



**HAL**  
open science

# Chlamydia trachomatis dans les infections sexuellement transmissibles

François Bal

► **To cite this version:**

François Bal. Chlamydia trachomatis dans les infections sexuellement transmissibles. Sciences pharmaceutiques. 2004. hal-01733167

**HAL Id: hal-01733167**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733167>**

Submitted on 14 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

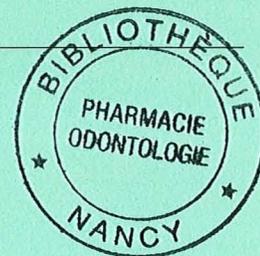
[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ-NANCY I

2004

FACULTE DE PHARMACIE



**CHLAMYDIA TRACHOMATIS DANS LES  
INFECTIONS SEXUELLEMENT  
TRANSMISSIBLES**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 13 mai 2004

pour obtenir

**Le DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en PHARMACIE**

par Monsieur BAL François

DS 30262

Membres du Jury

Président : Madame SCHWARTZBROD. J., Professeur

Juges : Madame ALBERT. M., Maître de conférences  
Monsieur JALET. JP., Pharmacien

BU PHARMA-ODONTOL



104 067063 0



---

FACULTE DE PHARMACIE

**CHLAMYDIA TRACHOMATIS DANS LES  
INFECTIONS SEXUELLEMENT  
TRANSMISSIBLES**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 13 mai 2004

pour obtenir

**Le DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en PHARMACIE**

par Monsieur BAL François

DE 30262

Membres du Jury

Président : Madame SCHWARTZBROD. J., Professeur

Juges : Madame ALBERT. M., Maître de conférences  
Monsieur JALET. JP., Pharmacien

## Membres du personnel enseignant 2003/2004

**Doyen**

Chantal FINANCE

**Vice Doyen**

Anne ROVEL

**Président du Conseil de la Pédagogie**

Pierre LABRUDE

**Responsable de la Commission de la Recherche**

Jean-Claude BLOCK

**Responsable de la Filière officine**

Gérald CATAU

**Responsable de la Filière industrie**

Jeffrey ATKINSON

**DOYEN HONORAIRE**

M. VIGNERON Claude

**PROFESSEURS EMERITES**

M. BONALY Roger

M. HOFFMAN Maurice

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Mlle BESSON Suzanne

Mlle GIRARD Thérèse

M. JACQUE Michel

M. LECTARD Pierre

M. LOPPINET Vincent

M. MARTIN Jean-Armand

M. MIRJOLET Marcel

M. PIERFITTE Maurice

M. SCHWARTZBROD Louis

**PROFESSEURS**

M.	ASTIER Alain	Pharmacie clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie cardiovasculaire
M.	AULAGNER Gilles	Pharmacie clinique
M.	BAGREL Alain	Biochimie
Mlle	BATT Anne-Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean-Claude	Santé publique
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON Christine	Pharmacologie cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Bactériologie -Immunologie
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Mathématiques, physique, audioprothèse
Mlle	GALTEAU Marie-Madeleine	Biochimie clinique
M.	HENRY Max	Botanique, mycologie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie, orthopédie, maintien à domicile
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	LEROY Pierre	Chimie physique générale
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MORTIER François	Pharmacognosie
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique
M.	REGNOUF de VAINS Jean-Bernard	Chimie Thérapeutique
M.	RIHN Bertrand (Professeur associé)	Biochimie
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie, parasitologie
M.	SIEST Gérard	Biologie, pharmacologie moléculaire
M.	SIMON Jean-Michel	Droit officinal, législation pharmaceutique
M.	VIGNERON Claude	Hématologie, physiologie

## PROFESSEUR ASSOCIE

Mme GRISON Geneviève

Pratique officinale

## MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - virologie
Mme	BANAS Sandrine	Parasitologie
M.	BOISBRUN Michel	Chimie Thérapeutique
Mme	BOITEUX Catherine	Biophysique, Audioprothèse
M.	BONNEAUX François	Chimie thérapeutique
M.	CATAU Gérald	Pharmacologie
M.	CHEVIN Jean-Claude	Chimie générale et minérale
M.	CHILLON Jean-Marc	Pharmacologie
M	CLAROT Igor	Chimie analytique
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie, conseils vétérinaires
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M.	DUCOURNEAU Joël	Biophysique, audioprothèse, acoustique
Mme	FAIVRE-FIORINA Béatrice	Hématologie
M.	FERRARI Luc	Toxicologie
Mle	FONS Françoise	Biologie végétale, mycologie
M.	GANTZER Christophe	Virologie
M.	GIBAUD Stéphane	Pharmacie clinique
Mle	HINZELIN Françoise	Mycologie, botanique
M.	HUMBERT Thierry	Chimie organique
M.	JORAND Frédéric	Santé, environnement
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie galénique
Mle	LAMBERT Alexandrine	Biophysique, biomathématiques
M.	LAMPRECHT Alf	Pharmacie galénique
Mme	LARTAUD-IDJOUADIENE Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
Mme	LIVERTOUX Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAL-HEUSSLER Emmanuelle	Communication et santé
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MONAL Jean-Louis	Chimie thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDICAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PICHON Virginie	Biophysique
Mme	ROVEL Anne	Histologie, physiologie
Mme	SAUDER Marie-Paule	Mycologie, botanique
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacologie
Mme	WELLMAN-ROUSSEAU Maria-Monika	Biochimie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

## PROFESSEUR AGREGE

M. COCHAUD Christophe

Anglais

## ASSISTANTS

Mme	BEAUD Mariette	Biologie cellulaire
Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Mycologie
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie, phytothérapie
Mme	PAVIS Annie	Bactériologie

# SERMENT DES APOTHICAIRES



**Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES  
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A NOTRE PRESIDENT

Madame le Professeur SCHWARTZBROD

Professeur de bactériologie et de parasitologie à la Faculté de Pharmacie  
de Nancy.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance pour la qualité  
de son enseignement, pour m'avoir conseillé et aidé dans l'élaboration de  
ce travail.

Et pour le grand honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le  
jury de thèse.

A Madame ALBERT

Maître de conférences à la faculté de Pharmacie de Nancy.

Que je tiens à remercier tout particulièrement pour le grand intérêt porté au sujet de cette thèse et pour sa participation au jury.

A Monsieur JALET

Pharmacien à Flavigny-sur-Moselle

Vous avez accepté avec bienveillance de juger ce travail.

Recevez ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

A mes grands-parents,

*Pour leur gentillesse.*

A mes parents,

*Pour leur présence constante à mes côtés.*

*Pour les joies qu'ils m'ont apportées.*

*Enfin pour tout leur amour pendant ces années.*

A mon frère et ma sœur,

*Avec toute mon affection.*

A toute ma famille,

A mon amie Anne,

*Pour tes encouragements.*

*Pour ta patience, tes conseils et tes compétences informatiques.*

*Pour ton amour.*

A tous mes amis,

*Pour les moments fabuleux que nous avons partagés.*

# TABLE DES MATIERES

<b>LEXIQUE DES ABREVIATIONS</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>8</b>
<b>I. TAXONOMIE DE CHLAMYDIA</b>	<b>10</b>
1. Généralités	10
2. Ordre des Chlamydiales	11
3. Famille des Chlamydiaceae	11
4. Différenciation entre les genres Chlamydia et Chlamydoxila	12
5. Chlamydia trachomatis	12
6. Perspectives futures en terme de classification	15
<b>II. BACTERIOLOGIE DE CHLAMYDIA</b>	<b>15</b>
1. Matériel génétique chez Chlamydia	15
1.1 <i>Génome</i>	15
1.1.1. Généralités	15
1.1.2. Description	16
1.2. <i>Eléments extrachromosomiques</i>	16
2. Cytologie	16
2.1. <i>Chlamydia outer membrane complex (COMC)</i>	16
2.2. <i>Lipopolysaccharide (LPS)</i>	18
2.3. <i>Phospholipides de membrane</i>	19
2.4. <i>Variabilité antigénique</i>	19
2.4.1. MOMP	19
2.4.2. Protéines polymorphes de membrane	20
<b>III. LE CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS</b>	<b>21</b>
1. Cycle de développement	21
2. Manipulation du phagosome	22
3. Protéines d'inclusion Inc	23
4. Système de sécrétion des protéines de type III	24
4.1. <i>Généralités</i>	24
4.2. <i>Fonctionnement</i>	24
4.3. <i>Structure</i>	24
4.4. <i>Génétique</i>	24
4.5. <i>Rôle</i>	25



<b>IV. METABOLISME DE CHLAMYDIA</b>	<b>26</b>
1.Généralités	26
2.Glucides	26
3.Cycle de Krebs	26
4.Energie	26
5.Translocases	28
<b>V. CLINIQUE</b>	<b>29</b>
1.Maladies aïgues	29
1.1.Chez la femme	30
1.1.1.Cervicite	30
1.1.2.Urétrite	31
1.2.Chez l'homme : c'est l'urétrite	31
1.3.Chez l'homme et la femme	32
2.Maladies chroniques	32
2.1.Chez la femme	33
2.1.1.Endométrite	33
2.1.2.Salpingite	33
2.1.2.1.Clinique	33
2.1.2.2.Interrogatoire du médecin	34
2.1.2.3.Diagnostic différentiels évoqués	34
2.1.2.4.Place de la coelioscopie	34
2.1.2.5.Complications d'une salpingite	35
2.1.2.5.1.Complications aïgues	35
2.1.2.5.2.Passage à la chronicité	35
2.1.2.5.3.Récidive ultérieure	36
2.1.3.Syndrome de Fitz-Hugh-Curtis ou périhépatite	36
2.2.Chez l'homme	37
2.2.1.Epididymite	37
2.2.2.Autres	37
2.3.Chez l'homme et la femme	38
2.4.Infections néonatales	39
2.4.1.Infection oculaire	39
2.4.2.Infection respiratoire	40
3.Lymphogranulomatose vénérienne	41
3.1.Généralités	41
3.2.Physiopathologie	41
3.3.Clinique	42
3.3.1.Forme génitale	42
3.3.1.1.Phase primaire	42
3.3.1.2.Phase secondaire	43
3.3.1.3.Phase tertiaire	45
3.3.2.Forme anorectale	46

