



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/22776>

To cite this version:

Soubrier, Thomas. *La chlamydie abortive ovine : éléments de diagnostic lors d'une série abortive & analyse des facteurs de risque d'avortements à chlamydia en contexte vaccinal*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2018, 107 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

LA CHLAMYDIOSE ABORTIVE OVINE : ELEMENTS DE DIAGNOSTIC LORS D'UNE SERIE ABORTIVE & ANALYSE DES FACTEURS DE RISQUE D'AVORTEMENTS A CHLAMYDIA EN CONTEXTE VACCINAL

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

SOUBRIER Thomas

Né, le 24 septembre 1992 DECAZEVILLE (12)

Directeur de thèse : M. Xavier BERTHELOT

JURY

PRESIDENT :
M. Jacques IZOPET

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :
M. Xavier BERTHELOT
M. Xavier NOUVEL

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.

Mise à jour : 03/11/2017

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

| ELEVAGE ET PRODUITS/SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE | SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES | SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS |
|--|--|---|
| <p>Responsable : M. SANS</p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIÈNE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC Mme MILA Hanna, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIÈRE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, PR M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE ÉCONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p> | <p>Responsable : Mme GAYRARD</p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, PR Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR M. GAIDE Nicolas, AERC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Héléne, MC</p> <p><u>BIOSTATISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE –PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p> | <p>Responsable : Mme CADIERGUES</p> <p><u>ANESTHESIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MEDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><u>IMAGERIE MEDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MEDICALE :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p> |

Remerciements

À Monsieur le Professeur Jacques IZOPET

Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Praticien hospitalier

Virologie

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.

Hommage respectueux,

À Monsieur le Professeur Xavier BERTHELOT

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la Reproduction

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse. Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail, pour votre disponibilité et votre patience.

Sincère reconnaissance,

À Monsieur le Docteur Laurent-Xavier NOUVEL

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la Reproduction

Qui me fait l'honneur de prendre part à ce jury de thèse.

Sincères remerciements,

À Madame la Docteur Céline POUGET

Vétérinaire conseil au GDS12.

Je vous remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse, de m'avoir accueilli au GDS et accompagné tout au long de ce travail, depuis l'enquête sur le terrain à la correction du manuscrit.

Sincères remerciements,

À Madame la Docteur Renée DE CREMOUX

Vétérinaire à l'Institut de l'Elevage

Je vous remercie de m'avoir conseillé tout au long de ce travail et pour votre correction très attentive du manuscrit.

Sincères remerciements,

À mon Grand-père

Tu aurais tant aimé être là parmi nous pour partager ce moment. Malheureusement, ta maladie en a décidé autrement mais j'espère que, de là où tu es, tu continueras à m'accompagner, aujourd'hui mais aussi lors des épreuves à venir. Je pense très fort à toi.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Table des tableaux..... | 13 |
| Table des figures..... | 15 |
| Liste des abréviations..... | 17 |
| Introduction..... | 20 |
| I. La chlamydie..... | 22 |
| A. Etiologie..... | 22 |
| B. Epidémiologie..... | 23 |
| C. Pathogénie..... | 25 |
| D. Signes cliniques et lésions..... | 27 |
| E. Diagnostic..... | 28 |
| 1. Sur les produits d'avortement..... | 28 |
| 2. Sur le sérum maternel..... | 32 |
| 3. Performance des tests..... | 32 |
| F. Traitement..... | 34 |
| G. Contrôle de l'infection..... | 35 |
| 1. Mesures sanitaires..... | 35 |
| 2. Vaccination..... | 35 |
| II. Etude des facteurs de risque d'une infection à <i>C. abortus</i> en contexte vaccinal et étude du typage des souches responsables des avortements..... | 38 |
| A. Etude préalable..... | 38 |
| B. Matériel et méthodes..... | 42 |
| 1. Prélèvement des échantillons..... | 42 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| a) | Protocole de prélèvement et d'analyse | 42 |
| b) | Matériel nécessaire au prélèvement des échantillons | 45 |
| 2. | Analyses PCR et sérologiques | 46 |
| 3. | Enquête en élevage..... | 47 |
| 4. | Echantillonnage des élevages | 48 |
| a) | Choix des élevages..... | 48 |
| b) | Représentativité de l'échantillon | 49 |
| 5. | Tests statistiques utilisés | 51 |
| C. | Résultats | 53 |
| 1. | Résultats des analyses de laboratoire | 53 |
| 2. | Exploitation des résultats de l'enquête..... | 57 |
| a) | Caractéristiques des élevages..... | 57 |
| b) | Relation entre taille des élevages et présence de <i>C. abortus</i> | 58 |
| c) | Comparaison du nombre d'avortements par catégorie d'élevage..... | 60 |
| d) | Analyse des protocoles de vaccination | 62 |
| e) | Analyse des mesures sanitaires..... | 69 |
| f) | Analyse des traitements antibiotiques réalisés | 77 |
| III. | Discussion générale | 79 |
| | Conclusion de la thèse | 84 |
| | Bibliographie..... | 88 |
| | Annexes..... | 93 |

Table des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Valeurs de sensibilité et de spécificité des différents tests étudiés (d'après McCauley et al., 2007) | 33 |
| Tableau 2 : Valeurs de sensibilité et de spécificité des différents tests étudiés (d'après Vretou et al., 2007)..... | 33 |
| Tableau 3 : Relations entre les causes abortives identifiées et les vaccinations mises en place dans les élevages (Enquête FRGDS Midi Pyrénées 2013-2015) | 41 |
| Tableau 4 : Grille d'interprétation des résultats d'analyse de chlamydie (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 44 |
| Tableau 5 : Répartition des élevages ayant participé à l'étude en fonction de leur statut vis-à-vis de la chlamydie et de la pratique ou non de la vaccination..... | 49 |
| Tableau 6 : Tableau de contingence de deux variables I et J | 52 |
| Tableau 7 : Ct des différents échantillons en fonction du statut vaccinal de l'élevage d'origine | 54 |
| Tableau 8 : Caractéristiques des quatre élevages desquels sont issus les échantillons contenant de la souche vaccinale | 56 |
| Tableau 9 : Signification des différents groupes | 59 |
| Tableau 10 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et le nombre de bêtes composant le troupeau (première comparaison) | 60 |
| Tableau 11 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et le nombre de bêtes composant le troupeau (deuxième comparaison)..... | 60 |
| Tableau 12 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la marque des vaccins utilisés..... | 64 |
| Tableau 13 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la voie d'administration du vaccin | 66 |
| Tableau 14 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et les modes de contention des animaux | 66 |

| | |
|--|-----|
| Tableau 15 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la gestion des brebis au moment des agnelages | 71 |
| Tableau 16 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la présence d'introduction de femelles provenant d'un autre élevage | 74 |
| Tableau 17 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la gestion des lots | 76 |
| Tableau 18 : Traitements antibiotiques effectués lors d'avortements | 78 |
| Tableau 19 : Nombre d'avortements nécessaires à la mise en place de l'antibiothérapie | 78 |
| Tableau 20 : Grille d'interprétation des résultats pour la fièvre Q (d'après Plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 95 |
| Tableau 21 : Grille d'interprétation des résultats pour la toxoplasmose (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 97 |
| Tableau 22 : Grille d'interprétation des résultats pour la border disease (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 98 |
| Tableau 23 : Grille d'interprétation des résultats pour la salmonellose (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 99 |
| Tableau 24 : Grille d'interprétation des résultats pour la listeriose (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 100 |
| Tableau 25 : Grille d'interprétation des résultats pour les agents mycosiques (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016) | 100 |

Table des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Cycle de développement de <i>Chlamydia abortus</i> . (d'après Caro <i>et al.</i> , 2009)..... | 23 |
| Figure 2 : Conséquences de l'infection par <i>C. abortus</i> en fonction du stade de gestation..... | 24 |
| Figure 3 : Schéma de transmission de la chlamydiose au sein d'un élevage..... | 25 |
| Figure 4 : Photo d'un agneau chétif infecté par <i>C. psittaci</i> (à gauche) et d'un agneau normal non-infecté (à droite) de deux jours d'âge (Papp et Shewen, 1996) | 27 |
| Figure 5 : Profil de base d'une réaction PCR en temps-réel (d'après www.institutcochin.fr) . | 30 |
| Figure 6 : Profils de réactions PCR en temps-réel (photographie personnelle) | 31 |
| Figure 7 : Courbe standard permettant de relier la valeur du Ct avec la quantité initiale d'ADN (photographie personnelle)..... | 31 |
| Figure 8 : Répartition des causes de 106 épisodes abortifs recensés en Midi-Pyrénées entre 2013 et 2015 (d'après De Crémoux <i>et al.</i> , 2017) | 38 |
| Figure 9 : Relations entre les causes avérées d'avortement et la circulation des agents pathogènes caractérisée par les résultats de sondages sérologiques (n=106 élevages)..... | 40 |
| Figure 10 : Stratégie vaccinale des différents élevages ayant eu un épisode abortif (n=102 élevages) (d'après De Crémoux <i>et al.</i> , 2017)..... | 40 |
| Figure 11 : Arbre décisionnel Chlamydiose (d'après De Crémoux <i>et al.</i> , 2013) | 43 |
| Figure 12 : Boîte de prélèvement Petits Ruminants à la norme UN 3373 (FRGDS Midi-Pyrénées) | 45 |
| Figure 13 : Répartition des effectifs de chaque élevage..... | 50 |
| Figure 14 : Répartition des effectifs de brebis adultes dans chaque élevage en fonction du statut vis-à-vis de la chlamydiose et de la vaccination..... | 51 |
| Figure 15: Valeurs de Ct de chaque échantillon et résultats du typage..... | 55 |
| Figure 16 : Répartition des autres ateliers dans l'exploitation..... | 58 |
| Figure 17 : Répartition des pourcentages d'avortements des agnelles selon la présence de <i>Chlamydia</i> et le recours à la vaccination..... | 61 |

| | |
|---|----|
| Figure 18 : Répartition des pourcentages d'avortements des adultes selon la présence de <i>Chlamydia</i> et le recours à la vaccination..... | 61 |
| Figure 19 : Répartition des pourcentages d'avortements totaux (nombre d'avortements/nombre de femelles pleines sur la période) selon la présence de <i>Chlamydia</i> et le recours à la vaccination | 62 |
| Figure 20 : Comparaison du nombre de mois entre la vaccination et la lutte entre les élevages chlam + et vaccin et les élevages chlam - et vaccin | 63 |
| Figure 21 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la conservation du vaccin durant le transport et sur l'élevage..... | 65 |
| Figure 22 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la "gestion" des doses vaccinales | 67 |
| Figure 23 : Nombre d'années de vaccination dans chaque élevage de l'étude | 68 |
| Figure 24 : Vaccinations pratiquées par les éleveurs de l'étude..... | 69 |
| Figure 25 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et le devenir des avortons et des placentas | 70 |
| Figure 26 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la gestion des brebis après avortement..... | 72 |
| Figure 27 : Relations entre l'introduction d'animaux provenant d'un autre élevage et la présence ou non d'avortements chlamydiens dans les élevages pratiquant la vaccination..... | 73 |
| Figure 28 : Relations entre l'introduction d'animaux provenant d'un autre élevage et la présence ou non d'avortements chlamydiens | 74 |
| Figure 29 : Devenir des agnelles jumelles d'un mort..... | 77 |
| Figure 30 : Arbre décisionnel Fièvre Q - (d'après De Crémoux <i>et al.</i> , 2013)..... | 94 |
| Figure 31 : Arbre décisionnel Toxoplasmose (d'après De Crémoux <i>et al.</i> , 2013)..... | 96 |

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail

BD : Border Disease

BMC : Blanche du Massif Central

CFT : Test de Fixation du Complément

Chlam : Chlamydiose

Ct : Cycle Threshold (Cycle seuil en anglais)

DO : Densité Optique

E/P : $\frac{(\text{Densité optique échantillon} - \text{Densité optique du contrôle négatif})}{(\text{Densité optique moyenne du contrôle positif} - \text{Densité optique du contrôle négatif})} \times 100$

EB : Elementary Body (Corps élémentaire en anglais)

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ESA : Epidémiologie en Santé Animale

FCO : Fièvre Catarrhale Ovine

FQ : Fièvre Q

FRGDS : Fédération Régionale des Groupements de Défense Sanitaire

GDS : Groupement de Défense Sanitaire

IA : Insémination Artificielle

IFN : Interféron

Ig : Immunoglobuline

IM : Intra-Musculaire

LNR : Laboratoire National de Référence

LQ : Limite de Quantification

MOMP : Major Outer Membrane Protein (Protéine Majeure de la Membrane Externe en anglais)

OEA : Ovine Enzootic Abortion

OSCAR : Observatoire et Suivi des Causes d'Avortement chez les Ruminants

PCR : Réaction de Polymérase en Chaîne

PCR RT : Réaction de Polymérase en Chaîne en Temps Réel

POMP ou PMP : Polymorphic Outer Membrane Protein (Protéine Polymorphique de la Membrane Externe en anglais)

qPCR : PCR quantitative

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

RB : Reticular Body (Corps réticulé en anglais)

SC : Sous-Cutanée

Toxo : Toxoplasmose

UMT : Unité Mixte Technologique

Introduction

La gestion des avortements chez les petits ruminants continue de constituer une préoccupation, en premier lieu pour les éleveurs mais aussi, tant à l'échelle individuelle que collective, pour les vétérinaires traitants et les Groupements de Défense Sanitaire. L'Etat est également partie prenante dans le diagnostic et la gestion des pathologies abortives, plus particulièrement zoonotiques et a, historiquement, fait reposer une partie de la surveillance de la brucellose en France sur la déclaration obligatoire des avortements (surveillance dite événementielle). Il s'agit, aujourd'hui, du contrôle d'une possible réintroduction.

Qu'appelle-t-on un avortement ? D'après la réglementation (Article 2 de l'arrêté du 10 octobre 2013 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose ovine et caprine), il s'agit de l'expulsion d'un fœtus ou d'un animal mort-né ou succombant dans les douze heures suivant la naissance. D'après l'article 10 de ce même arrêté, une déclaration doit être effectuée dès lors que trois avortements ou plus ont été détectés sur une période de 7 jours ou moins dans un même élevage. C'est ce qui définit une série abortive.

Chez les ovins, outre la brucellose (*Brucella abortus* et *Brucella melitensis*), plusieurs agents infectieux peuvent être responsables d'avortements. La fièvre Q à *Coxiella burnetii*, la toxoplasmose à *Toxoplasma gondii*, la chlamydie à *Chlamydia abortus*, le virus de la Border Disease, la salmonellose à *Salmonella Abortusovis* sont connus pour être des maladies fréquentes en France. Bon nombre d'agents responsables d'avortements sont aussi agents de zoonoses. La gestion des avortements en élevage ovin est donc capitale pour limiter les pertes économiques mais également dans un processus de préservation de la santé publique dans la mesure où elle peut contribuer à limiter la propagation d'agents de zoonoses.

Ce travail s'inscrit à la suite d'une étude menée dans la région Midi-Pyrénées relative à l'évaluation d'une démarche diagnostique élaborée nationalement lors de séries d'avortements dans les élevages de petits ruminants (De Crémoux *et al.*, 2017). Des prélèvements avaient été réalisés et un ensemble de commémoratifs concernant la conduite du troupeau et notamment les pratiques vaccinales renseigné. L'exploitation de ces résultats avait mis en évidence une fréquence élevée de la chlamydie avec un caractère enzootique ainsi

que la présence d'ADN de *Chlamydia abortus* dans les produits d'avortements de ces élevages pourtant pour certains vaccinés contre cet agent abortif. La présente étude a donc été initiée avec deux objectifs majeurs :

- Premièrement, essayer de mettre en évidence des facteurs de risque (conduite du troupeau principalement) ainsi qu'évaluer les modalités de mise en œuvre du protocole vaccinal dans les élevages par le biais d'un questionnaire adressé aux éleveurs. Ces informations sont peu connues car les éleveurs effectuent eux-mêmes la vaccination dans la quasi-totalité des cas.

- Deuxièmement, évaluer dans quelle mesure, en cas d'épisode abortif à *C. abortus* dans les élevages ayant eu recours à la vaccination, la souche vaccinale pouvait être incriminée.

Dans une première partie, nous présenterons une étude bibliographique traitant de l'infection à *C. abortus*, de son diagnostic et des moyens de lutte.

La deuxième partie présentera la mise en œuvre, les résultats et les applications de notre étude sur la chlamydie ovine.

Enfin, nous discuterons de nos résultats dans une troisième partie.

I. La chlamydiose

A. Etiologie

La Chlamydiose Abortive Ovine, aussi appelée Ovine Enzootic Abortion (OEA) en anglais, est due à une bactérie à gram négatif, intracellulaire obligatoire, *Chlamydia abortus*, qui appartient à la classe des Chlamydiae, à l'ordre des Chlamydiales et à la famille des Chlamydiaceae. Elle représente l'une des plus importantes causes d'avortement d'ovins et de caprins à travers le monde, excepté en Australie et en Nouvelle-Zélande (Rodolakis et Laroucau, 2015). C'est, de plus, une zoonose qui peut toucher les femmes enceintes et les individus immunodéprimés (Wong *et al.*, 1985 ; Jorgensen, 1997 ; Pospischil *et al.*, 2002 ; Rodolakis et Yousef Mohamad, 2010).

Une autre bactérie de la même famille, *Chlamydophila pecorum*, isolée du tractus digestif des petits ruminants, induit une infection le plus souvent asymptomatique mais peut parfois être responsable d'arthrite, de conjonctivite, d'orchite et très rarement d'avortement.

Le cycle de développement de la bactérie est biphasique avec deux formes distinctes (Figure 1) : le corps élémentaire et le corps réticulé. Le corps élémentaire est extracellulaire et correspond à la forme infectante ; il est petit (0,2-0,3 μm de diamètre), dense, métaboliquement inactif et sa résistance est grande dans le milieu extérieur. Le corps réticulé est intracellulaire et correspond à la forme non infectante. Cette dernière forme est plus grande (0,5-1,6 μm de diamètre), métaboliquement active et peu stable dans le milieu extérieur (Litwin, 1959). Une fois entrés dans l'organisme, les corps élémentaires vont se fixer aux cellules hôtes, pénétrer dans les cellules par endocytose et inhiber la fusion de la vacuole d'endocytose avec les lysosomes de la cellule hôte. Après une durée de 8 à 10h, les corps élémentaires se différencient en corps réticulés qui vont se multiplier par fission dans la vacuole initiale. Après plusieurs divisions pendant environ 24 heures, les corps réticulés redonnent des corps élémentaires qui seront ensuite relargués au bout de 48 à 72h, soit par lyse cellulaire soit par exocytose pour ensuite recommencer un cycle dans une autre cellule (Caro *et al.*, 2009).

Sous certaines conditions, comme une production d'IFN- γ dans un environnement inflammatoire, le développement intracellulaire peut être altéré et les formes réticulées vont se transformer en formes non infectieuses qui ne se divisent pas, ce qui peut s'apparenter à des

formes de résistance intracellulaire. Ce processus est réversible lorsque la teneur en IFN- γ diminue (Dean *et al.*, 2000).

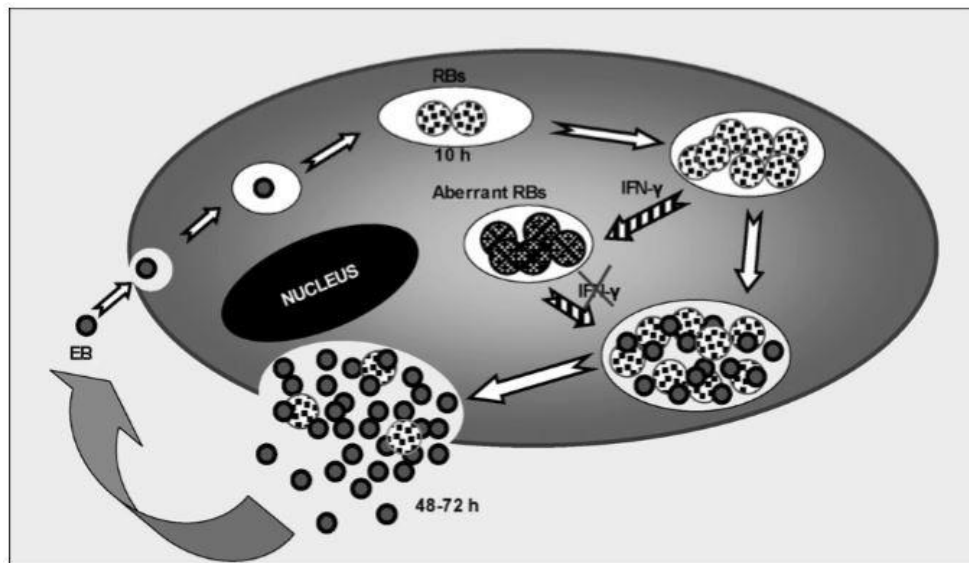


Figure 1 : Cycle de développement de *Chlamydia abortus*. (d'après Caro *et al.*, 2009)

B. Épidémiologie

Chez les petits ruminants, l'infection peut provoquer des vagues d'avortements (jusqu'à 30% en élevage ovin et 60% en élevage caprin) pendant 1 à 2 ans. L'infection se stabilise ensuite avec des taux d'avortements de l'ordre de 5 à 10% et revêt un caractère cyclique (pluriannuel) avec de nouveaux épisodes d'avortements sur les primipares notamment.

Les sources d'infection sont principalement les produits de l'avortement comme les fœtus, les annexes fœtales, les sécrétions utérines ou vaginales et également le lait des femelles infectées. Cette excrétion peut durer jusqu'à deux semaines après l'avortement. La résistance de la bactérie dans le milieu extérieur est relativement limitée (quelques jours dans les déjections, quelques semaines dans la paille souillée par les animaux infectés) (Caro *et al.*, 2009). On ne peut exclure cependant qu'en milieu infecté, l'environnement et, particulièrement, les locaux d'élevage, puissent être des sources secondaires de contamination.

La contamination se fait principalement par voie digestive (ingestion de nourriture ou d'eau contaminée ou léchage de substrats contaminés par les tissus et fluides placentaires) et/ou par voie respiratoire (Rodolakis et Laroucau, 2015). Elle peut aussi se faire, à un moindre degré, par voie oculaire ou vénérienne. Cette dernière voie de transmission a été

discutée par Livingstone et ses collègues (Livingstone *et al.*, 2009), qui ont montré que l'on retrouvait de l'ADN bactérien autour de l'ovulation sur des écouvillons vaginaux provenant de brebis infectées expérimentalement et ayant avorté à la gestation précédente. Cependant, les quantités d'ADN de *C. abortus* sont très inférieures à celles nécessaires pour induire une infection et la voie vénérienne semble présenter un risque très faible.

Après un premier avortement dû à *C. abortus*, les brebis vont mettre bas normalement lors des gestations suivantes et les agneaux seront normaux. Elles peuvent néanmoins continuer à excréter des bactéries pendant 2 à 3 ans, ce qui suggère que l'hôte est capable de mettre en place une réponse qui va restreindre les populations de chlamydies sans toutefois parvenir à les éradiquer (Caro *et al.*, 2009).

La réponse des brebis à l'infection dépend du moment de l'exposition (Figure 2) (Papp et Shewen, 1996) : si les brebis sont infectées plus de 5 à 6 semaines avant la mise bas, elles pourront développer une chlamydie clinique pendant la gestation en cours ; si elles sont infectées plus tard, elles pourront développer une infection latente asymptomatique jusqu'à la gestation suivante où elles pourront avorter. Enfin, un nouveau-né vivant femelle provenant d'une femelle infectée tardivement sera porteur latent chronique et pourra excréter des bactéries et possiblement avorter lors de sa première gestation. Ces agnelles infectées jouent un rôle important dans le maintien de l'infection dans le troupeau (Laroucau *et al.*, 2014). Les modalités de transmission de la maladie au sein de l'élevage sont schématisées Figure 3.

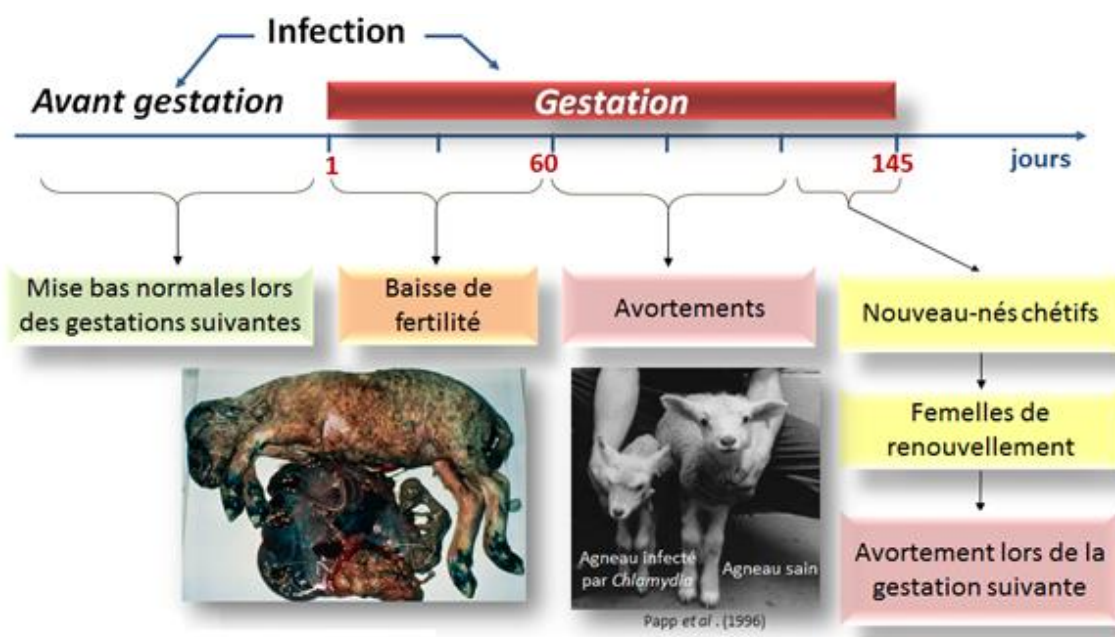


Figure 2 : Conséquences de l'infection par *C. abortus* en fonction du stade de gestation (d'après Papp et Shewen, 1996)

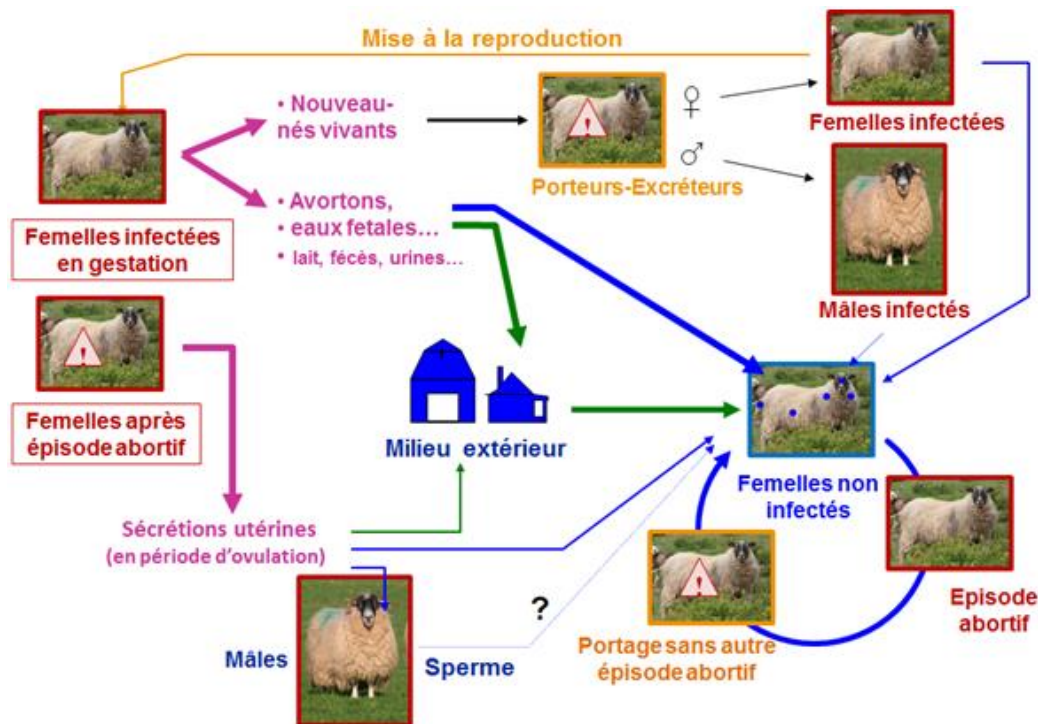


Figure 3 : Schéma de transmission de la chlamydie au sein d'un élevage (d'après le cours de pathologie de la reproduction, ENVT, 2015)

C. Pathogénie

L'inoculation sous cutanée de *C. abortus* à des brebis au 75^{ème} jour de gestation provoque un avortement dans les 3 dernières semaines de gestation. Les premières modifications pathologiques sont observées microscopiquement sur le placenta au bout de 120 jours de gestation (Navarro *et al.*, 2004). Dans l'étude de Buxton (Buxton *et al.*, 2002), les premières lésions apparaissent au bout de 90 jours de gestation chez des brebis inoculées expérimentalement en sous-cutané à 70 jours de gestation. A 105 jours de gestation, ont été notées une légère pneumonie interstitielle et une légère hépatite focale, associées à la mise en évidence d'antigènes de *C. abortus*.

