of sheep», 3rd ed., Blackwell Science, Oxford, (2000), 81- 86p.
56. Aitken, I.D., Longbottom, D., « Chlamydial abortion ». In: Aitken, I.D. (Ed.), « Diseases of Sheep ». Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp. (2007), 105 - 112p.
57. Matthews, J., « Abortion. In : Diseases of Goat » . Oxford, Blackwell Science (1999), 167 - 186.
58. Dubreuil, P., Arsenault, J., « Les avortements chez les petits ruminants », Le Medecin Veterinaire du Quebec, V. 33, n °5 1et 2, (2003), 6 - 11.
59. Rodolakis .A, «Chlamydiosis in Goats. Institut National de Recherches Agronomiques», Nouzilly, France.IVIS, 16 Jan 2001.
60. Papp, J.R, Shewen, P.E., «Localization of chronic *Chlamydia psittaci* infection in the reproductive tract of sheep», J. Infect. Dis., 174, (1996), 1296 - 1302.
61. Appleyard, W.T., Aitken, I.D., Anderson, I.E., « Attempted venereal transmission of *Chlamydia psittaci* in sheep », Vet. Rec., 116, (1985), 535 - 538.
62. Barth, K., Horvat, E., Kern, A., Maurer, V., Muntwyler, J., Simantke, C., Stöger, E., Reinmuth, B., «Chevres litiatrices bio», Institut de recherche de l'agriculture biologique, Paris/ AGRIDEA, Lausanne. (2010), 27- 29.
63. Smith, M .C et Sherman, D. M., «Chlamydiosis, Gaot Medecine», Philadelphia, Lea et Febiger, (1994), 421- 422.
64. Souriau, A., Rodolakis, A., « Chlamydirose abortive et vaccination ». INRA, Station de Pthologie infectieuse et immunologie, 37380. Nouzilly, (1996), 153 - 156.
65. Rodolakis, A., Salinas, J., Papp, J., «Recent advance on ovine chlamydial abortion», Vet. Res., 29, (1998), 275 - 288.
66. Entrican, A., G., Buxton, D., Longbottom, D., «Chlamydial infection in sheep: immune control versus foetal pathology», J. R. Soc. Med., 94, (2001), 273 - 277.

67. Buxton, D. Barlow, R. M., Finlayson, I. E. Machellar, A., «Observation of the pathogenesis of chlamydia psittaci infection of pregnant sheep», J.Comp. Pathol, 102, (1990), 102 - 237.
68. Livingstone, M., Entrican, G., Wattegedera, S., Buxton, D., Mckendrick, I.J., Longbottom, D., «Antibody responses to recombinant protein fragments of the major outer membrane protein and polymorphic outer membrane protein POMP90 in Chlamydia abortus infected pregnant sheep», clin. Diagn. Lab immunol., 12, (2005), 770 - 777.
69. Wilsmore, A. J., Parsons, V., Dawson, M., « Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion», Br. Vet. J., 140, (1984), 380 - 391.
70. Papp, J.R., Shewen, P.E., Gartley, C.J., « Abortion and subsequent excretion of chlamydiae from the reproductive tract of sheep during estrus», Infect. Immun. 62, (1994), 3786 - 3792.
71. Rocchi, M. S., Wattegedera, S., Meridiani, I., Entrican, G., «Protective adaptive immunity to Chlamydia abortus infection and control of ovine enzootic abortion (OEA) », Vet. Microbiol., 2008, doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.030.
72. Réunion de la Commission des Normes Sanitaires de l'OIE pour les animaux terrestres, Paris, Chapitre 1.2, Article 1.2.1, (11 - 20 février 2014).
73. 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 Méd. Vét. 156, (2005), 395 - 401.
74. El Jai, S., Bouslikhane, M., El Idrissi, A. H., «Suivi épidémiologique des avortements de petits ruminants dans les zones pastorales du Maroc », Actes Inst. Agron. Vet. Maroc, V. 23, (2003), 95 - 100.
75. Al Qudah, K.M., Sharif, L.A., Raouf, R.Y., Hailat, N.Q., Domy, F.M., «Seroprevalence of antibodies to *Chlamydia abortus* shown in Awassi sheep and local goats in Jordan». Vet. Med. – Czech, V. 49, n° 12, (2004), 460 - 466.

