

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Band: 129 (1987)

Artikel: La chlamydirose en Suisse : étude comparative des techniques de diagnostic

Autor: Butty-Favre, Brigitte / Nicolet, Jacques

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-588487>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 07.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Schweiz Archiv Tierheilk. 129, 1–13, 1987

Institut de Bactériologie Vétérinaire de l'Université de Berne. Service de Bactériologie.

La chlamydiose en Suisse Etude comparative des techniques de diagnostic¹

Brigitte Butty-Favre et Jacques Nicolet²

Découvertes en 1907 par *von Prowazek*, les Chlamydiae ont successivement pris des noms aussi nombreux que variés: Chlamydozoa, Miyagawanella, Bedsonia, Neorickettsias, TRIC agents; ce n'est qu'en 1968 que *Page* a défini avec précision le genre Chlamydia qui comprend 2 espèces.

Les Chlamydiae causant le trachome, la conjonctivite à inclusions, la lymphogranulomatose vénérienne ainsi que diverses affections du tractus uro-génital chez l'homme appartiennent à l'espèce *C. trachomatis*. Les souches de *C. psittaci* forment un groupe d'agents hétérogènes infectant aussi bien les oiseaux que les mammifères.

En médecine vétérinaire, la reconnaissance de *C. psittaci* comme étiologie de différentes situations pathologiques chez un nombre toujours plus grand d'espèces animales confère un intérêt tout particulier à son diagnostic. Le but de notre travail est d'étudier les méthodes de diagnostic d'une chlamydiose, par sérologie et par isolement du germe, et d'évaluer plus en détail l'incidence de la maladie en Suisse. La chlamydiose aviaire chez les psittacidés et abortive chez les petits ruminants, bien que sporadique [4], est connue dans nos régions, alors que les différentes affections à Chlamydiae chez les bovins semblent plus rares.

Nous avons utilisé la méthode de fixation du complément, qui est la technique classique pour la détection sérologique d'une chlamydiose [3]. L'isolement de *C. psittaci* sur œufs embryonnés de poule et sur lignée cellulaire nécessite cependant un délai de 4 jours à plusieurs semaines. La coloration de Stamp n'est pas spécifique et ne permet qu'une suspicion de chlamydiose, ce qui pourrait expliquer le faible pourcentage d'isollements chez les mammifères.

Matériel et méthodes

1) Matériel

A) *Matériel de référence*: Nous avons utilisé 5 souches pour la mise au point d'une méthode de diagnostic applicable en routine:

1 souche aviaire (ORN IE₂) (M. Paccaud, Institut d'Hygiène, Genève)

2 souches bovines de sérotype 1 (PS 22–8389 et PS 22–8392) et

2 souches bovines de sérotype 2 (PS 22–5890 et PS 22–8388)

(J. Schachter, University of California, San Francisco)

¹ Selon la thèse de Mme Butty-Favre

² Adresse: Prof. Dr. J. Nicolet, Case postale 2735, CH-3001 Berne

B) *Matériel clinique*: Nous avons analysé les organes de divers animaux suspects de chlamydie; dans certains cas, une sérologie a également été effectuée.

Cas No. 1: Un troupeau d'une centaine de brebis est vacciné contre l'avortement enzootique. Une semaine plus tard 4% des brebis avortent, depuis les agnelages sont normaux. Nous avons recherché la présence d'anticorps sériques chez 20% des brebis.

Cas No. 2: 10 naissances prématurées en 10 jours ont eu lieu dans un troupeau de chèvres (exploitation A). Le bouc a séjourné en outre chez un autre éleveur, sans être utilisé pour la monte (exploitation B) et a servi à la monte chez un troisième, dont une partie des chèvres a également avorté (exploitation C). Nous avons testé sérologiquement le bouc et 9 chèvres.

Cas No. 3: Nous avons testé 87 écouvillons cervicaux de bovins présentant des problèmes de stérilité* (matériel prélevé dans 1 ml de tampon saccharose phosphate glutamate [2] puis congelé à -80°C). 18 écouvillons sont restés stériles en bactériologie de routine.

Cas No. 4: Un troupeau de 7 vaches présente des problèmes de stérilité. Toutes furent inséminées plusieurs fois, souvent sans succès, et ont un écoulement vaginal tantôt laiteux, tantôt translucide. Nous avons traité 4 vaches à la spiramycine, les 3 autres servant de contrôle. Une suspension à 20% (Suanovyl®; Biokema, Crissier) fut injectée par voie intramusculaire à raison de 10 mg/kg poids vif et une suspension à 5% appliquée in utero à raison de 1 g/vache. Le traitement fut renouvelé 2 jours plus tard. Nous avons recherché la présence d'anticorps sériques chez les 7 vaches.

Cas No. 5: Nous avons testé 17 placentas de vaches avortées suspects à la coloration de Stamp mais négatifs à la coloration de Köster.

Cas No. 6: Nous avons testé 16 ponctions articulaires et bursales, stériles en bactériologie de routine, chez des bovins de différentes classes d'âge présentant des troubles de l'appareil locomoteur.

Cas No. 7: Nous avons examiné 11 ponctions spinales de bovins souffrant d'encéphalomyélite. Tous les liquides céphalorachidiens sont stériles en bactériologie de routine et la rage est exclue par examen direct à l'immunofluorescence.

Cas No. 8: Nous avons examiné 5 moutons, 4 bovins, 1 chien et 1 chat souffrant de conjonctivite chronique. Tous les écouvillons oculaires sont négatifs en bactériologie de routine.

Cas No. 9: Nous avons examiné les organes de 10 psittacidés dont la nécropsie révèle œdème et hyperémie des poumons et des sacs aériens, hépatosplénomégalie avec foyers nécrotiques dans le foie ainsi que péritonite fibrineuse. Le matériel analysé provient le plus souvent du foie ou des poumons, les autres organes étant trop petits pour permettre une prise stérile.

Cas No. 10: Nous avons testé par épreuve de fixation du complément (FC) 969 sérums de taureaux d'insémination artificielle ainsi que 6 taureaux privés (février 1984 à juillet 1985). Tous les sérums présentent un résultat négatif quant à la brucellose, la coxiellose et la leptospirose.