Cependant, après la contamination, avant de coloniser le placenta, la bactérie se retrouve au niveau des macrophages et des cellules épithéliales des tonsilles palatines puis gagne la circulation sanguine et lymphatique et enfin les organes somatiques après une nouvelle phase de chlamydémie. L'infection du placenta d'une brebis gravide va ensuite débiter au niveau du hile des placentomes. L'invasion du stroma caronculaire par les villosités choriales après 60 jours de gestation entraîne la formation d'hématomes qui constituent le point de départ de la colonisation du placenta par *C. abortus* (Entrican *et al.*, 2001 ; Maley *et al.*, 2009 ; Rocchi *et al.*, 2009).

Les premières lésions placentaires correspondent à une colonisation par la bactérie des cellules du trophoblaste, associée à de la nécrose, à de l'œdème et à une infiltration par les cellules de l'immunité : neutrophiles, lymphocytes et macrophages (Navarro *et al.*, 2004). Ces phénomènes se propagent ensuite dans les tissus environnants.

Sur des brebis autopsiées au bout de 120 jours de gestation, on retrouve une placentite suppurée avec isolement d'antigène de *C. abortus* dans les cellules trophoblastiques des parois de l'allanto-chorion et autour des placentomes. L'allanto-chorion est œdématié et présente une vasculite et une nécrose fibrineuse. Le placenta maternel est également lésé et l'on retrouve une nécrose focale de l'épithélium des villosités chorioniques et une infiltration de leucocytes.

Après le part ou l'avortement, Navarro *et al.* (2004) ont observé une nécrose du trophoblaste associée à un exsudat inflammatoire suppuratif ainsi qu'une infiltration massive de leucocytes, une thrombose et une vasculite de l'allanto-chorion. L'utérus infecté présentait une grande quantité d'antigènes de *C. abortus* dans les cryptes de caroncules dégénérées et entre les cotylédons ainsi que de nombreux leucocytes dans la paroi (Navarro *et al.*, 2004).

Au vu des lésions pulmonaires et hépatiques précédemment évoquées, il semble qu'il y ait une dissémination systémique de l'infection mais que celle-ci soit en partie contrôlée par le système immunitaire. Ce contrôle n'est que partiel puisqu'en parallèle les lésions sur le placenta se développent. Celles-ci sont d'abord circonscrites à l'endomètre puis il y a colonisation et nécrose des cellules trophoblastiques et enfin une placentite nécrotique et suppurative. L'infection du placenta débute donc dans sa partie maternelle.

L'agent pathogène colonise par la suite la partie fœtale du placenta et on note alors une invasion des placentomes et de l'allanto-chorion autour des placentomes mais pas des zones inter-cotylédonnaires. La colonisation des placentomes induit une réponse immunitaire avec l'apparition de nombreux neutrophiles ce qui témoigne d'une réaction maternelle face à l'infection. Les cellules trophoblastiques semblent être le siège de la multiplication et de la dissémination de la bactérie (Buxton *et al.*, 2002 ; Navarro *et al.*, 2004 ; Sammin *et al.*, 2006 ; Caro *et al.*, 2009 ; Gutierrez *et al.*, 2011).

L'inflammation causée par l'invasion du placenta par *C. abortus* entraîne une diminution des échanges entre la mère et le fœtus et, de ce fait, des retards de croissance de ce dernier ou sa mort.

On peut donc dire que la colonisation précoce et rapide d'un grand nombre de placentomes induit la destruction du trophoblaste et une perturbation des sécrétions placentaires d'hormones stéroïdes et de prostaglandines ce qui conduit à l'avortement (Entrican *et al.*, 2001 ; Rocchi *et al.*, 2009). En revanche, lorsque la colonisation des placentomes est lente et incomplète, les brebis donnent naissance à des agneaux chétifs (Figure 4), faibles et infectés. C'est notamment le cas lors d'une infection en fin de gestation.



Figure 4 : Photo d'un agneau chétif infecté par *C. psittaci* (à gauche) et d'un agneau normal non-infecté (à droite) de deux jours d'âge (Papp et Shewen, 1996)

D. Signes cliniques et lésions

Les signes cliniques sont frustes. On note ainsi une hyperthermie dans les deux jours qui suivent l'infection : 39,6°C pour les brebis témoins et 40,6°C pour les brebis infectées expérimentalement dans l'étude de Garcia de la Fuente (Garcia de la Fuente *et al.*, 2004).

Hormis cette hyperthermie, le signe clinique le plus remarquable est l'avortement de la brebis dans les deux à trois dernières semaines de la gestation. Les brebis infectées peuvent aussi mettre bas des agneaux chétifs qui meurent souvent dans les premières semaines de vie ou des agneaux mort-nés à terme. Chez les chèvres, des complications peuvent parfois apparaître comme des polyarthrites, des pneumonies, des conjonctivites, des rétentions placentaires ou des métrites ((Rodolakis et Laroucau, 2015).

Concernant les mâles, *C. abortus* peut causer des épидidymites, des orchites ou des inflammations des vésicules séminales (Rodolakis *et al.*, 1998). Comme cela a été évoqué au II. B., la contamination par voie vénérienne et par la semence semble peu probable (Livingstone *et al.*, 2009). Cependant, la qualité du sperme de ces béliers est altérée et ils deviennent stériles (Storz *et al.*, 1976; Rodolakis et Bernard, 1977)

Si l'on s'intéresse maintenant aux lésions induites par une infection due à *C. abortus*, les plus sévères et les plus constantes siègent sur le placenta. Ces lésions ne sont pas pathognomoniques. On observe une placentite avec nécrose cotylédonnaire accompagnée d'œdème des espaces inter-cotylédonnaires qui peuvent parfois présenter des hématomes, tout ceci recouvert d'un exsudat floconneux brun-rougeâtre (Papp et Shewen, 1996 ; Sammin *et al.*, 2005 ; Livingstone *et al.*, 2009 ; Rocchi *et al.*, 2009).

Au niveau macroscopique, les fœtus ne présentent pas de lésion spécifique. Ils peuvent avoir une apparence normale mais peuvent aussi être recouverts d'un enduit crémeux jaunâtre lié à la nécrose du placenta, présenter de l'ascite, de l'œdème sous-cutané ou des pétéchies sur les muqueuses buccales, la langue, le tissu conjonctif sous-cutané et les organes internes, la plèvre et le péritoine (Nietfeld, 2001). Des analyses histologiques permettent de mettre en évidence des lésions de pneumonie, une nécrose multifocale hépatique, une hypertrophie des nœuds lymphatiques ou une encéphalite sur ces derniers (Longbottom et Coulter, 2003 ; Sammin *et al.*, 2005 ; Rodolakis et Laroucau, 2015).

E. Diagnostic

Dans la mesure où il n'existe ni de signe clinique ni de lésion macroscopique du fœtus ou du placenta spécifique des infections à *Chlamydia*, le diagnostic ne pourra être établi qu'en s'appuyant sur des analyses de laboratoire effectuées à partir des produits d'avortement ou du sérum maternel.

1. Sur les produits d'avortement

La bactérioscopie est possible sur les produits d'avortement. Elle consiste en la recherche de la bactérie sur un frottis ou un calque de cotylédon après coloration par la méthode de Stamp. C'est la méthode de diagnostic historique (Rodolakis et Laroucau, 2015). Cette technique est facile à réaliser et rapide mais manque de sensibilité et de spécificité en

raison des ressemblances morphologiques et des caractéristiques de coloration identiques (acido résistants) de *C. abortus* et *Coxiella burnetii* (Nicollet *et al.*, 2004).

L'immunofluorescence peut permettre de mettre en évidence l'antigène bactérien sur les frottis. Cette technique est plus sensible et plus spécifique mais nécessite l'utilisation de matériel plus sophistiqué et a un coût plus élevé.

On peut également réaliser des tests immunologiques (technique ELISA) pour détecter les antigènes sur un broyat de placenta ou sur un écouvillon vaginal (Souriau et Rodolakis, 1986).

Enfin, on peut rechercher la présence d'ADN bactérien sur des broyats de placenta, de cellules vaginales ou de fèces par PCR. Cette technique est rapide, simple et a une bonne sensibilité. Plusieurs tests PCR ont vu le jour, utilisant des amorces différentes et ayant chacun des spécificités variables (Sachse *et al.*, 2009). La recherche par PCR permet seulement de confirmer la présence ou l'absence d'un pathogène donné. La qPCR ou PCR en temps-réel, permet en outre de quantifier le nombre de bactéries pathogènes dans l'échantillon.

Cette technique utilisée désormais en routine va être détaillée ci-après. Son principe est identique à celui d'une PCR qualitative et repose sur l'amplification d'une portion d'ADN présente dans l'échantillon (en l'occurrence une portion de l'ADN de *C. abortus*). La différence entre les deux types de PCR provient de la fixation, après chaque cycle d'amplification, d'une sonde fluorescente sur une séquence précise de l'ADN cible. La mesure de la fluorescence est directement corrélée à la quantité d'ADN dans l'échantillon. Un seuil de détection est établi et va permettre de déterminer le « cycle seuil » (Cycle Threshold en anglais) ou Ct qui est le nombre de cycles d'amplification nécessaires pour dépasser cette valeur seuil de fluorescence. Plus il y a de matériel génétique à amplifier au départ de la réaction PCR, moins élevé sera le nombre de cycles requis pour dépasser la valeur seuil. Autrement dit, cela signifie que plus le Ct est petit, plus il y a de matériel et donc dans le cas présent d'ADN bactérien et de bactéries dans l'échantillon. La valeur du Ct peut être traduite en un résultat quantitatif en la comparant avec les valeurs de Ct obtenues avec des matrices de quantification connues.

Le profil de la réaction (Figure 5), peut être décrit de la manière suivante :

- La phase de bruit de fond, qui s'achève lorsque le nombre de produits PCR néo formés dépasse la valeur seuil de la technique de détection utilisée.

- Puis la phase exponentielle durant laquelle on assiste au doublement du nombre de produits PCR à chaque cycle.
- Enfin, la phase de plateau qui débute lorsque les constituants de la PCR (en particulier la Taq polymérase, enzyme utilisée pour dupliquer l'ADN) deviennent limitants.

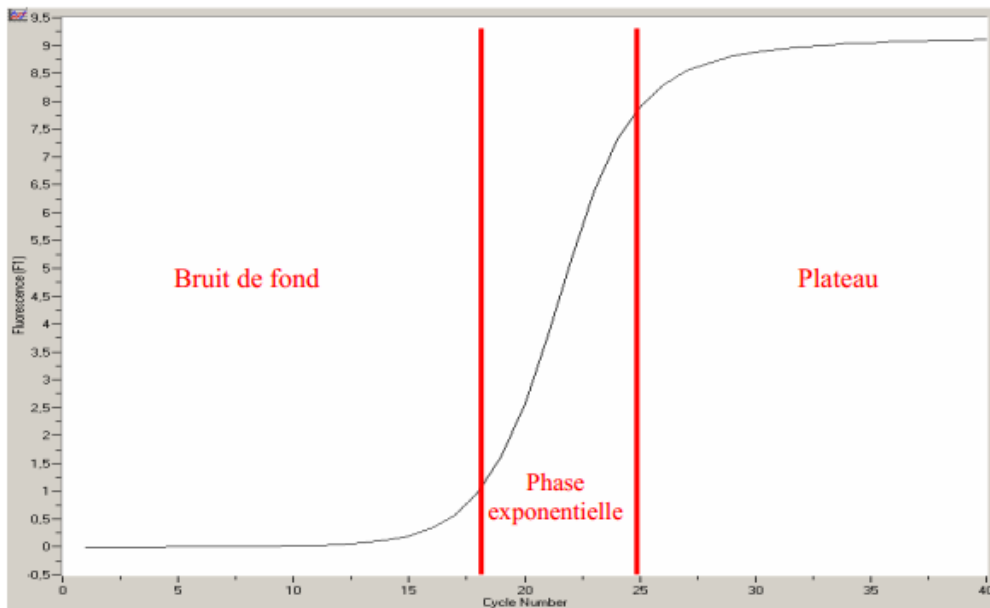


Figure 5 : Profil de base d'une réaction PCR en temps-réel (d'après www.institutcochin.fr)

La Figure 6 illustre les courbes obtenues lorsque l'on analyse plusieurs échantillons :

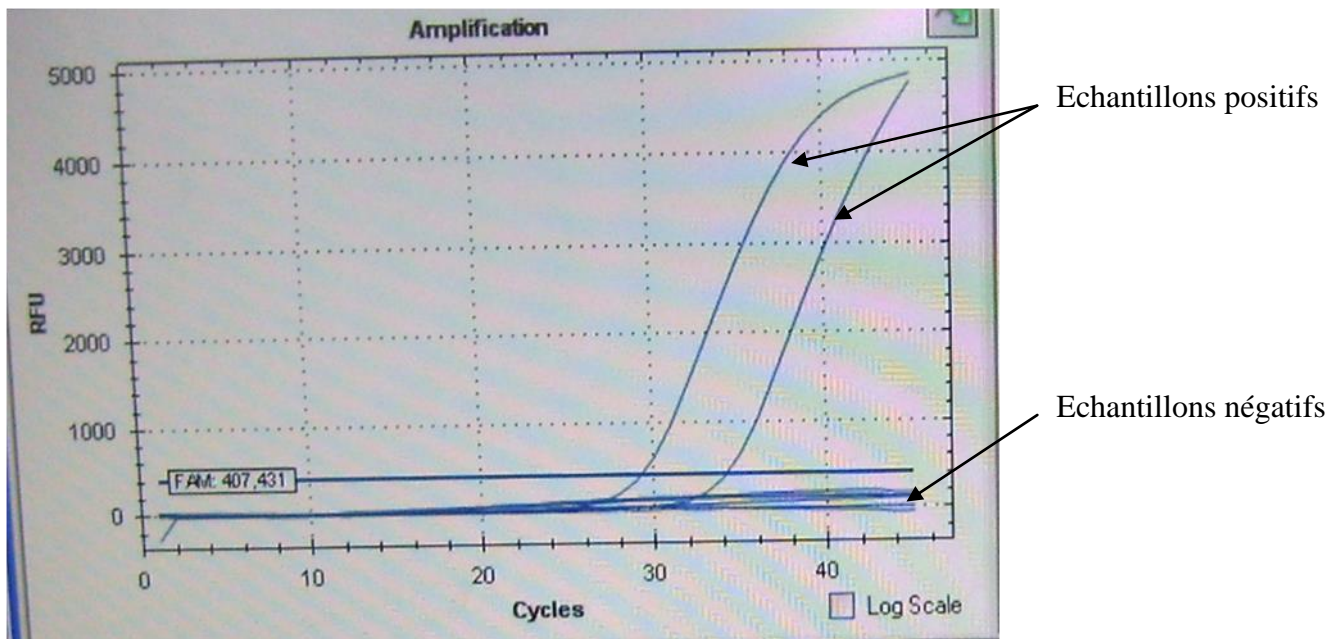


Figure 6 : Profils de réactions PCR en temps-réel (photographie personnelle)

On reporte ensuite les Ct sur une courbe ou droite standard (Figure 7) qui permet d'obtenir le logarithme décimal de la quantité initiale de copies.

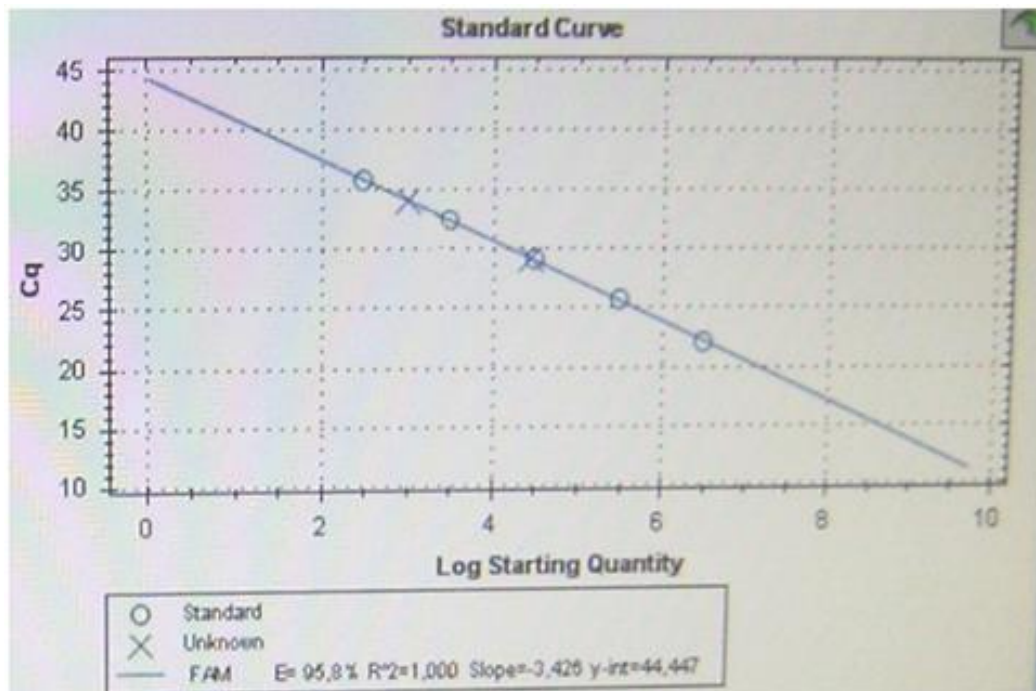


Figure 7 : Courbe standard permettant de relier la valeur du Ct avec la quantité initiale d'ADN (photographie personnelle)

2. Sur le sérum maternel

La méthode de référence pour le diagnostic sérologique reste la fixation du complément (CFT). Cependant, ce test n'est ni très sensible, ni spécifique, puisqu'il détecte également les anticorps dirigés contre *C. pecorum*, germe présent dans le tractus digestif des ruminants de façon asymptomatique. Le seuil de positivité a, en conséquence, été fixé à 1/80^{ème} (Rodolakis et Laroucau, 2015). Pour pallier cet inconvénient, plusieurs tests sérologiques ELISA ont été développés (Griffiths *et al.* 1996) ainsi que des tests d'immunofluorescence indirecte. Pour augmenter la spécificité, des ELISA de compétition utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre des segments variables de la protéine Momp¹ de *C. abortus* ont été mis au point. Néanmoins, l'avancée la plus significative en termes de spécificité des tests a été obtenue en utilisant des antigènes recombinants de protéines de la famille des Pmp² (Rekiki *et al.*, 2006).

Ces tests ELISA sont intéressants pour connaître le statut sanitaire du troupeau et savoir si le troupeau a été en contact avec la bactérie. C'est donc davantage une technique de diagnostic de troupeau qu'une technique de diagnostic individuel.

3. Performance des tests

Une première étude a permis d'évaluer et de comparer les performances des différents tests ELISA disponibles à la fixation du complément (McCauley *et al.*, 2007). Les tests ELISA comparés étaient constitués de différents antigènes correspondant à des protéines de la membrane externe de *C. abortus* : deux ELISA comprenaient des antigènes recombinants basés sur un fragment de POMP90-3 et de POMP90-4 respectivement, les deux autres ELISA étaient l'ELISA Panclabort (ciblé sur une région de la protéine MOMP) et l'ELISA Pourquoiier (antigène basé sur une partie d'une protéine POMP appartenant à une famille de 80-90 kilodalton). Différents sérums étaient ensuite soumis aux tests : 55 sérums provenant de brebis infectées expérimentalement constituaient donc le groupe positif et 50 sérums provenant de brebis néo-zélandaises constituaient le groupe témoin négatif (la Nouvelle-Zélande étant considérée comme indemne de chlamydie). Les sérums positifs ont permis de calculer la sensibilité des tests et les sérums négatifs leur spécificité.

¹ Major Outer Membrane Protein ce qui signifie « protéine majeure de la membrane externe », située comme son nom l'indique, dans la membrane externe de la bactérie

² Polymorphic Membrane Protein soit « protéine polymorphique de la membrane » également située dans la membrane externe de la bactérie

Dans cette étude, la sensibilité des ELISA variait de 70,4% (38/55 positifs) pour l'ELISA Panclabort à 98,2% (54/55 positifs) pour l'ELISA POMP90-3. La spécificité variait de 88% (44/50 négatifs) pour l'ELISA POMP90-3 à 100% (50/50 négatifs) pour l'ELISA POMP90-4. Le CFT (Test de Fixation du Complément) atteignait 60% de sensibilité (33/55 positifs) et une spécificité de 100% (50/50 négatifs) (Tableau 1).

Tableau 1 : Valeurs de sensibilité et de spécificité des différents tests étudiés (d'après McCauley et al., 2007)

| | Sensibilité | Spécificité |
|--------------------------------------|-------------|-------------|
| CFT (Test de Fixation du Complément) | 60% | 100% |
| ELISA Panclabort | 70,4% | 95,9% |
| ELISA Pourquoiier | 90,9% | 90% |
| ELISA POMP90-3 | 98,2% | 88% |
| ELISA POMP90-4 | 98,1% | 100% |

Dans une seconde étude publiée en 2007, Vretou et son équipe ont comparé les performances du CFT et des kits ELISA indirect CHEKIT CHLAMYDIA (IDEXX), ELISA Pourquoiier et un kit ELISA de compétition mis au point par les chercheurs (Vretou *et al.*, 2007). Trois groupes de sérums ont ensuite été soumis aux tests : un groupe de sérums provenant de 54 brebis indemnes de *C. abortus*, un deuxième groupe de 17 sérums provenant de brebis immunisées avec des souches de *C. pecorum* ou *C. suis* et enfin un dernier groupe de 45 sérums de brebis infectées expérimentalement par *C. abortus*. Les résultats de cette étude sont reportés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Valeurs de sensibilité et de spécificité des différents tests étudiés (d'après Vretou et al., 2007)

| | Sensibilité | Spécificité |
|--------------------------------------|-------------|-------------|
| CFT (Test de Fixation du Complément) | 68,8% | 88,9% |
| ELISA indirect CHEKIT CHLAMYDIA | 73,3% | 96,3% |
| ELISA Pourquoiier | 80% | 100% |
| ELISA de compétition | 77,7% | 98,1% |

Les techniques de diagnostic les plus fiables pour la mise en évidence de l'agent abortif sont la PCR, l'ELISA et l'immunofluorescence indirecte mais la PCR reste la plus

fiable pour un diagnostic individuel. L'ELISA sera davantage utilisée pour un diagnostic de troupeau.

A l'échelle de l'élevage, il est souvent proposé d'associer diagnostics direct et indirect. Une première démarche diagnostique a été proposée dans le cadre d'un groupe de travail multipartenarial animé par l'UMT Santé des Petits Ruminants. Testée en situation de terrain en Midi-Pyrénées (paragraphe II.A.), elle est désormais intégrée dans le dispositif OSCAR (Observatoire et Suivi des Causes d'Avortement chez les Ruminants) mis en place avec l'appui de la Plateforme d'Epidémiologie en Santé Animale. La démarche de diagnostic différentiel qui sert de base à la présente étude est détaillée dans son ensemble en Annexe 1. Plus spécifiquement pour la chlamydie, les prélèvements et les analyses demandées pour un diagnostic direct puis indirect ainsi que la grille d'interprétation correspondante seront présentés au paragraphe II.B.

F. Traitement

Un traitement des brebis gravides avec de l'oxytétracycline longue action à une dose de 20 mg/kg par voie intramusculaire permet de réduire la sévérité de l'infection et le nombre d'avortements (Aitken *et al.*, 1982). Le traitement doit être débuté à partir de 100 à 120 jours de gestation, moment à partir duquel les modifications pathologiques apparaissent. Ce traitement doit ensuite être renouvelé tous les 15 jours jusqu'à la mise bas.

Néanmoins, ce traitement ne permet pas d'empêcher l'excrétion des chlamydies au moment de la mise bas et donc ne permet pas d'enrayer la propagation de l'infection dans l'élevage.

Ce type de traitement ne doit pas être utilisé comme outil prophylactique. En effet, des traitements répétés pourraient favoriser l'apparition de résistances aux tétracyclines par *C. abortus* mais également par d'autres bactéries. Un tel phénomène est possible puisque des souches de *C. suis* résistantes aux tétracyclines ont été isolées en Europe (Borel *et al.*, 2012; Schautteet *et al.*, 2013). De plus, l'antibiothérapie systématique est à proscrire dans le contexte actuel des plans EcoAntibio de lutte contre les résistances bactériennes aux antibiotiques.

G. Contrôle de l'infection

1. Mesures sanitaires

Comme nous l'avons vu plus haut, les matières infectieuses sont principalement les annexes fœtales, l'avorton, les sécrétions utérines ou vaginales et le lait. La maîtrise de la propagation de l'infection au sein du troupeau passe donc par la protection des brebis naïves vis-à-vis de ces matrices. Il faudrait donc, idéalement, isoler du reste du troupeau toute brebis ayant avorté ou ayant donné naissance à des agneaux chétifs ainsi que retirer placenta, avorton et litière souillée de l'enclos. L'élimination stricte est recommandée car les carnivores domestiques (ou sauvages) peuvent participer à la dissémination des matières infectieuses en les déplaçant.

Une désinfection des murs et des enclos serait aussi recommandée pour limiter la propagation aux brebis agnelant par la suite (Longbottom et Coulter, 2003). Le port de gants pour aider une brebis à agneler ou pour manipuler du matériel infectieux et un nettoyage des mains avant toute intervention sur une autre brebis est également essentiel.

En cas d'introduction d'animaux provenant d'un autre élevage, il serait intéressant de connaître le statut de l'élevage d'origine vis-à-vis de la chlamydiose, pour le comparer à celui de l'élevage acheteur et évaluer si les deux statuts sont compatibles, étant donné qu'une brebis infectée peut excréter des bactéries pendant 2 à 3 ans. Si le statut du troupeau d'origine est inconnu, l'introduction est à éviter (Laroucau *et al.*, 2014)

2. Vaccination

Comme nous l'avons évoqué précédemment, dans les conditions naturelles, une infection par *C. abortus* entraîne la mise en place d'une immunité suffisante pour qu'un nouvel avortement ne puisse avoir lieu pendant la durée de vie économique habituelle des brebis d'élevage (5 à 6 ans en moyenne). C'est pour cette raison que la vaccination semble une bonne méthode de maîtrise des avortements à *C. abortus* (Rodolakis et Laroucau, 2015).

Dans un premier temps, un vaccin inactivé a été mis au point en 1951 par M. McEwen et M. Foggie. Il a été mis en circulation en France sous le nom de Chlamyvox FQND avec une protection conjointe contre la fièvre Q. Cependant, ce vaccin n'entraîne pas de protection efficace contre le portage et l'excrétion de *C. abortus* et ne permet pas de prévenir tous les

avortements (des vagues d'avortements ont été observées dans des troupeaux correctement vaccinés) (Chalmers *et al.*, 1997; Menzies, 2012).

En 1979, une souche mutante de *C. abortus* thermosensible a été mise au point et a permis le développement d'un vaccin vivant qui protège efficacement les brebis contre l'infection. Cette souche a été obtenue par mutagenèse à la nitrosoguanidine de la souche de référence AB7. La souche mutante vaccinale thermosensible 1B se multiplie normalement de 35 à 38°C (température permissive) sur culture de cellules McCoy mais cent fois moins que la souche sauvage AB7 à 39,5°C (température restrictive) ce qui correspond à la température corporelle des brebis (Rodolakis, 1983).

L'innocuité et l'immunogénicité de cette souche mutante thermosensible en tant que vaccin a été étudiée pour permettre sa commercialisation. Les résultats de reproduction de souris inoculées avec différentes souches de *C. abortus* à 11 jours de gestation, et vaccinées deux mois auparavant avec la souche mutante 1B, sont similaires à ceux obtenus avec des souris non inoculées (autour de 11-12 souriceaux vivants par portée, le jour du part et 8 jours plus tard). Ces mêmes résultats sont significativement différents de ceux obtenus avec des souris inoculées sans avoir été vaccinées (moins de 2 souriceaux par portée). Des expériences similaires effectuées sur des milliers de brebis ont démontré l'absence d'excrétion, de transmission *in utero* et de pathogénicité de la souche 1B après vaccination, les résultats de reproduction des brebis vaccinées étant identiques à ceux de brebis témoins non vaccinées. L'infection de brebis préalablement vaccinées contre *C. abortus* n'a pas écourté leur gestation et n'a pas entraîné d'excrétion de bactéries à la mise bas ; *a contrario*, l'infection de brebis non vaccinées a induit des avortements (Rodolakis, 1983; Rodolakis et Souriau, 1983; Chalmers *et al.*, 1997; Rodolakis *et al.*, 1998; Rodolakis et Laroucau, 2015).

De plus, une étude menée par Gerber a montré que la réponse en anticorps induite par la vaccination était la même que celle induite par une infection naturelle par *C. abortus* (Gerber *et al.*, 2007). De ce fait, le titre en anticorps ne permet pas de différencier les individus vaccinés des individus malades.

