

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 53, No 1 (2002)



Chlamydial abortion of ewes and goats. I. Current aspects on etiology, pathogenesis, immune mechanisms and epizootiology of disease

V. SIARKOU (B. ΣΙΑΡΚΟΥ)

doi: [10.12681/jhvms.15354](https://doi.org/10.12681/jhvms.15354)

Copyright © 2018, V SIARKOU



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

SIARKOU (B. ΣΙΑΡΚΟΥ) V. (2018). Chlamydial abortion of ewes and goats. I. Current aspects on etiology, pathogenesis, immune mechanisms and epizootiology of disease. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 53(1), 9-23. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15354>

Χλαμυδιακή αποβολή του προβάτου και της αίγας. I. Νεότερα δεδομένα για την αιτιολογία, την παθογένεια, τους μηχανισμούς ανοσίας και την επιζωοτιολογία της νόσου

B. Σιάρκου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η χλαμυδιακή αποβολή αποτελεί μια από τις σημαντικότερες αιτίες λοιμώδους αποβολής στα πρόβατα και τις αίγες και προκαλεί σημαντικές οικονομικές απώλειες στις περισσότερες κτηνοτροφικές χώρες, όπως και στην Ελλάδα. Στην ανασκόπηση αυτή παρουσιάζονται στοιχεία που αφορούν τον αιτιολογικό παράγοντα, την παθογένεια, την ανοσολογική απάντηση και την επιζωοτιολογία της νόσου. Μετά τις πρόσφατες αλλαγές που έχουν γίνει στην ταξινόμηση των χλαμυδίων, κρίθηκε απαραίτητη η αναφορά στις νέες οικογένειες, τα νέα γένη και τα νέα είδη της τάξης *Chlamydiales*, με έμφαση στο νέο είδος *Chlamydophila abortus*, που αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα της χλαμυδιακής αποβολής. Αναφέρονται τα πρόσφατα πειραματικά δεδομένα που αφορούν τα σημεία εισόδου του μικροοργανισμού, την εξάπλωσή του και την εγκατάστασή του στον πλακούντα. Επίσης αναφέρονται σύγχρονες απόψεις πάνω στη χυμική και κυτταρική ανοσολογική απάντηση, το ρόλο της ιντερφερόνης-γ στη διατήρηση της λοίμωξης σε λανθάνουσα κατάσταση και το ρόλο των T-λεμφοκυττάρων στην προστασία. Τέλος, γίνεται ιδιαίτερη αναφορά στο ρόλο που μπορεί να παίζουν τα αρσενικά ζώα στη μετάδοση της νόσου και το ρόλο των άλλων χλαμυδιακών ειδών στην πρόκληση αποβολής.

Λέξεις ευρετηρίασης: πρόβατα, αίγες, χλαμυδιακή αποβολή, χλαμύδια, ταξινόμηση, παθογένεια, ανοσία, μετάδοση

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νόσος "ενζωοτική αποβολή του προβάτου" (Enzootic Abortion of Ewes-EAE) περιγράφηκε για πρώτη φορά στη Σκωτία, το 1936.¹ Η πειραματική αναπαραγωγή της νόσου και η αναγνώριση του "παράγοντα της ψιττάκωσης" ως αιτιολογικού παράγοντα έγινε το 1950.² Λίγο αργότερα, η νόσος περιγράφηκε σε αίγες, στη Γερμανία.³ Η ενζωοτική αποβολή, μετέπειτα γνωστή ως χλαμυδιακή αποβολή, προκαλείται από στελέχη τα οποία για σειρά ετών χαρακτηρί-

Chlamydial abortion of ewes and goats. I. Current aspects on etiology, pathogenesis, immune mechanisms and epizootiology of disease

Siarkou V.

ABSTRACT. Chlamydial abortion constitutes one of the major causes of infectious abortion in sheep and goats. The disease leads to considerable losses in most sheep and goat-rearing countries, as well as, in Greece. In this paper, a review of the causative agent, pathogenesis, host immune response and epizootiology is presented. After recent changes, that have occurred in the taxonomy of chlamydiae, it is necessary to refer to new families, new genera and new species within the order *Chlamydiales*, with emphasis on new species of *Chlamydophila abortus*, the causal agent of chlamydial abortion. This study reviews the recent experimental data which indicate the sites of entry of the organism, the way of its dissemination and establishment to the placenta. It also reviews current research on the humoral and cell-mediated immune responses, the role of the IFN-γ in latent infection and this of T-cells in the protective immune response. Finally, particular reference is given on the role of the male in the disease transmission and the role of inter-species contamination in chlamydial abortion.

Key words: ewes, goats, chlamydial abortion, chlamydia, classification, pathogenesis, immunity, transmission

ζονταν ως *Chlamydia psittaci*: πρόσφατα, τα στελέχη αυτά ταξινομήθηκαν στο νέο είδος *Chlamydophila abortus*.^{4,5}

Η νόσος χαρακτηρίζεται από αποβολές ή πρόωρες γεννήσεις ασθενικών ή θνησιγενών νεογεννητών.⁶ Οι αποβολές συμβαίνουν 2-3 εβδομάδες πριν από το τέλος της εγκυμοσύνης. Τα ασθενικά νεογέννητα έχουν κακή ανάπτυξη, μικρό σωματικό βάρος και συνήθως πεθαίνουν σε σύντομο χρόνο από τη γέννησή τους. Η γενική κατάσταση των προβατινών δε διαταράσσεται, ενώ μπορεί για λί-

Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων, Τμήμα Κτηνιατρικής Α.Π.Θ.

Ημερομηνία υποβολής: 08.11.2000
Ημερομηνία εγκρίσεως: 24.04.2001

Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki

Submission date: 08.11.2000
Approval date: 24.04.2001

γες ημέρες να υπάρχουν σκουρόχρωμες απεκκρίσεις από τη γεννητική οδό. Στις προβατίνες η κατακράτηση του πλακούντα είναι σπάνια, ενώ στις αίγες συχνότερη.⁷ Χαρακτηριστική αλλοίωση είναι η πλακουντίτιδα με νεκρώσεις στις κοτυληδόνες και παχυσμένα ή τραχιά μεσοκοτυληδόνια διαστήματα, που συνήθως καλύπτονται από παχύρρευστο σκουρόχρωμο εξίδρωμα.⁶ Τα έμβρυα που αποβάλλονται είναι καλά σχηματισμένα, καλύπτονται από σκουρόχρωμο εξίδρωμα και είναι δυνατό να παρουσιάζουν υποδόριο και μεσομυϊκό αιμορραγικό οίδημα, εξίδρωμα στην περιτοναϊκή κοιλότητα, πετέχειες στον υποδόριο ιστό και στα λεμφογάγγλια και νεκρώσεις στα παρεγχυματικά όργανα, κυρίως στο ήπαρ.⁶

Η χλαμυδιακή αποβολή έχει ενζωοτικό χαρακτήρα, με σημαντικές οικονομικές επιπτώσεις για την κτηνοτροφία. Είναι μία νόσος με παγκόσμια εξάπλωση. Στην Ελλάδα ο αιτιολογικός παράγοντας της νόσου απομονώθηκε για πρώτη φορά στο τέλος της δεκαετίας του '60⁸ και τα τελευταία χρόνια η νόσος αποτελεί μία από τις σημαντικότερες αιτίες αποβολών στα πρόβατα και τις αίγες.⁹

Ο υπεύθυνος μικροοργανισμός είναι δυνατό να μεταδοθεί στον άνθρωπο. Ιδιαίτερο κίνδυνο διατρέχουν οι έγκυες γυναίκες. Περιπτώσεις αποβολών και σοβαρών επιπλοκών έχουν αναφερθεί σε έγκυες γυναίκες, μετά από την επαφή τους με μολυσμένα ζώα, ιδιαίτερα κατά την περίοδο των τοκετών σε ποιμνία.¹⁰

Ένας αρκετά μεγάλος αριθμός ερευνητικών δημοσιεύσεων σχετικά με τη χλαμυδιακή αποβολή του προβάτου και της αίγας έχει γίνει τα τελευταία χρόνια, στην προσπάθεια να απαντηθούν ερωτήματα όπως: Ποια είναι τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των στελεχών που προκαλούν τη νόσο; Ποιοί παράγοντες αναστέλλουν, μετά τη μόλυνση, τον πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού και επιτρέπουν τη διατήρησή του σε "λανθάνουσα" κατάσταση μέχρι την κνοφορία; Σε ποιούς ιστούς και σε ποιά κύτταρα βρίσκεται ο μικροοργανισμός σε "λανθάνουσα" κατάσταση; Ποιος παράγοντας είναι υπεύθυνος για τη μετατροπή της λανθάνουσας λοίμωξης σε ενεργό λοίμωξη προς το τέλος της κνοφορίας; Γιατί ο πλακούντας αποτελεί το όργανο εκλεκτικής εντόπισης της λοίμωξης; Πότε διεγείρονται οι μηχανισμοί ανοσίας; Ποιός μηχανισμός είναι υπεύθυνος για τη μακροχρόνια ανοσία; Ποιός είναι ο ρόλος των "εντερικών" χλαμυδιακών στελεχών; Πρόκειται για δυνητικά παθογόνα ή μη παθογόνα στελέχη;

Απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα θα βοηθήσουν στην έγκαιρη και αξιόπιστη αναγνώριση της νόσου καθώς και στην καλύτερη αντιμετώπισή της.

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η χλαμυδιακή ή ενζωοτική αποβολή του προβάτου και της αίγας οφείλεται σε στελέχη που μέχρι πρόσφατα χαρακτηρίζονταν ως ειδικά στελέχη της *Chlamydia psittaci* (*Chlamydia psittaci*-type 1).¹¹ Τα στελέχη αυτά, μετά από την επαναταξινόμηση των *Chlamydiales* spp., εντάσσονται στο νέο είδος *Chlamydia abortus*.^{4,5}

Πίνακας 1. Ταξινόμηση στην τάξη *Chlamydiales*
Table 1. Taxa in the order *Chlamydiales*

Chlamydiales	
I. Chlamydiaceae	
Chlamydia	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	
<i>Chlamydia muridarum</i>	νέο είδος
<i>Chlamydia suis</i>	νέο είδος
Chlamydia	
<i>Chlamydia abortus</i>	νέο είδος
<i>Chlamydia caviae</i>	νέο είδος
<i>Chlamydia felis</i>	νέο είδος
<i>Chlamydia psittaci</i>	μετονομασμένο είδος
<i>Chlamydia pecorum</i>	μετονομασμένο είδος
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	μετονομασμένο είδος
II. Parachlamydiaceae	
Parachlamydia	
<i>Parachlamydia acanthamoebae</i>	νέο γένος
Neochlamydia	
<i>Neochlamydia hartmannellae</i>	νέο είδος
III. Simkaniaceae	
Simkania	
<i>Simkania negevensis</i>	νέο είδος
IV. Waddliaceae	
Waddlia	
<i>Waddlia chondrophila</i>	νέο είδος

1. Νέα ταξινόμηση^{4,5} (Πίνακας 1)

Πρόσφατα έγινε νέα ταξινόμηση στην τάξη *Chlamydiales*, στην οποία εντάσσονται η οικογένεια *Chlamydiaceae* και τρεις νέες οικογένειες, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae* και *Waddliaceae*.

Η οικογένεια *Chlamydiaceae*, που περιλάμβανε το γένος *Chlamydia*, με τη νέα ταξινόμηση περιλαμβάνει τα γένη *Chlamydia* και *Chlamydia abortus*. Στο γένος *Chlamydia* εντάσσονται τα είδη *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia muridarum* και *Chlamydia suis*. Τα δύο νέα είδη, *Chlamydia muridarum* και *Chlamydia suis*, περιλαμβάνουν στελέχη που προηγουμένως χαρακτηρίζονταν ως *Chlamydia trachomatis*. Στο γένος *Chlamydia abortus* εντάσσονται τα είδη *Chlamydia abortus*, *Chlamydia caviae*, *Chlamydia felis*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pecorum* και *Chlamydia pneumoniae*. Τα είδη *Chlamydia abortus*, *Chlamydia caviae*, *Chlamydia felis* και *Chlamydia psittaci* περιλαμβάνουν στελέχη που μέχρι πρόσφατα χαρακτηρίζονταν ως *Chlamydia psittaci*. Τα είδη *Chlamydia pecorum* και *Chlamydia pneumoniae* προέρχονται αντίστοιχα από τα είδη που μέχρι σήμερα χαρακτηρίζονταν ως *Chlamydia pecorum* και *Chlamydia pneumoniae* και των οποίων τα στελέχη προγενέστερα χαρακτηρίζονταν επίσης ως *Chlamydia psittaci*.

Η οικογένεια *Parachlamydiaceae* περιλαμβάνει τα γένη *Parachlamydia* και *Neochlamydia* και τα είδη *Parachlamydia acanthamoebae* και *Neochlamydia hartmannellae* αντίστοιχα. Η οικογένεια *Simkaniaceae* πε-

Πίνακας 2. *Chlamydiales* spp. και οι ξενιστές τους
Table 2. *Chlamydiales* spp. and their hosts

<i>Chlamydiales</i> spp.	Τυπικός ξενιστής
<i>Chlamydia trachomatis</i>	άνθρωπος
<i>Chlamydia muridarum</i>	ποντικός, χάμιστρο
<i>Chlamydia suis</i>	χοίρος
<i>Chlamydophila abortus</i>	πρόβατο, αίγα, βοοειδή ^{α,β}
<i>Chlamydophila caviae</i>	ινδικό χοιρίδιο
<i>Chlamydophila felis</i>	γάτα ^α
<i>Chlamydophila psittaci</i>	πτηνά ^α
<i>Chlamydophila pecorum</i>	πρόβατο, αίγα, βοοειδή, χοίρος, κοάλα
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	άνθρωπος, ίππος, κοάλα
<i>Parachlamydia acanthamoebae</i>	αμοιβάδα
<i>Neochlamydia hartmannellae</i>	αμοιβάδα
<i>Simkania negevensis</i>	άνθρωπος
<i>Waddlia chondrophila</i>	βοοειδή

α. Στελέχη των χλαμυδιακών ειδών *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila felis* και *Chlamydophila psittaci* είναι δυνατό να μεταδοθούν στον άνθρωπο μέσω των τυπικών τους ξενιστών.^{10,11}

β. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις απομόνωσης της *Chlamydophila abortus* από χοίρους, άλογο, κουνέλι, ινδικά χοιρίδια και ποντικούς.^{5,38}

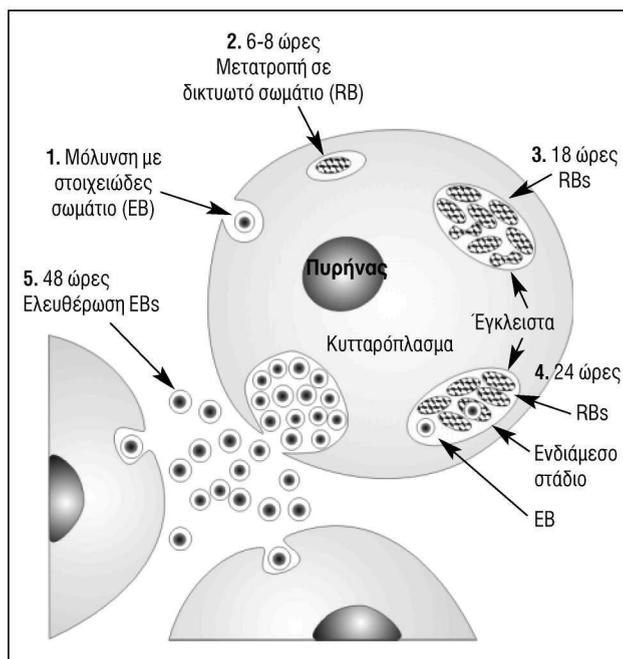
ριλαμβάνει το γένος *Simkania*, στο οποίο εντάσσεται το είδος *Simkania negevensis*. Τέλος, η οικογένεια *Waddliaceae* περιλαμβάνει το γένος *Waddlia*, στο οποίο εντάσσεται το είδος *Waddlia chondrophila*.