2) Méthodes

A) *Isolement de Chlamydiae sur œufs embryonnés de poule*

La technique utilisée pour l'inoculation des œufs, la récolte des membranes vitellines (MV) et les tests de stérilité est celle décrite par *Schachter et Dawson* (1979).

Les *Chlamydiae* se multiplient dans les cellules entodermes entourant le sac vitellin. Le moment idéal pour l'inoculation est le 7^{ème} jour d'incubation car le sac vitellin est bien développé et le risque de toucher l'embryon est presque nul. L'incubation se fait à 37°C , à un taux d'humidité de 40-80%. La récolte des MV se fait entre le 4^{ème} et le 11^{ème} jour post inoculationem.

* *Bucheli, R.*, (1984) Medikamentelle Beeinflussung der Uteruskontraktionen beim Rind. Vet. Med. Diss. Bern

Cloux, F., (1986) L'endomérite chez le bovin. Interprétation des résultats bactériologiques. Thèse Méd. Vét. Berne

Schiffmann, M., (1984) Bakteriologische Befunde im Geschlechtsapparat von Kühen, eine Bestandsuntersuchung. Vet. Med. Diss. Bern

Toute MV est examinée du point de vue macroscopique, microscopique et bactériologique. L'embryon et la MV sont hémorragiques; le vitellus, l'amnion et l'allantois inodores et clairs. Un frot-tis de MV est coloré selon Stamp et *Gimenèz* (1964). Toute MV contaminée est éliminée.

B) *Isolement de Chlamydiae en culture cellulaire selon Meissler et Krauss* (1980)

Nous avons utilisé des cellules Mc Coy, une lignée de fibroblastes hétéroplodes de souris, ainsi que le milieu de culture Mc Coy 5A Medium, modifié selon *Iwataka et Grace* (1964).

La croissance des cellules se fait en flacons de plastique de 250 ml jusqu'à obtention d'un monolayer dense. Les cellules sont individualisées par trypsinisation (solution à 1%, pH 2,0). La suspension cellulaire ainsi obtenue est utilisée pour la subculture en tubes-lamelles (Auer, Bittman, Soulié, AG. Zurich. Cat. 91530 et 60124). Chaque tube contient 1 ml d'une suspension de 200 000 cellules/ml environ. La croissance cellulaire s'effectue à 37°C en atmosphère de 5% CO₂ + 95% air, ou sans CO₂ lorsque les tubes-lamelles possèdent une fermeture hermétique (bouchons de caoutchouc ou de silicône).

Préparation de l'inoculum à partir du matériel clinique:

Le procédé est différent suivant la nature du matériel à analyser.

- a) *Organe*: L'organe est broyé stérilement dans du tampon au saccharose phosphate glutamate (SPG) (*Bovarnick et al.*, 1950) à raison de 2 volumes de tampon par volume d'organe, jusqu'à disparition complète de la consistance tissulaire. Le broyat est centrifugé à 4 °C pendant 10 minutes à 459 X g. Le surnageant est récolté et dilué 1/20 à 1/100 en SPG. Une dilution élevée présente l'avantage d'éviter l'effet cytotoxique d'un inoculum trop concentré et de réduire le nombre de germes contaminants.
- b) *Synovie ou liquide céphalorachidien*: L'échantillon clinique est dilué directement 1/5 à 1/10 en SPG.
- c) *Ecouvillon*: A l'aide d'une pincette stérile, on élue le maximum du contenu en SPG.

Infection des cultures cellulaires:

Après 24 heures d'incubation, le milieu de culture des tubes-lamelles est aspiré et remplacé par l'inoculum, à raison de 1 ml/tube.

Les tubes sont centrifugés à 25–30 °C pendant 60 minutes à 1800 X g, puis incubés 60 minutes à 37°C. L'inoculum est alors aspiré et remplacé par le milieu de croissance des *Chlamydiae* à raison de 1 ml/tube. Les tubes sont ensuite incubés plusieurs jours à 37°C.

Les lamelles peuvent être examinées par immunofluorescence dès le 3–4^{ème} jour post inoculation quant à la présence de vacuoles intracytoplasmiques contenant les *Chlamydiae*.

C) *Immunoglobulines aviaires spécifiques* selon *Polson et al.* (1980).

L'immunogène se compose de *Chlamydiae* vivantes (souches de référence) cultivées sur membranes vitellines (MV). Chaque MV est broyée dans du tampon phosphaté 0,01M, pH 7,2 (PBS), à raison de 1 Vol MV + 2 Vol PBS. Le broyat est centrifugé à 4 °C, pendant 10 minutes à 112 X g. Le surnageant obtenu est homogénéisé à l'adjuvant incomplet de Freund à raison de volumes égaux des 2 composants (Adjuvant Freund incomplete, Difco Laboratories) et constitue le vaccin vivant, injectable par voie intramusculaire. L'immunisation de poules pondeuses comprend 3 injections de 1 ml de vaccin dans chaque cuisse, chacune à 10 jours d'intervalle.

Les œufs sont récoltés séparément pour chaque souche dès le 15^{ème} jour suivant la dernière immunisation. Les sacs vitellins sont lavés afin d'éliminer l'albumine. Les immunoglobulines spécifiques Ig Y sont extraites du vitellus par 3 précipitations successives en polyéthylène glycolle 6000 (PEG, Merck, Cat. 807491). Le PEG est ensuite éliminé par traitement au chloroforme jusqu'à obtention d'une suspension translucide. La suspension concentrée à 30–80 mg de protéines/ml est couplée à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) selon la méthode de *Fey* (communication personnelle).

Technique d'anticorps fluorescents:

Les Ig Y couplées à l'FITC sont diluées en tampon phosphaté 0,01M, pH 7,2 (PBS). L'incubation dure 60 minutes à 37°C en chambre humide. Afin de masquer une fluorescence non spécifique, les lamelles sont contrecolorées au noir d'ériochrome (solution 1/120 en aqua dest.) pendant 15–30 secondes puis rincées en tampon véronal 0,01M, pH 8,4. Les lamelles sont ensuite incluses en elvanol [25] puis examinées au microscope à fluorescence.