Le vaccin contenant la souche 1B thermosensible a été commercialisé en France dès 1996 sous le nom de Tecvax ChlamydiaND, ensuite renommé CEVAC ChlamydiaND (première obtention d'AMM en décembre 1996 en France). On retrouve la même souche dans le vaccin Ovilis ChlamydiaND (AMM en mars 2003 en France). Ce sont les deux seuls vaccins de ce

type disponibles en France. La vaccination des brebis avec ce vaccin vivant induit une protection aussi forte que celle induite par une primo-infection. Les animaux vaccinés sont efficacement protégés au moins trois ans et on prévient ainsi les avortements et l'excrétion de *C. abortus* chez les animaux vaccinés initialement naïfs (Rodolakis et Souriau, 1983). Ce vaccin est également efficace vis-à-vis des souches de *C. pecorum* (Rekiki *et al.*, 2004). Cependant, il ne modifie pas l'évolution de la maladie pour les brebis déjà infectées au moment de la vaccination. Ces dernières peuvent donc avorter ou mettre bas des agneaux vivants infectés, pouvant avorter à leur tour. La vaccination des femelles ayant avorté ou déjà infectées est donc inutile.

Le protocole vaccinal conseillé consiste à vacciner tout le cheptel la première année puis seulement les agnelles de renouvellement les années suivantes. Pour un taux de renouvellement de 20%, le cheptel est donc protégé au bout de 5 ans environ. Une autre stratégie consiste à ne vacciner que les agnelles mais on rallonge alors la durée nécessaire à la couverture vaccinale totale du troupeau. Le premier schéma présente l'avantage de limiter l'excrétion par les brebis infectées latentes et la dissémination de l'infection parmi les brebis adultes encore naïves. La vaccination contre la chlamydie avec un vaccin vivant est donc la seule solution à l'assainissement d'un cheptel infecté mais elle atteint ses limites tant qu'il subsiste des animaux infectés latents (Bouakane *et al.*, 2005).

Il est également important de prendre en compte les mâles dans le protocole de vaccination même si, comme évoqué plus haut, la transmission vénérienne n'a pas été clairement établie.

Un rappel trois ans après la primo-vaccination est conseillé (Bouakane *et al.*, 2005). Cependant, une épreuve virulente réalisée trois ans après la vaccination a montré que les brebis étaient toujours protégées. On estime donc que les rappels ne sont pas nécessaires pendant la durée de vie économique de l'animal (Rodolakis *et al.*, 2013).

II. Etude des facteurs de risque d'une infection à *C. abortus* en contexte vaccinal et étude du typage des souches responsables des avortements

A. Etude préalable

Une étude préalable, conduite par la Fédération Régionale des Groupements de Défense Sanitaire (FRGDS) de Midi-Pyrénées, a été initiée en Octobre 2013 pour une durée de 2 ans. Les objectifs étaient d'évaluer la démarche diagnostique proposée au niveau national et d'apporter des informations sur l'épidémiologie grâce à une estimation de la fréquence relative des étiologies abortives possibles dans la région. Les résultats qui ont été obtenus, ont permis de commencer à sensibiliser les différents acteurs à l'importance de la déclaration des avortements et d'avancer sur les modalités de diagnostic.

Au total, 72 épisodes abortifs ont été recensés dans le département de l'Aveyron sur 106 rapportés sur l'ensemble de Midi-Pyrénées.

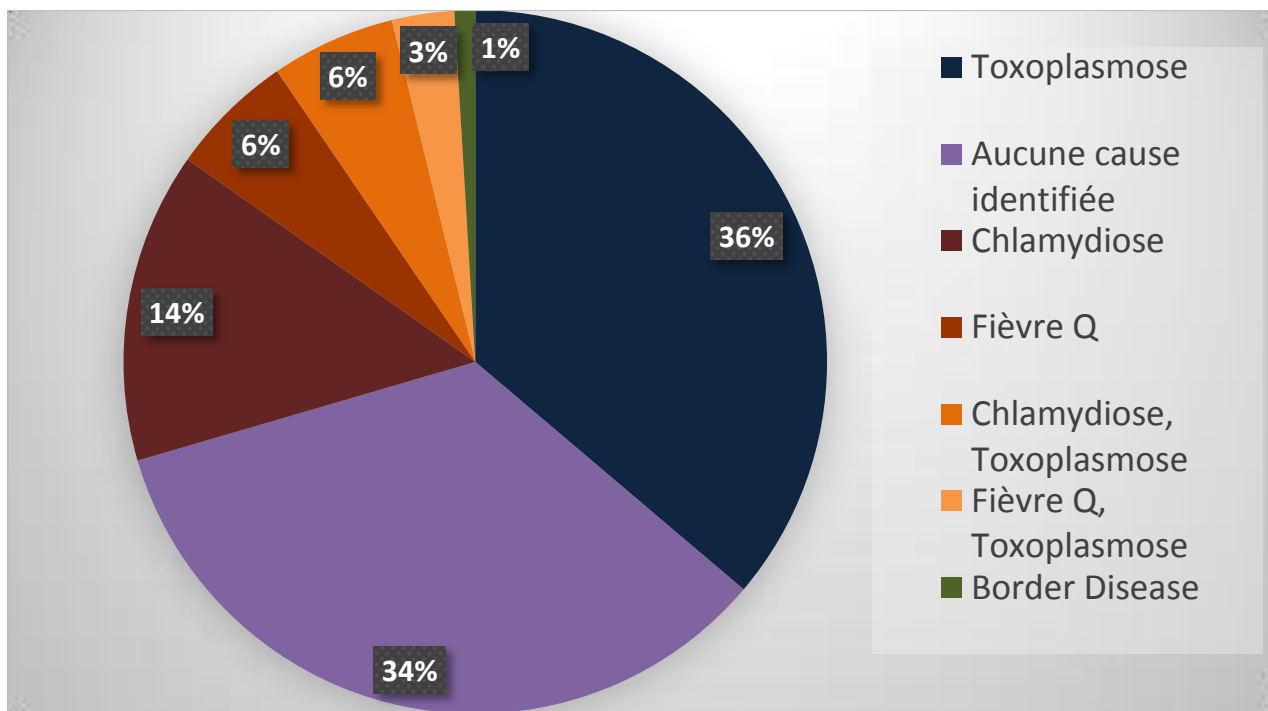


Figure 8 : Répartition des causes de 106 épisodes abortifs recensés en Midi-Pyrénées entre 2013 et 2015 (d'après De Crémoux *et al.*, 2017)

En considérant comme élucidées les situations où l'hypothèse étiologique est possible à forte d'après les grilles d'interprétation de chaque maladie, on constate que dans 2/3 des cas, on arrive à déterminer, avec les analyses effectuées, la cause de l'épisode abortif (Figure 8). Cela signifie que, dans 34% des épisodes abortifs, aucun agent infectieux n'a pu être reconnu comme étant la cause des avortements (mais la circulation de certains pathogènes a néanmoins été mise en évidence dans ces élevages).

En s'intéressant maintenant aux agents infectieux à proprement parler, on peut voir que les deux agents principaux (implication certaine ou fortement probable) sont la chlamydie (14% des cas en tant que seule cause abortive) et la toxoplasmose (36% des cas en tant que seule cause abortive). On a également dans certains élevages une association de ces deux pathogènes (6% des épisodes abortifs recensés) ou une association de la toxoplasmose avec la fièvre Q dans 3% des cas.

L'étude a également permis d'évaluer la circulation des différents pathogènes par le biais des sérologies (à confronter avec l'historique des différentes vaccinations dans l'élevage) (Figure 9). Des co-infections ou co-circulations d'agents infectieux ont aussi pu être mises en évidence et le chiffre n'est pas anodin car elles représentent environ 32% des cas.

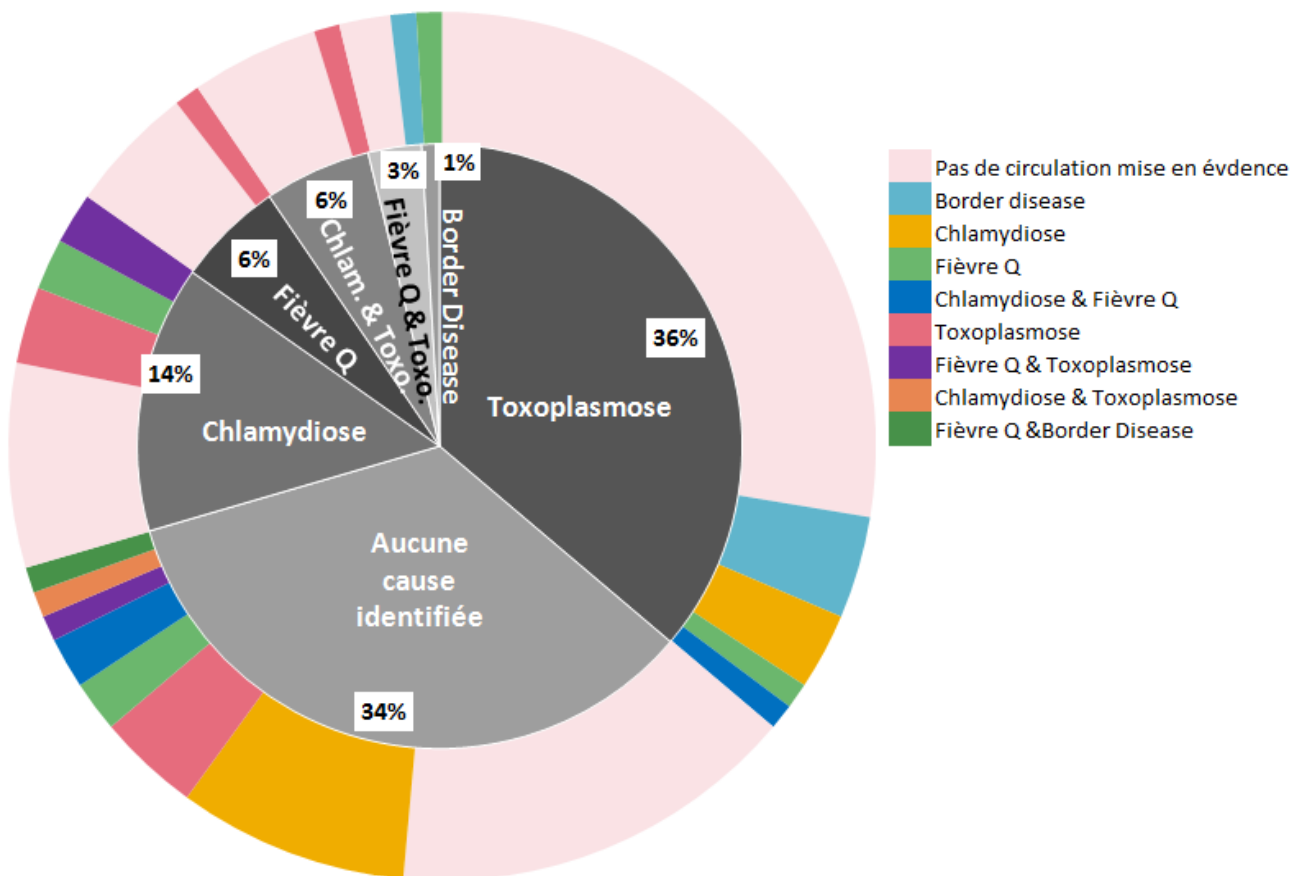


Figure 9 : Relations entre les causes avérées d'avortement et la circulation des agents pathogènes caractérisée par les résultats de sondages sérologiques (n=106 élevages)

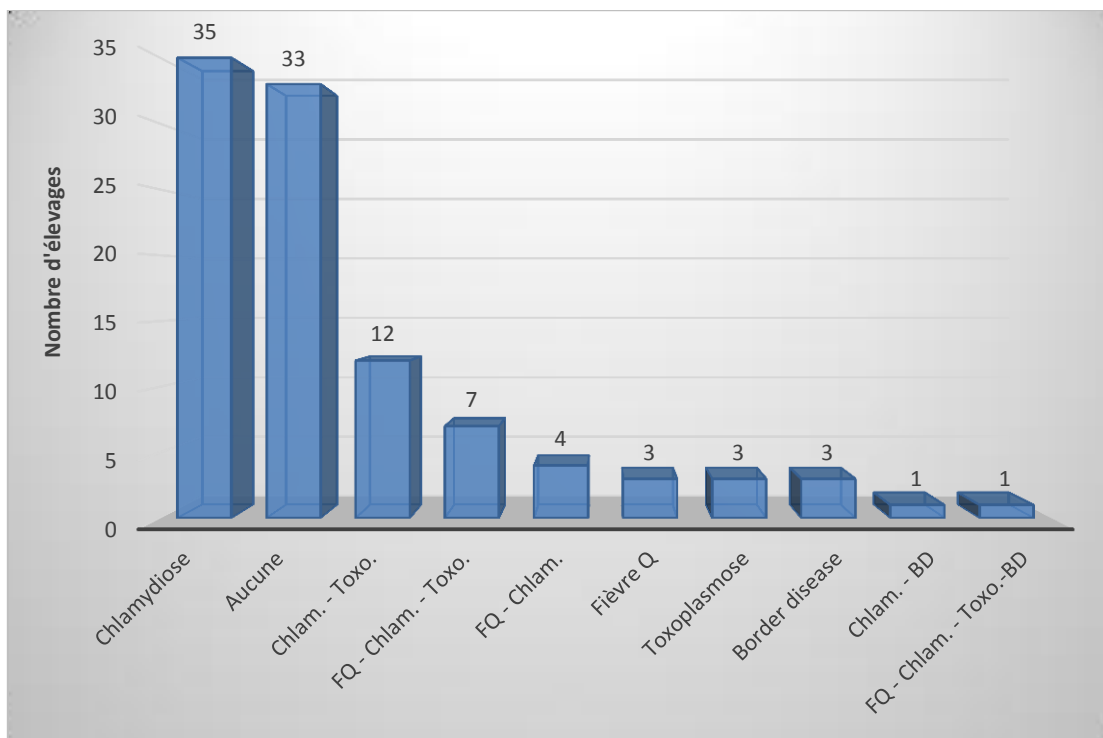


Figure 10 : Stratégie vaccinale des différents élevages ayant eu un épisode abortif (n=102 élevages) (d'après De Crémoux et al., 2017)

Enfin, cette étude a permis de rappeler l'importance de ne pas exclure du champ des analyses les maladies pour lesquelles l'éleveur a mis en place un protocole de vaccination.

En effet, dans cette étude, 60 élevages étaient vaccinés contre la chlamydie, 23 contre la toxoplasmose et 5 contre la border disease (Figure 10). Dans cet échantillon, des épisodes abortifs imputables aux agents pathogènes vis-à-vis desquels une vaccination avait été réalisée ont été observés :

- chlamydie : 8 élevages à implication certaine (plus de 2 PCR positives) et 2 en hypothèse forte (une PCR positive et ratios E/P très augmentés ou seulement plusieurs augmentation des ratios E/P), soit environ 17% des élevages vaccinés ;
- toxoplasmose : 4 élevages à implication certaine (PCR positive ou deux brebis avec augmentation significative des rapports E/P) et 6 en hypothèse forte (2 brebis avec ratios E/P très élevés), soit environ 43% des élevages vaccinés ;
- border disease : un épisode abortif d'un élevage vacciné contre la border disease dû à la maladie (PCR positive, voir Annexe 1 pour la grille d'interprétation des résultats) ce qui représentait donc 20% des élevages vaccinés (Tableau 3).

Tableau 3 : Relations entre les causes abortives identifiées et les vaccinations mises en place dans les élevages (Enquête FRGDS Midi Pyrénées 2013-2015)

| Causes abortives | Elevages vaccinant contre la Fièvre Q (n=15) | Elevages vaccinant contre la Chlamydie (n=60) | Elevages vaccinant contre la Toxoplasmose (n=23) | Elevages vaccinant contre la Border Disease (n=5) |
|---------------------------|--|---|--|---|
| Aucune cause identifiée | 46,67% | 38,33% | 30,43% | 20,00% |
| Border Disease | | | | 20,00% |
| Chlamydie | 13,33% | 11,67% | 26,09% | 20,00% |
| Chlamydie et Toxoplasmose | | 5,00% | | |
| Fièvre Q | | 5,00% | | |
| Fièvre Q et Toxoplasmose | | 3,33% | | 20,00% |
| Toxoplasmose | 40,00% | 36,67% | 43,48% | 20,00% |
| Total général | 100,00% | 100,00% | 100,00% | 100,00% |

C'est dans ce contexte qu'une étude spécifique sur la chlamydie abortive en milieu vaccinal a été envisagée, avec l'appui du Laboratoire National de Référence de l'Anses de Maison Alfort, fondée sur l'analyse des pratiques des éleveurs et le typage des souches de *Chlamydia* impliquées.

B. Matériel et méthodes

1. Prélèvement des échantillons

a) Protocole de prélèvement et d'analyse

La chlamydie a été classée dans les maladies de première intention par le collectif qui a mis au point le protocole harmonisé de diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants (De Crémoux *et al.*, 2017), cela signifie que c'est une maladie abortive :

- dont l'incidence supposée des avortements est considérée comme importante à l'échelle nationale ;
- dont les conséquences économiques et/ou sanitaires liées aux avortements sont notables ;
- pour laquelle les outils de diagnostic disponibles permettent l'obtention de résultats interprétables quant à la responsabilité de l'agent infectieux dans la série d'avortements ;
- pour laquelle il existe des moyens efficaces de prévention et de lutte spécifiques qui peuvent être mis en œuvre suite à son diagnostic.

Pour le diagnostic direct de la chlamydie, les prélèvements nécessaires sont des écouvillons de mucus vaginal (au moins trois), du placenta et, dans une moindre mesure, des organes d'avorton. Ceux-ci doivent être réalisés sur des femelles ayant avorté depuis moins de 8 jours car il a été montré que l'excrétion bactérienne diminuait voire disparaissait 5 à 7 jours après l'avortement (Navarro *et al.*, 2004).

Dans le cadre de l'étude, le diagnostic direct sur écouvillons vaginaux a été privilégié car il permet potentiellement de réaliser la PCR sur les mêmes échantillons que pour la fièvre Q et de s'appuyer sur les mêmes extraits d'ADN. Le protocole mis en place à l'échelle régionale a retenu de réaliser en priorité trois PCR individuelles sur les écouvillons vaginaux. Les laboratoires d'analyse utilisant la PCR en temps réel peuvent déterminer le nombre de cycles d'amplification à partir duquel la présence d'ADN est détectable. Ce nombre est inversement proportionnel à la quantité d'acide nucléique présente. Cependant, la relation entre quantité et imputabilité reste à étudier.

Le diagnostic indirect a été conduit de manière complémentaire. Il s'agissait de recueillir du sérum sur cinq brebis ayant avorté, si possible deux fois à 15 jours d'intervalle,

ce qui pouvait permettre d'analyser la cinétique sérologique (Figure 11). Ce protocole a été simplifié à partir de 2015, la prise d'échantillons n'ayant plus lieu qu'une fois lors de l'intervention du vétérinaire après appel de l'éleveur.

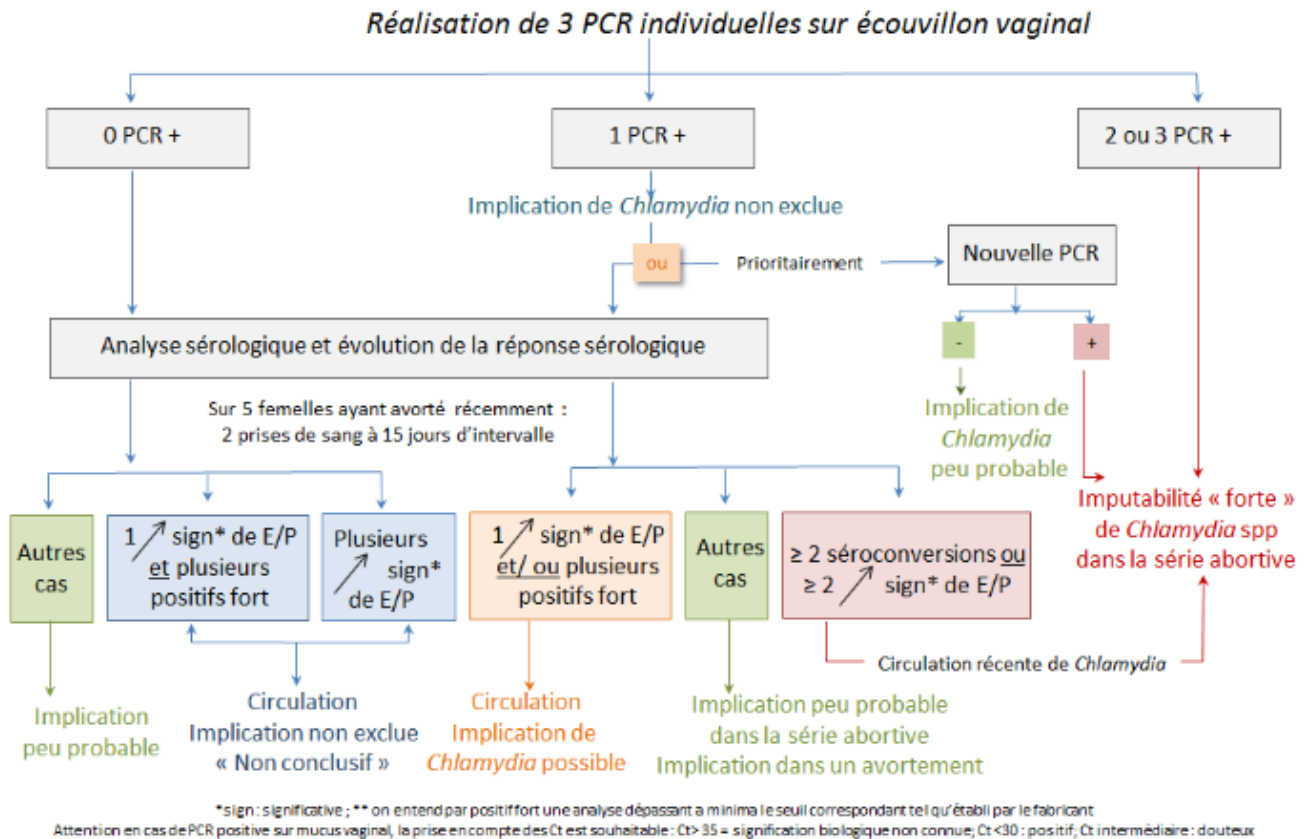


Figure 11 : Arbre décisionnel Chlamydiae (d'après De Crémoux *et al.*, 2013)

L'hypothèse concernant l'implication de *Chlamydia* dans l'épisode abortif a été considérée comme forte lorsque plus de deux PCR étaient positives ou si une PCR positive était associée à plus de 2 séroconversions (ou augmentation de plus de 30% des ratios E/P sur deux échantillons au moins (calculé en comparant la densité optique (DO) de l'échantillon testé à la densité optique moyenne du contrôle positif (DOM CP) une fois déduite la valeur de lecture de contrôle négatif (DO CN) : $E/P (\%) = \frac{DO \text{ échantillon} - DO \text{ CN}}{DOM \text{ CP} - DO \text{ CN}} \times 100$))

Si une seule PCR est positive et qu'il y a une augmentation significative du ratio E/P et/ou que plusieurs femelles sont fortement séropositives le jour de l'intervention du vétérinaire alors l'implication de la chlamydiae reste une hypothèse possible mais il faudra également prendre en compte les résultats concernant toutes les autres causes abortives.

Le Tableau 4 présente les clefs d'interprétation des résultats d'analyses en matière de chlamydiae.

Tableau 4 : Grille d'interprétation des résultats d'analyse de chlamydie (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats |
|---|--|
| Peu probable (=0) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ Ni PCR, ni analyses sérologiques positives ✓ 3 PCR négatives sans analyse sérologique réalisée ✓ 0 PCR + et une ou plusieurs femelles faiblement séropositives à J0 (le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive). ✓ 0 PCR + et une seule femelle séropositive fortement** à J0. ✓ 0 PCR + et 1 seule augmentation significative*** des ratios E/P sans forte séropositivité ✓ 1 PCR + * et quelques femelles faiblement séropositives (dans ce cas, un des avortements est imputé à <i>Chlamydia</i> mais la série abortive, en revanche, n'est que peu probablement imputable à cet agent) |
| Possible (++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 PCR +* et une augmentation significative du ratio E/P*** et/ou une ou plusieurs femelles séropositives fortement** à J0 le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive |
| Forte (+++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ ≥ 2 PCR + * ✓ 1 PCR + et ≥ 2/5 séroconversions ou augmentation significative des ratios E/P *** |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | <ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations <p><i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 0 PCR + <u>et</u> 1 seule augmentation significative*** du ratio E/P <u>et</u> une ou plusieurs femelles séropositives fortement** le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive (résultats à conforter par d'autres analyses) 2) 0 PCR + <u>et une majorité</u> de femelles présente une augmentation significative*** des ratios E/P sur 2-3 semaines |

* Sur mucus vaginal, l'interprétation des PCR se fera au regard des Ct (malgré les réserves émises sur leur interprétation possible et un manque de reproductibilité): < 30 : positive, 30 < <35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue. L'objectif est en effet de limiter le nombre de situations où *Chlamydia* pourrait être incriminée à tort.

** Séropositif fortement = A ce jour, un animal est considéré comme séropositif fortement dès lors qu'il est considéré comme tel grâce à la grille fournie par le fabricant.

*** A l'heure actuelle sur le terrain, une augmentation « significative » du ratio E/P est considérée comme une augmentation supérieure ou égale à 30 %. Cette valeur pourra être revue en fonction des observations et des études en cours ou à venir.

b) Matériel nécessaire au prélèvement des échantillons

Les prélèvements ayant servi aux analyses prises en compte dans l'étude ont été réalisés par les vétérinaires sanitaires des élevages. Des boîtes de prélèvements ont été fournies pour faciliter le recueil standardisé des échantillons ; elles sont conformes à la réglementation concernant le transport de matériel biologique (Norme UN 3373, triple emballage). Pour permettre un acheminement sous froid, les boîtes ont été équipées d'un caisson isotherme de 9,2 L et d'une plaque eutectique. L'acheminement a été réalisé par Chronopost ou en recourant à un dispositif de navette lorsque celui-ci était mis en place localement.

Chaque boîte (Figure 12) comportait :

- 12 écouvillons (écouvillons secs type « brucellose ») ;
- 9 sachets à zip, étanches, permettant de recevoir des houppes placentaires ou des organes d'avorton ;
- 1 pot hermétique de 1,25 L permettant de recueillir ces sachets tout en évitant des contaminations croisées entre prélèvements ;
- 2 tubes secs pour disposer de liquide stomacal d'avorton(s) ;
- 3 racks de 10 tubes secs de 5 mL chacun, en vue des analyses sérologiques.



Figure 12 : Boîte de prélèvement Petits Ruminants à la norme UN 3373 (FRGDS Midi-Pyrénées)

Point déterminant du suivi des dossiers et des échantillons, l'identification des prélèvements a été réalisée à l'aide d'étiquettes pourvues de codes-barres fournies en même temps que les feuilles d'accompagnement des prélèvements et la fiche de commémoratifs.

La liste des commémoratifs comportait quelques informations concernant la description de l'élevage : type d'atelier, existence ou non d'un autre atelier de production, effectifs, nombre de lots de mises bas et dates des mises bas. Les mouvements d'animaux (transhumance ou achats) ont été succinctement abordés. L'épisode abortif a été décrit par la ou les date(s) et le nombre d'avortements, la ou les catégorie(s) de femelles touchée(s) ainsi que leur stade de gestation. Les antécédents en matière d'avortements ont aussi été relevés sous deux formes : lors de la dernière campagne et lors de la dernière grande série d'avortements dans l'élevage.

Sur le plan médical, les vaccinations vis-à-vis de la fièvre Q, de la chlamydie, de la toxoplasmose et de la Border Disease ont été envisagées : nom du vaccin, date de vaccination, mise en œuvre ou non sur le lot concerné par les avortements. Enfin, la mise en place ou non d'une antibiothérapie suite aux avortements a aussi été rapportée : nom du médicament employé et catégorie d'animaux visée. D'un point de vue pratique, en raison de la lourdeur du relevé de l'ensemble de ces informations, cette fiche de commémoratif détaillée n'a été employée que pour les avortements ayant eu lieu entre Octobre 2013 et Mars 2015.

2. Analyses PCR et sérologiques

Les échantillons (écouvillons vaginaux) prélevés lors de séries abortives ont tout d'abord été analysés par Aveyron Labo en réalisant une PCR en temps réel chlamydia à l'aide du kit Adiavet CHLAM.A REAL TIMEND. Ce kit permet de détecter de l'antigène de *C. abortus*. Les résultats ont été fournis initialement sans les Ct, c'est-à-dire que nous savions uniquement si l'échantillon était positif ou négatif.

Dans une seconde étape, ces échantillons ont été transmis au laboratoire de l'ANSES de Maison-Alfort pour effectuer une PCR en temps réel ciblant l'ensemble des chlamydiaceae. En cas de résultat positif, une PCR en temps réel ciblée sur un antigène de *C. abortus* était ensuite réalisée. Enfin, quand cette dernière PCR en temps réel était positive, un typage de la souche de *C. abortus* présente était réalisé afin de préciser s'il s'agissait d'une souche vaccinale ou sauvage.

Les caractéristiques de la méthode PCR utilisée pour la détection des chlamydiaceae ont été évaluées pour le dossier de validation dans le cadre de la demande d'accréditation cofrac. La spécificité et la sensibilité du test sont de 100%. La limite de détection de la PCR est de 3 copies (3 copies d'ADN présentes dans l'échantillon) et la limite de détection de la méthode est de 235 copies (en incluant l'étape d'extraction donc à partir de l'échantillon de base). Une PCR sera donc positive à partir de 235 copies d'ADN présentes sur l'écouvillon.

