



446THV-2

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB-BLIDA-
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaire et Biologique
Département des Sciences Vétérinaires

Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

**Thème : ETUDE DES CARACTERES BIOLOGIQUES ET
CLINIQUES DE
LA CHLAMYDIOSE ANIMALE**

Présenté par :

BIADA LATIFA & ADJIMI FOUZIA

Les jurés :

Président: Dr. KHALED H

Examineur: Dr. AKLOUL K

Promoteur: Dr. MERDJA S

Année universitaire : 2010/2011

Remerciements

*Nous tenons à remercier le bon Dieu « ALLAH » tout puissant de nous avoir donné
le courage et la patience de réaliser ce travail.*

*C'est pour nous un grand honneur d'exprimer à nos professeurs qui ont tenu à
nous prodiguer leur intense savoir qui a permis l'enrichissement de nos
connaissance , et la bonne progression dans les champs du savoir et de la science.*

*Un grand respect et remerciement à notre promoteur Dr.MERDJA, qui nous a
encadré et conseillé tout au long de notre travail.*

*Tous nous amis et tous ceux qui ont contribué, de quelque manière que ce soit, à la
progression de notre travail, ne serait par un mot de soutien moral, nous tenons à
exprimer notre profonde reconnaissance.*

Merci à tous

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres les plus chères au monde, mon père et ma mère, source intarissable d'amour, de tendresse et de sacrifice. Que Dieu les protège et les entoure de sa bénédiction ;

A mes chers frères « Chemseddine et Amine »

Mes chères sœurs « Nedjat et Fethia »

Mes beaux-frères « Lakhdar et Mustafa »

Ma nièce «Nour Elyakine »

Mon neveu « Abd Elah »

Toutes mes amies sans exception surtout

« Nedjah, Nesrine, Nedjma , Naima, kenza , yasmima, Farida

, Fouzia ,Fatima, Sara ,Sabrina, Amina, Aicha, Asmaa »

A mes cousines « Hayat, Hanaa, Nour el Houda, Asmaa »

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment

Latifa

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes anges gardiens et mes guides dans ma vie, mes chers parents qui m'ont entourés de leur amour et de leur tendresse ainsi que leur générosité je vous aime

Mes chers frères MOHAMED&SAMET et leur épouses FATIHA&DALILA et MOUNIR.

Mes chères sœurs FATIHA&ZAHIA et leurs époux MAHFOUD&MOHAMED et RACHIDA.

Mes anges: HICHAM, MALAK, IMAD, MANAL, WISSAM, AYA

Et mes poussins IKBAL&ISRAA

Mes amies : NAIMA, SALMA, AMINA, IMENE, KARIMA, MERY, KATI, HAFIDA

Mes amies vétos : LATIFA, SARA, KHAIRA, ZOLA, NASSIMA, ASMAA.

Et les filles de G 08 et G 07

Mon ami AYOUB qui m'a supporté et m'a aidé durant toute cette annéeMerci.

FOUZIA

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre 1 : Historique et taxonomie de <i>Chlamydiae</i>	2
1) Historique.....	2
2) Taxonomie.....	4
Chapitre 2 : Biologie des <i>Chlamydiae</i>	5
1) Les différentes formes de <i>Chlamydiae</i>	5
1-1) Les corps élémentaires (CE).....	5
1-2) Les corps réticulés (CR).....	6
2) Le cycle de développement des <i>Chlamydiae</i>	7
2-1) Attachement.....	7
2-2) L'endocytose.....	7
2-3) La transformation des CE en CR.....	8
2-4) La différenciation des CR en CE.....	8
2-5) La libération des CE dans le milieu extracellulaire.....	9
2-6) Inhibition de l'apoptose de la cellule hôte.....	9
Chapitre 3 : Les antigènes des <i>Chlamydiae</i> et Réponse immunitaire	12
1-Les antigènes des <i>Chlamydiae</i>	12
1-1) Les antigènes non protéiques.....	12
1-1-1) Le lipopolysaccharide (LPS).....	12
1-1-2) Le glycolipide.....	12
1-2) Les antigènes protéiques.....	12
1-2-1) La protéine majeure de la membrane externe (MOMP).....	12
1-2-2) Les protéines polymorphiques de la membrane externe (POMP).....	15
1-2-3) Les protéines de la membrane d'inclusion.....	15

1-2-4) Les protéines de choc thermique.....	16
1-2-4-1) La Hsp 60 (GroEL).....	16
1-3) Le système de sécrétion de type III (T3S) et les projections de surface.....	16
2) Réponse immunitaire.....	18
2-1) Réponse immunitaire cellulaire.....	18
2-2) Réponse immunité humorale.....	18
CHAPITRE 4: Etiopathogénie et l'épidémiologie de la chlamyphilose chez les animaux.....	19
1) Etiopathogénie	19
1- 1) Diversité des chlamyphiloses animales.....	19
1- 2) Pathogénie.....	19
2) Notions d'épidémiologie de la chlamyphilose chez les animaux.....	20
2- 1) Importance.....	20
2-2) Sources d'infection et modes de transmission.....	21
2-3) Résurgences chroniques.....	21
2-4) L'aspect cyclique de Chlamyphilose.....	21
CHAPITRE 5: Clinique de la chlamyphilose animale	22
1) Symptômes et lésions associées.....	22
2) Autres formes cliniques.....	22
CHAPITRE 6: Diagnostic.....	24
1) Diagnostic clinique.....	24
2) Diagnostic direct.....	24
2- 1) prélèvements.....	25
2-1-1) différents prélèvements.....	25
2-1-1-1) Prélèvements urogénitales.....	25

2-1-1-2) Prélèvements des voies aériennes.....	25
2-1-1-3) Prélèvement tubaires ou péritonéaux.....	25
2-1-1-4) Autres prélèvements.....	25
2 1-2) prise en charge du prélèvement.....	26
2- 1-2-1) Prélèvements pour mise en culture.....	26
2-1-2-2) Prélèvements pour les autres techniques de diagnostic	26
2-3) Isolement.....	26
2-4) L'immunofluorescence direct (IF).....	27
2-5) La technique ELISA directe	28
2-6) Détection des acides nucléiques.....	28
2-7) Examen microscopique.....	29
3) Diagnostic indirect sérologique.....	29
3- 1) La réaction de fixation du complément (RFC).....	29
3- 2) L'immunofluorescence indirecte (IFI).....	29
3-3) La technique ELISA.....	30
CHAPITRE 7 : Traitement et Prophylaxie.....	32
1) Traitement.....	32
2) Prophylaxie	32
2-1) Prophylaxie sanitaire.....	32
2-2) Prophylaxie médicale.....	33
CONCLUSION.....	34
BIBLIOGRAPHIE	

Liste des tableaux

Tableau I : Taxonomie des *Chlamydiales*.....4
Tableau II: Caractéristiques des corps élémentaires et des corps réticulés.....10
Tableau III : Genre de Chlamydiaeae (Chlamyphila) et ses espèces.....19
Tableau IV : Pouvoir pathogène naturel des chlamydiaceae pour l’animal23
Tableau V : Performances comparées des méthodes de diagnostic FIEVRE Q et Chlamydirose.....31

Liste des figures

Figure 1 : Modèle schématique de l’enveloppe des CE de *C. psittaci*6
Figure 2: Inclusion de *chlamydia trachomatis* dans une cellule McCoy, 30 heures postinfection, au microscope électronique.....10
Figure 3: Cycle de développement des Chlamydies.....11
Figure 4 : Organisation de la protéine majeure de membrane externe des Chlamydiales.....14
Figure 5: *C. abortus* infecte les cellules Mc Coy monomère, Coloration de Giems.....27
Figure 6: *Chiamydia trachomatis* en immunofluorescence. Immunofluorescence directe *C. trachomatis*.....28
Figure7: IF Indirecte détection de *C .abortus* de placenta et isolés sur cellule MaCoy en utilisant les anti MOMP marqueurs.....30

Liste des abréviations

ADN(DNA) : Acide Désoxyribonucléique

ARN(RNA) : Acide ribonucléique

ATP : Adénosine Tri-phosphate

C:Chlamydia

CD4Th :Cluster de différenciation 4 cellule T helper

CE: Corps Elémentaire

Chp :Chlamydophila

CopN: Chlamydial outer proteinN

CPAF: Chlamydial Proteasome-like Activity Factor

CR : Corps Réticulé

CRP :Cystein riche protein

DV: Domaines Variables

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

GLXA : Glycolipide Exo-antigen

HC(1,2) : 2 Protéines homologues d'Histone

HSP60 : Heat shock protein 60

IFI :ImmunoFluorescence Indirecte

IgA: Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgM :Immunoglobuline M

InF γ :Interféron γ

Inc (A, B, C ...): Inclusion membrane protein

KDa : Kilo Dalton

LCR : Ligase Chain Réaction

LGV :LymphoGranulomatose Vénérienne

LPS :LipoPolySaccharide

MOMP : Major Outer Membrane Protein

OM : Outer Membrane

ORF 3:Open Reading Frame

PCR : Polymérase Chain Réaction

Pgp3 : Chlamydial plasmid protein 3

Pmp : Polymorphic membrane protein

POMP : Polymorphic Outer Membrane Protein

RFC : Réaction de Fixation de Complément

RT-PCR : Réel Temps- Polymérase Chain Réaction

SP : Saccharose Phosphate

ST3(T3S) : Système de sécrétion de Type3

SVF : Sérum Veau Fœtal

TMA : Transcription Mediated Amplification

YopN : Yersinia outer protein N

Résumé

Cette étude bibliographique se propose pour faire le point sur la Chlamyphilose animale. Les *Chlamydiae* sont des bactéries très particulières, dont la taxonomie a été bouleversée ces dernières années, avec en particulier la définition d'un nouveau genre, *Chlamydophila*.

La Chlamyphilose chez les animaux est une maladie contagieuse, transmissible, d'évolution longue et cyclique avec alternance de pic d'avortements et d'une phase silencieuse. Les avortements sont les plus souvent observés sur femelles des ruminants où des nouvelles introduites dans le troupeau.

Le diagnostic clinique de cette maladie étant impossible avec certitude, le recours à des examens complémentaires s'avère nécessaire pour mettre en place un traitement spécifique et prévenir les risques de contamination en collectivité. Les différentes techniques directes et indirectes de diagnostic présentent de nombreux inconvénients pratiques et/ou économiques. Le diagnostic de la Chlamyphilose par PCR représente une alternative intéressante, à condition de bien connaître les apports et les limites de cet outil diagnostique, pour interpréter les résultats d'analyse.

L'éradication de la maladie est possible par la prévention, et le traitement est basé sur des antibiotiques qui agissent en intra cellule hôte.

Mots clés : Chlamyphilose, *Chlamydophila spp*, Animaux, Zoonose, Avortements.

Abstract

This literature review aims to provide an update on the animale chlamydophilosis. The Chlamydia bacteria is very specific taxonomy that have been affected in recent years, in particular the definition of a new genus, Chlamydophila.

The chlamydophilosis in animales is a contagious disease, transmitted, evolution and long-cyclical with alternating peak of abortions and disappearance of the disease. Abortions are most often observed in female ruminants or new introduced into the herd.

The clinical diagnosis of the disease with certainty is impossible, the use of additional tests is necessary to establish a specific treatment and prevention of contamination in communities.

The various techniques of direct and indirect diagnostic practices have many drawbacks and economic impact. The diagnosis of chlamydophilosis PCR is an attractive alternative, provided that familiar with the contributions and limitations of this diagnostic tool for interpreting the test results.

The eradication of the disease is possible through prevention, and treatment is based on antibiotics which act intra host cell.

Key words :Chlamydophilosis, *Chlamydophila sp*, animales, zoonosis, abortions.

الملخص

هذه الدراسة النظرية تهدف الى تسليط الضوء على مرض الكلاميدوفيلوز عند الحيوان ، الكلاميديا هي بكتيريا خاصة جدا حيث ان تصنيفها خضع لعدة تغييرات خلال السنوات الأخيرة ، خاصة بعد اكتشاف الصنف الجديد كلاميدوفيليا.

الكلاميدوفيلوز عند الحيوانات هو مرض معدي، منتقل، يتطور بشكل بطيء ودوري تتناوب فيه مرحلتين مرحلة يكون فيها الإجهاض في ذروته ومرحلة تغييب فيها الأعراض، الإجهاض هو أكثر الأعراض تسجيلا عند إناث المجترات أو الإناث التي دمجت جديدا في القطيع .

استحالة التشخيص ألسريري للمرض تستدعي الاستعانة بالتحاليل المخبرية اللازمة، من اجل وصف العلاج المناسب والوقاية من انتشار العدوى الجماعية، تتميز مختلف تقنيات التشخيص المباشرة وغير المباشرة بالعديد من السلبيات التطبيقية والاقتصادية ، يتم تشخيص الكلاميدوفيلوز بتفاعل البوليميريز المتسلسل الذي يعتبر التقنية الأمثل، شريطة إلمام المعرفة بمعطياتها من اجل تفسير دقيق لنتائج التحليل .

القضاء على هذا المرض ممكن بإتباع طرق الوقاية اللازمة والعلاج الذي يعتمد أساسا على المضادات الحيوية الفعالة داخل الخلية .

الكلمات الدالة : الكلاميدوفيلوز، الكلاميدوفيليا، الحيوانات، الأمراض ذات المصدر الحيواني، الإجهاض .