<b>VI. EPIDEMIOLOGIE</b>	<b>46</b>
1. Les données épidémiologiques françaises	47
2. Description d'une étude écossaise	48
3. L'utilité d'une politique de santé publique	49
4. La lymphogranulomatose vénérienne	49
<b>VII. CHLAMYDIA ET IMMUNITÉ</b>	<b>50</b>
1. La réponse humorale	50
1.1. Les cibles de l'infection humorale	50
1.2. Les infections génitales basses	51
1.3. Les infections génitales hautes	51
2. Immunité cellulaire	51
3. Rôles des cytokines et profils des réponses immunitaires	52
3.1. Rôle relatif des deux sous classes de lymphocyte T Helper	52
3.2. Rôle de l'interféron	53
3.2.1. Chez la souris	53
3.2.2. In vitro	53
3.3. Rôle du facteur de nécrose tissulaire $\alpha$ (TNF $\alpha$ )	54
3.4. Rôle des cellules dendritiques et épithéliales	54
3.4.1. Cellules dendritiques	54
3.4.2. Cellules épithéliales	54
4. Vaccination	54
<b>VIII. FACTEURS FAVORISANT LES INFECTIONS A CHLAMYDIA</b>	<b>55</b>
1. Rôle des facteurs génétiques	55
1.1. Dans la population humaine	55
1.2. Chez la macaque	55
1.3. Chez la souris	56
2. Facteurs hormonaux	56
2.1. Chez la femme	56
2.2. Chez le cobaye	56
2.3. Chez la souris	56
<b>IX. PERSISTANCE PAR ALTERATION DU CYCLE DE DEVELOPPEMENT</b>	<b>57</b>
1. In vitro	57
2. Infection persistante in vivo	58
<b>X. METHODES DIAGNOSTIQUES</b>	<b>59</b>
1. Diagnostic bactériologique direct	59
1.1. Prélèvements	60
1.1.1. Matériel de prélèvement	60

1.1.2.Sièges des prélèvements	60
1.1.2.1.Recherche de Chlamydia trachomatis dans les voies génitales masculines	60
1.1.2.2.Prélèvements urogénitaux chez la femme	61
1.1.2.3.Prélèvements tubaires ou péritonéaux	62
1.1.2.4.Prélèvements anaux	62
1.1.2.5.Prélèvements lors de suspicion de LGV	62
1.1.2.6.Prélèvements oculaires	62
1.1.2.7.Prélèvements lors d'une pneumopathie tardive du nouveau-né	62
1.1.2.8.Prélèvements en cas de suspicion de syndrome de FLR	62
1.1.3.Prélèvements en fonction du contexte clinique	63
1.1.4.Prise en charge du prélèvement	63
1.1.4.1.Prélèvement pour mise en culture	63
1.1.4.1.1.Milieu de transport	63
1.1.4.1.2.Conservation des prélèvements	64
1.1.4.2.Prélèvements pour les autres techniques de diagnostic	64
1.2.Culture cellulaire	64
1.2.1.Introduction	64
1.2.2.Modalités de la culture	64
1.2.3.Facteurs affectant le résultat de la culture cellulaire	65
1.2.4.Révélations	66
1.2.5.Intérêt de la culture	66
1.2.6.Conclusion	66
1.3.Techniques immunologiques	66
1.3.1.Immunofluorescence directe	66
1.3.2.ELISA	67
1.4.Test de biologie moléculaire avec ou sans amplification génique	67
1.4.1.La cible	67
1.4.2.Intérêt de la biologie moléculaire	68
1.4.3.Les différentes méthodes	68
1.4.3.1.Polymerase chain reaction (PCR) ou réaction de polymérisation en chaîne	68
1.4.3.2.Gap-LCR (ligase chain reaction) ou réaction de ligation en chaîne	69
1.4.3.3.Transcription mediated amplification (TMA) ou amplification isotherme d'ARNr après action d'une transcriptase inverse et d'une ARN polymérase	69
1.4.3.4.Stand displacement amplification (SDA) ou amplification par déplacement de brin	70
1.4.4.Modalités	70
1.4.5.Conclusion	70
1.5.Test d'hybridation d'acide nucléique (sondes ADN)	70
1.6.Intérêt des méthodes de détection de Chlamydia trachomatis en fonction des échantillons biologiques	71
2.Sérodiagnostic	72
2.1.Micro-immunofluorescence	72
2.1.1.Généralités	72
2.1.2.Modalités	72
2.1.3.Résultats	72
2.1.4.Evaluation de la micro-immunofluorescence	72
2.2.Réaction de fixation du complément	73
2.3.Les tests immunoenzymatiques	73
2.4.Sérologie en fonction du contexte clinique	74
3.Tableau récapitulatif des différents tests pour le diagnostic des infections à Chlamydia	74

4. Attitudes diagnostiques en fonction de la pathologie	76
4.1. L'urétrite	76
4.2. La cervicite	76
4.3. Infections génitales hautes	76
4.4. La LGV	77
4.4.1. Mise en évidence de Chlamydia trachomatis dans les lésions	77
4.4.2. Sérologie	78
4.5. Infections du nouveau-né	78
5. Typage des souches de Chlamydia trachomatis	79
5.1. Le sérotypage	79
5.2. Le génotypage	79

## **XI. TRAITEMENT** **80**

1. Méthode d'étude de l'activité des antibiotiques	80
2. Sensibilité et résistance naturelle	81
3. Résistance acquise	82
4. Protocole de traitement des différentes pathologies	83
4.1. Traitement des urétrites	83
4.2. Traitement des cervicites	83
4.3. Traitement des épидidymites	84
4.4. Traitement des infections génitales hautes	84
4.4.1. Les infections génitales hautes non compliquées	84
4.4.2. Les infections génitales hautes compliquées	85
4.4.3. Les autres mesures thérapeutiques	85
4.4.3.1. Les anti-inflammatoires	85
4.4.3.2. Traitement du ou des partenaires	86
4.5. Traitement de la LGV	86
4.6. Traitement des pathologies du nouveau-né	86
4.6.1. La conjonctivite	86
4.6.2. Pneumopathies du nouveau-né	86

## **CONCLUSION** **87**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES** **89**

## LEXIQUE DES ABREVIATIONS

<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>AFLP :</b>	Amplified fragment length polymorphism.
<b>ARN :</b>	Acide ribonucléique.
<b>ATP :</b>	Adénosine triphosphate.
<b>CE :</b>	Corps élémentaire.
<b>CMH :</b>	Complexe majeur d'histocompatibilité.
<b>CMI :</b>	Concentration minimale inhibitrice.
<b>COMC :</b>	Chlamydial outer membrane complex.
<b>CR :</b>	Corps réticulé.
<b>CTP :</b>	Cytidine triphosphate.
<b>DIU :</b>	Dispositif intra-utérin.
<b>ELISA :</b>	Enzyme-linked immunsorbent assay.
<b>F :</b>	Femme.
<b>FIV :</b>	Fécondation in vitro.
<b>FLR :</b>	Fiessinger-Leroy-Reiter.
<b>GTP :</b>	Guanosine triphosphate.
<b>H :</b>	Homme.
<b>HLA :</b>	Human leukocyte antigen.
<b>HSP :</b>	Heat shock protein.
<b>IFN :</b>	Interféron.
<b>Ig :</b>	Immunoglobuline.
<b>IST :</b>	Infections sexuellement transmissibles.
<b>IVG :</b>	Interruption volontaire de grossesse.
<b>kpb :</b>	Kilopaire de bases.
<b>LB :</b>	Lymphocyte B.
<b>LCR :</b>	Ligase chain reaction.
<b>LGV :</b>	Limphogranulomatose vénérienne.
<b>LPS :</b>	Lipopolysaccharide.
<b>LT :</b>	Lymphocyte T.
<b>MGG :</b>	May-Grunwald-Giemsa.
<b>MIF :</b>	Micro-immunofluorescence.
<b>MOMP :</b>	Major outer membrane protein.
<b>Mpb :</b>	Megapaire de bases.
<b>MST :</b>	Maladies sexuellement transmissibles.
<b>NK :</b>	Natural Killer.
<b>OMP :</b>	Outer membrane protein.
<b>PCR :</b>	Polymerase chain reaction.
<b>PG :</b>	Peptidoglycane.
<b>PID :</b>	Pelvic inflammatory disease.
<b>PMP :</b>	Protéine polymorphe de membrane.
<b>RAPD :</b>	Random amplification polymorphism determination.
<b>RFLP :</b>	Restriction fragment length polymorphism.
<b>RV :</b>	Région variable.
<b>SDA :</b>	Stand displacement amplification.
<b>TH :</b>	Lymphocyte T Helper.
<b>TMA :</b>	Transcription mediated amplification.

<b>TNF :</b>	Tumor necrosis factor.
<b>TTS :</b>	Système de sécrétion des protéines de type III.
<b>UNG :</b>	Urétrites non gonococciques.
<b>UTP :</b>	Uridine triphosphate.
<b>UV :</b>	Ultra-violet.
<b>VIH :</b>	Virus de l'immunodéficience humaine.

# **INTRODUCTION**

Les *Chlamydiae* sont des eubactéries à développement intracellulaire obligatoire. Parmi les *Chlamydiae*, *Chlamydia trachomatis*, espèce pathogène pour l'homme, est l'agent responsable du trachome. Cette bactérie est également la première cause d'IST (Infections Sexuellement Transmissibles) bactériennes dans les pays industrialisés. Les infections à *Chlamydia trachomatis* posent des problèmes majeurs de santé publique malgré des traitements efficaces et peu coûteux et ceci pour plusieurs raisons :

- les infections sont les plus souvent asymptomatiques.
- la bactérie persiste sous forme non cultivable et la chronicité de l'infection explique les difficultés du diagnostic clinique et biologique.
- les infections peuvent entraîner de très graves complications comme des salpingites, des grossesses ectopiques et des stérilités.

