

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère De l'enseignement Supérieure et de La Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VÉTÉRINAIRE

MEMOIRE

EN VU DE L'OBTENTION DU DIPLOME DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

THEME

ETUDE DES PRINCIPAUX AGENTS INFECTIEUX D'ORIGINE BACTERIENNE RESPONSABLES D'AVORTEMENT CHEZ LA VACHE

Promotrice : Dr.AZZAG.N maître de conférence

Présidente: Dr.HAFSI.F maître de conférence

Examinatrice : Dr.GHALMI.F maître de conférence

Examinatrice : Dr.DERDOUR.S maître assistante classe A

Présenté par :

M^{ELLE}: KHALED Attika

M^{ELLE}: BENAZIZA Amina

M^{ELLE}: BENBEISA Inès

Année universitaire : 2012-2013

Remerciements

Louange à notre Seigneur « ALLAH », qui nous a dotés de la merveilleuse faculté de raisonnement. Louange à notre Créateur qui nous a incités à acquérir le savoir, qui nous a donné la patience, la santé et la volonté tout au long de nos études. C'est à lui que nous adressons ses nombreuses gratitudee en premier lieu.

Nous tenons à remercier notre promotrice Mme. Azzag Naouelle pour avoir accepté de nous encadrer, merci pour son attention, sa bienveillance et son appui sans faille ont été des encouragements décisifs pour mener à terme cette étude. Ses suggestions et son soutien nous ont été très précieux. Nous lui exprimons notre vive et respectueuse gratitude. C'est un réel plaisir de travailler avec vous. Merci.

Nous remercions par anticipation les membres du jury Dr. Hafsi . f pour avoir accepté la présidence du jury de soutenance et les examinatricee Dr. derdour.S. Dr. Ghalmi.F. C'est vraiment un grand honneur pour nous. Merci

Nous souhaiterons également remercier tous nos enseignants de l'école vétérinaire pour avoir participé à notre formation.

Nous voudrions exprimer notre reconnaissance à Mr. Yassine qui n'a pas cessé de nous aider durant tout notre cursus. Merci

Finalement, notre remerciements vont à tous ceux qui ont contribué d'une quelconque manière à l'aboutissement de ce travail.

Au nom d'Allah

*Le tout puissant et le très miséricordieux par
la grâce du quel nous avons pu réaliser ce travail que je dédie :*

A Fares,

au meilleur oncle que l'on puisse rêver avoir,

*Pour avoir toujours été là, dans les bons comme dans les mauvais moments, et
pour m'avoir toujours encouragé.*

merci d'être toujours là pour moi, je t'aime du fond du cœur mon chère khali

A ma chère maman

qui n'a jamais arrêté de m'encourager.

merci pour ton amour et pour ta tendresse

que Dieu te protège pour nous.

A mes sœurs et mes frères

Anissa, Noor, Ramzi, Oussama et Imed

Je vous aime de tout mon cœur

A ma tante Samira

Merci pour tes encouragements et ton amour

A tous mes amis

*Zinouba, Zizou, kadi, Radja, Asma, Sahsoha, Hako, Karim, Mimi,
Hinou, Hadjer,pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble,
je vous aime du fond du cœur*

A mes binômes

Amina et Atika merci pour votre patience et compréhension

Inès

A mes parents

*Qu'ils trouvent, à travers ce travail, une infime partie de ma reconnaissance pour leur amour
et leur soutien au quotidien,
Pour avoir toujours été là, dans les bons comme dans les mauvais moments, et pour m'avoir
toujours encouragé.*

A ma Maman,

*À qui je dois beaucoup,
Merci pour toute l'énergie dépensée à la réalisation de mes rêves,
Merci d'avoir toujours cru en moi,
Merci pour ton amour que j'ai souvent mis à l'épreuve,
Je t'aime de tout mon cœur.*

A mon Papa,

*Qui a su me donner la force qui me manquait parfois pour aller au bout de mes ambitions,
Et qui a fait preuve d'un soutien sans faille,
Merci d'avoir toujours été présent et à l'écoute,
Merci pour l'amour dont tu as toujours su m'entourer,
Je t'aime de tout mon cœur.*

A ma sœur,

*Pour tout les bons moments qu'on a passés ensemble.
Merci pour toute notre enfance partagée dans les rires et la joie aussi les disputes,
Merci pour ton soutien, mais aussi pour ton écoute,
J'espère garder à jamais cette complicité qui nous lie,
Je t'aime du fond du cœur.*

A mes frères,

*Très chers à mon cœur,
Merci pour votre soutien, encouragement,
Ainsi que pour votre amour, protection et dévouement,
Pour moi.*

Je ne vous remercierai jamais assez,

A mes sources de joie

Anis, Nouha et Louay.

A mon beau frère Djilali et ma belle sœur Faiza.

A ma grande famille,

A mes oncles et mes tantes.

A tout mes cousins spécialement Amin et Nabil à toute mes cousines spécialement Naila,

Asma, Wissem et Zola,

A mes chers ami(e)s

Manel, Sarah, Houria, Kheira, Minou, Nadia, lamia, Hinda e Meriem

A Noura ,

Merci pour ton soutien et ton amitié.

A celui qui ma toujours épaulé et qui a été toujours présent pour moi

Mohamed

A mes adorables binômes

Inès, Atika, Merci pour votre patience et compréhension.

Je remercie vivement Dieu et je lui rends grâce de m'avoir tout donné

Je délire ce travail à :

Mon père qui a tout fait pour que je trouve le chemin de succès et de bonheur

Ma très chère mère qui est ma source éternelle celle qui a inondé ma soif de tendresse, d'amour, et de compréhension.

Merci PAPA ; merci MAMAN

Sans vous je ne pourrais jamais avancer

Que Dieu vous protège pour moi

Mes frères: Riad, Fares , Abdel-hake

Mes chères sœurs : Chafia et Ouarda, qu'elles été toujours à mes cotés et qui me rendent toujours le sourire, et m'encouragent.... Merci mes chères sœurs

Toutes mes amies Labiba , Hadjira, Siham, Nesrine et surtout Radja que je vais jamais oublier ses encouragements et son amitié.

Tous mes cousins et mes cousines et tous mes proches.

Mes deux adorables binômes Amina et Ines

Atika

SOMMAIRE

Introduction	
I. La brucellose	3
I.1. Historique	3
I.2. Taxonomie	4
I.3. Morphologie et caractères cultureux	5
I.3.1. Caractères morphologiques	5
I.3.2. Caractères cultureux	6
I.3.3. Caractères biochimiques	7
I.3.4. Caractères génétiques	7
I.4. Facteurs de virulence	7
I.5. Pathogénie	8
I.6. Espèces affectées	9
I.7. Signes cliniques	10
I.8. Lésions	11
I.9. Répartition géographique	11
I.10. Sources de l'infection	12
I.11. Transmission et mode de contagion	12
I.12. Diagnostic	12
I.12.1. Diagnostic épidémiologique et lésionnel	12
I.12.2. Diagnostic de laboratoire	13
I.12.3. Les techniques d'amplification génique	15
I.12.4. Les autres méthodes	15
II. Chlamydie	17
II.1. Historique	17
II.2. Taxonomie	18
II.3. Morphologie et caractères cultureux	23
II.3.1. Morphologie générale	23
II.3.2. Structure de la paroi cellulaire	23
II.3.3. Le génome	26

II. 3.4. Caractères métaboliques	27
II.3.5. Caractères cultureux	27
II.4. Facteurs de virulence	28
II. 4 .1. Les antigènes	28
II.4.2. les toxines	28
II.5. Pathogénie	29
II.6. Espèces affectées	32
II.7. Signes cliniques	33
II.8. Lésions	35
II.9. Répartition géographique	37
II.10. Sources de l'infection	37
II.11. Transmission et mode de contagion	37
II.12. Diagnostic	38
II.12.1. Diagnostic épidémiologique	38
II.12.2. Diagnostic lésionnel	39
II.12.3. Diagnostic de laboratoire	39
III. Leptospirose	43
III.1. Historique	43
III.2. Taxonomie	43
III.3. Morphologie et caractères cultureux	44
III.4. Facteurs de virulence	45
III.5. Pathogénie	47
III.6. Espèces affectées	48
III.7. Signes cliniques	48
III.7.1. Forme suraiguë	49
III.7.2. Forme aiguë	49
III.7.3. Forme chronique	50
III.8. Lésions	52
III.8.1. Lésions macroscopiques	52
III.8.2. Lésions histologiques	53
III.9. Répartition géographique	54
III.10. Sources de l'infection	55

III.11. Transmission et mode de contagion	56
III.11.1. Transmission	57
III.11.2. Voies de pénétration	57
III.12. Diagnostic	58
III.12.1. Diagnostic épidémiologique	58
III.12.2. Diagnostic lésionnel	58
III.12.3. Diagnostic de laboratoire	58
IV. Conclusion et recommandation	64

Introduction générale

Les avortements sont l'une des principales causes de pertes économiques chez les éleveurs de bovins. En plus de la perte du veau, il faut ajouter une perte de production laitière et les conflits d'entretien de ces animaux non productifs. Des statistiques démontrent qu'en général, le taux des avortements se situe entre 2 et 2,5% chez les bovins. Ces chiffres semblent assez constants, aussi bien en Europe (ROBERTS, S et al.,1971) qu'en Amérique (KIRKBRIDE, C et al.,1973). Tenant compte des mortalités embryonnaires et des malformations congénitales, le total des pertes peut s'élever entre 14 et 36% de la production des veaux (KIRKBRIDE, C et al.,1973). Au Québec, cela représenterait 18 000 avortements annuellement, pour un cheptel d'environ 815 000 bovins laitiers (Bureau de la Statistique du Québec. Novembre 1978.).

Les avortements n'ont évidemment pas tous une cause infectieuse, bien que le taux des avortements d'origine infectieuse soit plus élevé chez les espèces à placentation épithélio-choriale (BERTRAND, M et al.,1972).

Il semble que, chez les bovins, les agents infectieux représentent un pourcentage relativement élevé parmi toutes les causes possibles. Des études attribuent à une cause infectieuse 80 à 90% des avortements chez les bovins (DENNIS, S et al., 1969, HUBBERT, W et al., 1973). Dans l'état actuel de nos connaissances,les avortements d'origine infectieuse peuvent être dus à des bactéries spécifiques (*Brucella* spp, *Campylobacter fetus* ssp *fetus*, *Leptospira* spp.) ou non spécifiques (*Corynebacterium pyogenes*, *Streptococcus* spp, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et bon nombre d'autres bactéries opportunistes), des *Chlamydia*, des virus (virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine et de la maladie des muqueuses, parainfluenza-3, enterovirus) des champignons (*Aspergillus* spp, *Absidia* spp, etc.) et des protozoaires (*Trichomonas foetus*) (DUNNE, H et al.,1973 ; HUBBERT, W et al.,1973 ; KIRKBRIDE, C et al.,1973 ; KIRKBRIDE, C et al, 1974; MILLER, R et al.,1975, ROBERTS, S et al.,1971).

La plupart des avortements ont une nature enzootique et sporadique, mais ils peuvent aussi prendre une allure épizootique. Dans plusieurs laboratoires, l'agent étiologique n'est déterminé que dans environ 20 à 25% des cas et plusieurs travaux font état des difficultés rencontrées (HUBBERT, W et al.,

1973 ; KIRKBRIDE, C et al.,1973 ;22). Au Canada, une étude importante a été réalisée par Miller et coll. (MILLER, R et al.,1975). Leur étude date de 1974 et ils sont parvenus à poser un diagnostic dans 24 des 50 cas étudiés. Le présent travail traite de l'étude de trois agents infectieux chlamydia spp, brucella spp. Et laptospira spp responsables de cas d'avortement, chez des bovins.

Ce travail visait d'abord à établir une synthèse bibliographiques sur ces trois bactéries puis à identifier ceux qui prédominaient dans la région d'Alger, à évaluer l'importance des agents infectieux spécifiques, à établir, jusqu'à un certain point, la proportion des avortements infectieux en Algérie.

I. La brucellose

I.1. Historique

Les bactéries du genre *Brucella* sont responsables des brucelloses, maladies humaines et animales, qui ont longtemps porté des noms divers, variables selon les pays, les époques et les animaux concernés : fièvre de Malte, mélitococcie, fièvre méditerranéenne, maladie de Bang, avortement épizootique des bovidés.

La brucellose est une maladie ancienne qui peut éventuellement faire remonter à la 5ème peste d'Égypte autour de 1600 avant JC. L'examen récent des os égyptiens antiques, datant d'environ 750 avant JC, a montré des sacro iléites et d'autres lésions ostéo-articulaires (Pappas et Papadimitriou, 2007), mais la première description clinique complète a été publiée par Martson, en 1859, sous le nom de fièvre méditerranéenne.

C'est en 1887 que sir David Bruce, médecin militaire anglais détaché à Malte, isola l'agent de la maladie par culture de la rate d'un soldat mort de la maladie, et l'appela *Micrococcus melitensis*. En 1897, un vétérinaire danois, Bang, isola de l'estomac d'avortons bovins le « bacille de l'avortement épizootique de la vache », qu'il appela *Bacillus abortus bovis*. La même année Wright découvrait que le sérum des malades agglutinait *micrococcus melitensis* et mettait au point la réaction d'agglutination qui porte son nom.

En 1914, aux États-Unis, Traum isola des fœtus de truies avortées un microbe semblable au bacille de Bang, *Bacillus abortus suis*. Un peu plus tard, Alice Evans, en 1918, devait démontrer la parenté de ces différents germes et Mayer et Shaw, en 1920, les regroupaient dans le genre *Brucella*. (Roux . J. 1989).

L'existence de la brucellose en Algérie remonte au 19^{ème} siècle. En effet, les premières descriptions de la maladie ont été faites par Cochez en 1895, qui soupçonna l'existence de cette maladie à Alger, puis en 1899 par Legrain dans la vallée de la Soummam. Au début du 20^{ème} siècle, elle fut reconnue par Brault, d'après les symptômes cliniques, puis démontrée bactériologiquement pour la première fois par Gillot. Ainsi, elle fût révélée en premier chez l'homme. Suite à ces observations, des recherches furent instituées en 1907 sur des élevages caprins par Sergent et collaborateurs à Alger et Oran. Ces études révélèrent l'infection non seulement des caprins mais aussi des autres animaux domestiques. Le taux était élevé dans les élevages comprenant des chèvres maltaises. A l'issue de ces travaux, le gouverneur

général de l'Algérie pris un arrêté interdisant l'importation de caprins et bovins provenant de Malte (le berceau de la brucellose). Ceci fût les premières mesures prophylactiques prises contre la brucellose, en Algérie. Plusieurs travaux de recherche furent entrepris de 1911 à 1956 confirmant la présence de la brucellose à l'Ouest (Oran), au Centre (Alger), à l'Est (Constantine) et même au Sud (Hoggar). Dès la découverte de la brucellose en Algérie, plusieurs travaux relient son origine à l'importation de chèvres espagnoles, de chèvres et vaches maltaises au nord; d'autres expliquent l'introduction de la maladie à l'ouest du pays par les caravanes marocaines. En 1940, Mignot affirma que l'existence de cette maladie dans le Hoggar n'aurait pu avoir pour mode d'introduction que les caravanes maliennes. (Recueil des ateliers d'épidémiologie animale, 2009, vol 1 p 05)

I.2. Taxonomie :

Les *brucella* appartiennent au groupe alpha des Proteobacteria (moreno et al.,1990) et à la famille des *Rhizobiaceae* (Yanagi et yamas ato, 1993).les espèces bactériennes les plus proches sur le plan phylogénique sont notamment les *Bartonnella* (agents de zoonoses), des bactéries de l'environnement rarement isolées chez l'homme (*Ochrobactrum anthropi*,*Afipia*,*Bosea*),et des bactéries pathogènes ou symbiotes de plantes(*Rhizobium*,*Agrobacterium*).

Le genre *brucella* a été anciennement divisé en six espèces, elles-mêmes séparées en biovars ,en fonction notamment d'une relative spécificité de l'hôte animal infecté par chaque espèces(tableau 1) .En accord avec cette classification ancienne ,des noms d'espèces ont été proposés pour différencier les souches isolées de mammifères marins(Brickeret al.,2000) :*Brucella maris* regroupant l'ensemble des souches isolées de mammifères marins (Jahans et al .,1997),puis plus récemment *Brucella cetaceae*(espèce isolée de dauphins)et *Brucella pinnipediae*(espèce isolée de pinnipèdes,notamment phoques ,otaries et morses) (Clockaert et al.,2003 ;Cloekaert et al.,2001 ;verger et al.,2000 ;Yanagi et yamazato,1993).

Tableau 1. La répartition géographique et les hôtes habituels des différentes espèces et différents biovars du genre *Brucella*

Espèce	Biovars	Répartition géographique principale	Hôte animal habituel
<i>B.abortus</i>	1à6 et 9	Ubiquitaire	Bovins, ongulés sauvages
<i>B.melitensis</i>	1à3	Bassin méditerranéen, moyen orient	Ovins, caprins, ongulés sauvages
<i>B.suis</i>	1à3	Amérique, Asie ; Océanie	Suidés
	2	Europe centrale et occidentale	Suidés et lièvres
	4	Amérique du nord, Russie	Rennes
	5	Russie	Rongeurs sauvages
<i>B.canis</i>		Ubiquitaire (fréquence élevée en Amérique du sud)	Chiens
<i>B.ovis</i>		Bassin méditerranéen	Ovins
<i>B.neotomae</i>		Etats-Unis	Rats du désert
<i>B.cetaceae</i>		Océan atlantique et pacifique, mer du nord, mer méditerranée	Cétacés (dauphins)
<i>B.pinnipediae</i>			Pinnipèdes (phoques et otaries)

I.3.Morphologie et caractères cultureux :

I.3.1. Caractères morphologiques :

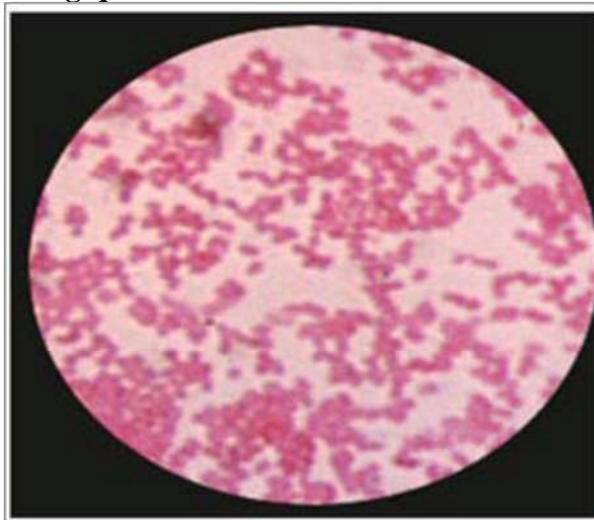


Figure1 : Coloration de Gram de *Brucella* (coccobacille Gram négatif)

Les espèces de *Brucella* sont des coccobacilles Gram négatif, non sporulés et non capsulés. Elles mesurent 0,5 à 0,7 μm de largeur sur 0,6 à 1,5 μm de longueur. Elles sont mises en évidence dans des produits pathologiques par coloration différentielle, elles se détachent en rouge sur fond bleu à la coloration de Stamp ou Ziehl-Neelsen modifiée (OIE 2005 ; Quin et al 2005).

I.3.2. caractères cultureux :

- **Conditions de cultures :**

L'isolement des Brucella à partir des produits pathologiques doit être réalisé en laboratoire équipé de niveau 3 de sécurité biologique (Maurin, 2005). Leur croissance nécessite l'utilisation de milieux enrichis au sang et certaines souches se développent mieux en atmosphère contenant 10 à 15% de CO₂ ; la thiamine, la niacinamide et la biotine sont nécessaires à la croissance de ces bactéries et certaines souches nécessitent en plus, l'addition du sérum dans le milieu de culture. Leur croissance est favorisée par le sérum, le sang ou par l'érythritol pour certaines espèces, mais l'hémine et le NAD ne sont pas indispensables pour la culture de Brucella. La croissance en présence de différente concentration de colorants (thionine, fuschine) est utilisée pour l'identification des biotypes de Brucella. Les Brucella croient à des PH compris entre 6,6 et 7,4(PH optimal 6,8) et à une température optimale de 34⁰C (Roux, J. 1974).

- **Aspects cultureux :**



Figure2 : Culture de brucella de 48h

En isolement primaire, les bactéries déterminent un trouble homogène en 2 à 4 jours en milieu liquide. En milieu solide, les brucella ne sont pas hémolytique en gélose au sang. Les colonies de *B. abortus* ; *B. melitensis* et *B. suis* sont rondes, lisses, de 3 à 4 mm de diamètre en 2 à 3 jours de culture. Elles sont brillantes, bleuâtre et translucides après incubation pendant 3 à 5 jours et deviennent opaque avec le temps. En revanche, les isolats primaires de *B. ovis* et *B. canis* montrent toujours des colonies rugueuses, mates, jaunâtres, opaques et friables (Freney et al., 2000).

I.3.3. caractères biochimiques

Les *Brucella* sont des bactéries aérobies strictes, catalase positives, oxydase habituellement positives (Shapiro et Wong, 1999). La production de H₂S et l'activité uréasique varient selon les espèces. L'utilisation des glucides est lente et l'acidification ne se produit pas sur les milieux de cultures habituellement utilisés car ces derniers sont alcalinisés notamment par la production de l'ammoniac. Il existe quatre groupes de bactériophages actifs sur les *Brucella* en phase S dont le phage Tbilissi actif sur *B. abortus* et le phage Berkeley actif sur *B. melitensis*. Récemment, un cinquième groupe a été décrit et il est actif sur les souches de *Brucella* en phase R (Freney et al., 2000).

I.3.4. caractères génétiques

Tous les espèces de *Brucella* partagent une homologie d'ADN supérieur à 90%. *B. melitensis* et *B. suis* partagent de 90 à 100% d'identité au niveau du nucléotide. Chaque espèce a une taille moyenne de génome d'approximativement 3,29 mb et, composée de deux chromosomes circulaires, le premier représente en moyenne 2,11 mb et le deuxième 1,18 mb. La teneur en bases azotées G+C de tous les génomes est de 57,2% pour le chromosome 1 et 57,3% pour le chromosome 2 (Halling et al., 2005 ; Del Vecchio et al., 2002 ; Paulsen et al., 2002).

I.4. Facteurs de virulence

- **Paroi bactérienne**

La paroi des cellules bactériennes de genre *Brucella* est de type Gram négatif. Le LPS de la membrane externe est un important déterminant de virulence. Celle-ci est due en plus de la toxicité de lipide A (endotoxine) aux chaînes latérales O (O-PS) qui empêchent l'attachement du complexe d'attaque membranaire du système du complément. Les porines de la membrane externe sont suggérées pour stimuler la réaction d'hypersensibilité de type IV chez les sujets infectés (Walker, 2002).