INTRODUCTION

La Chlamyphilose est une maladie bactérienne largement répandue et pouvant affecter de nombreuses espèces animales. Elle est à l'origine principalement d'avortements et de troubles de la reproduction chez les bovins et les petits ruminants. Il s'agit d'une maladie pouvant se transmettre à l'homme et faisant donc partie de la liste des zoonoses bactériennes.

Les *Chlamydiaceae* font parti des bactéries les plus pathogènes du monde animal. *Chlamydia trachomatis* est responsable de plus de 350 millions de cas de trachomes humains dans le monde développé; c'est également une cause majeure de maladies transmises sexuellement. L'infection ou le portage de *Chlamyphila psittaci* est noté chez les arthropodes, les mollusques, et quelques 130 espèces d'oiseaux et une importante diversité de mammifères.

Les caractéristiques de la structure et du cycle de développement de ces microorganismes seront présentées. L'étude des caractéristiques pathogènes des agents de la chlamyphilose chez les animaux, permettra d'établir l'ensemble des lésions et symptômes associés à la maladie et les différentes techniques indirectes et directes de diagnostic de la chlamyphilose des animaux.

L'objectif de ce travail a été de mieux appréhender le rôle des *Chlamyphila* sur la santé des animaux.

CHAPITRE 1 : Historique et taxonomie de *chlamydiae*

1) Historique

La première description des infections à *Chlamydiae* remonte à l'antiquité (1500 ans avant Jésus-Christ). Elles ont été relatées dans des écrits chinois anciens et dans des papyrus égyptien. Chez l'homme, elles correspondent à un épaissement de la conjonctivite et 60 ans après Jésus-Christ, elles ont été désignées sous le nom de trachome [10]. A la fin du 18^{ème} siècle, la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) a été décrite, elle atteint l'appareil génital puis les ganglions lymphatiques inguinaux. Au début du 19^{ème} siècle, un lien est suspecté entre une infection atteignant des oiseaux exotiques de la famille des psittacidés et certaines formes de pneumonies humaines. Morange en 1895 propose pour ce type d'infection le nom de "psittacose", du mot latin psittacus qui veut dire perroquet [72].

Halberstädter et Von Prowasek mettent en évidence en 1907, des inclusions basophiles intracytoplasmique chez des patients atteints de trachome. 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 [52].

En 1929-30, 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 [13]. En 1934, Thygeson, un ophtalmologiste a établi un lien entre la morphologie des inclusions observées dans le trachome chez l'homme et celles de la psittacose chez les oiseaux [106]. Un rapprochement a été établi entre les agents du trachome, de la psittacose et de la LGV [84]. A partir de 1950, un agent similaire a été identifié pour la première fois comme cause d'avortement chez les petits ruminants, par l'équipe de Stamp [96].

En 1957, Tang et ses collaborateurs réussissent l'isolement de la bactérie sur l'embryon de poulet [103], puis Gordan et Quan décrivent en 1965 une technique d'isolement, de l'agent du trachome, sur une lignée cellulaire continue adhérente en monocouche, les cellules McCoy [47].

Les *Chlamydiae* ont été d'abord considérées comme des virus à cause de leur petite taille et leur multiplication uniquement à l'intérieur de cellules hôtes [88], puis comme un intermédiaire entre bactérie et virus. En 1966, Moulder a finalement prouvé qu'il s'agissait d'une bactérie. Elles possèdent plusieurs caractéristiques communes aux autres bactéries [73]. Elles contiennent de l'ADN et de l'ARN, se divisent par fission binaire, sont sensibles aux antibiotiques et leur enveloppe cellulaire ressemble à celle des autres bactéries à Gram négatif malgré l'absence de peptidoglycane. *Chlamydiae* utilise la cellule hôte pour obtenir l'énergie.

Pendant longtemps, l'ordre des *Chlamydiales* a été constitué d'une seule famille (la famille des *Chlamydiaceae*) et d'un seul genre (le genre *Chlamydia*).

En 1980, les "Approved Lists of Bacterial Names" citent deux espèces au sein du genre *Chlamydia* : *Chlamydia trachomatis* et *Chlamydia psittaci*.

En 1989, Grayston *et al.* proposent la nomenclature de *Chlamydia pneumoniae* pour des souches isolées de l'œil, du pharynx et de l'appareil respiratoire de l'homme [48].

De nombreux travaux avaient révélé que *Chlamydia psittaci* était très hétérogène et la réorganisation de cette espèce a débuté en 1992. En effet, en avril 1992, Fukushi et Hirai proposent la nomenclature de *Chlamydia pecorum* pour des souches isolées de ruminants et responsables de pneumonies, de polyarthrites, d'encéphalomyélites, de diarrhées et d'avortements [46].

En 1999, dans un remarquable travail, Everett *et al.* Prennent en compte les données phylogénétiques, les homologues ADN - ADN et les caractères phénotypiques ce qui leur permet de bouleverser la systématique des *Chlamydiales*. Les principales conclusions de ces auteurs sont les suivantes :

1) L'ordre des *Chlamydiales* est constitué de quatre familles : la famille des *Chlamydiaceae*, la famille des *Parachlamydiaceae* , la famille des *Simkaniaceae* et d'une quatrième famille (souche WSU 86-1044) pour laquelle Everett *et al.* ne proposent pas de nom. Cette quatrième famille sera baptisée *Waddliaceae* par Rurangirwa *et al.*

2) Au sein de la famille des *Chlamydiaceae*, l'existence des deux grandes lignées permet de reconnaître deux genres.

Le genre *Chlamydia* comprend ainsi les espèces *C. trachomatis* (humain), *C. suis* (porc) et *C. muridarum* (souris et hamster). Le genre *Chlamydia* comprend les espèces *Chp. abortus* (ovin, bovin, caprin), *Chp. caviae* (cochon d'indes), *Chp. felis* (chat), *Chp. pecorum*(ovin, bovin, caprin), *Chp. pneumoniae* (humain) et *Chp. psittaci* (oiseaux) [40].

2) Taxonomie

La classification au sein de l'ordre des *Chlamydiales* a subi au cours des 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.

Quatre familles sont actuellement décrites : *Chlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Parachlamydiaceae* et *Waddliaceae* [23].

La nouvelle taxonomie, regroupe la famille *chlamydiaceae* en deux genres, *Chlamydia* et *Chlamydophila*, et neuf espèces. (Tableau I)

Le genre *Chlamydia* comprendrait trois espèces, *C.trachome*, *C .muridarum* et *C .sui*, le genre *Chlamydophila* regrouperait les trois espèces *C .pneumoniae*, *C .psittaci* et *C.pecorum*, seules les souches aviaires appartiendraient à *Chlamydophila psittaci*, les souches d'avortement, les souches de chats et de cochon d'Inde seraient transférées dans trois nouvelles espèces, *C. abortus*, *C. felis* et *C. caviae* respectivement [63].

Tableau I : Taxonomie des *Chlamydiales* [49].

ORDRE	<i>Chlamydiales</i>	
FAMILLE	<i>Chlamydiaceae</i>	
GENRES	<i>Chlamydophila</i>	<i>Chlamydia</i>
ESPECES	<i>Chp. abortus</i>	<i>C. trachomatis</i>
	<i>Chp. psittaci</i>	<i>C. muridarum</i>
	<i>Chp. pecorum</i>	<i>C. suis</i>
	<i>Chp. felis</i>	
	<i>Chp. pneumoniae</i>	
	<i>Chp. caviae</i>	

CHAPITRE 2 : Biologie des *chlamydiae*

1) Les différentes formes de *Chlamydiae*

1-1) Les corps élémentaires (CE)

Les études menées sur la morphologie des CE ont été grandement facilitées, non seulement par le développement des techniques en microscopie électronique, mais aussi par l'établissement de méthodes de purification des CE et de leurs composants, tels que les enveloppes et les parois cellulaires [65].

Les corps élémentaires, ronds à ovales, optiquement denses de 0.25 à 0.35 μm de diamètre. (Tableau 02) Ils représentent la forme infectieuse et sont métaboliquement inactifs et assurent la survie des *Chlamydiae* en dehors de la cellule hôte [18].

Ils sont caractérisés par un nucléole dense aux électrons, excentrés et constitués d'ADN. Dans le cytoplasme, on distingue des granulations de 150 \AA correspondant aux ribosomes [80] et parfois des granulations hétérogènes de nature polysaccharidique [33]. La surface des CE est hydrophobe et chargée négativement à pH neutre. Ces corps sont limités par deux systèmes membranaires: une membrane interne qui correspond à la membrane cytoplasmique, et une membrane externe de 10 nm qui présente un réseau de sous-unités protéiques sur sa face interne, contenant un Lipopolysaccharide (LPS) proche de celle des bactéries à Gram négatif [25]. La rigidité du complexe membranaire est due principalement aux ponts disulfures créés entre les résidus de cystéine des protéines membranaires, notamment la MOMP (Figure 01).

A la surface des CE, des projections externes de type aminoglycane d'une longueur de 20 nm et de 10 nm diamètre [67,68], ainsi que des canaux trans-membranaires ont été mis en évidence. Ces structures pourraient jouer un rôle dans l'attachement des CE aux cellules hôtes, dans l'acquisition de substances nutritives ou encore dans la communication avec la cellule parasitée (Système de sécrétion de type III (ST3) [7].

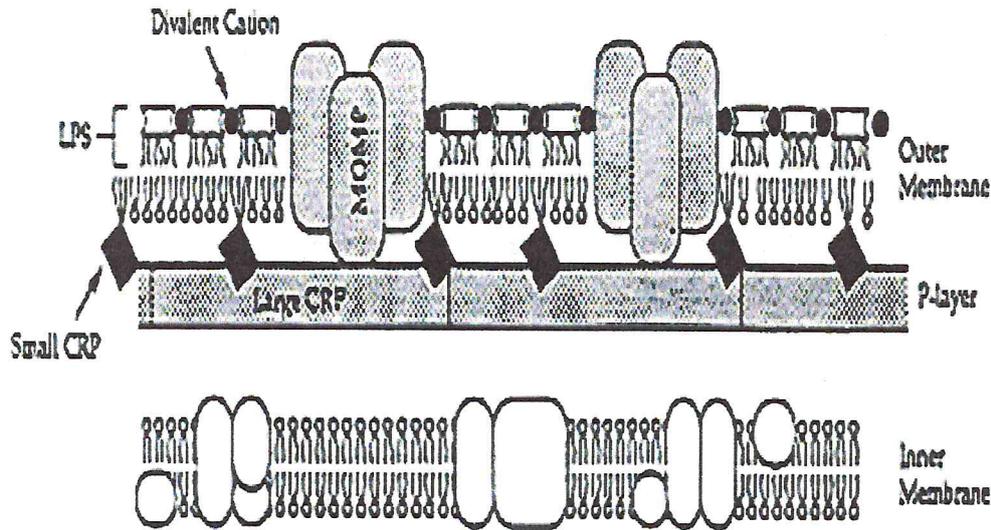


Figure 01 : Modèle schématique de l'enveloppe des CE de *C. psittaci* 6BC [38].

1-2) Les corps réticulés (CR)

Les corps réticulés sont de forme rond à ovale, d'un diamètre de 1 micron environ (Tableau II). Ils se multiplient par scissiparité. Ils ne sont pas eux-mêmes infectieux [18]. Ils sont des formes métaboliquement actives, intracellulaires. Leur acide nucléique semble diffus et fibrillaire. Ils possèdent une membrane cytoplasmique et une membrane externe, dont la surface est couverte de projections et de rosettes semblables à celles vues sur les CE, mais avec une densité plus élevée [66].

Il parasite la cellule de l'hôte animal, car il est incapable de synthétiser des composés à haut énergie tels que l'adénosine triphosphate et la guanosine triphosphate [27].

Les corps réticulés sont limités par une membrane plus souple que celle des CE dans laquelle la MOMP est sous forme monomérique [63], la surface de la membrane externe est couverte de projections et de rosettes semblables à celles vues sur les CE, mais avec une densité plus élevée [66], ils contiennent un nucléoïde fibrillaire.

La réorganisation des CR en CE passe par une forme intermédiaire et s'accompagne d'une réduction de la taille, d'une condensation du nucléoïde et de la formation d'une membrane externe rigide par polymérisation de la MOMP [63].

2) Le cycle de développement des Chlamydiae

Le cycle de multiplication des chlamydiae comporte des étapes intra- et extra- cellulaires faisant alterner principalement deux formes distinctes qui interviennent à des moments bien précis au cours du cycle : les corps élémentaires (CE) et les corps réticulés (CR) (Figure 3) [59].

Le stade infectant correspond à l'absorption au niveau de l'épithélium de la muqueuse intestinale du corps élémentaire par une cellule sensible avec laquelle il entre en contact [1].

2-1) Attachement :

L'interaction initiale de *Chlamydiae* avec la cellule hôte commence par l'attachement du CE à la surface de la cellule. Plusieurs facteurs interviennent dans ce phénomène comme des protéines et des polysaccharides ainsi que des interactions non spécifiques de type électrostatique et hydrophobe.