D) *Antigène phosphatidique pour l'épreuve de fixation du complément selon Volkert et Møller Christensen (1955).*

L'antigène est extrait des membranes vitellines (MV) d'œufs embryonnés. Les MV sont traitées à 100°C, ce qui permet l'extraction par l'éther de l'antigène solubilisé puis sa précipitation à l'aide d'acétone. Le résidu sec obtenu après élimination de l'acétone constitue l'antigène phosphatidique. L'antigène est ensuite suspendu en tampon phosphaté stérile 0,01M, pH 7,2 puis titré face à un sérum négatif et un sérum positif de titre connu. Nous avons comparé l'antigène phosphatidique de membranes vitellines (PS 22-8389) avec un antigène du commerce obtenu par traitement du liquide allantoïdien au phénol (Ornithose Antigen, Behring Cat. ORAR 09). Toutes nos analyses sont effectuées selon la méthode CDC [27], qui implique la fixation des anticorps à froid, pendant la nuit, à 4°C.

Résultats

1. Titration des immunoglobulines couplées à l'*FITC*

Les Ig Y permettent la mise en évidence des inclusions chlamydiennes en culture cellulaire (Figure 1).

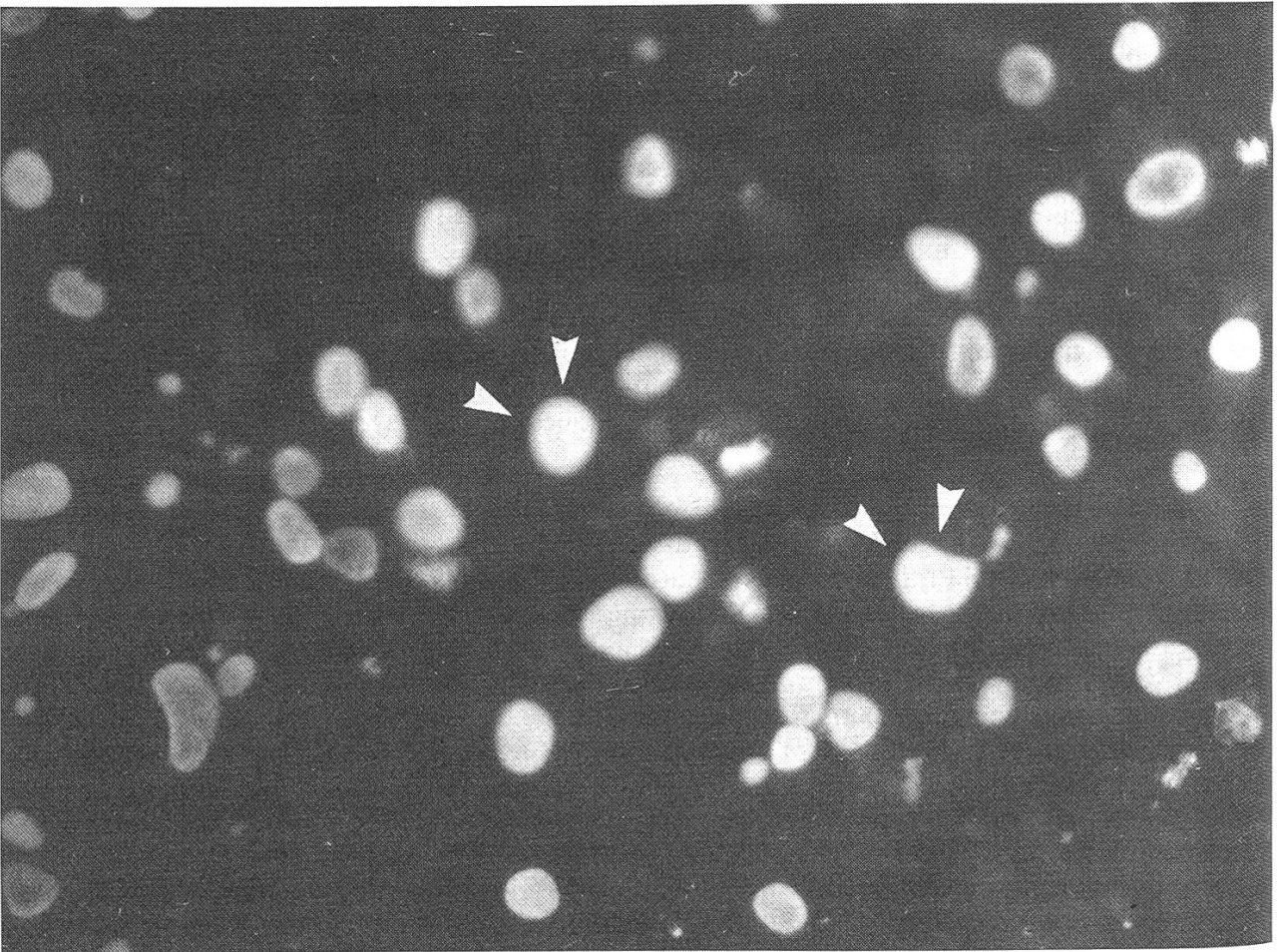


Fig. 1: Isolement de chlamydiae en culture cellulaire (Sérotype 1)

Coloration par immunofluorescence d'un monolayer de cellules Mc Coy à l'aide d'immunoglobulines homologues.