Cette thèse est consacrée à l'étude de *Chlamydia trachomatis* dans les maladies sexuellement transmissibles. Quatre chapitres sont consacrés à la bactérie elle-même, ensuite nous avons étudié les infections par cette bactérie et les moyens de défense de l'hôte, puis nous avons décrit les méthodes diagnostiques. Enfin, le dernier chapitre traitement explique les modalités de prise en charge de ces infections par le clinicien.

# I/ TAXONOMIE DE CHLAMYDIA

## 1) Généralités

Les *Chlamydia* forment un groupe d'eubactéries cohérent, indépendant et phylogéniquement proche de 2 groupes de bactéries environnementales à vie libre :

- les *Planctomycetales*.
- les *Verrucomicrobia*.

C'est grâce à l'analyse comparée des séquences nucléotidiques notamment de l'ARNr, de la sous unité 16S des ribosomes des différentes bactéries que l'on a pu construire des dendrogrammes appelés encore arbres phylogéniques représentant les relations entre espèces. (figure n°1).

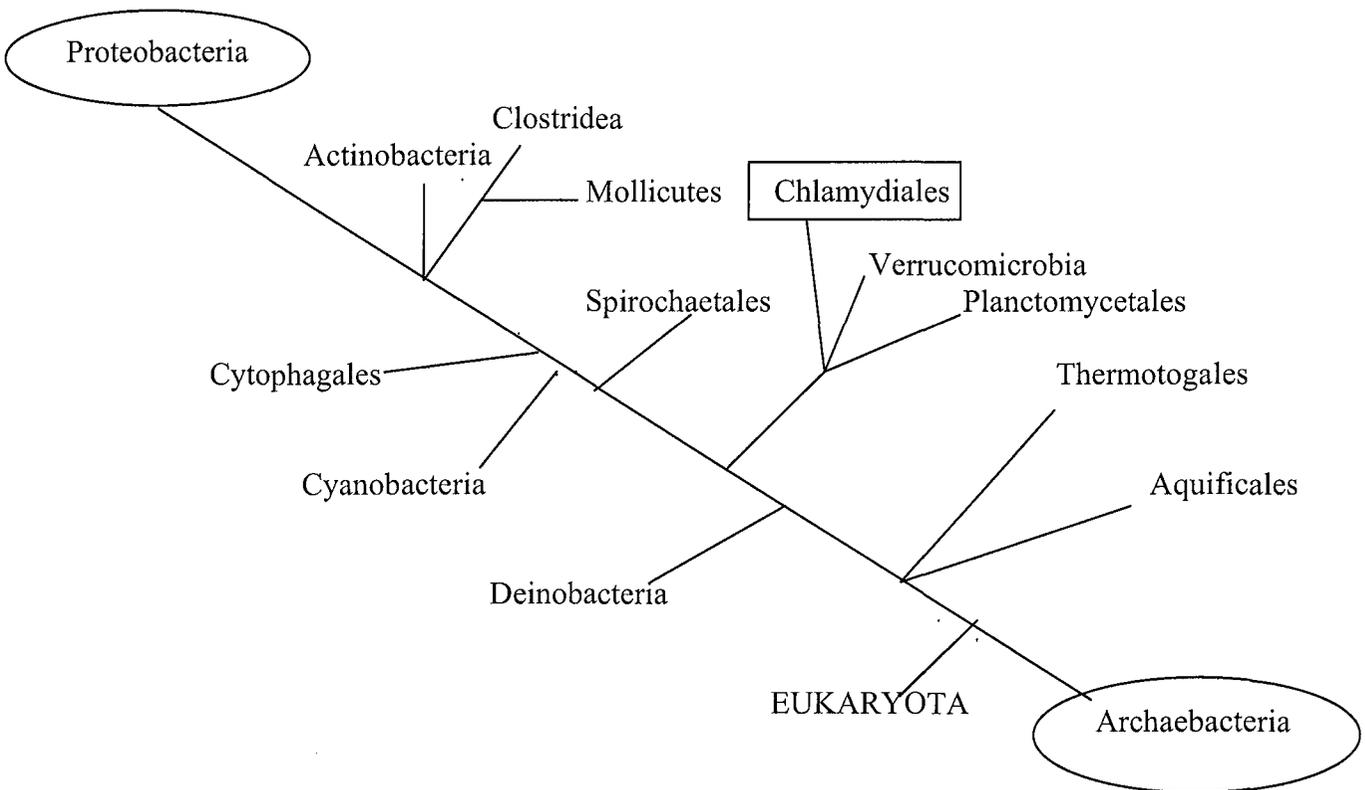


Figure n° 1 : Relations phylogéniques entre les principaux groupes d'organismes vivants, déduites de la comparaison des séquences nucléotidiques de l'ARN ribosomal de la petite sous unité (16S).[14]

## 2) Ordre des Chlamydiales

Grâce à une application plus large des outils de la biologie moléculaire et à la découverte d'autres microorganismes appartenant à cet ordre, la classification au sein de l'ordre des Chlamydiales a subi, au cours des dernières années, des changements importants.[25]

Aujourd'hui, on distingue 4 familles dans l'ordre des Chlamydiales à savoir :

- les *Simkaniaceae*.
- les *Parachlamydiaceae*.
- les *Waldliaceae*.
- les *Chlamydiaceae*.

## 3) Famille des Chlamydiaceae

Cette famille est aujourd'hui classifiée en 2 genres qui regroupent au total 9 espèces à savoir [25]:

- le genre *Chlamydia* correspondant au groupe trachomatis (3 espèces).
- le genre *Chlamydophila* correspondant au groupe psittaci (6 espèces) (figure n°2).

Ces 9 espèces sont classifiées sur la base des homologies de séquences :

- de l'opéron ribosomal ; dans l'étude des homologies interspécifiques de séquence de l'opéron ribosomal, des valeurs supérieures à 95% indiquent l'appartenance à un genre et des valeurs supérieures à 98% indiquent l'appartenance à une espèce.
- du gène codant la protéine majeure de la membrane externe ou Major Outer Membrane Protein (MOMP) [27].

Ces 9 espèces sont également classifiées selon d'autres critères comme :

- la production de glycogène en quantité détectable par la coloration du Lugol.
- la taille du génome.
- le nombre d'opérons ribosomaux par génome.
- les caractères bioécologiques tels que la spécificité d'hôte.

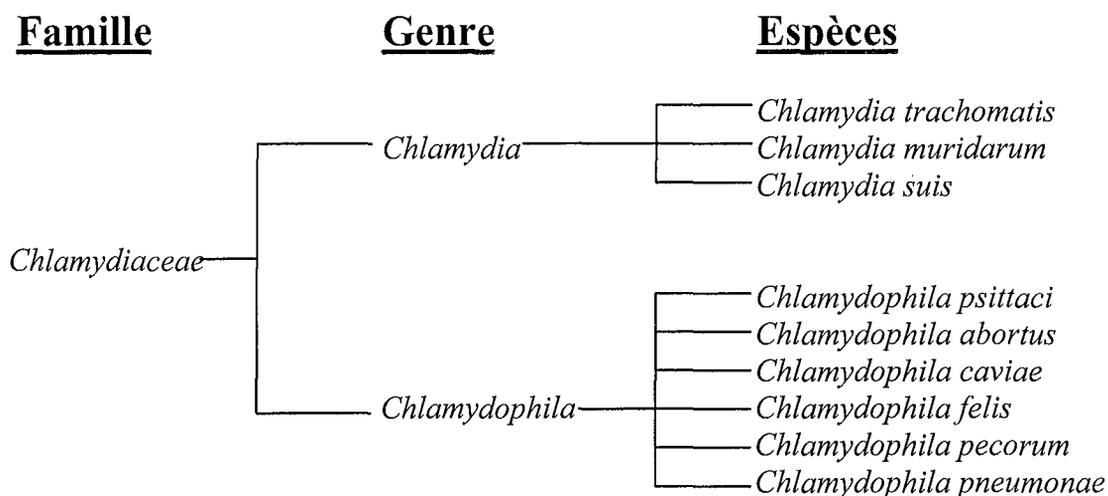


Figure n° 2 : Taxonomie des *Chlamydiaceae*[25].

#### 4) Différenciation entre les genres *Chlamydia* et *Chlamydophila*.

Elle est présentée dans le tableau n°1.

Genre	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydophila</i>
Production de glycogène (coloration de Lugol)	+	-
Taille du génome en Mpb	1 à 1.1	1.2
Nombre d'opérons ribosomiaux par génome	2	1

Tableau n° 1 : Principaux caractères distinctifs entre les genres *Chlamydia* et *Chlamydophila* [14].

#### 5) *Chlamydia trachomatis*

Cette espèce comprend l'ensemble des souches spécifiques de l'homme. Ces souches spécifiques conservent les noms originaux de genre et d'espèce en référence aux arrêtés du code international de nomenclature bactérienne. En cas de division d'un taxon, il est prévu de retenir le nom original pour le groupe comprenant la souche type utilisée pour établir le taxon, dans ce cas la souche humaine A / Har.13..

*Chlamydia trachomatis* est responsable d'infections diverses comme des infections oculaires ou encore des infections urogénitales (tableau n°2). Ces infections peuvent aboutir à de graves complications :

- la cécité secondaire au trachome (dont dérive le nom spécifique *trachomatis*).
- la stérilité : complication ultime d'infection génitale haute.

Les souches présentent entre elles moins de 0,65% de différence au niveau des séquences d'ARNr de la petite sous unité ribosomale 16S mais elles peuvent être séparées :

- en 2 biovars trachome et LGV (lymphogranulome vénérien) sur la base de caractéristiques biologiques [5].
- en 18 sérovars sur la base de la MOMP.

En outre une certaine hétérogénéité a pu être mise en évidence par des techniques récentes très sensibles comme l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP).