Comme les CE sont chargés négativement et exposés à l'interaction hydrophobe, les polycations et polyanions augmentent ou diminuent respectivement l'attachement de *Chlamydiae* à la surface de cellules. L'attachement est augmenté par les cations bivalents de calcium et magnésium qui peuvent diminuer la répulsion électrostatique [54]. Les protéines exposées à la surface des bactéries pourraient être impliquées dans l'attachement de *Chlamydiae* aux cellules hôtes. Su et ses collègues ont montré que la MOMP fonctionne comme un adhésine de *Chlamydiae* à la cellule hôte [101]. De plus, des anticorps dirigés contre des épitopes conformationnels de la MOMP neutralisent l'infectivité de CE et l'attachement aux cellules hôtes [42].

2-2) L'endocytose

Deux mécanismes principaux ont été avancés concernant la pénétration des chlamydiae : un processus de phagocytose reposant sur la participation de microfilaments consommant de l'énergie et un processus indépendant des microfilaments reposant sur la formation de vésicules recouvertes de clathrines, via un mécanisme de reconnaissance entre des récepteurs membranaires et les *chlamydia*. Ce type de mécanisme avec participation de clathrines est retrouvé dans certaines pinocytoses de complexes récepteurs/hormones ou d'autres molécules telles que les β -lipoprotéines et les interférons. Ces deux types de mécanismes, phagocytose ou endocytose par récepteur, ne sont pas vraiment distincts. En effet, ces deux formes nécessitent des clathrines pour le recyclage de la membrane ainsi que des enzymes régulées par la protéine fixant le calcium dans le cytosol, la calmoduline. Il semble que les chlamydiae utilisent en fait

des mécanismes d'endocytose variés, en fonction du mode de présentation à l'hôte, de la souche chlamydienne et de la cellule hôte elle-même. De plus, il semble peu probable que l'endocytose chlamydienne, caractérisée par des vésicules recouvertes de clathrines, repose sur le même mécanisme que celui utilisé par les petits virus. Les *Chlamydiae*, à la différence de ces virus, ont en effet une taille largement plus grande que ces vésicules.

Au sein de l'endosome, certaines souches de chlamydiae, sont capables de bloquer le processus normal de dégranulation lysosomiale dans l'endosome. Des expériences menées sur la membrane des chlamydiae ont montré que leur surface doit être intacte pour empêcher la fusion endosomiale [112].

2-3) La transformation des CE en CR

La réduction des ponts disulfure et la transformation de la MOMP en une forme monomérique constituent les plus importantes modifications accompagnant la transformation des CE en CR. Cette réduction permet de fournir de l'énergie au cours des premières heures et d'exposer les pores nécessaires aux passages des différents métabolites à partir de la cellule hôte. Les corps réticulés s'accumulent, certains se transfèrent en CE et l'ensemble constitue une inclusion intra-cytoplasmique 36 h environ après l'infection de la cellule (figure 02) [54].

2-4) La différenciation des CR en CE

Les changements morphologiques de la différenciation commencent 36-48 h après l'infection. La diminution des niveaux d'énergie en particulier de l'ATP dans les CR et par conséquent une réduction des activités métaboliques des CR est un des signaux de la transformation de CR en CE. Cette diminution est induite par :

- 1- la formation de liaisons disulfates entre les résidus cystéines des protéines membranaires formant une membrane rigide.
- 2- la séparation de la membrane d'inclusion et des CR [8].

D'autres signaux ont été observés au cours de la transformation en CE, comme la condensation du chromosome qui est due à l'action de deux protéines homologues d'histone (Hc1 et Hc2) [50].

2-5) La libération des CE dans le milieu extracellulaire

Les CE sont libérés 48 à 72 h après l'infection soit par lyse de la cellule hôte [74], soit par exocytose [108]. Les nouveaux CE libérés dans le milieu extérieur, peuvent aller infecter d'autres cellules voisines en initiant un nouveau cycle. Les mécanismes de libération des CE des tissus spécialisés pourraient être plus compliqués que ceux qui sont observés dans des cultures cellulaires en monocouche.

Il y a au moins trois modes de libération de *C. psittaci* des cellules épithéliales intestinales :

- 1) la rupture des cellules infectées ;
- 2) l'expulsion des cellules infectées entières dans la lumière intestinale et ;
- 3) l'extrusion et pincement des pseudopodes qui contiennent des *Chlamydiae*. Ce dernier mode pourrait correspondre aux souches intestinales de *C. pecorum* qui ne provoquent pas des signes cliniques chez l'animal infecté [31].

2-6) Inhibition de l'apoptose de la cellule hôte

La capacité des bactéries pathogènes à inhiber l'apoptose des cellules eucaryotes pendant l'infection assure la survie et la croissance des bactéries en permettant à celles-ci de se multiplier tranquillement à l'intérieure des cellules hôtes.

Les bactéries pathogènes évoluent de plusieurs façons pour inhiber l'apoptose :

- 1- la protection des mitochondries en inhibant la libération du cytochrome C qui est une petite hémoprotéine associée avec la membrane interne de la mitochondrie.
- 2- l'activation des voies de survie des cellules en empêchant l'activation des caspases (cysteinyl-aspartate-cleaving proteases) qui sont des enzymes capables de cliver des protéines au niveau de sites consensus spécifiques. Elles sont directement responsables du phénomène apoptotique de la cellule [41]. Il a déjà été montré que *Chlamydiae* pouvait inhiber les protéines pro- apoptotiques Bax et Bak de la membrane des mitochondries.

Une enzyme protéase CPAF (chlamydial proteasome-like activity factor) de *Chlamydiae* a été identifiée. CPAF qui est synthétisée dans l'inclusion de *Chlamydiae*, est sécrétée dans le cytoplasme des cellules hôtes infectées [43].

Récemment, le rôle de CPAF dans la dégradation des protéines pro-apoptiques et la protection de l'inclusion de *Chlamydiae* des lysosomes cellulaire a été prouvé [30].

Tableau II: Caractéristiques des corps élémentaires et des corps réticulés.

Caractéristique	Corps élémentaire	Corps réticulé
Taille	0.2-0.3 microns	1 micron
Forme	électron dense noyau ; rigide	Fragile, polymorphique
Infection	Infectieux	Non- Infectieux
RNA : DNA ratio	1 : 1 (noyau condensé d'ADN)	3 : 1 (ribosomes)
Activités métaboliques	Relativement inactif	Actif, forme de réplication
Trypsine	Résistant	Sensible
Projections et rosettes	moins	Plus

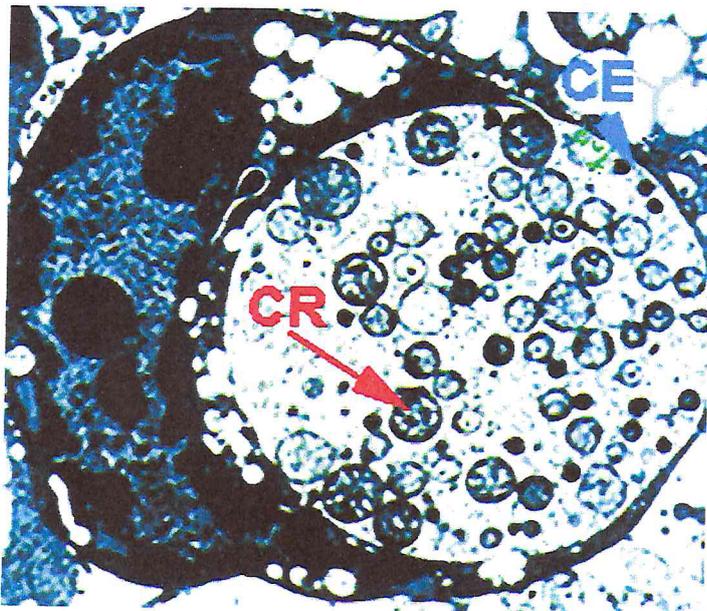


Figure 02: Inclusion cytoplasmique de *chlamydia trachomatis* dans une cellule McCoy, 30 heures post-infection, au microscope électronique [63].

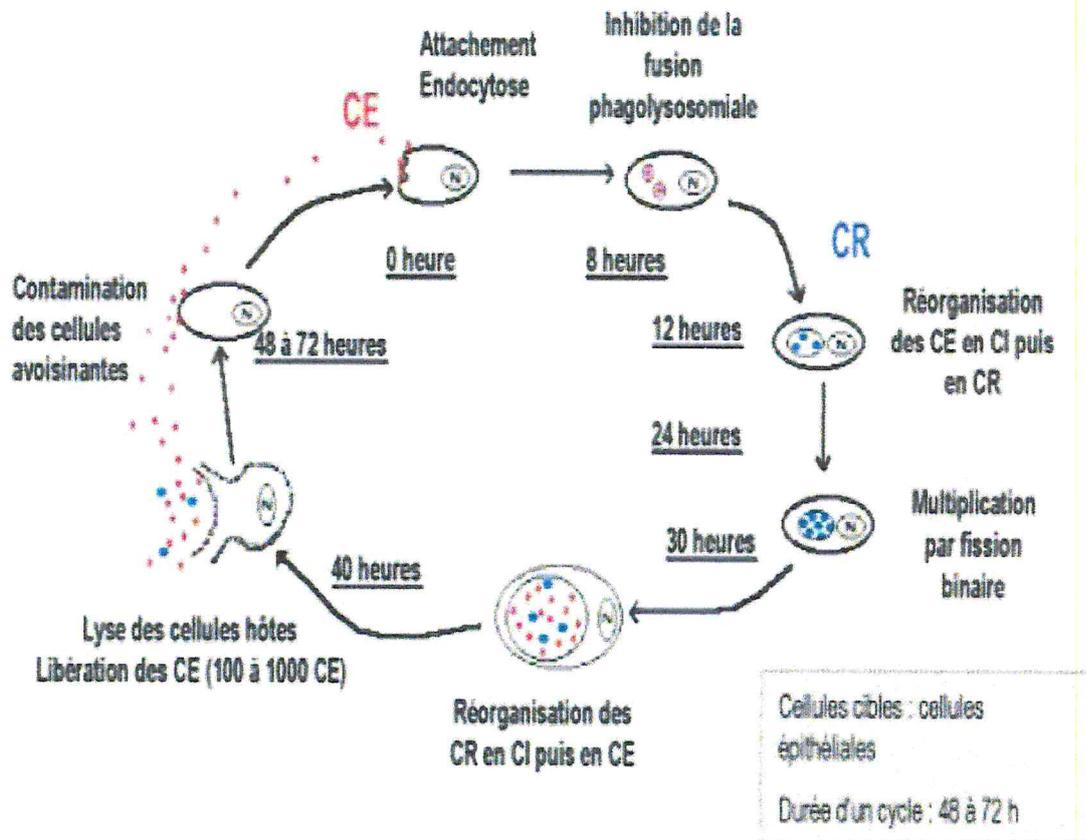


Figure 03: Cycle de développement des Chlamydiae [59].

CHAPITRE 3 : Les antigènes des *Chlamydiae* et la réponse immunitaire

1) Les antigènes des *Chlamydiae*

1-1) Les antigènes non protéiques

1-1-1) Le lipopolysaccharide (LPS)

Comme pour les bactéries Gram négative, le LPS est un des composants majeurs de la membrane externe de toutes les espèces de *Chlamydiae*. Le LPS possède des épitopes qui est unique aux *Chlamydiae* mais également des déterminants antigéniques communs aux LPS des autres bactéries à Gram négatif [22]. Birkelund et ses collègues ont caractérisé deux anticorps monoclonaux dirigés contre le LPS de *Chlamydiae*, l'un réagit seulement avec les CE et l'autre réagit seulement avec les CR suggérant que le LPS pourrait être impliqué dans des rôles différents durant le cycle de développement [17].

Le LPS de *Chlamydiae* se lieraient à la MOMP pour potentiellement moduler l'exposition des sites antigéniques de celle ci à la surface des CE [109].

1-1-2) Le glycolipide

GLXA est un des glycolipides qui a été identifié chez *Chlamydiae* (l'exo-antigène de glycolipide). Il est différent du LPS et est associé à la membrane externe bactérienne, à la membrane d'inclusion et pourrait être trouvé aussi dans le cytoplasme de la cellule hôte [98]. L'utilisation de GLXA comme vaccin a permis une protection partielle contre l'infection génitale de la souris par *C. trachomatis* [113]. Le prétraitement des cellules HeLa 229 avec du GLXA purifié a amélioré significativement le pouvoir infectieux de *C. trachomatis*. De plus, un anticorps dirigé contre GLXA a neutralisé *in vitro* l'infectivité de *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci*. Ces études montrent bien le rôle de ce glycolipide dans l'attachement des *Chlamydiae* aux cellules hôtes [108].

1-2) Les antigènes protéiques

1-2-1) La protéine majeure de la membrane externe (MOMP)

La MOMP est une protéine majeure riche en cystéines, de poids moléculaire d'environ 40 kDa qui fait partie de la membrane externe des *Chlamydiae* [78].

La MOMP est présente tout au long du cycle du développement comme une porine mais sa structure est différente entre les deux formes. Les ponts disulfures qui sont bien liés par les

résidus cystéines dans les CE pour assurer la rigidité, sont complètement réduits dans les CR pour que la membrane externe soit plus perméable [8].

La MOMP, exposée à la surface, joue un rôle dans l'attachement des CE à la cellule hôte [42]. Su et ses collègues ont démontré que l'infectivité des *Chlamydiae* était perdue lors du clivage de la MOMP après traitement des CE par la trypsine [99].