3. Enquête en élevage

Un questionnaire (Voir Annexe 2) a été élaboré pour mieux appréhender les pratiques des éleveurs et contextualiser de manière plus précise les résultats de laboratoire obtenus. Il a été divisé en 3 parties. La première partie s'est intéressée aux caractéristiques générales de l'élevage et aux caractéristiques de l'épisode abortif avec des questions sur :

- la taille du cheptel,
- le mode de reproduction (IA/lutte, échographies, prolificité, taux de mise bas...),
- la conduite d'élevage,
- la présence d'autres ateliers,
- le nombre de brebis/agnelles ayant avorté,
- les résultats d'analyses.

La deuxième partie a été consacrée au protocole vaccinal et plus particulièrement à la vaccination contre la chlamydie. Plusieurs points ont été abordés pour évaluer le protocole mis en place :

- la nature du vaccin utilisé,
- l'historique de vaccination,
- les catégories d'animaux vaccinés,
- les modalités de conservation du vaccin,
- la réalisation pratique de l'injection (moyens, dose, manipulateur...),
- l'existence d'autres vaccinations.

Enfin, la dernière partie a concerné les mesures sanitaires et médicales mises en place pour limiter la propagation d'éventuels pathogènes, notamment au moment des agnelages,

période qui nous intéresse le plus si l'on se rapporte au mode d'infection de la chlamydie.

On retrouve donc des questions sur :

- le devenir des avortons et des placentas,
- le nettoyage et la désinfection,
- la gestion des lots,
- la gestion des introductions éventuelles,
- les traitements en cas d'épisode abortif.

Un tableau des résultats des analyses était également présent dans le questionnaire, ce qui permettait d'en disposer le jour de la visite chez l'éleveur.

4. Echantillonnage des élevages

a) Choix des élevages

Le choix des élevages intégrés à l'étude a été réalisé à partir des données recueillies par le GDS de l'Aveyron entre novembre 2013 et janvier 2017 d'abord dans le cadre du programme de diagnostic différentiel des avortements mis en place en Midi-Pyrénées puis ensuite dans le cadre des actions mises en œuvre dans le département de l'Aveyron à partir de 2015.

Compte tenu du contexte de recueil des données, les élevages ciblés avaient forcément eu au moins un épisode abortif au cours des trois ans précédents. Les éleveurs ont donc été contactés et leur participation à l'étude s'est faite sur la base du volontariat.

Pour la constitution de l'échantillon, il nous fallait en priorité deux types d'élevages, pour pouvoir mettre en évidence des facteurs de risque. D'un côté des élevages vaccinant et n'ayant pas eu de problème de chlamydie (aucun agent abortif n'ayant pu être clairement identifié comme étant la cause de l'épisode abortif) (n=13) et de l'autre côté des élevages vaccinant et pour lesquels l'épisode abortif a été imputé à la chlamydie (n=9).

Pour pouvoir augmenter l'effectif d'étude, et disposer ainsi de données plus précises en matière de facteurs de risque associés à la conduite du troupeau, d'autres élevages ont été inclus. Ces élevages pouvaient être des élevages où la chlamydie avait été identifiée comme étant l'agent responsable de l'épisode abortif sans qu'il y ait eu de vaccination (n=5), des élevages où la chlamydie avait été identifiée comme étant l'agent responsable de l'épisode

abortif sans qu'il y ait eu de vaccination mais dans lesquels la vaccination a été mise en place par la suite (ce qui nous a permis de comparer également les protocoles vaccinaux) (n=8). Enfin d'autres élevages, pour lesquels les PCR étaient positives mais les Ct très élevés (une seule brebis avec Ct<30, les autres avec Ct>35 ou négatifs) ont été classés dans un groupe appelé « Circulation de *Chlamydia* », l'implication de la bactérie dans l'épisode abortif ne pouvant pas être confirmée. Dans ce groupe on retrouvait des élevages vaccinant contre la chlamydie (n=3), des élevages ne vaccinant pas (n=2) et des élevages ne vaccinant pas avant la survenue de l'épisode abortif mais ayant commencé la vaccination par la suite (n=2) (même intérêt que précédemment).

La répartition de ces élevages est présentée dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Répartition des élevages ayant participé à l'étude en fonction de leur statut vis-à-vis de la chlamydie et de la pratique ou non de la vaccination

| | Elevages vaccinant | | Elevages ne vaccinant pas |
|---|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | Avant l'épisode abortif | Après l'épisode abortif | |
| Absence d'ADN de <i>Chlamydia</i> | 13 | 0 | 0 |
| Circulation de <i>Chlamydia</i> | 3 | 2 | 2 |
| Imputation de l'épisode à <i>C. abortus</i> | 9 | 8 | 5 |

Au final, 42 enquêtes ont été réalisées.

b) Représentativité de l'échantillon

Même si l'échantillon a été réalisé par défaut (les critères « existence d'avortements », « recours à la vaccination » et « acceptation par l'éleveur » représentant des facteurs limitants), il est quand même intéressant d'évaluer la représentativité de l'échantillon par rapport à l'ensemble des élevages aveyronnais.

La Figure 13 présente les effectifs des élevages ayant participé à l'enquête. On peut voir que ces effectifs sont assez hétérogènes, avec de petits cheptels (moins de 100 brebis) et de grands cheptels (plus de 700 adultes). Si l'on regarde maintenant la taille des élevages en fonction de leur appartenance à l'un des groupes définis en 4a), on s'aperçoit que la

répartition au sein des groupes est également homogène, avec à la fois de petits et de gros troupeaux (Figure 14).

En ce qui concerne la répartition des élevages en termes d'atelier, il y avait 15 élevages ovins viandes (soit 36% de l'échantillon) et 27 élevages ovins laitiers (soit 64% de l'échantillon). La taille des cheptels était en moyenne de 287 adultes pour les élevages ovins viandes et de 431 adultes pour les élevages ovins laitiers.

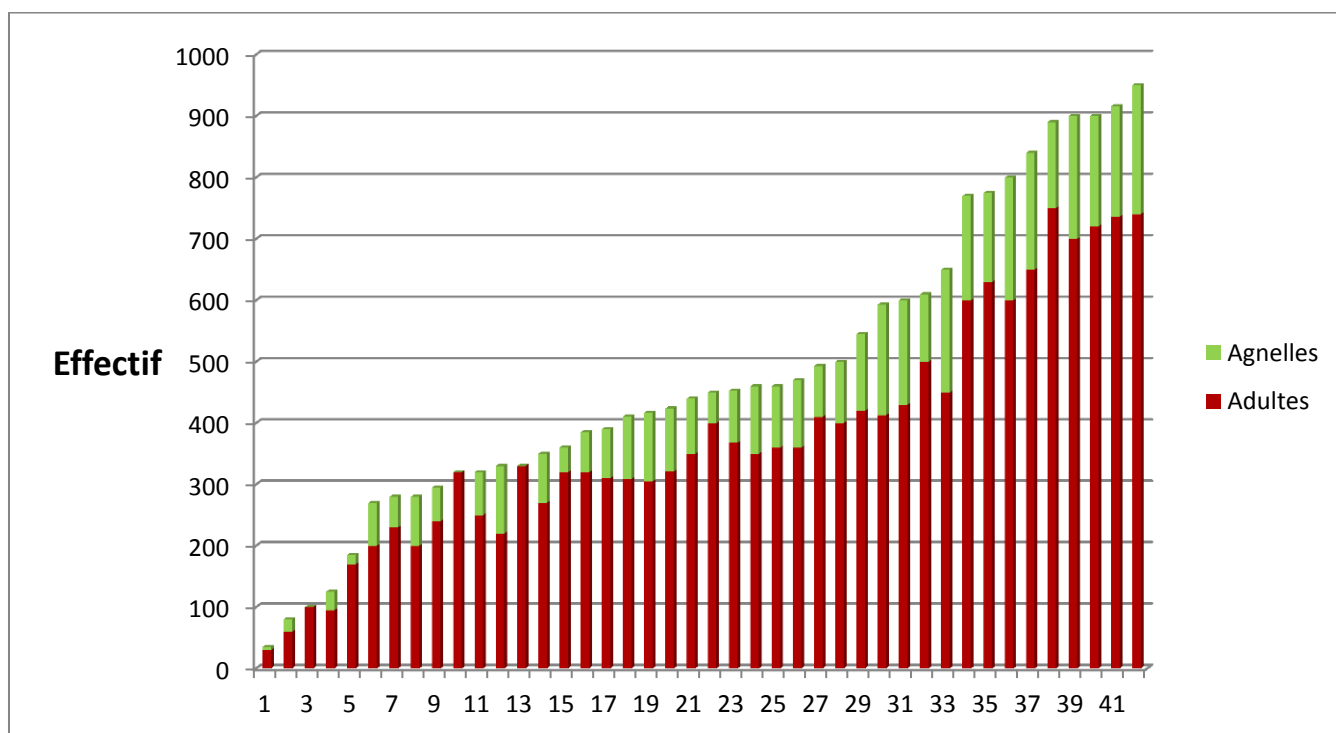


Figure 13 : Répartition des effectifs de chaque élevage

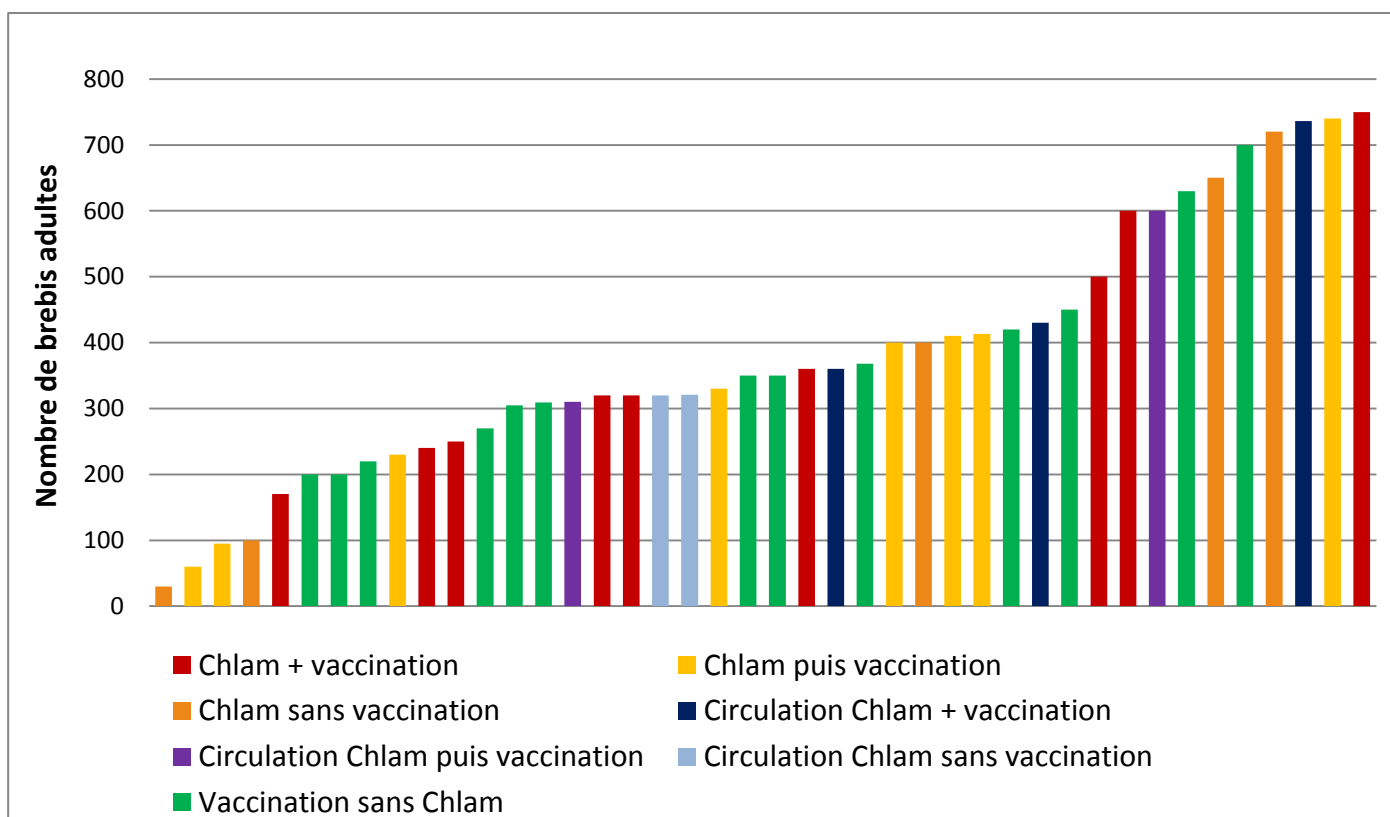


Figure 14 : Répartition des effectifs de brebis adultes dans chaque élevage en fonction du statut vis-à-vis de la chlamydie et de la vaccination

Par comparaison, l'exploitation des données présentes dans les logiciels du GDS12 indique que l'on compte, en Aveyron, 1408 élevages ovins laitiers de plus de 35 adultes (soit 69% des élevages ovins) et 624 élevages ovins viandes de plus de 35 adultes (soit 31% des élevages ovins). En termes de taille de cheptel, cela équivaut à une moyenne d'environ 448 brebis par élevage laitier (contre 431 dans notre échantillon) et d'environ 190 brebis en élevage allaitant (contre 287 dans l'étude).

On dispose donc d'un échantillon assez représentatif à la fois en termes de proportion relative entre élevages laitiers et élevages allaitants et de nombre moyen de brebis par exploitation.

5. Tests statistiques utilisés

Les variables utilisées dans le questionnaire étant qualitatives, le test du khi 2 a été employé pour analyser les données.

Cependant, plusieurs conditions sont nécessaires à l'emploi de ce test :

- il doit toujours y avoir au moins deux possibilités pour chaque variable,
- les valeurs doivent être des valeurs positives entières,

- toutes les classes doivent avoir un effectif supérieur ou égal à 5 (sur le Tableau 6, $n_{i,j} \geq 5$).

Malheureusement, pour certaines des questions de l'enquête, il arrivait qu'au moins une des classes ait un effectif inférieur à 5. Dans ce cas, pour pouvoir mettre en évidence l'indépendance des deux variables, la correction de Yates était appliquée. Une condition préalable était tout de même requise : les effectifs théoriques de chaque classe devaient être supérieurs ou égaux à 3. Si l'on reprend le Tableau 6 en exemple, soit $e_{i,j}$ l'effectif théorique, on le calcule avec la formule $e_{i,j} = (L_i \times C_j)/n$ (n étant l'effectif total).

Tableau 6 : Tableau de contingence de deux variables I et J

| | | | | |
|---|-----|-----------|-----|-------|
| | | j | | |
| | ... | ... | ... | |
| i | ... | $n_{i,j}$ | ... | L_i |
| | ... | ... | ... | |
| | | C_j | | |

Enfin, si un des effectifs théoriques était inférieur à 3, l'indépendance était testée avec le test exact de Fisher.

Il va de soi que plus on diminue le nombre de conditions, moins les tests sont puissants.

Ces calculs ont été réalisés avec le logiciel R[®] pour le test exact de Fisher et le test du khi 2 et avec le tableur Excel[®] pour les tests du khi 2 avec application de la correction de Yates.

Les tests permettent de calculer une valeur-p. Si cette dernière est supérieure à 0,1 (seuil de 10%), alors les deux variables sont indépendantes. En revanche si elle est inférieure à 0,1, il existe une relation statistique significative entre les deux variables.

Pour les données exprimées en moyenne, il a fallu évaluer si les deux moyennes considérées étaient significativement différentes ou pas. Pour cela, un test d'égalité des variances (test de Fisher) des deux échantillons a tout d'abord été réalisé avec le tableur

Excel[®], puis un test de comparaison des moyennes (test de Student) lorsque les variances étaient égales.

Pour ce qui est du nombre d'avortements par élevage, les données ont été comparées en réalisant des boîtes à moustache. Elles sont réalisées en calculant le premier quartile, la médiane et le troisième quartile de l'échantillon. Les bords de la boîte représentent le premier et le troisième quartile, la valeur centrale est la médiane et les extrémités des moustaches sont les valeurs minimales et maximales. Ces graphiques vont nous permettre d'évaluer la distribution des valeurs et de comparer cette distribution entre les différents groupes étudiés.

C. Résultats

1. Résultats des analyses de laboratoire

Au total, 520 analyses PCR en temps réel *C. abortus* ont été réalisées par Aveyron Labo. Sur l'ensemble de ces analyses, 136 étaient positives (pas de connaissance du Ct à ce stade).

Puis 292 échantillons, issus de 93 épisodes abortifs différents, ont été envoyés au LNR et analysés. Sur ces 292 échantillons, 98 échantillons étaient positifs à la PCR temps réel *Chlamydia* spp. Six échantillons ont donné des résultats divergents : positifs à Aveyron Labo et négatifs au LNR. Les Ct obtenus par Aveyron Labo pour ces échantillons se sont avérés très élevés (39,45, 36,3, 32,8, 30,3, et deux Ct non communiqués) ce qui signifie que la quantité d'ADN détectée dans ces échantillons était assez faible et qu'on ne peut donc pas écarter l'hypothèse de faux positifs ou faux négatifs.

Enfin, 92 échantillons étaient positifs à la PCR en temps réel *C. abortus*. Ici aussi, les Ct des six échantillons positifs à la PCR en temps réel *Chlamydia* spp et négatifs à la PCR en temps réel *C. abortus* étaient très élevés et proches de 40 (39,2 – 39,3 – 38,4 – 39,4 – 39,5 et 40,5). Il se peut donc, comme au paragraphe précédent, que ces échantillons aient été des faux positifs.

L'étude des Ct de ces 92 échantillons en fonction du statut vaccinal de l'élevage est rapportée dans le Tableau 7. On peut observer que les proportions relatives des échantillons en fonction des Ct obtenus sont similaires dans les élevages quelle que soit leur politique de vaccination. Cela semble indiquer qu'il n'y a pas de relation entre ces deux paramètres.

Tableau 7 : Ct des différents échantillons en fonction du statut vaccinal de l'élevage d'origine

| | Ct < 25 | 25 ≤ Ct < 33 | 33 ≤ Ct | Total |
|-------------------------|----------|--------------|---------|-------|
| Vaccination | 10 (32%) | 14 (45%) | 7 (23%) | 31 |
| Pas de vaccination | 13 (32%) | 19 (48%) | 8 (20%) | 40 |
| Statut vaccinal inconnu | 5 (24%) | 12 (57%) | 4 (19%) | 21 |
| Total | 28 | 45 | 19 | 92 |

Les PCR en temps réels *C. abortus* réalisées par Aveyron Labo et le LNR semblent assez fiables car hormis les 12 résultats divergents (positifs chez Aveyron Labo et négatifs ou faiblement positifs au LNR), le reste des échantillons a présenté des Ct relativement semblables entre les séries d'analyses. En effet, la moyenne des différences est de 1,83 cycle avec trois valeurs très élevées par rapport aux autres (6,6, 8,5 et 8,7). En retirant ces trois valeurs, on obtient une moyenne de 1,47, ce qui peut être considéré comme assez faible dans un objectif d'approximation de la charge bactérienne sous forme de classes.

Sur les 93 séries abortives dont étaient issus les échantillons, 30 présentaient des échantillons positifs à *C. abortus* dont 17 avec plus de deux échantillons positifs et donc pour lesquelles l'hypothèse chlamydiotique était fortement probable.

Au total, 75 échantillons (souches) ont pu faire l'objet d'un typage. Ceux qui n'ont pas pu l'être étaient des échantillons pour lesquels les Ct obtenus avec la PCR temps réel *C. abortus* du LNR étaient supérieurs à 33. Il s'agissait donc d'échantillons dont la charge bactérienne était relativement faible. Sur ces 75 échantillons, sept contenaient la souche vaccinale (9,3%) et les autres la souche sauvage. Comme nous pouvons le voir sur la Figure 15, les valeurs de Ct des échantillons contenant de la souche vaccinale étaient assez hétérogènes et ont varié de 24,5 à 38.

Tableau 8 : Caractéristiques des quatre élevages desquels sont issus les échantillons contenant de la souche vaccinale

| | Elevage 1 | Elevage 2 | Elevage 3 | Elevage 4 |
|--|---------------------|---------------------|--|--|
| Type d'élevage | Ovin laitier | Ovin laitier | Ovin allaitant | Ovin allaitant |
| Catégorie d'animaux touchés par les avortements | Adultes et agnelles | Adultes et agnelles | Adultes | Adultes et agnelles |
| Nombre de PCR positives Aveyron Labo | 2 sur 3 | 1 sur 4 | 1 sur 3 | 1 sur 4 |
| Ct Aveyron Labo | 39,2 et 24,5 | 28,6 | 20,6 | Non communiqué |
| Nombre de PCR positives ANSES | 1 sur 3 | 1 sur 4 | 1 sur 3 | 1 sur 4 |
| Ct ANSES PCR <i>C. abortus</i> | 25 | 29,3 | 24,5 | 38 |
| Catégorie de l'animal positif | Agnelle | Adulte | Adulte | Agnelle |
| Résultat de la cinétique d'anticorps <i>C. abortus</i> | Absente | Absente | 4 sérologies positives sur 4 mais pas d'augmentation du ratio E/P | 1 sérologie positive sur 4 puis 2 sur 4 après 15 jours avec 1 échantillon présentant une augmentation du ratio E/P |
| Autre résultat positif | Aucun | Aucun | 4 sérologies toxoplasmose fortement positives (79 à 128%) mais PCR sur avorton négative (éleveur vaccine également contre la toxoplasmose) | Aucun |

Si l'on regarde les résultats des analyses de ces quatre élevages, on constate qu'aucune autre des maladies recherchées en première intention n'a été clairement identifiée. La seule analyse positive est la présence d'ADN provenant de la souche vaccinale de *C. abortus* dans un des trois ou quatre écouvillons vaginaux prélevés.

2. Exploitation des résultats de l'enquête

a) Caractéristiques des élevages

Nous allons commencer l'exploitation du questionnaire par l'étude des caractéristiques générales des élevages et de la mise à la reproduction. Les données relatives à la taille des cheptels ont déjà été exposées dans la partie « représentativité de l'échantillon ». Le renouvellement a été étudié de manière complémentaire. Le taux de renouvellement moyen est de 21,5% des brebis tout élevage confondu. Il est en moyenne de 16,8 +/- 5,28% pour les élevages allaitants et de 23,6 +/- 3,95% pour les élevages laitiers ; cette différence est significative ($p = 7,1 \times 10^{-5}$)

En termes de races, sans surprise, nous retrouvons 100% d'élevages laitiers en race Lacaune. La plupart des éleveurs laitiers n'ont que des béliers Lacaune (soit 89% des élevages). Seuls trois élevages ont des béliers Lacaune mais également des béliers de race allaitante (Blanc du Massif Central (BMC) et Suffolk pour un, Berrichon pour un autre et Suffolk pour le dernier). En élevage allaitant, six élevages comportaient des brebis de race Lacaune (soit 40% des élevages) et réalisaient ensuite la reproduction avec des béliers de race Lacaune, Charolaise ou BMC. On a retrouvé également un élevage de Vendéennes, un de Charolaises et un de Rouge du Roussillon. Enfin le reste des élevages était assez hétérogène, avec des mélanges de races de brebis : Lacaune, Causse du Lot, BMC, Rouge de l'Ouest, Charolais et Suffolk.

Pour la reproduction, la majorité des éleveurs ont eu recours à l'Insémination Artificielle (IA) en élevage laitier ($n=21$ soit 77,8% des élevages) ; dans ces élevages, la monte naturelle ne concernait que quelques brebis et la reproduction sur retours. Ces élevages fonctionnent sur la base d'un agnelage par an. En élevage allaitant, huit élevages (soit 53,3% des élevages allaitants) faisaient de l'IA et avaient recours à la monte naturelle pour quelques brebis et sur les retours et sept (soit 46,7% des élevages allaitants) faisaient uniquement de la reproduction en monte naturelle. Dans ce type de production, huit élevages faisaient trois agnelages en deux ans et sept faisaient un agnelage par an. La prolificité globale était de 1,53 +/- 0,13 en élevages laitiers et 1,49 +/- 0,28 en élevages allaitants.

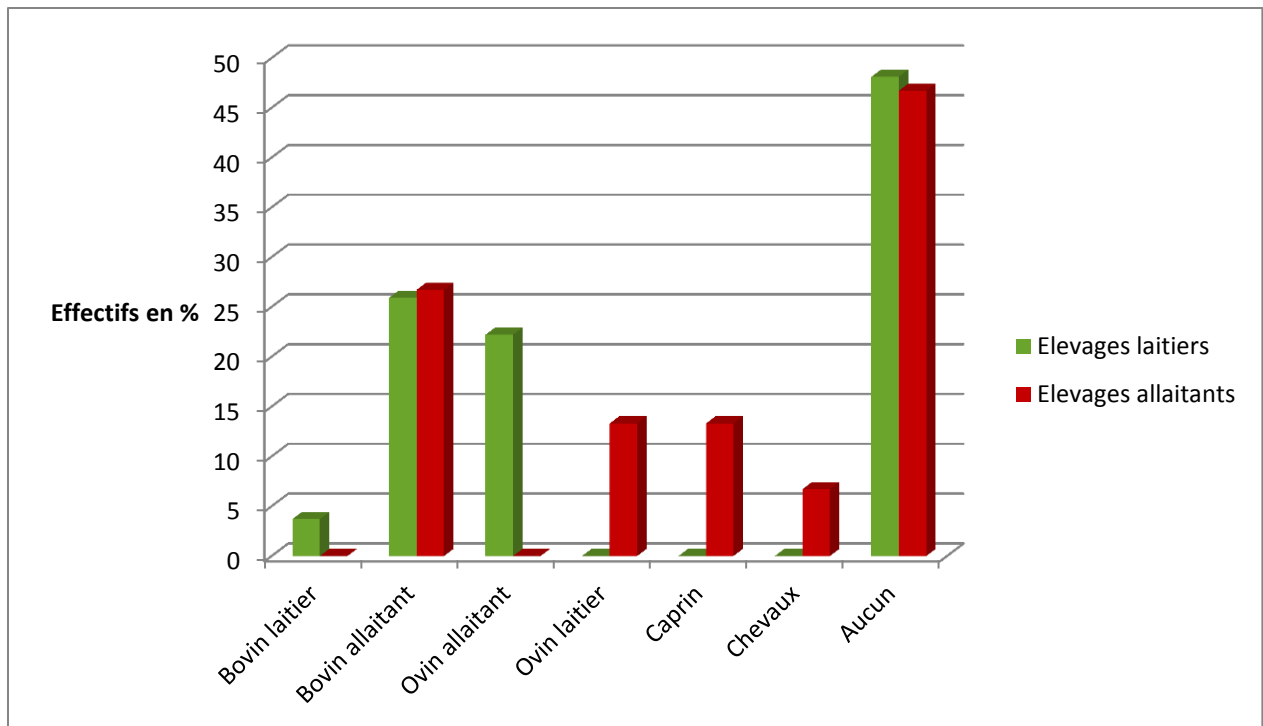


Figure 16 : Répartition des autres ateliers dans l'exploitation

En observant maintenant la répartition des autres ateliers dans les exploitations (Figure 16), on constate que dans plus de 50% des cas, les éleveurs ont un deuxième atelier sur l'exploitation, en majorité un atelier bovin allaitant (25,9% des élevages laitiers et 26,7% des élevages allaitants) ou un atelier ovin allaitant (22,2% des élevages laitiers).

b) Relation entre taille des élevages et présence de *C. abortus*

Dans la suite de la thèse, les noms des différents groupes seront ceux indiqués dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Signification des différents groupes

| Groupes | Signification |
|-----------------------------------|--|
| Elevages chlam + et vaccin | Elevages vaccinés et ayant eu un épisode abortif attribuable à la chlamydie |
| Elevages chlam – et vaccin | Elevages vaccinés et n'ayant pas de série abortive attribuable à la chlamydie |
| Elevages circulation et vaccin | Elevages vaccinant et ayant eu une série abortive non attribuable à la chlamydie car les Ct étaient trop élevés sur plus de la moitié des brebis positives |
| Elevages chlam + puis vaccination | Elevages ayant eu un épisode abortif dû à la chlamydie et ayant débuté la vaccination par la suite |
| Elevages chlam + sans vaccin | Elevages ne vaccinant pas et ayant eu un épisode abortif dû à la chlamydie |

La relation entre la taille des cheptels et la présence de *C. abortus* dans les élevages vaccinant a été étudiée. Pour ce faire, les élevages ont été classés dans deux catégories « moins de 400 bêtes » et « plus de 400 bêtes » dans une première étape (Tableau 10) puis dans quatre catégories « moins de 300 bêtes », « 300 à 500 », « 500 à 700 » et « plus de 700 » (Tableau 11). Trois groupes ont été comparés : vaccination et avortements dus à *C. abortus* (chlam + et vaccination), vaccination et absence de *C. abortus* (chlam – et vaccination) et enfin vaccination et circulation de *C. abortus* (circulation et vaccination). Cette dernière catégorie étant peu représentée, un test d'indépendance a été réalisé avec les trois catégories mais également en considérant seulement les deux premières. La valeur-p pour la comparaison « moins de 400 bêtes » et « plus de 400 bêtes » était de 0,84 avec les 3 groupes et de 0,84 également avec les groupes « chlam + » et « chlam – ». Enfin, pour la comparaison « moins de 300 bêtes », « 300 à 500 », « 500 à 700 » et « plus de 700 », le test d'indépendance n'était réalisable qu'avec les groupes « chlam + » et « chlam – » et la valeur-p était de 0,82. On peut donc conclure que la taille des cheptels n'est pas un facteur de risque de présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent.