- **Autres structures**

Les *Brucella* n'ont pas de gènes de virulence classiques codant pour des capsules, des plasmides, des pili ou des exotoxines et comparé à d'autres agents pathogènes bactériens on

sait relativement peu sur les facteurs contribuant à la persistance chez l'hôte et la multiplication dans les cellules phagocytaires. Aussi, de nombreux aspects de l'interaction entre *Brucella* et son hôte restent flous (Seleem et al., 2008). Cependant, des gènes susceptibles de virulence codant pour des hémolysines, des adhésines, des invasines, l'uréase, des régulateurs de fer et d'un système de sécrétion de type IV sont identifiés des génomes de *B. suis* ou *B. melitensis*. Le niveau de virulence des espèces et des souches de *Brucella* est déterminé par l'infection expérimentale de divers hôtes (Olsen et al., 2004). En effet, l'uréase est identifiée pour avoir un rôle de protection des *Brucella* lors de leur passage à travers l'estomac (Sangari et al., 2007). Par ailleurs, l'adénine et la guanine mono-phosphate inhibent la fusion de phagosome-lysosome et l'activation du système d'halogénure myélo-péroxydase nécessaire pour l'élimination des *Brucella*. De plus, l'opéron de VirB codant pour un système de sécrétion de type IV semble être impliqué dans la survie intra-phagocytaire des *Brucella*. D'autres produits protéiques solubles empêchent la production de TNF α sont aussi produits (Walker, 2002).

I.5. Pathogénie

Le processus infectieux est assez complexe et peut être schématisé ainsi : les brucella ayant pénétré dans l'organisme par voie transcutanée ou orale, respiratoire ou digestive (Gourreau et Bendali 2008) ; la voie vénérienne et trans-placentaire sont également impliquées dans la contamination brucellique des bovins (Lefèvre et al., 2003 ; Quin et Markey, 2003).

Au cours de la période d'incubation qui dure en moyenne 15 jours, les bactéries migrent par voie lymphatique et sanguine jusqu'au premier relais ganglionnaire où elles se multiplient. Les bactéries colonisent les organes riches en cellules réticulohistiocytaires (ganglions, foie, rate, tissus osseux, génital..) où vont se constituer des foyers bactériens intracellulaires entourés d'une réaction inflammatoire histiomonocytaire et lymphocytaire (Janbon, F; 2000, Vanderkerckhove C et al., Maurin M 2005). La multiplication intracellulaire a lieu dans un autophagosome (Maur, M., 2005). L'apparition d'anticorps sériques et spécifiques (Ig G, Ig M, Ig A), à partir de la deuxième semaine va s'opposer, en partie, au développement de l'infection qui, même en l'absence de traitement, va cliniquement s'apaiser. La maladie peut évoluer ensuite vers une phase subaiguë avec la possibilité d'apparition d'une ou rarement plusieurs localisations secondaires. Celles-ci peuvent être ostéo-articulaires, neurologiques, testiculaires, hépatospléniques, etc. (Janbon F; 2000 ; Maurin M 2005 ; Lifeso R.M et al., 1985 ; Arcos-Lahuerta B et al., 1996). L'infection tissulaire se traduit par une réaction

cellulaire entraînant l'apparition de granulomes limités par une réaction cellulaire lympho-plasmocytaire disposée en couronne, certaines cellules peuvent se transformer en cellules géantes multi nucléées donnant à l'ensemble un aspect tuberculoïde et réalisant le classique granulome de Bang. Rarement, la fusion de ces granulomes donne naissance à des lésions à centre caséifié appelées « brucellome ». Les lésions suppurées et nécrotiques sont exceptionnelles chez l'homme (Janbon F; 2000).

La brucellose chronique se définit par une évolution prolongée au-delà d'un an, avec ou sans découverte d'une localisation secondaire (Janbon F; 2000) . Les *Brucella* sont des bactéries intracellulaires facultatives qui sécrètent un facteur empêchant l'apoptose des macrophages infectées expliquant leur persistance dans l'organisme (Janbon F; 2000).

Le tropisme des *Brucella* pour le placenta des ongulés, les liquides fœtaux et, les testicules du taureau, des béliers est attribué à l'érythriol. Cet alcool poly-hydrique est connu pour stimuler la croissance des *Brucella* ; ce dernier est absent dans le placenta des femmes.(Carter et Wise, 2004).

I.6. Les espèces affectées

La *brucella* est fréquente chez les bovins et les petits ruminants, le porc, le chien et chez les humains en contact avec les animaux malades ; même le dromadaire (*Camelus dromedarius*) et la chameau (*C.bacterianus*) peuvent être atteints de Brucellose. Par ailleurs, la brucellose a été observée chez le buffle domestique, le bison américain ou européen, le yarck, le cerf élaphe et divers espèces d'antilopes africains (OIE, 2005 ; Olsen, 2004) ; cette gamme est étendue et entoure plusieurs animaux domestiques ou semi-domestiques, cétacés, pinnipèdes, quelques rongeurs sauvages et à un degré mineur, toute autre espèce des vertébrés à sang chaud (Lopez-Goni et Moriyon, 2005).

Tableau 2. Les hôtes habituels des différentes espèces du genre *Brucella*

Espèce	Hôte animal habituel
<i>B.abortus</i>	Bovins, ongulés sauvages
<i>B.melitensis</i>	Ovins, caprins, ongulés sauvages
<i>B.suis</i>	Suidés, lièvres, Rongeurs sauvages
<i>B.canis</i>	Chiens
<i>B.ovis</i>	Ovins
<i>B.neotomae</i>	Rats du désert
<i>B.cetaceae</i>	Cétacés (dauphins)
<i>B.pinnipediae</i>	Pinnipèdes (phoques et otaries)

I.7. Les signes cliniques

La maladie animale, variable dans la symptomatologie, souvent cliniquement inapparente, est caractérisée par l'atteinte de l'appareil génital, avec avortement chez les femelles et lésions testiculaires chez les males.

La souche principale qui infecte le bétail est *B. abortus*, les bovins peuvent aussi devenir transitoirement infectés par *B. suis* et plus généralement par *B. melitensis* quand ils partagent des pâturages ou des installations avec des porcs infectés, des chèvres et des moutons. *B. melitensis* et *B. suis* peut être transmis par le lait de vache et provoquent une grave menace pour la santé publique (Acha et al. 2003, Ewalt et al., 1997 et Kahler, 2000).

La maladie peut rester latente, sans manifestation clinique, pendant longtemps. Le plus souvent la maladie clinique apparait chez la vache vers le 5^e mois de la gestation. Les *Brucella* se multiplient très rapidement dans le placenta, entraînant l'avortement entre le 5^e et le 9^e mois. On constate des foyers de nécrose au niveau du chorion, tandis que le fœtus mort est infecté par de très nombreuses *Brucella* dans tous ses organes. Les lésions utérines peuvent entraîner une stérilité ultérieure chez la vache. Si la vache reste féconde, et bien que l'infection n'ait pas une tendance spontanée à la guérison, une immunité se développe, qui permet aux gestations ultérieures d'arriver à terme. Dans un élevage de bovins infecté, le nombre des avortements est très important au début et peut intéresser, la première année, de 40 à 80% des vaches. C'est, du point de vue épidémiologique, la phase aiguë de la maladie. Mais dès la deuxième année, la maladie passe dans une phase chronique, et les avortements deviennent rares, affectant essentiellement les génisses et les vaches récemment introduites dans le troupeau (Bertrand A et al., 1984).

Chez le taureau, tous les organes de l'appareil génital peuvent être atteints, avec prédominance des lésions du testicule. Dans le cadre d'une importante série de travaux sur la brucellose bovine expérimentale, Plommet et coll. ont établi, en opposition avec des données classiques, la réalité de la transmission congénitale d'une génération à l'autre et montré que des génisses nées de mère infectée mais apparemment indemnes à la naissance pouvaient révéler une brucellose lors de la première gestation (Plommer M, et al., 1973). Ils ont également démontré que l'infection brucellienne des vaches ne se manifestait pas nécessairement par l'avortement et qu'une vache infectée pouvait excréter des *Brucella* par le colostrum et le lait en l'absence des signes cliniques (Phillipon A et al., 1970 et 1977).

I.8. Les lésions

B. abortus, chez les bovins causent des avortements épizootiques pendant le dernier tiers de la gestation. Le placenta est épaissi, œdémateux, avec des lésions purulentes et nécrotiques au niveau des cotylédons. Les fœtus peuvent être recouverts d'une pellicule jaunâtre. La rétention placentaire est fréquente. Il est possible d'observer, peu de jours avant l'avortement, un écoulement vaginal muco-purulent, gris-blanchâtre à rougeâtre. Chez les taureaux, la maladie se manifeste par des orchites et des épидидymites avec des foyers purulents et nécrotiques (OIE, mars 2005).

I.9. Répartition géographique



Figure3 : La répartition mondiale de la brucellose

La répartition géographique varie beaucoup selon les *Brucella*. La brucellose des bovins (*B. abortus*), à faible prévalence, est même considérée comme éradiquée dans nombreux pays européens, en Australie, en Nouvelle-Zélande et dans certaines régions des Etats- Unis. Sa prévalence est par contre variable à élevée en Afrique, en Amérique latine, en Russie et en Asie. *B. melitensis* existe principalement dans le Bassin méditerranéen, au Mexique, en Argentine, au Pérou et dans le Sud des Etats-Unis. *B. suis* biotype 2 a pu être mis en évidence en Suisse, chez les sangliers et sporadiquement chez les lièvres. *B. suis*, biotypes 1 et 3, sont très répandus aux Etats-Unis et en Amérique latine. *Brucella canis* apparaît principalement aux Etats- Unis; des cas isolés ont été observés au Mexique, au Brésil, au Pérou, en Tunisie, en Allemagne, et en Tchéquie. La Suisse est officiellement reconnue indemne de brucelloses bovine, ovine, caprine et porcine. (Robinson, 2003).

I.10. Sources de l'infection

La contamination est surtout d'origine génitale, à partir des liquides excrétés au moment de l'avortement, des sécrétions génitales (au moment des chaleurs).

Les matières virulentes sont constituées principalement par le placenta, l'avorton, les sécrétions utérines, éliminées après avortement ou parturition apparemment saines ; mais aussi par : le lait pendant plusieurs années, mais rarement de façon prolongée de l'utérus non gravide (Alcina et al., 2010 ; Kahn et al., 2008).

En plus les *Brucella* sont retrouvées dans les produits de suppuration, la moelle osseuse, la rate, le foie, le sang et la viande des carcasses infectées. En effet, le sang en phase septicémique et le liquide d'hygroma sont hautement riches en *Brucella*. Chez les taureaux même en l'absence de symptômes, la localisation des *Brucella* dans les organes génitaux permet leur excrétion. La virulence des urines et des selles est liée aux conditions de survie dans l'environnement. L'environnement souillé (locaux, abris, sols, murs, matériel, litière, mares et cours d'eau contaminés) constitue une source d'infections également redoutable. (Alcina et al., 2010 ; Quin et Markey, 2003 ; Abadia et Picu, 2005).

I.11. Transmission et mode de contagion

Chez les bovins la transmission naturelle se fait par ingestion ou contact avec les avortons, les membranes fœtales, les écoulements utérins contaminés, la nourriture ou de l'eau contaminée. Autant, les *Brucella* peuvent pénétrer, dans l'organisme à travers les muqueuses, les conjonctives, les plaies ou même par la peau intacte. Généralement, la voie vénérienne est moins importante, l'infection congénitale est aussi rapportée (Alcina et al., 2010 ; Kahn et al., 2008).

I.12. Diagnostic

I.12.1. Diagnostic épidémiologique et lésionnel

Dans certaines régions d'endémie tout avortement et toute affection de l'appareil génital male d'origine mal connu est supposé être dû à la brucellose donc il faut faire déclarer aux services vétérinaires pour la recherche bactériologique et/ou sérologique de la brucellose (Gourreau et Bendali, 2008). Il n'existe pas de lésions spécifiques.

I.12.2. Diagnostic de laboratoire

Au plan biologique, la brucellose s'accompagne d'une leuco neutropénie ou d'une leucocytose normale, parfois d'une thrombopénie, d'un syndrome inflammatoire modéré ou franc (élévation de la vitesse de sédimentation ou de la protéine C réactive sérique) et d'une cytolysse modérée. Le diagnostic de brucellose est confirmé par l'isolement de *Brucella* ou la sérologie.

I.12.2.a. La mise en évidence du germe

L'isolement de *Brucella* en culture demeure la technique de référence pour établir un diagnostic de certitude. Devant une suspicion de brucellose, le laboratoire doit être averti de la demande de mise en culture des produits pathologiques du fait de certaines exigences de la bactérie (utilisation de milieux enrichis au sang, température optimale de 34 à 37°C, atmosphère enrichie à 10% de CO₂ pour *B. abortus*, temps d'observation prolongé des cultures) et surtout du risque élevé de contamination du personnel. Les cultures de *Brucella* doivent être réalisées en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (Janbon F, et al., 2000, Vanderkerckhove C, et al., 1993, Maurin M. 2005).

- Les hémocultures sont réalisées en cas de fièvre ou de foyers secondaires. La croissance des *Brucella* est lente (5 à 10 jours ou plus) sur les milieux classiques (Janbon F et al., 2000, Rev Prat 1993, Maurin M et al., 2005). L'utilisation des systèmes automatisés pour les hémocultures permet de raccourcir le délai de croissance à moins de 5 jours [Rev Prat 1993, Maurin M 2005]. Les hémocultures sont positives dans 70 à 80% des cas au cours de la phase septicémique et 20 à 45% des cas dans les formes focalisées (Vanderkerckhove C et al, Rev Prat 1993, Rev Prat 1993, Maurin M. 2005, Mousa A et al., 1987). La positivité semble être plus fréquente au cours des spondylodiscites (Mousa A et al., 1987). La positivité des hémocultures 25% en cas d'antibiothérapie préalable diminue nettement (Gür A, et al., 2003). L'identification des *Brucella* repose sur un ensemble des caractères biochimiques. L'espèce bactérienne et le biovar seront précisés dans un but épidémiologique. La sensibilité aux antibiotiques de la souche isolée sera systématiquement étudiée.
- Les cultures peuvent être également réalisées à partir de prélèvements divers tels qu'un LCR, un liquide synovial, un pus articulaire, une biopsie disco-vertébrale ou

osseuse, un prélèvement opératoire (Arcos-Lahuerta B, et al., 1996. Portier H, et al., 1985.).

I.12.2.b. La recherche des anticorps

Repose sur différentes techniques sérologiques :

- *Le sérodiagnostic de Wright (SW)* : est la réaction de référence de l'OMS et la plus utilisée en pratique courante. Le SW met en évidence par une technique de séro-agglutination des anticorps de type Ig G et Ig M. Il se positive précocement, 7 à 15 jours après le début des signes cliniques (en moyenne vers le 12^{ème} jour) et devient en revanche assez rapidement négative en cas de guérison (Vanderkerckhove C, Stahl J.P. Brucellose. Données épidémiologiques et thérapeutique). Le taux minimal significatif est 1/80 (100 unités internationales). La persistance d'un titre d'anticorps supérieur ou égal à 1/80 un an après le début clinique doit faire penser à un possible foyer profond. La présence d'anticorps monovalents dit bloquants peut donner une réaction faussement négative. A l'inverse, une réaction faussement positive, à un titre faible ou moyen, est possible après une vaccination anticholérique, une yersiniose à *Yersinia enterocolitica* O9, une tularémie, une infection à *Escherichia coli* O:157 (Janbon F ; 2000, Maurin M. 2005). De même, chez un ancien malade apparemment guéri, une remontée du titre des anticorps est possible au cours de maladies inflammatoires ou néoplasiques (réaction anamnestic) (Janbon F; 2000).
- *La réaction à l'antigène tamponné ou test au Rose Bengale (Card-test)* est un excellent test de dépistage. C'est une réaction simple, rapide, sensible et spécifique, qui reste pendant longtemps positive (Janbon F ; 2000). C'est une réaction qualitative, la positivité est exprimée en croix (de 1 à 4) (Janbon F; 2000).
- *La réaction de fixation du complément* peu sensible est, actuellement, abandonnée au profit de réactions plus récentes et plus utiles pour le diagnostic des localisations ostéoarticulaires (Arcos-Lahuerta B, et al., 1996.).
- *L'immunofluorescence indirecte (IFI) et la réaction immuno-enzymatique par la technique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)* sont très sensibles et très spécifiques, elles restent longtemps positives et permettent la détection des différentes classes d'anticorps (Ig G, Ig M et IgA). Leur seuil de signification est d'environ 1/60. Les anticorps de type Ig M disparaissent en 3 à 6 mois, leur présence témoigne d'une

infection récente. Un taux élevé d'anticorps de type Ig A serait évocateur d'un foyer profond évolutif. Comme pour le SW, les mêmes réactions croisées, faussement positives, peuvent être observées mais de façon transitoire et à des titres plus faibles (Janbon F ; 2000. Arcos-Lahuerta B, et al.,1996).

Au cours des brucelloses ostéo-articulaires, la présence d'anticorps anti-brucelliens dans le liquide synovial, mise en évidence par les différentes réactions sérologiques, confirme le diagnostic. Des titres d'anticorps plus élevés dans le liquide synovial que dans le sérum témoignent d'une synthèse locale d'anticorps spécifiques liée à la présence ou la persistance de *Brucella* au sein de l'articulation ou dans les bourses séreuses péri-articulaires (Portier H, et al.,1985).

I.12.3. Les techniques d'amplification génique

Ces techniques ne sont pas encore de pratique courante et restent réservées à certains laboratoires. La technique la plus couramment utilisée est la PCR. Cette technique, sensible et spécifique, est particulièrement utile en cas d'antibiothérapie préalable empêchant l'isolement de *Brucella*.

La PCR permet un diagnostic plus rapide (en 24 heures) que les hémocultures, au cours de la phase aiguë septicémique, par la détection de l'ADN de *Brucella* à partir du sang ou du sérum. Au cours des brucelloses focalisées, la détection de l'ADN de *Brucella* à partir du pus ou de diverses biopsies est plus sensible que la culture. La plupart des tests actuellement disponibles sont spécifiques de genre et ne permettent pas de déterminer l'espèce en cause (Maurin M, 2005).

I.12.4. Les autres méthodes

L'immunofluorescence directe (IFI) effectuée sur une coupe histologique d'un prélèvement biopsique ou suite à un geste chirurgical peut reconnaître la présence du germe. La recherche d'une hypersensibilité retardée au cours de la brucellose chronique n'est plus pratiquée par manque de disponibilité de l'antigène (fraction phénol soluble). Il en est de même pour le test de transformation lymphoblastique qui a une signification superposable à l'intradermo-réaction.

L'étude de la production spontanée d'anticorps spécifiques par les lymphocytes spécifiques ou IVAP (in vitro antibodies production) est exceptionnellement pratiquée. Elle

permet quand elle est positive d'affirmer une infection évolutive, même focalisée (Janbon F; 2000).

II. CHLAMYDIOSE

II .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 hébreux. Chez l'homme, elles correspondent à un épaissement de la conjonctivite et 60ans après Jésus-Christ, elles ont été désignées sous le nom de trachome. À la fin du 18^{ème} siècle, la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) a été décrite, elle atteint l'appareil génital puis les ganglions lymphatiques inguinaux (YOUCEF MOHAMED KH. ; 2009). Ce n'est qu'en 1879 que RITTER établie pour la première fois une corrélation entre une maladie des oiseaux et des cas de pneumonie. En 1895, le terme de « psittacose » fut introduit par MORANGE pour désigner la maladie infectieuse causée par les chlamydies chez les oiseaux. Auparavant d'autres noms ont été proposés pour l'agent de la psittacose tel que *Bacillus psittacosis* par NOCARD en 1893. (Aoumeur C.1982).

En 1906, des Inclusions dans des frottis conjonctivaux trachomateux ont été réalisées ensuite Halberstaedter et von Prowazek vient faire la description moderne de cette bactérie en 1907, ils ont visualisés une inclusion colorée en violet au Giemsa, dans les cellules de grattage de conjonctive d'un sujet atteint de trachome , des inclusions similaires sont retrouvées dans le tractus urogénital d'enfants infectés et chez les patients atteints d'une urétrite. (Aoumeur C.1982)

En 1930, LEVINTHAL, observe des corps sphérique basophiles dans les tissus d'animaux malades. (Aoumeur C.1982)

En 1932, BEDSON et BLAND montrent la relation qui existe entre l'infection psittacose et la présence des inclusions, de même que l'existence d'un cycle de développement intra cytoplasmique avec différents stades. Des Isolats de *Chlamydia* cultivées successivement l'agent responsable de lymphogranulomatose vénérienne(LGV) dans le sac vitellin d'œufs embryons ont été obtenus en 1935 par Miyagawa. (Aoumeur C.1982)

En 1959, l'établissement de certains caractères par BEDSON et COLL. qui ont montré notamment que ces agents se rapprochaient des virus par leur petite taille, mais qu'ils possédaient les deux types d'acides nucléique (ARN et ADN) et que leur membrane complexe

contenait de l'acide muramique comme les bactéries. Ces deux raisons ont permis de classer ces agents définitivement parmi les bactéries. (Aoumeur C.1982).

En 1964, elles ont été définies comme Bactéries Gram négatif (elles contiennent de Lipopolysaccharide) à multiplication intracellulaire obligatoire et classées dans la famille des *chlamydiaceae* ; en tenant compte de leur affinité tissulaire et de leur épidémiologie. (Aoumeur C.1982).

En 1999, Everett reconsidère totalement cette classification sur la base de l'analyse de la séquence des gènes 16SrRNA et 23SrRNA, par la méthode d'hybridation ADN-ADN (Everett K.D.E. et al, 1999).