76. Wilson, K., Sammin, D., Harmeyer, S., Nath, M., Livingstone, M., Longbottom, D., « Seroprevalence of chlamydial infection in cattle in Ireland», *The Veterinary Journal* (2012). doi:10.1016/j.tvjl.2011.12.018.
77. Kalender, H., Kiliç, A., Eröksüz, H., Muz, A., Kiliç Ü., Taşdemir, B., « Identification of *Chlamydia abortus* infection in aborting ewes and goats in Eastern Turkey», *Revue Méd. Vét.*, (2013), 164, 6, 295 - 301.
78. Jiménez-Estrada, J. M., Escobedo-Guerra, M. R., Arteaga-Troncoso, G. López-Hurtado, M., M.de Jesús de Haro-Cruz, «Detection of *Chlamydia abortus* in Sheep (*Ovis aries*) in Mexico», *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 3 (4): 91-95, (2008), 1557 - 4555.
79. Thomas, R., Davison, H.C. and Wilsmore, A. J., « Use of the IDEIA ELISA to detect *Chlamydia psittaci* (ovis) in material from aborted fetal membranes and milk from ewes affected by ovine enzootic abortion», *Br.Vet.J.* 146, (1990), 364 - 367.
80. Creelan, J.L., and S.J.McCullough, «Evaluation of strain specific primer sequences from an abortifacient strain of ovine *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci*) for the detection of EAE by PCR», *FEMS Microbiology Letters* 190, (2000), 103 - 108.
81. Laroucau, K., K. S. Boumedine, and A. Rodolakis, «Amplified fragment length polymorphism differentiation between the vaccine strain *Chlamydia psittaci* 1B and wild field strains», *Vet. Rec.* 149, (2001), 332 - 334.
82. Jones, G. E., Anderson, I. E., «*Chlamydia psittaci* excretion in ovine milk tested», *Vet. Rec.*, (1989), 124 - 126.
83. Venables, C., Dawson, M., Baskerville, M., «*Chlamydia* in ovine milk». *Vet. Rec.*, (1989), 125 - 127.
84. Wilsmore, A. J., «*Chlamydia* in ovine milk», *Vet. Rec.*, 124, (1989), 618 - 619.
85. Papp, J.R, Shewen, P.E., « *Chlamydia psittaci* infection in sheep: a paradigm from human reproductive tract infection», *J. Reprod. Immunol.* 34, (1997), 185 - 202.

86. Wilsmore, A. J., Izzard, K. A., Wilsmore, B. C., Dagnall, G. J. R., « Breeding performance of sheep infected with *Chlamydia psittaci* (ovis) during their preceding pregnancy», Vet. Rec., (1990), 126 - 40.
87. Milne, C. E., Gunn, G. J., Entrican, G., Longbottom, D., « Epidemiological modelling of chlamydial abortion in sheep flocks», Vet. Microbiol., doi:n10.1016/j.vetmic. (2008),09.032.
88. Rodolakis, A., Bernard, K., «Isolement de *Chlamydophila* des organes genitaux de beliers atteints d'epididymite», Bull. Acad. Vét. De France, 50, (1977), 65 - 70.
89. Tainturier D., Fieni, F., Bruyas, J. F., Battut, I., «Etiologie des avortements chez la vache». Point Vét., 28, (1997), 1231 - 1243.
90. Rodolakis, A. « Chlamydie et Fièvre Q, similitudes et différences entre ces deux zoonoses », INRA Unité de Recherche Infectiologie Animale et Santé Publique - 37380 Nouzilly France. Renc. Rech. Ruminants, 13, (2006), 395 - 402.
91. Thomas, V., N. Casson, and G. Greub., «Criblamydia sequanensis, a new intracellular Chlamydiales isolated from Seine river water using amoebal co-culture», Environmental Microbiology, 8, (2006), 2125 - 2135.
92. Roberts, W., Grist, N.R., Giroud, P., «Human abortion associated with infection by ovine abortion agent». Br. Med. J. 4, (1967), 37 - 39.
93. Buxton, D., «Potential danger to pregnant women of *Chlamydia psittaci* from sheep», Vet. Rec., 118, (1986), 510 - 511.
94. 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, J. Clin. Pathol. 38, (1985), 707 - 711.
95. Rodolakis A, Bouillet C, Souriau A., «*Chlamydia psittaci* experimental abortion in goats», Am J Vet Res 45, (1984), 2086 - 2089.
96. Beer, R.J., Bradford, W.P., Hart, R.J., «Pregnancy complicated by psittacosis acquired from sheep», Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.) 284, (1982), 1156 - 1157.