Des anticorps dirigés contre des épitopes conformationnelles neutralisaient l'infectivité de *Chlamydiae* (Figure 4) [100]. De plus, la protéine recombinante de la MOMP inhibe par compétition l'attachement des CE aux cellules hôtes [101].

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

La MOMP se compose de 4 domaines variables (DV). Les DV sont exposés à la surface et portent les épitopes spécifiques de genre, d'espèce, de sous-espèce et de sérotypes de la famille *Chlamydiaceae* [6].

Le gène *ompA* est le gène le plus variable dans le génome de *Chlamydiae*. A cause de cette variabilité génétique, on peut l'utiliser pour les études de typage, d'épidémiologie et d'évolution des différentes souches de *Chlamydiae* [21].

1-2-2) Les protéines polymorphiques de la membrane externe POMP (polymorphic membrane proteins Pmp)

Le séquençage du génome de différentes espèces de *Chlamydiae* a permis d'identifier, pour chaque espèce, le nombre de gènes de la famille Pmp ayant une taille approximative de 90- 100 kDa.

17 gènes pour *C. caviae* [85] et 18 gènes répartis en 4 clusters pour *C. abortus* [104] Au moins 6 protéines de la famille Pmps (90-98kDa), ont été identifiées dans la membrane externe de *C. abortus* [64] Une étude utilisant la technique de la détection des ARN messagers (RT-PCR), a montré que toutes les protéines de la famille des Pmps de *C. pneumoniae* sont exprimées au cours de l'infection, dont 11 protéines sont détectées par Western blot à partir des CE purifiés [48] De plus, 3 protéines de *C. trachomatis* (PmpE, G et H) sont détectées dans le complexe de la membrane externe des CE [104] Trois antigènes de la famille des Pmps (pmp8, 20 et 21) ont été reconnus par les cellules TCD4+ pendant l'infection des souris par *C. pneumoniae* [76]

1-2-3) Les protéines de la membrane d'inclusion

La membrane d'inclusion joue sûrement un rôle important dans les interactions entre les *Chlamydiae* et la cellule hôte. La modification de la membrane d'inclusion exige la synthèse par les *Chlamydiae* de protéines de la membrane d'inclusion, les protéines Inc qui sont impliquées dans les interactions entre l'inclusion et les composants cytoplasmiques [94]

La première protéine Inc, nommée IncA chez *C. caviae*, a été identifiée en comparant la réponse sérologique des animaux infectés par des *Chlamydiae* vivantes et celle des animaux immunisés par des *Chlamydiae* tuées [88]

La plupart des protéines Inc réagissent seulement avec des sérums d'animaux infectés par les *Chlamydiae*. Elles se trouvent dans la membrane d'inclusion et ont un domaine hydrophobe unique qui est localisé approximativement entre les acides aminés 50-80 de la protéine [94] Cependant, IncA de *C. psittaci* a été également détectée sur les *Chlamydiae* [14] Il y a des protéines n'ayant pas de domaine hydrophobe qui ont été trouvées à la surface de l'inclusion et également, des protéines qui ont un domaine hydrophobe mais qui ne sont pas détectées à la surface de l'inclusion [89], et récemment, une protéine d'inclusion a été détectée pour *C. abortus* [110]

Une protéine de 28 kDa qui est codée par l'ORF 3 du plasmide de *C. psittaci* (Pgp3), a été trouvée également à la surface de l'inclusion. Elle est très immunogène contre des sérums humains infectés par *C. trachomatis* et des sérums aviaires infectés par *C. psittaci* [97]. De plus,

une étude récente a montré qu'une protéine Pgp3 recombinante de *C. psittaci* est bien immunogène pour les sérums aviaires, humains, félins et porcins infectés par *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *C. felis* et *C. suis* respectivement [29]. Cette étude suggère que Pgp3 peut être utilisée comme un marqueur de l'infection humaine et animale par *Chlamydiae*. L'immunisation des souris avec la protéine Pgp3 recombinante a inhibé la transmission de l'infection par *C. trachomatis* de la partie inférieure à la partie supérieure du tractus génital [28].

1-2-4) Les protéines de choc thermique

1-2-4-1) La Hsp 60 (GroEL)

Hsp 60 est une protéine chaperonne qui a été identifiée tout d'abord comme un des marqueurs de l'infection par *Chlamydiae* [9]. Elle est également associée avec la sévérité des infections génitales chroniques de *C. trachomatis* [61]. Une expression élevée de Hsp 60 de *Chlamydiae* a été produite en utilisant un milieu déficient en fer suggérant un rôle dans l'état de persistance des *Chlamydiae* [84]. La réponse élevée en anticorps dirigés contre Hsp 60 suggère que la protéine est facilement accessible au système immunitaire de l'hôte [9]. Une étude récente a confirmé que Hsp 60 est localisée à la surface de CE de *C. pneumoniae* [114].

1-3) Le système de sécrétion de type III (T3S) et les projections de surface

Depuis les années 80, Matsumoto a décrit des projections à la surface de CR qui sont en contact avec la membrane d'inclusion [67]. Ces projections pourraient être des canaux du système de sécrétion de type III (T3S) des *Chlamydiae* [7]. T3S, qui facilite la translocation directe des facteurs de virulence des bactéries dans le cytoplasme de la cellule eucaryote, a été déjà bien décrit pour différentes bactéries pathogènes des animaux comme; *Yersinia*, *salmonelle*, *Shigella*, *Escherichia coli* et ainsi que pour des bactéries qui infectent les plantes [57]. Le séquençage du génome total des différentes espèces de *Chlamydiae* a révélé l'importance de T3S en montrant des similarités importantes entre certains gènes de *Chlamydiae* et les gènes de T3S d'autres bactéries Gram négatives comme *Yersinia* [79]. Les protéines de T3S franchissent probablement la membrane interne et externe des *Chlamydiae*, la membrane cytoplasmique de la cellule hôte pendant l'attachement ou la membrane de l'inclusion pendant la réplication intracellulaire pour assurer la survie et la croissance des *Chlamydiae* dans la cellule hôte.

La machinerie de T3S de *Chlamydiae*, y compris toutes les familles de l'ordre *Chlamydiales*, se compose approximativement de 25 protéines codées par au moins trois clusters de gènes

différents. Tandis que les gènes qui codent les protéines putatives de translocation et les protéines flagellaires, ont des positions variables sur le génome selon les différentes espèces de la famille *Chlamydiaceae*. Ces gènes ne sont pas trouvés pour la famille *Parachlamydiaceae*. De plus, les protéine qui se trouvent à la surface de la membrane de l'inclusion peuvent être également considérées comme des facteurs potentiels de la machinerie du T3S [102].

Récemment, plus de 20 protéines de T3S de *C. trachomatis* et *C. pneumoniae* ont été détectés dans le cytoplasme de la cellule infectée [58]. De plus, la fonction possible de 26 gènes de T3S de *C. psittaci* a été identifiée par détection de l'ARN messager (RT-PCR) de ces gènes au cours de l'infection [14]. Ces études suggèrent que la machinerie de T3S pourrait être fonctionnelle pour les différentes espèces de *Chlamydiae*.

CopN (chlamydial outer protein) est une des premières protéines de T3S identifiées, . Cette protéine est présente sur les CE, les CR, à la surface de la membrane de l'inclusion et dans le cytoplasme de la cellule hôte. Les messagers du gène qui encode CopN de *C. trachomatis* sont détectés significativement 12-20 h après l'infection [44]. L'immunisation de souris ou de hamsters avec une protéine CopN recombinante a protégé les animaux contre l'infection par *C. pneumoniae* [92]. De plus, une étude récente a démontré que CopN est indispensable à la croissance intracellulaire de *C. pneumoniae* et joue un rôle essentiel dans sa virulence [56].

Selon un modèle biomathématique qui a été récemment développé, la longueur des canaux de T3S joue un rôle majeur dans la différenciation des CR en CE au cours du cycle de développement de *Chlamydiae* et par conséquent pour orienter les CR vers une croissance normale ou persistante [55]. De plus, la diminution de l'expression de plusieurs cytokines au cours de l'infection par *Chlamydiae* dépend de l'expression de certains gènes de T3S [81]. La population de protéines de T3S dans la cellule hôte change au cours de l'infection, suggérant que ces protéines jouent différents rôles selon les étapes du cycle de développement des *Chlamydiae* [58]. En comparant les séquences des gènes du T3S de différentes espèces de *Chlamydiae*, des différences génétiques ont été mis en évidence afin d'expliquer les différences de pathologies ou de virulences observées entre les différentes espèces de *Chlamydiae* [79].

2) Réponse immunitaire :

2-1) Réponse immunitaire cellulaire :

Comme pour toute bactérie à croissance intracellulaire, la réponse immunitaire de type cellulaire semble capitale pour contrôler la dissémination *des chlamydia* [23].

Cette immunité cellulaire pourrait être mise en jeu par l'intermédiaire de la HS60, produite en réponse au stress. L'infection à *chlamydia* provoquerait une production d'InF γ introduisant un état de latence de la bactérie avec une expression accrue de la HS60 et une diminution de l'expression de la MOMP. Il s'établirait alors un état d'hypersensibilité retardée sous la dépendance des lymphocytes CD4Th1 [15].

2-2) Réponse immunitaire humorale :

Elle est importante mais elle varie dans son intensité et dans son expression selon la bactérie en cause [15].

La présence d'IgG, d'IgM et d'IgA spécifiques peut être détectée chez l'homme ou l'animal infecté par ce microorganisme. En cas d atteinte limitée aux muqueuses, seules des IgA sécrétoires sont régulièrement mises en évidence (larmes, sécrétions génitales).

Dans les infections plus diffuses (psittacose, lymphogranulomatose vénérienne...), des IgM et des IgG apparaissent dans le sérum [23].

CHAPITRE 4: Etiopathogénie et l'épidémiologie de la chlamyphilose chez les animaux

1) Etiopathogénie

1-1) Diversité des chlamyphiloses animales

Une seule espèce de *Chlamyphilila* est apte à infecter diverses espèces animales et une espèce animale donnée peut être infectée par plusieurs espèces de *Chlamyphilila* [36].

(Tableau III) Les *Chlamydiae* sont à l'origine d'une multitude de maladies humaines et animales [96]. En fonction de nombreux facteurs tels que la virulence de la souche, l'espèce hôte, l'âge et le sexe de l'animal, l'environnement, les conditions écologiques et physiologiques, on peut observer de nombreux syndromes: infections intestinales, pneumonies, avortements, infections urogénitales, mammites, polyarthrites, encéphalomyélites, hépatites et conjonctivites [49].

Tableau III : Genre de *Chlamydiaeae* (*Chlamyphilila*) et ses espèces [37].

Espèces	Hôtes infectés	Maladies
<i>Chlamyphilila abortus</i>	Vache, chèvre, brebis	Avortement
<i>Chlamyphilila psittaci</i>	Oiseaux, homme	Maladies systématiques, psittacose
<i>Chlamyphilila pecorum</i>	Vache, chèvre, brebis, koalas, porc.	Avortement, maladies de reproduction, conjonctivites de koala et Porc, encephalomyelites, enterites, pneumonie, polyarthrites

1-2) Pathogénie :

Les *chlamydiae* pénètrent dans les cellules épithéliales très rapidement. Ces cellules n'étant pas des phagocytes professionnels, les *chlamydiae* sont à l'origine de leur propre phagocytose, un processus appelé endocytose dirigée par le parasite. Les *chlamydiae* sont captées à l'intérieur de phagosomes comme la plupart des parasites intra-cellulaires. Une fois

dans les phagosomes, elles donnent des colonies microscopiques qui peuvent finir par occuper plus de la moitié du volume de la cellule.

Les chlamydiae évitent l'action des enzymes lysosomiales en inhibant la fusion des lysosomes avec les phagosomes. Lorsque les bactéries sont recouvertes d'anticorps spécifiques avant leur ingestion, la fusion phago-lysosomiale n'est pas inhibée; les lysosomes vont donc déverser leur contenu enzymatique dans les phagosomes, et les bactéries seront tuées. Cela suggère que certains composants de surface des chlamydiae empêchent la fusion [35].

Les chlamydiae abortives sont fréquentes chez les brebis et la majorité des travaux a été consacrée à cette espèce. Les femelles se contaminent par voie digestive, par voie respiratoire et, peut être, par voie vénérienne. Quelle que soit la porte d'entrée, les bactéries infectent les cellules épithéliales et les macrophages et sont disséminées dans l'organisme (notamment dans les poumons, la rate et le foie). La colonisation du placenta intervient vers le 60^{ème} jour mais les conséquences pathologiques de cette colonisation ne sont visibles que vers le 90^{ème} jour (foyers de nécrose présents sur le placenta et sur divers organes du fœtus, notamment le foie). Ultérieurement, entre le 125^{ème} et le 140^{ème} jour de gestation, l'infection peut conduire à la mort du fœtus et à un avortement [36].

L'importance économique est liée aux avortements, nombreux dans les élevages intensifs. Dans certains pays, les avortements d'origine chlamydiae viennent en second lieu après les avortements brucelliques.

L'infection est entretenue dans le troupeau par les jeunes femelles qui naissent de mères infectées et qui avortent au cours de leur première gestation. Deux années plus tard, les avortements sont moins nombreux mais les métrites plus fréquentes. Le taux de vaches non gravides peut atteindre jusqu'à 30% du troupeau, surtout la première année [12].

