

**Généralités sur les infections à *Chlamydia trachomatis* et
*Neisseria gonorrhoeae***

Chapitre I : Infections à *Chlamydia trachomatis*

I. 1. Définition

Les chlamydia sont des bactéries Gram négative et non mobiles, et à développement intracellulaire obligatoire des cellules eucaryotes. Elles forment des inclusions dans le cytoplasme de la cellule hôte. Elles sont de petite taille et sont responsables d'I.S.T.

I. 2. Historique

En 1906, Haelberstaeder et Von Prowzek découvraient des inclusions dans les frottis conjonctivaux de trachomateux. (Avril *et al*, 2000). En 1907, ils visualisèrent les chlamydia dans les cellules conjonctivales des trachomateux. L'agent de la lymphogranulomatose vénérienne (L.G.V) fut isolé par Leviditi en 1931 par inoculation au singe et à la souris blanche, puis par Myagawa en 1935 par culture sur œufs embryonnés (Freney *et al*, 2000). Il a été constaté que le cycle de croissance de l'agent responsable de la lymphogranulomatose vénérienne est semblable à celui responsable de la pandémie de psittacose observée en 1929-1930 et isolé par Bedson sur œuf embryonné.

. Ces agents du trachome de la L.G.V et de la psittacose furent désignés tour à tour sous le nom de Bedsonia, Myagawanella, Neorickettsie et le lien entre eux fut établi en 1941.

En 1959 Jones *et al.* réussissent à isoler par culture une souche de *Chlamydia* à partir d'un prélèvement du col utérin d'une mère dont l'enfant présentait une conjonctivite néonatale.

En 1964 *C. trachomatis* était isolé d'urètres masculins et Moulder montrait que ces micro-organismes sont des bactéries à développement intracellulaires (Avril *et al*, 2000).

Les Chlamydiaceae ont été séparées des Rickettsies en 1970.

I. 3. Classification

Règne :	Végétal.
Sous-règne :	Bactéries.
Embranchement :	Chlamydiae.
Ordre :	Chlamydiales.
Famille :	Chlamydiaceae.
Genre :	<i>Chlamydia</i> .
Espèce :	<i>Chlamydia trachomatis</i> (4).

L'espèce *C. trachomatis* est strictement parasite de l'homme et est subdivisée en quinze immunotypes ou sérotypes répartis en trois groupes responsables d'un type particulier

de pathologie. Les sérotypes A, B, Ba, et C sont associés au trachome alors que les sérotypes D, E, F, G, H, I, J et K sont responsables des infections sexuellement transmissibles, des infections oculaires et néonatales. Les sérotypes L1, L2 et L3 sont responsables de la Lymphogranulomatose vénérienne.

I. 4. Caractères bactériologiques

I. 4. 1. Morphologie, génome et cycle de développement

I. 4. 2. 1. Morphologie et génome

Les *Chlamydia* sont des bactéries de petite taille, de forme coccoïde, de 0,30 à 1 micromètre de diamètre. (Figure 1). Elles possèdent les deux types d'acides nucléiques ADN et ARN. Leur génome consiste en un chromosome circulaire et un plasmide cryptique (d'une taille de 7500pb) conservé est présent en plusieurs copies (5 à 10 copies par corps élémentaire) dans la bactérie.

I. 4. 2. 2. Cycle de développement (Figure 2)

C. trachomatis est une bactérie qui utilise l'ATP de la cellule hôte par défaut de synthèse propre et montre un cycle de multiplication intracellulaire particulier qui se déroule en deux phases pendant lesquelles la bactérie se présente sous deux formes :