II. 2.Taxonomie

La taxonomie de la chlamydieuse a toujours été controversée depuis sa découverte au début du XIX^{ème} siècle. La première idée de classer les *chlamydiae* tant que protozoaire a été rapidement abandonnée du fait de l'absence de noyau. Les deux principales raisons qui ont permis de rejeter l'idée que les *chlamydia* n'étaient pas des virus sont : la présence d'ADN et d'ARN simultanément dans le microorganisme ; ainsi qu'un cycle de développement unique totalement différent du mécanisme de réplication virale (Moulder J.W., 1966). Ces bactéries ont également longtemps été considérées comme appartenant à la famille *Rickettsia* mais l'absence de système de transport d'électrons, l'absence de cytochromes et l'impossibilité de synthétiser de l'ATP et du GTP ont conduit à rejeter cette idée (Vanrompey D., 1995). Ces bactéries appartiennent au règne *bacteria*, au phylum *chlamydiae*, à la classe des *chlamydiae* et à l'ordre des *chlamydiales*.

a. L'ancienne classification

Celle-ci ne reconnaît qu'un seul genre *Chlamydia*, au sein d'une famille et d'un ordre unique, respectivement *Chlamydiaceae* et *Chlamydiales*. Les espèces de *Chlamydia* ont été regroupées ; cette classification se base sur des caractéristiques phénotypiques, comme la morphologie des inclusions intracellulaires, la sensibilité aux inhibiteurs de croissance et l'analyse antigénique. (BOULLANGER A. 2010)

b. La nouvelle classification

Au cours de la dernière décennie, une nouvelle proposition de taxonomie classe dans la même famille des *chlamydiaceae* de nouvelles espèces, apparentées aux *Chlamydiae*. Cette classification se base sur l'analyse de la séquence des gènes 16SrRNA et 23SrRNA, cette analyse est réalisée par la méthode d'hybridation ADN-ADN (Everett K.D.E. *et al*, 1999). Ainsi, 4 nouvelles familles ont été découvertes. (BOULLANGER A. 2010)

En 1990, un organisme apparenté aux *Chlamydiae* a été isolé d'un fœtus bovin avorté, nommé *Waddlia*. Cette découverte a mené à la création d'une nouvelle famille : les *Waddliaceae*. (COULON C. ; 2011)

Puis en 1993, des bactéries possédants un cycle vital semblable au cycle de développement des *Chlamydiae* ont été découvertes. Ces bactéries nommées *Simkania negevensis*, ont été classées dans la famille des *Simkaniaceae*. (COULON C. ; 2011)

Enfin, en 1994, des endosymbiontes d'amibes libres avec des stades de développement et une homologie des séquences de l'ARN ribosomique 16S aux *Chlamydiales*, ont été découverts. Ces bactéries ont été nommées *Parachlamydia*. Toutes ces nouvelles bactéries ont été regroupées sous le nom de *Chlamydia-like*. (COULON C. ; 2011)

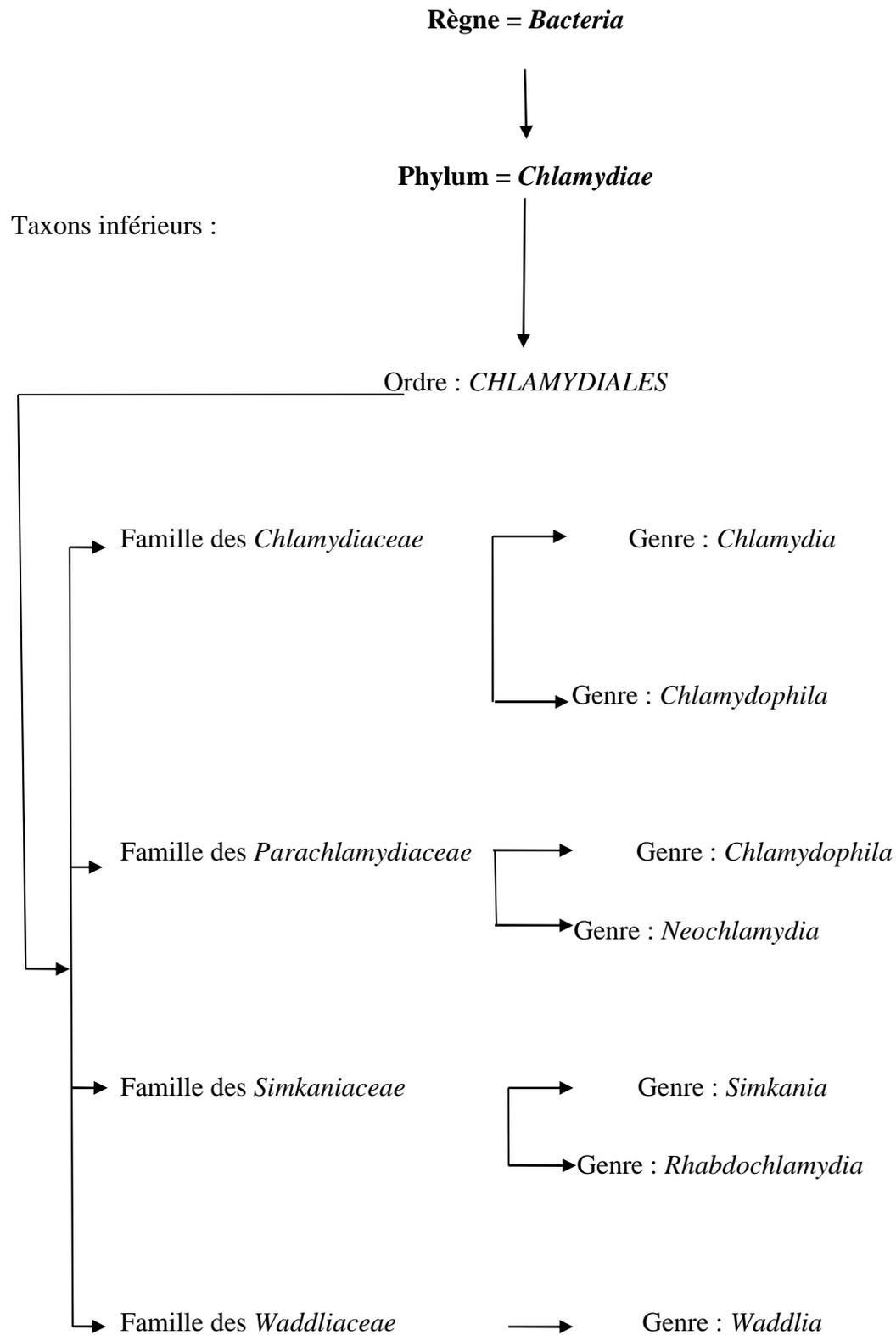
Dans la famille des *chlamydiaceae*, les souches ont été regroupées en deux genres *chlamydia* et *chlamydophila* et 9 espèces, sur la base de leurs séquences 16Sr et 23SrRNA. (Everett et al.1999)

Le genre *chlamydia* comprend 3 espèces : *C.trachomatis* ; *C.muridarum*, *C.suis*. La *C.trachomatis* qui est divisée en deux biovars *trachoma* et *lymphogranuloma venereum*(LGV) et 19 sérovars. Le biovar *trachoma* comprend 14 sérovars: A ,B, Ba, C (impliqués dans le trachome) ,D, Da ;E ;F,G, Ga ,H, I, Ia ; J,K(impliqués dans les infections oculaires et génitales) , et le biovars LGV comprend 4 sérovars : L1 ;L2 ;L2a ;L3 . (Fukushi H. et al, 1992).

Le genre *chlamydophila* comprend six espèces *C.pneumoniae* avec trois biovars : TWAR, KAOLA, EQUINE, *C.psittaci*, et les souches d'avortement qui ont été transférées dans trois nouvelles espèces : *C.abortus*, *C.felis*, *C.caviae*, et la *C. pecorum*, qui est la sixième espèce reconnue, isolée chez les bovins, les moutons et les porcs. Cette espèce partage moins de 30% d'homologie avec les autres espèces. (Fukushi H. et al; 1992).

Ces quatre familles de *chlamydia* ont des caractères communs :

- 80 à 90% d'homologie des 16SrRNA.
- Une multiplication intracellulaire dans une vacuole.
- Une coloration de Gram négative.
- Un aspect pleiomorphes existant sous deux formes : une forme infectieuse qui est le corps élémentaire et la forme de reproduction qui est le corps réticulé.
- Ainsi que d'autre caractère divergent comme la sensibilité à la pénicilline G et la structure de leur membrane externe. (Corsaro et al. ,2006).



La classification moderne des *chlamydia*

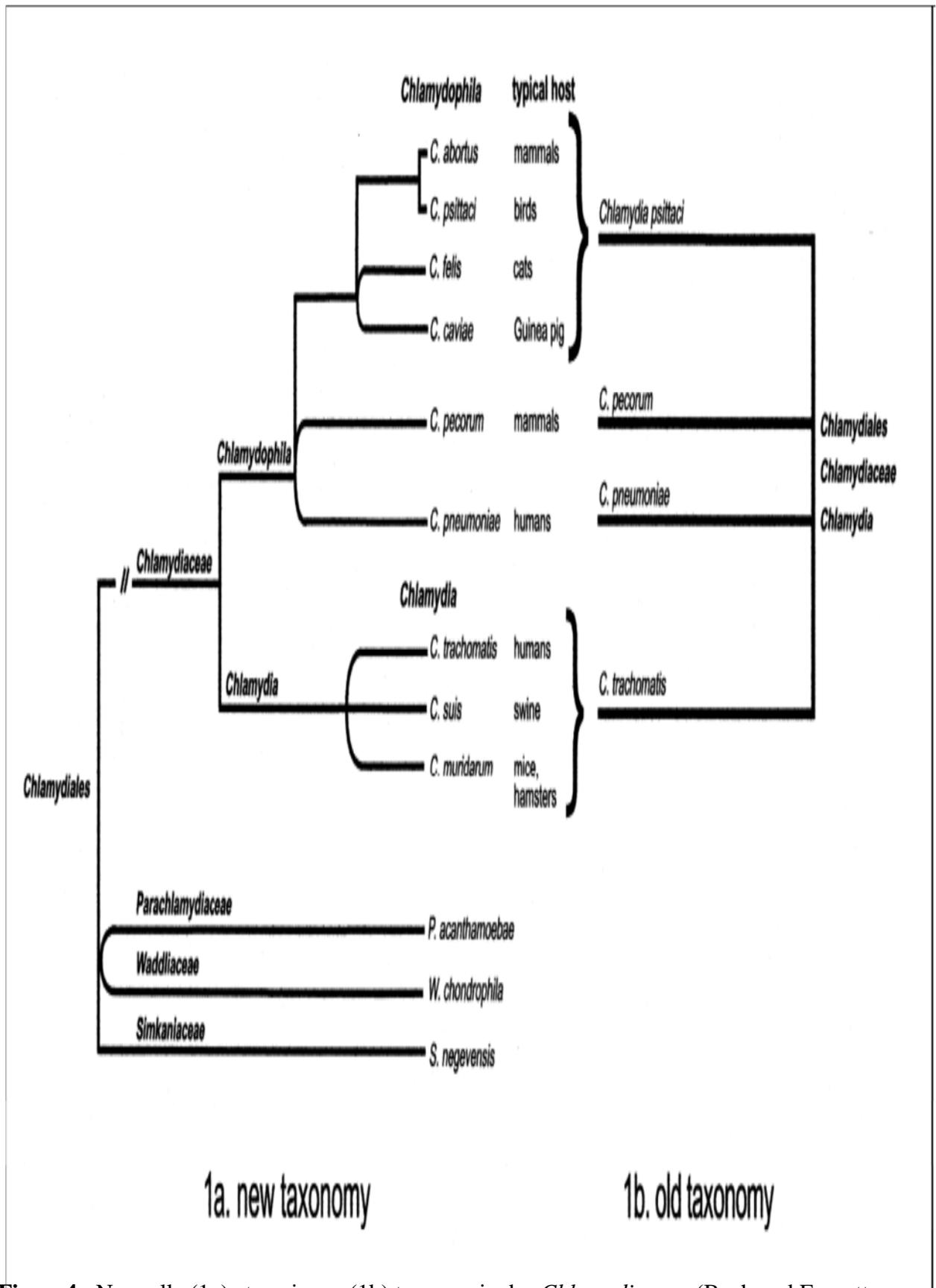


Figure4 : Nouvelle (1a) et ancienne (1b) taxonomie des *Chlamydiaceae* (Bush and Everett, 2001)

II .3.Morphologie et caractères culturels

II.3.1. Morphologie générale

Les *Chlamydiae* sont des eubactéries, Gram-négatif, de petite en taille en fonction de leur stade de multiplication, leurs diamètres compris entre 200 et 1500 n.m. De forme coccoïdes et immobiles (Moulder, 1991).

II.3.2 . Structure de la paroi cellulaire

Le manque de peptidoglycane démontrable encore au stade extracellulaire du cycle de développement différencie les chlamydie des autres bactéries gram négatif.

Comme toutes les bactéries Gram-négatives, les *chlamydia* possèdent une double membrane trilaminaire: une membrane interne (membrane cytoplasmique), un espace péri-membranaire et une membrane externe.

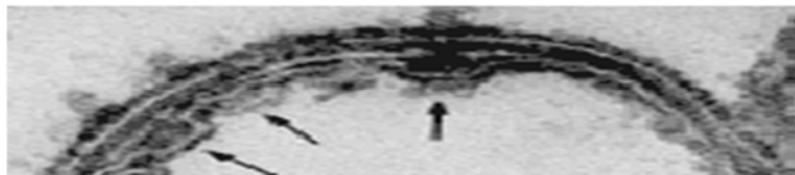


Figure5: Structure trilaminaire de la paroi des *chlamydia*

(crédit P.Timms)

La membrane externe est composée de lipopolysaccharide de 10kda ; ainsi que d'autres protéines qui sont considérées comme des épitopes saccharidiques.

La protéine majeure de la membrane (PMME ou MOMP) est une structure antigénique riche en cystéine. Elles représentent 60% du poids de la membrane externe. (Sraka B. ; 2004)

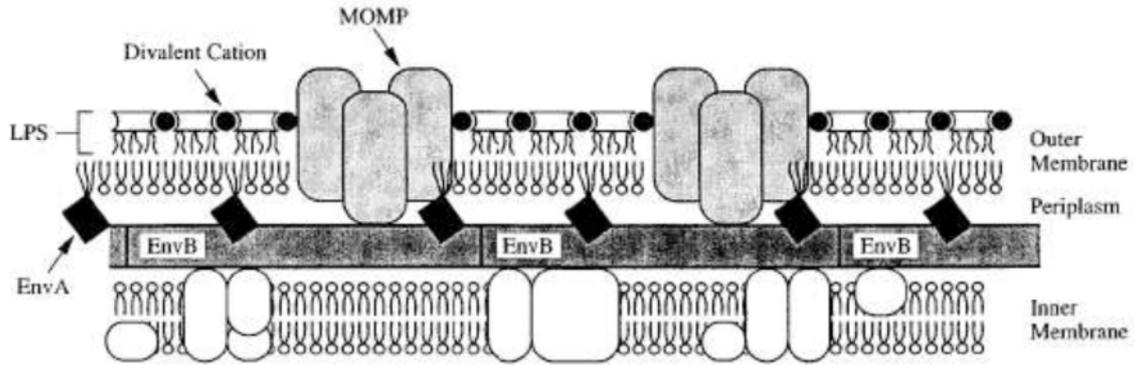


Figure6 : Modèle schématique de l'enveloppe des CE de *chlamydia* (Everett and Hatch, 1995)

MOMP = Major Outer Membrane protein, *EnvA* = *ompA*, *EnvB* = *ompB*. La proportion de chacune de ces protéines est de 5 :2 :1

Le chromosome est constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire, de longueur moyenne 342,5 nm ($PM660.10^6$) ; L'ARN se trouve dans les sous unités ribosomales surtout dans les corps élémentaires. On note des ribosomes caractéristiques dans les corps réticulés. (Aoumeur C. ; 1982)

Une autre caractéristique unique aux *Chlamydia* est un cycle de développement alternant entre une forme infectieuse extracellulaire appelée un corps élémentaire (CE) ; et une forme de réplication intracellulaire formulaires appelés corps réticulés (CR):

➤ **Les CE** sont de petites tailles, d'environ 0,2 à 0,4 μ m de diamètre. Ils ne présentent pas une activité métaboliquement inerte. De plus, ils sont caractérisés par un noyau condensé nucléoprotéique et une paroi rigide et épaisse proche à celle des bactéries Gram négatif. À l'intérieur du cytoplasme on distingue des ribosomes de 10 à 15nm. Cette forme infectante peut survivre plusieurs jours dans le milieu extérieur dans les conditions météorologiques printanières (humidités et températures moyennes), et plusieurs mois lorsque les températures sont proches de zéro. (AOUAMEUR C. ; 1982).

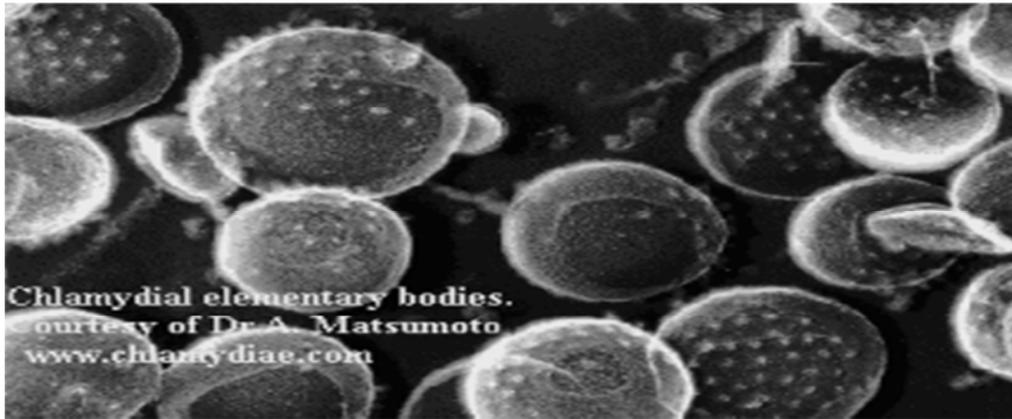


Figure7 : Chlamydies sous forme (CE)

➤ **Les CR** sont plus grands, environ 1,0 μm , plus polymorphes, et sont métaboliquement actifs au stade du cycle de développement (Friis, 1972). Lors de la différenciation, la liaison disulfure complexe protéines de membrane externe de corps élémentaire subit un clivage réducteur. Leur matériel cytoplasmique est homogène. On y distingue des ribosomes et de fins filaments torsadés d'acide désoxyribonucléique, distribués à travers tout le cytoplasme. Ils possèdent deux systèmes membranaires bien distincts. Les corps réticulés se divisent par scissiparité (AOUAMEUR C. ; 1982).

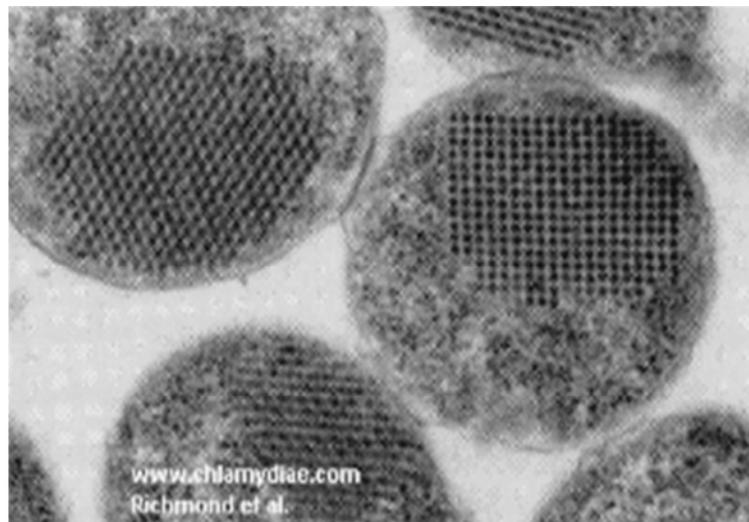


Figure8: Chlamydies sous forme(CR)

Leurs principales caractéristiques sont résumées dans le tableau suivant :

	Corps élémentaire	Corps réticulé
Taille	0,3µm	0,5-1 µm
Paroi cellulaire	rigide	fragile
Ultrasons	résistant	fragile
Trypsine	résistant	lyse
Enveloppe cellulaire	sous-unitaire	pas de sous unité
ARN : ADN	1 : 1	1 : 3
Infectieux	oui	non
Adaptation	survie extracellulaire	développement intracellulaire

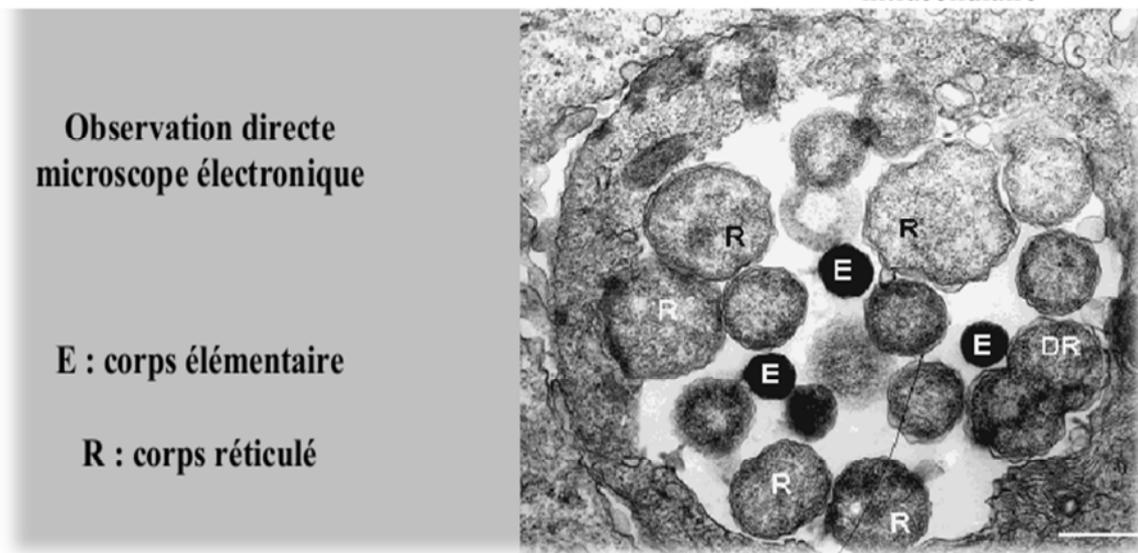


Tableau 3 : Comparaison morphologique et fonctionnelle des 2 formes de *Chlamydia* (d'après Prescott L.M. *et al.*, 2002)

II.3.3. Le génome

Le génome chlamydien contient 1.144.377 paires de bases, avec appariement guanine-cytosine prenant 39,9% de paires de bases. La *C.abortus* contient 961 gènes qui sont tous disposés d'une manière circulaire. Parmi 961 gènes, 842 sont conservés avec *Chlamydomphila caviae* et *Chlamydomphila pneumoniae*. Dans l'ensemble du génome il ya une densité de codage de 88,2%. Le génome montre qu'il ya 18 gènes (PMP protéines membranaires polymorphes), 38 ARNt et ARNr.

La séquence du génome montre des familles de protéines TMH (transmembranaires hélicoïdaux protéines) et qui avec les protéines de PMP font le micro-organisme diversifié dans le tropisme d'hôte et de la causalité de la maladie. Le génome contient des copies uniques de 23S, 16S et des gènes ARNr 5S. Il n'y a aucune preuve montrant qu'il y a des gènes de phages dans *C.abortus*, bien que des gènes de phage ont été trouvés dans d'autres *Chlamydia*. (Bentley M. et al.2005).

II. 3.4. Caractères métaboliques

Le métabolisme chlamydien est très différent de celui des autres bactéries à Gram négatif. Elles sont dépourvues de transporteurs d'électrons ; mais possèdent en revanche une translocase membranaire qui prend l'ATP de l'hôte en échange de l'ADP consommé. Ainsi, les *chlamydia* sont considérées comme parasites énergétiques. D'ailleurs, les mitochondries sont souvent retrouvées juxtaposées aux inclusions chlamydiennes. Pourtant, elles possèdent bien un gène codant une enzyme catabolisant le glucose et permettant la production d'ATP, mais ce gène n'est pas exprimé pour des raisons évidentes d'adaptation à l'environnement intracellulaire. (Hammerschlag M.D., 2002).

Seul le corps réticulé est métaboliquement actif : il est capable de synthétiser l'ADN, l'ARN et les protéines, ainsi que quelques co-enzymes et acides aminés.

Le corps élémentaire ne peut pas capter d'ATP, ni produire des protéines : il s'agit d'une forme qui est exclusivement impliquée dans la transmission et l'infection. (BOULANGER A.2010)

II.3.5. Caractères culturels

Etant donné un germe intracellulaire strict, les chlamydies ne peuvent être cultivées sur les milieux artificiels usuels, leur croissance nécessite des cultures cellulaires vivantes. Les œufs embryonnés de poussins ont d'abord été utilisés avec succès pour cultiver les *Chlamydia*. Plus récemment, d'autres lignées cellulaires ont été utilisées : les BGM (Buffalo-Green Monkey), les BHK (Baby hamster kidney) et les McCoy qui montrent des résultats similaires à ceux obtenus avec les œufs embryonnés (OIE ; 2008).

II.4. Facteurs de virulence

II.4.1. Les antigènes

Les chlamydies possèdent trois types d'antigènes : un antigène de groupe, un antigène spécifique d'espèces et un antigène spécifique de type.