2) Notions d'épidémiologie de la chlamydiae chez les animaux

2-1) Importance

Lorsque l'infection survient pour la première fois dans un élevage, ces avortements peuvent concerner jusqu'au tiers du troupeau pour les élevages de brebis et jusqu'à 60% des animaux gestants pour les élevages de caprins.

Ce 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. Mais après quelques années, la chlamydiae se remanifeste par un nouveau pic d'avortements survenant la quasi totalité des

CHAPITRE 4: Etiopathogénie et l'épidémiologie de la chlamyphilose chez les animaux

primipares. Elle évolue ensuite de façon cyclique avec alternance de périodes d'avortements et de "disparition" de la maladie [75].

On peut observer des conjonctivites ou un syndrome grippal chez l'éleveur. Une contamination au laboratoire est également possible (troubles respiratoires) [20].

2-2) Sources d'infection et modes de transmission

La transmission de ce germe se fait surtout par voie orale mais aussi vénérienne ou par inhalation [52].

La contamination des animaux peut notamment se faire par ingestion d'aliments ou d'eau souillés par les avortons et les rétentions placentaires. Mais les urines et les fèces des animaux atteints constituent également une source de bactéries importante. Il existe en effet de nombreux animaux porteurs sains de la bactérie, c'est-à-dire contaminés et porteurs du germe mais ne manifestant aucun signe clinique de la maladie. Or ces porteurs sains non détectables cliniquement excrètent la bactérie dans leurs fèces et contaminent l'élevage. Alors que la bactérie peut survivre jusqu'à 2 jours dans l'urine, 5 jours dans le placenta, elle est capable de résister plusieurs mois dans le milieu extérieur si les conditions lui sont favorables. Enfin une transmission aux jeunes animaux par le lait dans les jours suivant la mise bas serait également possible [2].

Toute fois, l'excrétion par voie génitale et mammaire est de courte durée. Le rôle du mâle dans la transmission semble limité [26].

2-3) Résurgences chroniques

Le siège intracellulaire de la bactérie explique probablement le caractère chronique des infections [77]. La persistance de la bactérie dans l'organisme est possible par un échappement au système immunitaire alors que les composantes humorale et cellulaire sont présentes. Les anticorps de l'hôte ne sont pas contre une surinfection ou une réinfection [23].

2-4) L'aspect cyclique de Chlamyphilose

Les animaux ayant avorté ou ayant été infectés présentent une très forte immunité ce qui explique l'aspect cyclique sur plusieurs années de vagues d'avortement entrecoupées d'avortements plus sporadiques ou enzootiques [26].

CHAPITRE 5: Clinique de la chlamydiafilose animale

1) Symptômes et lésions associées

Chez les ruminants, les *Chlamydiafilila* sp sont responsables de nombreuses maladies mais ce sont les avortements qui représentent la pathologie la plus fréquente et la plus importante sur le plan économique. Ces avortements peuvent résulter d'une infection à *Chlamydiafilila pecorum*, à *Chlamydiafilila psittaci* et, surtout, d'une infection à *Chlamydiafilila abortus* [36].

C. abortus, responsable de la chlamydiafilose abortive également désignée en anglais OEA (ovine enzootic abortion), constitue l'une des causes majeures d'avortements chez les ovins et les caprins. Les souches de *C. abortus* sont responsables également de nombreuses infections locales telles que des conjonctivites, des arthrites, des entérites, des pneumonies, des orchites et des épидидymites. Elles peuvent également infecter les bovins, les porcins et les équins.

Les avortements se produisent en fin de gestation, sans signe clinique précurseur. Des mises bas prématurées ou à terme de produits chétifs qui meurent ou s'élèvent mal ont également lieu. Par ailleurs, l'infection par *C. abortus* confère aux animaux une immunité suffisante pour éviter de nouveaux avortements [91]. Chez les femelles non gestantes, l'infection se développe généralement vers une forme asymptomatique qui peut induire l'avortement pendant la gestation suivante. [111] Les fœtus peuvent être infectés dans l'utérus [92].

2) Autres formes cliniques

Chlamydiafilila abortus agent de l'avortement enzootique peut être aussi responsable d'une pneumonie, d'une polyarthrite ou d'une conjonctivite, les lésions pulmonaire ressemblent à celle de la pneumonie atypique.

Chez des agneaux âgés de 1 à 8 mois, *Chlamydiafilila abortus* peut aussi être responsable d'une polyarthrite rappelant l'arthrite rouget (arthrite non suppurative et non déformante). Les agneaux atteints peuvent aussi présenter une conjonctivite [20].

Tableau IV : pouvoir pathogène naturel des chlamydiaceae pour l'animal [4].

<p><u>CHEZ LES BOVINS</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Encéphalomyélite bovine sporadique (Maladie observée en Amérique, au Japon et en Australie chez les jeunes bovins)._ Avortement_ Kératoconjonctivite_ Entérite_ Pneumonie_ Polyarthrite <p>Il est impossible d'affirmer en 1983 si certaines de ces affections sont dues ou non aux mêmes souches.</p> <p><u>CHEZ LES OVINS</u></p> <p>(Même problème que chez les bovins).</p> <ul style="list-style-type: none">_ Avortement enzootique_ pneumonie_ Kératoconjonctivite_ Entérite_ Polyarthrite. <p><u>CHEZ LA CHEVRE</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Pneumonie	<p><u>CHEZ LE CHAT</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Pneumonie de Baker_ Kératoconjonctivite <p><u>CHEZ LE CHIEN</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Kératite superficielle chronique <p><u>CHEZ FURET</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Méningo-pneumonie <p><u>CHEZ LE COBAYE</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Conjonctivite <p><u>CHEZ LA SOURIS</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Pneumonie <p><u>CHEZ LE HAMSTER</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Pneumonie <p><u>CHEZ L'OPOSSUM</u></p> <ul style="list-style-type: none">_ Souche A, responsable d'une méningite_ Souche B, agent d'une pneumonie.
--	---

CHAPITRE 6 : Diagnostic

1) Diagnostic clinique

La chlamyophilose est le plus souvent asymptomatique .Elle provoque une pneumonie, une rhinite une conjonctivite, une entérite et exceptionnellement une encéphalomyélite. Spécialement chez le mâle, elle est responsable d'une orchite aigue et une orchi-épididymite chronique. Elle provoque une pneumonie fœtale et une hépatite (hypertrophie nodulaire du foie) [62].

La placentite est caractérisée par une nécrose touchant les cotylédons (au début atteinte de la périphérie puis extension à tout le cotylédon) avec un épaissement du tissu intercotylédonaire [20].

La nécrose des cotylédons qui prennent une couleur gris marron sont les lésions que l'on peut observer chez la femelle ayant avorté .Ces lésions ne sont pas caractéristiques des infections à chlamydia car elles peuvent être Observées dans d'autres infections abortives (brucellose, fièvre Q) [86].

On peut observer de l'œdème et une infiltration de mononucléaires .Des inclusions à chlamydia peuvent être mise en évidence dans les trophobastes du chorion.

Chez le fœtus ou l'avorton, la présence d'une nécrose localisée aux tissus hépatique, splénique et des ganglions lymphatique, avec une prolifération de monocytes reflétant la stimulation immunitaire, est fréquente [86].

L'absence de lésion sur l'avorton permet de suspecter une chlamyophilose. On peut distinguer les avortements dus à une atteinte placentaire (*chlamyphila*) de l'avortement lié à une septicémie (*Salmonella Dublin, Salmonella Typhimurium...*) ou à une atteinte fœtus (*Toxoplasma, Campylobacter, Listeria, Pestivirose Mycose.....*) [20].

Il n'existe pas de signe clinique spécifique d'avortement dû à *chlamydia*. Le vétérinaire ne peut se baser que sur des éléments de présomption pour poser son diagnostic. Celui-ci sera par la suite conforté par des tests de laboratoire [87].

2) Diagnostic direct

Le diagnostic des chlamydies repose sur l'examen direct par les anticorps marqués, l'isolement du germe sur culture cellulaire et la recherche d'anticorps (séroconversion). Les technologies sont au point actuellement ; la fiabilité du diagnostic dépend de la qualité du prélèvement [34].

2-1) prélèvements

Les *chlamydia* sont des germes à multiplication intracellulaire et il est donc indispensable d'obtenir un prélèvement riche de cellules par grattage à l'aide d'un écouvillon spécial ou d'une curette. Par ailleurs, ce sont des germes fragiles et les produits pathologiques doivent être immédiatement introduits dans un milieu de transport : 2 Sucrose Phosphate 2SP + Sérum Veau Fœtale SVF+ antibiotiques (Vancomycine, Gentamycine, Amphotéricine B) [15].

Pour le diagnostic d'infection à *Cph.psittaci*, la mise en culture du prélèvement des voies aériennes est en règle suffisante. Étant donné la faible incidence de ces infections, les techniques moléculaires sont peu employées pour l'homme. Elles présentent au contraire un grand intérêt chez l'animal [23].

2-1-1) Différents prélèvements

2-1-1-1) Prélèvements urogénitales :

Dans les infections génitales masculines, les prélèvements sont effectués dans l'urètre, jusqu'à 3-4 cm du méat. [15] Le sperme est un prélèvement qui ne convient pas pour la culture cellulaire du fait de sa cytotoxicité [23].

Chez la femme, on a recours à un prélèvement endocervical et urétral, voire au grattage des trompes ou d'adhérences au cours d'une coéloscopie [15].

2-1-1-2) Prélèvements des voies aériennes :

Pour le diagnostic d'une infection respiratoire, les crachats sont à éviter car leur traitement est difficile et ils ne sont pas adaptés à la culture. Le prélèvement le plus adéquat est le simple écouvillonnage pharyngé ou le lavage bronchoalvéolaire chez l'adulte et un écouvillonnage ou une aspiration nasale chez le nouveau-né [23].

2-1-1-3) Prélèvement tubaires ou péritonéaux :

Ils sont effectués sous coéloscopie. Un grattage de l'orifice des trompes, le recueil de liquide dans le cul-de-sac de Douglas être pratiques [23].

2-1-1-4) Autres prélèvements :

Les prélèvements anaux sont obtenus par grattage de la muqueuse du canal anal. En pratique médicale courante, la recherche de *chlamydia* dans d'autres sites reste exceptionnelle et elle est réservée à la recherche clinique [23].

2 1-2) Prise en charge du prélèvement

2-1-2-1) Prélèvements pour mise en culture :

Les *chlamydia* sont des germes fragiles et les produits pathologique doivent être immédiatement introduit dans un milieu de transport ; soit le milieu utilisé pour les cultures cellulaires (additionné d'antibiotiques) si des l'ensemencement peut être réalisé rapidement (l'échantillon peut être conservé 24 heures à plus de + 4°C), soit une solution tampon dite « milieu 2SPc » si l'inoculation ne peut intervenir avant 24-48h (l'échantillon doit alors être conservé à – 80° C) [15].

2-1-2-2) Prélèvements pour les autres techniques de diagnostic :

Pour l'immunofluorescence directe, un frottis sur lame bien étalé est suffisant. Il est fixé au méthanol en général. Pour la biologie moléculaire, la conservation du prélèvement à + 4° C suffit. Les liquides ou les biopsies doivent être déposées dans un tube sec [23].

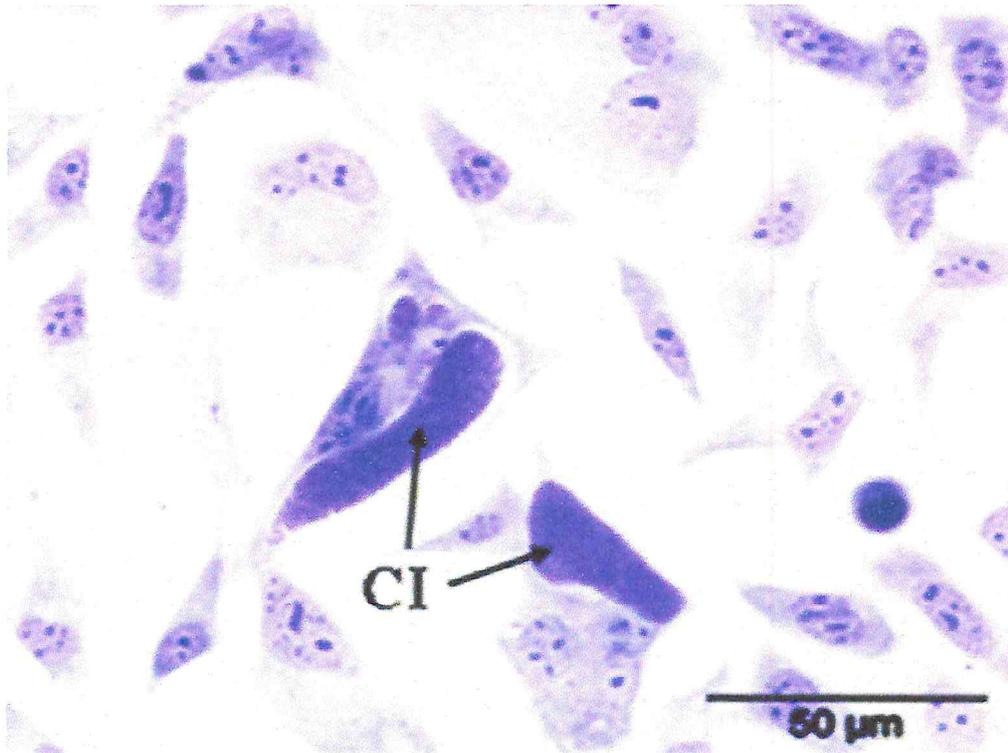
2-2) Isolement :

La culture cellulaire est la méthode de référence pour la recherche de *chlamydia* .Elle peut être utilisé quelque soit l'espèce et quelque soit le prélèvement. Cependant elle est délicate à mettre en œuvre et nécessite un matériel coûteux et un personnel entraîné [3].