- Les corps élémentaires (C.E) : ce sont les particules infectieuses qui n'ont aucune activité métabolique. Ils s'attachent à la cellule hôte, sécrètent du sulfate d'héparine qui va se lier aux récepteurs cellulaires et bactériens et entrent dans celle-ci par invagination de la membrane. Ils sont ainsi ingérés par la cellule et protégés par un phagosome. Ils sont de petite taille, coccoïdes, de 300nm de diamètre et présentent un appareil nucléaire condensé en périphérie du cytoplasme. Leur paroi, dépourvue de peptidoglycane, possède dans sa membrane un lipopolysaccharide (L.P.S) et des protéines assurant par des ponts SS une cohésion forte.
- Les corps réticulés (C.R) : de taille plus importante (1µm de diamètre), ils sont formés par germination des C.E dans le phagosome de la cellule infectée. Ils persistent car la bactérie s'oppose à l'union phagosome-lysosome. Ce sont les formes métaboliquement actives, intracellulaires, qui se multiplient par division binaire. Leur membrane est beaucoup plus fluide que celle des CE. Par condensation et en passant par des corps intermédiaires, ils redonnent des corps élémentaires qui sont excrétés par exocytose de la cellule 48 à 72 heures après l'étape initiale. L'espèce peut exister sous

une forme latente dans les cellules. La culture est alors négative. Une résurgence de l'infection et une chronicité sont donc possibles (figure 3) (5).



Figure 1 : Morphologie de *C. trachomatis* (6).



Figure 2 : Cycle de développement de *C. trachomatis* (7).

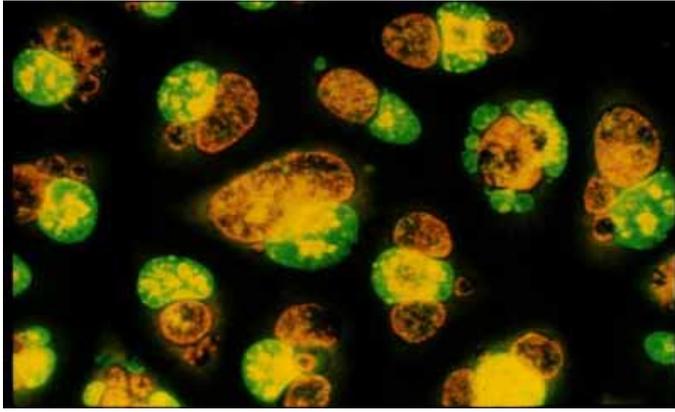


Figure 3 : *C. trachomatis* sous forme latente (5).

I. 4. 2. Caractères cultureux

Les chlamydia sont incapables de croître sur milieu synthétique. Ils se développent dans la membrane vitelline de l'œuf embryonné et sur culture cellulaire.

I. 4. 2. 1. Culture sur œuf embryonné

Pendant longtemps, l'inoculation à l'œuf de poule embryonné par voie intravitelline a constitué le seul moyen d'isoler les chlamydia. 0.1 à 0.5 ml du produit pathologique est broyé dans la cavité vitelline d'œufs de poule ou de canne de 6 à 7 jours.

Les œufs sont inoculés à 35°C en atmosphère humide pour *Chlamydia trachomatis*. La mort de l'embryon survient dans un délai qui est fonction de la quantité de chlamydia inoculée. Malgré sa sensibilité, cette culture n'est pas toujours satisfaisante à cause des contaminations bactériennes qui tuent l'embryon très rapidement.

I. 4. 2. 2. Culture sur lignée cellulaire

Chlamydia trachomatis se multiplie seulement dans les cellules épithéliales, deux lignées cellulaires sont principalement recommandées pour leur sensibilité :

- Les cellules de Mac COY issues d'une synoviale humaine mais ayant perdu toute trace de leur origine humaine.
- Les cellules Héla 209 issues d'un carcinome du col utérin.

La culture des cellules est réalisée en milieu RPMI 1640, supplémenté en sérum de veau foetal, glutamine, en cycloheximide et gentamicine.

Quelle que soit la lignée cellulaire choisie, il faut respecter trois conditions : l'inhibition de la multiplication cellulaire, la centrifugation de l'inoculum et l'enrichissement du milieu de culture.

I. 4. 3. Structure antigénique

La structure antigénique des chlamydia est complexe et les antigènes ont des spécificités de genre ou groupe, d'espèce et de type.