Tableau n° 2 : Les différentes pathologies provoquées par les sérovars de *Chlamydia trachomatis*. [27]

<u>Espèce</u>	<u><i>Chlamydia trachomatis</i></u>						
Sérovars	A, B, Ba, C	DK					L1 à L3
Spécialités	ophtalmologie		pédiatrie	rhumatologie	gynécologie		
Pathologies	trachome	conjonctivite de l'adulte	pneumopathie conjonctivite	arthrite réactionnelle syndrome de Fiessinger Leroy Reiter (FLR)	infection génitale basse F : cervicite H : urétrite	infection génitale haute F : endométrite, salpingite, périhépatite H : épидидymite	F et H : ulcération génitale  (LGV) Lymphogranulomatose vénérienne

## **6) Perspectives futures en terme de classification**

Plusieurs microorganismes présentant une ressemblance morphologique ont été observés chez divers groupes d'invertébrés comme les crabes et les araignées.

Par ailleurs, des séquences d'ARNr 16S représentant probablement de nouvelles lignées chlamydiennes ont été détectées par amplification génique dans des échantillons environnementaux. Ceci devrait aboutir à un enrichissement de la taxonomie de *Chlamydia* [14].

## **II/ BACTERIOLOGIE DE CHLAMYDIA**

*Chlamydia trachomatis* est une bactérie Gram négatif, de petite taille, immobile et possédant une paroi. C'est un parasite intracellulaire strict car cette bactérie ne possède pas d'enzyme oxydative. De ce fait elle est incapable de générer sa propre énergie.

Elle puise donc chez son hôte des composés riches en énergie comme l'ATP. *Chlamydia* possède les deux types d'acides nucléiques : l'ADN et l'ARN.

*Chlamydia* renferme un génome très petit qui ne code que pour 500 protéines.

### **1) Matériel génétique chez Chlamydia**

Le matériel génétique de *Chlamydia* est composé d'un chromosome et d'un plasmide.

#### **1.1. Génome**

##### **1.1.1. Généralités**

Les *Chlamydia* comme toutes les bactéries intracellulaires tendent à éliminer les gènes codant les fonctions disponibles chez la cellule hôte car ils sont inutiles [69]. Le génome de toutes ces bactéries est donc de taille réduite généralement moins de 2000 kilopaires de bases (kpb). Ces génomes présentent également une diminution de leur contenu en G + C %(pourcentage de guanine + cytosine). Le génome de *Chlamydia* est parmi les génomes bactériens les plus petits ; il compte environ 1050 kpb chez *Chlamydia* et 1230 kpb chez *Chlamydomphila*.

### **1.1.2. Description**

Le chromosome de *Chlamydia* est une molécule circulaire, unique, dépourvue de séquences d'insertions et de séquences répétées. Sur ce chromosome il n'existe pas de régions possédant un pourcentage G + C différent du pourcentage G + C de l'intégralité de ce même chromosome. Ceci indique qu'au cours du temps ou tout du moins récemment, le chromosome chlamydien n'a pas intégré de séquences d'ADN exogènes dans lesquelles les pourcentages G + C diffèrent du pourcentage G + C du chromosome de *Chlamydia*. De la même façon aucun homologue de gènes codant des protéines impliquées dans les processus de transformation ou codant les systèmes de restriction-modification n'a pu être identifié.

Toutefois, l'analyse phylogénique de plusieurs gènes suggère une origine exogène ancienne.

Il est intéressant de noter qu'environ une trentaine de ces gènes sont d'origine eucaryotique, et deux d'entre eux codent des protéines possédant des domaines de facteurs associés à la chromatine eucaryote.

A proximité de l'origine et de la terminaison de la réplication, il existe une zone possédant un fort indice de réorganisation génique appelé " zone de plasticité " dans laquelle on note la présence de gènes uniques propres à chaque espèce.

Chez *Chlamydia trachomatis* (sérovary D), la zone de plasticité est d'environ 23 kpb sur 1042 kpb. Cette zone de plasticité contient 5 paralogues de la phospholipase D endonucléase et un seul gène de la toxine. Il correspond à une activité cytotoxique qui est observée avec les corps élémentaires. Le gène correspondant est absent chez *Chlamydia trachomatis* du sérovary L2. Les gènes pour l'interconversion des purines sont absents mais l'opéron trp RBA qui permet la synthèse du tryptophane est présent.

### **1.2. Eléments extrachromosomiques**

*Chlamydia trachomatis* possède, dans presque toutes les souches, un plasmide circulaire à ADN double brin d'environ 7,5 kpb [27], à raison de 7 à 10 copies par cellule.

L'analyse par restriction enzymatique permet d'identifier un profil électrophorétique spécifique pour chaque espèce. L'analyse de séquence a montré une organisation unique et un fort indice de conservation (>60%) indiquant une origine commune [73]. Les fonctions biologiques du plasmide ne sont pas connues c'est pourquoi on parle de plasmide "cryptique".

## **2) Cytologie**

### **2.1. Chlamydial outer membrane complex (COMC)**

Les *Chlamydia* possèdent une structure cellulaire à Gram négatif [66] composée d'une membrane cytoplasmique ou membrane interne et d'une membrane externe séparées par un espace périplasmique.

Alors qu'habituellement les bactéries Gram négatif possèdent un peptidoglycane intercalé

entre ces deux membranes, chez *Chlamydia* il est impossible de mettre en évidence une telle structure. En effet, chez la plupart des bactéries Gram négatif la fraction insoluble retrouvée dans les détergents ioniques est composée par le peptidoglycane.

Ce peptidoglycane ou muréine est composé entre autre d'une chaîne polysaccharidique linéaire formée de 2 sucres aminés que sont l'acide N-acétylmuramique et la N-acétylglucosamine reliés entre eux par des liaisons  $\beta$  1-4. Chez *Chlamydia*, cette structure correspondant au peptidoglycane s'avère être dépourvue d'acide muramique. Cette composante appelée COMC est constituée de protéines riches en cystéine. Elle est composée de 3 protéines :

- **OMP1** ou outer membrane protein 1 appelée encore MOMP (Major outer membrane protein) est une protéine d'environ 40 kDa qui représente plus de la moitié des protéines totales [5].
- **OMP2 et OMP3** respectivement de 60 kDa et de 12 kDa sont les deux autres protéines [27].

Aujourd'hui, on sait que OMP1 est transmembranaire alors que la position d'OMP2 et d'OMP3 reste à déterminer.(figure n°3).

Certains chercheurs ont proposé un modèle architectural de l'enveloppe chlamydienne . Ce modèle considère OMP1 comme une protéine transmembranaire, disposée dans la membrane externe en un complexe trimérique. OMP3 est une lipoprotéine, ancrée par sa partie lipidique à la surface périplasmique de la membrane externe, tandis que sa partie peptidique est en contact avec une couche périplasmique formée par plusieurs unités de OMP2.

La formation de plusieurs ponts disulfures entre ces protéines assurerait la stabilité structurale du corps élémentaire [66]. Ces protéines pourraient donc être un équivalent fonctionnel du peptidoglycane pour les *Chlamydia*. Dans l'environnement de la vacuole d'endocytose, la rupture des ponts disulfures rendrait la paroi de la bactérie perméable, permettant la transformation du corps élémentaire en corps réticulé.

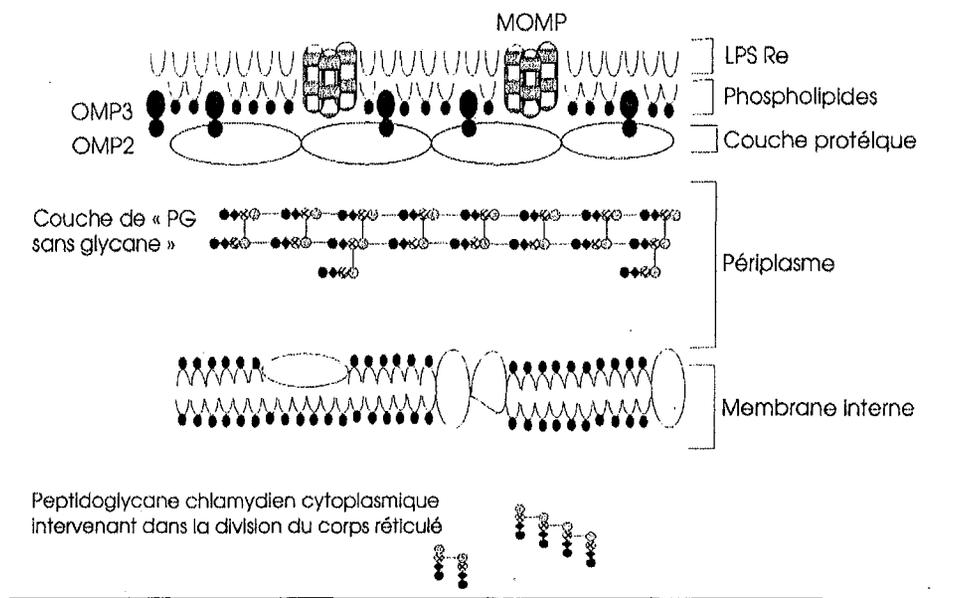


Figure n° 3 : Schéma de l'enveloppe chlamydienne [14].

La rigidité du corps élémentaire serait donnée par des ponts disulfures entre les protéines de membrane. Seule la MOMP est représentée comme une protéine de membrane en complexe trimérique. OMP2 forme une couche périplasmique ancrée à la membrane externe par la lipoprotéine OMP3. Le feuillet externe de la membrane externe est formé par un lipopolysaccharide (LPS) fortement rugueux (Re). Des phospholipides soit bactériens soit eucaryotes forment les feuillets périplasmiques de la membrane cytoplasmique. Le peptidoglycane (PG) de chlamydia pourrait former une couche peptidique additionnelle ou se retrouver dans le cytoplasme et faire partie du système de division binaire du corps réticulé.