97. Brugère-Picoux, J. Manuel pratique, « Maladies des moutons ». 2<sup>e</sup> édition Edition France Agricole, (2004), 183 - 192p.
98. Meijer A . A. Brandenburg . J. de Vries . J. Beentjes . P. Roholl . D.Dercksen. «*Chlamydophila abortus* infection in a pregnant woman associated with indirect contact with infected goats», Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 23, (2004), 487 - 490.
99. Pospischila, A., Thomab, R.M., Hilbea, Gresta, P., Gebbersc, J.O., «Abortion in woman caused by caprine *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci* serovar 1) »SWISS MED WKLY, 1 3 2, (2002), 64 - 6.
100. 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. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 37, (1990), 91 - 94.
101. 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*», Obstet. Gynecol. 106, (2005), 1215 - 1217.
102. Rodolakis, A. « Vaccination contre la chlamydie abortive et la fièvre Q ». In: Comptes rendus des Journées nationales GTV. Clermont Ferrand, 30-31 mai et 1er juin 2001. Paris : SNGTV, (2001), 119 - 121.
103. Tainturier, D. « Les maladies abortives chez les petits ruminants», In Le Point vétérinaire numéro spécial : Pathologie ovine et caprine ,33 (2002), 34 - 39.
104. Chalmers, W. S. K., Simpson, J., Lee, S. J., Baxendale, W., «Use of a live chlamydial vaccine to prevent ovine enzootic abortion», Vet. Rec,141, (1997), 63 - 67.
105. 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», Vet. Rec,157,( 2005), 771 - 774.
106. Papp, J.R, Shewen, P.E, Thorn, C.E. « Immunocytologic detection of *Chlamydia psittaci* from cervical and vaginal samples of chronically infected ewes», Can. J. Vet. Res, 62, (1998), 72 - 74.

107. Stuen, S. and Longbottom, D., «Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats», *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 27,(1), (2011), 213 - 33.
108. Livingstone, M., Wheelhouse, N., Maley, S. W., Longbottom, D., «Molecular detection of *Chlamydia abortus* in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing», *Vet. Microbiol.*, 2008, doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.033.
109. Khammassi-Khabou, M., Hammami, S., Cherif, A. et Majok, A., « Séroprévalence des majeures maladies infectieuses causant l'avortement chez les petits ruminants », Discussion Paper V.17, n°1 (January 2008), 5 - 18.
110. Manuel terrestre de OIE, « Fièvre Q » Chapitre 2.1.12, (2008).
111. Hanzen. CH, « Les pathologies de la gestation chez les ruminants ». Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogénologie des animaux de production, (2009), 47- 48
112. Pugh, D.G., «Sheep and goat medicine», 1 Ed, WB, Saunders Philadelphia, (2002).
113. Pardon, P., Sanchis, R., Marly ,J., Lantier, F., Pepin, M., Popoff, M. Y., «Salmonellose ovine due à *Salmonella Abortusovis*». *Ann. Rech. Vét.*, 19, (1988), 221-235.
114. Jack E. J., «*Salmonella* abortion in sheep». *Vet. Annu.*, 12,(1997), 57- 63.
115. Nettleton, P.F., Gilray, J.A., Russo, P., Dlissi, E., «Border disease of sheep and goats». *Vet Res.*, 29, (1998), 327- 340.
116. OIE Terrestrial Manual 2012, «Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis) » Chapter 2. 7. 7, (2012).
117. Rodolakis, A., « Diagnostic de la chlamydie abortive », INRA, centre de Tours-Nouzilly, Station de Pathologie de la Reproduction, 37380 Monnaie-France. (1988), 213 - 220.