- **L'antigène de groupe** : il est présent dans toutes les couches de *chlamydia* ; il est thermostable et de structure lipopolysaccharidique (LPS) très proche de celle des bactéries à Gram négatif et de poids moléculaire élevé. Il est présent à tous les stades de développement, commun pour certaines espèces. (Aoumeur C.1982). Cet antigène est mis en évidence par la technique de fixation du complément pour détecter une infection à *chlamydia*. (Sraka B. ; 2004)

- **L'antigène spécifique d'espèces** : il est de nature protéique, localisé dans les enveloppes, correspond à la "protéine majeure de la membrane externe" (PMME), il est thermolabile et se présente à tous les stades du développement. Cet antigène est différent selon les espèces (Aoumeur C.1982). Il est mis en évidence grâce à l'emploi d'anticorps monoclonaux (test ELISA - IFT) ou par la réaction de fixation du complément. (Sraka B. ; 2004).

- L'antigène spécifique de types

Les anticorps dirigés contre ces différents antigènes sont décelables par la réaction d'immunofluorescence indirecte ou la technique ELISA ou par Western blot. Ils n'ont guère de pouvoir protecteur. (Aoumeur C.1982)

II.4.2. les toxines

les *chlamydias* renferment une toxine qui est indispensable des corps élémentaires, elle est létale pour la souris. Cette toxine est l'équivalent des l'endotoxine des bactéries Gram négatif. (Aoumeur C.1982)

II .5 . Pathogénie

Le cycle de développement bi-phasique est identique chez les différentes espèces de *chlamydia* malgré quelques différences morphologiques entre les inclusions.

Dans des conditions de croissance idéales (nutriment, humidité...), les *chlamydiae* passent à travers un cycle de développement en deux étapes à l'intérieur de 2 à 3jour : une étape dite infectieuse qui se produit par les corps élémentaire (CE), et qui infecte la cellule hôte.

Une grande partie de la stratégie de la survie intracellulaire des *Chlamydiae* ; implique la formation d'un unique organite appelé "inclusion" ; qui fournit un site protégé dans lequel il se réplique. L'inclusion *chlamydiae* est efficacement isolée par voie d'endocytose, et qui se fusionne avec un sous-ensemble de vésicules d'exocytose ; qui offrent la sphingomyéline à partir de l'appareil de Golgi vers la membrane plasmique. La Combinaison d'hôte et les fonctions du parasite contribuent à la biogénèse de ce compartiment. La mise en place de l'inclusion mature est accompagnée par l'insertion de plusieurs protéines chlamydiennes, ce qui suggère que les *chlamydiae* modifient activement l'inclusion de définir ses interactions avec la cellule hôte eucaryote (Kenneth A. Fields et al., 1986).

Tout en étant piégé dans une vacuole liée à la membrane, les *Chlamydiae* sont clairement communiquées et elles peuvent manipuler la cellule hôte à partir de l'intérieur de ce créneau privilégié intracellulaire qui est l'inclusion, où elles grandissent pour se différencier, avant de rapidement subir une conversion en une forme métaboliquement active, c'est les corps réticulés (CR) qui sont plus grands, et qui se reproduiront entre 48 et 72 h après l'infection(HPI). Plus tard de nouveaux corps élémentaires seront produits et libérés après la rupture de l'inclusion, et peut alors infecter de nouvelles cellules. (Longbottom et al ; 2003)

Deux caractéristiques sont à noter ; premièrement ; la cellule hôte de type épithélial n'est pas un phagocyte professionnel et deuxièmement ; l'internalisation s'achève par la formation d'une inclusion dans le cytoplasme de la cellule hôte.

-Le cycle de développement

a) Fixation : le CE présente un tropisme préférentiel pour les cellules à épithélium cylindrique. Des phénomènes complexes interviennent dans cette fixation et dans les rapports entre la chlamydie et la cellule hôte. (Sraka B. ; 2004).

b) Pénétration : à l'image de ce qui se passe pour les virus, on pense que, par l'intermédiaire des récepteurs et des signaux moléculaires qui permettent la réalisation d'une endocytose. Les CE franchissent la membrane externe (paroi) de la cellule hôte ; vers des zones très précises. La cellule hôte génère des invaginations de sa membrane plasmique. Les vésicules ainsi formées abritent alors les CE et par la suite, elles se focalisent, pour l'essentiel, dans la zone de Golgi.

Par un mécanisme non encore élucidé et grâce à leur position intracellulaire, les CE restent partiellement protégés vis-à-vis du système immunitaire de l'hôte. Les vésicules endosomiques échappent à une fusion lysosomique classique et destructrice, durent tout le temps de leur séjour intracellulaire. (Sraka B. ; 2004).

c) Transformation du CE en CR : les CE vont se transformer en CR. On assiste alors, à une modification au niveau des membranes du CE : les ponts disulfures inter-protéiques disparaissent. Il se réalise ensuite, une synthèse d'ADN, d'ARN et des protéines, conduisant à la formation du CR.

(Sraka B. ; 2004).

d) Croissance du CR : celui-ci est privé de système de transport d'électrons, il est incapable de générer des liaisons phosphates (ATP - GTP) de haut niveau énergétique. Il va donc devoir prélever l'énergie nécessaire dans la cellule hôte. Pour ce faire, le CR plaque son endosome contre les mitochondries de la cellule hôte et grâce à l'intermédiaire d'une ATPase spécifique (translocase), il parasite son ATP. Des carences en éléments nutritifs chez celle-ci pourraient faire en sorte que la chlamydie se mette temporairement en sommeil, et reste alors à l'état latent chez l'hôte porteur. Par la suite, grâce à une scission binaire, il se forme alors un groupe de un à plusieurs centaines (100 à 500) de CR. Ce groupe prend le nom d'inclusion (ou « corps de Levinthal-Cole-Lillie »). (Sraka B. ; 2004).

Lors de la division de la cellule hôte, il est possible d'observer la transmission de l'inclusion.

e) Maturation des CR : ils sont considérés comme matures lorsque les éléments nutritifs de la cellule sont épuisés. (Sraka B. ; 2004).

f) Condensation des CR en Corps Intermédiaires (CI): cette mutation se déroule à l'intérieur

de l'inclusion, et une fois mis en sommeil, ces agents peuvent persister plus ou moins longtemps, sans activité, dans les cellules hôtes. (Sraka B. ; 2004).

g) Transformation des CI en CE.

h) Relargage des CE : il se produit, généralement, suite à la lyse de la cellule hôte

(sous l'action des enzymes produites par la chlamydie). Les CE envahissent alors ; de

nouvelles cellules hôtes ou ils sont disséminés à l'extérieur. Le LPS spécifique de la chlamydie, contenu dans la membrane externe, agit sur la surface de la cellule parasitée. Ce LPS protège le CE de l'attaque des cellules T cytotoxiques. Il est à peu près identique à celui de quelques bactéries Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter*).

La présence de ces germes dans les prélèvements soumis à analyses, peut poser des problèmes lors de l'utilisation de certaines méthodes de diagnostic. (test ELISA notamment) (Sraka B. ; 2004).

En culture cellulaire, ce cycle de développement demande environ 48h, pour se réaliser complètement. Il dure une trentaine d'heures in vivo. (Sraka B. ; 2004).

Le cycle de développement peut être influencé par la réponse immunitaire de l'hôte (par exemple, l'augmentation de l'INF- γ), par des conditions extérieures défavorables, tels que, l'absence de substrats essentiels (par exemple, le fer, ou aminoacides tels que le tryptophane), ou par un traitement antibiotique. (FRENEY J. ; 2006)

Les *Chlamydiae* réagissent à ces influences en passant dans un état persistant, qui est caractérisé par la morphologie du corps réticulaire aberrante (Agrandi). On pense, que cela garantit la survie à long terme de la cellule de *Chlamydiae* dans la cellule hôte. D'autre part, les *Chlamydiae* comme les micro-organismes intracellulaires, peut influencer sur le cycle cellulaire, le métabolisme et les antigènes de la cellule hôte. (Wheelhouse N. et al. 2012)

Les cycle de developpement de chlamydie peut être resumer dans ce schema :

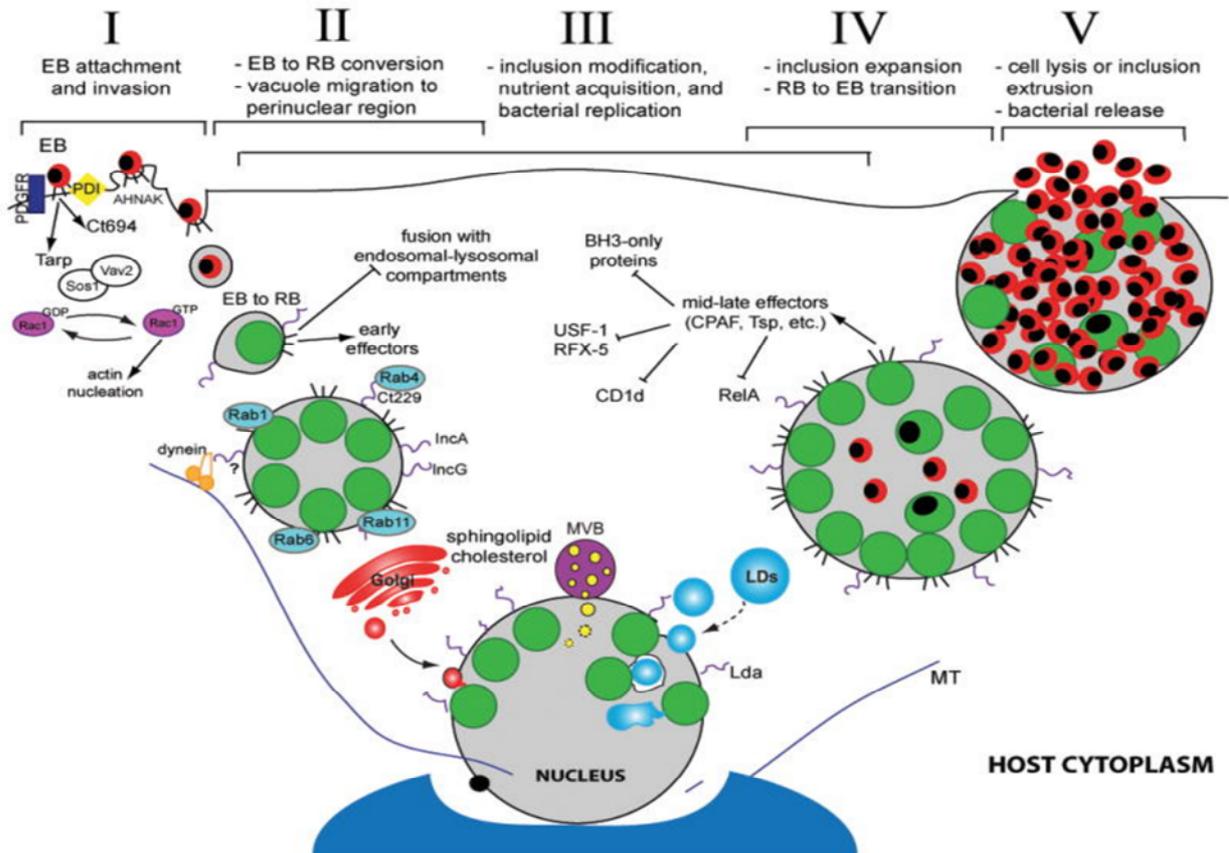


Figure9 : cycle de développement de *chlamydia*

II – 6 - Espèces affectées :

La chlamydie abortive est responsable d'avortement et de troubles de reproduction, affectant de nombreuses espèces animales, essentiellement les ruminants. Elle est due principalement à la souche *chlamydiae abortus*, connue anciennement, sous le nom de *Chlamydia psittaci sérotype-1* ou souche abortive des mammifères.

Les bovins : La chlamydie donne fréquemment lieu à des avortements sporadiques chez les bovins. Cependant, des cas d'avortements épizootiques ont déjà été décrits (avec jusqu'à 25 à 75% d'avortements). (EZÉBY J. ; 2001)

Les petits ruminants : les ovins et les caprins, où le plus souvent cette affection se manifeste de façon tardive. 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 des caprins. (EZÉBY J. ; 2001)

Les petits ruminants peuvent être des porteurs sains de la bactérie.

Le chat : la chlamydiose féline est une maladie infectieuse ; identifiée dans le syndrome de coryza du chat, elle est due à la bactérie *chlamydophila felis*. De nombreux chats sont porteurs asymptomatiques. (EZÉBY J. ; 2001)

Le chien : La chlamydophilose du chien a été peu étudiée, alors que, cette espèce animale semble très réceptive aux *Chlamydophila* sp. Des kératites et des avortements ont été décrits. (EZÉBY J. ; 2001)

Le Cheval : Seules quelques souches ont été isolées, et cette espèce semble peu réceptive. La *Chlamydophila abortus* est responsable d'avortements, et *Chlamydophila pneumoniae* pourrait être responsable d'infections respiratoires. (EZÉBY J. ; 2001)

L'homme aussi peut être affecté par : *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila felis*, *Chlamydophila pneumoniae* biovar TWAR et *Chlamydophila psittaci*. Les infections à *Chlamydophila pneumoniae* biovar TWAR sont strictement humaines, et les infections dues aux autres espèces sont des zoonoses. (EZÉBY J. ; 2001)

II .7. Signes cliniques

L'Infections à *Chlamydia abrtus* peuvent conduire notamment, à une large Variété de manifestations cliniques. Ceci peut être lié à la fois aux propriétés spécifiques de l'agent pathogène lui-même, et la sensibilité individuelle du patient affecté. (Papp et al. 1994)

La sensibilité à l'infection varie en fonction de l'état physiologique de la vache. Les femelles non gravides sont moins sensibles que les femelles gestantes, elles évoluent souvent vers une guérison et le développement d'une immunité, cependant, elles peuvent avorter à la gestation suivante. c'est une infection à mi-gestation qui provoque le plus souvent des avortements, alors qu'une contamination en fin de gestation entraîne la naissance d'un petit vivant mais infecté, qui pourra éventuellement avorter lors de la première gestation, s'il s'agit

d'une femelle, ou excréter des *chlamydia* dans le sperme, s'il s'agit d'un mâle. (RODOLAKIS A. ; 2006)

La période d'incubation peut être très variable. Elle peut être longue, car l'infection ne s'établit que dans l'utérus gravide, pendant les deux derniers mois de gestation. Si la contamination se fait suffisamment tôt dans la gestation, les symptômes aboutiront à l'arrêt de cette gestation (avortement). Dans le cas contraire, l'avortement aura lieu à la gestation suivante. (Papp et al. 1994)

Des avortements ont été observés dès le 5ème mois de gestation, mais la majorité ont lieu plus tard, principalement durant le dernier trimestre de gestation. Par contre dans une infection expérimentale par voie intraveineuse, intramusculaire et sous cutanée, plusieurs vaches ont avortées respectivement dans les 5 à 36 jours (1 à 4 mois qui ont suivi). (STORZ et al. , 1980)

La chlamydiose se traduirait par des baisses de fertilité dues à des métrites et une absence de nidation de l'embryon. (RODOLAKIS A. ; 2006)

On peut noter un écoulement vulvaire de couleur marron riche en chlamyديات. (KPONMASSI T. ; 1991).

Cependant, on observe également des infections inapparentes avec excréation. Ainsi, des cycles irréguliers. Les rétentions placentaires sont plus fréquentes chez les vaches.(RODOLAKIS A. ;2006)

En effet chez les bovins, ces bactéries entraînent également des pneumonies, des mammites; des encéphalomyélites sporadiques et non délivrances. Il ya aussi de la conjonctivite, des arthrites, des troubles digestifs ou nerveux. Dans un troupeau bovin les avortements sont généralement beaucoup moins nombreux, et les femelles se rétablissent rapidement après l'avortement. (RODOLAKIS A. ; 2006)

L'avortement dû à *C. abortus* est suivi d'une immunité suffisante pour prévenir une nouvelle "chlamydémie". (RODOLAKIS A. ; 2006)

Un autre organisme a été initialement isolé à partir du poumon, du foie et autres tissus d'un fœtus avorté bovin aux États-Uni. *Waddlia chondrophila* est à présent, considéré comme un agent abortif avec une distribution mondiale chez la vache, comme le montre un récent rapport de l'avortement *Waddlia* liée en Allemagne. (Nicole Borel et al.2007)

Les jeunes veaux peuvent également être affectés et présenter des arthrites, des troubles digestifs ou respiratoires. (Jean Noël Joffin .2001)

Chez les taureaux, la maladie peut éventuellement se manifester par des orchio-épididymites.

(*RODOLAKIS A. ; 2006*)

II . 8. Lésions

Malgré des *chlamydia* ou leur ADN ont pu être mis en évidence dans le vagin, l'utérus et l'oviducte, aucune lésion n'est systématiquement associée au portage de *Chlamydia*. (Papp et al. 1994)

Aucune lésion macroscopique n'est spécifique, que ce soit sur le placenta ou sur l'avorton. Cependant, on observe une colonisation du placenta, qui est souvent nécrotique dans les zones cotylédonaire et épaissies dans les zones intercotylédonaire, avec la présence inconstante d'un exsudat fibro-purulent adhérent au chorion. (Joffin J. ; site internet 2013).on peut aussi noter un œdème, ainsi, qu'un exsudat couvrant les membranes, et une colonisation des chlamydiae dans les cryptes des amygdales (Jones et al. ; 1988).

Le placenta intercotylédonnaire prend alors l'aspect de cuir tanné.



Figure10 : Placentite nécrotique purulente

(Jahn et coll. 1972)

Une attaque directe ainsi décrite par des troubles d'infécondité, avec une vaginite et une endométrite.

Le fœtus est le plus souvent normal, il peut cependant parfois être autolysé. On le retrouve assez souvent recouvert d'un exsudat brun-rouge provenant du placenta, et Occasionnellement, un œdème, un transsudat dans les cavités pleurales ou péritonéales. Le fœtus présente également des lésions hépatiques avec des points de nécroses blancs sur le foie. (Jaskowski 1973)

En microscopie, des lésions de pneumonie interstitielle ou de nécrose splénique ou hépatique peuvent s'observer sur les avortons.

II . 9 .Répartition géographique

Cette bactérie est ubiquiste, elle se rencontre le plus souvent en Asie du Sud et du Sud-est, suivie par l'Afrique subsaharienne. (Joffin J. site internet 2013)

II .10. Source de l'infection

L'aliment ou l'eau souillée par les avortons, et les rétentions placentaires, constituent la principale source de contagion. De très nombreuses bactéries présentes dans le placenta et le liquide amniotique sont excrétées au moment de l'avortement (dès le jour de l'avortement et se poursuit pendant deux à trois semaines).

Le lait constitue aussi une source d'infection chez le jeune veau ; dans les jours qui suivent la mise bas. (Jean Noël Joffin .2012)

Les urines et les fèces des animaux atteints, constituent également une source de bactéries importantes ; en effet, des animaux contaminés mais qui ne présentent aucun signe clinique (on parle de porteurs sains) peuvent exister, secrétant les germes dans leurs fèces, d'où une contamination indirecte du cheptel. (RODOLAKIS A. ; 2006)

L'excrétion vaginale peut commencer quelques jours avant la mise bas, elle peut persister plusieurs semaines, mais elle devient très rapidement intermittente et moins intense. (RODOLAKIS A. ; 2006)

L'excrétion des bactéries peut perdurer plusieurs années, avec des pics les 3-4 jours autour de l'ovulation et ainsi permettre la persistance de la maladie au sein du troupeau. (RODOLAKIS A. ; 2006)

II .11. Transmission et mode de contagion

La transmission de la chlamydie se fait principalement par voie orale (digestive), donc lors de l'ingestion d'aliments ou des eaux souillées par les avortons, ou d'un placenta contaminé. (Dawson et al. 1986)

La transmission aérienne de l'agent, notamment, au moment de l'avortement ou de la mise bas, joue un rôle majeur dans la propagation de l'infection. La contamination par *C. abortus* résultera donc d'un contact étroit avec une femelle qui avorte. De plus, la voie respiratoire est une voie de pénétration importante, et les macrophages alvéolaires

pulmonaires sont une des premières cibles de l'infection. La voie oculaire a également un rôle important dans la transmission. (RODOLAKIS A. ; 2006)

La *C. abortus* peuvent être isolées à partir du sperme mais la transmission vénérienne de l'infection, si elle est possible ; ne joue pas un grand rôle dans l'épidémiologie de cette maladie. En effet la transmission sexuelle dissémine beaucoup moins efficacement l'agent infectieux que la transmission par l'excrétion au moment de l'avortement. (Appleyard et al. 1985)

Il été montré par ARTHUR en 1996, qu'une insémination avec du sperme infecté par *Chlamydia abortus* conduit à des avortements chez la vache, dues soit aux effets directs de *C. abortus* sur l'ovocyte fécondé, soit à ses effets sur l'endomètre. (ARTHUR et al. 1996)

Des chlamydies ont été isolées chez les tics, mais le rôle réel de celle-ci dans l'épidémiologie de la chlamydie abortive bovine reste à établir. (KPONMASSI T. ; 1991)

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.(Jean Noël Joffin .2001)

Ces bactéries sont très résistantes à la rupture physique, résistantes aux conditions de l'environnement, aux acides et aux bases. Elles peuvent être détruite par la chaleur ou grâce aux désinfectants et aux détergents, comme les ammoniums quaternaires ou encore le formaldéhyde. (Melgosa et al. 1993)

II .12.Diagnostic

II.12.1. Diagnostic épidémio-clinique

Malgré l'impact économique mondial, et les questions de bien-être associées, les maladies infectieuses abortives de l'espèce bovine, ainsi que les menaces potentielles pour la santé humaine zoonotiques, un diagnostic précis des causes de l'avortement est rare. Ce mauvais diagnostic peut être expliqué en partie par l'absence d'identification des agents infectieux abortifs (germes à culture très difficile), et par le tableau clinique peu évocateur. (RODALAKIS.A. ; 2006)

Cette difficulté à identifier ce microorganisme, tient au fait, qu'il est particulièrement difficile à cultiver : il est indispensable d'utiliser des cellules vivantes. En effet, les milieux ordinaires n'étant pas adaptés. (BOULLANGER .A ; 2010)

La chlamydiophilose abortive est rare chez les bovins, se sont des avortements sporadique (5% du troupeau avorte). L'avortement a lieu généralement en dernier tiers de gestation (souvent 2 semaine à 3 semaine avant le terme), avec une fréquence élevée chez les jeunes mères surtout les femelles nouvellement introduite dans un cheptel. (COULON C. ; 2010)

II.12.2. Diagnostic lésionnel

On observe des lésions placentaires, avec des nécroses cotylédonaires, un épaissement du tissu intercotylédonaire, et la présence inconstante d'un exsudat fibrino-purulent adhérent au chorion. (COULON C. ; 2010)

II.12.3. Diagnostic de laboratoire

Les chlamydies ne se multipliant pas en dehors des cellules eucaryotes, leur isolement n'est pas réalisé pour le diagnostic de routine, car le temps nécessaire pour ces isolements est trop long et les prélèvements sont souvent trop souillés. De plus, ces bactéries sont trop fragiles et meurent rapidement avant l'arrivée du prélèvement au laboratoire. Par ailleurs, elles nécessitent pour leur culture, un laboratoire protégé de niveau de sécurité 3. (RODALAKISA. ; 2006)

Le diagnostic est relativement facile dans le cas d'avortement, à partir de l'examen bactériologique du foie de l'avorton (étalement et coloration, culture sur œufs embryonnés).par contre, il est difficile à partir du sperme chez le taureau. En 1983, Spencer et coll proposent un milieu de transport qui peut aider à l'isolement des chlamydies dans les prélèvements. Ce milieu conserve les *Chlamydia* pendant 30 jours à l'ambiance et pendant 34 jours à +5°C. (PAREZ M. ; 1985)

1-Les prélèvements effectués pour analyse au laboratoire :

Dans la maladie de la chlamyidiose abortive, l'excrétion de *C. abortus* décroît très rapidement après la mise bas, particulièrement chez les bovins, et tout prélèvement de mucus vaginal positif prélevé plus de 24 h après l'avortement ; est significatif d'un avortement dû à *C. abortus*. (RODALAKIS A. ; 2006)

On effectue un prélèvement dans le but d'amener les cellules infectées :

- sur avorton : à partir d'un écouvillon sur la toison encore humide, un échantillon de poumon, de foie, voire du contenu stomacal.
- sur frottis ou calque de cotylédons ou des zones intercotylédonnaires.
- sur frottis vaginaux de la mère ; à l'aide d'un écouvillon non inhibiteur ou d'une brosse cytologique (NICOLLET ph.et al ; 2004)

L'utilisation d'un milieu de transport spécifique est obligatoire. Les deux milieux les plus utilisés sont :

- ✓ le milieu saccharose-phosphate 2SP (0,02 M de phosphate de potassium et 0,2 M de saccharose)
- ✓ le milieu SPG (ou milieu de Bovarnick) contenant en plus de l'acide glutamique (0,72 g/L). Il est possible de rajouter à ces milieux 5 % de sérum de veau fœtal, des antibiotiques (vancomycine et un aminoside) et un antifongique (amphotéricine).