Grossissement microscopique: 100 fois

◄ inclusion chlamydienne intracellulaire

Nous avons tenté un sérotypage des différentes souches de référence; les résultats sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1: Titration par immunofluorescence des immunoglobulines spécifiques contre les souches de référence aviaire et bovines en système homologue et hétérologue

Souche	anti aviaire ORN IE ₂	anti bovin Sérotype 1 PS 228389	anti bovin Sérotype 1 PS 228392	anti bovin Sérotype 2 PS 225890	anti bovin Sérotype 2 PS 228388
ORN IE ₂	1/160*	1/20	1/40	+	1/40
PS 228389	1/80	1/320	1/160	1/40	1/40
PS 228392	1/80	1/160	1/320	+	1/80
PS 225890	1/20	1/80	1/160	1/80	1/160
PS 228388	1/20	1/40	1/160	1/40	1/320

*: dernière dilution donnant une fluorescence univoque (+ + +)

+: fluorescence présente mais faible

2. Culture de *C. psittaci* sur cellules McCoy

L'inoculum se compose d'une suspension de *C. psittaci* produite sur membranes vitellines et diluée 10⁻³ à 10⁻⁶ en SPG. Par dilutions successives de l'inoculum, nous avons testé l'affinité des différentes souches de *C. psittaci* pour les cellules Mc Coy.

Dans toutes les souches examinées, les inclusions sont visibles après 24 heures d'incubation mais ni la morphologie ni le nombre d'inclusions par cellule n'ont permis une identification précise du sérotype, quels que soient la densité de l'inoculum et le temps d'incubation.

3. Diagnostic de *C. psittaci* dans différentes situations cliniques

3.1 Avortements chez les petits ruminants (Cas No. 1 et No. 2)

Chaque organe de fœtus avorté fut testé sur œufs embryonnés ainsi que sur lignée cellulaire. Les résultats du cas No. 1 sont indiqués dans le tableau 2 et ceux du cas No. 2 dans le tableau 3.

Tableau 2: Essai d'isolement à partir d'un fœtus de mouton avorté (Cas No. 1)

organe	color. Stamp	isolement		inclusions
		œuf	cellules	
foie	+	+++	+++	3 *
rein	+	+	-	
estomac	+	-	+	5
poumon	+	+++	+++	3
intestins	-	-	-	

+ : corpuscules positifs à la coloration de Stamp

+ / + + + : degré d'isolement des Chlamydiae

- : isolement ou bactérioscopie négatifs

* : apparition des inclusions (jours post inoculationem)

Tableau 3: Diagnostic d'avortement chlamydien septicémique chez un fœtus de chèvre (Cas No. Exploitation A)

organe	color. Stamp	isolement		inclusions
		œuf	cellules	
foie	++	+++	++	5 *
rate	+	+++	+++	3
rein	+	+++	+++	3
estomac	++	+++	+++	3
placenta	+++	+	++	3

+ / + + + : corpuscules positifs à la coloration de Stamp

+ / + + + : degré d'isolement des Chlamydiae

* : apparition des inclusions (jours post inoculationem)

Lors d'avortements chlamydiens chez les petits ruminants, on observe un titre élevé d'anticorps sériques chez les bêtes avortées et un titre moyen chez les bêtes exposées (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4: Examens sérologiques du troupeau par épreuve de fixation du complément (FC) (Cas No. 1)

bêtes suspectes	titre FC
4 bêtes avortées	1/20–1/160
4 naissances normales, bergerie contaminée	1/5–1/80
bélier SV 3489	1/20
contrôle 9 mois plus tard, 20% du troupeau	1/10–1/40

Tableau 5: Examen sérologique des exploitations A, B et C par épreuve de fixation du complément (FC) (Cas No. 2)

bêtes suspectes	titre FC
exploitation A: 5 chèvres	1/20–1/80
1 bouc	1/10
exploitation B: 2 chèvres	–
exploitation C: 2 chèvres	1/20

3.2 *Transmission vénérienne* (Cas No. 2, exploitation A)

Les différentes parties du système génital du bouc suspect sont mises en culture; seul le testicule droit permet un isolement du germe sur œufs embryonnés uniquement.

3.3 *Ecouvillons cervicaux et endométrites chez les bovins* (Cas No. 3 et No. 4)

Tous les échantillons congelés sont restés négatifs en culture (Cas No. 3); par contre la présence massive de *C. psittaci* est détectée en culture cellulaire, dans les sécrétions cervicales de chacune des 7 vaches (Cas No. 4). 4 semaines plus tard les germes sont encore présents mais en nombre réduit.

Chaque vache fut ensuite testée en culture cellulaire quant à la présence de Chlamydiae dans les sécrétions cervicales dès la 3^{ème} semaine suivant le dernier traitement à la spiramycine. Aucune Chlamydia ne put être isolée, aussi bien chez les vaches traitées que non traitées.

Lors d'endométrites chlamydiennes chez les bovins la recherche d'anticorps sériques par épreuve de fixation du complément donne des titres de 1/20–1/80 au moment de l'isolement et de 1/20, 3 et 7 semaines plus tard.

3.4 *Avortements chez les bovins (Cas No. 5)*

Dans aucun des 17 placentas suspects l'isolement de Chlamydiae ne fut possible en culture cellulaire.

3.5 *Arthrites et boursites chez les bovins (Cas No. 6)*

Aucune des 16 ponctions suspectes ne permit l'isolement de Chlamydiae en culture cellulaire.

3.6 *Encéphalomyélites chez les bovins (Cas No. 7)*

L'isolement sur cellules Mc Coy est resté négatif dans 10 ponctions de liquide céphalorachidien (LCR), par contre il fut positif dans un cas isolé d'encéphalite chez un bovin adulte femelle de la race d'Hérens. Un frottis du LCR révèle la présence massive de monocytes mais ne contenant aucun organisme suspect (Gram et Stamp). La mise en culture sur cellules Mc Coy du LCR a permis l'isolement de *C. psittaci*. Le cerveau a été congelé et conservé 5 jours à -20°C ; la mise en culture est restée négative.

3.7 *Conjonctivites (Cas No. 8)*

Aucun des 11 écouvillons conjonctivaux de bovins, ovins, chien et chat ne permit l'isolement de Chlamydiae en culture cellulaire.

3.8 *Psittacose aviaire (Cas No. 9)*

Dans 90% des cas analysés l'isolement de Chlamydiae est possible sur culture cellulaire et sur œufs embryonnés; 10% des cas sont positifs sur œuf uniquement.