Η νέα ταξινόμηση έγινε με βάση την ανάλυση των γονιδίων που κωδικοποιούν το 16S και το 23S ριβοσωματικό RNA (rRNA). Τα στελέχη που ανήκουν στην οικογένεια *Chlamydiaceae*, παρουσιάζουν μεταξύ τους περισσότερο από 90% ομοιότητα στο γονίδιο του 16S rRNA, ενώ στελέχη που παρουσιάζουν 80-90% ομοιότητα στο γονίδιο του 16S rRNA με εκείνα της οικογένειας *Chlamydiaceae*, κατατάσσονται σε νέες οικογένειες. Στην οικογένεια *Chlamydiaceae*, το γένος *Chlamydophila* περιλαμβάνει στελέχη που παρουσιάζουν μεταξύ τους περισσότερο από 95% ομοιότητα στα γονίδια του 16S και 23S rRNA.

Η νέα ταξινόμηση σε είδη συμφωνεί και με άλλα συστήματα "ταξινόμησης" των χλαμυδιακών στελεχών, όπως ανάλυση των γονιδίων *omp1* και *omp2*, ανάλυση του DNA στο σύνολο του γονιδιώματος, μελέτη της παρουσίας ή όχι πλασμιδίου, καθώς και με μη γενετικά δεδομένα, π.χ. την αντιγονικότητα, την παθογένεια και το είδος του ξενιστή.¹¹ Ωστόσο, το είδος του ξενιστή ως κριτήριο ταξινόμησης δεν είναι απόλυτο. Για παράδειγμα, ένα είδος του γένους *Chlamydophila* είναι δυνατό να μολύνει διαφορετικά είδη ζώων και ένα είδος ζώων μπορεί να μολυνθεί από διαφορετικά είδη *Chlamydophila* (Πίνακας 2).

2. Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των χλαμυδιών*

Οι χλαμύδιες είναι μικρά Gram αρνητικά, αποστρωγυλεμένα βακτήρια: πρόκειται για υποχρεωτικά ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς, που πολλαπλασιάζονται στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων και σχημα-



Εικόνα 1. Κύκλος ανάπτυξης των χλαμυδιών
Figure 1. The *Chlamydiales* developmental cycle of replication

τίζουν χαρακτηριστικά "έγκλειστα".

Υπάρχουν δύο μορφές του μικροοργανισμού: το στοιχειώδες σωματίο (elementary body, EB) και το δικτυωτό σωματίο (reticulate body, RB). Το στοιχειώδες σωματίο (200-300 nm) αποτελεί τη μολυσματική μορφή του μικροοργανισμού και είναι προσαρμοσμένο στην εξωκυττάρια επιβίωση. Το δικτυωτό σωματίο (600-1000 nm) δεν είναι μολυσματικό και αποτελεί την ενδοκυττάρια αναπαραγωγική μορφή.¹²

Χαρακτηριστικός είναι ο ειδικός κύκλος ανάπτυξης¹² (Εικόνα 1). Η μόλυνση του κυττάρου αρχίζει με την προσκόλληση του στοιχειώδους σωματίου στην επιφάνεια του ευκαρυωτικού κυττάρου. Ακολουθεί η είσοδος του στο κυτταρόπλασμα με ενδοκύτωση. Λίγες ώρες μετά, το στοιχειώδες σωματίο μεγεθύνεται, χάνει τον πυκνωτικό του πυρήνα, συνθέτει ριβοσώματα, μεταμορφώνεται σε σωματίο με λεπτό τοίχωμα και μ'αυτόν τον τρόπο μετατρέπεται από μεταβολικά αδρανές σωματίο στο μεταβολικά ενεργό δικτυωτό σωματίο. Στη συνέχεια, το δικτυωτό σωματίο συνθέτει μακρομοριακό υλικό και διαίρειται με διχοτόμηση, σχηματίζοντας καινούργια δικτυωτά σωματία. Καθώς ο αριθμός τους αυξάνει, σχηματίζεται μικροαποικία, που ονομάζεται "έγκλειστο" (inclusion) και διαφέρει σε σχήμα και μορφή ανάλογα με το είδος της χλαμύ-

* Ο όρος "χλαμύδια" αναφέρεται στους μικροοργανισμούς που ανήκουν στην οικογένεια *Chlamydiaceae* είτε αυτοί ανήκουν στο γένος *Chlamydia* είτε στο γένος *Chlamydophila*. Για τον προσδιορισμό συγκεκριμένου γένους ή είδους χρησιμοποιείται επακριβώς η αντίστοιχη ονομασία π.χ. *Chlamydia*, *Chlamydophila*, *C. suis*, *C. abortus*, *C. pecorum* κ.ά.

διας.^{13,14} Μετά από 20 ώρες περίπου αρχίζει και πάλι να σχηματίζεται ένα πυκνό πυρηνικό υλικό, η μεταβολική δραστηριότητα σταματά και το δικτυωτό σωματίο συμπυκνώνεται και αναδιοργανώνεται σε στοιχειώδες σωματίο. Προοδευτικά όλα τα δικτυωτά σωματία αντικαθίστανται από στοιχειώδη σωματία. Τέλος, είτε με λύση του κυττάρου ξενιστή είτε με εξωκύτωση των εγκλειστών απελευθερώνονται μέχρι και 10.000 στοιχειώδη σωματία, που μπορούν να μολύνουν άλλα ευαίσθητα κύτταρα. Ο κύκλος ανάπτυξης διαρκεί περίπου 48 ώρες, κυμαίνεται όμως και εξαρτάται τόσο από το είδος της χλαμύδιας, όσο και από το κύτταρο ξενιστή.^{12,13,14}

Κατά τη διάρκεια του κύκλου ανάπτυξης αναστέλλονται οι αμυντικοί μηχανισμοί του κυττάρου με παρεμπόδιση της συγχώνευσης των λυσοσωμάτων με το φαγόσωμα, που περιέχει το μικροοργανισμό. Πιστεύεται, ότι ο μικροοργανισμός, τη στιγμή της προσκόλλησής του στο κύτταρο ή τη στιγμή της εισόδου του σ' αυτό, μεταβάλλει τη μεμβράνη του φαγοσώματος με αποτέλεσμα να μην αναγνωρίζεται από τα λυσοσώματα. Με την ολοκλήρωση του κύκλου ανάπτυξης του μικροοργανισμού, το κύτταρο πεθαίνει και λύεται. Ωστόσο, είναι δυνατό να σημειωθούν επίμονες μολύνσεις (persistent infections), κατά τις οποίες η ανάπτυξη του μικροοργανισμού και ο πολλαπλασιασμός του κυττάρου εξελίσσονται ελεύθερα και ανεξάρτητα το ένα από το άλλο.¹⁵ Η συχνότητα με την οποία συμβαίνει η εμμονή (persistence) εξαρτάται από το είδος και τη λοιμογόνο δύναμη των χλαμυδιακών στελεχών. Τα παραπάνω αποτελούν τη βάση της επιτυχούς προσαρμογής των χλαμυδιών στους ξενιστές τους και πιθανόν να βοηθούν στην ερμηνεία της ικανότητας των χλαμυδιών να προκαλούν "λανθάνουσες" λοιμώξεις (βλ. Παθολογία & Ανοσολογική απάντηση).

Η υποχρεωτική ενδοκυττάρια ανάπτυξη των χλαμυδιών οφείλεται στο ότι αυτοί οι μικροοργανισμοί χαρακτηρίζονται από περιορισμένη ενζυμική μεταβολική δραστηριότητα. Στερούνται της ικανότητας σύνθεσης συστατικών υψηλής ενέργειας, και γ' αυτό έχουν χαρακτηριστεί ως "ενεργειακά παράσιτα" (energy parasites). Χρησιμοποιούν την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και την τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP) των κυττάρων που παρασιτούν, για τη σύνθεση των νουκλεϊνικών τους οξέων, των πρωτεϊνών τους και των λιπιδίων τους. Εν τω μεταξύ οι χλαμύδιες ανταγωνίζονται το κύτταρο ξενιστή σε αμινοξέα (π.χ. τρυπτοφάνη). Η έλλειψη θρεπτικών ουσιών, όπως της τρυπτοφάνης, μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του μικροοργανισμού σε "λανθάνουσα" κατάσταση.^{16,17} (βλ. Ανοσολογική απάντηση).

Τα σωματία της χλαμύδιας περιέχουν γονιδίωμα, που αποτελείται από κλειστό κυκλικό δίκλωνο DNA και έχει μέγεθος 1.0-1.2 Mbp.⁴ Στα σωματία υπάρχει επίσης RNA, το μεγαλύτερο μέρος του οποίου υπάρχει στα ριβοσώματα. Η γενετική σύνθεση των στελεχών χλαμύδιας παρουσιάζει σημαντική ποικιλία (βλ. Αιτιολογία - 1. Νέα ταξινόμηση). Σε πολλά, όχι όμως σε όλα τα είδη, υπάρχει εξωχρωμοσωματικό πλασμίδιο μεγέθους περίπου 7.5 kbp.⁴

Τα χλαμυδιακά στελέχη έχουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα πολυάριθμα αντιγόνα, εκ των οποίων τα πλέον γνωστά είναι ο λιποπολυσακχαρίτης (Lipopolysaccharide, LPS), η κύρια πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης (Major Outer Membrane Protein, MOMP), δύο πλούσιες σε κυστεΐνη πρωτεΐνες (12 και 60 kDa), δύο πολυπεπτίδια 18 και 31 kDa, οι πρωτεΐνες του "θερμικού shock" (heat shock proteins, hsp) καθώς και οι πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης των 90 kDa (Outer Membrane Proteins 90, OMP90).

Το αντιγόνο LPS είναι κοινό για όλα τα χλαμυδιακά στελέχη. Αποτελεί ένα σύμπλοκο λιπαρών οξέων, φωσφολιπιδίων και σακχάρων και έχει μοριακό βάρος 10-14 kDa. Στα στοιχειώδη σωματία εντοπίζεται εσωτερικά της εξωτερικής μεμβράνης, ενώ στα δικτυωτά σωματία στην επιφάνεια αυτής.¹⁸ Υπάρχει διασταυρωμένη ανοσολογική αντίδραση μεταξύ του χλαμυδιακού LPS και του LPS των *Re* μεταλλακτών του γένους *Salmonella* και του LPS του βακτηρίου *Acinetobacter calcoaceticus*, καθώς υπάρχουν κοινοί αντιγονικοί καθοριστές. Ωστόσο, στο χλαμυδιακό LPS υπάρχει ένας επίτοπος που είναι ειδικός και αποκλειστικός των χλαμυδιακών στελεχών.¹⁹ Αυτός αποδίδεται στον τρισακχαρίτη 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid (Kdo), με τον τύπο aKdo-(2→8)-aKdo-(2→4)-aKdo, στον οποίο ο δεσμός 2-8 είναι αποκλειστικός για τα χλαμυδιακά στελέχη. Το αντιγόνο LPS είναι θερμοανθεκτικό (στους 100°C για 30') και αδρανοποιείται από το υπερϊωδικό κάλιο. Παρασκευάζεται με βρασμό εναιωρήματος στοιχειωδών σωματιών ή με ρήξη αυτών και εκχύλιση με αιθέρα, δεσοξυχολικό νάτριο ήθειικό-δωδεκυλικό νάτριο (SDS), καθώς και με άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση του LPS άλλων Gram αρνητικών βακτηρίων. Το χλαμυδιακό LPS συνδέει το συμπλήρωμα και χρησιμοποιείται ως αντιγόνο στη δοκιμή της σύνδεσης του συμπληρώματος (CFT) για την ορολογική διάγνωση της χλαμυδιακής λοίμωξης.