I. 4. 3. 1. Antigènes de genre

Il existe un LPS présent dans la paroi externe, thermostable et commun aux trois espèces. Cet antigène présent à tous les stades du cycle de développement est capable de fixer le complément. Il s'agit d'un LPS de 10 kda qui renferme le trisaccharide alpha-acide-3-désoxy-D-manno-octulosomique. (Ndiaye, 1994 et Batteiger, 1996).

I. 4. 3. 2. Antigènes d'espèces.

Ce sont des protéines thermolabiles et associées à la membrane cytoplasmique. Elles sont présentes à tous les stades du cycle de développement. La plus importante est la protéine majeure de membrane externe ou Major Outer Membrane Protéine (M.O.M.P) qui jouerait un rôle de porine. Immunogène puissant, cette protéine est utilisée pour la fabrication d'anticorps monoclonaux et constitue un candidat potentiel pour la mise au point d'un vaccin. Cet antigène est surtout présent sur la membrane externe des C.E de *C. trachomatis*. Il ne diffuse pas à l'extérieur des cellules contrairement à l'antigène L.P.S.

I. 4. 3. 3. Antigènes spécifiques de types

Protéines thermolabiles, ils permettent la classification de tous les sérotypes de *C. trachomatis*. Il existe 15 sérotypes ou immunotypes de *C. trachomatis* (Cabral *et al*, 2003), répartis en trois groupes (Geisler *et al*, 2003).

- Groupe 1 : les sérotypes A, B, Ba et C.
- Groupe 2 : les sérotypes D, E, F, G, H, I, J, K.
- Groupe 3 : les sérotypes L1, L2 et L3.

I. 4. 4. Réponse immune à *Chlamydia trachomatis*

La possibilité d'infections multiples et répétées chez la même personne montre que l'immunité naturelle est faible. Des essais de vaccination contre le trachome avec des cellules entières de *C. trachomatis* ont montré une efficacité réduite et de courte durée.

I. 5. Localisation et épidémiologie

I. 5. 1. Localisation

C. trachomatis a pour hôte exclusif l'homme. Son site particulier est constitué par les cellules épithéliales des muqueuses conjonctivales, urétrales et vaginales mais il peut gagner les voies génitales hautes en l'absence de traitement.

I. 5. 2. Epidémiologie

Responsables du trachome, les sérotypes A, B, Ba et C, sont transmis le plus souvent indirectement par les mains et les objets souillés et les mouches.

Les souches appartenant aux sérovars D à K sont transmises par les relations sexuelles. Les infections oculaires de l'adulte dues à ces souches sont souvent associées à une infection génitale. Le nouveau-né s'infecte au moment de l'accouchement (Avril *et al*, 2000).

Les infections à *C. trachomatis* sont presque retrouvées dans toutes les couches de la société mais les plus touchées sont les jeunes et les pauvres (Scatcher et Stamm, 1999).

Chlamydia trachomatis est la première cause d'I.S.T bactériennes avec 85 millions de nouveaux cas par an. C'est probablement l'agent pathologique le plus répandu dans le monde (Sturm-ramirez *et al*, 2000). Les régions les plus touchées au monde sont l'Afrique subsaharienne et l'Asie du Sud et du Sud-est. Au Sénégal la prévalence des infections à *Chlamydia trachomatis* est de 4% chez les travailleuses du sexe, 4,1% chez les hommes ayant de rapports sexuels avec d'autres hommes et 0,6% chez les partenaires sexuels masculins des prostituées (Mboup *et al*, 2006). L'infection par cette espèce multiplie par 1 à 3 le facteur de risque d'être infecté par le VIH chez les groupes à haut risque (Lalou *et al*, 2007).

I. 6. Pouvoir pathogène

C. trachomatis est responsable de la chlamydie, du trachome et du lymphogranulome vénérien.

Chez l'homme, la bactérie est la cause d'écoulements urétraux (urétrites), d'épididymites, d'orchites et de stérilité. Chez la femme il y a plusieurs infections et conséquences telles que cervicites, endométrites, salpingites, infections génitales hautes, stérilité, ruptures prématurées des membranes et périhépatite. Dans les deux sexes, *C. trachomatis* est la cause de rectites, de pharyngites et du syndrome de Reiter. Chez le nouveau-né la bactérie est responsable de conjonctivites et de pneumonies.