4. *Evaluation de l'épreuve de fixation du complément*

4.1 *Test de l'antigène phosphatidique PS 22–8389 face à l'antigène Behring Ornithose ORAR 09*

Les résultats sont comparables avec les 2 antigènes lorsqu'on teste des sérums ovins positifs. Lorsqu'on teste des sérums bovins, le titre maximal obtenu avec l'antigène de membranes vitellines produit dans notre laboratoire est inférieur de 2 dilutions à celui de l'antigène commercial Behring. Les sérums négatifs ovins et bovins présentent 100% d'hémolyse quelle que soit la dilution de l'antigène.

4.2 Sérums de taureaux d'insémination artificielle (Cas No. 10)

Il est à remarquer qu'une très forte proportion de sérums présentent une réaction à titre 1/10 à 1/40, bien que les taureaux soient sans symptômes cliniques (Tableau 6).

Tableau 6: Détermination du taux d'anticorps sériques anti chlamydiens chez les taureaux d'insémination artificielle

titre FC	négatif	1/10	1/20	1/40	1/80	AC
nombre de sérums	171	302	394	78	12	18
pourcentage	17,5%	31,0%	40,4%	8,0%	1,2%	1,9%

AC: anticomplémentaire

Discussion

En ce qui concerne notre étude prospective sur le problème de la chlamydiose, semble que les infections chlamydiennes en Suisse touchent essentiellement les psittacidés et les petits ruminants. Les chlamydioses bovines par contre semblent être beaucoup plus rares. Les méthodes de diagnostic d'une chlamydiose présentent un certain nombre de faiblesses et de problèmes techniques. L'examen bactérioscopique à la coloration de Stamp n'est pas très spécifique. L'examen sérologique par l'épreuve de fixation du complément donne des résultats satisfaisants avec les sérums ovins, caprin et aviaires mais n'est pas acceptable pour les sérums bovins. Il faudrait envisager l'emploi de méthodes enzymatiques plus spécifiques telles l'Immunoblotting [26] ou l'ELISA [19]. Chez les psittacidés et les petits ruminants, l'isolement de *Chlamydiae* par mise en culture directe de broyats d'organes donne de bons résultats. L'isolement sur œufs embryonnés est une méthode très sensible mais laborieuse; elle dépend de facteurs exogènes (taux de ponte et de fécondation, état sanitaire de la volaille), l'isolement nécessite un délai de plusieurs semaines et peut être anihilé par contamination bactérienne ou par toxicité. L'isolement sur culture cellulaire est une méthode plus rapide que sur œufs embryonnés mais moins sensible; le risque de contamination est également moins grand car l'inoculum est retiré après une heure de centrifugation et remplacé, après la pénétration des *Chlamydiae* dans les cellules Mc Coy, par un milieu contenant des antibiotiques (gentamicine, streptomycine, vancomycine et fungizone). Cependant lors de recherche de *Chlamydiae* dans les testicules (Cas No. 2), la mise en culture sur œufs embryonnés se révèle nécessaire car le sperme est toxique pour les cellules Mc Coy.

Dans le contexte de chlamydiose abortive dans un troupeau de chèvres (Cas No. 2), il est vraisemblable que le bouc soit le vecteur de *C. psittaci* car l'isolement du germe est positif aussi bien dans le testicule du bouc que dans les organes des fœtus avortés; d'autre part, les chèvres qui furent en contact avec le bouc sans être saillies, n'ont pas avorté.

Cependant la voie d'infection classique reste l'ingestion d'arrière-faix, de lochies ou d'excréments contaminés, provoquant un avortement soit immédiat, soit lors de la gestation suivante; le stade de gestation lors de l'infection détermine le moment de l'avortement [30]. Lors d'une primo-infection dans un troupeau, on observe environ 30% d'avortements [24], ce qui correspond à nos observations (Cas No. 2). Les femelles

n'avortent en principe qu'une fois; il subsiste un état d'infection latente avec excrétion intestinale prolongée: c'est alors que les primipares et les femelles saines nouvellement introduites dans le troupeau s'infectent: les enzooties d'avortement apparaissent en fonction du rythme de renouvellement du troupeau [20, 22].

La vaccination de brebis infectées n'est efficace que chez les bêtes dont les placentomes sont encore intacts. Dès le moment où la colonisation par les *Chlamydiae* a eu lieu, l'avortement est irrémédiable. D'après une étude de *Schvarc et al.* (1985) sur la vaccination, il résulte que le taux d'avortement baisse à 4,02% lors d'une vaccination en contexte d'avortement. Ce taux peut même être réduit à 1,33% lors de vaccination préventive d'un troupeau sain. Ces auteurs observent une diminution du taux d'avortement dès le 10^{ème} jour post vaccinationem, ce qui correspond également à nos données (Cas No. 1).

Lors de mise en culture d'écouvillons vaginaux sur cellules Mc Coy, la présence de bactéries a rapidement un effet cytotoxique, provoquant un décollement des cellules de la lamelle et rendant toute interprétation impossible (Cas No. 3). Nous avons constaté ce phénomène surtout en présence de *A. pyogenes* et d'uréaplasmes.

L'absence de *Chlamydiae* n'est donc prouvée que dans les 18 cas restés stériles en bactériologie de routine.

Nous avons envisagé de traiter un troupeau de bovins atteints d'endométrites à *Chlamydiae* avec un macrolide: la spiramycine (Cas No. 4). Cet antibiotique comprend dans son spectre d'action certains germes intracellulaires comme les rickettsies [17]. Grâce à sa forte liposolubilité et sa très forte liaison aux protéines tissulaires, il atteint des concentrations cellulaires nettement supérieures aux concentrations sériques. L'absence de *Chlamydiae* chez les bêtes non traitées reste inexplicée. Une guérison spontanée ou une excrétion intermittente semblent peu vraisemblables; nous ne pouvons donc tirer aucune conclusion quant à l'efficacité de la spiramycine dans le cas présent.

L'image clinique typique d'une chlamydiose articulaire diffère quelque peu des cas que nous avons analysés. La maladie, surtout décrite chez les jeunes mammifères (veaux, agneaux), présente comme symptômes pathognomoniques une polyarthrite et polysérosite fibrineuses. Il s'agit d'une affection systémique fébrile, où le germe peut être isolé dans tous les organes ainsi que dans les sécrétions corporelles. Les veaux souffrent toujours de diarrhées, deviennent cachectiques et anorexiques à cause des douleurs articulaires [24].