Η MOMP είναι μια πλούσια σε κυστεΐνη πρωτεΐνη, αποτελεί το 60% της εξωτερικής μεμβράνης και έχει μοριακό βάρος 40 kDa. Είναι ένα πολύ σημαντικό μόριο, που υπάρχει σε όλα τα χλαμυδιακά στελέχη και παίζει σπουδαίο ρόλο τόσο στη δομή και τη λειτουργία του κυτταρικού τοιχώματος,²⁰ όσο και στην παθογένεια και την ανοσία των λοιμώξεων (βλ. Ανοσολογική απάντηση). Το μόριό της αποτελείται από σταθερές και μεταβλητές περιοχές. Οι μεταβλητές περιοχές είναι 4 επιμέρους πρωτεΐνες, οι VDI-VDIV (Variable Domain I-IV), που προεξέχουν από την επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος και αντιπροσωπεύουν ειδικούς του είδους και του ορότυπου επιτόπους.²¹ Το γονίδιο που κωδικοποιεί τη MOMP, *omp1* ή *ompA*, περιέχει σταθερές περιοχές και τις μεταβλητές περιοχές VS1-VS4 (Variable Segment 1-4).²¹ Με βάση την ανάλυση της ακολουθίας του γονιδίου της MOMP (*omp1*) αλλά και με τη χρήση αντι-MOMP μονοκλωνικών αντισωμάτων διαφοροποιούνται τα χλαμυδιακά είδη μεταξύ τους και οι ορότυποί τους.^{21,22,23} Η MOMP, ως σημαντικό αντιγόνο στην ανοσία των χλαμυδιακών λοιμώξεων, είναι

δυνατό να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή εμβολίων.²⁰

Μία πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 57 kDa είναι κοινή για τα χλαμυδιακά στελέχη και παρουσιάζει ομοιότητες με πρωτεΐνες που υπάρχουν σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα.²⁴ Πρόκειται για μια "stress-response protein" ή "heat-shock protein" (hsp, πρωτεΐνη θερμικού shock) και χαρακτηρίζεται ως hsp60. Παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια των χλαμυδιακών λοιμώξεων. Εξαιτίας διασταυρωμένων ανοσολογικών αντιδράσεων, προκαλεί διέγερση των μηχανισμών υπερευαισθησίας. Μια άλλη hsp, μοριακού βάρους 75 kDa, υπάρχει στα χλαμυδιακά στελέχη και πιστεύεται, ότι ως ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί στο μέλλον για την παρασκευή εμβολίου.²⁵

Οι OMP90 είναι μία ομάδα πρωτεϊνών με μοριακά βάρη γύρω στο 90 kDa, που βρίσκονται στην επιφάνεια της εξωτερικής μεμβράνης των στοιχειωδών και δικτυωτών σωματιών των στελεχών της *C. abortus*.^{26,27} Πρωτεΐνες των 90 kDa εμφανίζονται μόνο σε "εισβάλλοντα" (invasive) χλαμυδιακά στελέχη μηρυκαστικών, δηλαδή στελέχη τα οποία, μετά από τον υποδόριο ενοφθαλμισμό τους σε μοντέλο ποντικού, διεισδύουν στα επιχώρια λεμφογάγγλια και πολλαπλασιάζονται στο ΔΕΣ.²⁸ Με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έχουν ξεχωρίσει 4 υποομάδες (A, B, C και D) στην περιοχή των 90/104kDa, που παρουσιάζουν διασταυρωμένη αντίδραση και κωδικοποιούνται από ομάδα γονιδίων ομόλογων μεταξύ τους.^{27,29} Γονίδια λιγότερο ή περισσότερο ομόλογα με τα γονίδια που κωδικοποιούν τις OMP90 της *C. abortus*, βρέθηκαν και σε στελέχη της *C. psittaci*, της *C. felis*, της *C. pneumoniae* και της *C. trachomatis*, όχι όμως σε στελέχη της *C. pecorum*.^{27,30} Υποστηρίζεται, ότι η πρωτεϊνική ομάδα των 90 kDa είναι ένας σημαντικός λοιμογόνος παράγοντας²⁸ και ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή εμβολίου.²⁷ Τέλος, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί στη διάγνωση της χλαμυδιακής αποβολής.^{13,27,31}

3. Παθογόνα είδη για το πρόβατο και την αίγα

Σήμερα είναι γνωστό, ότι δύο είδη του γένους *Chlamydomphila* προσβάλλουν το πρόβατο και την αίγα: η *Chlamydomphila abortus* και η *Chlamydomphila pecorum*⁵ (Πίνακας 2).

3.1 *Chlamydomphila abortus*: ο αιτιολογικός παράγοντας της αποβολής

Στελέχη αυτού του είδους μέχρι πρόσφατα χαρακτηρίζονταν ως *Chlamydia psittaci*-type 1.¹¹

Η *C. abortus* προσβάλλει κυρίως τα μηρυκαστικά (πρόβατα, αίγες και βοοειδή). Παρουσιάζει τροπισμό στον πλακούντα και προκαλεί αποβολές ή γεννήσεις ασθενικών ή θνησιγενών νεογεννητών.³² Στο πρόβατο και στην αίγα η νόσος είναι γνωστή ως χλαμυδιακή ή ενζωτική αποβολή.^{6,33} Στελέχη της *C. abortus* είναι δυνατό να εμφανιστούν και στα κόπραννα υγιών ζώων, πρόκειται δηλαδή για εντερικά στελέχη που απομονώνονται από ποίμνια χωρίς

ιστορικό αποβολών^{34,35,36,37} (βλ. Επιζωοτιολογία). Περιπτώσεις αποβολών ή εντερικών λοιμώξεων από στελέχη της *C. abortus* έχουν επίσης καταγραφεί σε χοίρους, άλογο, κουνέλι, ινδικά χοιρίδια και ποντικούς^{5,38} καθώς και στον άνθρωπο.^{5,10}

Τα στελέχη της *C. abortus* χαρακτηρίζονται από την παρουσία του αντιγόνου OMP90 και είναι "εισβάλλοντα" (invasive) σε μοντέλο ποντικού^{28,32} (βλ. Αιτιολογία - 2. Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των χλαμυδιών). Τα στελέχη της *C. abortus* αποτελούν έναν ορότυπο¹¹ και παρουσιάζουν μεταξύ τους σχεδόν 100% ομοιότητα σ' ό,τι αφορά την ακολουθία των γονιδίων του rRNA^{4,5} και του γονιδίου που κωδικοποιεί τη MOMP (*omp 1*).²³ Τα γονίδια του 16S rRNA των στελεχών της *C. abortus* διαφέρουν λιγότερο από 0.07%.⁴ Ωστόσο, διαφορές μεταξύ των στελεχών έχουν βρεθεί όταν αυτά ελέγχθηκαν με διασταυρωμένες αντιδράσεις σε μοντέλο ποντικού.^{39,40} Οι διαφορές σε ορισμένα στελέχη επιβεβαιώθηκαν και *in vitro* με την εξέταση της μορφολογίας των εγκλειστων, την αντίδραση με μονοκλωνικά αντισώματα, την ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών τους⁴¹ καθώς και με την εφαρμογή της PCR-RFLP στο διαγονιδιακό τμήμα του 16S και 23S rRNA τους (προσωπική εμπειρία). Εξάλλου, με την εφαρμογή της PCR-AFLP, στελέχη της *C. abortus* ομαδοποιήθηκαν ανάλογα με τη γεωγραφική τους προέλευση και πιθανόν τον ξενιστή (πρόβατο, αίγα, βοοειδή) και τον ιστό απομόνωσής τους (αποβολής από εντερικά).⁴² Τα στελέχη B577, EBA, OSP, S26/3 και A22 θεωρούνται τυπικά στελέχη της *C. abortus*.⁴ Εξωχρωμοσωματικό πλασμίδιο δεν έχει βρεθεί σε στελέχη της *C. abortus*.⁴

3.2 *Chlamydomphila pecorum*

Το είδος *Chlamydomphila pecorum* μέχρι πρόσφατα χαρακτηριζόταν ως *Chlamydia pecorum*,⁴³ είδος που σε προγενέστερη ταξινόμηση είχε συσταθεί από τους ορότυπους 2, 3, 4, 6 και 9 της *Chlamydia psittaci*.³⁸

Τα περισσότερα στελέχη της *C. pecorum* είναι χαμηλής λοιμογόνου δύναμης, δε διαπερνούν το εντερικό επιθήλιο και δε διασπείρονται στα εσωτερικά όργανα ή στον πλακούντα³⁵ χαρακτηρίζονται ως "μη εισβάλλοντα" (non invasive) σε μοντέλο ποντικού^{28,32} (βλ. Αιτιολογία - 2. Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των χλαμυδιών & Επιζωοτιολογία). Προκαλούν αφανείς εντερικές λοιμώξεις ή τοπικές λοιμώξεις, που περιορίζονται στο επιθήλιο των βλεννογόνων. Η *C. pecorum* προσβάλλει μηρυκαστικά, χοίρους και κοάλα (μαρσιποφόρο): στα βοοειδή προκαλεί πολυαρθρίτιδα, επιπεφυκίτιδα, εγκεφαλομυελίτιδα, πνευμονία, μητρίτιδα-αγονιμότητα και εντερικές λοιμώξεις,^{5,43,44} στο χοίρο πολυαρθρίτιδα, πνευμονία, αποβολή και εντερικές λοιμώξεις,^{5,44} ενώ στα κοάλα νόσο του γεννητικού συστήματος με στειρότητα, νόσο του ουροποιητικού και επιπεφυκίτιδα.⁵ Στο πρόβατο και στην αίγα αναφέρονται δύο υπότυποι της *C. pecorum*: ο υπότυπος της αρθρίτιδας-επιπεφυκίτιδας και ο υπότυπος της αφανούς εντερικής λοίμωξης.³⁷ Ο πρώτος υπότυπος συνδέεται με το σύνδρομο αρθρίτιδας-επιπεφυκίτιδας που απαντά σε αμνούς διά-

φορης ηλικίας, οι οποίοι εκτρέφονται συνήθως εντατικά για άχυνση.⁴⁴ Η μη συχνή παρουσία του υπότυπου αυτού μπορεί να οφείλεται στη δυσκολία απομόνωσης του. Ο δεύτερος υπότυπος δε συνδέεται με καμία κλινική νόσο, εντούτοις απομονώνεται πολύ συχνά από τα κόπρανα υγίων ζώων^{14,43,45} (βλ. Επιζωοτιολογία).

Τα στελέχη της *C. pecorum* παρουσιάζουν μεταξύ τους υψηλού βαθμού ομοιότητα σ' ό,τι αφορά την ακολουθία των γονιδίων του rRNA· τα γονίδια του 16S rRNA των στελεχών της *C. pecorum* διαφέρουν λιγότερο από 0.6%.⁴ Διαφορές υπάρχουν μεταξύ των στελεχών της *C. pecorum* σ' ό,τι αφορά το γονίδιο της MOMP (*omp1*), παρουσιάζουν όμως μια κοινή περιοχή από 180 ζεύγη βάσεων.²³ Τα στελέχη της *C. pecorum*, αν και έχουν πολλές αντιγονικές διαφορές, εντούτοις έχουν κοινούς τουλάχιστον δύο επιτόπους, που αναγνωρίζονται με ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα.⁴⁶ Μερικά από τα στελέχη της *C. pecorum* παρουσιάζουν εξωχρωμοσωματικό πλασμίδιο.⁴ Η ανάλυση του DNA των στελεχών της *C. pecorum* έδειξε λιγότερο από 20% ομοιότητα με το DNA των στελεχών των άλλων χλαμυδιακών ειδών.⁴³ Εκτός αυτού, διαφορές από τη *C. abortus* αποτελούν η απουσία της OMP90, η διαφορετική μορφολογία των εγκλείστων καθώς και η διαφορά στην εμμονή (persistence) σε κυτταροκαλλιέργειες.^{13,15,28,45}

3.3 Άλλα χλαμυδιακά είδη

Αν και σπάνια, είναι πιθανό στελέχη άλλων χλαμυδιακών ειδών, π.χ. στελέχη της *C. psittaci*, που προσβάλλουν τα πτηνά, να μολύνουν πρόβατα και αίγες^{11,22,47} (βλ. Επιζωοτιολογία).

Χλαμυδιακά στελέχη απομονώθηκαν από περιπτώσεις πνευμονίας ή επιδιδυμίτιδας σε πρόβατα. Το είδος αυτών των στελεχών δεν καθορίστηκε, εξαιτίας ανεπαρκούς διερεύνησης. Σημειώνεται όμως, ότι περιπτώσεις χλαμυδιακής πνευμονίας παρατηρήθηκαν σε ποίμνια στα οποία είχε διαγνωστεί χλαμυδιακή αποβολή.⁸ Επίσης χλαμύδια απομονώθηκαν από την ουρογεννητική οδό και το σπέρμα κριών, που παρουσίαζαν ορχίτιδα και επιδιδυμίτιδα και προέρχονταν από ποίμνια στα οποία είχε σημειωθεί χλαμυδιακή αποβολή.⁴⁸ Πρόκειται μάλλον για στελέχη της *C. abortus*.

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η μόλυνση γίνεται κυρίως από το στόμα με τη λήψη μολυσμένης τροφής, αλλά και με εισπνοή μολυσμένων σταγονιδίων. Πειραματική μόλυνση από το στόμα εγκύων προβατινών, προκαλεί αποβολή όμοια με αυτή που συμβαίνει στη φυσική νόσο.^{49,50} Η νόσος αναπαράγεται πειραματικά και όταν μολυσμένοι πλακούντες έρχονται σε επαφή με το ακρορρίνιο προβατινών.⁴⁹

Πύλη εισόδου για το μικροοργανισμό είναι οι αμυγδαλές. Αποβολή προκαλείται μετά από τον ενοφθαλμισμό του μικροοργανισμού στις κρύπτες των αμυγδαλών και όχι μετά τη χορήγηση αυτού ενδοστομαχικά.⁵¹

Μόλυνση είναι δυνατή να γίνει και από τη γεννητική

οδό. Έχει αποδειχθεί ότι ο κολπικός βλεννογόνος είναι ευαίσθητος στη μόλυνση. Πειραματική ενδοκολπική μόλυνση προβατινών οδηγεί σε αποβολή ή γέννηση ασθενικών νεογεννητών.⁵² Εντούτοις, ενδεικτικά μόνο αποτελέσματα είχε η τεχνητή γονιμοποίηση προβατινών με μολυσμένο σπέρμα κριού.^{49,53}

Ανεξάρτητα από την οδό μόλυνσης, ρινοφαρυγγική ή κολπική, ο μικροοργανισμός προσλαμβάνεται από μακροφάγα και μεταφέρεται με τη λέμφο και το αίμα σε διάφορους ιστούς και όργανα. Εγκαθίσταται κυρίως στα λεμφογάγγλια, στους πνεύμονες, στο ήπαρ και στο σπλήνα, όπου παραμένει σε "λανθάνουσα" κατάσταση.^{49,54,55,56,57,58} Είναι πιθανόν οι χλαμύδιες να βρίσκονται στα παραπάνω όργανα σε ένα μη μολυσματικό στάδιο, ή σε ένα στάδιο το οποίο έχει μία εξαιρετικά χαμηλή μολυσματικότητα.³³ Στην υπόθεση αυτή οδηγεί το γεγονός, ότι ενώ δύο ημέρες μετά τη μόλυνση χλαμυδιακό αντιγόνο ανιχνεύεται στα κύτταρα των διαφόρων οργάνων, ο μικροοργανισμός δεν μπορεί να απομονωθεί με καλλιέργεια από τα ίδια όργανα.⁵⁸ Η ανίχνευση του αντιγόνου και του DNA του μικροοργανισμού στους λεμφοειδείς ιστούς της περιοχής ενοφθαλμισμού του, δείχνει ότι ο μικροοργανισμός παραμένει σε μη μολυσματικό ή ανώριμο στάδιο ως συνέπεια της ανοσολογικής απάντησης των ζώων,^{56,59} που αφορά τη διέγερση των T και B λεμφοκυττάρων, κυρίως όμως την τοπική παραγωγή της ιντερφερόνης-γ^{17,60} (βλ. Ανοσολογική απάντηση). Πάντως υποστηρίζεται, ότι υπάρχει μικρή πιθανότητα να μπορεί ο μικροοργανισμός να παραμένει συνεχώς σε έναν ξενιστή σε μία μη πολλαπλασιαζόμενη μορφή, δηλαδή με τη μορφή αληθούς λανθάνουσας κατάστασης. Πιστεύεται, ότι ο πολλαπλασιασμός των χλαμυδίων συνεχίζεται, αν και σε χαμηλό βαθμό, και ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή και του σταθερά αργού πολλαπλασιασμού των χλαμυδίων μπορεί να οδηγεί σε αφανή ή υποκλινική λοίμωξη³³ (βλ. Ανοσολογική απάντηση).