Tableau 10 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et le nombre de bêtes composant le troupeau (première comparaison)

| | Moins de 400 bêtes | Plus de 400 bêtes | Total |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|-------|
| Elevages chlam + et vaccination | 4 | 5 | 9 |
| Elevages chlam - et vaccination | 4 | 9 | 13 |
| Circulation et vaccination | 1 | 2 | 3 |
| Total | 9 | 16 | 25 |

Tableau 11 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et le nombre de bêtes composant le troupeau (deuxième comparaison)

| | Moins de 300 bêtes | De 300 à 500 bêtes | De 500 à 700 bêtes | Plus de 700 bêtes | Total |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------|
| Elevages chlam + et vaccination | 2 | 3 | 2 | 2 | 9 |
| Elevages chlam - et vaccination | 2 | 7 | 2 | 2 | 13 |
| Circulation et vaccination | 0 | 2 | 0 | 1 | 3 |
| Total | 4 | 12 | 4 | 5 | 25 |

c) Comparaison du nombre d'avortements par catégorie d'élevage

Le nombre d'avortements dans les différents élevages par catégorie d'animaux (agnelles, adultes et cheptel total) a été comparé. Ces données ont été exploitées en s'intéressant à la distribution des pourcentages d'avortements (Figure 17, 18 et 19). On peut s'apercevoir qu'il n'y a pas de différence significative entre les quatre groupes. On peut quand même noter que l'on trouve un peu plus d'avortements sur les agnelles dans les élevages ayant vacciné que dans les autres. Ceci peut s'expliquer par le fait que ces éleveurs ont vacciné contre la chlamydie et que de ce fait ne pensent pas tout de suite à des avortements dus à cette maladie. Ils mettent donc peut être un peu plus de temps à réagir que les éleveurs n'ayant pas vacciné (notamment sur les agnelles car ce sont les bêtes les plus récemment vaccinées) et donc le traitement est mis en place plus tardivement. Au total, on a un peu moins d'avortements dans les élevages qui vaccinent mais la variabilité est plus importante, avec des élevages à plus de 60% d'avortements sur le lot.

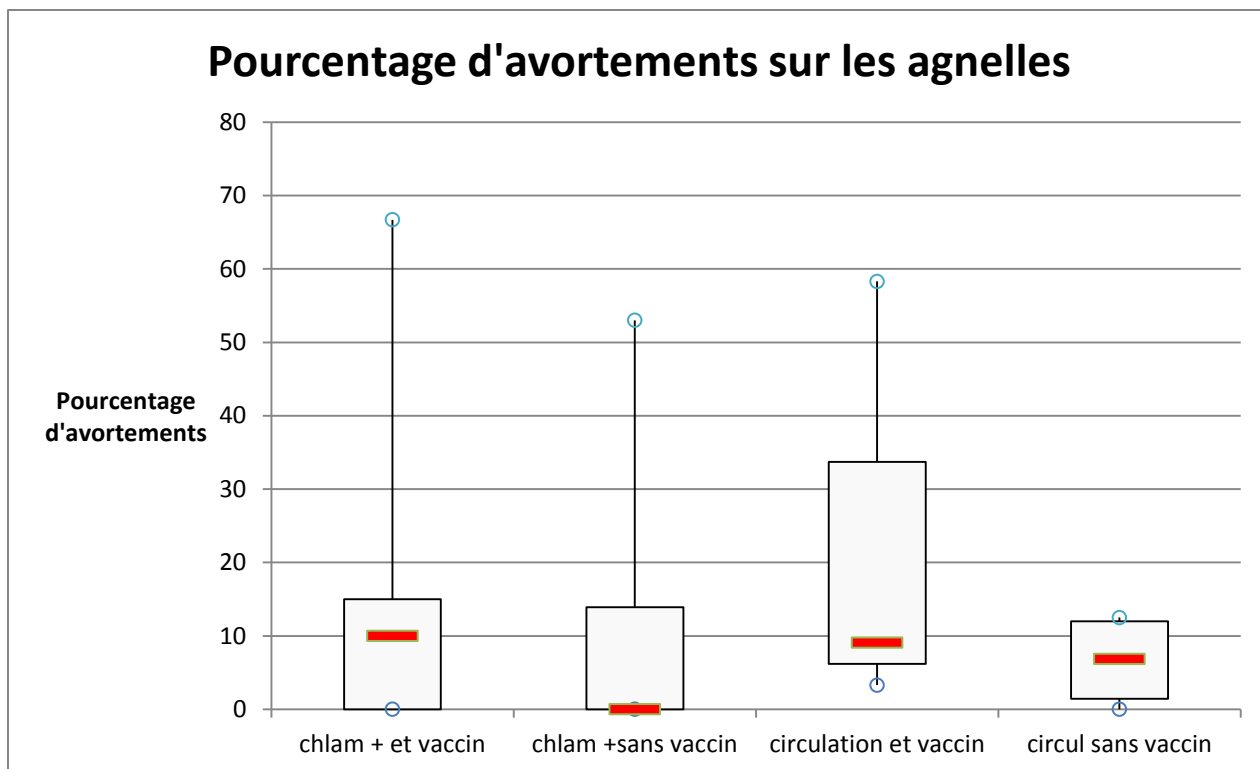


Figure 17 : Répartition des pourcentages d'avortements des agnelles selon la présence de *Chlamydia* et le recours à la vaccination

Les bords de la boîte (rectangle) représentent le premier et le troisième quartile, la valeur centrale (trait rouge gras) est la médiane et les extrémités des moustaches (°) sont les valeurs minimales et maximales.

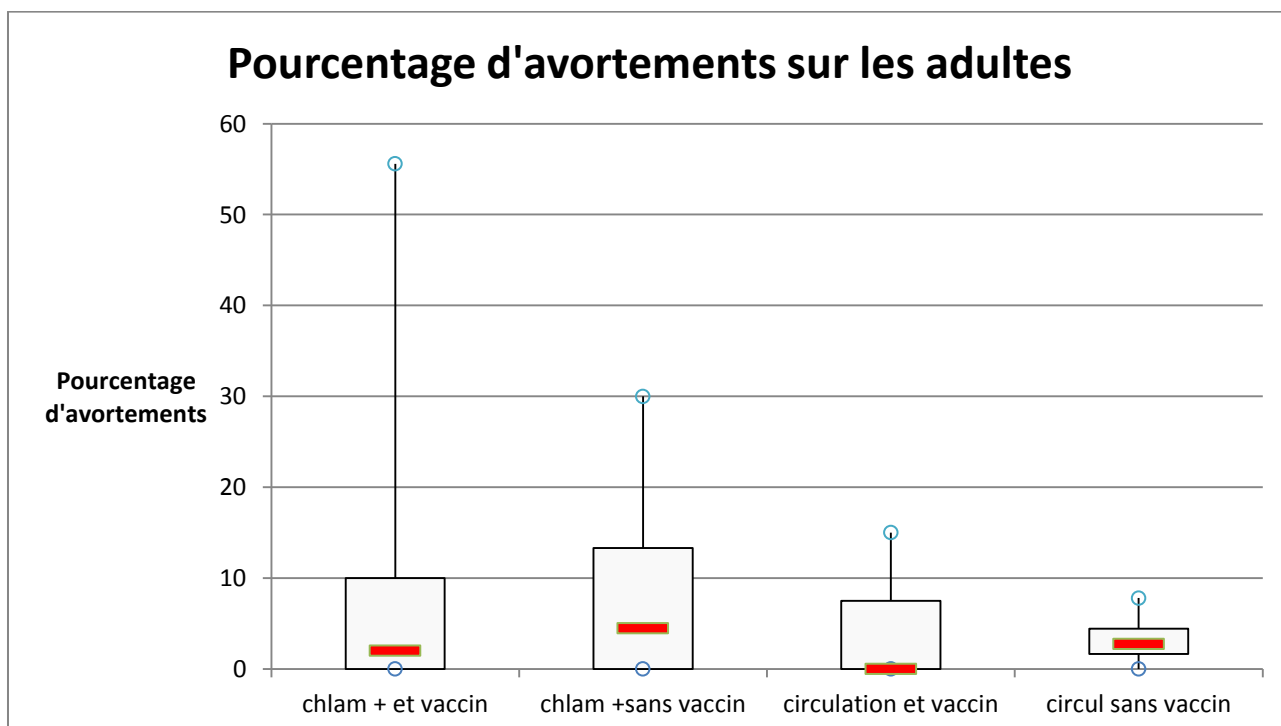


Figure 18 : Répartition des pourcentages d'avortements des adultes selon la présence de *Chlamydia* et le recours à la vaccination

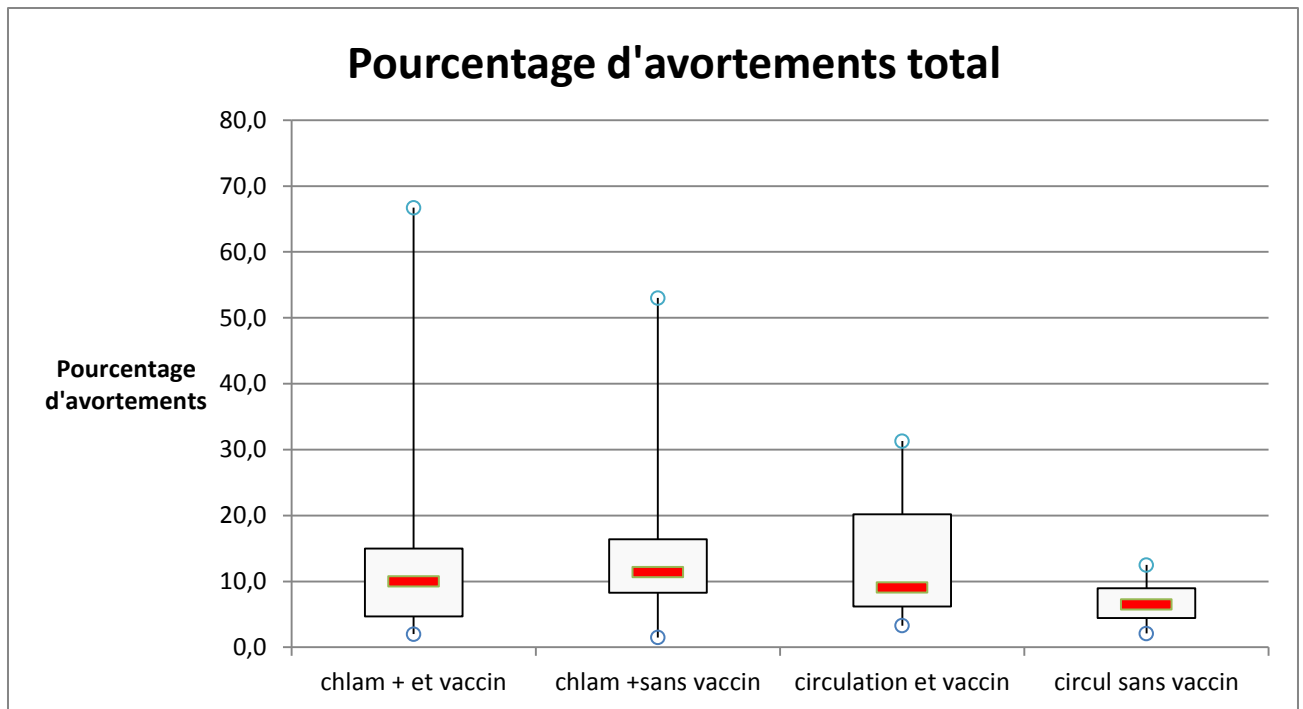


Figure 19 : Répartition des pourcentages d'avortements totaux (nombre d'avortements/nombre de femelles pleines sur la période) selon la présence de *Chlamydia* et le recours à la vaccination

On s'aperçoit qu'un élevage vaccinant contre la chlamydie a eu plus de 60% d'avortements sur les agnelles. Cet éleveur n'avait que 10 agnelles et était en train d'arrêter l'élevage. Il n'avait donc pas forcément envie d'engager trop de frais et a laissé un peu traîner. De plus, il vaccine ses agnelles à l'âge de 14 mois donc si elles ont été infectées par *Chlamydia* avant la vaccination, les agnelles avorteront quand même.

d) Analyse des protocoles de vaccination

Pour les protocoles de vaccination, les réponses des éleveurs pour lesquels les animaux étaient vaccinés et l'épisode abortif imputé à la chlamydie et celles des éleveurs pour lesquels les animaux étaient vaccinés mais dont les avortements n'étaient pas dus à la chlamydie ont été comparées.

La première analyse a porté sur le moment où les éleveurs réalisent la vaccination par rapport à la première mise à la reproduction des agnelles. Il faut rappeler que les RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit) des vaccins conseillent une vaccination un mois avant la période de lutte pour l'Ovilis ChlamydiaND et un à deux mois avant la mise à la reproduction pour le CEVAC ChlamydiaND. Les résultats du questionnaire montrent que les

éleveurs suivent dans la majorité des cas ces recommandations puisque 20 éleveurs sur 35 soit environ 57% des éleveurs vaccinent les agnelles 1 à 2 mois avant la lutte. Si l'on s'intéresse maintenant à la répartition en fonction des groupes « chlam + et vaccin » et « chlam – et vaccin » (Figure 20), on s'aperçoit qu'il n'y a pas vraiment de différence, la valeur-p étant de 0,92. Il semble donc qu'il n'y a pas de relation entre l'intervalle vaccination-lutte et la présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent.

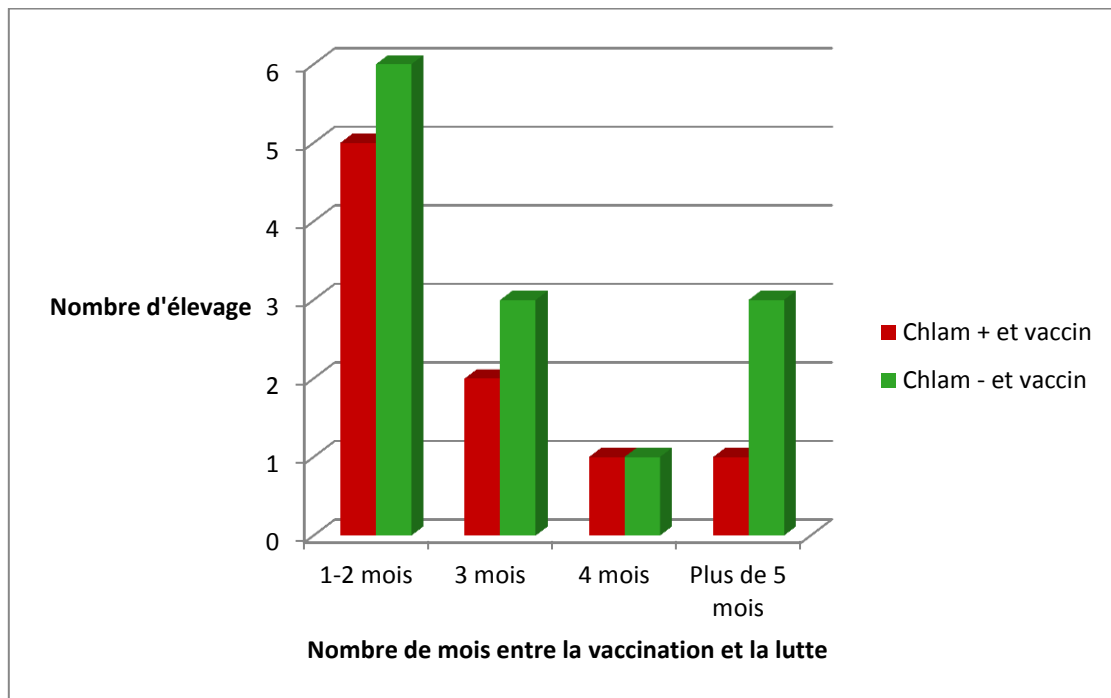


Figure 20 : Comparaison du nombre de mois entre la vaccination et la lutte entre les élevages chlam + et vaccin et les élevages chlam - et vaccin

Puis la relation entre la marque du vaccin utilisé et la présence d'avortements chlamydiens a été étudiée. Sur l'ensemble des éleveurs interrogés, 21 éleveurs (soit 60% des éleveurs) vaccinaient avec le CEVAC ChlamydiaND et 14 éleveurs (soit 40% d'entre eux) avec l'Ovilis ChlamydiaND. Si l'on compare maintenant les élevages des groupes « chlam + et vaccin » et « chlam – et vaccin », on obtient le tableau suivant (Tableau 12). Une analyse statistique avec un test du khi 2 en appliquant la correction de Yates a montré qu'il n'y a pas de relation entre la nature du vaccin utilisé et la présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent (p = 0,88).

Tableau 12 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la marque des vaccins utilisés

| | CEVAC Chlamydia ND | Ovilis Chlamydia ND | Total |
|------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------|
| Elevages chlam + | 6 | 3 | 9 |
| Elevages chlam – | 8 | 5 | 13 |
| Total | 14 | 8 | 22 |

On s'est ensuite intéressé à la conservation du vaccin par les éleveurs, que ce soit lors du transport de la clinique à l'élevage ou sur l'élevage. Les possibilités étaient le transport dans un sac isotherme avec plaques eutectiques, dans un sac isotherme sans plaque et dans un sac plastique sans précaution vis-à-vis de la chaleur. On s'aperçoit à la lecture des résultats que les éleveurs suivent en grande majorité les recommandations de l'AMM (à savoir, conserver et transporter à une température comprise entre 2 et 8°C) car 27 d'entre eux (environ 77%) le transportent dans un sac isotherme avec plaques eutectiques et donc seulement 8 (environ 23%) le transportent sans précaution (Figure 21).

Pour la conservation sur l'élevage, les éleveurs avaient le choix entre le réfrigérateur (fonctionnel), l'armoire à pharmacie ou une absence de stockage, les animaux étant vaccinés immédiatement. Pour cette question, personne n'a répondu qu'il le conservait dans l'armoire à pharmacie de l'exploitation, 28 éleveurs (soit 80%) stockent le vaccin dans le réfrigérateur de la maison et 7 éleveurs (soit 20%) vaccinent dès le retour à l'élevage.

En comparant les réponses des deux groupes qui nous intéressent aux deux questions précédentes avec un test exact de Fisher, on obtient une valeur-p de 1 pour les deux questions. La conservation du vaccin durant le transport et à l'élevage ne semble donc pas être un facteur de risque de présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent.

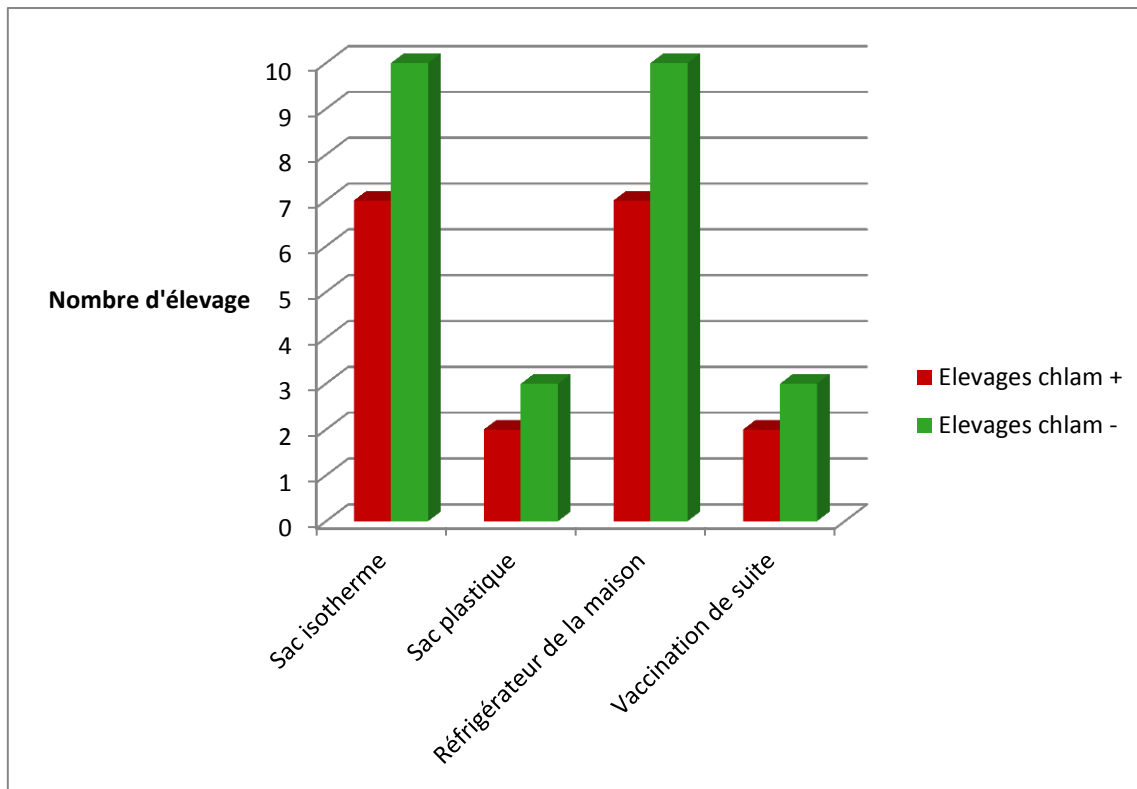


Figure 21 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la conservation du vaccin durant le transport et sur l'élevage

Concernant la voie d'administration du vaccin, 3 réponses étaient possibles : sous-cutanée avec pli de peau, sous-cutanée (SC) avec aiguille courte ou intra musculaire (IM). La notice du vaccin précise bien : « une dose de 2 mL par voie sous-cutanée ». Cette question nous a également permis d'aborder la question de la dose de vaccin injectée. Tous les éleveurs ont répondu qu'ils administraient une dose de 2 mL par brebis. En outre, pour ce qui est du type d'injection, 32 éleveurs (soit environ 91%) réalisaient l'injection vaccinale en SC dont 24 en faisant un pli de peau (soit environ 69%) et 3 éleveurs (9%) la réalisaient en IM. Une fois de plus, la notice est respectée dans la grande majorité des cas. Ici également (Tableau 13), si l'on compare les élevages avec un test exact de Fisher, on obtient une valeur-p de 0,82 ce qui semble indiquer une absence de relation entre la voie d'administration du vaccin et la présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent.

Tableau 13 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la voie d'administration du vaccin

| | SC avec pli de peau | SC avec aiguille courte | IM | Total |
|------------------|---------------------|-------------------------|----|-------|
| Elevages chlam + | 6 | 2 | 1 | 9 |
| Elevages chlam - | 7 | 5 | 1 | 13 |
| Total | 13 | 7 | 2 | 22 |

La question suivante était celle de la contention des animaux lors de la vaccination. Trois réponses étaient possibles : tous les animaux bloqués aux cornadis, utilisation d'un couloir de contention ou équivalent ou, enfin, vaccination dans l'enclos avec marquage des brebis vaccinées (cette nuance a été rajoutée après coup car tous les éleveurs réalisant la vaccination avec cette méthode marquaient les brebis pour ne pas en oublier ou en vacciner une deux fois). Parmi tous les éleveurs sondés, la plupart (n = 24 soit 69%) réalisaient la vaccination en bloquant tous les animaux au cornadis pour ne pas en oublier, 9 la réalisaient directement dans l'enclos en marquant avec une bombe ou un crayon de marquage les brebis vaccinées (en règle générale ce sont des élevages avec peu d'animaux à vacciner). Enfin, deux éleveurs possédaient des enclos avec des barrières mobiles, ce qui leur permettait de ménager une sorte de couloir de contention et de vacciner les brebis à l'intérieur. Si l'on compare maintenant les deux groupes qui nous intéressent avec le test exact de Fisher, la valeur-p est de 0,33 ce qui signifie que les deux variables sont indépendantes (Tableau 14).

Tableau 14 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et les modes de contention des animaux

| | Cornadis | Couloir de contention | Parc/Marquage | Total |
|------------------|----------|-----------------------|---------------|-------|
| Elevages chlam + | 5 | 1 | 3 | 9 |
| Elevages chlam - | 11 | 0 | 2 | 13 |
| Total | 16 | 1 | 5 | 22 |

Par la suite, les éleveurs devaient indiquer comment ils géraient les doses. L'objectif était de savoir si toutes les brebis étaient vaccinées (achat de plus de doses de vaccin que de brebis si le nombre de brebis était différent du nombre de doses possible) ou si certaines

recevaient moins de vaccin ou bien n'étaient pas vaccinées du tout. Une autre question évoquait le matériel utilisé pour réaliser l'injection pour vérifier s'il était propre et adapté.

Dans la majorité des élevages (n=22 soit 63%), la vaccination était faite à l'aide d'un pistolet avec des aiguilles jetables, les autres utilisaient soit des seringues en plastique jetables avec des aiguilles jetables (4 éleveurs soit environ 11%), soit des seringues réutilisables avec des aiguilles jetables (5 éleveurs soit environ 14%) ou des aiguilles réutilisables (4 éleveurs soit environ 11%). Le matériel réutilisable était seulement nettoyé à l'eau dans 84% des élevages (n=26) ; dans les autres, les éleveurs les nettoyaient à l'alcool (n=1), avec un désinfectant ménager (n=1) ou avec du produit de pré-trempeage des trayons (n=1). Enfin 2, deux d'entre eux faisaient bouillir le matériel après l'avoir utilisé.

Pour la gestion des doses, neuf éleveurs n'achetaient pas autant de doses que d'animaux à vacciner. Six d'entre eux diminuaient les doses sur la fin du chantier de vaccination pour que tous les animaux soient vaccinés et les 3 autres ne vaccinaient pas les derniers animaux. Il faut tout de même noter que dans la majorité des élevages (n=26), toutes les brebis du lot ciblé sont vaccinées. Les réponses pour les élevages des groupes « chlam + et vaccin » et « chlam – et vaccin » sont reportées sur la Figure 22. En comparant avec un test exact de Fisher, la valeur-p obtenue est de 0,34 et donc la « gestion » des doses ne semble pas être un facteur de risque de la présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent.

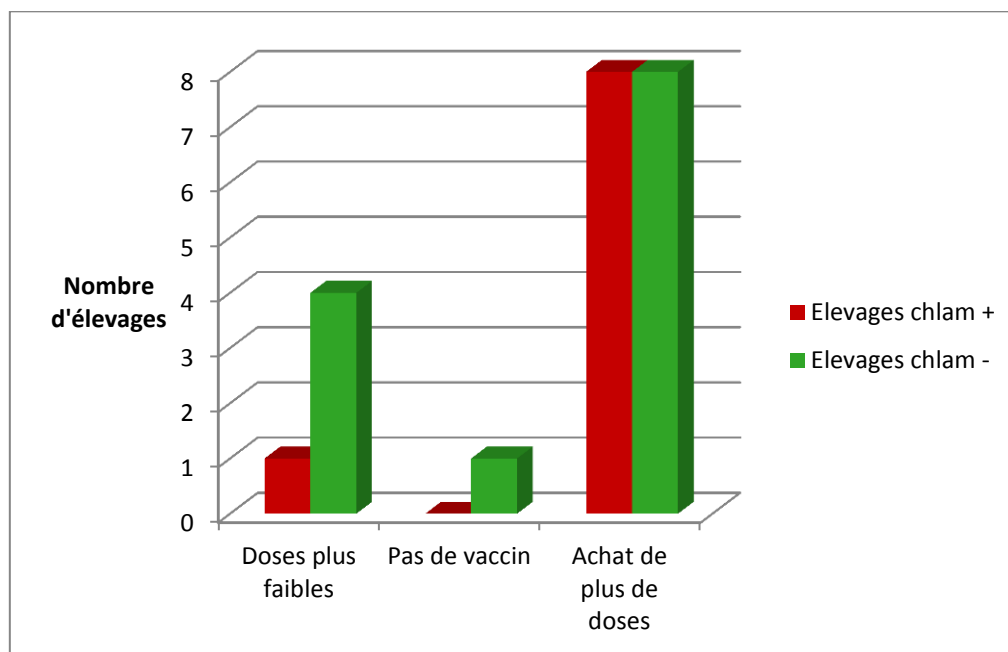


Figure 22 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la "gestion" des doses vaccinales

Les données correspondant au nombre de brebis vaccinées avec une même aiguille, au nombre d'années de vaccination dans l'élevage et à la réalisation de vaccins autre que la chlamydie ne sont pas liées statistiquement aux groupes « chlam + et vaccin » et les groupes « chlam – et vaccin » car les valeurs-p de ces trois facteurs sont respectivement de 0,55, 0,57 et 0,67. Cependant, ces données restent intéressantes dans leur ensemble pour évaluer les protocoles vaccinaux.

Les éleveurs, dans l'ensemble, changeaient peu d'aiguille lors de la vaccination (60% d'entre eux vaccinent plus de 30 brebis avec une même aiguille). Cependant, 5 éleveurs ayant participé à l'enquête vaccinaient seulement 10 brebis avec la même aiguille. Ce sont, bien évidemment, des éleveurs possédant peu d'animaux à vacciner à chaque chantier de vaccination.