Nous avons analysé 16 ponctions articulaires et périarticulaires rendues suspectes par la présence de fibrine, de débris cellulaires, de synoviocytes, monocytes et neutrophiles polymorphonucléaires (PMN). Dans les synoviocytes et les monocytes, nous avons observé la présence de corpuscules intracellulaires positifs à la coloration de Stamp. Par contre les lésions sont le plus souvent monoarticulaires ou périarticulaires. Mis à part les problèmes techniques et la sensibilité des méthodes de culture, l'absence d'isolement du germe peut avoir plusieurs explications. Il est possible que les *Chlamydiae* soient neutralisées par des anticorps ou que le nombre de germes dans la synovie soit insuffisant pour permettre un isolement direct en culture cellulaire. D'autre part, la coloration de Stamp n'étant pas spécifique, il se peut que les corpuscules suspects soient des granulations intraleucocytaires acidorésistantes.

Un problème semblable est posé par le syndrome de Reiter chez l'homme. *Amor* (1983) a mis en évidence chez ces patients un taux élevé d'anticorps anti-chlamydiens, mais l'isolement du germe dans le liquide de ponction articulaire reste une exception [11, 15]; il est donc possible que l'animal présente un phénomène analogue.

L'encéphalite sporadique bovine (SBE) connue depuis plusieurs décennies aux USA et en Australie est une encéphalomyélite non purulente associée à une polysérosite généralisée, touchant, dans un troupeau, environ 15% des bovins âgés de moins de 12 mois [7].

Selon *Fankhauser* (1961) les cas suspects de SBE en Suisse ne présentent pas de polysérosite (pleurésie sérofibrineuse, péricardite ou péritonite); de plus les cas sont toujours isolés et les bêtes atteintes sont adultes dans 50% des cas.

Kiupel et Wehr (1980) observent le même phénomène dans le nord de la République Démocratique Allemande. *Harshfield* (1970) constate qu'une forme moins grave de SBE est possible chez les bovins adultes: il est concevable que, suivant les conditions d'environnement, la forme et la progression de la maladie soient différentes.

Le cas d'encéphalite bovine décrit (Cas No. 7) correspond aux observations de *Fankhauser* (1961). La vache atteinte ne présente pas de symptômes de polysérosite; les autres bêtes du troupeau ne présentent ni symptômes cliniques ni séroconversion. La mise en culture du liquide céphalorachidien quelques heures après la ponction a permis l'isolement de *C. psittaci*. L'échec de l'isolement du germe dans le cerveau est probablement dû à une technique de congélation inadéquate; une température insuffisamment basse a un effet destructeur sur les Chlamydiae. Selon *Niederacher* (1982), la perte d'infectuosité d'une suspension de Chlamydiae congelée, même conservée à -80°C , atteint 90% lors de la décongélation.

Lors de chlamyidiose oculaire, la qualité du prélèvement est une condition importante pour la réussite de l'isolement. Il est essentiel d'obtenir un nombre de cellules élevé par grattage au fond du sac conjonctival. *Stephenson et al.* (1974) isolent des Chlamydiae chez 42% des agneaux atteints de troubles oculaires, lorsque le matériel analysé provient des follicules conjonctivaux hypertrophiés. Les inclusions intracellulaires typiques ne sont visibles qu'au tout début de l'infection, souvent même avant que le clinicien n'ait connaissance du cas [24]. Au stade chronique, les patients sont sous antibiothérapie depuis plusieurs jours ou alors une infection bactérienne secondaire empêche tout isolement sur cellules.

Le diagnostic d'une psittacose aviaire est relativement aisé à condition d'avoir du matériel approprié, c'est-à-dire frais. Une dilution élevée de l'inoculum diminue le risque de mort des cellules par contamination bactérienne ou par toxicité; *Wyrick et Davis* (1984) démontrent un effet cytotoxique immédiat (3–6 heures post inoculationem) sur des macrophages de souris lorsque l'inoculum est très concentré. Pour optimiser les chances d'isolement sur cellules il faudrait effectuer plusieurs dilutions par organe.

Les résultats sérologiques obtenus par épreuve de fixation du complément ne sont satisfaisants que pour les petits ruminants et les psittacidés, chez lesquels la maladie est systémique. Par contre, chez les bovins l'absence de titre ou la présence de titres difficilement interprétables jette un doute sur la praticabilité de cette méthode sérologique. *Nano et Caldwell* (1985) ont démontré que l'antigène glycolipidique de membrane ex-

terne commun à *C. trachomatis* et à *C. psittaci* est un lipopolysaccharide (LPS) d'antigénicité similaire au LPS Re, un mutant isolé dans certaines souches d'enterobactériacées. Par immunoblotting, ces deux auteurs ont prouvé l'interaction spécifique d'anticorps monoclonaux antichlamydiens aussi bien avec le LPS extrait de *C. psittaci* et de *C. trachomatis* qu'avec le LPS Re d'enterobactériacées.

L'antigène commercial utilisé pour tous nos tests, de même que l'antigène phosphatidique élaboré dans notre laboratoire contiennent du LPS ce qui incite à interpréter ces résultats comme étant probablement des réactions croisées.

Résumé

Nous avons évalué les méthodes de diagnostic de routine des infections à *C. psittaci*. Un sérotypage de différentes souches ne fut possible ni par immunofluorescence, ni en fonction de la morphologie des inclusions en culture cellulaire. L'isolement de *C. psittaci* par mise en culture directe d'organes broyés est satisfaisant lors de psittacose aviaire et lors de chlamydiose abortive chez les petits ruminants; l'isolement sur œufs embryonnés est plus sensible et semble préférable lors de recherche de *C. psittaci* dans les testicules. Les Chlamydioses bovines semblent plus rares en Suisse; nous avons pu isoler une souche de *C. psittaci* dans un troupeau de bovins avec des problèmes de stérilité (endométrites), ainsi que dans un cas isolé d'encéphalite chez une vache adulte, mais pas lors d'avortements bovins.