Ένα ζώο λοιπόν είναι δυνατό να μολυνθεί σε πολύ μικρή ηλικία και να διατηρήσει υποκλινική ή αφανή λοίμωξη μέχρι την πρώτη του κυοφορία, κατά τη διάρκεια της οποίας η λοίμωξη ενεργοποιείται.⁵⁵

Ο πλακούντας είναι το όργανο εκλεκτικής εντόπισης της λοίμωξης από τη *C. abortus*.² Ο μικροοργανισμός εγκαθίσταται στον πλακούντα κατά τη διάρκεια φάσεων χλαμυδιακότητας που συμβαίνουν κατά την κυοφορία.³³

Ο ρόλος της ερυθριτόλης, ουσίας που βρίσκεται στο γεννητικό σύστημα των μηρυκαστικών, δε φαίνεται σημαντικός στον τροπισμό και την ανάπτυξη της *C. abortus* στον πλακούντα. Έχει αποδειχθεί ότι η ερυθριτόλη ενισχύει την ανάπτυξη του μικροοργανισμού *in vitro*, όταν προστίθεται στο υλικό καλλιέργειας των κυττάρων McCoy σε σχετικά υψηλή συγκέντρωση.⁶¹ Σημειώνεται όμως, ότι, ενώ η ερυθριτόλη βρίσκεται σε πολύ χαμηλή περιεκτικότητα στον πλακούντα του ανθρώπου και του ποντικού, η *C. abortus* αναπτύσσεται εξίσου καλά στον πλακούντα των παραπάνω ειδών (βλ. Αιτιολογία - 3.1 *Chlamydophila abortus*).

Πιστεύεται, ότι η ανοσοκαταστολή, ένα χαρακτηριστικό φαινόμενο που συμβαίνει κατά την εγκυμοσύνη, παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της *C. abortus* στον πλακούντα και κατ'επέκταση στην παθογένεια της νόσου.^{50,62} Εξάλλου, σε κανένα στάδιο της εγκυμοσύνης δεν έχει αποδειχθεί η παρουσία ιντερφερόνης- γ στον πλακούντα του προβάτου, κυτοκίνης που έχει τη δυνατότητα της άμεσης αναχαίτισης της ανάπτυξης του μικροοργανισμού^{16,17} (βλ. Ανοσολογική απάντηση).

Η μόλυνση στον πλακούντα ακολουθεί συγκεκριμένη πορεία:

- Γύρω στην 60ή ημέρα της εγκυμοσύνης, όταν φυσιολογικά οι λάχνες του χορίου εισβάλλουν στο ενδομήτριο, ο μικροοργανισμός μεταφέρεται με το αίμα της μητέρας στην εμβρυογενή μοίρα του πλακούντα (χόριο).⁶³ Εντούτοις, ο πλακούντας παραμένει ανθεκτικός και εμφανίζεται χωρίς αλλοιώσεις για ένα διάστημα.⁶³

- Προϊούσης της εγκυμοσύνης, οι μεταβολές που συμβαίνουν φυσιολογικά σε ενδοκρινικούς ή ανοσολογικούς μηχανισμούς, είναι δυνατό να επιτρέπουν το μαζικό πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού στον πλακούντα.⁶³ Η νεκρωτική πλακουντίτιδα, που προκαλείται από την άφθονη ανάπτυξη του μικροοργανισμού, εμφανίζεται αποκλειστικά μετά την 90ή ημέρα της εγκυμοσύνης, ανεξάρτητα από τη χρονική στιγμή κατά την οποία γίνεται η μόλυνση.⁶³ Παράλληλα, το έμβryo παρουσιάζει σημεία λοίμωξης, που είναι κυρίως εστιακές νεκρώσεις σε διάφορα όργανα. Αν και, όπως φαίνεται από την πρόιμη εμβρυϊκή ανοσολογική απάντηση (βλ. Ανοσολογική απάντηση), ο μικροοργανισμός εντοπίζεται στο έμβryo πριν από την 90ή ημέρα της εγκυμοσύνης, εντούτοις τα επίπεδα μόλυνσης και οι αλλοιώσεις του εμβρύου είναι πολύ μικρότερα από εκείνα του πλακούντα.⁶³

- Κατά τη διάρκεια του τελικού σταδίου της εγκυμοσύνης (125η έως 140ή ημέρα), ως συνέπεια των πολλαπλών νεκρωτικών αλλοιώσεων του πλακούντα και των επακόλουθων μεταβολών στη σύνδεση εμβρύου-πλακούντα, επέρχεται ο θάνατος και η αποβολή του εμβρύου. Λιγότερο σοβαρή μόλυνση του πλακούντα μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρη γέννηση ασθενικού νεογεννήτου, που είναι ελλιποβαρές και κατά το πλείστον θνησιγενές.⁶⁴

Η προγεστερόνη, ορμόνη σημαντική για τη διατήρηση της εγκυμοσύνης, εκκρίνεται από τον πλακούντα κατά τα τελευταία στάδια της εγκυμοσύνης και μαζί με τα οιστρογόνα και την προσταγλανδίνη ελέγχει την έναρξη του τοκετού. Σε περίπτωση μόλυνσης του πλακούντα από τη *C. abortus*, έχουν παρατηρηθεί μεταβολές στις συγκεντρώσεις αυτών των ορμονών. Πιστεύεται λοιπόν, ότι η πρόωρη μείωση της προγεστερόνης και η πρόωρη αύξηση των συγκεντρώσεων της οιστραδιόλης 17 β και της προσταγλανδίνης E₂, που παρατηρούνται ταυτόχρονα με τις μακροσκοπικές και ιστολογικές αλλοιώσεις του πλακούντα, συμβάλλουν στην πρόωρη διακοπή της εγκυμοσύνης.⁶⁵

Ωστόσο, παραμένει το ερώτημα: ποιός ακριβώς είναι ο παράγοντας που μετατρέπει τη "λανθάνουσα" κατάσταση

σε ενεργό λοίμωξη ή ποιός είναι ο παράγοντας εκείνος που δεν επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού στον πλακούντα για ένα μεγάλο διάστημα και καθιστά αυτόν ανθεκτικό γι' αυτό το διάστημα;

Η απάντηση πιθανόν να έχει σχέση με τα CD8⁺ T-λεμφοκύτταρα (γδ TCR⁺ CD8⁺) που υπάρχουν στο ενδομήτριο του προβάτου.⁶⁴ Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν αναχαιτιστικές κυτοκίνες (π.χ. TGF- β) καθώς και κυτοκίνες που διεγείρουν την ανάπτυξη του πλακούντα και την έκκριση ορμονών. Αυτές οι κυτοκίνες, μαζί με κυτοκίνες που εκκρίνονται από τροφοβλαστικά κύτταρα (π.χ. interferon-tau, INF- τ) και τη συνεργική δράση ορμονών, μειώνουν προοδευτικά τον αριθμό και τη δραστηριότητα των λεμφοκυττάρων του ενδομητρίου. Εντούτοις, ο υποπληθυσμός των CD8⁺ T-λεμφοκυττάρων δεν επηρεάζεται. Δεν είναι γνωστό εάν τα CD8⁺ T-λεμφοκύτταρα που υπάρχουν στο ενδομήτριο του προβάτου, έχουν χαρακτηριστικά των φυσικά φονικών (NK) κυττάρων, όπως αυτό συμβαίνει με τα μορφολογικά και λειτουργικά όμοια προς αυτά GMG κύτταρα (granulate metrial gland), που είναι τα πολυπληθέστερα λεμφικά κύτταρα της κυοφορούσας μήτρας του ποντικού.⁶⁶ Μία από τις λειτουργίες των GMG κυττάρων είναι πιθανόν η προστασία του πλακούντα από παθογόνους μικροοργανισμούς. Έχει αποδειχθεί ότι τα GMG κύτταρα αρχίζουν να χάνουν το λειτουργικό τους χαρακτήρα προς το τέλος της εγκυμοσύνης. Πράγματι, σε μοντέλο ποντικού έχει φανεί ότι η μόλυνση των GMG κυττάρων και η αποβολή συμβαίνουν πάντοτε στα τελικά στάδια της εγκυμοσύνης, ανεξάρτητα από τη χρονική στιγμή της μόλυνσης με το μικροοργανισμό.⁶⁶ Θα ήταν λοιπόν πολύ ενδιαφέρον να μελετηθεί ο ρόλος των CD8⁺ T-λεμφοκυττάρων του ενδομητρίου στην παθογένεια της χλαμυδιακής αποβολής του προβάτου και της αίγας.

Ο μικροοργανισμός, μετά την αποβολή ή τον τοκετό ασθενικών νεογεννήτων, είναι δυνατό να παραμένει στον κόλπο, στη μήτρα και στις σάλπιγγες⁶⁷ και να απεκκρίνεται από τη γεννητική οδό κατά τη διάρκεια του οίστρου.^{67,68} Εντούτοις, κατά τις επόμενες κυοφορίες ο μικροοργανισμός δεν εγκαθίσταται στον πλακούντα και κατά συνέπεια δεν αναπτύσσεται πλακουντίτιδα και το ζώο δεν αποβάλλει (βλ. Ανοσολογική απάντηση)

Η εκδήλωση της νόσου εξαρτάται από την ηλικία του ζώου καθώς και από το στάδιο της εγκυμοσύνης που γίνεται η μόλυνση (Εικόνα 2). Πιστεύεται, ότι πολλά ζώα μολύνονται *in utero* ή ως νεογεννήτα, συχνότερη όμως θεωρείται η μόλυνσή τους ως ενηλίκων.

- Τα έγκυα ζώα που μολύνονται με το μικροοργανισμό στο πρώτο ή μέσο στάδιο της εγκυμοσύνης (περίπου μέχρι την 100ή ημέρα), αποβάλλουν στο τέλος της ίδιας κυοφορίας.^{6,63,69}

- Τα έγκυα ζώα που μολύνονται σε προχωρημένο στάδιο της εγκυμοσύνης, αναπτύσσουν υποκλινική ή αφανή λοίμωξη και αποβάλλουν στην επόμενη κυοφορία.^{6,33,49}

- Τα μη έγκυα ζώα που μολύνονται με το μικροοργα-

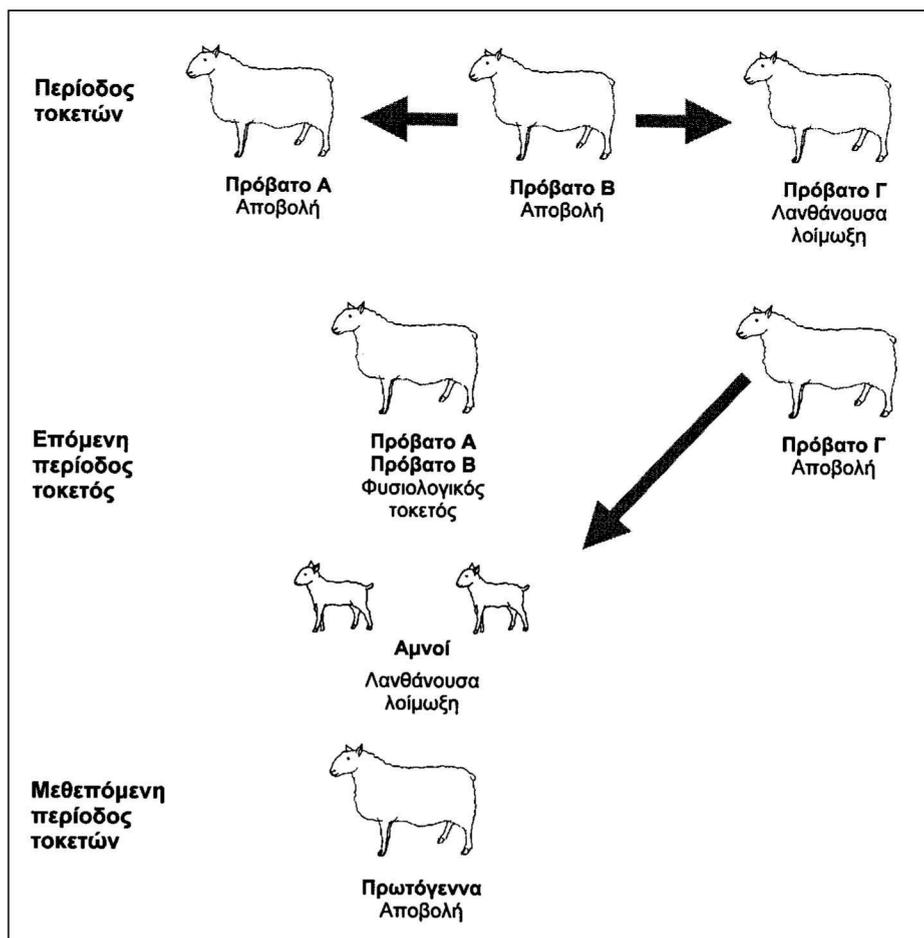
Εικόνα 2

Μόλυνση των ζώων σε σχέση με την ηλικία και το στάδιο της εγκυμοσύνης
 Πρόβατο Β: μολυσμένο πρόβατο
 Πρόβατο Α: πρόβατο στο πρώτο ή μέσο στάδιο της εγκυμοσύνης
 Πρόβατο Γ: πρόβατο σε προχωρημένο στάδιο της εγκυμοσύνης ή μη έγκνο πρόβατο

Figure 2

Differential evolution of the infection according to the age and the stage of pregnancy