Lors de la chlamydie abortive, on peut effectuer un écouvillonnage vaginal. En effet, si le placenta est souvent très infecté, le niveau d'infection peut varier d'un cotylédon à l'autre alors que l'écouvillon vaginal reflète l'infection moyenne du placenta. De plus, l'écouvillon vaginal est souvent plus propre sur le plan bactériologique, il est plus facile à manipuler ce qui évite les risques de contamination, et facile à placer dans les milieux de transport et il contient rarement des substances cytotoxiques. (RODOLAKIS A. ; 2006)

2-Identification de la bactérie :

2-1-calques :

Un diagnostic peut être établi à partir de l'examen microscopique de calque ; qui est fait à partir de villosités placentaires atteintes ou des chorions adjacents. Plusieurs techniques de coloration sont satisfaisantes, par exemple, la technique modifiée de Michavello Giemsa, qui est différentielle des brucelles, ou les colorants modifiés de Ziehl-Neelsen. Pour des cas positifs colorés par la dernière méthode et examinés à l'aide d'un microscope à forte résolution, un nombre important de petits corps élémentaire de forme coccoïdes (300nm) sont vus isolés ou groupés en rouge sur fond bleu. Avec un microscope à fond noir, les corps élémentaires apparaissent en vert pale. (OIE ;2008)

En termes de morphologie, et en ce qui concerne les caractéristiques de coloration, la *C.abortus* ressemble à *Coxiella burnetii*. Il faut être vigilant pour différencier les deux organismes. (OIE ; 2008)

2-2-Détection d'antigènes :

Plusieurs épreuves basées sur la détection d'antigènes sont disponibles dans le commerce. Des méthodes immuno-enzymatique reposants sur l'ELISA ou l'IF sont utilisées mais des études ont montrées que la méthode par l'ELISA est plus sensible, elle repose sur la détection des antigènes réalisée en utilisant des anticorps dirigés contre les LPS de la membrane externe.(OIE ;2008)

2-3-ADN :

L'amplification en chaine par polymérase (PCR) de l'ADN de *chlamydia* ; et une épreuve de PCR en temps réel, et elle est alternative pour vérifier la présence de la bactérie dans les échantillons. (OIE ; 2008)

2-4- coupe de tissus :

Les inclusions contenant les *chlamydia* intracellulaires ; peuvent être mise en évidence par la coloration de Giemsa sur des coupes fines ($\leq 4 \mu\text{m}$) issus de tissus cibles, et ayant été correctement fixés dans du liquide de Bouin ou de Carnoy, par exemple. De meilleurs résultats peuvent être obtenus à l'aide de procédés de coloration immunologique. (OIE ; 2008)

2-5 Isolements de l'agent pathogène :

La *chlamydia abortus* peut être isolée à partir d'œufs embryonnés de poule ou culture cellulaires. Ces dernières, étant la méthode de choix pour l'isolement de nouvelles souches. Dès lors les méthodes d'isolement et de l'identification doivent être réalisées dans une zone de confirmation appropriée. (OIE ; 2008)

3 - Epreuves sérologiques :

3-1- réaction de fixation du complément :

La technique de fixation de complément (FC) ; est la méthode la plus couramment utilisée pour détecter l'infection. Cette épreuve détecte aussi les animaux vaccinés.

L'infection est évidente lors de l'infection active du placenta, dans le dernier mois de gestation et après la bactériémie qui souvent accompagne l'avortement. Dès lors, des sérums appariés collectés au moment de l'avortement ; peuvent révéler une élévation du titre d'anticorps par la technique de (FC), qui peut permettre un diagnostic retrospectif. Les résultats douteux peuvent être ultérieurement testés par l'analyse Western blot en utilisant des corps élémentaires purifiés. (OIE ; 2008)

3 - 2- Le test ELISA :

Pour éviter les réactions croisées, un test ELISA utilisant un antigène recombinant spécifique de *C. abortus* a été développé. Il permet un dépistage précoce des animaux infectés, puisque la réponse anticorps est détectée 8 jours après l'inoculation de la bactérie. Avec les tests classiques détectant les anticorps dirigés contre les antigènes du LPS ; communs à toutes les *chlamydia*, la recherche d'anticorps doit être réalisée préférentiellement un à deux mois après la mise bas. Ces tests ne sont donc pas adaptés au dépistage de la chlamyidiose chez les jeunes ou les mâles. (RODALAKIS A. ; 2006)

III. La Leptospirose

III.1. Historique

A la fin du XIX^{ème} siècle des descriptions ont fait état d'entités cliniques associant ictère et insuffisance rénale aigue chez des égoutiers (Levett, 2001). Quelques années plus tard, en 1886, Adolf Weil a identifié pour la première fois un syndrome caractérisé par un « ictère hémorragique essentiel » associé à une splénomégalie, ictère et néphrite (Andre-Fontaine et al, 2003). Cependant, depuis bien longtemps, en Chine et au Japon, il existait une maladie qualifiée de « fièvre d'automne » présentant des symptômes analogues à ceux de la leptospirose. En 1907, Stimson par la méthode d'imprégnation argentique a mis en évidence pour la première fois des organismes en spirale aux extrémités munies de crochets nommés *Spirochetainterrogans*. Ce n'était qu'en 1916, une équipe de scientifiques japonais dirigée par Inada et Ido est arrivée à isoler chez un cobaye infecté par le sang d'un malade des leptospires et leurs anticorps spécifiques et a démontré ainsi la transmissibilité expérimentale de la maladie (Drugeot, 1988).

Le rôle du rat dans l'infection de l'homme a été démontré en 1917. Le premier agent de leptospirose chez les animaux domestiques (*Leptospira interrogans* serovar *canicola*) a été identifié grâce aux travaux de Krenek en 1933 (Levett, 2001). La mise en évidence de la leptospirose bovine a été réalisée par Mikhiket et Azinow (1937), suivie par la découverte des formes porcines par Klarenbeek et Gsell et équines par Lurachenko et Novikova (Drugeot, 1988).

III.2. Taxonomie

Comme tous les spirochètes, les leptospires ont été longtemps classés entre les protozoaires et les bactéries. Leur position taxonomique était confirmée seulement dans les années 1960 et ceci après la mise en évidence de leur nature unicellulaire et bactérienne (Pillot, 1965). Actuellement, l'ordre des *Spirochetales* appartient à la classe des spirochètes et il comprend deux familles : *Spirochaetaceae* et *Leptospiraceae* (Canale-Parola, 1984). Au sein de la première, on trouve les genres *Borrelia*, *Brachyspira* et *Treponema* qui regroupent les espèces pathogènes. Au sein des *leptospaceae*, trois genres sont individualisés, les genres *Turneria*, *Letonema* et le genre *Leptospira*, comportant des espèces pathogènes.

Actuellement, il existe au sein de cette famille 13 espèces pathogènes de *Leptospira* : *L.alexanderi*, *L.alstonii*, *L.borgperesenii*, *L.inadai*, *L.interrigans*, *L.Fainei*, *L.kirechneri*, *L.licerasiae*, *L.noguchi*, *L.santarajai*, *L.terpstaee*, *L.weilii*, *L.wolffii* , avec plus de 260 sérovars.

D'autres nouvelles espèces sont également décrites. Il s'agit de bactéries saprophytes de *Leptospira* incluant *L.biflexa*, *L.meyeri*, *L.yanagawae*, *L.knmetz*, *L.vanthielii*, et *L.wolbachii* et contiennent plus de 60 sérotypes. D'autre part, la classification de *Leptospira* est basée sur l'expression des épitopes exposés en surface dans une mosaïque du lipopolysaccharide (LPS) des antigènes, tandis que la spécificité des épitopes dépend de leur composition et de l'orientation du sucre.

III.3. Morphologie et caractères cultureux

Les bactéries du genre *Leptospira* sont caractérisées par des filaments hélicoïdes de 0,1µm de diamètre. Ces bactéries sont distinctives par des extrémités crochues. Deux flagelles polaires avec des insertions sont situés dans l'espace périplasmique et sont responsables de la motilité (Picardeau et al, 2001).

Les leptospires ont une structure à double membrane typique dans laquelle la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire peptidoglycane sont étroitement associées et sont recouvertes par une membrane externe (Cullen et al, 2004). À l'intérieur de la membrane externe, le lipopolysaccharide constitue l'antigène principal de *Leptospira*. C'est structurellement et immunologiquement similaire au lipopolysaccharide de germe à Gram négatif. Néanmoins, il est relativement non toxique pour les cellules ou les animaux et est jusqu'à 12 fois moins mortel pour les souris par rapport au lipopolysaccharide d'*E. coli* (Faine et al, 1999). Les lipides des leptospires contiennent quelques caractéristiques inhabituelles (Qué-Gewirth et al, 2004), y compris une unité disaccharide glucosamine modifiée qui est phosphorylée et méthylée.

En plus de lipopolysaccharide, des protéines structurales et fonctionnelles font partie de la membrane externe des leptospires.

Une grande partie de ces protéines sont des lipoprotéines : lip L-32, lip L-21, lip-41 (Cullen et al, 2005). Les protéines membranaires

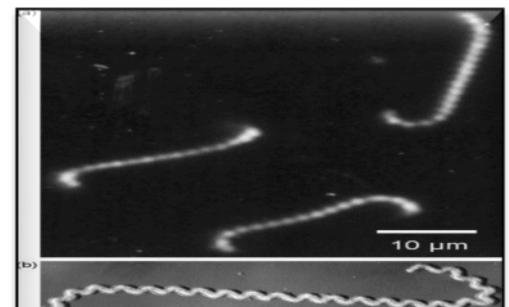


Figure11 : Photomicrographies de *Leptospira* spp : panneau noir (a) et d'électrons ombre (b) (Adler et Moctezuma, 2010)

intégrales telles que la Omp L1 (Shang et al, 1995) et le système de sécrétion de type deux (T2SS) (Reyes Rodriguez et al, 2005) sont également situés dans la membrane externe de la *Leptospira* et ils sont considérés comme antigéniques.

Les leptospires sont des bacilles à Gram négatif, aérobies strictes avec une température optimale de croissance de 28-30°C. Elles grandissent dans des milieux simples enrichis en vitamines B1 et B12 et de longue chaîne d'acides gras ainsi que des sels d'ammonium. Les acides gras sont utilisés comme source de carbone et sont métabolisés par β -oxydation (Faine et al, 1999). Plusieurs milieux liquides enrichis en sérum de lapin ont été décrits dans la bibliographie (Faine et al, 1999). A l'heure actuelle, le moyen le plus utilisé est basé sur l'acide oléique, l'albumine de sérum bovin ENJH et de polysorbate moyen (Tween). Certaines souches nécessitent l'ajout de pyruvate ou de sérum de lapin pour l'isolement initial. La croissance de contaminants à partir d'échantillons cliniques peut être inhibée par l'addition de 5-fluorouracile, la gentamicine, l'acide nolidixique ou la rifampicine (Faine et al, 1999). La croissance des leptospires est souvent lente sur l'isolement primaire et les cultures doivent être conservées pendant environ 13 semaines avant d'être jetées. L'Agar peut être utilisé en faibles concentrations (0.1-0.2%).

Dans de tels milieux semi-solides, la croissance atteint une densité maximale dans une zone discrète au-dessous de la surface du milieu qui devient de plus en plus trouble tant que produit d'incubation. Les cultures de leptospires sont maintenues par sous-culture répétée ou par le stockage de l'hémoglobine-gélose semi-solide. Le stockage à long terme dans l'azote liquide donne également des bons résultats et est la méthode préférée pour maintenir la virulence.

III.4. FACTEURS DE VIRULENCES

La virulence diminue *in vitro* lors des subcultures et le passage sur des animaux sensibles est indispensable pour conserver le pouvoir pathogène. L'infection expérimentale des rongeurs de laboratoire (cobaye ou hamster) ne reflète pas exactement la maladie humaine car ce sont des porteurs chroniques potentiels de leptospires au niveau rénal. Les mécanismes de la virulence restent donc mal connus. L'adhésion des leptospires à la matrice extracellulaire de fibroblastes a été démontrée (Ito et Yanagawa, 1987) mais les récepteurs restent à identifier. Une sphingomyélinase, responsable d'une activité hémolytique chez le sérovar

pomona a été purifiée (Bernheimer et Bey, 1986) et son gène a été cloné (Dain et al, 1985) de même que le gène d'un facteur hémolytique du sérovar *autumnalis* (Fukunaga et al, 1990) et le gène de la sphingomyélinase du sérovar *hardjo* qui a été également cloné et séquencé. Le rôle de ces hémolysines au cours de l'infection n'est pas encore défini.

Le LPS de surface représente un élément clé dans la virulence des souches et il pourrait être un facteur d'adaptation à un hôte donné (Mascimento et al, 2004). Il a été démontré que le transfert d'une partie du locus *rfb* codant la synthèse du LPS, peut conférer au sérovar receveur la spécificité sérologique du sérovar donneur. Ainsi, une souche Harjoprajinto (*L.interrogans*) présente une partie du locus *rfb* correspondant à celui du sérovar copenhageni et le reste identique à celui d'une souche hardjobovis (*L. borgpetersenii*).

L'étude des facteurs de virulence a connu une accélération grâce au séquençage de la souche de *L.interrogans* séro groupe icterohaemorrhagiae et à l'analyse par puces à ADN de cette même souche cultivée à 28 et 37°C. L'expression de 106 gènes fut retrouvée comme différente selon les deux températures et ces gènes ont pu être répartis en 9 catégories fonctionnelles : gène codant la membrane, les hémolysines, les protéines de chocs thermiques, de trafic intracellulaire et de sécrétion, de régulateurs, de chimotaxie, de métabolisme et de fonction inconnue. L'étude de ces facteurs a permis d'identifier leur rôle dans la pathogenèse (Cullen et al, 2005 ; Qin et al, 2006).

Une nouvelle approche est représentée par l'étude des protéines de surface et a rendu possible l'identification de nouvelles entités telles que LipL21, LipL41 mais aussi Q8FQ0, protéine transmembranaire hypothétique. De plus, cette méthodologie permet l'étude de leur variation selon les conditions environnementales, telle que la température ou l'osmolarité mais également au cours de l'infection (Cullen et al, 2005).

Les leptospires sont capables de passer à travers les jonctions intercellulaires. De nombreux auteurs ont essayé de mettre en évidence les protéines responsables de ce passage. Six protéines semblent être impliquées : OmpL1 protéine de membrane, P31 protéine périphérique, les lipoprotéines L 41, L32, L21 et L48. La L21 semble la plus prometteuse (Haake et al, 2004 ; Nally et al, 2005). Une découverte fut l'identification des protéines qui sont présentes uniquement chez les leptospires pathogènes. Elles sont exprimées en surface et régulées par l'osmolarité (Matsunaga et al, 2001 ; Matsunaga et al, 2003 ; Palaniappan et al,

2002). De plus, ces protéines sont capables de conférer une immunité protectrice et peuvent servir de marqueurs diagnostiques (Koizumi et Watanabe, 2004).

III.5. Pathogénie

Les leptospires sont capables de traverser une peau saine et les muqueuses. Leur mobilité en tire-bouchon leur permet de se frayer un chemin à travers les tissus en n'induisant que très peu de dégâts et pratiquement pas de lésion inflammatoire à la porte d'entrée, qui n'est pas détectable cliniquement (Feigin et al, 1975 ; Stavitsky et al, 1945). Pendant la phase d'incubation, les bactéries se disséminent et se multiplient dans le sang, ainsi que dans les organes du système réticulo-endothélial, en particulier le foie, où l'on peut observer à l'examen histologique une prolifération des cellules de Kupffer et la présence de cellules multinucléées (Faine, 1964). A l'apparition des signes cliniques, les micro-organismes sont présents dans la plupart des organes et il est facile de les isoler du sang et du liquide céphalorachidien. L'examen anatomopathologique met en évidence la disparité qui existe entre la gravité des troubles fonctionnels (surtout hépatiques et rénaux) et la discrétion des lésions histologiques. Ceci a autorisé certains chercheurs à avancer l'hypothèse du rôle d'une toxine dans la physiopathologie de l'infection, en particulier celui d'une endotoxine reléguée par la lyse des leptospires dans les tissus (Sefer, 1965 ; Shinagawa et Yanagawa, 1972). Cependant, aucun argument expérimental n'est venu étayer définitivement cette hypothèse et les extraits de leptospires injectés à l'animal ne sont que très faiblement toxiques.

L'ensemble des lésions anatomopathologiques seraient la conséquence d'une vascularite généralisée, avec comme principaux organes cibles, le foie et le rein (Lyman et Jackson, 1982). L'atteinte de l'endothélium vasculaire entraînerait une augmentation de la perméabilité vasculaire et une diminution de l'oxygénation des tissus. Dans le foie, il en résulterait un dysfonctionnement des hépatocytes avec très peu de lésions de cytolyse. Les cellules apparaissent de taille et de forme variables, dissociées, avec des aberrations mitochondriales. L'ictère serait la conséquence de ce dysfonctionnement, associé à une stase dans les canicules biliaires. Les manifestations hémorragiques, qui sont surtout évidentes à la phase ictérique de la maladie, seraient dues à un défaut de synthèse hépatique des facteurs de la coagulation. Les lésions rénales seraient aussi le résultat de vascularite, avec dysfonctionnement tubulaire (tubulonéphrite interstitielle), et des lésions glomérulaires visibles au microscope électronique. La persistance de leptospires dans les urines résulte d'une multiplication

bactérienne dans les cellules tubulaires qui n'entraîne que peu ou pas de lésions histologiques (Stavitsky, 1945 ; Tabel et al, 1967). Les myalgies et les lésions pulmonaires seraient également liées à l'hypoxie et aux manifestations hémorragiques pouvant aller, dans les formes graves, jusqu'à l'apparition d'une pneumonie hémorragique.

Le mécanisme de la méningite à leptospire reste mal connu. Durant la phase aiguë initiale, il est facile d'isoler les leptospires dans le liquide céphalorachidien, mais l'apparition des signes cliniques de méningite et des anticorps spécifiques correspondent à la disparition des leptospires du liquide céphalorachidien. Ceci a fait suggérer que la méningite serait en fait la conséquence d'une réaction à immuns complexes.

Enfin, il a été montré que les leptospires peuvent persister dans l'humeur aqueuse pendant des semaines. C'est probablement cette persistance qui expliquerait l'apparition secondaire de l'uvéite.

III.6. Espèces affectées

La leptospirose est une zoonose à répartition mondiale qui est retrouvée pratiquement chez toutes les espèces étudiées. Pour l'homme, la leptospirose bovine est une maladie professionnelle de loisir ou des animaux domestiques transmise par les urines infectées, l'eau ou le sol contaminé. Il est à noter que la proportion d'animaux domestiques contaminés par *Leptospira hardjo* est faible. En effet, cette pathologie touche beaucoup plus les chevaux (Hathaway et al, 1981), les porcs (Hathaway et Little, 1981) et les moutons (Hathaway et al, 1982). Ces espèces semblent constituer des hôtes accidentels et non des réservoirs des germes.

III.7. Signes clinique

La leptospirose chez les bovins est la plus souvent infra clinique (Ellis, 1981). La proportion d'animaux infectés dépend de facteurs tels que l'âge, le sexe et l'immunité due aux premiers contacts avec les souches pathogènes. Les symptômes sont d'ailleurs d'une intensité différente en fonction des souches infectantes et de la sensibilité individuelle des animaux touchés. Les sérogroupes dominants dans le monde sont : *australis*, *sejroe*, *grippotyphosa*. Le serovar *hardjo* est le plus fréquent mais des cas d'infection à serovar *grippotyphosa*,

icterohaemorrhagiae, *bratislava*, *tarassovi*, *autumnalis*, *australis*, *hebdomadis*, *bataviae* ont également été répertoriés.

III.7.1. Forme suraiguë

L'évolution peut être suraiguë notamment chez le jeune. Le symptôme prédominant est une hémoglobinurie qui précède peu la mort. On va aussi observer une diminution de l'appétit, l'apparition d'un ictère (Perez Bonilla et al, 1983) et une diarrhée séreuse hémorragique avec empreinte et ténésme (Rautureau, 2003). Les formes infectantes sont dues à des souches non adaptées à l'espèce telles que les sérogroupes *Pomona*, *icterohaemorrhagia*, *grippotyphosa* (Ellis, 1981). Le traitement est souvent illusoire une fois l'hémoglobinurie est installée.

III.7.2. Forme aigue

Elle touche essentiellement des animaux adultes. L'évolution se fait sur une durée de 3 à 8 jours qui correspondent à la phase de bactériémie. Le premier symptôme observé est une baisse de la production laitière. Le lait peut avoir alors une couleur rosée avec la présence éventuellement de caillots de sang. Les animaux vont se tarir en 3 à 4 jours (Tainturier et al, 1997). Les quatre quartiers de la mamelle sont atteints et celle-ci devient flasque (Ellis, 1997). On ne retrouve dans les échantillons de lait aucun germe classique responsable de mammites mais on peut retrouver chez les bovins des leptospires dans les glandes mammaires des animaux infectés. Des tests ont été mis au point pour rechercher par ELISA les anticorps spécifiques de *L. hardjo* dans du lait de mélange. Cette méthode à coût réduit qui permet de dresser un bilan sanitaire d'un élevage vis-à-vis de la leptospirose est déjà utilisée pour d'autres maladies et va nécessiter quelques aménagements pour être applicable en routine (Pritchard et al, 1999).

Le comptage cellulaire révèle un nombre de leucocytes très élevé (Murray, 1999). Le traitement ne va pas influencer sur l'évolution de la maladie et les animaux atteints vont retrouver une production laitière normale deux semaines après le début de l'épisode (Ellis, 1981).