Les souches L1 à L3 sont responsables de la lymphogranulomatose vénérienne. Dans les deux sexes il y a des ulcères, des oedèmes inguinaux et des rectites.

I. 7. Manifestations cliniques

C. trachomatis est souvent appelé « l'agent de l'infection silencieuse » parce qu'environ 75% des femmes et 50% des hommes infectés sont asymptomatiques. Les symptômes apparaissent souvent une à trois semaines après une exposition contaminante.

I. 7. 1. Trachome

C'est une kérato-conjonctivite contagieuse caractérisée par la formation de follicules. Après 7 à 21 jours d'incubation, apparaît une conjonctivite marquée par une inflammation importante accompagnée de sécrétions purulentes. Elle peut évoluer vers la cécité par surinfection bactérienne, complications mécaniques et ulcérations cornéennes.

I. 7. 2. Infections uro-génitales

I. 7. 2. 1. Chez l'homme

Dans l'urétrite à *C. trachomatis*, l'incubation est de quelques jours à quelque mois. En moyenne, elle est de 10 à 15 jours. Il y a inflammation de l'urétrite mais dans la majorité des cas l'infection est asymptomatique. Le plus souvent il y a un écoulement transparent (Morsure *et al*, 2000). L'urétrite aiguë se manifeste par un écoulement purulent abondant accompagné de vives brûlures mictionnelles et quelquefois d'hémorragie. Les complications sont possibles comme l'épididymite, surtout chez l'homme de moins de 35 ans, la prostatite, la stérilité (Scatcher, 1999 et Westrom, 1996). La rectite se manifeste par une douleur rectale modérée, un ténesme, un écoulement muqueux et éventuellement un saignement.

I. 7. 2. 2. Chez la femme

L'infection aboutit souvent à une cervicite mucopurulente associant une exo cervicite avec un col érythémateux et friable. Les autres signes sont une endo-cervicite avec un écoulement jaunâtre mucopurulente par le col utérin, des oedèmes de la zone d'ectopie cervicale et une propension de la muqueuse à saigner au moindre traumatisme (Stamm et Holmes 1972).

La salpingite est une complication majeure. Elle se manifeste par une inflammation pelvienne. Les signes et les symptômes majeurs incluent la fièvre, les douleurs abdominales basses, la stérilité utérine.

I. 7. 2. 3. Complications générales

Il y a le syndrome de Reiter qui est une arthrite dont les symptômes apparaissent 1 à 4 semaines après le début de l'urétrite. L'infection haute peut se compliquer d'une périhépatite ou syndrome de Fitz-hugh-curtis. L'infection haute s'accompagne de complications tubaires, cause de stérilité et de grossesses extra-utérines.

I. 7. 2. 4. Infections néonatales.

Les nouveaux-nés des mères infectées sont contaminés pendant l'accouchement. Après une incubation d'une à 2 semaines, 20 à 25% des enfants contaminés développent une conjonctivite mucopurulente parfois associée à une rhinite ou une atteinte de l'oreille moyenne. La pneumonie peut apparaître chez les enfants contaminés au bout de 4 à 12 semaines de vie. Elle se manifeste généralement par une toux coqueluchoïde

I. 7. 3. Lymphogranulomatose vénérienne ou LGV

Elle se caractérise, après 3 à 30 jours d'incubation, par un micro-chancres qui apparaît au point d'inoculation (gland, vagin, anus). Quelques jours plus tard, il y a une polyadénopathie inguinale qui va donner lieu à de multiples fistules. Des localisations extra-génitales peuvent survenir (neurologiques, articulaires, oculaires etc.). Après plusieurs années, les complications se manifestent par des éléphantiasis génitaux ou un rétrécissement et des fistules du pénis, de l'urètre ou du rectum.

I. 8. Diagnostic biologique

I. 8. 1. Prélèvement

La qualité du prélèvement conditionne la pertinence des résultats. En effet, le prélèvement doit obligatoirement comporter des cellules en raison de la localisation intracellulaire des bactéries.