Sheep B: infected sheep
 Sheep A: sheep in first or middle stage of pregnancy
 Sheep C: sheep in late stage of pregnancy or non pregnant sheep



νισμό, αναπτύσσουν επίσης υποκλινική ή αφανή λοίμωξη. Κατά την κυοφορία που ακολουθεί, η λοίμωξη δραστηριοποιείται και τα ζώα αποβάλλουν.^{33,54,55}

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

1. Ανοσολογική απάντηση στην προβατίνα και την αίγα

Μετά τη χλαμυδιακή αποβολή, τα ζώα αποκτούν ισχυρή και μακροχρόνια ανοσία, που είναι ικανή να αποτρέπει την αποβολή κατά τις επόμενες κυοφορίες.^{2,70} Η ανοσία αυτή πιθανόν να αποτρέπει τη χλαμυδιαμία κατά τη διάρκεια των επόμενων κυοφοριών καθώς και την εγκατάσταση του μικροοργανισμού στον πλακούντα,³³ παρά το γεγονός ότι σε ζώα με χρόνια μόλυνση ο μικροοργανισμός είναι δυνατό να παραμένει στη μήτρα⁶⁷ (βλ. Παθογένεια). Χλαμυδιακό αντιγόνο ή DNA ανιχνεύεται στο ενδομήτριο, κυρίως στα κύτταρα της βαισιικής στιβάδας του χορίου, όπου παρατηρείται αύξηση του αριθμού των πλασμοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων.⁶⁷

Κατά κανόνα λοιπόν, οι εγκυμοσύνες που ακολουθούν τη χλαμυδιακή αποβολή διεξάγονται φυσιολογικά και, όπως αποδείχθηκε μετά από πειραματικές μολύνσεις, ο μικροοργανισμός δεν εντοπίζεται στους πλακούντες και τα έμβρυα των μετά την αποβολή φυσιολογικών τοκετών.⁶⁸

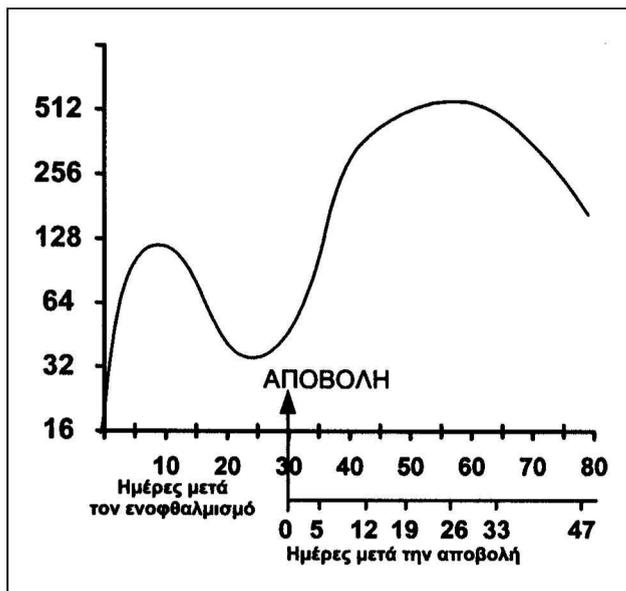
Περιπτώσεις αποβολών που έχουν καταγραφεί σε ζώα με χρόνια μόλυνση, πιθανόν να αφορούν ασθενικά ή ανοσοκατεσταλμένα ζώα, μπορεί όμως να έχουν σχέση και με τη λοιμογόνο δύναμη των χλαμυδιακών στελεχών.⁶

Διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος συμβαίνει ήδη με τη μόλυνση του ζώου. Λίγες ημέρες μετά τη μόλυνση και ενώ το ζώο διατηρεί αφανή λοίμωξη, παρατηρείται ανάπτυξη των μυελωδών δοκίδων, της παραφλοιώδους ουσίας και των λεμφοζιδίων στα λεμφογάγγλια του ζώου.^{56,59} Ωστόσο, ισχυρή διέγερση των μηχανισμών ανοσίας συμβαίνει μόνο μετά την αποβολή.

Η αποτελεσματική άμυνα κατά της *C. abortus* επιτυγχάνεται με την ταυτόχρονη επίδραση της χυμικής και της κυτταρικής ανοσίας.^{60,71} Ο μικροοργανισμός, ως ενδοκυττάριο βακτήριο, διεγείρει τους μηχανισμούς και των δύο συστημάτων ανοσίας.

Χυμική ανοσολογική απάντηση

Η μόλυνση με το μικροοργανισμό ακολουθείται κατά κανόνα από την παραγωγή αντισωμάτων, που συνήθως ανιχνεύονται σε διάστημα μιας εβδομάδας. Μπορεί να εμφανιστούν σχετικά υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων, αυτό όμως εξαρτάται από το στέλεχος και την ένταση της μόλυνσης.³³



Εικόνα 3. Τίτλος αντισωμάτων, στη δοκιμή της σύνδεσης του συμπληρώματος, σε έγκυο προβατίνα μετά τη μόλυνσή της με χλαμύδια.³³

Figure 3. Complement-fixing antibody response of a pregnant ewe after inoculation with chlamydial agent³³

Στη συνέχεια, οι τίτλοι των αντισωμάτων ελαττώνονται και παραμένουν χαμηλοί για κάποιο διάστημα. Έτσι, ενώ το ζώο διατηρεί υποκλινική ή αφανή λοίμωξη (βλ. Παθογένεια), είναι δυνατό να ανιχνεύονται αντισώματα σε χαμηλούς τίτλους.³³

Αμέσως μετά την αποβολή, τα περισσότερα ζώα αναπτύσσουν υψηλά επίπεδα αντισωμάτων. Οι τίτλοι αυτών των αντισωμάτων φτάνουν στο μέγιστο τη 14η-21η ημέρα μετά την αποβολή και παραμένουν υψηλοί μέχρι και 6 εβδομάδες μετά από αυτήν.⁶⁴ Τα αντισώματα στη συνέχεια ελαττώνονται σταδιακά και παραμένουν ανιχνεύσιμα για αρκετούς μήνες.^{8,33}

Μετά την πειραματική μόλυνση εγκύων προβατινών, αντισώματα ανιχνεύονται σε σχετικά υψηλούς τίτλους. Ωστόσο, οι τίτλοι των αντισωμάτων είναι χαμηλοί πριν από την αποβολή³³ (Εικόνα 3). Μετά την αποβολή η αύξηση των αντισωμάτων είναι απότομη και του τύπου της αναμνηστικής αντίδρασης. Ο έντονος πολλαπλασιασμός του μικροοργανισμού στον πλακούντα και η χλαμυδιαμία που συμβαίνει κατά την αποβολή προκαλεί διέγερση του ανοσοποιητικού και απότομη αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων (Εικόνα 3).³³

Οι ανοσοσφαιρίνες που εμφανίζονται πρώτες, μετά από πειραματική μόλυνση εγκύων προβατινών, είναι οι IgM. Οι ανοσοσφαιρίνες IgM αυξάνονται σε διάστημα μιας εβδομάδας μετά τη μόλυνση και στη συνέχεια μειώνονται γρήγορα. Οι ανοσοσφαιρίνες IgG ανιχνεύονται λίγες ημέρες μετά την εμφάνιση των IgM, συνεχίζουν να αυξάνονται για δυο εβδομάδες μετά τη μόλυνση και στη συ-

νέχεια μειώνονται μέχρι την αποβολή. Μετά την αποβολή αυξάνονται σημαντικά και παραμένουν ανιχνεύσιμες τουλάχιστον για 2,5 χρόνια.⁶⁸ Η υποκλάση της ανοσοσφαιρίνης IgG που επικρατεί κατά τη χλαμυδιακή λοίμωξη στα πρόβατα και στις αίγες είναι η IgG1.⁷² Ωστόσο, ο καθορισμός των επιπέδων των υποκλάσεων IgG1 και IgG2 σε ορούς αιγών, με την τεχνική της ELISA επιτρέπει τη διαφοροποίηση των ζώων με πρόσφατη λοίμωξη (αποβολή) από τα κλινικά υγιή, αλλά οροθετικά ζώα.⁷²

Η παρουσία των αντισωμάτων που ανιχνεύονται με τη δοκιμή της σύνδεσης του συμπληρώματος (CFT), σχετίζεται με την έκταση του πολλαπλασιασμού του μικροοργανισμού και όχι με την ανοσία έναντι αυτού· κατά συνέπεια, οι τίτλοι αντισωμάτων στη δοκιμή CF δεν αποτελούν απαραίτητα ένδειξη προστασίας. Την άποψη αυτή ενισχύει η παρατήρηση, ότι προβατίνες που είχαν αποβάλει στο παρελθόν και στη συνέχεια διατηρούσαν χαμηλούς τίτλους αντισωμάτων στη δοκιμή CF, ήταν ανθεκτικές σε πειραματική μόλυνση.⁵⁷ Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγει και η παρατήρηση, ότι οι σχετικά υψηλοί τίτλοι που σημειώθηκαν στη δοκιμή CF μετά από πειραματική μόλυνση σε έγκυες προβατίνες, δεν απέτρεψαν την εγκατάσταση της λοίμωξης στον πλακούντα.⁵⁰ Η έλλειψη της σχέσης μεταξύ τίτλου των συνδεόντων το συμπλήρωμα αντισωμάτων και της ανοσίας επιβεβαιώθηκε και σε πειραματικά εμβολιασμένες προβατίνες.⁷³ Εξουδεθερωτικά αντισώματα, που ανιχνεύονται με τη δοκιμή της οροεξουδετέρωσης, εμφανίζονται αργότερα σε σχέση με τα συνδεόντα το συμπλήρωμα αντισώματα και οι τίτλοι τους παραμένουν υψηλότεροι για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Προβατίνες που στο παρελθόν είχαν αποβάλει, συχνά έχουν εξουδεθερωτικά αντισώματα δείχνοντας, ότι αυτά τα αντισώματα μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο στην προστασία εναντίον της αποβολής. Εντούτοις, οι τίτλοι των εξουδεθερωτικών αντισωμάτων που αναπτύσσονται μετά την αποβολή, δε σχετίζονται απόλυτα με την ανοσία.⁷¹ Πιθανόν τα αντισώματα που ανιχνεύονται με τη δοκιμή του ανοσοφθορισμού (IF) να σχετίζονται με την προστασία.⁵⁷

Τα αντισώματα που αναπτύσσονται μετά την αποβολή, κατευθύνονται έναντι των περισσότερων αντιγόνων του μικροοργανισμού.⁷¹ Αντι-MOMP αντισώματα ανιχνεύονται σε ορούς προβατινών και αιγών που απέβαλαν ή που μολύνθηκαν πειραματικά ή που εμβολιάστηκαν έναντι του μικροοργανισμού.^{57,73} Το γεγονός, ότι η παρουσία των αντι-MOMP αντισωμάτων είναι συνεχής και επικρατεί, μπορεί να δείχνει τη σημασία αυτών στη μακροχρόνια ανοσία. Εξάλλου, η χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι ενός τριμερούς μορίου MOMP πρόσφερε προστασία από την αποβολή σε μοντέλο ποντικού.⁷⁴ Σημαντικό ρόλο στην προστασία είναι δυνατό να παίζουν και τα αντισώματα έναντι της OMP90, αφ' ενός γιατί ανιχνεύονται σε προβατίνες για μεγάλο διάστημα μετά την αποβολή²⁷ και αφ' ετέρου γιατί εξουδεθερώνουν *in vitro* τη μολυσματικότητα του μικροοργανισμού.⁷⁵ Τα αντι-LPS είναι τα αντισώματα που ανιχνεύονται με τη δοκιμή CF και, όπως προηγουμένως αναφέρθηκε, δε συμμετέχουν στην

προστασία.^{50,73} Προστασία δεν παρατηρήθηκε, όταν χρησιμοποιήθηκαν οροί που περιείχαν αντι-LPS αντισώματα, σε ποντικούς, οι οποίοι στη συνέχεια μολύνθηκαν με το μικροοργανισμό.⁷⁶ Η έλλειψη προστασίας πιθανόν να οφείλεται στο ότι τα αντι-LPS αντισώματα δεν εντοπίζουν το LPS αντιγόνο, καθ'ότι αυτό βρίσκεται εσωτερικά της μεμβράνης των μολυσματικών στοιχειωδών σωματίων.¹⁸ Αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης 60 kDa καθώς και άλλων χλαμυδιακών αντιγόνων επίσης ανιχνεύονται, ωστόσο η εικόνα που παρουσιάζεται στην ανοσοηλεκτροφόρηση σε ορούς προβατινών διαφέρει από ζώο σε ζώο.⁵⁷

Η ισχυρή και μεγάλης διάρκειας χυμική ανοσολογική απάντηση (IgG ανοσοσφαιρίνες), που παρατηρείται σε ζώα με χρόνια μόλυνση, συμβάλλει σημαντικά στην παρεμπόδιση της επαναδραστικοποίησης της λοίμωξης σ' αυτά τα ζώα.^{67,68}

Κυτταρική ανοσολογική απάντηση

Οι μηχανισμοί κυτταρικής ανοσίας παίζουν το σημαντικότερο ρόλο στην προστασία έναντι της χλαμυδιακής αποβολής.⁷⁶

Ο μηχανισμός που κυρίως ενεργοποιείται είναι ο μηχανισμός που γίνεται με τα T-λεμφοκύτταρα της επιβραδυνόμενου τύπου υπερευαισθησίας (Tdth ή Th1 λεμφοκύτταρα, dth-delayed type hypersensitivity).^{50,77} Τα Tdth λεμφοκύτταρα είναι CD4⁺ λεμφοκύτταρα, που δρουν ενισχύοντας τη μικροβιοκτόνο ικανότητα των μακροφάγων έναντι του ενδοκυττάρου βακτηρίου *C. abortus*.

Ο προστατευτικός ρόλος της κυτταρικής ανοσίας που γίνεται με τα Tdth λεμφοκύτταρα, έχει αποδειχθεί σε φυσικά ή πειραματικά μολυσμένα καθώς και σε εμβολιασμένα ζώα με την εφαρμογή της δερματικής δοκιμής (skin test) και τη μέτρηση της επιβραδυνόμενου τύπου υπερευαισθησίας (DTH).^{50,62} Μολυσμένα ζώα που έδειξαν αρνητικές ή ασθενείς DTH αντιδράσεις στη δερματική δοκιμή, στη συνέχεια απέβαλαν ή γέννησαν θνησιγενή νεογνήματα. Αντίθετα, ζώα που έδειξαν θετική αντίδραση, γέννησαν φυσιολογικά. Ζώα που είχαν στην αρχή αρνητική DTH αντίδραση στη δερματική δοκιμή και απέβαλαν, στη συνέχεια ανέπτυξαν θετική αντίδραση.