Zusammenfassung

Wir haben eine Auswertung der diagnostischen Routinemethoden für die Infektionen mit *Chlamydia psittaci* vorgenommen. Die serologische Typisierung der verschiedenen Stämme war weder mit der Immunfluoreszenz, noch basierend auf der Morphologie der Einschlüsse in Zellkulturen möglich. Die Isolierung von *C. psittaci* durch direkte Auskultivierung von Organhomogenaten befriedigt bei aviärer Psittakose und bei Chlamydienaborten kleiner Wiederkäuer. Die Isolierung in embryonisierten Hühnereiern ist empfindlicher und dürfte für den Nachweis von *C. psittaci* aus den Hoden vorzuziehen sein.

Die Rinderchlamydiosen scheinen in der Schweiz seltener zu sein; wir konnten einen Stamm von *C. psittaci* aus einem Rinderbestand mit Sterilitätsproblemen (Endometritiden) isolieren sowie bei einem einzelnen Fall von Enzephalitis bei einer erwachsenen Kuh, nie aber im Zusammenhang mit Aborten beim Rind.

Riassunto

Abbiamo svolto una valutazione dei metodi di routine diagnostici per le infezioni da *Clamydia psittaci*. La tipizzazione sierologica dei diversi ceppi non è stata possibile né con la immunofluorescenza, né con la morfologia delle inclusioni nelle culture cellulari. L'isolamento di *C. psittaci* direttamente dalle culture dagli organi omogeneizzati è valida per la psittacosi aviare e per gli aborti da *Clamydia* nel bestiame minuto. L'isolamento negli embrioni di pollo è più sensibile e dovrebbe esser preferita per la diagnosi di *C. psittaci* dai testicoli.

Le clamidiosi bovine in Svizzera sembrano esser più rare. Abbiamo potuto isolare un ceppo di *C. psittaci* in un effettivo bovino con problemi di sterilità (endometriti), come pure in un caso unico di encefalite in una vacca adulta, ma mai in relazione a casi di aborto nel bovino.

Summary

We have been making an evaluation of the routine methods of diagnosis for infections with *chlamydia psittaci*. It was not possible to determine the serological types of the different strains either with the immune fluorescence or on the basis of the morphology of the inclusions in cell cultures. The iso-

lation of *C. psittaci* by direct culture of tissue homogenates is satisfactory in cases of avian psittacosis and of chlamydian abortions in small ruminants. The isolation in embryonised hens' eggs is more sensitive and so to be preferred for proving the presence of *C. psittaci* from the testicles.

Chlamydioses in cattle appear to be less frequent in Switzerland. We were able to isolate a strain of *C. psittaci* from one herd in which there were sterility problems (endometritis) and also in one single case of encephalitis in an adult cow, but never in connection with abortions in cattle.

Rémerciements

Nous remercions tout spécialement le *Dr M. Paccaud* de l'Institut d'Hygiène à Genève pour sa disponibilité constante ainsi que le *Dr U. Küpfer* de la Clinique des Animaux de Rente à Berne pour sa précieuse collaboration technique.

Bibliographie

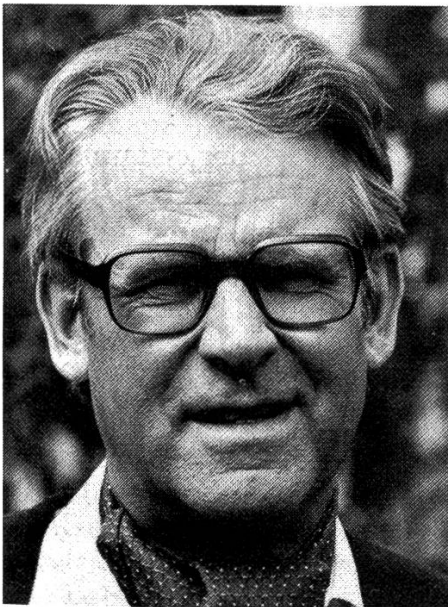
- [1] *Amor B.*: Chlamydia and Reiter's syndrome. *Br. J. Rheumatol.* 22: 156–160 (1983). – [2] *Bovarnick M. R., Miller J. C., Snyder J. C.*: The influence of certain salts, aminoacids, sugars and proteins on the stability of Rickettsiae. *J. Bact.* 59: 509–522 (1950). – [3] *Durand M.*: Diagnostic des chlamydioses des ruminants: Valeur de la fixation du complément. *Réc. Méd. Vét.* 153: 585–593 (1977). – [4] *Ehrsam H. R.*: Chlamydiosis bei Heim- und Wildvögeln. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 118: 409–416 (1976). – [5] *Fankhauser R.*: Sporadische Meningo-Encephalomyelitis beim Rind. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 83: 292–306 (1961). – [6] *Gimenèz D. F.*: Staining Rickettsiae in yolk sac cultures. *Stain Technology* 39: 135–140 (1964). – [7] *Harding W. B.*: Transmissible serositis and its relationship to sporadic bovine encephalomyelitis. *Aust. Vet. J.* 39: 333–337 (1963). – [8] *Harshfield G. S.*: Sporadic bovine encephalomyelitis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 156: 466–477 (1970). – [9] *Iwakata S., Grace J. T. H.*: Cultivation in vitro of myeloblasts from human leukemia. *N.Y. State J. Med.* 64: 2279 (1964). – [10] *Kiupel H., Wehr J.*: Zum Vorkommen der sporadischen bovinen Enzephalomyelitis (SBE) im Norden der DDR. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin, Math.-Nat. R.* 29: 57–59 (1980). – [11] *Lanham J. G., Doyle, D. V.*: Reactive arthritis following psittacosis. *Br. J. Rheumatol.* 23: 225–226 (1984). – [12] *Meissler M., Krauss H.*: Zur Technik der Isolierung und Züchtung von Chlamydien in der Zellkultur. *Fortschr. Vet.-Med.* 30: 224–230 (1980). – [13] *Nano F. E., Caldwell H. D.*: Expression of the genus-specific lipopolysaccharide epitope in *Escherichia coli*. *Science* 226: 742–744 (1985). – [14] *Niederacher V.*: Untersuchungen zur Züchtung von Chlamydien in der Suspensionszellkultur (Mc Coy Zelllinie). *Vet. Med. Diss. Giessen* (1982). – [15] *Orfila J.*: Le diagnostic biologique des infections à Chlamydia. *Rev. fr. Gynécol. Obstétr.* 79: 609–615 (1984). – [16] *Page L. A.*: Proposal for the recognition of two species in the genus Chlamydia. *Jones, Rake and Stearns, 1945. Int. J. Syst. Bacteriol.* 18: 51–66 (1968). – [17] *Pilloud, M.*: La spiramycine, sa place parmi les antibiotiques, ses particularités et leurs applications thérapeutiques. *Bull. Soc. Vét. Prat. de France* 69: 51–56 (1985). – [18] *Polson A., von Wechmar B., van Regenmortel M. H.*: Isolation of viral Ig Y antibodies from yolks of immunized hens. *Immunol. Comm.* 9: 475–493 (1980). – [19] *Raymond J., Duc-Goiran P., Joundy S., Orfila J., Acar J.*: Enzyme-linked immunosorbent assay using three different antigen preparations for detection of antibodies to Chlamydia trachomatis. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 4: 468–472 (1985). – [20] *Russo P.*: Les Chlamydia et l'avortement chez les petits ruminants. *Travaux récents sur Chlamydia psittaci. Association des anciens élèves de l'Institut Pasteur* 93: 21–33 (1982). – [21] *Schachter J., Dawson C. R.*: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. 5th edition. Chap. 32; Psittacosis-lymphogranuloma venereum agents/TRIC agents p. 1021–1059 E. H. Lenette, N. J. Schmidt editors. American Public Health Association, Washington (1979). – [22] *Schvarc F., Gamcik P., Mesaros P., Balascak J., Travnicek M.*: Zu Fragen der Abortursachen beim Schaf. *Tierärztl. Umschau* 40: 226–229 (1985). – [23] *Stephenson E. H., Storz J., Hopkins J. B.*: Properties and frequency of isolation of Chlamydiae from eyes of lambs with conjunctivites and polyarthritis. *Am. J. Vet. Res.* 35: 177–180 (1974). – [24] *Storz J., Krauss H.*: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band 5. Kap. Chlamydia p. 447–514. Blobel und Schliesser Herausg. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1985). – [25] *Thomason B. M., Cowart G. S.*: Evaluation of polyvinyl alcohols as semipermanent mountants for fluorescent antibodies studies. *J. Bacteriol.* 93: 768–769