Lors de cette phase aigüe, vont apparaître dans le même temps que la chute de production laitière des signes généraux. La température rectale va augmenter (40 à 41°C), les muqueuses

deviennent ictériques et dans la majorité des cas, une hémoglobinurie apparaît associée à une polyurie.

D'autres formes peuvent s'ajouter. C'est ainsi que *L. pomona* peut provoquer des épisodes de néphrite aiguë (Berger, 1999). Des cas de méningite sont possibles qui seraient la conséquence d'une réaction d'immun-complexes (Berche, 1989). Enfin, une dermatite nécrosante peut se déclarer lors d'infection par *L. grippotyphosa* (Ellis, 1981).

III.7.3. Forme chronique

La leptospirose se manifeste majoritairement chez les bovins sous la forme chronique notamment par des troubles de la reproduction (Andro-Fontaine et al, 2003). Ces troubles de la reproduction se manifestent surtout par des avortements et une baisse de la fertilité.

- **Avortements**

L'infection par la leptospirose chez la femelle gestante entraîne dans un délai de deux à dix semaines un avortement, la naissance de fœtus mort-né ou de veau prématuré. Les avortements se déroulent dans le dernier tiers de la gestation (Tainturier et al, 1997). Les leptospires vont migrer à travers le placenta de la mère infectée vers le fœtus. Le sérovar *hardjo* montre une adaptation particulière pour survivre dans le tractus génital de la vache. Il est impliqué dans les avortements entre le 4^{ème} et le 8^{ème} mois de gestation. Ces leptospires ont été mis en évidence dans des cellules trophoblastiques. Ces dernières étaient en regard des villosités cotylédonaires, ce qui permettait une contamination du placenta. Le fœtus peut alors être contaminé par le biais de la veine ombilicale (Murray, 1999).

Lors d'avortements, les leptospires peuvent être associés à d'autres germes tels que *Campylobacter* (Ellis, 1981) ou des agents parasitaires tels que *Neospora* (Otter et al, 1997). La leptospirose est à l'origine de 3% des avortements en France chez les bovins (Tainturier et al, 1997). Il semblerait d'ailleurs que les leptospiroses soient souvent très diagnostiquées au détriment des néosporoses (Smith et al, 1997).

On ne retrouve pas nécessairement de lésions spécifiques sur le fœtus. Cependant, des descriptions font état d'ictère des tissus sous-cutanés chez les avortons des derniers mois de gestation. Chez les fœtus vivants, les lésions sont celles similaires à des cas d'anoxie : des pétéchies sur la surface du thymus, de la thyroïde, des poumons, du cœur et de la plèvre pariétale (Berger, 1999). La présence d'anticorps spécifiques anti-leptospire n'est pas systématique.

On va constater aussi des vèlages à terme de veaux malades suivis de non délivrance à l'origine d'endométrite et de stérilité (Tainturier et al, 1997). Ces veaux vont présenter souvent à la naissance un développement très inférieur à la norme associé à l'anoxie et à des cas de mortalité en per et post-partum. Des études ont montrées le rôle joué par l'infection leptospirosique dans le syndrome du veau faible. En effet, il existe une relation entre une infection du placenta par les leptospire et une diminution du poids moyen des veaux à la naissance. Il semblerait néanmoins que ce syndrome du veau faible associe, en plus des leptospire, d'autres agents infectieux tels que *Bacillus* spp. (Smith et al, 1999).

- **Diminution de la fertilité**

Des études ont révélé le rôle joué par *L. interrogans* sérovar *hardjo* dans la chute des performances de reproduction. C'est ainsi qu'une étude portant sur l'analyse des résultats de reproduction de cheptel sur une durée de quarante ans a permis d'associer les plus mauvais bilans de reproduction avec les années où l'infection leptospirosique a été diagnostiquée (Dhaliwal et al, 1996). C'est essentiellement le sérovar *hardjo* qui est responsable des troubles de la fertilité. Chez des animaux séropositifs pour *L. hardjo*, la durée vèlage-insémination fécondante est allongée et le nombre d'inséminations est plus élevé que chez les femelles séronégatives (Guitian et al, 1999).

Plusieurs études ont tenté d'expliquer ces troubles de la fertilité, en comparant les valeurs de laprogéstéronémie à différentes périodes du cycle sur des animaux séropositifs et séronégatifs pour *L. interrogans* sérovar *hardjo*. Le taux de progestérone sanguin des animaux séropositifs était significativement plus bas que celui des animaux séropositifs au milieu de la phase lutéale. Cette valeur de la progestéronémie inférieure à la norme peut être un facteur explicatif

à ces troubles de la fertilité. Cependant, la pathogénie des leptospires reste encore difficile à appréhender (Dhaliwal et al, 1997).

III.8. Les Lésions

III.8.1. Lésions macroscopiques

a- Lésions générales

L'examen nécropsique peut révéler un ictère généralisé, des hémorragies multiples et des Pétéchies ou ecchymoses localisées à la peau, aux muqueuses, aux séreuses et aux parenchymes (Schoenaers et al, 1971). L'ensemble des viscères des cavités thoracique (cœur et poumons) et abdominale (estomacs et intestins) ainsi que la graisse présentent une coloration jaunâtre très nette (Perez Bonilla et al, 1983).

Sur le plan cutané, on va trouver des œdèmes cutanés laissant exsuder une sérosité qui se dessèche, des lésions nécrotiques des extrémités, ou encore des ulcères de la troisième paupière (Rautureau, 2003). Quelquefois, il y a élimination par l'anus d'un liquide sanguinolent. Lors de l'incision de la peau, on va observer un œdème diffus, jaunâtre du tissu sous-cutané. Un liquide séreux, jaunâtre peut s'échapper de la cavité abdominale. Les muscles squelettiques ont une couleur de chair cuite objective en incisant les masses musculaires des membres postérieurs.

b- Lésions hépatiques

Le foie est de taille normale ou légèrement hypertrophié. Il présente une coloration plus pale que la normale. Son parenchyme est d'aspect terreux et de couleur jaune. Le foie peut présenter une accentuation de la lobulation. La vésicule biliaire a un aspect caractéristique : elle est distendue par une bile pâteuse de couleur noir brillante (Perez Bonilla et al, 1983). Les lésions hépatiques sont corrélées à l'atteinte des systèmes enzymatiques hépatiques.

c- Lésions rénales

Les reins vont présenter un aspect caractéristique. Leur surface est hétérogène, elle varie du brun foncé au noir avec de petites zones nécrotiques plus sombres. Morphologiquement, les reins sont souvent tuméfiés, hypertrophiés et paraissent congestionnés. Ils peuvent même apparaître hémorragiques. La zone corticale est foncée et le calice est ictérique. La vessie est distendue par une urine sombre.

d- Lésions fœtales et placentaires

En règle générale, les lésions observées sur les avortons sont non spécifiques et résultent essentiellement de l'autolyse. Parfois pour les avortons dans le dernier stade de gestation, on peut observer un ictère des tissus sous-cutanés. Pour les fœtus nés vivants, au contraire, on va observer des lésions similaires à celles produites par l'anoxie, c'est-à-dire des pétéchies sur la surface du thymus, de la thyroïde, des poumons, du cœur et de la plèvre pariétale. Des cas de lésions vasculaires sévères ont été rapportés dans le cas de fœtus avortés par *L. hardjo* ou *L. icterohaemorrhagiae* essentiellement dans le foie mais aussi à un moindre degré, dans les méninges cérébrales et les septa interlobulaires des poumons. Il se produit alors une congestion vasculaire, une nécrose et une hémorragie périvasculaire. Dans les cas d'avortements à *L. pomona*, les cotylédons peuvent apparaître jaunâtres et avasculaires de façon uniforme (Berger, 1999).

e- Autres lésions

La rate, parfois légèrement hypertrophiée, apparaît aussi ictérique. A l'incision, on constate que l'aspect de la pulpe est normal ou légèrement moins ferme que la normale. Dans le cas de pneumonie atypique à leptospires, les poumons sont marqués par des plages hémorragiques.

III.8.2. Lésions histologiques

Les lésions microscopiques se trouvent essentiellement dans le foie et dans les reins.

a- Histologie hépatique

Les lésions hépatiques sont celles d'une hépatite dégénérative. Les hépatocytes vont présenter un aspect dégénéré : le cytoplasme de ces cellules est envahi de granules éosinophiles. Le noyau est petit, rétracté ou lysé. Il peut arriver que les hépatocytes soient binucléés. Certains hépatocytes vont présenter des noyaux pycnotiques ou caryolytiques ainsi que des cytoplasmes irréguliers. Il existe des zones de nécrose focales qui sont entourées d'infiltration de cellules lymphatiques. On trouve aussi souvent une cholestase intra-hépatique (Cosossey-Vrain, 2004).

b- Histologie rénale

Les reins sont le siège d'une néphrite interstitielle aiguë ou subaiguë. Le réseau capillaire rénal est congestionné, et a un infiltrat cellulaire inflammatoire à cellules mononucléées. L'espace interstitiel est envahi par des cellules inflammatoires (monocytes, macrophages, plasmocytes, lymphocytes). Les tubules contournés proximaux et distaux présentent également des lésions sous forme de cellules dégénérescentes, de granulations hyalines ou de cellules nécrosées. Il n'y a pas de lésions observées usuellement sur le glomérule (Cosossey-Vrain, 2004).

III.9.Répartition géographique et prévalence

La leptospirose est une anthroponose c'est à dire une maladie animale transmissible à l'homme. Elle sévit dans le monde entier particulièrement en Asie, en Amérique latine et en Afrique. La leptospirose est aussi présente en Europe, notamment en France, Pays Bas , Suisse , Italie , U.R.S.S. , Bulgarie et Hongrie (Schonberg, 1981).

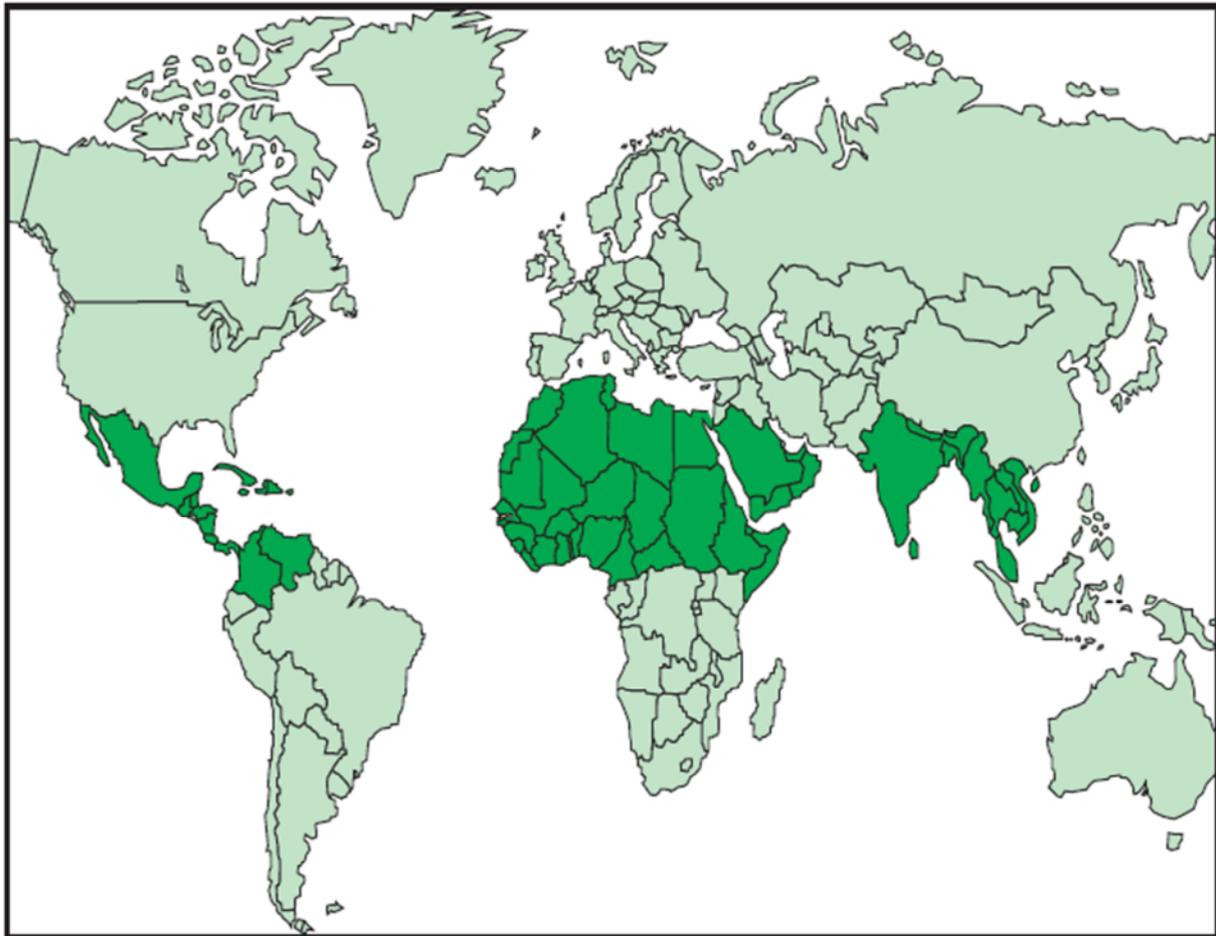
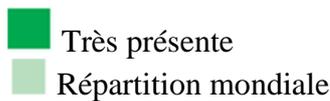


Figure 12 : Répartition géographique de la Leptospirose



III.10.Source de l'infection

La pénétration des leptospires dans l'organisme se fait à partir d'urines contaminées d'animaux infectés ; Les leptospires se maintiennent assez facilement dans le milieu extérieur dans l'eau ou des sols boueux à pH légèrement alcalin, d'une salinité nulle ou très faible et en absence d'exposition aux ultra-violets. Le réservoir est essentiellement animal : les rongeurs, en particulier les diverses espèces de rats, excrètent de façon chronique des leptospires ; les bovins, dont l'infection est fréquente entraînant des pertes économique importantes, disséminent également des leptospires par voie urinaire et les troupeaux infectés s'auto-contaminent à partir de quelques individus porteurs.

Les animaux, y compris l'Homme, peuvent être divisés en deux catégories : porteurs chroniques et réservoirs accidentels. Chez les porteurs chroniques, l'infection est enzootique,

transmise par contact direct. La bactérie possède une prévalence d'excrétion chronique urinaire qui augmente avec l'âge de l'animal.

Les rats sont généralement les hôtes pour les réservoirs du sérotype icterohemorrhagea et les souris pour les sérovars du sérotype ballum. Une étude thaïlandaise a montré que 15% des rats étaient porteurs chroniques de leptospires dont plus de la moitié les était pour *L.interrogans* (Doungchawee et al, 2005).

Enfin, les animaux domestiques peuvent également être porteurs chroniques de certains sérovars : les vaches laitières peuvent héberger les sérovars hardjo et pomona ; les porcs, les sérovars pomona, tarassovi ou bratislava et les chiens, les sérovars canicola (Levett, 2003). Récemment, une étude française rapporte que l'infection est également fréquente chez les chats (Andre-Fontaine, 2006). Des épidémies ont été décrites chez différentes espèces de mammifères : phoques (Kik et al, 2005), chiens (Blazius et al, 2005 ; Adesiyun et al, 2006) et chèvres (Lilenbaum et al, 2006).

III.11. Transmission et mode de contagion

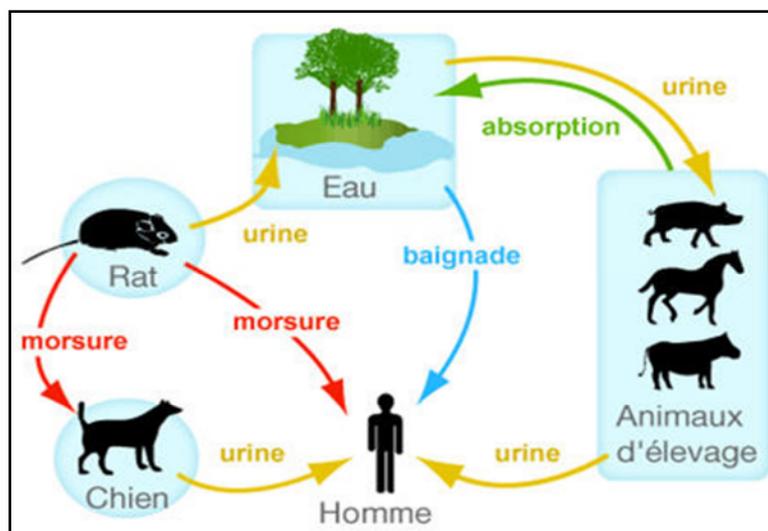


Figure 13 : Mode de contagion par les leptospires

III.11.1. Transmission

Transmission directe : Cette transmission peut se faire de façon horizontale ou verticale. Dans le cas d'une transmission **verticale**, il a été démontré dans le cas du sérovar *hardjo*, que l'infection pouvait être transmise au fœtus *in utero*. Cette infection transmise de la mère au fœtus peut, soit provoquer un avortement, soit entraîner la naissance d'un veau qui sera un infecté chronique. Il a ainsi été possible de mettre en évidence par épreuve sérologique ou par observation directe, l'infection transmise au fœtus (Ellis, et al, 1982 ; Giles, 1983). La transmission verticale peut aussi se réaliser par le biais de l'ingestion de la sécrétion lactée. En effet, le jeune peut se contaminer lors de la prise du lait maternel, surtout en période de localisation mammaire des leptospires mais aussi en phase septicémique. Il est cependant à noter que la chute de production laitière limite l'impact de cette voie de contamination.

La transmission **horizontale** est la voie de transmission privilégiée. Les contacts entre animaux sont responsables de la majorité des nouvelles contaminations. Ces contacts peuvent se produire au sein de la stabulation, ou même en salle de traite dans le cas des troupeaux laitiers. Ces contacts entre animaux se font par l'intermédiaire d'aérosols, d'urine par exemple, qui vont être responsables de la contamination des animaux. Les contacts vénériens participent également à la transmission des leptospires d'un animal infecté à un animal sain (Sleight et al, 1965 ; Eaglesone et al, 1997).

Transmission indirecte : Malgré leur fragilité dans des conditions favorables, notamment dans l'eau, les leptospires vont pouvoir se conserver pendant un certain temps dans le milieu extérieur. C'est ainsi que les leptospires excrétés par les urines ou dans les sécrétions des vaches avortées, lorsque les conditions les permettent, peuvent survivre notamment dans l'eau. Des sécrétions ou des urines d'animaux d'espèces de la faune sauvage peuvent également contaminer le milieu extérieur (Legrand, 2007).

III.11.2. Voies de pénétration

Les voies de contamination majeures sont les voies cutanées et muqueuses. La peau macérée ou blessée est une porte d'entrée aisée pour les leptospires. De même, le contact des leptospires avec les muqueuses, s'il est prolongé et étroit, va être aussi à l'origine de la pénétration des bactéries à l'intérieur de l'organisme. Les muqueuses buccales, oculaires mais

aussi pituitaires peuvent être alors la voie d'entrée de leptospires par le biais de gouttes d'urines aérosolisées au sein de la stabulation par exemple (Andre-Fontaine et al, 1985).

III.12. Diagnostic

III.12.1. Diagnostic épidémiologique :

La grande diversité de la symptomatologie de la leptospirose rend son diagnostic clinique presque impossible, quoiqu'il existe des éléments épidémiologiques capables de modérer la difficulté de ce diagnostic, par exemple la cohabitation rats-vaches, ainsi que le contact de la même eau dont ces animaux boivent et qui peut être infecté par de nombreux micromammifères permettent de suspecter la leptospirose (Andre-Fontaine,).

Sur la base d'éléments bibliographiques (Bolin et al, 1999), les auteurs ont défini des signes majeurs et mineurs pour établir la suspicion clinique (au moins un signe d'appel majeur et un signe d'appel mineur).

- ✓ *Signes d'appel majeur* : avortement tardif (à partir du sixième mois de gestation) et chute brutale de la production laitière.

- ✓ *Signes d'appel mineurs* : infertilité (IA répétées, intervalle vêlage/vêlage allongé), photosensibilisation, ictère, échec répété collectif aux traitements antibiotiques après chute de production du lait ou altération de l'état général.

III.12.2. Diagnostic lésionnel

Ce diagnostic va se faire à l'observation des lésions post-mortem décrites auparavant dans cette étude. Cependant, ces lésions ne seront observables que dans les cas d'épisodes aigus. C'est ainsi que de nombreuses formes de leptospirose, même mortelles ne seront pas caractérisées par des lésions nécropsiques caractéristiques et franches (Legrand, 2007).

III.12.3. Diagnostic de laboratoire

1-Mesure de sécurité au laboratoire

Le risque de contamination au laboratoire est en fait limité à la projection de cultures de souches virulentes ou lors d'injection à l'animal sensible de produits pathologiques (urines), de cultures contaminées par d'autres bactéries, ou à des fins expérimentales.

Il est recommandé de manipuler les cultures virulentes et de pratiquer les autopsies d'animaux sous hotte. Le port des gants imperméables lors des manipulations d'animaux est indispensable. Enfin, tout incident entraînant une possibilité de contamination justifie une antibiothérapie préventive (ampicilline per os, 2g/jour durant 8 jours) (Guy Baranton et al, 2007).

2-Prélèvements

Le choix des prélèvements pour l'isolement des leptospires suit classiquement une chronologie précise (Faine, 1994) mais il faut considérer la possibilité d'isolement tardif dans les urocultures. Ils doivent être réalisés avant toute antibiothérapie lorsque le patient est fébrile. L'hémoculture se pratique durant les 10 premiers jours suivant l'apparition de la fièvre ; le sang veineux (1ml minimum) est recueilli sur EDTA (séquestrène, 10mg) ou héparine (15 à 20 UI) pour ensemencement rapide. Il n'existe pas de milieu de transport spécifique. Le citrate est à proscrire, entraînant une acidification du milieu, néfaste aux leptospires.

Les leptospires peuvent être isolés du LCR durant la deuxième semaine de la maladie. Le risque hémorragique sera bien sûr soigneusement évalué (thrombopénie) en particulier en zone tropicale où peuvent coexister d'autres pathologies au faciès clinique initial proche (dengue) ; une quantité de 0,5 ml de LCR est nécessaire pour la mise en culture.

Les urocultures sont d'une rentabilité faible ; elles sont possibles à partir de la première semaine mais plus utiles après la seconde. Le recueil doit s'effectuer dans les conditions habituelles de stérilité (désinfection locale, prélèvement au milieu de la miction) ; une alcalinisation préalable (bicarbonate de sodium) est très souhaitable pour faciliter la survie des leptospires et la multiplicité des prélèvements est recommandée. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque le délai entre recueil urinaire et mise en culture est inférieur à une heure. En pratique, toutes ces conditions sont rarement remplies et les résultats décevants.

3-Examen direct

Il peut être réalisé par microscopie à fond noir, par immunofluorescence ou par microscopie à fond noir entre lame et lamelle pour les liquides biologiques tels que le sang, le LCR, l'urine ou le liquide de dialyse péritonéale. Les leptospires apparaissent comme des fins spirochètes dont les spires ne sont pas individualisées, avec des extrémités en crochets, très mobiles (rotation, flexion, translation). Peu sensible (seuil de détection de l'ordre de 10^4 bactéries) et surtout de spécificité médiocre (le risque de faux positif induit par des débris cellulaires, des fibrilles est important pour un œil non averti), l'examen direct n'a qu'une valeur d'orientation et doit être confirmé par la culture.