Η διέγερση των Tdth λεμφοκυττάρων επιτυγχάνεται μετά από ισχυρή μόλυνση (ισχυρή αντιγονική πρόκληση). Μετά από πειραματική μόλυνση εγκύων προβατινών με υψηλή δόση μικροοργανισμού αναπτύσσεται κυτταρική ανοσολογική απάντηση, όπως αποδεικνύεται από τη θετική δερματική δοκιμή της DTH.⁵⁰ Αντίθετα, μετά από πειραματική μόλυνση εγκύων προβατινών με χαμηλή δόση μικροοργανισμού δε διεγείρεται η κυτταρική ανοσολογική απάντηση, όπως φαίνεται από την αρνητική δερματική δοκιμή της DTH. Τα παραπάνω συμφωνούν με προγενέστερες, ανεξήγητες τότε, παρατηρήσεις, κατά τις οποίες, μετά από πειραματική παρεντερική μόλυνση προβατινών, η αποβολή σημειωνόταν σε ζώα που δέχονταν χαμηλές και όχι υψηλές δόσεις του μικροοργανισμού.⁵⁴

Πιστεύεται λοιπόν, ότι κατά τη φυσική μόλυνση των

ζώων, που συνήθως γίνεται με μικρό αριθμό στοιχειωδών σωματίων (ασθενής αντιγονική πρόκληση), δε διεγείρεται η κυτταρική ανοσολογική απάντηση των Tdth λεμφοκυττάρων, με αποτέλεσμα τα ζώα να αποβάλλουν κατά την εγκυμοσύνη που ακολουθεί. Ο έντονος πολλαπλασιασμός του μικροοργανισμού στον πλακούντα και η χλαμυδιαμία που συμβαίνει κατά την αποβολή, αποτελούν στη συνέχεια ισχυρή αντιγονική πρόκληση, η οποία διεγείρει την κυτταρική ανοσολογική απάντηση. Έτσι, τα ζώα προστατεύονται από νέα αποβολή στις επόμενες κυφορίες. Εντούτοις, δεν είναι ακριβώς γνωστή η διάρκεια της κυτταρικής ανοσίας που πετυχαίνεται με τα Tdth λεμφοκύτταρα.⁶² Για τη μακροχρόνια ανοσία πιθανόν να είναι σημαντική η ενδογενής παραγωγή της IL-12, κυτοκίνης που ενεργοποιεί τα Tdth λεμφοκύτταρα.⁷⁷

Ένας άλλος μηχανισμός κυτταρικής ανοσίας, που είναι δυνατό να παίζει ρόλο στις χλαμυδιακές λοιμώξεις, είναι αυτός που γίνεται με τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα. Τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα είναι CD8⁺ λεμφοκύτταρα, που καταστρέφουν κύτταρα στόχους, δηλαδή κύτταρα μολυσμένα με το μικροοργανισμό. Σε μοντέλο εγκύου ποντικού αποδείχτηκε, ότι σπληνικά CD8⁺ T-λεμφοκύτταρα, τα Lyt-2⁺ T λεμφοκύτταρα, παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία έναντι της αποβολής.⁷⁸ Εν τω μεταξύ έχει αποδειχθεί σε μοντέλο εγκύου ποντικού, ότι η ανταπόκριση των T-λεμφοκυττάρων, κυρίως των CD8⁺ T-λεμφοκυττάρων, στην ανοσολογική απάντηση έναντι της *C. abortus* εξαρτάται σημαντικά από τα πολυμορφόσηρα ουδετερόφιλα (PMNs), των οποίων ο ρόλος στην παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού των χλαμυδίων στο ήπαρ και στο σπλήνα αποδεικνύεται σημαντικός.⁷⁹

Η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) ελευθερώνεται από ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα. Προηγούμενη επίδραση των μακροφάγων με IFN-γ έχει ως αποτέλεσμα την αναχαίτιση του πολλαπλασιασμού του μικροοργανισμού.⁷¹ Τα ενεργοποιημένα με IFN-γ μακροφάγα, που αναχαίτίζουν τον πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού και του επιτρέπουν να υπάρχει στα κύτταρα χωρίς να καταστρέφει τον ξενιστή, μπορεί να οδηγήσουν σε επίμονες μολύνσεις και αφανή ή υποκλινική λοίμωξη (βλ. Παθογένεια).

Η IFN-γ, πέρα από την ενεργοποίηση των μακροφάγων, έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό του μικροοργανισμού στα μακροφάγα ή στα επιθηλιακά κύτταρα με αποκλεισμό της χρησιμοποίησης του απαραίτητου αμινοξέος τρυπτοφάνη.^{16,17} Ως αποτέλεσμα, ο μικροοργανισμός μπορεί να παραμένει στο κύτταρο σε ένα ανώριμο αλλά δυνητικά λοιμογόνο στάδιο. Η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής της IFN-γ τοπικά σε κάθε όργανο και της συγκέντρωσης της τρυπτοφάνης στο πλάσμα μπορεί να αποτελεί το μηχανισμό με τον οποίο η μόλυνση παραμένει λανθάνουσα στα διάφορα όργανα του προβάτου (βλ. Παθογένεια).

Οι κυτοκίνες IL-1b, IL-8 και GM-CSF, που παράγονται από μολυσμένα με το μικροοργανισμό μακροφάγα, είναι δυνατό να επηρεάζουν την ανοσιακή απάντηση, πριν ακόμα εγκατασταθεί η λανθάνουσα λοίμωξη.⁸⁰

Συνεργασία μηχανισμών άμυνας

Η αποτελεσματική άμυνα κατά του μικροοργανισμού επιτυγχάνεται με τη συνεργασία των μηχανισμών της χυμικής και της κυτταρικής ανοσίας. Άνοσοι οροί είναι δυνατό να προσφέρουν προστασία σε μοντέλο ποντικού, το αποτέλεσμα όμως ενισχύεται με τη χορήγηση των Τ-λεμφοκυττάρων.⁷⁶

Πιστεύεται, ότι η συνεργασία της χυμικής και κυτταρικής ανοσίας έναντι του μικροοργανισμού βασίζεται κυρίως στην από αντισώματα εξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα και στην οψωνίνωση.⁷¹ Τα στοιχειώδη σωμάτια που οψωνινώνονται προσλαμβάνονται στη συνέχεια από μακροφάγα.

Ωστόσο, η ανοσολογική απάντηση που αναπτύσσεται κατά των χλαμυδίων ακολουθεί έναν κύκλο διέγερσης και καταστολής, έτσι ώστε η χυμική ανοσολογική απάντηση να είναι αυξημένη στα αρχικά στάδια της λοίμωξης και μειωμένη σε προχωρημένη λοίμωξη.⁵⁰

2. Ανοσολογική απάντηση στο νεογέννητο και στο έμβryo

Σε νεογέννητους αμνούς έχει παρατηρηθεί μεταφορά χλαμυδιακών, συνδεόντων το συμπλήρωμα, αντισωμάτων μέσω του πρωτογάλακτος,⁸¹ χωρίς ωστόσο αυτό να δηλώνει χορήγηση παθητικής ανοσίας. Εν τω μεταξύ έχει παρατηρηθεί ότι μερικοί νεογέννητοι αμνοί, των οποίων οι εμβρυϊκοί υμένες κατά τη γέννησή τους ήταν μολυσμένοι, είχαν αντισώματα πριν από τη λήψη του πρωτογάλακτος.⁸¹

Η ανάπτυξη εμβρυϊκής ανοσολογικής ανάπτυξης έχει αποδειχθεί με την ανίχνευση IgM και IgG ανοσοσφαιρινών σε ορούς εμβρύων αφ' ενός και τη διέγερση των Β και Τ λεμφοκυττάρων σε εμβρυϊκούς λεμφικούς ιστούς αφ' ετέρου, πριν από την 90ή ημέρα της εγκυμοσύνης προβατινών που μολύνθηκαν πειραματικά.⁶³ Αδιευκρίνιστο παραμένει το κατά πόσο το έμβryo προστατεύεται από τους μηχανισμούς της χυμικής και της κυτταρικής ανοσίας που το ίδιο αναπτύσσει, επισημαίνεται όμως, ότι η μόλυνση και οι αλλοιώσεις στο έμβryo είναι πάντοτε ηπιότερα απ' ό,τι στον πλακούντα (βλ. Παθογένεια).

ΕΠΙΖΩΟΤΙΟΛΟΓΙΑ

1. Πηγές και τρόποι μόλυνσης

Ο μικροοργανισμός διασπείρεται στο περιβάλλον με τους εμβρυϊκούς υμένες και τις απεκκρίσεις από τη γεννητική οδό των ζώων που απέβαλαν ή αυτών που γέννησαν ασθενικά νεογέννητα.⁵⁴ Έχει παρατηρηθεί, μετά από πειραματικές μολύνσεις ζώων, απέκκριση του μικροοργανισμού από τη γεννητική οδό εννέα ημέρες πριν από την αποβολή μέχρι και τρεις περίπου εβδομάδες μετά την αποβολή.^{7,68} Η διασπορά του μικροοργανισμού μπορεί ακόμη να γίνει και με τα κόπρανα των ζώων που πρόσφατα απέβαλαν, δεν είναι όμως γνωστό το χρονικό διάστημα για το οποίο ο μικροοργανισμός απεκκρίνεται.³³

Κατά συνέπεια, η μόλυνση του περιβάλλοντος γίνεται κατά την περίοδο των τοκετών. Τα ζώα μολύνονται όταν

αυτά γλείφουν ή σκαλίζουν μολυσμένους πλακούντες ή όταν προσλαμβάνουν μολυσμένη τροφή (βλ. Παθογένεια). Πράγματι, έγκυες προβατίνες μολύνθηκαν μετά από τον ενσταβλισμό τους στον ίδιο χώρο με προβατίνες που απέβαλαν,⁶⁹ ενώ άλλες προβατίνες μολύνθηκαν μετά την άμεση επαφή τους με μολυσμένους πλακούντες αποβολής.⁴⁹

Πιστεύεται, ότι οι εμβρυϊκοί υμένες των ζώων που ήδη απέβαλαν, είναι δυνατό να παρουσιάζονται μολυσμένοι και κατά τους επόμενους φυσιολογικούς τοκετούς.^{33,47} Εντούτοις, ο μικροοργανισμός δεν απομονώθηκε από κολπικά ή πλακουντικά δείγματα σε ζώα που μολύνθηκαν πειραματικά και μετά την αποβολή διατηρούσαν χρόνια μόλυνση στο γεννητικό σύστημα.^{67,68} Απέκκριση του μικροοργανισμού σε φυσιολογικό τοκετό μπορεί να σημειωθεί σε ζώα που μολύνονται σε προχωρημένο στάδιο κυφορίας. Τα ζώα αυτά είναι δυνατό να δώσουν μολυσμένους εμβρυϊκούς υμένες, χωρίς να αποβάλουν στην ίδια, με τη μόλυνση, περίοδο τοκετών³³ (βλ. Παθογένεια).

Επισημαίνεται, ότι ο μικροοργανισμός βρίσκεται στο περιβάλλον με τη μορφή των εξωκυττάρων και μολυσματικών στοιχειωδών σωματιών. Η επιβίωσή τους στο περιβάλλον ποικίλλει. Σε εύκρατο κλίμα επιβιώνουν για μερικές ημέρες, ενώ σε χαμηλές θερμοκρασίες για αρκετές εβδομάδες.⁶ Κατά συνέπεια, είναι εύκολη όχι μόνο η άμεση αλλά και η έμμεση μετάδοση της νόσου.

Πιθανή θεωρείται η μετάδοση της μόλυνσης με τα αρσενικά ζώα.⁵³

Ο μικροοργανισμός είναι δυνατό να παραμένει στο γεννητικό σύστημα των προβατινών που απέβαλαν ή γέννησαν ασθενικούς αμνούς, χωρίς να επηρεάζονται στη συνέχεια η γονιμότητα και η εμβρυϊκή ανάπτυξη⁶⁷ (βλ. Παθογένεια & Ανοσολογική απάντηση). Ωστόσο, κατά τη διάρκεια του οίστρου ο μικροοργανισμός μπορεί να απεκκρίνεται από το γεννητικό σύστημα.⁶⁸ Κατά συνέπεια, υπάρχει η δυνατότητα μετάδοσης της μόλυνσης σε υγιείς προβατίνες με τα αρσενικά ζώα, κατά την οχεία. Εν τω μεταξύ έχει αποδειχθεί, ότι ο κολπικός βλεννογόνος είναι ευαίσθητος στη μόλυνση⁵² (βλ. Παθογένεια).

Η δυνατότητα μετάδοσης της μόλυνσης με τα αρσενικά ζώα, μετά από τεχνητή γονιμοποίηση προβατινών με μολυσμένο σπέρμα κριού, δεν έχει αποδειχθεί πλήρως.^{49,53} Σημειώνεται όμως, ότι ο μικροοργανισμός έχει απομονωθεί από το ουροποιητικό και το γεννητικό σύστημα κριών που προέρχονταν από ποιμνία με χλαμυδιακή αποβολή.⁴⁸ Η απέκκριση του μικροοργανισμού με το σπέρμα συνέβη μόνο κατά την οξεία φάση πειραματικά προκαλούμενης λοίμωξης.⁵³

Ο ρόλος του γάλακτος στη μετάδοση της νόσου αμφισβητείται. Αν και χλαμυδιακό αντιγόνο έχει ανιχνευτεί στο γάλα μολυσμένων προβατινών, εντούτοις, ο μικροοργανισμός δεν έχει απομονωθεί από αυτό.^{6,82} Το γεγονός αυτό δηλώνει, ότι δε συμβαίνει συνεχής απέκκριση του μικροοργανισμού με το γάλα. Η πιθανότητα λοιπόν μόλυνσης των νεογεννητών με το γάλα είναι μικρή.⁶ Ωστόσο, στα μολυσμένα ζώα το γάλα μπορεί να μολυνθεί από τις α-

πεκκρίσεις που βρίσκονται πάνω στο μαστό, και μ' αυτόν τον τρόπο, δηλαδή μηχανικά, να μεταδοθεί ο μικροοργανισμός.

Η μετάδοση, με τα κόπρανα υγιών ζώων, των εντερικών στελεχών της *C. abortus* και της *C. pecorum* (βλ. Αιτιολογία) και ο ρόλος αυτών στην πρόκληση αποβολής δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί.