## 2.2. Lipopolysaccharide (LPS)

*Chlamydia trachomatis* possède un LPS tronqué, composé de plusieurs parties:

- d'un glycolipide A constitué d'unités de diglucosamines reliées par des liaisons phosphates sur lesquelles sont fixés des acides gras.
- d'un polysaccharide central constitué de 3 KDO (acide 3 désoxy-D-manno 2-octulosonique), d'heptulose, de glucose, de galactose ou encore d'N-acétyl glucosamine.
- d'une chaîne latérale O constituée de divers sucres.

Le LPS de *Chlamydia* présente en outre des particularités propres. Le trisaccharide formé par les KDO qui fait partie du " core " oligosaccharidique possède une liaison 2→8 unique formant ainsi un trisaccharide linéaire  $\alpha$  KDO - (2→8) -  $\alpha$  - KDO - (2→4) -  $\alpha$  - KDO. Cette structure commune induit la formation d'anticorps dirigés contre tous les membres de la

famille des *Chlamydiaceae* [5]. L'unité diglucosamine GlcN - ( $\beta$ -1,6) - GlcN du glycolipide A porte un nombre de molécules d'acide gras plus faible que celui habituellement présent chez les bactéries Gram négatif; 5 molécules d'acide gras contre 6 ou 7 chez les entérobactéries.

De plus, les acides gras chez *Chlamydia* sont plus longs (C18 à C20) que ceux des entérobactéries (C12- C14). Ceci confère un domaine hydrophobe important au LPS qui est probablement la cause d'une activité endotoxinique faible [46].

### **2.3. Phospholipides de membrane**

Le feuillet périplasmique de la membrane externe et les deux feuillets de la membrane interne présentent une composition mixte en phospholipides bactériens et eucaryotes (tableau n°3).

Phospholipides bactériens	Phospholipides eucaryotes
phosphatidyléthanol	phosphatidylcholine
phosphatidylglycérol	sphingomyeline
phosphatidylsérine	cholestérol

Tableau n° 3 : Hétérogénéité des phospholipides de membrane de *Chlamydia*.

Au sein d'une cellule hôte les vacuoles contenant les *Chlamydia* sont capables d'intercepter les vacuoles transportant des lipides qui proviennent de l'appareil de Golgi. Les phospholipides de la cellule hôte sont donc recrutés et modifiés par les *Chlamydia* et entrent dans la composition de l'enveloppe bactérienne qui imite ainsi la composition en phospholipides de la cellule hôte [14].

### **2.4. Variabilité antigénique**

#### **2.4.1. MOMP**

La MOMP contribue à la rigidité du corps élémentaire et joue un rôle d'adhésion. Par ailleurs, sa position transmembranaire en forme de trimère lui permet de fonctionner comme une porine pour le corps réticulé une fois que les ponts disulfures sont rompus.

L'analyse des séquences nucléotidiques de la MOMP des *Chlamydiaceae* a permis d'identifier quatre régions variables : RV I, RV II, RV III, RV IV, séparées entre elles par des régions conservées au nombre de cinq [27]. Le modèle d'organisation de la MOMP basé sur le profil hydrophobe des acides aminés déduits de la séquence nucléotidique prévoit l'exposition externe des quatre RV (région variable). En utilisant des techniques immunologiques, il a été démontré que les RV I et RV II portent les déterminants antigéniques pour la formation d'anticorps spécifiques des sérotypes tandis que la RV IV

induit la formation d'anticorps spécifiques des sérogroupes et des espèces. Le séquençage de ces régions a donc permis de définir de nouveaux sérovars. Ces nombreux types antigéniques favoriseraient les réinfections. L'existence de domaines variables de la protéine permettrait une variation antigénique, permettant à la bactérie de contourner la réponse immunitaire de l'hôte [14]. Ce phénomène déjà décrit pour de nombreux microorganismes favorise l'établissement d'infections chroniques.

Cependant, une sélection immunologique n'a pas été démontrée et la forte variabilité de la MOMP semble être limitée à *Chlamydia trachomatis* avec plus de 15 sérotypes.

Une autre explication de ces différences de structure de la MOMP met en cause le tropisme cellulaire des différentes espèces en considérant le rôle d'adhésine joué par la MOMP. La forte variabilité de la MOMP chez *Chlamydia trachomatis* expliquerait le tropisme cellulaire différent montré par les sérotypes en raison de la nécessité de reconnaissance spécifique des différents récepteurs chez un même hôte. En revanche, la plupart des autres espèces ont la capacité d'infecter différents hôtes et en plusieurs sites. Cette propriété serait liée à l'existence d'une adhésine " générique " capable de reconnaître un récepteur commun aux différents types de cellules. Cela se traduirait par la possession d'une MOMP à séquence presque invariable pour les souches d'une même espèce.

#### **2.4.2. Protéines polymorphes de membrane**

Grâce au séquençage du génome, une nouvelle famille de protéines chlamydiennes appelée les protéines polymorphes de membrane ou PMP a été découverte [66].

Elles ne possèdent pas d'homologies de séquence significatives, mais sont caractérisées par la présence de deux tétrapeptides répétés plusieurs fois de façon alternée. On a identifié 9 PMP différentes chez *Chlamydia trachomatis*. Certaines de ces protéines sont exprimées à la surface de la cellule et sont très immunogènes.

Le rôle joué par ces PMP est inconnu : plusieurs gènes codant les PMP sont probablement non fonctionnels, présentant des glissements de cadre de lecture qui conduisent à la formation de protéines tronquées.

*Chlamydia trachomatis*, en raison de son parasitisme obligatoire, a tendance à évoluer vers une réduction de la taille de son génome. La présence de paralogues multiples des PMP indique donc un rôle important joué par ces protéines. Il a été suggéré qu'une activation différentielle des paralogues des PMP entraîne un phénomène de variabilité antigénique chez les *Chlamydia* [14].

# **III/ LE CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE CHLAMYDIA**

## **1) Cycle de développement**

Le cycle de développement de *Chlamydia trachomatis* se déroule dans le cytoplasme des cellules eucaryotes.

Ce cycle dure 72 heures. Deux formes bactériennes participent au déroulement du cycle : le corps élémentaire (CE) et le corps réticulé (CR) [21].

La bactérie sous forme de CE adhère à la surface de la cellule eucaryote par un mécanisme non complètement élucidé puis pénètre dans cette même cellule. Ce CE n'a aucune activité métabolique. Il est plus ou moins sphérique, de très petite taille (environ 0,3 µm de diamètre) et son appareil nucléaire est condensé à la périphérie [27]. Ce CE possède un atout : c'est une structure très résistante capable de se transférer de cellule en cellule.

A l'intérieur de la vésicule d'endocytose, le CE se transforme en corps réticulé qui est métaboliquement actif (à la différence du CE), capable de se multiplier mais fragile et non infectieux. Il est grossièrement sphérique, possède un diamètre d'environ 1 µm et son matériel nucléaire est disposé de manière lâche. Le CR se multiplie par division binaire formant une microcolonie intravacuolaire appelée inclusion chlamydiennne.

Après un délai de 72 heures, les CR se transforment en CE qui sont alors libérés et peuvent commencer un nouveau cycle infectieux.

### **Au microscope :**

7 à 8 heures après la pénétration du CE dans la cellule eucaryote, on ne voit rien au microscope : c'est la phase d'éclipse. Puis, on a d'abord à côté du noyau une masse indifférenciée (8 à 12 heures) qui au fur et à mesure du temps se transforme pour prendre l'aspect d'une morula (12- 24 h) dans laquelle on identifie de nombreuses structures que sont les CR (figure n°4).

A 72 h, le noyau cellulaire est en bon état mais l'inclusion cytoplasmique est énorme si bien que la cellule éclate libérant environ 20000 CE.

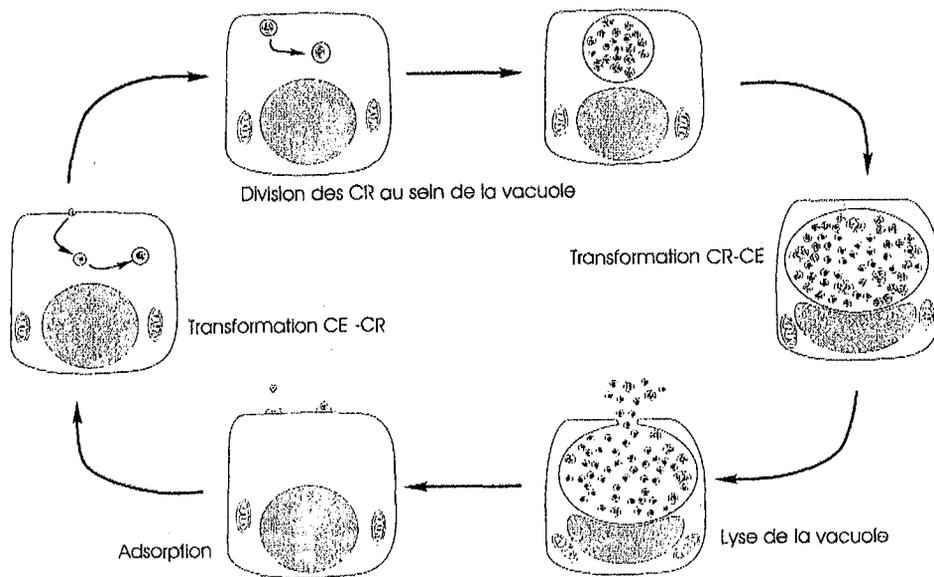


Figure n° 4 : Cycle de multiplication de *Chlamydia trachomatis* [14].