Pour le nombre d'années de vaccination, il est intéressant de noter que la plupart des éleveurs de l'étude vaccinaient depuis plus de 20 ans (ils vaccinaient auparavant avec le Chlamyvox FQND). Cette situation est particulièrement vraie pour les élevages appartenant aux groupes « chlam + et vaccin » et « chlam – et vaccin » (Figure 23). En effet, l'étude Midi-Pyrénées remontant à quatre ans auparavant, les éleveurs ayant eu de la chlamydie et ayant commencé à vacciner ont forcément répondu « moins de 2 ans » ou « entre 2 et 5 ans ».

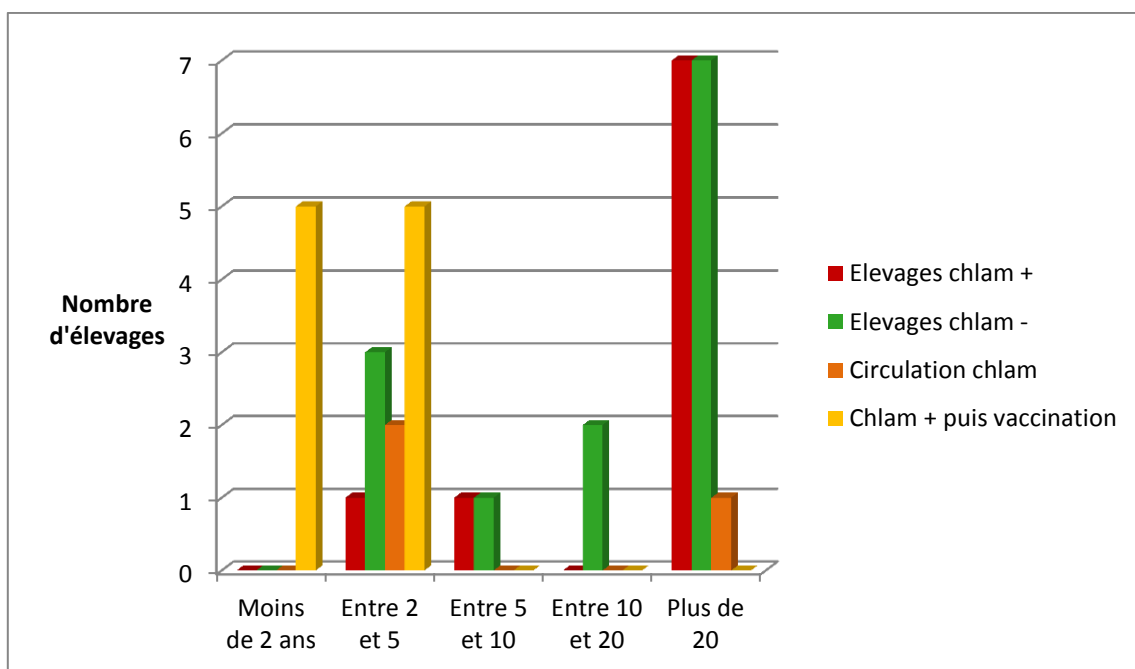


Figure 23 : Nombre d'années de vaccination dans chaque élevage de l'étude

Enfin, si l'on s'intéresse aux vaccins réalisés par les éleveurs de l'étude, 88,1% d'entre eux vaccinent contre au moins un des agents infectieux abortifs existant chez les ovins et 83,3% des éleveurs vaccinent contre la chlamydie. Ces deux chiffres ne sont pas représentatifs de la totalité des élevages aveyronnais. En effet, un biais existe puisque, pour l'étude, la plupart des éleveurs devaient vacciner contre la chlamydie. Cependant, 38,1% de ces éleveurs vaccinaient en outre contre la toxoplasmose et 16,7% contre la fièvre Q (Figure 24).

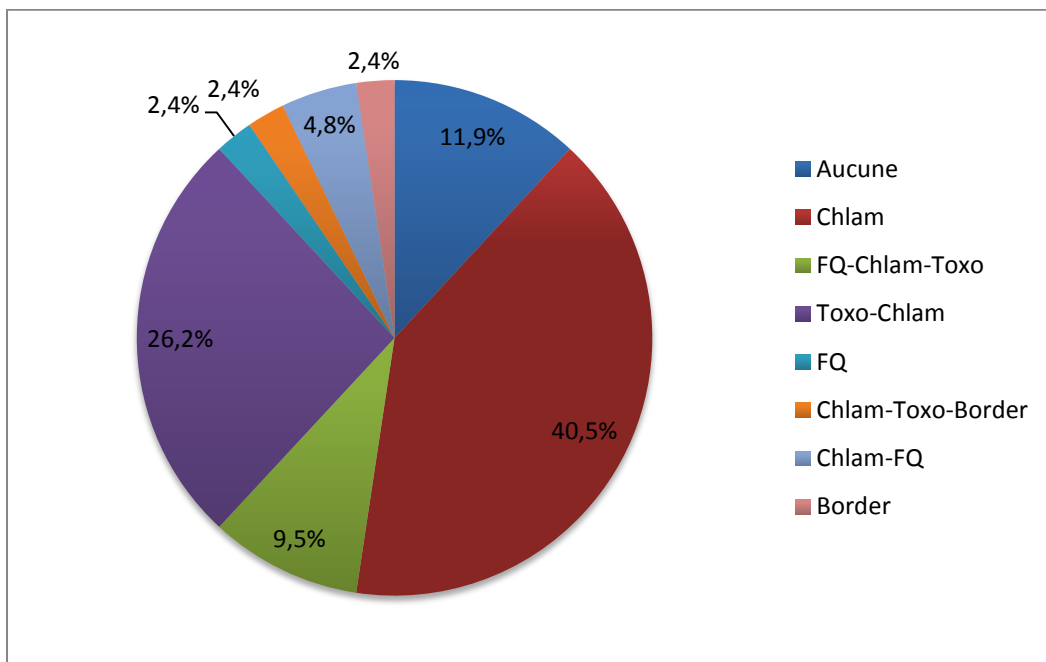


Figure 24 : Vaccinations pratiquées par les éleveurs de l'étude

e) Analyse des mesures sanitaires

Pour les questions relatives aux mesures sanitaires, les réponses ont été analysées en comparant dans un premier temps les groupes « chlam + et vaccin » et « chlam – et vaccin » (comparaison 1), puis les groupes « chlam positif » et « chlam négatif » en ajoutant les élevages ayant eu un épisode abortif dû à la chlamydie et ne vaccinant pas (comparaison 2) et enfin, lorsque cela était possible, les groupes « chlam positif », « chlam négatif » et « circulation chlam » (comparaison 3).

Pour débiter cette partie, le devenir des produits d'avortement a d'abord été analysé, que ce soit l'avorton ou le placenta avec pour chacun une différence faite entre la destruction (équarrissage, charnier...) et la seule récupération (extérieur de la bergerie, fumier, donné au chien...) (Figure 25). Les éleveurs essayaient toujours de récupérer les avortons (s'ils les

trouvaient) mais seulement 18 sur 42 les détruisaient. Trois éleveurs sur 42 ne récupéraient pas les placentas et, parmi ceux qui les récupéraient, seulement 14 les détruisaient. Encore une fois, en effectuant les différentes comparaisons possibles, on s'aperçoit que le devenir des produits d'avortement ne semble pas être un facteur de risque de la présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent. L'étude n'a pas non plus permis de montrer que c'était un facteur de risque de présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages ovins en général. En effet, les valeurs-p pour le devenir des avortons sont de 0,74 (comparaison 1) et 0,83 (comparaison 2) et pour le devenir des placentas de 0,16 (comparaison 1) et 0,34 (comparaison 2).

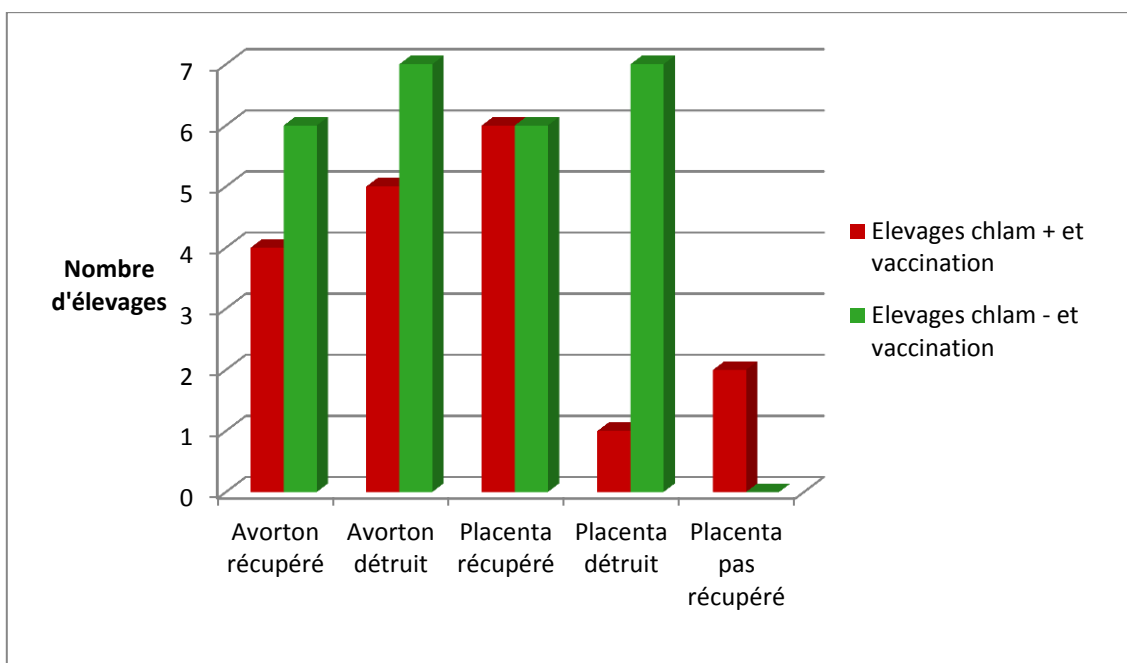


Figure 25 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et le devenir des avortons et des placentas

Puis, venait la question du parage des brebis venant d'agneler dans des cases individuelles et du caractère systématique ou non de cette pratique (

Tableau 15). Seulement 12 éleveurs faisaient passer toutes leurs brebis systématiquement en case individuelle. Elles y restaient au moins 24h en moyenne, mais, en cas d'agnelages regroupés, elles y restaient moins longtemps pour laisser la case à une autre brebis venant de mettre bas. Un éleveur n'en faisait passer aucune en case et les 29 restants ne recourraient à des cases d'agnelage que pour les brebis avec deux ou trois agneaux ; les brebis avec un seul agneau étaient alors parquées en petits groupes de 10 à 15 têtes. L'analyse de ces données pour évaluer la relation entre le passage en case individuelle et les avortements

chlamydiens n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative. En effet, pour la comparaison 1, la valeur-p est de 0,64, pour la comparaison 2 elle est de 0,77 et pour la comparaison 3 elle est de 0,65.

Tableau 15 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la gestion des brebis au moment des agnelages

| | Cases d'agnelage systématique | Cases d'agnelage pour doubles et triples | Pas de case individuelle | Total |
|-----------------------------------|-------------------------------|--|--------------------------|-------|
| Elevages chlam + et vaccination | 4 | 5 | 0 | 9 |
| Elevages chlam - | 3 | 9 | 1 | 13 |
| Circulation | 1 | 6 | 0 | 7 |
| Elevages chlam + sans vaccination | 4 | 9 | 0 | 13 |
| Total | 12 | 29 | 1 | 42 |

En ce qui concerne le devenir des brebis après leur avortement, l'enquête s'intéressait à la séparation de ces brebis du reste du cheptel en demandant de préciser si elles étaient séparées des brebis gravides, des allaitantes ou des deux. Trois éleveurs ont répondu qu'ils ne les séparaient pas du tout. Ces derniers sont des éleveurs avec de petits cheptels avec un seul bâtiment et où toutes les brebis sont mélangées, gravides comme allaitantes. Ces trois élevages sont des élevages dans lesquels l'épisode abortif avait été attribué à la chlamydie.

Pour les autres élevages, la réponse qui revenait le plus souvent était que les exploitants séparaient les avortées des brebis gravides (21 sur 45). En effet, si la brebis avait mis du pis (ce qui était souvent le cas avec la chlamydie dans la mesure où les avortements sont tardifs) alors les éleveurs la mettaient avec les brebis allaitantes pour lui faire adopter un agneau d'une femelle qui en avait fait 2 ou 3 et qui avait du mal à tous les allaiter. Cette pratique n'est pas sans risque car, comme nous l'avons vu, la bactérie peut être excrétée dans le lait et il existe un risque de contamination des agneaux allaités par ces brebis. D'autres éleveurs (8 sur 45) les séparaient des allaitantes, soit pour les remettre à la reproduction le plus tôt possible avec les femelles « tardives » (en monte naturelle), soit par méconnaissance des risques de transmission (comme ils ne connaissent pas exactement le mode de transmission, il est plus facile pour les éleveurs de ne pas changer la brebis de lot et donc de la laisser avec le lot de brebis gravides).

Même si l'on voit que certaines pratiques sont à risque, elles sont à la fois réalisées par des éleveurs vaccinant et ayant des avortements à *Chlamydia* et par des éleveurs vaccinant sans problème de chlamydirose. En analysant donc les données à l'aide des tests statistiques à notre disposition, nous avons obtenu des valeurs-p de 0,72 pour la comparaison 1, 0,98 pour la comparaison 2 et 0,43 pour la comparaison 3. Les variables sont donc indépendantes et dans cette étude, il n'y a vraisemblablement pas de relation entre la gestion des brebis ayant avorté et la présence d'avortements à *C. abortus* dans les élevages qui vaccinent. Nous pouvons cependant noter que les seuls éleveurs ne séparant pas du tout les brebis et donc gardant les brebis ayant avortées avec les gravides et les allaitantes sont des élevages où des chlamydias ont été retrouvées lors de la série abortive (Figure 26).

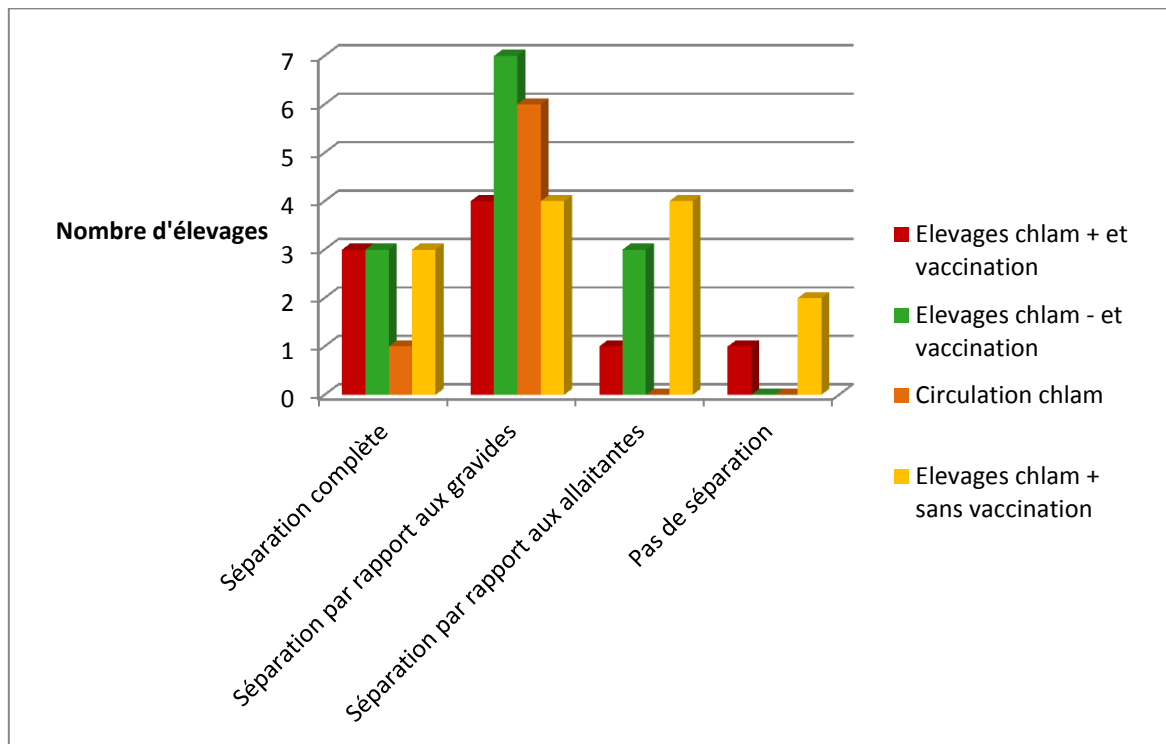


Figure 26 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la gestion des brebis après avortement

Par la suite, les réponses relatives à l'introduction de nouveaux animaux dans l'élevage ont été analysées dans un premier temps en ne tenant pas compte du type d'animaux introduits dans un premier temps (mâles et femelles) puis en étudiant seulement les introductions de femelles (agnelles ou adultes). Ce sont des introductions ayant eu lieu dans les 3 ans précédant l'épisode abortif.

Sans tenir compte du type d'animaux introduits, on note que les deux variables ne sont pas indépendantes et de ce fait, que l'introduction de nouveaux animaux provenant d'un autre élevage est une pratique à risque qui peut favoriser l'apparition d'avortements à *Chlamydia*. En effet, la valeur-p est de 0,07 ($<0,1$) pour la comparaison 2 (pour rappel élevages chlam + et élevages chlam -). Cette valeur-p n'est cependant que de 0,3 pour la comparaison 1 et de 0,16 pour la comparaison 3 mais une tendance se dégage tout de même. Si l'on observe les Figure 28, la majorité des élevages pour lesquels l'épisode abortif a été attribué à la chlamydie ou pour lesquels une circulation de *Chlamydia* a été mise en évidence introduisaient des animaux provenant d'un autre élevage. D'un autre côté, pour les élevages du groupe « chlam – et vaccination », il y avait sensiblement le même nombre d'éleveurs qui introduisaient ou non des animaux.

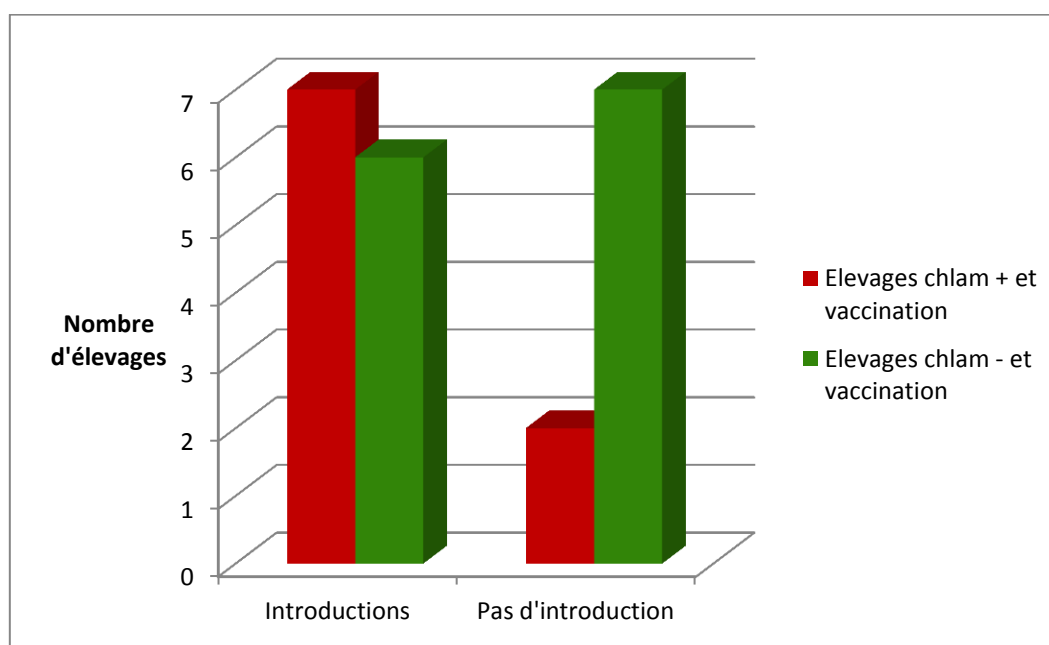


Figure 27 : Relations entre l'introduction d'animaux provenant d'un autre élevage et la présence ou non d'avortements chlamydiens dans les élevages pratiquant la vaccination

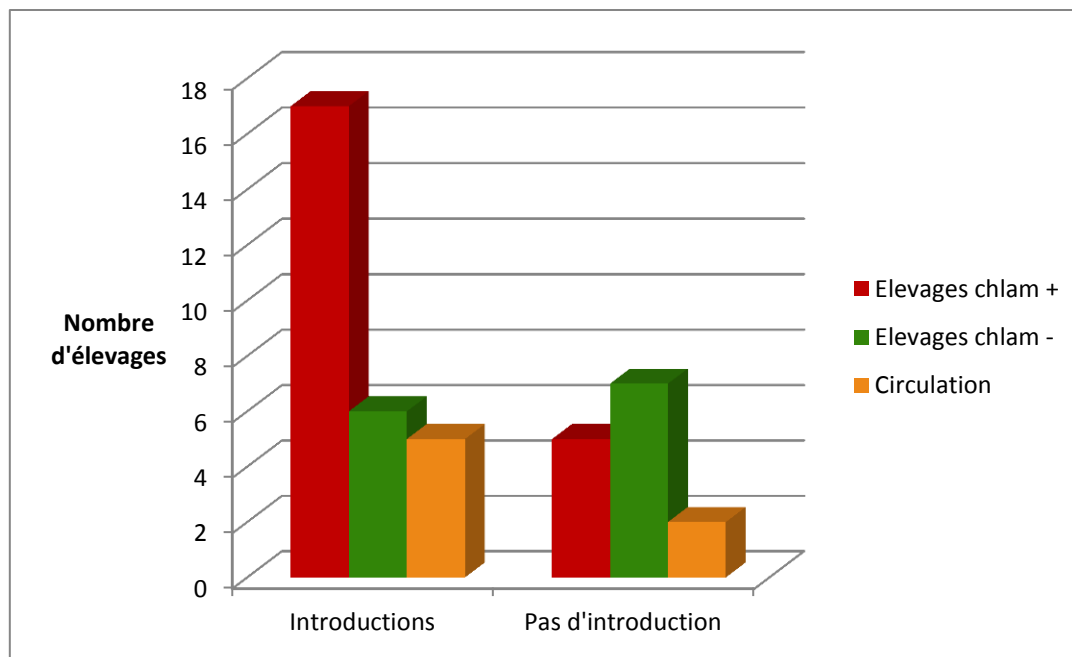


Figure 28 : Relations entre l'introduction d'animaux provenant d'un autre élevage et la présence ou non d'avortements chlamydiens

Si l'on se penche maintenant uniquement sur l'introduction de femelles, les deux variables sont indépendantes. En effet, les valeurs-p obtenues sont de 0,109 pour la comparaison 1, 0,112 pour la comparaison 2 et de 0,11 pour la comparaison 3. Une tendance se dégage cependant ici puisque l'on peut constater que la majorité des élevages chlam – vaccinant n'introduisait pas de femelles (10 sur 13 soit environ 77%) alors que la majorité des élevages chlam + vaccinant en introduisait (6 sur 9 soit environ 67%) (Tableau 16).

Tableau 16 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la présence d'introduction de femelles provenant d'un autre élevage

| | Introduction de femelles | Pas d'introduction de femelles | Total |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------|
| Elevages chlam + et vaccination | 6 | 3 | 9 |
| Elevages chlam + | 12 | 9 | 21 |
| Elevages chlam - | 3 | 10 | 13 |
| Circulation chlam | 2 | 5 | 7 |

La comparaison des différentes réponses en fonction des groupes sur cette question montre que l'introduction d'animaux dans l'élevage constitue une pratique à risque. Cette donnée est à recouper avec la question suivante concernant les éventuelles précautions prises

avec ces animaux introduits. Sur les 28 éleveurs achetant des animaux à d'autres éleveurs, seulement 5 les mettaient en quarantaine pendant quelques semaines et un éleveur les achetait déjà vaccinées. Tous les autres éleveurs ne prenaient pas de précautions particulières (22 sur 28 soit environ 78% des éleveurs). Sachant que la bactérie est excrétée dans les produits d'avortement et qu'une brebis peut excréter pendant 2 à 3 semaines aux mises bas suivantes, si l'éleveur introduit dans son élevage des brebis ou des agnelles ayant été en contact avec des brebis ayant avorté, celles-ci peuvent être infectées et excréter à l'agnelage suivant.

Les pratiques des éleveurs par rapport à la litière ont ensuite été étudiées. Tout d'abord, 98% d'entre eux repaillaient les cases individuelles entre deux brebis. Lors d'avortement, les pratiques étaient diverses. La plupart des éleveurs ne faisaient rien de particulier par rapport à d'habitude. Cinq éleveurs faisaient un paillage supplémentaire là où ils avaient retrouvé l'avorton et sa mère et trois éleveurs ajoutaient au paillage un désinfectant (n=1), un asséchant de litière (n=1) ou un valorisateur de fumier (n=1). Aucune comparaison n'est possible ici, puisque tous les éleveurs avaient à peu près les mêmes pratiques.

Dans l'étude, 12 éleveurs avaient une gestion du troupeau avec plusieurs lots. Nous nous sommes donc intéressés à la gestion de ces lots par rapport aux enclos. Mais ce qui a été le plus intéressant, c'est que tous les élevages concernés étaient des élevages pour lesquels l'épisode abortif avait été attribué à la chlamydie ou ayant eu une circulation de *Chlamydia* (Tableau 17). Cela veut donc dire qu'aucun élevage « chlam – » de l'étude n'a eu une gestion en lots multiples. Nous ne pouvons pas conclure que la gestion en lot est à risque mais ce point demanderait à être contrôlé.

Tableau 17 : Relations entre la présence ou non d'avortements chlamydiens et la gestion des lots

| | Bâtiments différents et roulement | Séparation dans l'espace mais même bâtiment et roulement | Séparation dans le même bâtiment sans roulement | Bâtiments différents sans roulement | Total |
|-----------------------------------|-----------------------------------|--|---|-------------------------------------|-------|
| Elevages chlam + et vaccination | 2 | 3 | 0 | 0 | 5 |
| Elevages chlam - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Circulation | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Elevages chlam + sans vaccination | 2 | 3 | 0 | 1 | 6 |
| Total | 4 | 6 | 1 | 1 | 12 |

La question du devenir des brebis ayant avorté pour la gestation suivante a ensuite été abordée. Seuls 5 éleveurs pratiquaient une réforme systématique. Les 37 autres éleveurs transféraient les brebis avortées soit dans le lot suivant soit pour la gestation suivante l'année d'après. L'analyse statistique des réponses à cette question n'a pu être menée que pour la comparaison 2, la quasi-totalité des éleveurs gardant les brebis ayant avorté. La valeur-p obtenue est de 0,34 donc aucune relation entre cette pratique et la présence d'avortements chlamydiens n'a pu être démontrée dans l'étude.

Enfin, il a été demandé aux éleveurs ce qu'ils faisaient lorsqu'une brebis donnait naissance à un agneau vivant et l'autre mort. La totalité des éleveurs a répondu qu'ils laissaient cette brebis et son agneau avec les autres femelles allaitantes dès la mise bas. Puis la question qui en découlait était : dans l'hypothèse où cet agneau est une femelle, peut-elle être gardée pour le renouvellement ? Trente-six éleveurs déclaraient la conserver si elle était bien conformée, et seulement 6 éleveurs la vendaient systématiquement (dont 3 éleveurs ne gardant pas de renouvellement). La réponse à cette question est retranscrite dans la Figure 29. Cette pratique est à risque quant au maintien ou à la diffusion de la maladie dans l'élevage car, parfois, une brebis atteinte de chlamydie va donner naissance à un agneau mort et l'autre viable (souvent chétif) et donc la brebis va excréter des bactéries. L'agnelle présentera elle-aussi un risque de transmettre la maladie au cours des gestations à venir.

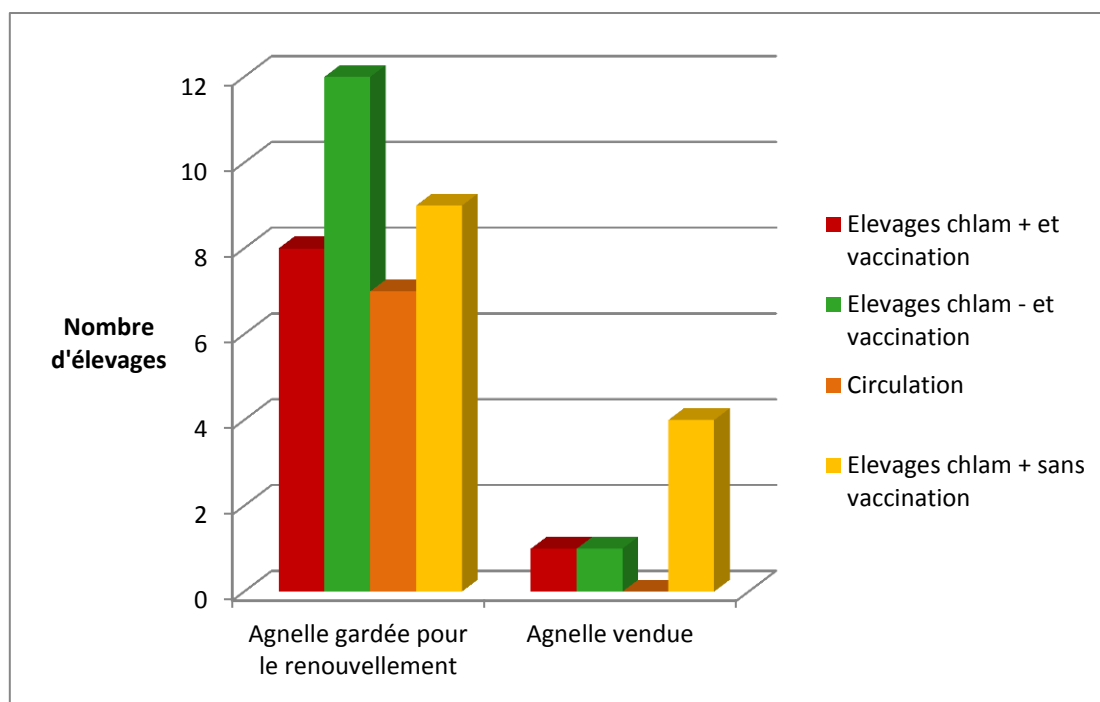


Figure 29 : Devenir des agnelles jumelles d'un mort

f) Analyse des traitements antibiotiques réalisés

Tous les éleveurs n'ont pas forcément traité avec un antibiotique lors des séries abortives considérées dans l'étude. En effet, environ 90% des éleveurs l'ont fait, une grande majorité d'éleveurs traitant avec de l'oxytétracycline longue action (n=34). Ils ont traité en majorité les brebis gravides (n=29) mais certains d'entre eux ont traité tout le lot, brebis avortées et brebis gravides (n=11). Enfin, 6 éleveurs ne traitaient que les brebis venant d'avorter (Tableau 18).