Dans les tissus, la visualisation des leptospires nécessite une coloration à l'argent ou le plus souvent, la coloration de Warthin-Starry (Levett, 2003). Des techniques d'immunohistochimie ont également été développées mais sont l'apanage des centres nationaux de référence (Levette, 2003 ; Chmsumang et al, 2005).

Plus récemment, des techniques directes de mise en évidence dans les urines de malades d'antigènes spécifiques par anticorps monoclonaux ont été mises au point. Elles apparaissent très précoces, sensibles et spécifiques mais ne sont pas encore commercialisées (Saaengjaaruk et al, 2002).

4-Choix des milieux de culture

Les milieux au sérum de lapin (Stuart, Korthof) ne sont quasiment plus utilisés au profit du milieu tween-albumine ou EMJH (milieu de Ellinghausen et McCullough modifié par Johnson et Harris) (Ellinghausen et McCULLOUGH, 1965 ; Suwimonteerabutr et al, 2005). Sa préparation est relativement complexe ; il est commercialisé et se conserve 3 à 6 mois à 4°C. Il peut être rendu partiellement sélectif par l'addition de 100mg/ml de 5 Fluororacile (5FU).

L'ensemencement doit se faire le plus rapidement possible après le prélèvement ; l'inoculum doit représenter environ 10% du volume à ensemer. Pour les hémocultures, 1ml de sang est dilué dans un tube de 10ml de milieu, puis les dilutions en série, au dixième sont effectuées sur 5 tubes, afin de limiter le pouvoir inhibiteur du sang sur les cultures. Pour

le LCR ou le liquide de dialyse péritonéale, le traitement est identique. Pour les urines fréquemment contaminées, la filtration du prélèvement sur 0,45µm puis 0,22µm semble la plus efficace pour améliorer les champs d'isolement : 1ml d'urine ainsi traité est dilué, au dixième en série sur 5 tubes ; l'inoculation en parallèle du milieu additionné de 5 FU sera effectuée.

Les cultures sont incubées entre 28 et 30°C à l'obscurité, l'agitation facilitant la croissance (métabolisme aérobie). Elles sont observées chaque semaine au microscope à fond noir et ceci pendant 13 semaines ; un repiquage systématique des tubes de cultures primaire est souhaitable après 15 jours d'incubation. L'inoculation à l'animal nécessite la disponibilité de hamsters ou de jeunes cobayes de moins de 150 grammes ; elle permet d'isoler une souche, à partir d'un prélèvement contaminé injecté par voie intra-péritonéale, par mise en culture après quelques jours de sang, du foie et des reins. Elle est surtout efficace pour les sérogroupes ictérohaemorrhagiae et canicola. Les cultures positives seront repiquées en milieu frais et adressées au Centre National de Référence pour identification. Les cultures contaminées sont filtrées sur 0,45µm puis 0,22µm puis repiquées sur milieu EMJH avec et sans 5 FU. Un délai d'observation de 2 mois est nécessaire avant conclure à la négativité de la culture. Enfin, la conservation en azote liquide en utilisant le glycérol (5%) comme cryoprotecteur permet la conservation de longue durée et préserve la virulence.

5-Diagnostic sérologique

Plusieurs techniques sérologiques ont été décrites (Faine, 1994) : test de micro-agglutination sur lame ou antigène Thermo résistant (TR), immunofluorescence indirecte, réaction de fixation du complément, hémagglutination, test d'agglutination de particules de latex (Pradutkanchana et Nakarin, 2005). À côté de la réaction de référence ou Micro Agglutination Test (MAT), seule l'ELISA présente un intérêt certain pour le diagnostic sérologique par sa précocité, les autres réactions manquant de spécificité ou de sensibilité.

Les anticorps sériques sont détectables à partir du 8^{ème} jour suivant l'apparition de la fièvre ; deux sérums prélevés à 8-10 jours d'intervalle sont indispensables, un sérum plus tardif étant souvent nécessaire pour déterminer le séro groupe en cause. Cependant, si le prélèvement est réalisé très précocement, un intervalle de 10 à 14 jours est alors nécessaire pour observer une séroconversion. De plus, dans les leptospiroses fulminantes, les patients décèdent avant l'apparition de séroconversion. Le complément est inactivé par chauffage des

sérums 30 minutes à 56°C ; les conservateurs sont à proscrire dans la mesure où les sérums sont testés par le MAT qui utilise des antigènes vivants. L'interprétation correcte des résultats nécessite des renseignements cliniques et épidémiologiques (une fiche standardisée de renseignements est diffusée par le Centre National de Référence).

L'ELISA (Terpstra et al, 1980) utilise un antigène non purifié extrait de la souche *L.biflexa* par traitement au formaldéhyde et chauffage ; la mise en évidence des anticorps se fait avec un anti-IgM humain couplé à la peroxydase. Le titre seuil est fixé à 400. L'ELISA est un peu plus précoce que la MAT (6-8^{ème} jour) ; elle permet d'aider à différencier une leptospirose évolutive d'une maladie antérieure par la mise en évidence des IgM. La détection des IgM est plus sensible que le MAT en phase très précoce, atteignant environ 80 % pour une spécificité de 25% (Cermeno –Vivas et al, 2005). Très sensible et spécifique, cette recherche des IgM est malheureusement prise en défaut dans le cas de leptospirose à *grippotyphosa* ou *Australie* (Perolat et al. 1988). La mise au point d'un test ELISA avec antigène spécifique des souches pathogène reste à l'ordre du jour et la réaction actuelle et donc essentiellement une réaction de dépistage. Des techniques sérologiques ELISA utilisant des protéines recombinant ont été élaborées. Elles utilisent une lipoprotéine constituant de la membrane externe comme le LipL32, exprimée spécifiquement par les leptospires pathogènes. La détection des IgG anti LipL32 permet d'atteindre une sensibilité de 100% et une spécificité de 98,33% en comparaison au MAT (Boonyod et al, 2005).

Le test de micro-agglutination (MAT, ex-réaction d'agglutination –lyse de Martin et Petit) consiste à évaluer au microscope à fond noir le degré d'agglutination de culture de leptospires par le sérum du malade (Martin et al, 1917). La batterie d'antigène est composée de souches représentatives des principaux sérogroupes afin de pouvoir confirmer sérologiquement une infection par sérovar inconnu ; pour un laboratoire de référence, la gamme comprend une vingtaine de souches de référence, auxquelles peuvent être ajoutées des souches isolées localement qui sont souvent plus sensibles, ainsi que le sérovar saprophyte de la souche *biflexa* qui est agglutiné en présence d'anticorps induits par de nombreux sérovares pathogènes. Il nécessite de tester deux sérums à 15 jours d'intervalle. Sa sensibilité inférieure à 25% au cours de la 1^{ère} semaine d'infection augmente entre la 1^{ère} et la 2^{ème} semaine.

Un sérum est considéré comme positif, à une dilution donnée et pour l'antigène testé, si au moins 50% des leptospires sont agglutinées, la lecture étant effectuée par rapport à un témoin antigène.

Le MAT se positive vers les 8-10^{ème} jours après le début de la maladie ; les anticorps agglutinants sont des IgM puis tardivement et inconstamment des IgG. La présence d'agglutinines pour plusieurs sérogroupes est fréquentes (coagglutinines) en début de maladie est seul un sérum tardif permet de préciser le séro groupe en cause. Le profil sérologique varie selon le séro groupe : titre élevé pour icterohaemorrhagiae (1 :12 800 et plus), modéré pour Australie ou Grippotyphosa (1 :200 à 1 :800). Les anticorps décroissent sur plusieurs mois (3 à 6 mois) et peuvent persister à des taux résiduels plusieurs années.

Afin de faciliter la réalisation du MAT, l'utilisation antigènes formolés ou lyophilisés est possible entraînent des titres moins élevés, un accroissement des réactions croisées et des réactivités différentes de celles observées avec les antigènes vivants. Ces antigènes ne sont pas commercialisés mais disponibles auprès de certains centres collaborateurs OMS.

Il est donc indispensable de faire une cinétique correcte de l'apparition des anticorps et de joindre renseignements cliniques et chronologiques (date de début de la maladie et du prélèvement) pour une interprétation fiable : une sérologie au 1 : 100 ou 1 : 200 peut en effet correspondre, soit à un début de leptospirose soit à la trace d'une infection antérieure à l'épisode clinique en cours. Enfin, l'antibiothérapie précoce peut retarder l'apparition des anticorps, diminuer les titres, voire négativer la réaction. Les cas confirmés sérologiquement sont soit les séroconversions, soit l'augmentation significative des titres d'anticorps (au moins deux dilutions) à 10-15 jours d'intervalle. Au total, tout comme sa réalisation technique, l'interprétation du MAT s'avère délicate. La réalisation standardisée de ce test est difficile ; ainsi un contrôle de qualité international réalisé en 2002 montre un taux de faux négatif de l'ordre de 13%(McBride et al, 2005).

IV. Conclusion et recommandation

L'élevage bovin algérien en plus de contribuer à réduire le déficit national en produits carnés et laitiers, revêt une importance socio-économique remarquable. Son effectif très important et varié, constitué essentiellement d'animaux d'importation, n'est pas proportionnel à sa production qui reste très faible. Cette faible production est expliquée principalement par le faible potentiel génétique du cheptel exploité, les contraintes alimentaires, sanitaires et climatiques. La satisfaction de la demande demeure ainsi tributaire des importations des produits laitiers. Ces importations coûtent plusieurs milliards de dinars chaque année. Pour pallier ces dépenses énormes, l'État algérien a adopté une politique d'appui aux productions animales en vue d'une autosuffisance par l'entremise d'un vaste programme d'amélioration génétique du cheptel autochtone grâce notamment à la biotechnologie de l'insémination artificielle (IA)

Malheureusement, les résultats enregistrés par différents programmes d'insémination artificielle en Algérie montrent une faiblesse des taux de réussite. Comme facteurs incriminés de cette faiblesse de résultats, citons la non maîtrise des paramètres de la reproduction chez la vache, le manque d'expérience pour l'organisation des campagnes d'insémination et surtout les maladies infectieuses et/ou parasitaires du tractus génital. Les maladies d'élevage comme la brucellose et les autres affections abortives des ruminants comme la BVD et l'IBR réduisent les performances des animaux et occasionnent d'importantes pertes au sein des exploitations. En effet, chez la vache laitière, les avortements sont économiquement très graves pour l'éleveur, car le fœtus c'est -à- dire le futur veau est perdu et limitent ainsi l'élevage à sa source. Qui plus est, des affections de la sphère génitale et une stérilité peuvent en résulter, et cela pendant une période plus ou moins longue, au cours de laquelle la femelle, improductive est une charge pour l'éleveur.

En plus de leur importance économique, certaines de ces maladies sont des zoonoses comme la brucellose, leur transmission à l'homme constitue une menace constante pour la santé publique.

La présente étude avait comme objectif l'évaluation de l'importance des maladies abortives en l'occurrence la brucellose, la leptospirose bovine) et la chlamydiose bovine à travers une recherche bibliographique approfondie sur les caractéristiques cliniques et lésionnels, les méthodes de diagnostic ainsi que les répartitions géographiques dans le monde et leur importance sur le plan économique et de la santé publique.

La présente étude a permis de démontrer l'existence de la brucellose bovine en Algérie à travers les données recueillies mais aucune information n'a pu être obtenue pour les deux autres maladies. L'objectif de notre travail étant de déterminer le rôle des maladies abortives dans la faiblesse du taux de réussite du programme d'insémination artificielle et par conséquent d'un faible développement de la filière laitière locale, nous profitons de l'occasion pour formuler quelques recommandations aux différents acteurs de la santé et productions animales selon leur part dans le programme.

1) Aux autorités étatiques

Etant donné les pertes que la brucellose, la BVD, l'IBR provoquent, l'Etat par le biais du Ministère de l'Agriculture doit prendre le devant et expliquer au public concerné leur rôle dans la lutte. Ainsi, nous recommanderons ce qui suit:

Chapitre IV : Conclusion et recommandation

- de prendre des mesures qui s'imposent, surtout en ce qui concerne les mouvements des animaux et d'ajouter ces pathologies surtout la leptospirose et la chlamydie sur la liste des pathologies à contrôler;
- d'organiser régulièrement des programmes de dépistage des maladies à caractère abortif et sensibiliser les éleveurs à y participer activement.
- d'essayer de mettre en évidence un réseau d'épidémiologie de la BVD et de l'IBR et de renforcer celui de la Brucellose;
- l'amélioration des infrastructures et des voies d'accès aux éleveurs afin de faciliter l'accès aux intrants alimentaires pour la complémentation des animaux.

2) Aux acteurs impliqués dans le programme d'Insémination artificielle

- choisir le moment de la réalisation des inséminations doit tenir compte des facteurs climatiques et saisonniers quand le disponible alimentaire est suffisant ;
- inciter à la complémentation et à la stabulation des animaux;
- sensibiliser les éleveurs à la conduite des produits d'insémination pour qu'ils expriment tout leur potentiel génétique. En plus de cette sensibilisation, il faut faire un suivi permettant d'avoir une idée sur les performances de ces produits
- assurer des formations techniques aux éleveurs (gestion du troupeau, de la reproduction et de l'alimentation) ;
- sensibiliser les éleveurs à une meilleure gestion des espaces pastoraux, pour une intensification des productions animales.
- dépister es vaches avant de réaliser l'IA

3) Les éleveurs

Nous recommanderons à ces derniers:

- de s'assurer de l'état des animaux qu'ils vont acquérir et de toujours rechercher à connaître la cause des avortements observés
- éviter l'introduction d'animaux sans connaître leur statut vis-à-vis de ces maladies.

Chapitre IV : Conclusion et recommandation

- d'améliorer les conditions d'élevage surtout la distribution des aliments et de l'eau, et pratiquer de l'hygiène dans les élevages pour éviter les problèmes de reproduction liés à l'environnement alimentaire.
- dans les villages où le contact entre humains et animaux est permanent, nous recommandons d'être prudents lors des manipulations des avortons et de prendre soin des vaches ayant avorté car la brucellose est une zoonose majeure
- se regrouper en coopératives pour mieux rentabiliser leur métier. Ce regroupement leur permettrait d'échanger les expériences et de bien profiter des projets de développement;
- respecter les conditions d'adhésion au programme d'insémination artificielle. Cela se matérialisera par le respect du calendrier de travail et de la bonne conduite des animaux sélectionnés avant et après insémination (compléments alimentaires, stabulation, suivi sanitaire)

LISTE DES ABREVIATION :

CO : CORPS ELEMANTAIRE

CE : CORPS RETICULE

LPS : LIPOPLYSACCARIDE

LCR : LIQUID CEPHALORACHIEN

PMP : PROTEINE MEMBRANAIRE POLYMORPHE

5FU : FLUORORACILE

LIP : LIPOPROTEINE

PMME : PROTEINE MAJEURE DE LA MEMBRANE EXTERNE

TMH : TRANSMEMBRANAIRES HELICOÏDAUX PROTEINES

BGM : BUFFALO-GREEN MONKEY

BHK : BABY HAMSTER KIDNEY

LGV: LYMPHOGRANULOMATOSE

Figures

Liste des figures

Figure 1 : La coloration de Gram de *Brucella* (coccobacille Gram négatif)

Figure 2 : La culture de brucella de 48h

Figure 3 : La répartition mondiale de la brucellose

Figure 4 : Nouvelle (1a) et ancienne (1b) taxonomie des *Chlamydiaceae*

Figure 5 : Structure trilaminaire de la paroi des *chlamydia*

Figure 6 : Modèle schématique de l'enveloppe des CE de *chlamydia*

Figure 7 : Chlamydies sous forme (CE)

Figure 8 : Chlamydies sous forme(CR)

Figure 9 : cycle de développement de *chlamydia*

Figure 10 : Placentite nécrotique purulente

Figure 11 : Photomicrographies de *Leptospira* spp : panneau noir (a) et d'électrons ombre (b)

Figure12 : La répartition géographique de la Leptospirose

Figure 13 : Mode de contagion par les leptospires

1. **Abadia, G., & Picu, C.**(2005):Zoonose d'origine professionnelle, EMC-Toxicologie Pathologie 2, 163-177.
2. **Alcina, V., Carvalho, Neta, Juliana P.S. Mol , Mariana N . Xavier, Tatiane A. paixão, Andrey, P., Lage , Renato, L. Santos.** (2010) : Review Pathogenesis of bovine brucellosis, The Veterinary Journal 184,146-155.
3. **Alexandre David Laurent boullanger** , Thèse « contribution à l'étude de la virulence des souches de *Chlamydia pecorum* sur le tractus urogénitale male du kaola », ,2010 .page :15
4. **Andre-Fontaine et al, 1985 : J.P. Ganiere and A. Boukerrou,** Données actuelles sur la leptospirose des animaux d'élevage: lutte, diagnostic, dépistage, prophylaxie.
5. **Andre-Fontaine et al, 2003 : Andre-Fontaine, G ;** Leptospirose, in Principales maladies infectieuses et parasitisme du bétail, Europe et régions chaudes. Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires
6. **Andre-Fontaine et al, 2003 : G.,** Leptospirose, in Principales maladies infectieuses
7. **Andre-Fontaine, 2006 : C. Lefur, J. Bellin, S. Rochereau, F.** Bactériologie clinique ,2007.
8. **Aoumeur cherif.** thèse pour l'obtention du titre maitre es sciences vétérinaires. études antigénique de différentes souches de *Chlamydia* enquête sérologique sur l'importance de la chlamyidiose ovine en Algérie, 1982 page : 10, 19, 20, 21, 25.
9. **Appleyard W.T., Aitken I.D., Anderson I.E.,** 1985. *Vet. Rec.* 116,535-538
10. **Arcos-Lahuerta B, Ramuz M, Combe B.** Manifestations ostéo-articulaires de la brucellose. *Encycl Méd Chir, Appareil locomoteur*, 14-182-A-10 ; 1996 : 8 p.
11. **Bebear C.** *Mycoplasmes et Chlamydiae.* Paris: Elsevier, 2002: p 145.
12. **Bentley M .** Nicholas R. Thomson, Corin Yeats, Kenneth Bell, Matthew T.G. Holden, Stephen D. Bentley, Morag Livingstone, Ana M. Cerdeño-Tárraga, Barbara Harris, Jon Doggett, Doug Ormond, Karen Mungall, Kay Clarke, Theresa Feltwell, Zahra Hance, Mandy Sanders, Michael A. Quail, Claire Price, Bart G. Barrell, Julian Parkhill, and David Longbottom. The *Chlamydia abortus* genome sequence reveals an array of variable proteins that contribute to interspecies variation,2005. [[PubMed](#)]
13. **Berche, 1989 :** Leptospires. Bactériologie médicale. 2eme édition.
14. **Berger, 1999 :** Contribution a l'étude des avortements d'origine infectieuse non brucellique chez les bovins: étude rétrospective dans les Groupements de défense
15. **Bernheimer, A .w et Bey,R.F .** 1986 :Copurification of leptospira interrogans serovar pomona hemolysin and sphingomyelinase . Bactériologie clinique ,2007.
16. **Bertrand A, Bentejac MC, Biron G et coll.** Utilisation chez l'homme d'un antigène phénolo-soluble brucellien comme test de détection de la sensibilité cutanée spécifique. In :International symposium on Brucellosis. Develop. Biol. Standard. Vol. 56, Karger, Bale, 1984, pp. 547-551.

17. **BERTRAND, M.** Physiologie de la gestation et mortalité prénatale. Informations Techniques des Services Vétérinaires. 39-40: 22-24. 1972.
18. **Bolin et al, 1999** : Bovine Pract.
19. **Boonyod,D ;Poovorawan,Y ;Bhattarakosol,P et Chirataworn, C .2005** :IIP1 32, an outer membrane protein of leptospira, as an antigen in a dipstick assay for diagnosis of leptospirosis. Bactériologie clinique 2007.
20. **BOVINS et MOUTONS au 1er juillet 1978.** Bureau de la Statistique du Québec. Novembre 1978.
21. **Bricker, B.J., D.R. Ewalt, A.P.MacMillan, G.Foster, and S.Brew.2000.**Molecular characterization of *Brucella* strains isolated from marine mammals.J.Clin.Microbiol.38:1258-1262.
22. **Canale-Parola, 1984** : *Sirochaeta*. In : Berge's manual of systematic bacteriology. Bactériologie clinique. 2007.
23. **Carter, G. R., & Wise, D.J.(2004)** : Essentiels of Veterinary Bacteriology and Mycology, 6th Ed, Ed Blackwell publishing company, pp: 107.
24. **Cermeno –Vivas,J.R ;Sandoval-De Mora ,M ;Bognanno,J.F et Caraballo,A. 2005** :Clinical and epidemiological features of leptospirosis in Bolívar state, Venezuela. bactériologie clinique 2007.Chez la vache. Point Vet.
25. **Chimsumang ,S ;Chettanadee,S ;Jitrathi, S et Wongchotigul,V . 2005** :indirect immunoperoxidase test for the diagnosis of leptospirosis . bactériologie clinique 2007.
26. **Cloekaert,A.,M. Grayon, and O. Grepinet.2000.**An IS711 element downstream of the bp26 gene as a specific marker of *Brucella spp.* Isolated from marine mammals. Clin.Diagn. Lab.I.,unol. 7:835-839.
27. **Cloekaert,A.,M. Grayon, O. Grepinet, and K.S.Boumedine.2003.**classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals: infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. Microbs infect.5:593-602.
28. **Corsaro, D. and Greub, G.,** pathogenic potential of novel chlamydiae and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria. Clin Microbiol Rev 19:283 – 297, 2006
29. **Cullen et al, 2004** : **PA Cullen, DA Haake, B. Adler** : Protéines de membrane externe de spirochètes pathogènes
30. **Dain,A .A ;Rozinov,M.N ;Gol'tsmaier,T.A ;Gershanovich,V.N et Chernukha Iu,G. 1985** Cloning and the expression of the hemolysin gene of *Leptospira pomona* in *Escherichia coli* .Bactériologie Clinique ,2007