## 2) Manipulation du phagosome

Pour l'instauration du parasitisme intracellulaire, il est nécessaire d'une part que *Chlamydia* mette en place des mécanismes destinés à s'opposer aux défenses de la cellule infectée et d'autre part qu'elle acquiert les nutriments nécessaires à la croissance du parasite. Tout corps étranger ingéré par une cellule eucaryote est dirigé vers la voie endocytosique qui aboutit à la fusion de la vésicule contenant ce corps (phagosome) avec toute une série de vésicules intracellulaires (endosomes primaires, secondaires...) provoquant la fusion avec les lysosomes pour former le phagolysosome dans lequel il est digéré. Tandis que quelques microorganismes (par exemple : *Coxiella* et *Leishmania*) se sont adaptés à vivre dans le phagolysosome, la plupart des parasites s'échappent du phagosome pour vivre libres dans le cytoplasme de la cellule infectée (par exemple : *Rickettsia*, *Listéria*), ou modifient le phagosome de façon à arrêter son évolution avant la fusion avec les lysosomes (par exemple : *Mycobacterium*, *Legionella*). Les *Chlamydia* présentent la caractéristique de rendre le phagosome indépendant de la voie endocytosique à une étape très précoce (figure n° 5), en l'associant toutefois à la voie antérograde de l'appareil de Golgi [51]. En effet, la membrane vacuolaire ne présente pas de marqueurs cellulaires de l'hôte à l'exception de sphingolipides provenant de l'appareil de Golgi, mais elle est riche en protéines chlamydiennes comme les protéines Inc. Le phagosome ainsi modifié est appelé "**Inclusion**".

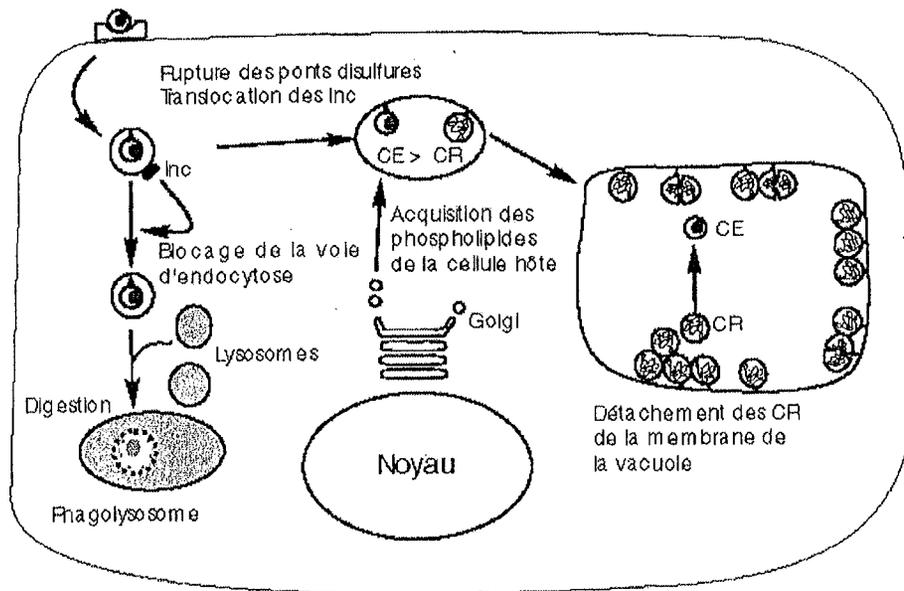


Figure n° 5 : Schéma du système de contrôle du cycle chlamydien [14].

Après ingestion dans un phagosome, les ponts disulfures se rompent, rendant le corps élémentaire (CE) perméable ; il peut alors se différencier en corps réticulé (CR). Le système de type III en contact avec la membrane vacuolaire permet la translocation des protéines Inc et probablement d'autres facteurs qui bloquent la voie endocytosique et permettent l'association avec la voie antérograde de l'appareil de Golgi.

### 3) Protéines d'inclusion Inc

Les protéines Inc sont codées par le génome chlamydien, mais elles sont intégrées dans la membrane de l'inclusion, exposées à la surface externe, baignant donc le cytoplasme de la cellule hôte [14].

Plusieurs gènes paralogues codant les protéines Inc ont été détectés dans les génomes chlamydiens après séquençage. Comme pour les PMP, ils présentent entre eux de faibles pourcentages d'homologie et l'appartenance à la famille génique est déterminée par la présence d'un double domaine hydrophobe de 50 à 80 acides aminés.

Le rôle de ces protéines Inc est inconnu : elles interfèrent probablement avec le système de contrôle du trafic vésiculaire. L'infection de la cellule par plusieurs CE mène à la formation de plusieurs inclusions [57]. Celles-ci tendent à fusionner pour donner une inclusion unique dans le cas *Chlamydia trachomatis*, et l'inclusion finale peut donc héberger des *Chlamydia* de sérotypes différents.

## **4) Système de sécrétion des protéines de type III**

### **4.1. Généralités**

Le système de sécrétion des protéines de type III (TTS) est présent chez plusieurs bactéries Gram négatif pathogènes des animaux et des plantes et notamment chez *Chlamydia trachomatis*.

### **4.2. Fonctionnement**

Le système est activé par l'attachement à la cellule eucaryote, et permet la sécrétion de facteurs de virulence déterminant soit l'invasion de la cellule eucaryote par la bactérie (par exemple : le système des invasines de *Salmonella* et *Shigella*) soit le blocage des macrophages (par exemple : le système antiphagocytaire des *Yersinia*).

### **4.3. Structure**

Le TTS se compose de plusieurs protéines formant un appareil supramoléculaire continu entre la membrane cytoplasmique, le périplasme et la membrane externe de la bactérie. Cet appareil est structurellement et évolutivement très proche du système d'assemblage du flagelle bactérien.

La découverte du TTS chez les *Chlamydiaceae* pourrait expliquer la présence des projections hémisphériques qui partent de la membrane cytoplasmique du CE et des projections en forme d'épines qui partent de celle du CR. Ces projections s'étendent à travers le périplasme et la membrane externe pour entrer en contact avec le cytosol de l'inclusion. Ces structures correspondraient au TTS [39].

### **4.4. Génétique**

Les gènes codant le TTS sont concentrés dans des régions, soit du chromosome soit de plasmides qui, par leurs contenu en G + C et les codons utilisés sont nettement différents du reste du génome, de sorte qu'une origine exogène a été évoquée. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les gènes du TTS de bactéries éloignées phylogéniquement présentent entre eux une forte similarité. De plus chez les espèces apparentées mais non pathogènes cet ensemble de gènes est absent. Cette configuration sous forme d'un groupe de gènes et les propriétés de cet ensemble génique correspondent à un îlot de pathogénicité. Cependant, les chlamydiaceae dont *Chlamydia trachomatis* possèdent les éléments génétiques minimaux d'un TTS complet, mais ceux-ci sont subdivisés en 3 ou 4 régions séparées du chromosome de sorte que l'on parle " d'archipel de pathogénicité ". A la différence des autres TTS, il n'y a pas de différence dans le contenu en G + C entre cet archipel et le reste du génome ce qui suggère une acquisition du TTS très ancienne.

## 4.5. Rôle

Le TTS chlamydien pourrait jouer un rôle dans le contrôle du cycle de multiplication de ces bactéries (figure n°6). L'interaction entre le TTS et la membrane de l'inclusion induirait l'activation du CE en CR. Les protéines Inc ne possèdent pas de peptide de signal. Elles sont donc probablement transloquées du cytoplasme bactérien à la membrane de l'inclusion par le TTS. Une fois localisées à la surface cytoplasmique de l'inclusion, les protéines Inc contrôlent la maturation de l'inclusion. Une autre caractéristique de l'inclusion chlamydienne est la juxtaposition des CR avec la membrane vacuolaire tandis que les nouveaux CE apparaissent au centre de l'inclusion. La réorganisation en CE est asynchrone : de nouveaux CE apparaissent alors que les CR sont encore en phase de division. Un mécanisme de contrôle dépendant du TTS a été proposé. Le CR reste actif tant qu'il est en contact par le TTS avec la membrane vacuolaire.

Avec le temps l'espace disponible diminue et quelques CR se détachent de la membrane vacuolaire, inactivant le TTS. Cette inactivation induirait alors la réorganisation du CR en CE. L'horloge moléculaire du développement chlamydien serait déterminée non pas par stade de développement de la bactérie, mais par sa localisation dans la vacuole [2].

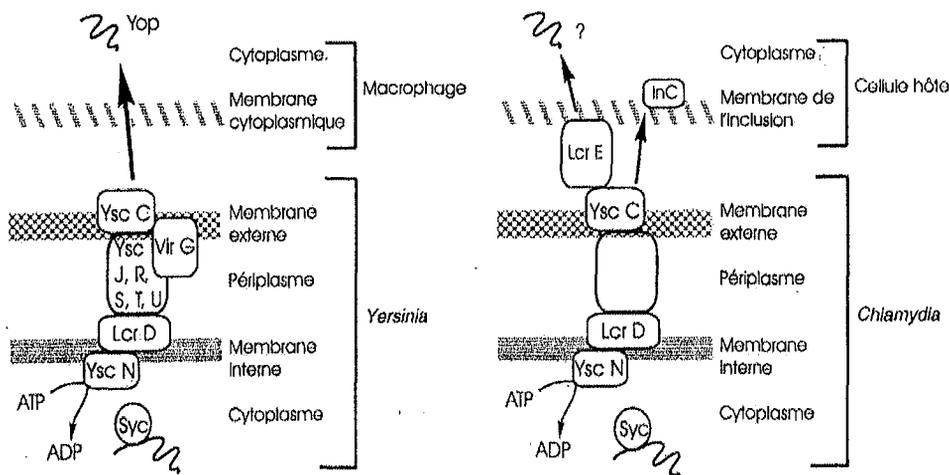


Figure n° 6 : Différence de mode d'action entre le système de sécrétion de type III de *Yersinia* et de *Chlamydia*[14].

**A gauche** : schéma simplifié du système de sécrétion de type III de *Yersinia* au contact avec la membrane cytoplasmique d'un macrophage. La sécrétion de protéines Yop bloque l'activité phagocytaire du macrophage.

**A droite** : schéma du système de sécrétion de *Chlamydia*. Le complexe membranaire est en contact avec la membrane de la vacuole intracytoplasmique où se multiplie la bactérie. Ce complexe est supposé permettre la translocation dans la membrane vacuolaire des protéines Inc ainsi que la sécrétion dans le cytoplasme de la cellule hôte d'autres facteurs encore inconnus.