Τα εντερικά στελέχη της *C. abortus*, που απομονώνονται από κόπρανα υγιών ζώων, ζώων που προέρχονται από ποίμνια χωρίς ιστορικό αποβολών, θεωρούνται ως "μη λοιμογόνα" (avirulent).^{34,36,37} Ωστόσο, τα στελέχη αυτά παρουσιάζουν ίδια γενετικά χαρακτηριστικά και ισχυρή αντιγονική σχέση με τα στελέχη που προκαλούν αποβολή. Δεν είναι γνωστό, εάν οι δύο ομάδες στελεχών (εντερικά και αποβολής) είναι ο ίδιος μικροοργανισμός που αποικίζει σε διαφορετικά σημεία τον οργανισμό, ανάλογα με την οδό και το χρόνο μόλυνσης ή εάν πρόκειται για παρόμοιους μικροοργανισμούς με διαφορετικούς όμως λοιμογόνους καθοριστές. Δηλαδή δεν είναι γνωστό, εάν τα εντερικά στελέχη είναι δυνητικά παθογόνα ή εάν πρόκειται για μη παθογόνα στελέχη. Η πρώτη υπόθεση καθιστά τα εντερικά στελέχη της *C. abortus* απειλή για την υγεία ενός ποιμνίου. Πάντως η ύπαρξη των στελεχών αυτών στα κόπρανα των υγιών προβάτων υποδηλώνει μία πιθανή πηγή μόλυνσης.³⁴ Υγιή ζώα είναι δυνατό να απεκκρίνουν το μικροοργανισμό με τα κόπρανα τους για μεγάλο χρονικό διάστημα (μήνες ή και χρόνια).³⁴

Η σημασία των στελεχών αυτών και η ικανότητά τους να προκαλούν υπό ειδικές συνθήκες αποβολή διερευνώνται. Το εντερικό στέλεχος Mo907³⁸, μετά από παρεντερική μόλυνση σε έγκυες προβατίνες, εγκαταστάθηκε στον πλακούντα και προκάλεσε αποβολή.^{34,35} Το εντερικό στέλεχος "71"³⁶ προκάλεσε πλακουντική λοίμωξη και οδήγησε σε αποβολή, μετά από παρόμοια με τη φυσική οδό (πεπτική και αναπνευστική οδό) μόλυνση.⁸³ Εντούτοις, το γεγονός ότι εντερικά στελέχη έχουν απομονωθεί επανειλημμένα από ποίμνια χωρίς ιστορικό αποβολής δείχνει ότι πολλά από τα εντερικά στελέχη μπορεί να είναι μη παθογόνα.

Τα εντερικά στελέχη της *C. pecorum* προκαλούν αφανείς εντερικές λοιμώξεις. Επιδημιολογική μελέτη σε ποίμνια προβάτων της Μ. Βρετανίας έδειξε, ότι τα στελέχη αυτά βρίσκονται πολύ συχνά και η απομόνωσή τους γίνεται κυρίως από αρνιά ηλικίας 3 έως 9 μηνών.^{37,45} Στην Ελλάδα απομονώθηκε στέλεχος από κόπρανα ενήλικου ζώου,⁸³ το οποίο ταυτοποιήθηκε με την τεχνική PCR ως *C. pecorum* (προσωπική εμπειρία).

Τα εντερικά στελέχη της *C. pecorum* θεωρούνται ότι είναι χαμηλής λοιμογόνου δύναμης, εξαιτίας του ότι δεν επεκτείνονται πέρα από το έντερο και κατά συνέπεια δε διασπείρονται και δεν εγκαθίστανται στα διάφορα όργανα και στον πλακούντα.^{32,35} Εντούτοις, είναι δυνατό να εγκατασταθούν στον πλακούντα και να προκαλέσουν αποβολή, όταν ενίνονται παρεντερικά σε έγκυες προβατίνες.^{35,84,85} Πιστεύεται, ότι η ικανότητα αυτών να προκαλούν

νόσο εξαρτάται από την οδό και τη δόση της μόλυνσης.^{35,84} Σημειώνεται, ότι σε πειραματικό μοντέλο εγκύου ποικύου, τα εντερικά στελέχη της *C. pecorum*, μετά τον αποικισμό τους στον πλακούντα, ήταν ικανά να διαπεράσουν αυτόν περισσότερο εύκολα απ' ό,τι τα στελέχη αποβολής της *C. abortus*.³²

Η περιστασιακή μετάδοση στελεχών των διαφόρων χλαμυδιακών ειδών μεταξύ των θηλαστικών και των πτηνών δεν αποκλείεται.⁶ Ωστόσο, η μετάδοση των άλλων χλαμυδιακών ειδών, κυρίως *Chlamydophila* spp., στα πρόβατα και τις αίγες και ο ρόλος αυτών στην πρόκληση αποβολής παραμένουν αδιευκρίνιστα. Κάποιο ρόλο μπορεί να παίζουν τα άγρια ζώα, τα τρωκτικά, τα πτηνά και διάφορα αρθρόποδα (κρότωνες).³³ Επισημαίνεται, ότι έχει παρατηρηθεί αποβολή σε αίγες, μετά από φυσική μόλυνση με στέλεχος παρόμοιο με εκείνα των πτηνών⁴⁷ (βλ. Αιτιολογία).

2. Επιζωοτιολογική εικόνα

Η χλαμυδιακή αποβολή εμφανίζεται συνήθως σε μία εκτροφή μετά από την εισαγωγή μολυσμένου ζώου. Τα υγιή ζώα μολύνονται κατά την αποβολή του μολυσμένου ζώου (Εικόνα 2). Ζώο που αποβάλλει στην αρχή μιας περιόδου τοκετών αποτελεί σημαντική πηγή μόλυνσης για άλλα ζώα που βρίσκονται σε ένα προωμότερο στάδιο εγκυμοσύνης (περίπου μέχρι την 100ή ημέρα).⁶ Τα ζώα αυτά θα αποβάλλουν στην ίδια περίοδο τοκετών. Αυτό συμβαίνει κυρίως σε κοπάδια που έχουν παρατεταμένη περίοδο τοκετών. Ζώο που αποβάλλει στο τέλος της περιόδου τοκετών, μολύνει ζώα που έχουν ήδη γεννήσει ή νεογέννητα, ή έγκυα ζώα σε προχωρημένο στάδιο κυοφορίας. Τα ζώα αυτά παραμένουν χωρίς συμπτώματα μέχρι την επόμενη κυοφορία, οπότε και αποβάλλουν (βλ. Παθογένεια).

Η νόσος, όπως εξάλλου μαρτυρεί και ο χαρακτηρισμός "ενζωτική αποβολή", είναι ενζωτικού χαρακτήρα, δηλαδή προσβάλλει το ίδιο το ποίμνιο για πολλά χρόνια.

Η εισαγωγή του μικροοργανισμού σε ένα ποίμνιο οδηγεί σε οξεία και εκτεταμένη νόσο, με μαζικές αποβολές που φτάνουν το 50% και παρουσιάζονται σε ζώα κάθε ηλικίας. Στις έγκυες προβατίνες το ποσοστό αποβολών είναι συνήθως 30%, ενώ στις αίγες μπορεί να ξεπερνά το 60%.⁶⁴ Για τα επόμενα δύο ή τρία χρόνια, η νόσος εμφανίζεται με σχετικά υψηλό ποσοστό αποβολών (10%), μέχρις ότου δηλαδή μολυνθούν όλα τα ζώα του ποιμνίου. Κατά τα επόμενα χρόνια το ποσοστό πέφτει (<5%), καθώς η νόσος παίρνει τη χρόνια μορφή. Οι αποβολές τότε παρατηρούνται στα πρωτόγεννα καθώς και στα ευπαθή ζώα που εισάγονται στο ποίμνιο. Από τα παραπάνω γίνεται κατανοητό, ότι είναι δυνατόν ένα ποίμνιο να παρουσιάζει λίγες αποβολές (<5%), αλλά να έχει υψηλό ποσοστό μόλυνσης. Συνεπώς, υπάρχει πάντοτε ο κίνδυνος να σημειωθούν και πάλι μαζικές αποβολές τη χρονιά ανανέωσης του ποιμνίου, όταν θα υπάρχουν πολλά πρωτόγεννα ή νεοεισερχόμενα ζώα σ' αυτό.⁶⁴

Σημειώνεται, ότι ποίμνια στα οποία οι τοκετοί διεξά-

γονται σε περιορισμένο χώρο ή σε ποιμνιοστάσια, έχουν υψηλότερα ποσοστά μόλυνσης και συνεπώς μεγαλύτερες απώλειες, απ' ό,τι ποίμνια των οποίων τα ζώα γεννούν σε ελεύθερο χώρο ή σε λιβάδια.⁶

3. Γεωγραφική εξάπλωση

Η γλαυμυδιακή αποβολή έχει παγκόσμια εξάπλωση. Συναντάται στις χώρες γύρω από τη Μεσόγειο καθώς και στις χώρες Γερμανία, Γαλλία, Μ. Βρετανία, Ιρλανδία, Ολλανδία, Ρουμανία, Βουλγαρία, Ρωσία, Η.Π.Α. κ.α.^{6,33}

Στην Ελλάδα, η γλαυμυδιακή αποβολή αποτελεί πολύ συχνή νόσο των προβάτων και των αιγών.⁹ Σε επιδημολογική μελέτη, που πραγματοποιήθηκε σε ποίμνια πεδινών και ορεινών περιοχών, θετικοί τίτλοι αντισωμάτων βρέθηκαν στο 82% των εξετασθέντων ποιμνίων.⁸³ Στη μελέτη αυτή επισημάνθηκε η εμφάνιση οροθετικών ποιμνίων χωρίς ιστορικό αποβολών ή εμβολιασμού έναντι της γλαυμυδιακής αποβολής. Η οροθετικότητα σε ποίμνια χωρίς ιστορικό αποβολών μπορεί να οφείλεται σε μόλυνση των ποιμνίων από άλλα γλαυμυδιακά στελέχη, κυρίως εντερικά στελέχη της *C. abortus* και της *C. pecorum*.³⁷ Κατά συνέπεια, η εξάπλωση και η συχνότητα της γλαυμυδιακής αποβολής δεν είναι επαρκώς γνωστά. Τελευταία γίνονται προσπάθειες για τη βελτίωση των ορολογικών δοκιμών και την ανάπτυξη περισσότερο ειδικών μεθόδων, που να διακρίνουν τις γλαυμυδιακές λοιμώξεις της *C. abortus* από εκείνες της *C. pecorum*.

BIBLIOΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- Greig JR. Enzootic abortion in ewes; a preliminary note. Vet Rec 1936, 48: 1225-1227
- Stamp JT, McEwen AD, Walt JAA, Nisbet DI. Enzootic abortion of ewes. I. Transmission of the disease. Vet Rec 1950, 62: 251-254
- Staub H. Virusabart in einem Ziegenbestande. Dtsch Tierarztl Wschr 1959, 66: 98-99
- Everett KDE, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotyping genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int J Syst Bacteriol 1999, 49: 415-440
- Everett KDE. *Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye. Vet Microbiol 2000, 75: 109-126
- Aitken ID. Ovine chlamydial abortion. In: Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals. Z. Woldehiwet & M. Ristic (Eds), Pergamon Press, Oxford, 1993: 349-362
- Rodolakis A, Bullet C, Souriau A. *Chlamydia psittaci* experimental abortion in goats. Am J Vet Res 1984, 45: 2086-2089
- Papadopoulos O. Contribution to the study of chlamydial infections in small ruminants. Dr. habil. Thesis. Aristotle University, Faculty of Veterinary Medicine, Thessaloniki, Greece, 1969
- Papadopoulos O. Control of chlamydial abortion of sheep and goats. In: 5th Panhellenic Veterinary Congress, Thessaloniki, 1990: 163-164
- Buxton D. *Chlamydia psittaci* of ovine origin: an especial risk to pregnant women. In: Agriculture Chlamydial diseases of ruminants. ID Aitken. Ed, Report EUR 10056 EN, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1986: 121-128
- Herring AJ. Typing *Chlamydia psittaci* - A review of methods and recent findings. Br Vet J 1993, 149: 455-475
- Ward ME. The chlamydial developmental cycle. In: Microbiology of *Chlamydia*. Barron AL (Ed), CRC Press, Boca Raton, FL, 1988: 71-95
- Griffiths PC, Philips HL, Dawson M, Clarkson MJ. Antigenic and morphological differentiation of placental and intestinal of *Chlamydia psittaci* of ovine origin. Vet Microbiol 1992, 30: 165-77
- Markey BK, McNulty MS, Todd D, Mackie DP. Comparison of ovine abortion and non-abortion isolates of *Chlamydia psittaci* using inclusion morphology, polycrylamide gel electrophoresis, restriction endonuclease analysis and reactivity with monoclonal antibodies. Vet Microbiol 1993, 35: 141-159
- Rodolakis A, Bernard F, Souriau A, Layachi K, Buzoni-Gatel D. Relationship between virulence of *Chlamydia psittaci* strains and establishment of persistent infection of McCoy cells. Vet Microbiol 1989, 19: 65-73
- Graham SP, Jones GE, MacLean M, Livingstone M, Entrican G. Recombinant ovine interferon gamma inhibits the multiplication of *Chlamydia psittaci* in ovine cells. J Comp Pathol 1995, 112: 185-195
- Entrican G, Brown J, Graham S. Cytokines and the protective host immune response to *Chlamydia psittaci*. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 1998, 21: 15-26
- Salinas J, Sanchez J, Buendia AJ, Souriau A, Rodolakis A, Bernabe A, Cuello F. The LPS localization might explain the lack of protection of LPS-specific antibodies in abortion - causing *Chlamydia psittaci* infections. Res Microbiol 1994, 145: 611-620
- Mamat U, Baumann M, Schmidt G, Brade H. The genus-specific lipopolysaccharide epitope of *Chlamydia* is assembled in *C. psittaci* and *C. trachomatis* by glycosyltransferases of low homology. Mol Microbiol 1993, 10: 935-941
- Wyllie S, Ashley RH, Longbottom D, Herring A. The major outer membrane protein of *Chlamydia psittaci* functions as a porin-like ion channel. Infect Immun 1998, 66: 5202-5207
- Yuan Y, Zhang Y-X, Watkins NG, Caldwell HD. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect Immun 1989, 57: 1040-1049
- Fukushi H, Hirai K. Genetic diversity of avian and mammalian *Chlamydia psittaci* strains and relation to host origin. J Bacteriol 1989, 171: 2850-2855
- Denamour E, Sayada C, Souriau A, Orfila J, Rodolakis A, Elion J. Restriction pattern of the major outer-membrane protein gene provides evidence for a homogenous invasive group among ruminant isolates of *Chlamydia psittaci*. J Gen Microbiol. 1991, 137: 2525-2530.
- Morrison RP, Belland RJ, Lyng K, Caldwell HD. Chlamydial disease pathogenesis. The 57-KD Chlamydial hypersensitivity antigen is a stress response protein. J Exp Med 1989, 170: 1271-1283
- Anderson IE, Craggs JK, Dunbar S, Herring AJ. Cloning and