(1967). – [26] *Towbin H., Stähelin T., Gordon J.*: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76: 4350–4354 (1979). – [27] *U. S. Public Health Service*: Standardized diagnostic complement fixation method and adaptation to micro test. *Public Health Monograph No. 74* (1965). – [28] *Volkert M., Möller Christensen P.*: Two ornithosis complement-fixing antigens from infected yolk sacs. I. The phosphatide antigen, the virus antigen and methode for their preparation. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 37: 211–218 (1955). – [29] *Von Prowazek S.*: Chlamydozoa I. Zusammenfassende Übersicht. *Archiv für Protistenkunde* 22: 248–298 (1907). – [30] *Wilsmore A.J., Parsons V., Dawson M.*: Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion. *Br. Vet. J.* 140: 380–391 (1984). – [31] *Wyrick P. B., Davis, C. H.*: Elementary body envelopes from *Chlamydia psittaci* can induce immediate cytotoxicity in resident mouse macrophages and L-cells. *Infect. Immun.* 45: 297–298 (1984).

Enregistrement du manuscrit: 26 septembre 1986

PERSONELLES

Professor Dr. Dr. h. c. Hans Fey zum 65. Geburtstag



Am 30. Dezember 1986 hat Hans Fey seinen 65. Geburtstag gefeiert. Im Namen der Fakultät, aber auch persönlich, als sein Schüler und Kollege entbiete ich ihm die besten Wünsche zu seinem Fest und danke ihm gemeinsam mit vielen andern für alles, was er zum Wohl der Fakultät, der Universität aber auch der tierärztlichen Wissenschaft geleistet hat. Mit dem 65. Geburtstag ist ja auch der Rückzug aus dem Ordinariat und der Institutsleitung verbunden, Grund genug also, das vom Jubilar Geleistete zu würdigen.

Zum Dank sind ihm in der Tat viele verpflichtet: alle Tierärztinnen und Tierärzte, die das Glück hatten, von ihm in die Geheimnisse der Mikrobiologie und Immunologie eingeführt zu werden. Hans Fey versteht es, mit seinen anregenden und anspruchsvollen Vorlesungen den angehenden Tierärzten eine praxisbezogene Ausbildung zu bieten und gleichzeitig ihre Neugier für die grossen Zusammenhänge in der Medizin und Biologie zu wecken. Viele erfolgreiche Forscher und Dozenten in- und ausserhalb unserer Fakultät – der Schreiber inbegriffen – verdanken ihre Laufbahn der Förderung durch Hans Fey.

In seiner Forschungstätigkeit gelingt es Hans Fey, die neuen Erkenntnisse der Grundlagenforschung für die Tierheilkunde nutzbar zu machen. Waren es am Anfang vorwiegend Arbeiten über durch Enterobacteriaceen verursachte Krankheiten wie Coli-Mastitis und -Enteritis, Salmonellose sowie die wegweisenden Untersuchungen über die Aetiologie und Pathogenese der Coli-Sepsis beim Kalb, so verlagerte sich später der Schwerpunkt seiner Forschung mehr auf das Gebiet der Immunologie und ihrer Anwendung in der Diagnostik. Eine direkte Folge seiner Forschung ist die hohe Perfektion der diagnostischen Dienstleistungen, die sein Institut für Klinik, Fleischhygiene, Mastitis- und Tierseuchenbekämpfung erbringt. Sicher wird sich daran nichts ändern,