19% des éleveurs traitaient avec une association de deux antibiotiques. Cette association était toujours constituée d'oxytétracycline longue action (DumphacyclineND, Tenaline LAND) à laquelle était ajouté un traitement à la spiramycine (SuanovylND), pénicilline et streptomycine (IntramicineND) ou Triméthoprime-sulfamide (TrisulmixND, SeptotrylND...). Les doses et le rythme d'administration étaient adaptés à chaque antibiotique.

Tableau 18 : Traitements antibiotiques effectués lors d'avortements

| | Oxytétracycline LA | TMP Sulfa | Spiramycine | Penicilline + Streptomycine | Total |
|-----------------|--------------------|-----------|-------------|-----------------------------|-------|
| Tout le lot | 10 | 0 | 0 | 1 | 11 |
| Avortées | 1 | 0 | 0 | 5 | 6 |
| Brebis gravides | 23 | 4 | 2 | 0 | 29 |

Puis en termes de rapidité de prise en charge, nous avons observé (Tableau 19) que la majorité des éleveurs traitait à partir de deux voire de cinq avortements, ce qui correspond environ au seuil de déclaration obligatoire fixé par la réglementation. Quatre éleveurs ont tout de même indiqué avoir commencé le traitement antibiotique dès le premier avortement. Les éleveurs réagissaient donc assez rapidement.

Tableau 19 : Nombre d'avortements nécessaires à la mise en place de l'antibiothérapie

| | Dès le 1er avortement | A partir de 2 | A partir de 5 |
|-------------------|-----------------------|---------------|---------------|
| Nombre d'élevages | 4 | 16 | 18 |
| Pourcentage | 10,5 | 42,1 | 47,4 |

III. Discussion générale

Comme nous l'avons déjà évoqué dans la partie des résultats, la constitution de l'échantillon a été faite sur la base du volontariat, en choisissant les élevages parmi ceux ayant eu au moins une série abortive depuis novembre 2013. Nous étions donc limités dans la constitution des groupes puisque nous ne pouvions pas fixer le nombre d'élevages pour lesquels la série abortive était due à la chlamydie et pratiquant la vaccination. Le problème était le même pour les autres groupes et nous avons donc décidé d'élargir la population étudiée afin de recueillir notamment plus d'informations sur la mise en œuvre des protocoles vaccinaux.

Les groupes constitués avaient des effectifs hétérogènes mais l'effectif total des élevages enquêtés (n=42) était intéressant pour une étude sur le terrain.

Pour l'exploitation des données de l'enquête, le faible effectif de chaque groupe (n=9 pour le groupe « chlam + et vaccin » et n=13 pour le groupe « chlam – et vaccin ») a limité la possibilité de mettre en évidence des facteurs de risque, nous avons manqué de puissance statistique. En effet, pour certains points, comme par exemple l'introduction de femelles dans l'élevage, on arrive à déceler une certaine tendance mais la p-value obtenue est supérieure à 0,1 et on ne peut donc pas conclure à une relation entre les deux variables.

Des effectifs plus conséquents dans les deux groupes qui nous intéressaient en priorité auraient peut-être permis de mettre en évidence davantage de facteurs de risque.

Parmi les facteurs de risque mis en évidence dans cette étude, on retrouve l'introduction d'animaux, quel que soit leur sexe. C'est un facteur de risque qui avait déjà été mis en évidence dans une étude menée au Costa Rica dans laquelle un questionnaire sur les pratiques des éleveurs était proposé et confronté avec les résultats de sérologie (Villagra-Blanco *et al.*, 2015). Ils ont aussi montré que le manque de zone de quarantaine ou de box représentait un facteur de risque important dans la transmission de la chlamydie.

J. Gutierrez et ses collègues ont essayé de proposer un test pour effectuer un dépistage des brebis avant l'introduction. En effet, ils ont montré que de l'ADN de *C. abortus* était mis en évidence, dans la majorité des cas, dans des écouvillons conjonctivaux lors du premier œstrus suivant l'infection (Gutierrez *et al.*, 2011). Les conditions requises étant difficiles à réunir (trouver le premier œstrus suivant l'infection), il semble préférable de n'introduire que des animaux provenant d'un élevage sans antécédent récent de série abortive.

L'analyse des résultats de PCR nous a permis dans un premier temps de vérifier que la communication des Ct était importante dans l'interprétation des résultats de PCR en temps réel. En effet, les premiers résultats d'Aveyron Labo ne nous donnant que le résultat positif ou négatif, certaines séries abortives ont donc été classées, au départ, comme étant dues à des chlamydiae. Puis, à la vue des Ct obtenus par les PCR de l'ANSES, qui, pour certains, étaient proches de 40 (ce qui signifie que la quantité d'ADN bactérien présente dans l'échantillon au départ était très faible), nous avons demandé à Aveyron Labo de nous fournir leurs résultats de Ct. Les Ct obtenus par la PCR-TR réalisée à Aveyron Labo étaient sensiblement les mêmes que ceux obtenus par la PCR-TR de l'ANSES avec les mêmes échantillons. Il faut donc, en termes de PCR-TR se méfier d'un résultat simplement qualitatif et préférer exprimer des résultats quantitatifs avec pour chaque échantillon analysé la valeur de Ct correspondante. Ces résultats sont peut-être plus compliqués à interpréter dans la mesure où des seuils « cliniques » n'ont pas été définis à ce jour. Néanmoins, la prise en compte des Ct peut permettre d'écarter certaines imputations à tort des épisodes abortifs à *Chlamydia*.

Concernant le typage des souches de *C. abortus*, nous avons vu que cinq élevages avaient présenté des épisodes abortifs où de la souche vaccinale avait été retrouvée sur au moins un écouvillon vaginal. Un de ces élevages, l'élevage de chèvres, comptait trois échantillons présentant de la souche vaccinale mais le prélèvement sur un avorton était également positif en toxoplasmose. Nous pouvons donc supposer que la souche vaccinale a été retrouvée dans les sécrétions vaginales au moment de l'avortement mais que les chevrettes ont vraisemblablement avorté de toxoplasmose ; nous ne pouvons pas complètement écarter l'hypothèse selon laquelle la souche vaccinale a pu être à l'origine si ce n'est de la série abortive, du moins d'une partie des avortements. En analysant les Ct obtenus avec les échantillons, ceux-ci sont assez faibles pour deux échantillons (24,8 et 26,5) et donc la charge bactérienne dans ces échantillons était importante (trop importante pour affirmer que la souche vaccinale n'est pas impliquée dans les avortements). On peut donc finalement imaginer que la souche vaccinale a été à l'origine d'au moins une partie des avortements.

Pour les élevages ovins dans lesquels de la souche vaccinale a été mise en évidence, cela ne concernait à chaque fois qu'un seul animal et les autres brebis étaient négatives à la PCR *C. abortus*. De plus, sur ces quatre élevages, un seul a eu des analyses positives vis-à-vis d'un autre pathogène majeur (toxoplasmose en l'occurrence).

Parmi les quatre éleveurs concernés, seulement deux ont participé au questionnaire (élevages 1 et 3 du Tableau 8). Concernant la vaccination dans ces deux élevages, elle est

réalisée depuis longtemps et le protocole vaccinal est globalement conforme aux recommandations. Il est tout de même important de noter qu'un des deux éleveurs diminue la dose sur les dernières agnelles pour pouvoir vacciner tous les animaux. Cette pratique peut être à risque du fait d'une quantité trop faible d'antigène injectée et donc d'une immunité plus faible. Cela pourrait expliquer une infection par la chlamydiose malgré la vaccination mais pas vraiment l'identification de la souche vaccinale.

Si l'on se penche maintenant sur les mesures hygiéniques mises en place en cas de série abortive, là encore, les mesures prises sont similaires aux autres élevages et un des deux éleveurs isole même complètement les animaux ayant avorté du reste du troupeau.

Nous ne pouvons donc pas affirmer ou infirmer que la souche vaccinale est responsable de l'avortement de la brebis prélevée ou de la série abortive en question pour trois des élevages. En revanche, l'élevage où le Ct obtenu est de 38, nous pouvons considérer que l'avortement n'est pas dû à la souche vaccinale. En effet, les spécialistes de l'ANSES considèrent qu'avec un Ct supérieur à 35, il y a peu de risque que l'avortement ait été causé par *C. abortus*.

Une étude menée en 2010 était arrivée à des conclusions identiques : le typage des souches retrouvées sur des échantillons provenant de brebis ayant avorté avait mis en évidence la souche vaccinale dans certains échantillons. De plus, les échantillons contenant de la souche vaccinale ne présentaient pas de souche sauvage. Ils avaient donc mis en évidence la souche vaccinale dans les échantillons sans pouvoir prouver sa responsabilité dans l'avortement (bien qu'aucun autre agent abortif n'ait été mis en évidence). De plus, dans la mesure où de la souche sauvage était retrouvée sur des individus vaccinés, la vaccination ne semblait pas permettre une protection complète vis-à-vis de l'infection (Wheelhouse *et al.*, 2010).

L'hypothèse selon laquelle la souche vaccinale retrouvée sur les écouvillons vaginaux n'est pas responsable des avortements mais qu'une autre pathologie en est la cause a déjà été évoquée (Laroucau *et al.*, 2010) ; trois possibilités sont proposées dans cette étude. La première est que le vaccin a été injecté pendant la gestation. La deuxième hypothèse, inspirée de l'observation de Suchland *et al.* (2009) est qu'une souche virulente de *C. abortus* a colonisé une inclusion contenant de la souche vaccinale (Suchland *et al.* 2009). Les deux souches pourraient donc recombinaison leurs génomes et donner des génomes hybrides pouvant potentiellement réagir avec les marqueurs PCR des deux souches. Enfin, la dernière

possibilité est celle qui s'appliquerait vraisemblablement dans trois des quatre élevages de brebis. Elle consiste à dire que les animaux étaient probablement immunodéprimés suite à une infection sous-jacente par un autre pathogène ou que l'avortement a été causé par un autre pathogène non détecté par les analyses.

La troisième hypothèse semble la plus probable dans les élevages concernés. Il serait tout de même intéressant de réaliser des suivis (prélèvements sur avortements) dans ces quatre élevages lors des saisons d'agnelage suivantes pour voir si l'on trouve à nouveau de la souche vaccinale dans les prélèvements par écouvillonnage vaginal. Auquel cas, cela pourrait nous orienter vers une autre hypothèse, comme par exemple la deuxième possibilité évoquée par K. Laroucau et son équipe (qui n'a pas été démontrée à ce jour) ou que le vaccin induit l'avortement (mais dans ce cas plusieurs brebis seraient positives dans le troupeau puisque toutes sont vaccinées avec le même vaccin).

Enfin, pour les élevages dans lesquels de la souche sauvage a été mise en évidence, il faut tenir compte du fait que dans la majorité de ces élevages, la vaccination est réalisée depuis très longtemps. Si l'on se réfère à la physiopathologie de la maladie et à la réponse de l'animal au vaccin, on peut envisager que, normalement, les brebis adultes ne doivent plus excréter de bactérie dans ces élevages. Cependant, si les éleveurs ont introduit, quelques mois ou quelques années auparavant, des animaux porteurs, ces derniers ont pu avorter ou tout simplement excréter la bactérie et donc contaminer les agnelles lors de la période d'allaitement mais également contaminer des brebis adultes. Les agnelles, bien que vaccinées par la suite étaient donc déjà infectées par *C. abortus* et donc le vaccin n'a pas pu les empêcher d'avorter. Cette hypothèse semble être l'hypothèse la plus probable.

On remarque cependant que certains élevages ayant eu de la chlamydie clinique et vaccinant n'introduisaient pas d'animaux. On peut donc supposer (si les réponses données par l'éleveur sont exactes) qu'il existait une infection à bas bruit dans l'élevage sans grande répercussion sur les agnelages et qu'une année, du fait d'une résistance individuelle plus faible des brebis par exemple, l'infection a touché plus d'animaux et a entraîné des avortements.

Pour que la vaccination des agnelles soit efficace et éviter des avortements sur celles-ci, une solution pourrait être de réaliser une sérologie sur le lot d'agnelles avant de les vacciner et de ne vacciner que les agnelles séronégatives. Les séropositives seraient

identifiées et séparées du reste du troupeau au moment de l'agnelage. De ce fait, on limiterait la propagation de l'infection.

Conclusion de la thèse

La vaccination des brebis avec les vaccins Ovilis ChlamydiaND et CEVAC ChlamydiaND reste une mesure efficace de prévention de l'infection, de limitation de l'expression clinique de la maladie et de l'excrétion de bactéries par les animaux infectés. Pour que la protection soit optimale, un protocole strict doit être observé en vaccinant tous les animaux du troupeau, béliers et animaux provenant d'un autre cheptel compris.

Cependant, la vaccination ne permet pas d'enrayer l'expansion de la maladie à elle seule et des mesures prophylactiques sont nécessaires pour diminuer la pression d'infection. Ces mesures sont à mettre en place notamment au moment des mises bas. Cela passe par des mesures d'hygiène mais également de conduite d'élevage au moment du part. Ces mesures sont d'autant plus importantes dans des élevages intensifs où la concentration des animaux favorise la diffusion de *C. abortus*.

La présente étude avait pour but d'essayer de comprendre les mécanismes d'une infection par *Chlamydia abortus* en contexte vaccinal en réalisant tout d'abord un typage des souches isolées. La souche vaccinale a été mise en évidence dans certains élevages qui pratiquaient la vaccination depuis plusieurs années. Le reste des élevages vaccinant les brebis était infecté par de la souche sauvage.

Puis, l'analyse des réponses au questionnaire nous a permis de mettre en évidence des facteurs de risque : l'introduction de nouveaux animaux dans le cheptel et, dans une moindre mesure, la conduite en plusieurs lots. Le questionnaire nous aura également permis de vérifier que les éleveurs réalisent la vaccination selon le protocole recommandé. Il en est de même pour les mesures d'hygiène mises en place : peu d'erreurs sont commises. Cependant, nous avons pu voir que peu d'éleveurs séparaient les brebis avortées du reste des femelles. Mais cela concernait des éleveurs chez qui on retrouvait de la chlamydiose comme ceux qui n'en avaient pas et certains éleveurs avaient de la chlamydiose dans l'élevage même en séparant les avortées.


Quelques questions restent encore sans réponse claire comme la cause exacte de la présence de souche vaccinale 1B dans les produits d'avortement de certaines brebis. Il serait également intéressant de continuer les enquêtes, éventuellement dans d'autres départements, pour disposer d'un échantillon plus important et plus varié d'élevages, ce qui nous permettrait peut-être d'identifier plus de facteurs de risque.

Nous avons également vu que certains élevages vaccinant contre la toxoplasmose avaient tout de même eu une série abortive pour laquelle l'hypothèse forte retenue après analyses était la toxoplasmose. Des investigations pourraient être menées dans le but de comprendre le phénomène et d'apporter des réponses aux interrogations des éleveurs.



AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Xavier BERTHELOT**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Thomas SOUBRIER** intitulée «**La chlamydie abortive ovine : éléments de diagnostic lors d'une série abortive & Analyse des facteurs de risque d'avortements à chlamydia en contexte vaccinal**» et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 4 décembre 2017
Professeur Xavier BERTHELOT
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
**La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse**
Isabelle CHMITELIN

Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jacques IZOPET
Professeur Jacques IZOPET
Chef de Service de Virologie
Plateau Technologique d'Infectiologie
Institut Fédératif de Biologie
330, avenue de Grande-Bretagne
T311 30031 - 31059 TOULOUSE Cedex 9
Tél. 05 67 69 04 22 - Fax 05 67 69 04 25

Thomas SOUBRIER
a été admis(e) sur concours en : 2012
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 23/06/2016
a validé son année d'approfondissement le : 02/11/2017
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL
Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU
Régine ANDRE-OBRECHT
Régine ANDRE-OBRECHT

Bibliographie

AITKEN, I.D., ROBINSON, G.W. et ANDERSON, I.E., 1982. Long-acting oxytetracycline in the treatment of enzootic abortion of ewes. *Veterinary Record*. 1982. Vol. 111, pp. 445-446.

BOREL, N., REGENSCHEIT, N., DI FRANCESCO, A., DONATI, M., MARKOV, J., MASSEREY, Y. et POSPISCHIL, A., 2012. Selection for tetracycline-resistant *Chlamydia suis* in treated pigs. *Veterinary Microbiology*. avril 2012. Vol. 156, n° 1-2, pp. 143-146. DOI 10.1016/j.vetmic.2011.10.011.

BOUAKANE, A., REKIKI, A. et RODOLAKIS, A., 2005. Protection of pregnant mice against placental and splenic infection by three strains of *Chlamydophila abortus* with a live 1B vaccine. *Veterinary Record*. décembre 2005. Vol. 157, pp. 771-774.

BUXTON, D., ANDERSON, I.E., LONGBOTTOM, D., LIVINGSTONE, M., WATTEGEDERA, S. et ENTRICAN, G., 2002. Ovine Chlamydial Abortion: Characterization of the Inflammatory Immune Response in Placental Tissues. *Journal of Comparative Pathology*. octobre 2002. Vol. 127, n° 2-3, pp. 133-141.

CARO, M.R., BUENDÍA, A.J., DEL RIO, L., ORTEGA, N., GALLEGO, M.C., CUELLO, F., NAVARRO, J.A., SANCHEZ, J. et SALINAS, J., 2009. *Chlamydophila abortus* infection in the mouse: A useful model of the ovine disease. *Veterinary Microbiology*. mars 2009. Vol. 135, n° 1-2, pp. 103-111.

CHALMERS, W. S. K., SIMPSON, J., LEE, S. et BAXENDALE, W., 1997. Use of a live chlamydial vaccine to prevent ovine enzootic abortion. *Veterinary Record*. 1997. Vol. 141, pp. 63-67.

DEAN, D., SUCHLAND, R. J. et STAMM, W. E., 2000. Evidence for long-term cervical persistence of *Chlamydia trachomatis* by omp1 genotyping. *Journal of Infectious Diseases*. 2000. Vol. 182, n° 3, pp. 909-916.

DE CRÉMOUX, R., POUGET, C et LACZ, C, 2017. Diagnostic différentiel des avortements chez les petits ruminants en Midi-Pyrénées. *Bulletin des GTV*. 2017. N° 85, pp. 73-82.

ENTRICAN, G., BUXTON, D. et LONGBOTTOM, D., 2001. Chlamydial infection in sheep: immune control versus fetal pathology. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2001. Vol. 94, n° 6, pp. 273-277.

GARCIA DE LA FUENTE, J. N., GUTIERREZ-MARTIN, C. B., ORTEGA, N., RODRIGUEZ-FERRI, E. F., DEL RÍO, L., GONZALEZ, O. R. et SALINAS, J., 2004. Efficacy of different commercial and new inactivated vaccines against ovine enzootic abortion. *Veterinary Microbiology*. 2004. Vol. 100, pp. 65-76.

GERBER, A., THOMA, R., VRETOU, E., PSARROU, E., KAISER, C., DOHERR, M. G., ZIMMERMANN, D. R., POLKINGHORNE, A., POSPISCHIL, A. et BOREL, N., 2007. Ovine Enzootic Abortion (OEA): a comparison of antibody responses in vaccinated and

naturally-infected swiss sheep over a two year period. *BMC Veterinary Research*. 2007. Vol. 3, n° 1, pp. 24.

GRIFFITHS, P.C., PLATER, J.M., HORIZAN, M.W., ROSE, M.P., VENABLES, C. et DAWSON, M., 1996. Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by comparative inclusion immunofluorescence assay, recombinant lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay, and complement fixation test. *Journal of clinical microbiology*. 1996. Vol. 34, n° 6, pp. 1512–1518.

GUTIERREZ, J., WILLIAMS, E.J., O'DONOVAN, J., BRADY, C., PROCTOR, A.F., MARQUES, P.X., WORRALL, S., NALLY, J.E., MCELROY, M., BASSETT, H.F., SAMMIN, D.J. et MARKEY, B.K., 2011. Monitoring clinical outcomes, pathological changes and shedding of *Chlamydophila abortus* following experimental challenge of periparturient ewes utilizing the natural route of infection. *Veterinary Microbiology*. janvier 2011. Vol. 147, n° 1-2, pp. 119-126.

JORGENSEN, D. M., 1997. Gestational Psittacosis in a Montana Sheep Rancher. *Emerging Infectious Diseases*. 1997. Vol. 3, n° 2, pp. 191-194.

LAROUCAU, K., DE CREMOUX, R. et RODOLAKIS, A., 2014. Rôle des chlamydiae dans les avortements des ruminants. *Bulletin des GTV*. 2014. Vol. Hors série 2014, pp. 23-32.

LAROUCAU, K., VORIMORE, F., SACHSE, K., VRETOU, E., SIARKOU, V., WILLEMS, H., MAGNINO, S., RODOLAKIS, A. et BAVOIL, P.M., 2010. Differential identification of *Chlamydophila abortus* live vaccine strain 1B and *C. abortus* field isolates by PCR RFLP. *Vaccine*. 2010. Vol. 28, pp. 5653-5656.

LITWIN, J., 1959. The growth cycle of the psittacosis group of micro-organisms. *Journal of Infectious Diseases*. 1959. Vol. 105, pp. 129-160.

LIVINGSTONE, M., WHEELHOUSE, N., MALEY, S.W. et LONGBOTTOM, D., 2009. Molecular detection of *Chlamydophila abortus* in post-abortion sheep at oestrus and subsequent lambing. *Veterinary Microbiology*. mars 2009. Vol. 135, n° 1-2, pp. 134-141.

LONGBOTTOM, D. et COULTER, L.J., 2003. Animal Chlamydioses and Zoonotic Implications. *Journal of Comparative Pathology*. mai 2003. Vol. 128, n° 4, pp. 217-244. DOI 10.1053/jcpa.2002.0629.

MALEY, S.W., LIVINGSTONE, M., RODGER, S.M., LONGBOTTOM, D. et BUXTON, D., 2009. Identification of *Chlamydophila abortus* and the development of lesions in placental tissues of experimentally infected sheep. *Veterinary Microbiology*. mars 2009. Vol. 135, n° 1-2, pp. 122-127.

MCCAULEY, L., LANCASTER, M., YOUNG, P., BUTLER, K. et AINSWORTH, C., 2007. Comparison of ELISA and CFT assays for *Chlamydophila abortus* antibodies in ovine sera. *Australian Veterinary Journal*. août 2007. Vol. 85, n° 8, pp. 325-328.

MENZIES, P.I., 2012. Vaccination programs for reproductive disorders of small ruminants. *Animal Reproduction Science*. février 2012. Vol. 130, n° 3-4, pp. 162-172. DOI 10.1016/j.anireprosci.2012.01.010.

NAVARRO, J. A., GARCIA DE LA FUENTE, J. N., SANCHEZ, J., MARTINEZ, C. M., BUENDIA, A. J., GUTIERREZ-MARTIN, C. B., RODRIGUEZ-FERRI, E. F., ORTEGA, N. et SALINAS, J., 2004. Kinetics of Infection and Effects on the Placenta of *Chlamydomphila abortus* in Experimentally Infected Pregnant Ewes. *Veterinary Pathology*. 1 septembre 2004. Vol. 41, n° 5, pp. 498-505.

NICOLLET, Ph, MAINGOURD, C. et CHAROLLAIS, P., 2004. 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. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*. 2004. pp. 317-320.

NIETFELD, J.C., 2001. Chlamydial infections in small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2001. Vol. 17, pp. 301-314.

PAPP, J.R. et SHEWEN, P.E., 1996. Pregnancy failure following vaginal infection of sheep with *Chlamydia psittaci* prior to breeding. *Infection and immunity*. 1996. Vol. 64, n° 4, pp. 1116-1125.

POSPISCHIL, A., THOMA, R., HILBE, M., GREY, P., ZIMMERMANN, D. et GEBBERS, J.-O., 2002. Abortion in humans by *Chlamydomphila abortus* (*Chlamydia psittaci* serovar 1). *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*. septembre 2002. Vol. 144, pp. 463-466.

REKIKI, A., BOUAKANE, A., HAMMAMI, S., EL IDRISSE, A. H., BERNARD, F. et RODOLAKIS, A., 2004. Efficacy of live *Chlamydomphila abortus* vaccine 1B in protecting mice placentas and foetuses against strains of *Chlamydomphila pecorum* isolated from cases of abortion. *Veterinary Microbiology*. 2004. Vol. 99, pp. 295-299.

REKIKI, A., HAMMAMI, S. et RODOLAKIS, A., 2006. Comparative evaluation of a new commercial recombinant ELISA and the complement fixation test for the diagnosis of *Chlamydomphila abortus* infection in naturally infected flocks in Tunisia. *Small Ruminant Research*. novembre 2006. Vol. 66, n° 1-3, pp. 58-63.

ROCCHI, M.S., WATTEGEDERA, S., MERIDIANI, I. et ENTRICAN, G., 2009. Protective adaptive immunity to *Chlamydomphila abortus* infection and control of ovine enzootic abortion (OEA). *Veterinary Microbiology*. mars 2009. Vol. 135, n° 1-2, pp. 112-121.

RODOLAKIS, A. et BERNARD, F., 1977. Isolement de chlamydia des organes génitaux de béliers atteints d'épididymite. *Bull. Acad. Vet. Fr*. 1977. Vol. 50, pp. 65-70.

RODOLAKIS, A., LAROUCAU, K., ROUSSET, E. et DE CREMOUX, R., 2013. Vaccination vis-à-vis de la chlamydie abortive et de la fièvre Q chez les petits ruminants. *Bulletin des GTV*. mars 2013. N° 68, pp. 47-56.

RODOLAKIS, A. et LAROUCAU, K., 2015. Chlamydiaceae and chlamydial infections in sheep or goats. *Veterinary Microbiology*. décembre 2015. Vol. 181, n° 1-2, pp. 107-118.

RODOLAKIS, Annie et YOUSEF MOHAMAD, Khalil, 2010. Zoonotic potential of *Chlamydomphila*. *Veterinary Microbiology*. janvier 2010. Vol. 140, n° 3-4, pp. 382-391.

- RODOLAKIS, A., SALINAS, J. et PAPP, J., 1998. Recent advances on ovine chlamydial abortion. *Veterinary research*. 1998. Vol. 29, n° 3, pp. 275–288.
- RODOLAKIS, A. et SOURIAU, A., 1983. Response of ewes to temperature-sensitive mutants of *Chlamydia psittaci* (var ovis) obtained by NTG mutagenesis. *Ann. Rech. Vet.* 1983. Vol. 14, pp. 155-161.
- RODOLAKIS, A., 1983. In vitro and in vivo properties of chemically induced temperature-sensitive mutants of *Chlamydia psittaci* var. ovis: screening in a murine model. *Infection and immunity*. 1983. Vol. 42, n° 2, pp. 525–530.
- SACHSE, K., VRETOU, E., LIVINGSTONE, M., BOREL, N., POSPISCHIL, A. et LONGBOTTOM, D., 2009. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Veterinary Microbiology*. mars 2009. Vol. 135, n° 1-2, pp. 2-21.
- SAMMIN, D.J., MARKEY, B.K., BASSETT, H.F. et MCELROY, M.C., 2005. Rechallenge of previously-infected pregnant ewes with *Chlamydia abortus*. *Vet. Res. Com.* mars 2005. Vol. 29, pp. 81-98.
- SAMMIN, D.J., MARKEY, B.K., QUINN, P.J., MCELROY, M.C. et BASSETT, H.F., 2006. Comparison of Fetal and Maternal Inflammatory Responses in the Ovine Placenta after Experimental Infection with *Chlamydia abortus*. *Journal of Comparative Pathology*. août 2006. Vol. 135, n° 2-3, pp. 83-92.
- SCHAUTTEET, K., DE CLERCQ, E., MIRY, C., VAN GROENWEGHE, F., DELAVA, P., KALMAR, I. et VANROMPAY, D., 2013. Tetracycline-resistant *Chlamydia suis* in cases of reproductive failure on Belgian, Cypriote and Israeli pig production farms. *Journal of Medical Microbiology*. 1 février 2013. Vol. 62, n° Pt_2, pp. 331-334. DOI 10.1099/jmm.0.042861-0.
- SOURIAU, A. et RODOLAKIS, A., 1986. Rapid detection of *Chlamydia psittaci* in vaginal swabs of aborted ewes and goats by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Veterinary Microbiology*. 1986. Vol. 11, pp. 251-259.
- STORZ, J., CARROLL, E.J., STEPHENSON, E.H., BALL, L. et EUGSTER, A.K., 1976. Urogenital infection and seminal excretion after inoculation of bulls and rams with chlamydiae. *American Journal of Veterinary Research*. 1976. Vol. 37, pp. 517-522.
- SUHLAND, R.J., SANDOZ, K.M., JEFFREY, B.M., STAMM, W.E. et ROCKEY, D.D., 2009. Horizontal Transfer of Tetracycline Resistance among *Chlamydia* spp. In Vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. novembre 2009. Vol. 53, n° 11, pp. 4604-4611.
- VILLAGRA-BLANCO, R., DOLZ, G., MONTERO-CABALLERO, D. et ROMERO-ZUÑIGA, J. J., 2015. Detection of antibodies against *Chlamydia abortus* in Costa Rican sheep flocks. *Open veterinary journal*. 2015. Vol. 5, n° 2, pp. 122–126.
- VRETOU, E., RADOUANI, F., PSARROU, E., KRITIKOS, I., XYLOURI, E. et MANGANA, O., 2007. Evaluation of two commercial assays for the detection of *Chlamydia abortus* antibodies. *Veterinary Microbiology*. 20 juillet 2007. Vol. 123, n° 1-3, pp. 153-161.