Deux artifices techniques permettent les chances d'isolement :

- 1) La centrifugation des cellules inoculées, ce qui favorise l'adhésion et la pénétration des *chlamydia*.
- 2) le ralentissement de la réplication des cellules hôtes, obtenu le plus souvent par traitement par la cycloheximide , ce qui favorise la multiplication des *chlamydia* . Après 48 heures ou 72 heures d'incubation, la culture est colorée à l'iode ou au Giemsa (Figure 05).

Les cellules les plus couramment utilisées sont les souches McCoy (lignées semi-continues d'origine humaine) pour les espèces de *Chlamydia* qui touchent les ruminants. [15]



CI : inclusion cytoplasmique

Figure 05: *C. abortus* infecte les cellules Mc Coy monomère, Coloration de Giemsa [71].

2-3) L'immunofluorescence direct IF :

C'est une excellente technique, pratiquée directement sur les frottis, qui donne un résultat rapide .Elle met en évidence les corps élémentaires extracellulaires sur un tapis de cellules épithéliales (Figure 6), témoin de la qualité du prélèvement.

Le seuil de positivité généralement admis est de 10 corps élémentaire par frottis .La sensibilité et surtout la spécificité de ces techniques sont excellentes mais elles nécessitent un observateur expérimenté et elles sont difficilement utilisables pour de grandes séries de prélèvement [3].

Les anticorps commerciaux utilisables sont le plus souvent spécifiques d'espèce ; le diagnostic est, en général orienté [23].

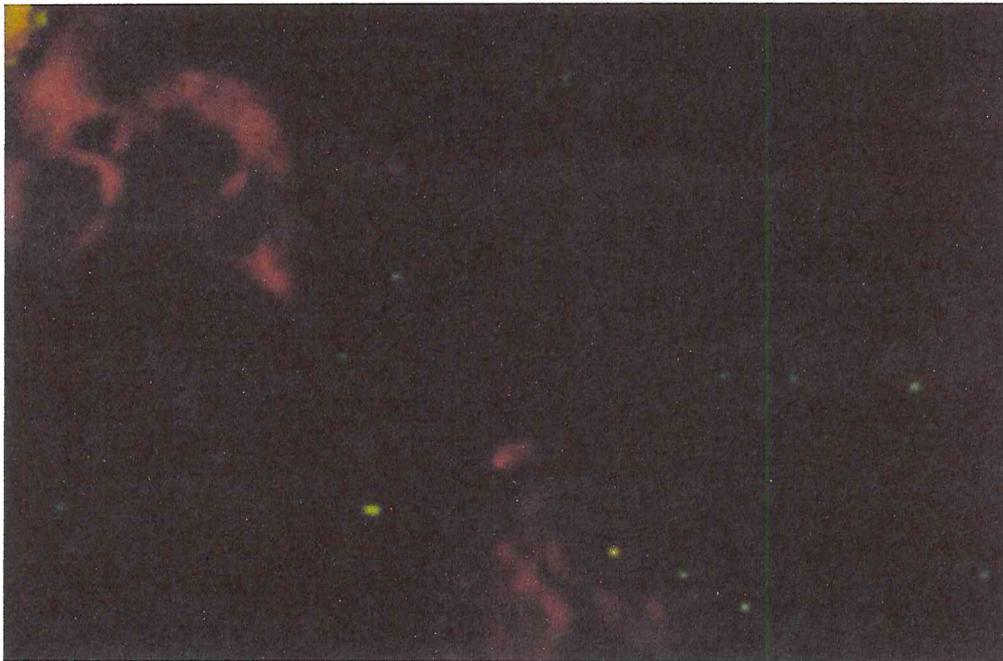


Figure 06: *Chlamydia trachomatis* en immunofluorescence. Immunofluorescence directe sur un frottis cervical montrant les corps élémentaires vert pomme fluorescent de *C. trachomatis*. (Microscopie à fluorescence, x1000) [53].

4) La technique ELISA directe

Les techniques immuno-enzymatiques présentent l'avantage d'être automatisables et de pouvoir ainsi traiter un grand nombre d'échantillons. Il existe également des tests unitaires, mais peu sensibilité (elle est au mieux de 90%) et de spécificité du fait de l'absence de contrôle visuel. Les tests de confirmation sont indispensables pour les résultats positifs. Ils augmentent le coût de diagnostic ainsi que les délais de rendu de résultat [23]. L'utilisation de réactifs de confirmation permet de limiter les erreurs [3].

2-5) Détection des acides nucléiques

Les techniques d'amplification génique ont plusieurs avantages. Elles sont très sensibles, elles pallient les insuffisances de la culture et permettent des prélèvements non invasifs comme les urines [3].

Les cibles les plus utilisées sont, soit le plasmide, soit le gène de la MOMP [23].

Quatre techniques d'amplification génique sont disponibles :

- RT-PCR (Réal temps-Polymérase Chain Réaction)
- PCR (Polymérase Chain Réaction)

-LCR (ligase Chain Réaction)

-TMA (Transcription Mediated amplification) de Gen Probe : amplification d'ARNr après action d'une reverse transcriptase et d'une ARN polymérase [3].

2-6) Examen microscopique

Examen microscopique après coloration. Les frottis sont colorés par la méthode de May Grunwald-Giemsa (figure 05) ou de Macchiavello.

L'existence d'inclusion intracellulaire révélée par un examen attentif, peut orienter le diagnostic qui sera renforcé par l'apparente stérilité du produit soumis aux habituelles cultures bactériennes [4].

D'après Berche Patrik et al, l'inclusion apparaît alors constituée, après coloration de Giemsa, de grandes granulations bleutées (corps reticulés) et de petites granulations violet foncé (corps élémentaires) [15].

3) Diagnostic indirect sérologique

3-1) La réaction de fixation du complément (RFC)

La technique de fixation du complément est largement utilisée pour le diagnostic de l'infection chez les ruminants mais, elle peut être utilisée pour d'autres espèces comme le chat et le porc. L'antigène utilisé est l'antigène commun à toutes les espèces de la famille des *Chlamydiaceae* (antigène lié au LPS). Son utilisation ne permet pas de différencier les animaux infectés des animaux porteurs de *Chlamydia* intestinales et des réactions faussement positives peuvent être obtenues chez des animaux infectés par diverses bactéries à Gram négatif comme les entérobactéries. Chez les ruminants, un titre supérieur ou égal à 80, obtenu en utilisant une méthode standardisée, est considéré comme évocateur de chlamydia abortive [36].

3- 2) L'immunofluorescence indirecte (IFI)

Dans les atteintes génitales ou oculaires, des anticorps ne peuvent être mis en évidence que par micro-immunofluorescence, qui utilise des anticorps élémentaires purifiés appartenant aux différents sérovars. Cette technique permet de détecter des IgG et des IgM dans le sérum et des IgA sécrétoires dans les larmes et les sécrétions génitales (Figure 07) [15].

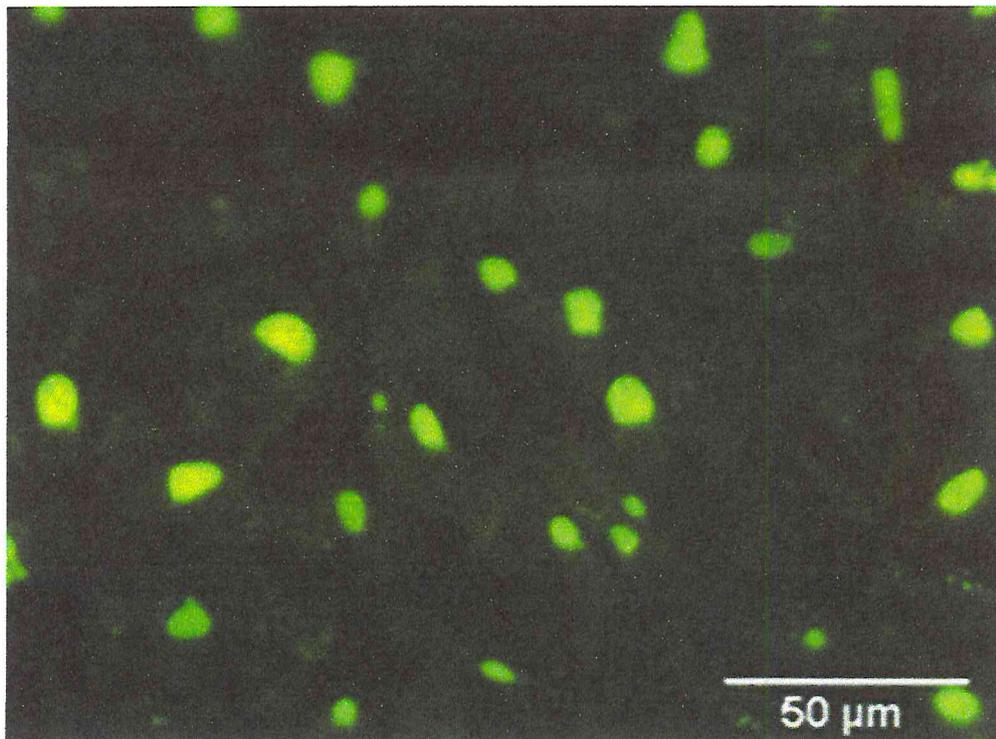


Figure 07: IF Indirecte détection de *C. abortus* de placenta et isolés sur cellule MaCoy en utilisant les anti MOMP marqueurs [71].

3-3) La technique ELISA

Un test ELISA utilisant un antigène recombinant de *C. abortus* à été développé (commercialisé par le laboratoire IDEXX). Il permet un dépistage précoce, spécifique et est réalisable également sur le lait. Son indication est plutôt la définition du statut du troupeau vis-à-vis des avortements et de l'infection que le diagnostic individuel [26].

Tableau V : Performances comparées des méthodes de diagnostic de Chlamydirose [16].

Méthodes	Prélèvements	Performances Sensibilité/spécificité	Interprétation
Indirecte : Sérologie ELISA	Sérum (sang sur tube sec)	Sensibilité et spécificité Moyennes	+ + + = résultat positif significatif ++, +, (+) = faiblement positif, résultat non significatif
Directe : Bactérioscopie Stamp	Houpe placentaire	Spécifique mais très peu sensible	Si positif = diagnostic de certitude
Directe : RT- PCR	Mucus vaginal, placenta, lait	Très sensible Très spécifique	Si positif = diagnostic de certitude

Ces techniques sont soit longues dans le cas d'isolement, soit onéreuses dans le cas de la PCR, soit encore peu sensibles à la mise en évidence par immunofluorescence ou ELISA, compte tenu de la fragilité des *chlamydia* durant le prélèvement [85].

CHAPITRE 7 : Traitement et Prophylaxie

1) Traitement

Les *chlamydia* étant des bactéries intracellulaires, les antibiotiques utilisés pour le traitement des infections doivent pouvoir pénétrer dans la cellule hôte, et les mêmes molécules sont utilisées quelle que soit l'espèce en cause.

Ces antibiotiques doivent en plus avoir un tropisme pour les appareils respiratoire et /ou génital. Les médicaments utilisés sont surtout les tétracyclines, les macrolides ou les fluoroquinolones [23].

Les antibiotiques de choix sont les cyclines, qui sont très actives sur les chlamydia et pénètrent bien dans les cellules. Selon le type d'atteinte, ces molécules sont employées par voie générale ou en applications locales. Par voie générale ou en applications locales. Par voie générale, on utilise le plus souvent la tétracycline (2g /jour en 4 prises) ou la doxycycline (200mg/jour en 1prise) [15].

La mise en œuvre d'une antibiothérapie (tétracyclines en particulier une forme retard d'oxytétracycline) chez les brebis atteintes ou susceptible de l'être et chez les nouveau-nés permet de juguler l'extension de la chlamydophilose dans le troupeau sans pour autant garantir la disparition du germe dans l'élevage [20].

Les tétracyclines ne sont actives que sur les chlamydies en phase de multiplication, c'est pourquoi le traitement doit être long et poursuivi pendant au moins 45jours. On fera un test de dépistage 10 à 15 plus tard [27].

L'emploi de tétracyclines, qui est aussi préconisé à titre prophylactique, présente l'inconvénient de masquer le risque pour l'homme lors de l'agnelage [20].

2) Prophylaxie

2-1) Prophylaxie sanitaire

Dans un troupeau sain, le statut sanitaire des animaux nouvellement introduits doit être contrôlé. Dans un troupeau infecté, les mesures classiques de contrôle des maladies infectieuses peuvent être utilisées pendant des épisodes infectieux :

- _ Eviter l'introduction d'animaux à statut sanitaire inconnu ;
- _ Séparer les animaux suivant les stades de gestation ;
- _ Isolement des femelles avortées ou à métrites et des substances contaminantes [5].