118. Rodolakis, A. et Souriau, A., « Chlamydirose ». In : Rodolakis, A. et Nettleton, P., Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants), Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, 1<sup>o</sup> édition. Rome (1997), 69.
119. Rodolakis, A., Bernard, F. and Lantier, F., «Mouse models for evaluation of virulence of *Chlamydia psittaci* isolated from ruminants», Res. in Vet. Sc., , 46, (1989), 34 - 39.
120. Berri, M., Bernard, F., Lecu, A., Ollivet-Courtois, F., Rodolakis, A., «Molecular characterisation and ovine live vaccine 1B evaluation toward a *Chlamydomphila abortus* strain isolated from springbok antelope abortion», Vet. Microbiol., 103, (2004), 231 - 240.
121. 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, 7, ( 2011), 29.
122. Kennedy H.E, Mccullough SJ, Graham D, Cassidy J, Malone F.E, Ellis W.A. « Detection of chlamydial antibody by fetal serology: an aid to the diagnosis of ovine abortion», J. Vet, Diagn, Invest, ( 2001), 13(1) 30 - 35.
123. Everett, K.D., «*Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye», Vet Microbiol, 75, (2000), 109 - 126.
124. Pantchev, A., Sting, R., Bauerfeind, R., Tyczka, J., Sachse, K., « Detection of all *Chlamydomphila* and *Chlamydia spp* of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays», Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 33, (2010), 473 - 484.
125. Pannekoek, Y., Morelli, G., Kusecek, B., Morr , 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 Microbiol. 8, (2008), 42 - 52.
126. 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 *Chlamydophila abortus* strains by multilocus VNTR analysis». Vet. Microbiol, n°137, (2009), 335 - 344.

127. <http://www.oie.int>

128. Griffiths, P.C., Plater, J.M., Horigan, M. W., Rose, M. P., Venables, C., and Dawson, M., «Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by comparative inclusion immunofluorescence assay, recombinant lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay, and complement fixation test», J Clin Microbiol, 34, (1996), 1512 - 8.

129. Jones, G. E., Low, J. C., Machell, J., and Armstrong, K., « Comparison of five tests for the detection of antibodies against chlamydial (enzootic abortion of ewes)», Vet Rec. n°141, (1997), 164 - 8.

130. Anderson, I. E., Herring, A. J., Jones, G. E., Low, J. C., and Greig, A., «Development and evaluation of an indirect ELISA to detect antibodies to abortion strains of *Chlamydia psittaci* in sheep sera». Vet Microbiol, 43, (1995), 1 - 12.

131. Salti-Montesanto, V., Tsoli, E., Papavassiliou, P., Psarrou, E., Markey, B. K., Jones, G. E., and 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 », Am J Vet Res, 58, (1997), 228 - 35.

132. Bourassa, R., « Maitriser la production ovine pour mieux en vivre ». (conférence) CRAAQ. Symposium ovin. (29 Septembre 2006), 6 - 7.

133. Commission des normes sanitaires de l'OIE pour les animaux terrestres, « Infection à *Chlamydophila abortus* (avortement enzootique des rebis ou chlamydiose ovine) », (2012), 14.5.