31. data, Cornell Vet. 63: 291-316. 1973.
32. **Dawson M., Zaghloul A., Wilsmore A.J., 1986. Res. Vet. Sci. 40, 59-64**
33. **Dawson M., Zaghloul A., Wilsmore A.J., 1986. Res. Vet. Sci. 40,59-64.**Détection et quantification du portage de *Chlamydophila psittaci* chez le canard mulard en gavage : enquête de prévalence
34. **DelVecchio, V.G., Kapatral, V., Redkar, R.J., Patra, G., Mujer, C., Los, T., Ivanova, N., Anderson, I., Bhattacharyya, A., Lykidis, A., Reznik, G., Jablonski, L., Larsen, N., D'Souza, M., Bernal, A., Mazur, M., Goltsman, E., Selkov, E., Elzer, P.H., Hagius, S., O'Callaghan, D., Letesson, J.J., Haselkorn, R., Kyrpides, N., Overbeek, R.(2002):** The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 99, 443-448.
35. **DENNIS, S.M.** Laboratory diagnosis of infectious bovine abortion. J. Am.
36. **Dhaliwal et al, 1996 :** R.D. Murray and W.A. Ellis, Reproductive performance of dairy herds infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo relative to the year of
37. **Dhaliwal et al, 1997:** R.D. Murray, H. Dobson W.A. Ellis, Effect of *Leptospira*
38. diagnosis. Vet. Rec.Doungchawee et al, 2005).
39. **Drugeot, T. 1889 :** Diagnostic sérologique de la leptospirose bovine: étude expérimentale d'une micro agglutination simple a l'aide d'une souche vivante de *Leptospira biflexa*,These Med. Vet. ENVN.
40. **DUNNE, H.W., S.M. AJINKYA, G.R. BUBASH and L.C. GRIEL.**
41. **Eaglesone et al, 1997 :** M.M. Garcia, Disease risks to animal health from artificial
42. **Ellinghausen ,H .C et McCullough,W .G 1965 :**Nutrition of *leptospira pomona* and growth of 13 other sérotypes .bactériologie clinique 2007.
43. **Ellis, 1981 :** Ellis, W.A., Manifestations cliniques des leptospiroses chez le bétail. Med. Mal. Infect.
44. **Ellis, 1981 :** Manifestations cliniques des leptospiroses chez le bétail. Med. Mal. Infect:
45. **Ellis, et al, 1982 :** J.J. o'brien, S.D. Neil, H.W. Ferguson and J. Hanna, Bovine
46. **Everett, K. D., and Hatch, T. P., 1995.** Architecture of the cell envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC. J Bacteriol. 177, 877-82.
47. **Everett, K.D.E, et Bush R. M.** «Molecular evolution of the Chlamydiaceae.» *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001: 203-220.
48. **Everett, K.D.E. and Hatch, T.P.,** Architecture of the cell-envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC. J. Bacteriol. 1995.
49. **Everett, K.D.E., R.M. Bush, et A.A. Andersen.** «Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiales fam.nov. Each containing one monotypic

- genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five species, and standards for the identification organisms. » *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999.
50. factors in bovine abortion. *Am. J. vet. Res.* 34: 1121-1126. 1973.
51. **Faine et al, 1999** : **S. Faine, B. Adler, C. Bolin, P. Pérolat** *Leptospira* et la leptospirose Medisci, Melbourne.
52. **Faine, S. 1964** :Reticuloendothelial phagocytosis of virulent leptospire
53. **Feigin, R.D et Anderson DC, 1975** :Human leptospirosis .
54. first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for *Leptospira interrogans* serovar
55. **Frekey J., Renaud F., Leclerca r., Riecel ph.** ; *Bactriologie clinique*, ,2007.page : 1607, 1608, 1609.
56. **Freney, J., Renaud, F., Hansen, W.,& Bollet, C.**(2000): Précis de bactériologie clinique, Editions ESKA, Paris, pp : 1413-1420.
57. **Fukunaga ,M ; Mifuchi,I etYanagihara,Y . 1990**: Cloning of genes for a hemolytic factor of *Leptospira interrogans* serovar autumnalis strain. *Bactériologie clinique*, 2007.
58. **Fukushi, H., et K. Hirai.** «Proposal of *Chlamydia pecorum* sp Nov. For *Chlamydia* strains derived from ruminants.» *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1992: 306-308.
59. **Giles, 1983** : S.C. Hathaway and A.E. Stevens, Isolation of *Leptospira interrogans* serovar hardjo from a viable premature calf. *Vet. Rec.*
60. **Gourreau et Bendali, F.**(2008) : Manuel pratique de maladies de bovins, 4^{ème} édition, France agricole, pp 80-82.
61. **Guitian et al, 1999**: Thurmond and S.K. Hietala, Infertility and abortion among
62. **Gür A, Geylik M.F, Dikici B .** Complications of brucellosis in different age groups : A study of 283 cases in Southeastern Anatolia of Turkey. *Yonsei Med J* 2003 ; 44 (1) :
63. **Guy Baranton** : Unité de bactériologie moléculaire et médicale, centre nationale de référence des leptospire . *Bactériologie clinique* 2007.
64. **Haake et al, 2004** : **Suchard, M.A., Kelley, M.M., Dundoo, M., Alt, D.P. et Zuernner, R.L.** *Bactériologie clinique* ,2007
65. **Halling, S.M., Peterson-Burch, B.D., Bricker, Zuerner, R.L., Qing, Z., Li, L.L., Kapur, V., Alt, D.P., Olsen, S.C.**(2005): Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J. Bacteriol.* 187, 2715-2726.

66. **Hammerschlag, M.D.** «The intracellular life of Chlamydiae.» *Seminars in Pediatric Infections Diseases*, 2002: 239-248.
67. hardjo. J. Am. Vet. Med. Assoc.
68. **HUBBERT, W.T., G.D. BOOTH, W.D. BOLTON, H.W. DUNNE, K. McENTEE, R.E. SMITH and M.E. TOURTELOTTE.** Bovine abortions in five northeastern states, 1960-1970: Evaluation of diagnostic laboratory
69. insemination with bovine semen. Rev. Sci. Tech.
70. interrogans serovar hardjo infection on progesterone concentrations in heifers. Vet. Rec.
71. **Ito, T et Yanagawa, R. 1987:** Attachment of antigenic variants of leptospiras to mouse fibroblasts resisting inhibitory effect of anti-parent antiserum. Bactériologie clinique ,2007.
72. **Jahans, K.L., G.Foster, and E.S.Broughton.** 1997. The characterization of *brucella* strains isolated from marine mammals. Vet.Microbiol 57, 373-382
73. **Janbon F.** Brucellose. Encycl Méd Chir, Maladies Infectieuses, 8-038-A-10 ; 2000 : 11 p.
74. **Jean, Paul, Marie, Euzéby**
Professeur de Microbiologie - Immunologie, École Nationale Vétérinaire de Toulouse (France). 2001.
75. **Jean-Noël Joffin, Guy Leyral,** Microbiologie technique. Tome 2, Documents techniques, 2ème édition, 2001.
76. **Jones G.E., Anderson I.E.,** 1988. Res. Vet. Sci. 44, 260-261
77. **Kenneth A. Fields and Ted Hackstadt,** Host-Parasite Interactions Section, Laboratory of Intracellular Parasites, Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH, Hamilton,
78. **KIRKBRIDE, C.A.** Laboratory diagnosis of bovine abortion. In Proc. 17th a.
79. **KIRKBRIDE, C.A., E.J. BICKNELL, D.E. REED, M.G. ROBL W.U. KNUDTSON and K. WOHLGEMUTH.**
80. **Koizumi et Watanabe, 2004 :** Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. Vaccine. Bactériologie clinique ,2007.
81. **Kponmassi T.,** Epidémiologie des affections abortives des bovins au togo. enquête sérologique sur la brucellose, la chlamydiose et la fièvre q. 1991, page : 2
82. **KRADEL, D.C.** Abortion storms. Projection for the future. Cornell Vet. 68.
83. **L. Smythe.,** Experimental *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo infection of
84. **Legrand, 2007 :** la leptospirose bovine, these pour le doctorat veterinaire .

85. leptospirose dans l'union européenne, thèse med. vet. envn. leptospirosis: Microbiological and serological findings in aborted fetuses. Vet. Rec.
86. **Levett, P.N:** Leptospirosis. Clin. Microbiol. Rev., 2001.
87. **Levett, P.N. 2003 :**leptospira and leptonema . Bactériologie clinique 2007.
88. **Lifeso R.M, Harder E, Mc Corkell S.J. Spinal brucellosis. J.,Bone and Joint Surgery** 1985 ; 67 : 34551.
89. **Longbottom D. .** coultter l ;j animal chlamydioses and zoonotic implication. J. COMP PATHOL. . 128;217-244
90. **Lopez-Goni, I. & Moriyon, I.(2005):** Brucella : Molecular and cellular biology, Ed Horizon Bioscience 32 Hewitts Lane Wymondham Norfolk NR18 0JA England.
91. **Lyman,D.O et Jackson,R.J. 1982 :**Leptospirosis Maladies parasitaires P.C. Lefevre, J. Blancon, and R. Chermette, Editors.
92. **M. pascal nyabinwa,** these Synthèse des connaissances actuelles sur les avortements dans l'espèce bovine. année 2009 N° 19
93. **Manuel terrestre de l'OIE** 2008.chapitre 2.7.7 avortement enzootique des brebis (chlamyidiose ovine)
94. **Marez m.,** Les plus importantes maladies génitale des bovins (prophylaxie, traitement, hygiène de la récolte du sperme), 1985 page : 55
95. **Martin,L ;Pettit ,A . et Vaudremer, A 1917 :**Les propriétés agglutinantes et immunisantes du sérum sanguin chez les patients atteints de spirochétose ictérohémorragique. Bactériologie clinique 2007.
96. **Matsunaga et al, 2001 : Matsunaga et al, 2003 ; Palaniappan, 2002.** Bactériologie clinique ,2007
97. **Maurin M.** La brucellose à l'aube du 21ème siècle. Méd Mal. Infect 2005 ; 35 : 6-16.
98. **McBride, A .J ; Athanzio ,D.A et Reis, M.G 2005 :**Leptospirosis . Bactériologie clinique 2007.
99. Med. Vet., 1985.
100. Meet. Am. Ass. vet. lab. Diagnost. pp. 331-362. 1974.
101. **MILLER, R.B. and P. J. QUINN.** Observations on abortions in cattle: A comparison of pathological, microbiological and immunological findings in aborted foetuses and foetuses collected at abattoirs. Can. J. comp. Med. 39:270-290. 1975.
102. **Moreno, E., E. Stackebrant, M. Dorsch, J.Wolters, M. Busch, and H.Mayer.**1990.*Brucella abortus* 16SrRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with the members of the alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria.J.Bacteriol.172:3569-3576.

103. **Moulder, J.W.** «The relation of the psitacosis group (chlamydiae) to bacteria and viruses. » *Annual Review of Microbiology*, 1966, page: 107-130.
104. **Mousa A.M, Muhtaseb S.A, Almudallal D.S, Khodeir S.M, Marafie A.A.** Osteoarticular complications of brucellosis. A study of 169 cases. *Rev Infect Dis* 1987 ; 9 : 531-43.
105. **Murray, 1999:** Update on leptospira infections in farm animals. *Cattle Practice*.
106. **Nally et al, 2005 : Whielegge, J.P.,Aguilera, R., Pereira, M.M., Blanco, D.R. et Levett, M.A.** *Bactériologie clinique* ,2007
107. **Nascimento et al, 2004; Carrer, H et Oliveira,M.C:** comparative genomics of two leptospiras interrogans sérovar reveals novel insights into physiology and pathogenesis other infectious agents. *Vet. Rec.*
108. **Nicole Borel, Silke Ruhl, Nicola Casson, Carmen Kaiser, Andreas Pospischil, and Gilbert Greub,***Parachlamydia* spp. and Related *Chlamydia*-like Organisms and Bovine Abortion,2007,[[PubMed](#)]
109. **Nicollet ph., Maingourd c., Charollais p.**Evaluation des méthodes diagnostiques utilisées lors d'avortements non brucelliques chez les Ruminants. *Recherche de Chlamydia spp., Coxiella burnetii et Toxoplasma gondii en Deux Sèvres et en Vienne sur une série de 150 avortements bovins, ovins et caprins,2004 , page 317*
110. northern plains states. *J. Am. vet. med. Ass.* 162: 556-560. 1973.
111. **Otter et al, 1997: B.W. Wilson,** Bovine abortion outbreaks associated with *Neospora* and
112. **Papp J.R., Shewen P.E., Gartley C.J..** *Infect. Immun.* 62, 1994;3786-3792
113. **Pappas, G., et Papadimitriou, P.(2007) :** Challenges in *Brucella* bacteraemia. *Int. J. Antimicrob. Agents* 30(Suppl. 1), S29-31.
114. Parainfluenza-3 and bovine enteroviruses as possible important causative
115. Parasitisme du bétail, Europe et régions chaudes. *Maladies bactériennes, mycoses,*
116. **Paulsen, I.T., Seshadri, R., Nelson, K. E., Eisen, J. A., Heidelberg, J.F., Read, T. D., Dodson, R. J., Umayam, L., Brinkac, L. M., Beanan, M. J., Daugherty, S. C., , I.T., Seshadri, R., Nelson, K. E., Eisen, J. A., Heidelberg, J.F., Read, T. D., Dodson, R. J., Umayam, L., Brinkac, L. M., Beanan, M. J., Daugherty, S. C., Deboy, R.T., Durkin, A.S., Kolonay, J.F., Madupu, R., Nelson, W .C., Ayodji, B., Kraul, M., Shetty.J., Malek, J., Van Aken, S.E., Reidmuller, S.,Tettelin, H., Gill, S.R., White, O.,Salzberg, S.L., Hoover, D.L., Lindler, L.E., Halling, S.M., Fraser, C.M. (2002):** The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc. Natl. Acad.*

117. **Perez Bonilla et al, 1983 : E. Doradosanchez et J. Borallomira** : Une enzootie de leptospirose bovine. Point Vet., 1983
118. **Perolat, P ;Baranton ,G et Postic,D.1988** :Actualité de la leptospirose en France. Bactériologie clinique 2007.
119. **Philippon A, Renouw G, Plommet M.** Brucellose bovine expérimentale. V. Excrétion de *Brucella abortus* par le colostrum et le lait. Ann. Rech. Vét., 1971, 2 : 59-67.
120. **Picardeau et al, 2001 :M.Picardeau,A .Brent** : première évidence pour le remplacement de gènes dans leptospira spp ,molecular microbiologie.
121. **Pillot, 1965**: La classification des Spirochaetales à la lumière de nouvelles données anatomiques et antigéniques. Bactériologie clinique, 2007.
122. **Portier H, Lucht F, Bugnon P, Duez J.M.** Hygroma brucellien. A propos de deux observations. Méd Mal Infect 1985 ; 15 : 73-5.
123. **Pradutkanchana,S et Nakarin,J 2005** :the use of latex agglutination for the diagnostic of acute human leptospirosis . bactériologie clinique 2007. pregnant cattle. Aust. Vet. J.
124. **Precostt, I.m., Harley J. P., Klein D. A., Bacq-Calberg C.M., et Dusart J.** *Microbiology, Fifth Edition.* Bruxelles: McGraw-Hill Companies, 2002.
125. **Pritchard et al, 1999**: Bulk milk antibody testing for leptospiras hardjo infection. Cattle Practice.
126. **Qué-Gewirth et al, 2004 : NLS-Québec Gewirth, AA Ribeiro, SR Kalb, RJ Cotter, DM Bulach, B. Adler, EST Girons, C. Werts, CRH Raetz** : Un groupement phosphate méthylé et quatre amide liés chaînes acyles en *Leptospira interrogans* lipide A: La membrane d'ancrage d'un lipopolysaccharide inhabituelle qui active TLR2. Journal of Biological Chemistry.
127. **Quin, P.J., Markey, B.K.**(2003) : Concise Review of Veterinary Microbiology, Blackwell Science Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX 4 2DQ, UK, pp 52-55.
128. **Rautureau, 2003** : Bilan du statut sanitaire des bovins et des porcs vis a vis de la
129. raveloarisoa, Rapport d'activite diagnostique leptospirose .
130. **Reinhold P, K Sachse, Kaltenboeck B.** Institut de la pathogenèse moléculaire de la Friedrich-Loeffler-Institut, rue Naumburger. 96a, 07743 Jena, en Allemagne. petra.reinhold @ fli.bund.de
131. **Reyes Rodriguez et al, 2005 : E. Reyes Rodríguez, P. Cullen, D. Bulach, B. Adler, D. Haake, A. De la Peña-Moctezuma** : Expression en *Escherichia coli* del

- gen DSGP del sistema de secreción tipo II de *Leptospira borgpetersenii* serovariedad Hardjo
132. **ROBERTS, S.J.** Veterinary Obstetrics and Genital Diseases. 2nd Edition. pp. 68-91. Ithaca, New York. 1971.
133. **Robinson. A.** (2003): Guidelines for coordinated human and animal brucellosis surveillance In FAO ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH PAPER 156.
134. **Rodolakis a.,** Chlamydiosis and Q fever, similarity and difference between these two zoonoses. 2006, page 3,4
135. **Roux, J.** 1974. Le diagnostic biologique des brucelloses chez l'homme. Méd. Mal. Infect. 4 :259-266.
136. **Roux, j.** 1989. In L. Le Minor et M. Véron(eds) Bactériologie médicale, 2e Ed. Flammarion Paris.-**Sangari, F.J., Seoane, A., Rodriguez. M.C., Agüero.J., Garcia Lobo, J.M.**(2007) : Characterization of the urease operon of *Brucella abortus* and assesment of its role in virulence of the bacterium. Infect. Immun., 75, 74-80.
137. **Sachse, K., Grossmann, E., Berndt, A., Schutt, C., Henning, K., Theegarten, D., Anhenn, O., and Reinhold, P.,** 2004. Respiratory chlamydial infection based on experimental aerosol challenge of pigs with *Chlamydia suis*. Comp Immunol Microbiol Infect Dis.
138. **Saengjaruk,P et Watt,G** 2002 : bactériologie clinique 2007.
139. Sanitaire des Cotes d'Armor, de la Cote d'Or, de la Loire-Atlantique et de la Manche
140. **Schoenaers et al, 1971** : A. Kaeckenbeeck, Leptospiroses. Maladies infectieuses des animaux, tome 1.
141. **Sefer, M.1965** : Contributions à l'étude de la constitution chimique de la structure antigénique et du pouvoir pathogène de leptospires
142. **Seleem, M.N., Boyle, S.M., Sriringanathan, N.**(2008): *Brucella*: a pathogen without classic virulence genes. Vet. Microbiol. 129, 1-14.
143. **Shang et al, 1995** : **ES Shang, MM Exner, TA Sommers, C. Martinich, IC Champion, RE Hancock, DA Haake** : La protéine de la membrane externe rare, OmpL1, des pathogènes de *Leptospira* espèce est une porine chaleur modifiables.
144. **Shinagawa,M et Yanagawa,R** 1972 :Isolation and characterization of a leptospiral type-specific antigen .
145. **Site internet d'aide au diagnostic des avortements bovins celine colon, 2010.**
Page : 41
146. **Skara B.** 2004, thèse vétérinaire. Detection et quantification du portage de *Chlamydia psittaci* chez le canard mulard en gavage : enquête de prévalence . école nationale vétérinaire de toulouse.

147. **Sleight et al, 1965** : The role of penicillin and streptomycin in the prevention of transmission of bovine leptospirosis by artificial insemination.. Am. J. Vet. Res.
148. **Smith et al, 1997**: M.R. McGowan, C.S. McClintok, B.G. Corney, P.J. Ketterer,
149. **Smith et al, 1999**: D.A. Fitzpatrick and W.A. ELLIS, Stillbirth/perinatal weak calf
150. **Sornay-Rendu E, Colson F, Noel E, Tebib J, Bouvier M.** Pseudo-pott mélitococcique avec abcès des psoas. Rev Rhumat 1990 ; 57 : 496-8.
151. **Spencer w.n. & Johnson f.w.a.**, Simple transport medium for the isolation of *Chlamydia psittaci* from clinical material. (1983).Vet. Rec, 113, 535-536.
152. **Stavitsky, A.B. 1945** :Studies on pathogenesis of leptospirosis .
153. **Storz, J.** «Pathogenetic events in intestinal chlamydial infections leading to polyarthritis in calves.» *Journal of Infection disease*, 1971: 41-50.
154. **Suwimonteerabutr ,J ;Tapchaisri,N 2005** :Evaluation of a monoclonal antibody – based dot –blot ELISA for detection of leptospira spp in bovine urine samples . bactériologie clinique 2007.
155. syndrome: a study of calves infected with Leptospira. Vet. Rec.
156. **Tabel ,H et karstad,L 1967**:the renal carrier state of experimental leptospira Pomona infections in skunks
157. **Tainturier et al, 1997** : **F. Fieni, J.F. Bruyas and I. Battut**, Etiologie des avortements
158. These Med. Vet. ENVA.
159. **Thompson, N., Yeats, C., Bell, K., Holden, M. Bentley, S., Livingstone, M., Cerdeño-Tarraga, A., Harris, B., Doggett, J., Ormund , D., Mungall, K., Clarke, K., Feltwell, T. Hance, Z., Sanders, M. Quail, M., Prix, C., Barrell, B., Parkhill, J., Longbottom , D.** "La séquence abortus Chlamydia révèle un éventail de protéines variables qui contribuent à la variation interspécifique. Publié en ligne le 18 Avril 2005.
160. **Vanderkerckhove C, Stahl J.P.** Brucellose. Données épidémiologiques et thérapeutiques. Rev Prat 1993 ; 7 : 47-52.
161. **Vanrompay, D.** ; «Chlamydia psittaci infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis.» *Veterinary Microbiology*, 11 January 1995: 93-119.
162. vet. med. Ass. 155: 1913-1922. 1969.
163. **Walker, R. L.** (2002): Brucella, In «Veterinary Microbiology», édition Blackwell Science, USA, pp: 105-112
164. *Web of Science* ®: Related Records ®| Times Cited: 86

165. **Wheelhouse et al**; Molecular detection of chlamydia like organisms in cattle drinking water acc MS, 2012
166. www.bacterio.cict.fr/bacdico/cc/chlamydophila.html
167. www.invitrogen.com/site/config/regional/.../bovine.../bovine-diseases
168. www.journees3r.fr/IMG/.../2006_12_zoonoses_securite_01_Rodolakis.p...-page 395
398-397-396
169. www.techmicrobio.eu/index.php/microbio/systematique.../chlamydiae
170. **Yanagi, M. and K. Yamasato.** 1993. Phylogenetic analysis of the family *Rhizobiaceae* and related bacteria by sequencing of 16S rRNA gene using PCR and AND sequencer. FEMS Microbiol.Lett.107:115-120.
171. **Yousef mohamad Khalil,** Diversité génétique des souches de *Chlamydophila pecorum*: Recherche et identification des marqueurs épidémiologiques, 2009, page :
15, 16

Résumé :

Ce travail représente une synthèse bibliographique des principaux agents infectieux d'origine bactérienne responsables d'avortement chez la vache. La brucellose, la leptospirose et la chlamydie ont fait l'objet de cette étude. Il en ressort de ce travail que ces bactérioses sont des pathologies très importantes sur le plan de la santé publique et animale. Il serait très intéressant de se pencher sur l'étude de la prévalence de la chlamydie et la leptospirose. Cependant, il est à noter que beaucoup de données figurent en ce qui concerne la brucellose.

Abstract :

This work is a synthetic study of the major infectious bacterial agents responsible of abortion in cow. Brucellosis, leptospirosis and chlamydiosis were the aims of this work. From this, we notice that these diseases were important for public and animal health. It will be very interesting to study the prevalence of chlamydiosis and leptospirosis. In another way, it is important to notice also that many information concerning the brucellosis were published.

ملخص:

هذا العمل يمثل دراسة مرجعية لاهم العوامل الجرثومية ذات المصدر البكتيري والمسؤولة عن الاجهاض عند البقر ، هذه العوامل تتمثل في البروسيلوز ، اللبتوسبيروز والكلاميديوز

انطلاقا من هذه الدراسة استنتجنا ان هذه الامراض البكتيرية تعد من اخطر الامراض على صحة الانسان والحيوان ، لذلك من المهم جدا التطرق في المستقبل لدراسة معمقة في ما يخص نسبة الكلاميديوز واللبتوسبيروز ، اما فيما يتعلق بالبروسيلوز فهناك العديد من المعطيات