2-2) Prophylaxie médicale

Seule une vaccination systématique (vaccin inactivé ou souche vivante thermosensible) permet d'obtenir une bonne protection contre l'avortement enzootique dans un troupeau.

Le vaccin inactivé limite les aspects cliniques de la chlamydophilose, en particulier les avortements, mais ne modifie pas l'excrétion à l'agnelage.

Le vaccin vivant prévient les avortements et l'excrétion du germe si tout le troupeau est vacciné ainsi que les animaux de renouvellement ensuite pendant 3ans [20]. Ce vaccin s'adresse aux animaux sains (nouvelle génération), non infectés et son usage peut permettre une maîtrise globale de la chlamydiose dans le troupeau en 3à 5 ans. Il existe quelques contre-indications à la vaccination (animaux âgés de moins de 3 mois en raison des anticorps colostraux, animaux hyperthermique, gestants, recevant une antibiothérapie active contre les chlamydia) [23].

CONCLUSION

Les agents de la chlamyphilose des animaux sont des bactéries qui appartiennent au genre *Chlamydophila*. Ce genre très particulier par sa structure, son cycle, et son caractère intracellulaire obligatoire et ses différentes localisations organiques, Il est aisé de comprendre pourquoi Fukushi, qui fut le premier à découvrir *C. pecorum*, en 1992 comme agent de pneumonies, de polyarthrites, d'encéphalomyélites, de diarrhées et d'avortements chez les.

De nombreux travaux avaient révélé que *Chlamydia psittaci* était très hétérogène et la réorganisation de cette espèce a débuté en 1992 avec Everett *et al* qui ont bouleversé la systématique des *Chlamydiales*, leurs travaux ont permis de révéler un nouveau genre qui est *Chlamydophila*.

Chez les animaux, les *Chlamydophila* sp sont responsables de nombreux signes cliniques (conjonctivites, arthrites, encéphalomyélites, entérites, pneumonies) mais ce sont les avortements qui représentent la pathologie la plus fréquente et la plus importante sur le plan économique. Les *chlamydies* sont des bactéries qui demeurent encore aujourd'hui assez mystérieuses. Certains pensent d'ailleurs qu'elles pourraient jouer un rôle dans de nombreuses pathologies humaines graves, telles que la sclérose en plaque ou l'athérosclérose.

La fiabilité du diagnostic dépend la qualité du prélèvement où s'effectue à partir différentes localisations d'infection. Aucune méthode pour le diagnostic n'est totalement satisfaisante, La PCR est la méthode de choix pour confirmer une suspicion clinique de chlamyphilose, en raison de ses performances diagnostiques, mais aussi de ses nombreux avantages pratiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. **ACHA PN, SZYFRES B.** (2005) Zoonose et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux : chlamydioses , rickettsioses et viroses . Office internationale d'épizootie (OIE) ,3^{ème} édition .3-12p.
2. **ANONYME,** (2005a) Adresse URL: [http : //bvet .admin.ch](http://bvet.admin.ch)
(2005b) [http : //www.gds 38.asso.fr /web/gds.nsf](http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf) .(Consulté le 20 /02/ 2011)
3. **AVRIOL J-L, DABERNAT H, DENIS F, MONTEIL H.** (2000) Bactériologie Clinique .Ellipses édition Marketing, 3^{ème} édition. 567-577p.
4. **BALBASTRE C, BOURDON J-L, MARCHAL N, PILET C, TOMA B.** (1983) Bactériologie médicale et vétérinaire systématique bactérienne. A. abré et R.butiaux . 402-407p.
5. **BARBERET R, DUSSAULX G, HUGRON P-Y.** (2005) Memento de médecine bovine . 2^{ème} édition.273p.
6. **BATTEIGER B-E, LIN P-M, JONES R-B, VAN DER POL B-J.** (1996)Species-, serogroup-, and serovar-specific epitopes are juxtaposed in variable sequence region 4 of the major outer membrane proteins of some *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect Immun. 64, 2839-41p.
7. **BAVOIL P- M, HSIA R- C.** (1998) Type III secretion in Chlamydia: a case of déjà vu. Mol Microbiol. 28, 860-2p.
8. **BAVOIL P, OHLIN A, SCHACHTER J.** (1984) Role of disulfide bonding in outer membrane structure and permeability in *Chlamydia trachomatis*. Infect Immun. 44, 479-85p.
9. **BAVOIL P, STEPHENS R-S, FALKOW S.** (1990) A soluble 60 kiloDalton antigen of *Chlamydia spp.* is a homologue of Escherichia coli GroEL. Mol Microbiol. 4, 461-9p.
10. **BEAGLEY K-W, TIMMS P.** (2000) Journal of Reproductive Immunology 48. 47–68p.
11. **BEATTY W-L, BYRNE G-L, MORRISSON R-P.** (1994)Persistent *Chlamydia*: Frome cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. Microbiol Rev 58.686-99p.
12. **BEANDALI F, GOURREAU J-M.** (2008) Maladies des bovins. Edition France Agricole, 4^{ème} édition.516p.
13. **BEDSON S-P, WESTERN G-T, SIMPSON S-L.** (1930) Observations on the ethiology of psittacosis. Lancet 1. 235-236p.
14. **BEECKMAN D-S, GEENS T, TIMMERMANS J-P, VAN OOSTVELDT P,**

- VANROMPAY D-C. (2008) Identification and characterization of a type III secretion system in *Chlamydomyphila psittaci*. Vet Res. 39, 27p.
15. **BERECHE P, GAILLARD J-L, SIMANET M.** (1991) Bactériologie, les bactéries des infections humaines. médecine –science flammariion. 494-505p.
 16. **BESSON N, PELZER VS.** (2006) Diagnostic de la Fièvre Q et de la Chlamydiose par RT-PCR en temps réel, Laboratoire départemental d'analyses et de recherche du cantal, octobre 2006.
 17. **BIRKELUND S, LUNDEMOSE A-G, CHRISTIANSEN G.** (1988) Chemical cross-linking of *Chlamydia trachomatis*. Infect Immun. 56, 654-9p.
 18. **BOITGRE E, ECKERT J, DEPLAZES P, HALLER O, KAYSER F-H, ZIN KER NAGEL R.** (2008) Manuel de poche de microbiologie médicale. médecine –science flammariion .351-353p.
 19. **BOREL N, LIVINGSTONE M, LONGBOTTOM D, POSPISCHIL A, SACHSE K, VRETOU E.** (2009) Veterinary Microbiology 135: Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. 6p.
 20. **BRUGERE-PICOUX J.** (2004) Maladies des moutons. France Agricole, 2^{ème} édition. 216p.
 21. **BRUNELLE B-W, SENSABAUGH G-F.** (2006)The ompA gene in *Chlamydia trachomatis* differs in phylogeny and rate of evolution from other regions of the genome. Infect Immun. 74, 578-85p.
 22. **CALDWELL H-D, HITCHCOCK P-J.** (1984) Monoclonal antibody against a genus- specific antigen of *Chlamydia* species : location of the epitope on chlamydial lipopolysaccharide. Infect Immun. 44, 306-14p.
 23. **CARSARO D, LE FAOU A.** (2002) *Chlamydia* : Collection "Monographies de Microbiologie". Edition TEC & DOC ,91-126p.
 24. **CASE C-L, FUNKE B-R, TOITORA G-J.** (2000) Introduction à la microbiologie.TEC & DOC .345-346 p.
 25. **CHANG G-T, MOULDER J-W.** (1978) Loss of inorganic ions from host cells infected with *Chlamydia psittaci*. Infect Immun. 19, 827-32p.
 26. **CHARTIER C.** (2003) Pathologie caprine : du diagnostic à la prévention .195-200p
 27. **DESCACHY F.** (2005) Les zoonoses : transmission des maladies des animaux à l'homme. VECCHI S.A, 52-54p.

28. DONATI M, SAMBRI V, COMANDUCCI M, DI LEO K, STORNI E, GIACANI L, RATTI G, CEVENINI R. (2003) DNA immunization with *pgp3* gene of *Chlamydia trachomatis* inhibits the spread of chlamydial infection from the lower to the upper genital tract in C3H/HeN mice. *Vaccine*. 21, 1089-93p.
29. DONATI M, DI FRANCESCO A, BALDELLI R, MAGNINO S, PIGNANELLI S, SHURDHI A, DELUCCA F, CEVENINI R. (2009) In vitro detection of neutralising antibodies to *Chlamydia suis* in pig sera. *Vet Rec*. 164, 173-4p.
30. DONG F, SU H, HUANG Y, ZHONG Y, AND ZHONG G. (2004) Cleavage of host keratin 8 by a *Chlamydia*-secreted protease. *Infect Immun*. 72, 3863-8p.
31. DOUGHRI A-M, STORZ J, ALTERA K-P. (1972) Mode of entry and release of *chlamydiae* in infections of intestinal epithelial cells. *J Infect Dis*. 126, 652-7p.
32. DOUGHRI A-M, YONG S, STORZ J. (1974) Pathologic changes in intestinal chlamydial infection of newborn calves. *Am J Vet Res*. 35, 939-44p.
33. EB F, ORFILA J, FUENTES V, THOMAS D, BISSAC E. (1984) [Kinetic study of the antibodies in OF 1 and C57Bl mice infected with *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*. Its application to the interpretation of the serological results in human chlamydioses]. *Virologie*. 35, 109-17p.
34. EBERLIN T. (1997) Les infections microbiennes : agent infectieux. Edition NATHAN. 93-96p.
35. EISENSTEIN, MEDOFF, SCHAECHTER. (1999) microbiologie et pathologie infectieuse. Boeck université, 2^{ème} édition. 353p
36. EUZEBY J P. (2001) Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire (consulté le 20 /02/ 2011) Adresse URL: <httpwww.bacterio.cict.frbacdicocchlamydophila.html> (2).
37. EVERETT K-D, ANDERSEN A-A. (1999) Identification of nine species of the *Chlamydiaceae* using PCR-RFLP. *Int J Syst Bacteriol*. 49 Pt 2, 803-13p.
38. EVERETT K-D, HATCH T-P. (1995). Architecture of the cell envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC. *J Bacteriol*. 177, 877-82p.
39. EVERETT K-D, BUSH R-M, ANDERSEN A-A. (1999) 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 (Pt 2), 415-440.

40. **EVERETT K-D, BUSH R-M, ANDERSE A-A.** (1999) 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. Bact.* 49, 415–440p.
41. **FAHERTY C-S, MAURELLI A-T.** (2008) staying alive: bacterial inhibition of apoptosis during infection. *Trends Microbiol.* 16, 173-80p.
42. **FAN J, STEPHENS R- S.** (1997) Antigen conformation dependence of *Chlamydia trachomatis* infectivity neutralization. *J Infect Dis.* 176, 713-21p.
43. **FAN P, DONG F, HUANG Y, ZHONG G.** (2002) *Chlamydia pneumoniae* secretion of a protease-like activity factor for degrading host cell transcription factors required for [correction of factors is required for] major histocompatibility complex antigen expression. *Infect Immun.* 70, 345-9p.
44. **FIELDS K-A, HACKSTADT T.** (2000) Evidence for the secretion of *Chlamydia trachomatis* CopN by a type III secretion mechanism. *Mol Microbiol.* 38, 1048-60p.
45. **FUKUSHI H, HIRAI K.** (1992) Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants. *Int J Syst Bacteriol.* 42, 306-8p.
46. **GORDON F-B, QUAN A-L.** (1965a). Isolation of the Trachoma Agent in Cell Culture. *Proc Soc Exp Biol Med.* 118, 354-9p.
47. **GRAYSTON J-T, WANG S-P, KUO C-C, CAMPBELL L- A.** (1989) Current knowledge on *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, an important cause of pneumonia and other acute respiratory diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 8, 191-202p.
48. **GRIMWOOD J, OLINGER L, STEPHENS R-S.** (2001) Expression of *Chlamydia pneumoniae* polymorphic membrane protein family genes. *Infect Immun.* 69, 2383-9p.
49. **GUETTA F-J.** (2005) Diagnostic de la chlamydie feline par PCR (consulté le 20 /02/ 2011)
AdresseURL: <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=716>.
50. **HACKSTADT T, BRICKMAN T- J, BARRY C- E, SAGER J.** (1993) Diversity in the *Chlamydia trachomatis* histone homologue Hc2. *Gene.* 132, 137-41p.
51. **HALBERSTADTER L, VON PROWAZEK S.** (1907) Über zellieinschlüsse parasitärer natur beim trachom. *Arb. Gesundheitsamt Berlin.* 26, 44-47p.