- Chez l'homme : on effectue un prélèvement urétral par écouvillonnage profond.
- Chez la femme : on effectue un prélèvement endocervical par écouvillonnage après pose d'un spéculum vaginal.
- Chez le nouveau-né : on recueille les cellules épithéliales en frottant un écouvillon sur la conjonctive enflammée. En cas de pneumonie, l'aspiration naso-pharyngée ou trachéo-bronchique est le prélèvement de choix.
- Pour le diagnostic sérologique : il faut faire un prélèvement sanguin.

Dans tous les cas, il faut ensemencer immédiatement le milieu de culture ou utiliser un milieu de transport. Par exemple le milieu de saccharose phosphate contenant un sérum et des antibiotiques ou milieu 2SP. La conservation se fait à 4°C, si les prélèvements doivent être traités immédiatement et à – 80°C pour une longue durée.

I. 8. 2. Examen direct

Au microscope photonique, l'examen de frottis colorés au Giemsa ou au lugol permet de mettre en évidence dans les cellules, les inclusions cytoplasmiques contenant des granulations punctiformes caractéristiques des *Chlamydia*.

L'examen du frottis peut se faire également en immunofluorescence en présence d'anticorps antichlamydiens monoclonaux marqués. Au microscope à fluorescence, les chlamydia apparaissent sous forme de corps élémentaires extracellulaires punctiformes émettant une fluorescence vert pomme tranchant sur fond orangé de la préparation. C'est une technique simple, rapide mais exigeant un certain entraînement pour la lecture. Elle est aussi difficilement utilisable pour de grandes séries de prélèvements.

Les méthodes immunoenzymatiques sont très utilisées et mettent en évidence l'antigène bactérien. Elles sont rapides et objectives mais manquent parfois de sensibilité.

I. 8. 3. Culture

C'est la méthode de référence. La culture est réalisée dans les cellules de Mac Coy ou Hela 229. Les prélèvements doivent être centrifugés à 3000g et à 35°C pendant une heure. Les cultures sont ensuite additionnées de cycloheximide ou de cytocholasine B qui vont inhiber la multiplication des cellules sans entraver celle des chlamydia. L'incubation se fait en atmosphère de CO₂ pendant 48 à 72 heures. Les cultures sont ensuite examinées en immunofluorescence.

I. 8. 4. Sensibilité aux antibiotiques

L'ordre d'activité décroissante in vitro des antibiotiques supposés actifs est la suivante : la rifampicine, les tétracyclines, les sulfamides, les macrolides et les fluoroquinolones qui ont une forte pénétration intracellulaire (De Barbeyrac *et al*, 1997).

I. 8. 5. Recherche d'anticorps sériques

Les réactions de micro-immunofluorescence (M.I.F) ou les méthodes ELISA sont utilisées. La M.I.F mesure les anticorps par spécificité de sérovar et par classe d'immunoglobuline (IgG, IgA ou les IgM). Toutefois, la sérologie pose des problèmes

d'interprétation. En effet, un taux d'anticorps supérieur à 64 UI chez la femme et supérieur à 32 UI chez l'homme peut correspondre soit à une chlamydie débutante, soit à une cicatrice sérologique. Un taux élevé supérieur à 256 UI évoque une chlamydie profonde.

I. 9. Traitement et prévention

I. 9. 1. Traitement

Chlamydia trachomatis peut être traitée et guérie avec des antibiotiques qui ont une forte pénétration intracellulaire. Les cyclines, les macrolides, la rifampicine et les nouvelles quinolones répondent à ce critère de choix et ont des concentrations maximales inhibitrices (CMI) basses in vitro sur les souches de *C. trachomatis*.

I. 9. 2. Prévention

En l'absence de vaccin les efforts de prévention doivent être basés sur une approche multidirectionnelle, c'est-à-dire :

- La sensibilisation et l'éducation sanitaire de la population.
- La recherche et le traitement des partenaires sexuels
- Le dépistage des populations à risque et de toute personne suspecte.
- La protection mécanique correcte des rapports sexuels jusqu'à la fin du traitement.
- Le contrôle de la guérison en fin de traitement.