# **IV/ METABOLISME DE CHLAMYDIA**

## **1) Généralités**

*Chlamydia trachomatis* est un microorganisme chimio-organotrophe aérobie. Il s'agit donc d'un microorganisme dont la source énergétique est chimique, plus précisément organique. La dégradation de substrats organiques se fait à l'aide de l'oxygène d'où le terme aérobie.

Le glutamate, le glucose et peut être aussi le 2-oxoglutamate sont des sources de carbone. Les études de cellules infectées montrent que l'infection provoque une augmentation de l'expression des transporteurs de glucose (GLUT -1 ) de la cellule hôte.

## **2) Glucides**

Le génome de *Chlamydia trachomatis* possède tous les gènes codant de la voie d'Embden Meyerhof à l'exception de la fructose 1-6 diphosphate aldolase. Cette activité enzymatique pourrait être assurée par une aldolase chlamydiennne.

La voie des pentoses phosphates est présente dans son intégralité.

*Chlamydia trachomatis* possède l'ensemble génomique permettant à la fois la synthèse et la dégradation du glycogène ce qui suggère que le glycogène représente une réserve nutritive importante.

## **3) Cycle de Krebs**

Le cycle de Krebs est incomplet. Les gènes codant les enzymes citrate synthase, aconitase et isocitrate deshydrogénase sont absents. Néanmoins, le cycle pourrait être fonctionnel par une transamination du glutamate et/ ou par la captation directe de l' $\alpha$ -cétoglutarate.

## **4) Energie**

Les gènes codant les fonctions essentielles de la chaîne de transport des électrons sont présents. Le complexe NADH-ubiquinone oxydoréductase chlamydien est orthologue des translocateurs à Na<sup>+</sup>. Le transfert protonique pour la réduction de l'oxygène serait assuré par la présence des sous unités I et II de la cytochrome oxydase d.

En outre, les *Chlamydiaceae* et donc *Chlamydia trachomatis* possèdent une ATPase de type vacuolaire (V-ATPase), rarement présente chez les eubactéries. Cette V-ATPase fonctionne comme une pompe à Na<sup>+</sup> pour la production d'ATP.

Les *Chlamydia* sont traditionnellement considérées comme des parasites énergétiques qui ne peuvent pas former d'ATP par elles-mêmes et doivent donc l'obtenir des cellules hôtes [66].

En effet, ces bactéries possèdent une ATP/ADP translocase qui permet d'échanger l'ADP de la bactérie contre l'ATP de la cellule infectée. La bactérie peut alors profiter pleinement de l'énergie fournie par la cellule. Ce type de translocase est présent seulement chez les bactéries du genre *Rickettsia*. La translocase mitochondriale agit quant à elle de façon inverse en prenant l'ADP (de la bactérie entre autre) et en libérant de l'ATP dans le cytoplasme cellulaire.

Par ailleurs, une synthèse endogène d'ATP, même limitée, semble possible chez les *Chlamydia* dans le cadre d'une phosphorylation au niveau du substrat pendant la glycolyse ou encore au niveau de la chaîne de transport des électrons (figure n°7).

L'ATP n'est pas le seul distributeur d'énergie dans une cellule. D'autres mononucléotides phosphatés peuvent élever par phosphorylation l'énergie libre d'hydrolyse de composés organiques. Ces distributeurs sont aussi des mononucléotides mais leurs bases azotées sont différentes ; l'adénine est remplacée par l'uracile, la guanine, la thymine ou la cytosine.

On a donc :

- l'uridine triphosphate (UTP).
- la guanosine triphosphate (GTP).
- la cytidine triphosphate (CTP).

Ces derniers composés sont incapables de se recharger directement à la chaîne des transporteurs d'électrons si bien qu'ils ne peuvent remplacer l'ATP. L'UTP, la GTP et la CTP sont tributaires de l'ATP pour leur recharge. Cette recharge ne se fait pas chez *Chlamydia trachomatis* car elle ne possède pas le matériel enzymatique. *Chlamydia trachomatis* se contente donc de puiser ces molécules dans le cytoplasme de la cellule hôte au sein duquel elles ont été rechargées. L'UTP, la GTP et la CTP interviennent dans les réactions au cours desquelles sont élaborés glucides, lipides, protéines et les acides nucléiques.

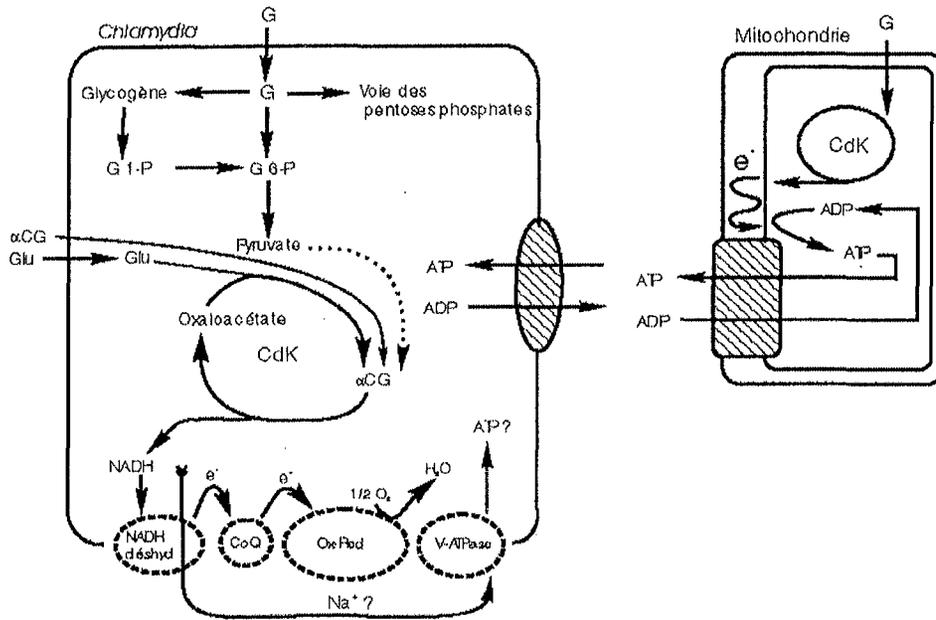


Figure n° 7 : Métabolisme énergétique des *Chlamydiaceae* [14].

## 5) Translocases

L'analyse génomique des voies de synthèse des nucléotides permet en outre de supposer une évolution indépendante de la spécificité de la translocase chez différentes espèces de *Chlamydia*. En effet, l'opéron *guaAB-add* qui devrait assurer la conversion de l'ATP en GTP est absent chez *Chlamydia trachomatis* tandis qu'il est présent chez d'autres *Chlamydia*.

La cytidine triphosphate synthétase (CTP synthétase) qui convertit l'uridine triphosphate (UTP) en CTP est présente chez *Chlamydia trachomatis*, mais celle-ci ne peut pas synthétiser de l'UTP si bien qu'elle le puise obligatoirement dans le milieu extérieur [14] (figure n°8).

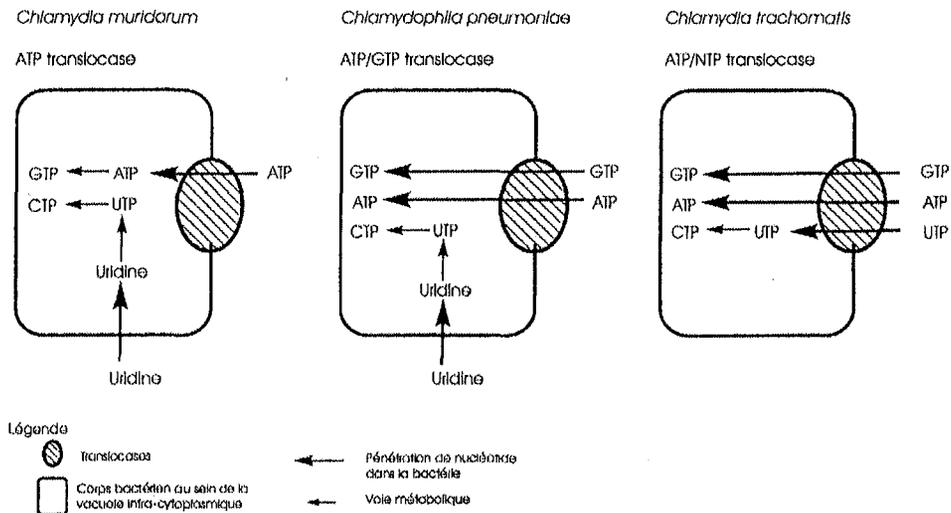


Figure n° 8 : Anabolisme des ribonucléotides chez les *Chlamydia* [14].

## V/ CLINIQUE

*Chlamydia trachomatis* est responsable de deux types de pathologies. Il s'agit d'une part de pathologies aiguës et d'autre part de pathologies chroniques.

### 1) Maladies aiguës

Les maladies aiguës concernent :

- les femmes au niveau du col de l'utérus et de l'urètre.
- les hommes au niveau de l'urètre.
- les femmes et les hommes dans les cas de rectites.

## 1.1. Chez la femme

### 1.1.1. Cervicite

Une cervicite est une lésion inflammatoire d'origine infectieuse, localisée au col de l'utérus. Chez la femme, l'infection réalise le plus souvent une cervicite latente et persistante qui est asymptomatique dans la plupart des cas [17]. Cette infection concerne l'épithélium de l'endocol. Les symptômes sont discrets et polymorphes :

- pertes vaginales correspondant à des écoulements purulents (leucorrhées) (photo n°1).
- irritation de la région périnéale.
- des douleurs au cours des rapports sexuels (dyspareunies) avec éventuellement des saignements.
- des règles abondantes et prolongées (ménorragies). La durée habituelle des règles varie entre 3 et 5 jours.
- douleurs abdominales basses.
- brûlures à la miction (urétrite associée).