WHEELHOUSE, N., AITCHISON, K., LAROUCAU, K., THOMSON, J. et LONGBOTTOM, D., 2010. Evidence of *Chlamydophila abortus* vaccine strain 1B as a possible cause of ovine enzootic abortion. *Vaccine*. août 2010. Vol. 28, n° 35, pp. 5657-5663.

WONG, S.Y., GRAY, E.S., BUXTON, D., FINLAYSON, J. et JOHNSON, F.W.A., 1985. Acute placentitis and spontaneous abortion caused by *Chlamydia psittaci* of sheep origin: a histological and ultrastructural study. *Journal of Clinical Pathology*. 1985. Vol. 38, pp. 707-711.

Annexes

Annexe 1 : Prélèvements et analyses à réaliser et grilles d'interprétation des résultats pour les maladies de première et deuxième intention

3. Maladies de Première Intention

- Fièvre Q :

Les prélèvements à réaliser pour le diagnostic direct sont selon un ordre de préférence décroissant : écouvillon de mucus vaginal, placenta (cotylédons), organe de l'avorton (rate, foie), liquide stomacal de l'avorton. A des fins de diagnostic direct, il est recommandé de prélever un maximum de femelles ayant avorté depuis moins de 8 jours (de 2 à 6 écouvillons) car l'excrétion de la bactérie est maximale dans les 8 jours après l'avortement.

Pour le diagnostic indirect, on enverra du sérum de 5 à 10 femelles ayant avorté ou à problème de reproduction et appartenant au lot touché par les avortements.

Seule la fièvre Q, avec l'appui du Laboratoire National de Référence de Sophia Antipolis, bénéficie d'une procédure harmonisée de diagnostic par PCR. Celle-ci a été validée sur écouvillons de mucus vaginal et de cotylédons placentaires. Il s'agit en outre d'une technique en temps réel permettant, grâce à une gamme étalon, de quantifier l'agent pathogène présent.

Une PCR fièvre Q réalisée sur mucus vaginal est considérée comme fortement positive (et donc pouvant être à l'origine de l'avortement) si la quantification dénombre plus de 10^4 *C. burnetii* par écouvillon vaginal individuel ou plus de 10^3 *C. burnetii* pour un mélange de 3 écouvillons vaginaux (issus de 3 animaux) (De Crémoux *et al.*, 2013).

Aussi compte tenu de ces travaux, en ce qui concerne les analyses, pour le diagnostic direct (Figure 30), 2 PCR doivent être réalisées. Elles peuvent être réalisées sur écouvillon individuel ou sur un mélange de 3 écouvillons. Une PCR quantitative est nécessaire pour analyser les prélèvements endocervicaux ou placentaires. Une PCR qualitative est possible sur les échantillons d'organe ou de liquide stomacaux de l'avorton

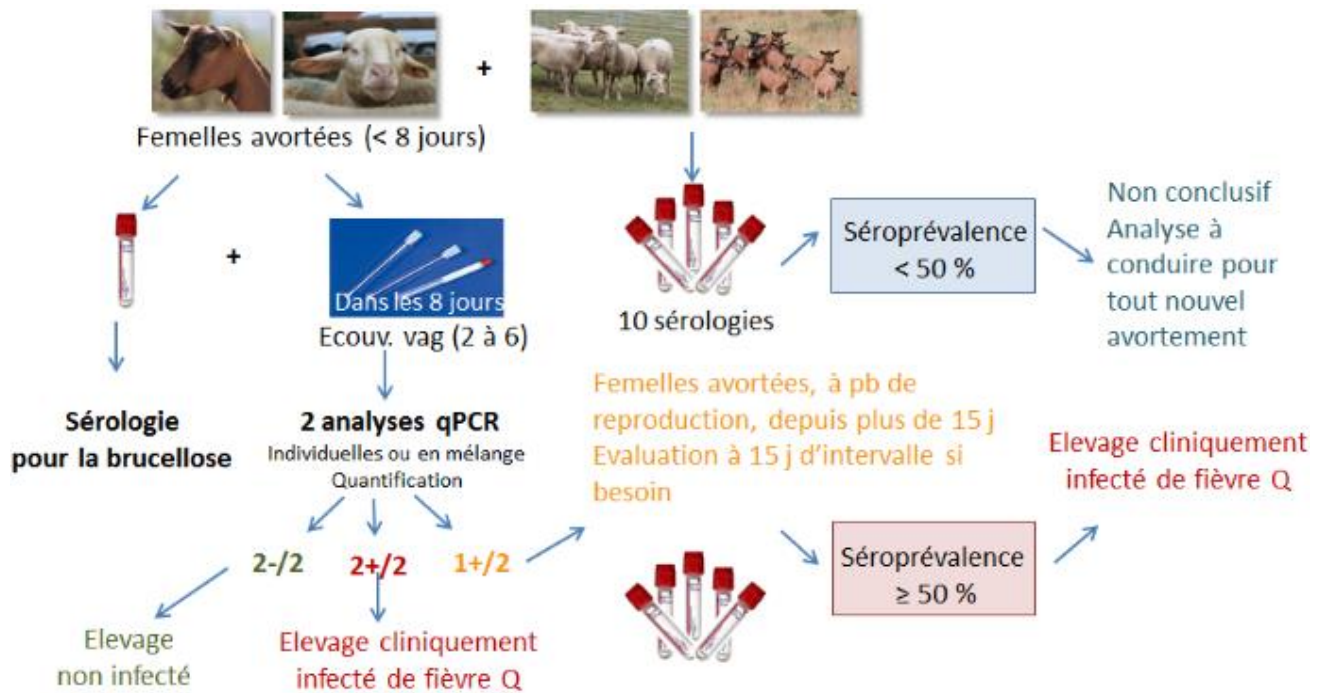


Figure 30 : Arbre décisionnel Fièvre Q - (d'après De Crémoux *et al.*, 2013)

Lors d'un épisode abortif en série, le diagnostic sera établi si deux analyses PCR sont fortement positives (ratio E/P supérieur à 100%) sur écouvillon (individuelles ou mélange) ou positive (sans quantification) sur organe d'avorton. De plus, le diagnostic peut aussi être établi si seulement une PCR est fortement positive sur écouvillon et que la séroprévalence est supérieure à 50% (plus de 5 femelles séropositives) (Tableau 20).

En revanche, si seulement une PCR est fortement positive et que la séroprévalence est inférieure à 50%, la fièvre Q sera une cause possible mais on ne sera pas sûr qu'elle est responsable de cet épisode.

Si les deux PCR sont négatives ou inférieures à la limite de quantification (LQ) ou si on a une PCR inférieure à la LQ et moins de 50% de séroprévalence, il est peu probable que l'épisode abortif soit dû à la fièvre Q.

Dans tous les autres cas, le résultat des analyses est non conclusif.

Tableau 20 : Grille d'interprétation des résultats pour la fièvre Q (d'après Plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats |
|---|--|
| Peu probable (≈0) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 résultats d'analyse PCR sur écouvillon < LD ou/et 2 PCR sans résultat Détecté sur organe ou liquide stomacal des avorton(s)³⁵, ou ✓ 1 résultat d'analyse PCR < LD <u>et</u> moins de 5 femelles séropositives³⁶ |
| Possible (++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 résultat d'analyse PCR > 10⁴ bactéries par écouvillon en analyse individuelle (> 10³ en analyse de mélange) ou 1 PCR avec détection d'ADN cible sur organe ou liquide stomacal d'avorton³⁷ <u>et</u> moins de 5 femelles du lot touché par les avortements séropositives³⁸ |
| Forte (+++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 résultats d'analyses PCR > 10⁴ bactéries par écouvillon en analyse individuelle (> 10³ en analyse de mélange) ou/et 2 PCR avec détection d'ADN cible sur organe des avorton(s)³⁹, ou ✓ 1 résultat PCR > 10⁴ bactéries par écouvillon en analyse individuelle (>10³ en analyse de mélange) ou/et PCR avec détection d'ADN cible sur organe d'un avorton <u>et</u> 5 femelles ou plus séropositives⁴⁰ |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | <ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations |

- La toxoplasmose :

Concernant la toxoplasmose, l'encéphale de l'avorton est à privilégier pour le diagnostic direct. En effet, d'après (Gutierrez *et al.*, 2010), la distribution de *T. gondii* est plutôt hétérogène dans les tissus et donc un résultat négatif ne permettra pas de conclure précisément. Cependant, ils ont montré que le parasite était très souvent retrouvé dans l'encéphale de l'avorton, plus que dans d'autres organes comme le foie ou la rate dans lesquels la détection est plus aléatoire. Ils ont aussi montré que l'on pouvait également retrouver le parasite assez fréquemment au niveau des houppes cotylédonaire. Cette matrice peut donc être prélevée s'il n'est pas possible d'avoir un encéphale d'avorton, en tenant compte du fait que le résultat est plus sensible si plusieurs houppes cotylédonaire sont prélevées (Gutierrez *et al.*, 2010).

Pour le diagnostic indirect, on prélève le sérum de 5 brebis du lot touché par les avortements, deux fois à 15 jours d'intervalle.

Au niveau des analyses, on réalise une PCR individuelle ou de mélange (3 maximum) si plusieurs encéphales ont été prélevés. De plus, on réalisera cinq analyses sérologiques avec cinétique associée dans la majorité des cas (Figure 31).

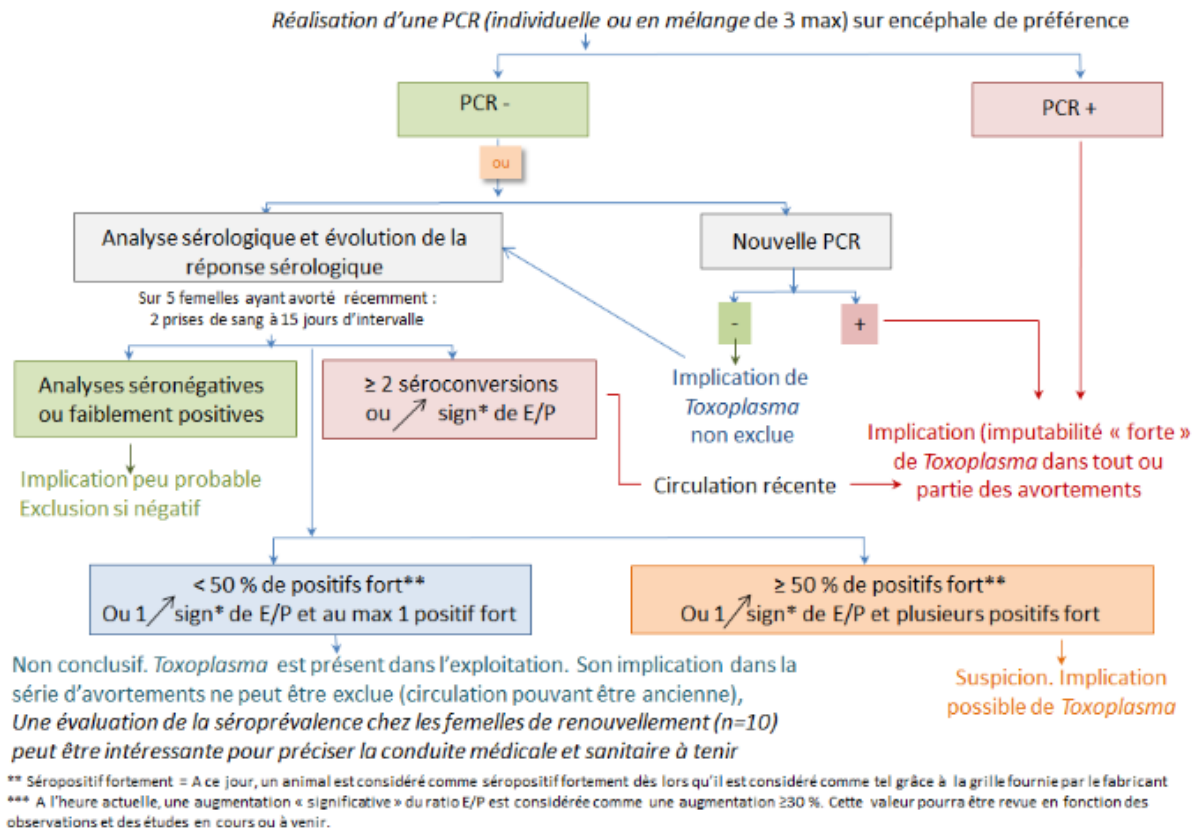


Figure 31 : Arbre décisionnel Toxoplasmose (d'après De Crémoux *et al.*, 2013)

Dans le cas de la toxoplasmose, l'imputabilité sera forte si la PCR est positive mais également si la PCR est négative mais que l'on a une séroconversion sur plus de 2 brebis ou une augmentation significative des ratios E/P comme pour la chlamydie.

Si en revanche la PCR est négative mais que plus de 50% des femelles sont fortement positives (ratio E/P supérieur à 100%) lors des premiers prélèvements ou que plusieurs femelles sont fortement positives et que sur une d'entre elles on a une augmentation significative du ratio E/P alors la toxoplasmose est une hypothèse possible mais il faudra regarder les résultats pour les autres agents abortifs pour conclure.

Enfin les cas où l'hypothèse toxoplasmose est peu probable ou que l'on ne peut pas conclure sont détaillés dans le Tableau 21.

Tableau 21 : Grille d'interprétation des résultats pour la toxoplasmose (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats (hors contexte de vaccination) |
|---|--|
| Peu probable (=0) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR négative et une ou plusieurs femelles faiblement séropositives à J0 (le jour de l'intervention du vétérinaire pour série abortive) et pas d'augmentations ratio E/P ✓ Ni PCR, ni analyses sérologiques positives (exclusion), ni augmentation de ratio E/P (si une cinétique est réalisée) |
| Possible (++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR négative et ≥ 50% des femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements ✓ PCR négative et plusieurs femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements et 1 augmentation significative du ratio E/P |
| Forte (+++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR positive ✓ PCR négative et ≥ 2/5 séroconversions ou augmentations significatives des ratios E/P*** |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | <ul style="list-style-type: none"> ✓ Toutes les autres situations⁴¹ <p><i>Exemples de situations pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ PCR négative, moins de 50% des femelles fortement séropositives lors des premiers prélèvements <u>et</u> pas d'augmentations de ratio E/P ○ PCR négative <u>et</u> au maximum 1 femelle fortement séropositive (+/- quelques animaux faiblement séropositifs) <u>et</u> 1 augmentation significative du ratio E/P |

** Séropositif fortement = A ce jour, un animal est considéré comme séropositif fortement dès lors qu'il est considéré comme tel grâce à la grille fournie par le fabricant.

*** A l'heure actuelle sur le terrain, une augmentation « significative » du ratio E/P est considérée comme une augmentation supérieure ou égale à 30 %. Cette valeur pourra être revue en fonction des observations et des études en cours ou à venir.

4. Maladies de deuxième intention

Ces maladies de deuxième intention sont des maladies pour lesquelles la prévalence supposée lors d'épisode abortif est faible au niveau national mais qui, selon le contexte épidémiologique local, peuvent être rajoutées aux maladies de première intention. Sont reportés ici succinctement les prélèvements à réaliser et les analyses effectuées.

- Border disease :

Prélèvements :

- Diagnostic direct : 3 avortons ou houppes placentaires de 3 femelles avortées ou en cas de nouveau-nés bourrus ou hirsutes, du sang sur tube EDTA.

- Diagnostic indirect : 10 animaux sentinelles (plus jeune classe possible mais plus de 6 mois, non vaccinés et au contact de femelles ayant avortées)

Analyses :

- PCR en mélange
- 6 à 10 sérologies sur animaux sentinelles

Tableau 22 : Grille d'interprétation des résultats pour la border disease (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats | |
|---|--|--|
| Peu probable (≈0) | ✓ PCR négative <u>et</u> toutes les sérologies négatives sur les sentinelles (exclusion) | |
| Possible (++) | Statut épidémiologique connu et négatif | ✓ PCR négative <u>et</u> parmi les animaux sentinelles : 2 à 4 sérologies positives |
| | Statut épidémiologique non connu ou positif | <ul style="list-style-type: none"> ✓ PCR négative <u>et</u> 50 % ou plus de sérologies positives parmi les animaux sentinelles ✓ PCR négative <u>et</u> une ou plusieurs séroconversions sur des femelles initialement séronégatives (attention : la durée de la séroconversion peut être de 30 jours après l'infection) |
| Forte (+++) | ✓ PCR positive | |
| | Statut épidémiologique connu et négatif | ✓ PCR négative <u>et</u> parmi les animaux sentinelles : 50 % ou plus de sérologies positives |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | <ul style="list-style-type: none"> ✓ Tous les autres cas <p><i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ PCR négative <u>et</u> quelques analyses sérologiques positives à interpréter en fonction du contexte épidémiologique et du choix des animaux prélevés (cas notamment d'animaux non rigoureusement sentinelles⁴³) | |

- Salmonellose :

Prélèvements :

- Diagnostic direct : liquide stomacal ou organes d'avorton (foie, rate), écouvillon de mucus vaginal, placenta
- Diagnostic indirect : 5 sérums sur femelle venant d'avorter (le cas échéant)

Analyses :

- 2 analyses bactériologiques ou 2 analyses PCR

- Si possible, 5 analyses en séro-agglutination sur femelles venant d'avorter

Tableau 23 : Grille d'interprétation des résultats pour la salmonellose (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats |
|---|---|
| Peu probable (≈0) | ✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> résultats sérologiques négatifs ou faiblement positifs |
| Possible (++) | ✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> ≥ 1/5 résultats sérologiques > 1/1280 et au moins un résultat/5 > à 640 |
| Forte (+++) | <ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 ou 2 bactériologies positives (analyse recommandée⁴⁴) ✓ 1 ou 2 PCR positives^{**} ✓ Bactériologies ou PCR négatives <u>et</u> ≥ 2/5 résultats sérologiques > 1/1280 |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | ✓ Toutes les autres situations |

* Les résultats de PCR sur écouvillon vaginal restent peu référencés malgré une utilisation plus constante au cours de ces dernières années. Il convient donc d'être prudent sur leur interprétation et de disposer si possible d'autres éléments en faveur, en plus d'une analyse critique des Ct (voir ci-dessous).

** Sur mucus vaginal⁴⁵, l'interprétation des PCR se fera si possible au regard des Ct (malgré les réserves émises sur leur interprétation possible et un manque de reproductibilité): < 30 : positive, 30 < <35 : douteux, > 35 : signification biologique non connue.

- Listeriose :

Prélèvements :

- Diagnostic direct : liquide stomacal ou organes d'avorton, écouvillon de mucus vaginal, houppes placentaires

Analyses :

- 2 analyses bactériologiques

Tableau 24 : Grille d'interprétation des résultats pour la listeriose (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats |
|---|---|
| Peu probable (≈0) | ✓ Bactériologies négatives après enrichissement |
| Possible (++) | ✓ <i>Listeria monocytogenes</i> ou <i>L. ivanovii</i> isolée en culture abondante et majoritaire après enrichissement |
| Forte (+++) | ✓ 1 ou 2 bactériologies positives en culture abondante et majoritaire sans enrichissement |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | ✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Isolement parmi d'autres bactéries d'un faible nombre de colonies de Listeria monocytogenes ou L. ivanovii après enrichissement</i> |

- Agents mycosiques :

Prélèvements :

- Houppes placentaires, liquide stomacal

Analyses :

- Mise en culture, histologie sur houppes placentaires présentant des lésions

Tableau 25 : Grille d'interprétation des résultats pour les agents mycosiques (d'après plateforme ESA - OSCAR, 2016)

| Imputabilité | Résultats |
|---|--|
| Peu probable (≈0) | ✓ Culture négative |
| Possible (++) | ✓ Culture positive sans histologie et tous les autres résultats négatifs |
| Forte (+++) | ✓ Culture positive et histologie positive et absence d'autres pathogènes détectés |
| Non conclusif Investigations complémentaires à mener le cas échéant | ✓ Toutes les autres situations <i>Exemple de situation pouvant justifier d'analyses complémentaires :</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Culture positive sans histologie</i> |

Annexe 2 : Questionnaire à destination des éleveurs



Questionnaire Chlamydirose



N° de cheptel :

Date de la visite :

Date du problème :

Caractéristiques de l'atelier concerné :

- Nombre de brebis : Nombre d'agnelles : Nombre de béliers :

- Type d'atelier :
 - Ovin allaitant
 - Ovin lait

- Reproduction :
 - IA
 - Lutte

- Date de la mise à la reproduction :

- Nombre de lots :

- Date de mise bas des brebis : des agnelles :

- Nombre d'agnelages par an :
 - 1/an
 - 3 en 2 ans

- Prolifécité (Nombre d'agneaux par brebis) : Nombre agneaux vendus :

- Des échographies sont-elles réalisées ?
 - o Oui
 - o Non

- Si oui, à quel stade ?

- Taux de mise bas (Mise bas sur IA, sur premier retour, global) par rapport à la parité :

- Nombre d'avortements lors du problème : Habituellement :
 - Agnelles : Brebis :

- Age et sexe de l'éleveur (se) :

- Autres ateliers :
 - o Ovin allaitant
 - o Ovin lait
 - o Caprin
 - o Bovin lait
 - o Bovin allaitant
 - o Autre :

- Résultat des analyses :

| Brebis | PCR Chlam | Typage Chlam | PCR FQ | Séro BD | Séro Toxo |
|--------|-----------|--------------|--------|---------|-----------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Questions vis-à-vis du protocole vaccinal :

- Quel est le vaccin utilisé ?
 - o CEVAC® Chlamydia
 - o OVILIS® Chlamydia

Changement, historique :

| | Animaux vaccinés | Age au moment de la vaccination | Période de vaccination |
|---------------|------------------|---------------------------------|------------------------|
| Agnelles | | | |
| Antenaises | | | |
| Béliers | | | |
| Adultes | | | |
| Introductions | | | |

- Depuis quand la vaccination est-elle réalisée dans l'élevage ?
 - o Depuis moins de 2 ans
 - o Depuis moins de 5 ans
 - o Depuis moins de 10 ans
 - o Depuis moins de 20 ans

- Des rappels sont-ils effectués ?
 - Oui
 - Non

- Si oui, à quelle période ?
 - Tous les ans
 - Tous les 3 ans, 1 mois avant agnelage
 - Tous les 3 ans, sans tenir compte de la période
 - Autre :

- Conservation du vaccin lors du transport ?
 - Sac isotherme avec pain de glace
 - Sac isotherme
 - Sac ou poche plastique
 - Autre :

- Comment se fait la conservation du vaccin ?
 - Réfrigérateur fonctionnel -> Température :
 - Armoire à pharmacie de l'élevage
 - Autre :

- Qui réalise l'injection ?
 - Eleveur
 - Vétérinaire

- Comment l'injection est-elle réalisée ?
 - En sous cutané avec pli de peau
 - En sous cutané avec aiguille courte
 - En intramusculaire
 - Vérification que le vaccin ne se trouve pas dans la laine

- Réalisation de la vaccination :
 - Toutes les brebis au cornadis (1 place par brebis)
 - « Couloir de contention »
 - Brebis dans un parc et vaccinées une à une avec vérification de la boucle
 - Autre :

- Avec quel matériel l'injection est-elle réalisée ?
 - Une seringue jetable et une aiguille jetable pour animaux
 - Seringue réutilisable et une aiguille jetable pour animaux
 - Seringue + aiguille réutilisables -> Désinfection :
 - Pistolet avec une aiguille jetable pour animaux

- Quelle est la dose injectée ?

- Si manque de dose, comment cela est-il géré ?
 - Les dernières brebis reçoivent une dose plus faible
 - Les dernières brebis ne sont pas vaccinées
 - Achat d'un nouveau flacon pour finir

- D'autres vaccinations sont-elles réalisées ?
 - Fièvre Q
 - Toxoplasmose
 - FCO
 - Clostridies
 - Autres :

- La vaccination est-elle toujours réalisée ?
 - Oui
 - Non Date de la dernière vaccination :

Questions vis-à-vis des mesures sanitaires mises en place :

- Mesures prises à la période des agnelages ?
 - Parcage des parturientes dans une case d'agnelage
 - Récupération des avortons Lieu de stockage :
 - Récupération des placentas
 - Destruction des avortons Moyen :
 - Destruction des placentas
 - Séparation des brebis ayant avorté

- Nettoyage des cases d'agnelage, curage, paillage, est-ce différent quand avortement ?

- Les brebis ayant avorté sont-elles transférées dans un autre lot pour une remise à la reproduction ?
 - Oui
 - Non

- Si une femelle a un agneau vivant et un autre mort :
 - Mélange avec les autres femelles
 - Elevage à part
 - L'agnelle peut être utilisée pour le renouvellement
 - L'agnelle sera automatiquement vendue
 - Autre :

- Gestion entre les lots de mise bas :
 - Bâtiments différents
 - Même bâtiment mais séparation dans l'espace
 - Le deuxième lot prend la place du premier après avoir changé la litière
 - Autre :

- Des animaux sont-ils introduits sur l'élevage ?
 - Des agnelles
 - Des adultes
 - Des béliers
 - Non

- Comment sont gérées les introductions ?
 - Dépistage Chlamydirose
 - Mise en quarantaine
 - Autre :

- Des traitements antibiotiques sont-ils mis en place ?
 - Oui
 - Non

- Si oui, quel antibiotique, à quelle dose et par quelle voie ?

- Quels sont les animaux traités ?
 - Seulement les brebis ayant avorté
 - Toutes les brebis du lot
 - Autre :

- A quel moment l'antibiothérapie a-t-elle été réalisée ?
 - Dès le premier avortement
 - A partir de plus de 2 avortements
 - A partir de plus de 5 avortements
 - Autre :

NOM : SOUBRIER

Prénom : Thomas

TITRE : La Chlamydie abortive ovine : éléments de diagnostic lors d'une série abortive et analyse des facteurs de risque d'avortements à chlamydia en contexte vaccinal

RESUME :

Plusieurs cas d'avortements imputés à *Chlamydia abortus* ont été observés par le GDS12 dans des élevages de brebis aveyronnais alors que ces élevages pratiquaient la vaccination contre la chlamydie depuis plusieurs années avec un vaccin vivant. La cause de ces avortements a été établie grâce au protocole avortement du dispositif OSCAR. Des rappels concernant la chlamydie, son diagnostic et les mesures de lutte contre la maladie sont présentés en première partie. Un typage des souches de *C. abortus* a ensuite été réalisé pour essayer de déterminer quelle était la souche en cause lors des épisodes abortifs recensés et donc apporter une première information sur la persistance d'avortement dans ces élevages. Enfin, une enquête menée auprès de 42 éleveurs est exposée pour essayer d'expliquer ce phénomène est tenter de trouver des moyens d'y remédier.

MOTS CLES : Chlamydie abortive ovine, *Chlamydia abortus*, série abortive, vaccin, enquête, facteur de risque, PCR temps réel, typage

ENGLISH TITLE: Ovine enzootic abortion: diagnostic elements during series of abortion and analysis of risk factors for chlamydial abortions in a vaccination context

ABSTRACT:

Cases of abortion due to *Chlamydia abortus* have been observed by the GDS12 in some ovine farms in Aveyron whereas these farms had practiced vaccination against chlamydiosis for many years with a live vaccine. The cause of these abortions has been established thanks to the abortion protocol of the OSCAR plan. A review concerning chlamydiosis, its diagnostic and the control measures against the disease are presented in the first part. A *C. abortus* strain typing has been then realised to try to determine the strain causing the series of abortion identified and get first information on the abortion persistence in these farms. Finally, a survey conducting within 42 breeders is exposed to try to explain this phenomenon and try to find some ways to fix it.

KEYWORDS: Ovine enzootic abortion, *Chlamydia abortus*, series of abortion, vaccine, survey, risk factor, real time PCR, bacterial typing