134. WK-VET. Dictionnaire des médicaments vétérinaire [en ligne] mise à jour en juillet 2008. [www.wk-vet.fr](http://www.wk-vet.fr)

135. Déchicha, A. «Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida», Mémoire pour l'obtention de diplôme de magister en science vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida, (2003).
136. Lounès, N. (2007) : « Séroprévalence de la brucellose animale dans la région centre et impact sur la santé publique», mémoire pour l'obtention de diplôme de magister en sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida.
137. Khaled, H., Bouyoucef, A., «Assessment of zoonotic risks associated with ruminant abortions for Algerian farmers», Bulletin UASMV 70, (2013), 1 - 2.
138. Food and Agriculture Organization (FAO) (2003). Profil fourrager Algérie. FAO database for 2002, Rome, Italy.
139. Khaled, H., Oueld Said, H., Absi, A., Bouyoucef, A., «Enquête par questionnaire sur la conduite à tenir des vétérinaires face aux avortements chez les ruminants et la suspicion de zoonoses infectieuses "wilaya de Ain Defla" », III<sup>ème</sup> Journées Nationales d'Epidémiologie Animale à Blida, 14 et 15 novembre 2010.
140. Menzies, P. I., « Lambing management and neonatal care. In: Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (Eds.), Current Therapy in Large Animal Theriogenology», Saunders, Philadelphia. (2007)
141. Ganière, J. P. N. Ruvoen and André-Fontaine, G., «Zoonoses infectieuses d'origine canine et féline». Médecine et Maladies Infectieuses, 31, (2001), 109 - 125.
142. El-Sherif, A. and M. El-Sheary, «Role of stray dogs and rats as carriers for Brucella infection for cattle», 10 th Scientific Congress Fac. Vet. Med., Assuit University, Egypt (2002), 395 - 403.
143. Amin, A.S., Hamdy, M.E. and Ibrahim, A.K., «Detection of *Brucella melitensis* in semen using the polymerase chain reaction assay». Veterinary Microbiology, V. 83, n°1 (2001), 37 - 44.
144. Invest in Algeria, wilaya de Médéa, andi 2013.

145. Invest in Algeria, wilaya d'Ain Defla, andi 2013.

146. Invest in Algeria, wilaya de Djelfa, andi 2013.

147. Alj Debbarih, H. Salih 1, Hasnaoui, H., Souriau, A., Belhouari A., R. Saïle, Rodolakis, A., «Chlamydirose abortive des petits ruminants au Maroc : valeur épidémiologique d'un kit Elisar de Chlamydophila abortus (Chlamydia psittaci sérotype 1) », Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop., 54, (3-4), (2001). 201- 205.

148. Alj Debbarih Salih, H. , Touhami, M., EL Idrissi, A., Souriau, A., Saïle, R.et Rodolakis, A. , «Chlamydirose abortive des petits ruminants au Maroc : opportunité d'améliorer le diagnostic sérologique», Revue Méd. Vét., 153, 2, (2002), 101 -106.

149. Benkirane, A. Jabli, N., «Rodolakis, A.,Fréquence d'avortement et prévalence des principales infectieuses abortives ovines dans la région de Rabat (Maroc) », Ann Rech Vet, Elsevier/ INRA, 21, (1990), 267 - 273.

150. El Idrissi, A. H , Manyari, A., Benkirane, A., « Fréquence des avortements infectieux des ovins au Maroc (régions des Zaer et du Moyen Atlas) », Actes Inst. Agron. Veto (Maroc), Vol. 15 (4), (1995), 11 - 14.

151. Atse N'de, A. « Epidémiologie des affections abortives majeures chez les ovins en Cote D'Ivoire, Etude sérologique de la brucellose, la chlamydirose, la fièvre Q et la fièvre de la vallée du rift dans les troupeaux suspects» E.I.S.M.VN°50,1992.

152. [www.id-vet.com](http://www.id-vet.com)