52. **HANZEN Ch.** (2006) Les avortements chez les ruminants et la jument .Cours de 2^{ème} année doctorat, chapitre 22. (consulté le 20 /02/ 2011)
Adresse URL: [http : //sngtv .org /puplication/edition 08.htm](http://sngtv.org/puplication/edition08.htm)
53. **HART T, SHEARS P.** (1997), Atlas de poche: microbiologie médicale. Médecine-Science Flammarion, 1^e édition.202- 203p.
54. **HATCH T-P, VANCE D-W JR, AL-HOSSAINY E.** (1981) Attachment of *Chlamydia psittaci* to formaldehyde-fixed and unfixed L cells. J Gen Microbiol. 125, 273-83p.
55. **HOARE A, TIMMS P, BAVOI, P-M, WILSON D-P.** (2008) Spatial constraints within the *chlamydial* host cell inclusion predict interrupted development and persistence. BMC Microbiol. 8, 5p.
56. **HUANG J, LESSER C-F, LORY S.** (2008) The essential role of the CopN protein in *Chlamydia pneumoniae* intracellular growth. Nature. 456, 112-5p.
57. **HUECK C-J.** (1998) Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. Microbiol Mol Biol Rev. 62, 379-433p.
58. **KLEBA B, STEPHENS R-S.** (2008) *Chlamydial* effector proteins localized to the host cell cytoplasmic compartment. Infect Immun. 76, 4842-50p.
59. **LAROUCAU K, GUERIN J-L.** (2006) Bulletin épidémiologique : La chlamydie aviaire, N°22/septembre, 4-6p.
60. **LARPENT J-P.** (2000) Introduction à la nouvelle classification bactérienne, 108-109p.
61. **LAVERDA D, KALAYOGLU M-V, AND BYRNE G-I.** (1999) *Chlamydial* heat shock proteins and disease pathology: new paradigms for old problems? Infect Dis Obstet Gynecol. 7, 64-71p.
62. **LEVINE HD.** (2002) Abortion in large animals .Le manuel vétérinaire de marck , 2^{ème} édition française d'après la 8^{ème} édition américaine, 988-992 p.
63. **LIBBEY J.** (2002) Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. Médecine Science Sélection. 284-293p.
64. **LONGBOTTOM D, FINDLAY J, VRETOU E, DUNBAR S-M.** (1998)
Immunoelectron microscopic localisation of the OMP90 family on the outer membrane surface of *Chlamydia psittaci*. FEMS Microbiol Lett. 164, 111-7p.
65. **MATSUMOTO A.** (1988) Structural characteristics of chlamydial bodies. In: Barron AL. Microbiology of *Chlamydia*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 27-31p.
66. **MATSUMOTO A.** (1982a) Electron microscopic observations of surface projections on *Chlamydia psittaci* reticulate bodies. J Bacteriol. 150, 358-64p.

67. **MATSUMOTO A.** (1982b) Surface projections of *Chlamydia psittaci* elementary bodies as revealed by freeze-deep-etching. J Bacteriol. 151, 1040-2p.
68. **MATSUMOTO A, FUJIWARA E, HIGASHI N.** (1976) Observations of the surface projections of infectious small cell of *Chlamydia psittaci* in thin sections. J Electron Microsc (Tokyo). 25, 169-70p.
69. **MATSUMOTO A, MANIRE G-P.** (1970) Electron microscopic observations on the effects of penicillin on the morphology of *Chlamydia psittaci*. J Bacteriol. 101, 278-85
70. **MC CAFFERTY M-C, HERRING A-J, ANDERSEN A-A, JONES G-E.** (1995) Electrophoretic analysis of the major outer membrane protein of *Chlamydia psittaci* reveals multimers which are recognized by protective monoclonal antibodies. Infect. Immun. 63, 2387-2389p.
71. **MORANGE A.** (1895) De la psittacose, ou infection spéciale déterminée par les perruches *Chlamydia pneumoniae*. Thèse. Paris.
72. **MOULDER J-W.** (1966) The relation of the psittacosis group (*Chlamydiae*) to bacteria and viruses. Annu Rev Microbiol. 20, 107-30p.
73. **MOULDER J-W.** (1988) Overview of animal diseases induced by chlamydial infections. In: Barron AL. Microbiology of *Chlamydia*. 14 p.
74. **MOULDER J-W.** (1991) Interaction of *chlamydiae* and host cells in vitro. Microbiol Rev. 55, 143-90p.
75. **MOZILA FIREFOX.** (2008) Chlamydiose file:///K:/rfrs/Chlamydiaceae/Chlamydiose2.htm
76. **MYGIND T, VANDAHL B, PEDERSEN A-S, CHRISTIANSEN G, HOLLBERG P, BIRKELUND S.** (2004) Identification of an in vivo CD4+ T cell-mediated response to polymorphic membrane proteins of during experimental infection. FEMS Immunol Med Microbiol. 40, 129-37p.
77. **NAUCIEL CHARLES C.** (2000) Bactériologie médicale .MASSON S.A. 225-228p.
78. **NEWHALL W-J-T.** (1987) Biosynthesis and disulfide cross-linking of outer membrane components during the growth cycle of *Chlamydia trachomatis*. Infect Immun. 55, 162-8p.
79. **PETERS J, WILSON D-P, MYERS G, TIMMS P, BAVOIL P-M.** (2007) Type III secretion ala *Chlamydia*. Trends Microbiol. 15, 241-51p.
80. **POPOV V, EB F, LEFEBVRE J-F, ORFILA J, VIRON A.** (1978) Morphological and cytochemical study of *Chlamydia* with EDTA regressive technique and Gautier staining in

- ultrathin frozen sections of infected cell cultures: a comparison with embedded material. *Ann Microbiol (Paris)*. 129 B, 313-37p.
81. **PRANTNER D, NAGARAJAN U-M.** (2009) Role for the chlamydial type III secretion apparatus in host cytokine expression. *Infect Immun*. 77, 76-84p.
82. **QUINN PJ, MARKEY BK, CARTER ME, DONNELLY WJC, Leonard FC.**(1994)The *Chlamydiales* (Order). *In: Veterinary Microbiology And Microbial Diseases*. 2nd ed. Wolfe Publishing, London. England. 310-315p.
83. **RAKE G, SCHAFFER M, THYGESON P.** (1942) Relationship of agents of trachoma and inclusion conjunctivitis to those of lymphogranuloma-psittacosis group. *Proc. Soc.Exp. Biol. Med.* 49, 545-547p.
84. **RAULSTON J-E.** (1997) Response of *Chlamydia trachomatis* serovar E to iron restriction in vitro and evidence for iron-regulated chlamydial proteins. *Infect Immun*. 65, 4539-47p.
85. **READ T-D, MYERS G-S, BRUNHAM R-C, NELSON W-C, PAULSEN I-T, HEIDELBERG J, HOLTZAPPLE E, KHOURI H, FEDEROVA N-B, CARTY H-A, UMayAM L-A, HAFT D-H, PETERSON J, BEANAN M-J, WHITE O, SALZBERG S-L, HSIA R-C, MCCLARTY G, RANK R-G, BAVOIL P-M, FRASER C-M.**(2003) Genome sequence of *Chlamydophila caviae* (*Chlamydia psittaci* GPIC): examining the role of nichespecific genes in the evolution of the *Chlamydiaceae*. *Nucleic Acids Res.* 31, 2134-47p.
86. **REKIKI A, RODOLAKIS A.** (2004) Diagnostic des avortements chez les petits ruminants. *Point vétérinaire n°243* ,24-31p.
87. **RHODES A- J, VAN ROOYEN C-E.** (1962) *Rhodes & van Rooyen: Textbook of virology*, 4th edition. The Williams and Wilkins company, Baltimore, Maryland, USA.
88. **ROCKEY D-D, ROSQUIST J-L.** (1994) Protein antigens of *Chlamydia psittaci* present in infected cells but not detected in the infectious elementary body. *Infect Immun*. 62,106-12p.
89. **ROCKEY D-D, SCIDMORE M-A, BANNANTINE J-P, BROWN W-J.** (2002) Proteins in the chlamydial inclusion membrane. *Microbes Infect.* 4, 333-40p.
90. **RODOLAKIS A.** (1988) Diagnostic de la chlamydie abortive. *Ann Rech Vét.* 213- 220p.
91. **RODOLAKIS A, SALINAS J, AND PAPP J.** (1998) Recent advances on ovine chlamydial abortion. *Vet Res.* 29, 275-88p.
92. **RODOLAKIS A, BERNARD K.** (1977) Isolation of *Chlamydia* from genital tract of rams affected by clinical epididymitis. *Bulletin Academie Veterinaire de France.* 50, 65-70p.

93. **SAMBRI V, DONATI M, STORNI, E, DI LEO K, AGNUSDEI M, PETRACCA R, FINCO O, GRANDI G, RATTI G, CEVENINI R.** (2004) Experimental infection by *Chlamydia pneumoniae* in the hamster. *Vaccine*. 22, 1131-7p.
93. **SCIDMORE M-A, ROCKEY D-D, FISCHER E-R, HEINZEN R-A, HACKSTADT T.** (1996) Vesicular interactions of the inclusion are determined by chlamydial early protein synthesis rather than route of entry. *Infect Immun*. 64, 5366-72p.
94. **SHEWEN PE.** (1980) Chlamydial infection in animals: a review. *Can Vet J*. 21(1):2-11p.
95. **STAMP J- T, MC E.-A, WATT J- A, NISBET D- I.** (1950) Enzootic abortion in ewes; Transmission of the disease. *Vet Rec*. 62, 251-254p.
96. **STORNI E, DONATI M, MARANGONI A, ACCARDO S, CEVENINI R.**(2006) Comparative PCR-based restriction fragment length polymorphism analysis of the plasmid gene orf3 of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 48, 313-8p.
97. **STUART E- S, WYRICK P-B, CHOONG J, STOLER S-B, MACDONALD A-B.** (1991) Examination of chlamydial glycolipid with monoclonal antibodies: cellular distribution and epitope binding. *Immunology*. 74, 740-7p.
98. **SU H, MORRISON R-P, WATKINS N-G, CALDWELL H-D.** (1990a) Identification and characterization of T helper cell epitopes of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *J Exp Med*. 172, 203-12p.
99. **SU H, WATKINS N-G, ZHANG Y-X, CALDWELL H-D.**(1990b)*Chlamydia trachomatis* host cell interactions: role of the chlamydial major outer membrane protein as an adhesin. *Infect Immun*. 58, 1017-25p.
100. **SU , RAYMOND L, ROCKEY D-D, FISCHER E , HACKSTADT T, CALDWELL H-D.** (1996) A recombinant *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein binds to heparan sulfate receptors on epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93, 11143-8p.
101. **SUBTIL A, PARSOT C, DAUTRY-VARSAT A.** (2001) Secretion of predicted Inc proteins of by a heterologous type III machinery. *Mol Microbiol*. 39,792-800p.
102. **TANG F-F, HUANG Y- T, CHANG H-L, WONG K-C.** (1957) Isolation of trachoma virus in chick embryo. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1, 109-20p.
103. **TANZER R-J, HATCH T-P.** (2001) Characterization of outer membrane proteins in *Chlamydia trachomatis* LGV serovar L2. *J Bacteriol*. 183, 2686-90p.
104. **THOMSON N-R, YEATS C, BELL K, HOLDEN M-T, BENTLEY S-D,**

- LIVINGSTONE M, CERDENO-TARRAGA A-M, HARRIS B, DOGGETT J, ORMOND D, MUNGALL K, CLARKE K, FELTWELL T, HANCE Z, SANDERS M, QUAIL M-A, PRICE C, BARRELL B-G, PARKHILL J, LONGBOTTOM D. (2005) The *Chlamydomonas reinhardtii* genome sequence reveals an array of variable proteins that contribute to interspecies variation. *Genome Res.* 15, 629-40p.
105. THYGESON P. (1962) Trachoma virus: historical background and review of isolates. *Ann N Y Acad Sci.* 98, 6-13p.
106. TODD W- J, AND CALDWELL H-D. (1985) The interaction of *Chlamydia trachomatis* with host cells: ultrastructural studies of the mechanism of release of a biovar II strain from HeLa 229 cells. *J Infect Dis.* 151, 1037-44p.
107. VORA G-J, STUART E-S. (2003) A Role for the glycolipid exoantigen (GLXA) in chlamydial infectivity. *Curr Microbiol.* 46, 217-23p.
108. VRETOU E, PSARROU E, SPILIOPOULOU D. (1992) The role of lipopolysaccharide in the exposure of protective antigenic sites on the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *J Gen Microbiol.* 138, 1221-7p.
109. VRETOU E, KATSIKI E, PSARROU E, VOUGAS K, TSANGARIS G-T. (2008) Identification and characterization of Inc766, an inclusion membrane protein in *Chlamydomonas reinhardtii* infected cells. *Microb Pathog.* 45, 265-72p
110. WALDHALM D-G, FRANK F-W, MEINERSHAGEN W-A, PHILIP R-N, THOMAS L-A. (1971) Lambing performance of ewes inoculated with *Chlamydia* sp. before and after breeding. *Am J Vet Res.* 32, 809-11p.
111. WARD ME. (1988) chlamydial developmental cycle. *In*: Barron AL. *Microbiology of Chlamydia*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida; 71-96p.
112. WHITTUM-HUDSON J-A, RUDY D, GERARD H, VORA G, DAVIS E, HALLER P-K, PRATTIS S-M, HUDSON A-P, SALTZMAN W-M, STUART E-S. (2001) The anti-idiotypic antibody to chlamydial glycolipid exoantigen (GLXA) protects mice against genital infection with a human biovar of *Chlamydia trachomatis*. *Vaccine.* 19, 4061-71p.
113. WUPPERMANN F-N, MOLLEKEN K, JULIEN M, JANTOS C-A, HEGEMANN J- H. (2008) *Chlamydia pneumoniae* GroEL1 protein is cell surface associated and required for infection of HEp-2 cells. *J Bacteriol.* 190, 3757-67p.