- expression of the 75kDa DnaK-like protein of *Chlamydia psittaci* and the evaluation of the recombinant protein by immunoblotting and indirect ELISA. *Vet Microbiol.* 1997, 58: 295-307.
26. Longbottom D, Findlay J, Vretou E, Dunbar SM. Immunoelectron microscopic localisation of the OMP90 family on the outer membrane surface of *Chlamydia psittaci*. *FEMS Microbiol Lett* 1998, 164: 111-117
 27. Longbottom D, Russel M, Dunbar SM, Jones GE, Herring AJ. Molecular cloning and characterization of the genes coding for the highly immunogenic cluster of 90-kilodalton envelope proteins from the *Chlamydia psittaci* subtype that causes abortion in sheep. *Infect Immun.* 1998, 66: 1317-1324.
 28. Buzoni-Gatel D, Layachi K, Dubray G, Rodolakis A. Comparison of protein patterns between invasive and non-invasive ovine strains of *Chlamydia psittaci*. *Res Vet Sci* 1989, 46: 40-42
 29. Giannikopoulou P, Bini L, Simitsek PD, Pallini V, Vretou E. Two dimensional electrophoretic analysis of the protein family at 90 kDa of abortifacient *Chlamydia psittaci*. *Electrophoresis.* 1997, 18: 2104-2108.
 30. Knudsen K, Madsen AS, Mygind P, Christiansen G, Birkelund S. Identification of two novel genes encoding 97- 99 kilodalton outer membrane proteins of *Chlamydia pneumoniae*. *Infect Immun* 1999, 67: 375-383
 31. Longbottom D, Russel M, Jones GE, Lainson FA, Herring AJ. Identification of a multigene family coding for the 90 kDa proteins of the ovine abortion subtype of *Chlamydia psittaci*. *FEMS Microbiol Lett.* 1996, 142: 277-281.
 32. Rodolakis A, Bernard F, Lantier F. Mouse models for evaluation of virulence of *Chlamydia psittaci* isolated from ruminants. *Res Vet Sci* 1989, 46: 34-39
 33. Storz, J. *Chlamydia* and *Chlamydia*-induced diseases. Charles C. Thomas, Publ. Co. Springfield, Illinois USA, 1971
 34. Storz J. Superinfection of pregnant ewes latently infected with a psittacosis-lymphogranuloma agent. *Cornell Vet* 1963, 53: 469-480
 35. Rodolakis A, Souriau A. Variations in the virulence of strains of *Chlamydia psittaci* for pregnant ewes. *Vet Rec* 1989, 125: 87-90
 36. Salti-Montesanto V, Tsoli E, Papavassiliou P, Psarrou E, Markey BK, Jones GE, Vretou E. Diagnosis of ovine enzootic abortion, using a competitive ELISA based on monoclonal antibodies against variable segments 1 and 2 of the major outer membrane protein of *Chlamydia psittaci* serotype 1. *Am J Vet Res* 1997, 58: 228-235
 37. Jones GE. Chlamydial disease-More than just abortion. *Vet J* 1997, 153: 249-251
 38. Perez-Martinez JA, Storz J. Antigenic diversity of *Chlamydia psittaci* of mammalian origin determined by microimmunofluorescence. *Infect Immun* 1985, 50: 905-910
 39. Johnson FWA, Clarkson MJ. Ovine abortion isolates: antigenic variation detected by mouse infection. In: *Agrilture. Chlamydial diseases of ruminants.* ID Aitken (Ed). Report EUR 10056 EN, Commission of the European Communities, Luxembourg, 1986: 129-132
 40. Siarkou, V. In vivo studies of the immunological heterogeneity of abortion strains of *Chlamydia psittaci*. Ph.D. Thesis. Aristotle University, Faculty of Veterinary Medicine, Thessaloniki, Greece, 1992
 41. Vretou E, Loutrari H, Mariani L, Costelidou K, Eliades P, Conidou G, Karamanou S, Mangana O, Siarkou V, Papadopoulos O. Diversity among abortion strains of *Chlamydia psittaci* demonstrated by inclusion morphology, polypeptide profiles and monoclonal antibodies. *Vet Microbiol* 1996, 51: 275-289.
 42. Boumedine KS, Rodolakis A. AFLP allows the identification of genomic markers of ruminant *Chlamydia psittaci* strains useful for typing and epidemiological studies. *Res Microbiol* 1998, 149: 735-744
 43. Fukushi H, Hirai K. Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants. *Int J Syst Bacteriol* 1992, 42: 306-308
 44. Storz J, Kaltenboeck B. The *Chlamydiales*. Diversity of chlamydia-induced diseases. In: Z Woldehiwet & M Ristic (Eds), *Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals.* Pergamon Press, Oxford 1993: 363-393
 45. Clarkson MJ, Philips HL. Isolation of faecal chlamydia from sheep in Britain and their characterization by cultural properties. *Vet J* 1997, 153: 307-310
 46. Salinas J, Souriau A, De Sa C, Andersen AA, Rodolakis A. Serotype 2-specific antigens from ruminant strains of *Chlamydia pecorum* detected by monoclonal antibodies. *Comp Microbiol Immunol Infect Dis* 1996, 19: 155-161
 47. Brown AS, Amos ML, Lavin MF, Girjes AA, Tims P, Woolcock JB. Isolation and typing of a strain of *Chlamydia psittaci* from Angora goats. *Aust Vet J* 1988, 65: 288-289
 48. Rodolakis A, Bernard K. Isolement de *Chlamydia ovis* des organes genitaux de beliers atteints d'epididymite. *Bull Acad Vet Fr* 1977, 50: 65-70.
 49. Wilsmore AJ, Parsons V, Dawson M. Experiments to demonstrate routes of transmission of ovine enzootic abortion. *Br Vet J* 1984, 140: 380-391
 50. Dawson M, Zaghoul A, Wilsmore AJ. Ovine enzootic abortion: experimental studies of immune responses. *Res Vet Sci* 1986, 40: 59-64
 51. Jones GE, Anderson IE. *Chlamydia psittaci*: is tonsillar tissue the portal of entry in ovine enzootic abortion? *Res Vet Sci* 1988, 44: 260-261
 52. Papp JR, Shewen PE. Pregnancy failure following vaginal infection of sheep with *Chlamydia psittaci* prior to breeding. *Infect Immun* 1996, 64:1116-1125
 53. Appleyard WT, Aitken ID, Anderson IE. Attempted venereal transmission of *Chlamydia psittaci* in sheep. *Vet Rec* 1985, 116: 535-538
 54. McEwen AD, Littlejohn AI, Foggie A. Enzootic abortion in ewes. I. Some aspects of infection and resistance. *Vet Rec* 1951, 63: 489-492
 55. Munro R, Hunter AR. Infection of lambs by orally administered ovine abortion strain of *Chlamydia psittaci*. *Vet Rec* 1981, 109: 562-563
 56. Huang HS, Buxton D, Anderson IE. The ovine immune response to *Chlamydia psittaci*; histopathology of the lymph node. *J Comp Path* 1990, 102: 89-97
 57. Huang HS, Tan TW, Buxton D, Anderson IE, Herring AJ. Antibody response of the ovine lymph node to experimental infection with an ovine abortion strain of *Chlamydia psittaci*. *Vet Microbiol* 1990, 21: 345-351
 58. Amin JD, Wilsmore AJ. Studies on the early phase of the pathogenesis of ovine enzootic abortion in the non-pregnant ewe. *Br. Vet J* 1995, 151: 141-155
 59. Buxton D, Rae AE, Maley SW, Thomson KM, Livingstone M, Jones GE, Herring AJ. Pathogenesis of *Chlamydia psittaci*

- infection in sheep: detection of the organism in a serial study of the lymph node. *J Comp Pathol* 1996, 114: 221-230
60. Huang HS, Buxton D, Burrells C, Anderson IE, Miller HRP. Immune responses of the ovine lymph node to *Chlamydia psittaci*. A cellular study of popliteal efferent lymph. *J Comp Path* 1991, 105: 191-202.
 61. Amin JD, Wilsmore AJ. The effects of crude placental extract and erythritol on growth of *Chlamydia psittaci* (ovis) in McCoy cells. *Vet Res Commun* 1997, 21: 431-435
 62. Wilsmore AJ, Dawson M, Trower CJ, Venables C, Arthur MJ. Ovine enzootic abortion: field observations on naturally acquired and vaccine elicited delayed type hypersensitivity to *Chlamydia psittaci* (ovis) *Vet Rec* 1986, 118: 331-332
 63. Buxton D, Barlow RM, Finlayson J, Anderson IE, Mackellar A. Observations on the pathogenesis of *Chlamydia psittaci* infection of pregnant sheep. *J Comp Pathol* 1990, 102: 221-237
 64. Rodolakis A, Salinas J, Papp J. Recent advances on ovine chlamydial abortion *Vet Rec* 1998, 29: 275-288
 65. Leaver HA, Howie A, Aitken ID, Appleyard BW, Anderson IE, Jones G, Hay LA, Williams GE, Buxton D. Changes in progesterone oestradiol 17 β , and intrauterine prostaglandin E2 during late gestation in sheep experimentally infected with an ovine abortion strain of *Chlamydia psittaci*. *J Gen Microbiol* 1989, 135: 565-573
 66. Buendia AJ, Sanchez J, Martinez MC, Comara P, Navarro JA, Rodolakis A, Salinas J. Kinetics of infection and effects on placental cell populations in a murine model of *Chlamydia psittaci* - induced abortion. *Infect Immun* 1998, 66: 2128-2134
 67. Papp JR, Shewen PE. Localization of chronic *Chlamydia psittaci* infection in the reproductive tract of sheep. *J Infect Dis* 1996, 174: 1296-1302
 68. Papp JR, Shewen PE, Gartley CJ. Abortion and subsequent excretion of Chlamydiae from the reproductive tract of sheep during estrus. *Infect Immun* 1994, 62: 3768-3792
 69. Blewett DA, Gisemba F, Miller JK, Johnson FWA, Clarkson MJ. Ovine enzootic abortion: The acquisition of infection and consequent abortion within a single lambing season. *Vet Rec* 1982, 111: 499-501
 70. Rodolakis A, Souriau A. Clinical evolution of immunity following experimental or natural infection of ewes with *Chlamydia psittaci* (var ovis). *Ann Rech Vet* 1980, 11: 215-223.
 71. McCafferty MC. Immunity to *Chlamydia psittaci* with particular reference to sheep. *Vet Microbiol* 1990, 25: 87-99.
 72. Schmeer N, Krauss H, Apel J, Adami M, Muller HP, Schneider W, Perez-Martinez JA, Rieser H. Analysis of caprine IgG1 and IgG2 subclass responses to *Chlamydia psittaci* infection and vaccination. *Vet Microbiol* 1987, 14: 125-135.
 73. Anderson IE, Tan TW, Jones GE, Herring AJ. Efficacy against ovine enzootic abortion of an experimental vaccine containing purified elementary bodies of *Chlamydia psittaci*. *Vet Microbiol* 1990, 24: 21-27
 74. De Sa C, Souriau A, Bernard F, Salinas J, Rodolakis A. An oligomer of the major membrane protein of *Chlamydia psittaci* is recognised by monoclonal antibodies which protect mice from abortion. *Infect Immun* 1995, 63: 4912-4916
 75. Cevenini R, Donati M, Brocchi E, De Simone F, La Placa M. Partial characterization of an 89-kDa highly immunoreactive protein from *C. psittaci* A/22 causing ovine abortion. *FEMS Microbiol Lett* 1991, 81: 111-115
 76. Buzoni-Gatel D, Rodolakis A, Plommet M. T-cell mediated and humoral immunity in a mouse *C. psittaci* systemic infection. *Res Vet Sci* 1987, 43: 59-63
 77. Huang J, Wang MD, Lenz S, Gao D, Kaltenboeck B. IL-12 administered during *Chlamydia psittaci* lung infection in mice confers immediate and long-term protection and reduces macrophage inflammatory protein-2 level and neutrophil infiltration in lung tissue. *J Immunol* 1999, 162: 2217-2226
 78. Buzoni-Gatel D, Guilloteau L, Bernard F, Bernard S, Charde T, Rocca A. Protection against *Chlamydia psittaci* in mice conferred by Lyt-2+ T cells. *Immunology* 1992, 77: 284-288
 79. De Oca RM, Buendia AJ, Del Rio J, Sanchez J, Salinas J, Navarro JA. Polymorphonuclear neutrophils are necessary for the recruitment of CD8+ T cells in the liver in a pregnant mouse model of *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci* serotype 1) infection. *Infect Immun* 2000, 68: 1746-1751
 80. Entrican G, Wilkie R, McWaters P, Scheerlinck J, Wood PR, Brown J. Cytokine release by ovine macrophages following infection with *Chlamydia psittaci*. *Clin Exp Immunol* 1999, 117: 309-315
 81. Foggie A. Immunological studies on the infection of ovine enzootic abortion in young lambs. *J Comp Path Therap* 1954, 64: 141-151
 82. Thomas R, Davison HC, Wilsmore AJ. Use of the IDEIA ELISA to detect *Chlamydia psittaci* (ovis) in material from aborted fetal membranes and milk from ewes affected by ovine enzootic abortion. *Br Vet J* 1990, 146: 364-367
 83. Tsakos, P. A study of chlamydial infections in small ruminants: epidemiology and pathogenicity. Ph.D. Thesis. Aristotle University, Faculty of Veterinary Medicine, Thessaloniki, Greece, 1999
 84. Buzoni-Gatel D, Rodolakis A. A mouse model to compare virulence of abortive and intestinal ovine strains of *Chlamydia psittaci*: influence of the route of inoculation. *Ann Microbiol (Inst Pasteur)* 1983, 134A: 91-99
 85. Philips HL, Clarkson MJ. Experimental infection of pregnant ewes with *Chlamydia pecorum*. *Infect Immun* 1998, 66: 2818-2821