A l'examen, le col est souvent oedématié, congestif et friable. Il présente un ectropion et un saignement de contact. Le canal cervical présente un aspect inflammatoire et fragile. D'autres germes pathogènes peuvent être associés à *Chlamydia trachomatis*. Devant des signes de cervicite, on effectuera donc des prélèvements endocervicaux à la recherche de germes plus classiques comme *Neisseria gonorrhoeae*.

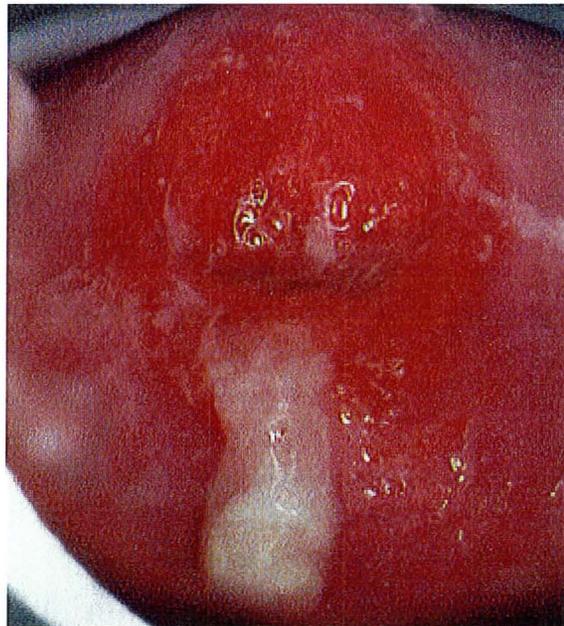


Photo n° 1 : Cervicite à *Chlamydia* [75].

### **1.1.2. Urétrite**

La localisation cervicale de *Chlamydia trachomatis* s'accompagne quasiment toujours (environ 1 cas sur 2) d'une infestation urétrale comme l'atteste l'excellente corrélation entre positivité des prélèvements urinaires et endocervicaux [17]. Chez la femme la plupart des urétrites aiguës à *Chlamydia trachomatis* sont totalement asymptomatiques. Une dysurie et des brûlures sont possibles évoquant un diagnostic de cystite (photo n°2).

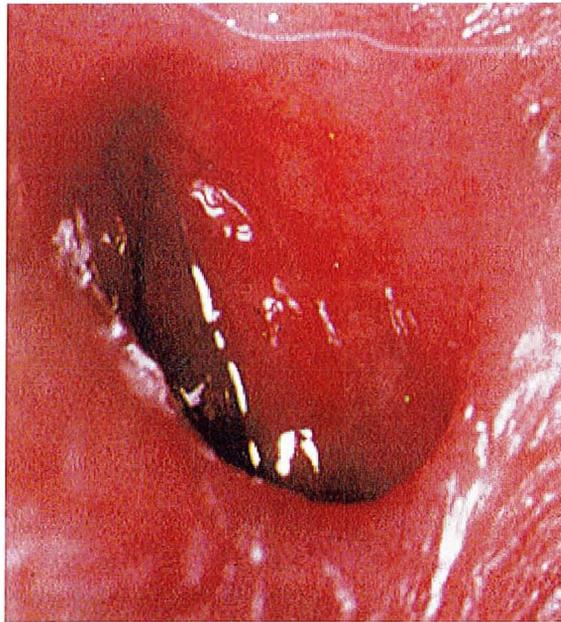


Photo n° 2 : Méaturétral : méatite, congestion papillaire et lésions folliculaires [75].

### **1.2. Chez l'homme : c'est l'urétrite**

Chez l'homme l'infection à *Chlamydia trachomatis* représente la cause la plus fréquente des urétrites non gonococciques (UNG). Celle-ci représente 20 à 50 % des cas. Le portage asymptomatique de *Chlamydia trachomatis* atteint 5 à 10 % dans certaines populations à risque (adultes jeunes).

Seulement 50 % des patients infectés auraient des symptômes urétraux mais c'est très difficile à apprécier.

La période d'incubation peut aller de 48 heures à plus de 2 mois après le contact infectant.

Lorsqu'il existe des symptômes :

- 15 à 30 % des patients développent une urétrite avec écoulement purulent.
- 20 à 50 % des patients développent une urétrite avec écoulement transparent, clair, parfois blanchâtre, le plus souvent discret et intermittent. L'écoulement est spontané ou provoqué par la pression du canal urétral se limitant parfois à une simple goutte matinale.

- 20 à 50% des patients développent des symptômes urétraux sans écoulement avec une sensation de gêne ou des démangeaisons (prurit canalaire), brûlures mictionnelles, dysurie et pollakiurie.

A l'examen microscopique, la réaction cellulaire est souvent observée mais elle est en général limitée. En l'absence de traitement, l'évolution se fait vers la guérison après évolution de plusieurs semaines [49].

Ces atteintes qui n'ont aucune spécificité peuvent être dues à d'autres agents bactériens (formes frustes d'urétrites gonococciques, infections à mycoplasmes génitaux).

La situation dans laquelle les patients infectés par *Chlamydia trachomatis* sont asymptomatiques ou présentent des symptômes non spécifiques (dysurie) est donc très fréquente. Cet élément joint au fait que la cytologie du premier jet d'urine est peu sensible incite à un dépistage large de *Chlamydia trachomatis* chez les hommes jeunes, bien au delà des situations dans lesquelles il existe un écoulement urétral ou des symptômes urétraux/urinaires où la recherche de *Chlamydia trachomatis* est incontournable.

### **1.3. Chez l'homme et la femme**

La proctite ou rectite est un terme générique recouvrant tous les états inflammatoires de l'ampoule rectale. En pratique, le processus inflammatoire est souvent étendu aux segments adjacents du tube digestif, colon (rectocolite) ou anus (anorectite).

Elle touche surtout les homosexuels masculins mais peut aussi être observée chez la femme. Le rectum est le siège d'une infection dont les signes cliniques sont peu importants [7].

Chez la femme, cette proctite est très souvent asymptomatique et concernerait, selon certaines études, 20 % des femmes consultant en vénérologie [29].

Chez l'homme, l'infection se traduit généralement par des altérations modérées de la muqueuse rectale avec œdème, érythème. Plus rarement, le tableau peut être plus sévère, simulant dans certains cas tant sur le plan clinique qu'endoscopique et histologique une maladie de Crohn rectale. Les signes cliniques sont :

- douleurs rectales.
- écoulements mucopurulents.
- saignements au contact ou spontanés.

La proctite concernerait 4 à 8 % des homosexuels consultant en vénérologie.

## **2) Maladies chroniques**

Les maladies chroniques touchent :

- les femmes au niveau de l'endomètre, des trompes et du foie.
- les hommes au niveau de l'épididyme et de la prostate.
- les femmes et les hommes dans une pathologie commune aux deux sexes ; le syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter.

## **2.1. Chez la femme**

La cervicite constitue le point de départ habituel des infections hautes (endométrite et salpingite) car à partir du col de l'utérus, *Chlamydia trachomatis* migre vers l'utérus, les trompes et parfois les structures adjacentes comme le foie pour donner une pathologie nommée périhépatite. Ces atteintes sont regroupées sous une dénomination générique : "les maladies pelviennes inflammatoires" ou encore en langue anglosaxonne "pelvic inflammatory disease" (PID).

La distinction entre endométrite et salpingite n'est pas évidente car la symptomatologie est peu différente. Seule, l'absence de stigmates annexiels (macro ou microscopiques) constatée à la coelioscopie permet véritablement de faire la différence.

### **2.1.1. Endométrite**

C'est une lésion inflammatoire d'origine infectieuse localisée à la muqueuse utérine. De part la situation anatomique de l'utérus, l'endométrite précède dans le temps la salpingite ; cela n'exclut pas le fait que l'endométrite puisse être associée à la salpingite.

Cliniquement, on peut observer des douleurs pelviennes, de la fièvre et des métrorragies (hémorragies utérines observées dans l'intervalle des règles indépendamment de toutes menstruations).

### **2.1.2. Salpingite**

#### **2.1.2.1. Clinique**

La salpingite à *Chlamydia trachomatis* est silencieuse dans 70% des cas mais évolue parfois sur un mode subaigu [45]. Quand il existe un tableau clinique, il est constitué de signes atténués peu caractéristiques.

La douleur, signe fréquent, peut être unilatérale ou bilatérale, accentuée par les rapports sexuels ou par l'effort physique. La palpation des annexes et la mobilisation du col utérin est souvent douloureuse.

Des leucorrhées sont fréquentes (photo n°3). Elles peuvent être masquées par des métrorragies.

Chez 50 % des patientes, fièvre et polynucléose sont absents. La vitesse de sédimentation est élevée dans 2/3 des cas.

Ces signes cliniques peu intenses rendent le diagnostic difficile et ne justifient plus une hospitalisation. Cependant, la discrétion des signes cliniques ne signifie pas que les lésions tubopelviennes sont moins sévères.

### **2.1.2.2. Interrogatoire du médecin**

Cet interrogatoire précise [42] :

- les antécédents génitaux, en particulier infectieux.
- les conditions de vie et d'activité sexuelle : existence d'un partenaire stable ou changement fréquent voire partenaires multiples.
- le mode de contraception.
- un éventuel facteur favorisant : pose récente d'un dispositif intra-utérin ou encore une procédure endo-utérine (curetage, hystérogaphie...).

### **2.1.2.3. Diagnostics différentiels évoqués**

Ces diagnostics différentiels seront éliminés par la cœlioscopie. Il peut s'agir :

- d'un abdomen aigu chirurgical (appendicite, péritonite, occlusion) ou d'une affection urologique (pyélite, colique néphrétique).
- une pathologie intestinale douloureuse type colite.
- parmi les affections douloureuses d'origine génitale, citons l'endométriose et les pathologies ligamentaires.

### **2.1.2.4. Place de la cœlioscopie**

La cœlioscopie est une méthode d'exploration endoscopique consistant à introduire dans la cavité péritonéale, après constitution d'un pneumopéritoine, et habituellement par une courte incision au niveau du repli ombilical, un appareil d'optique permettant de voir les organes intrapéritoneaux et spécialement les organes génitaux féminins [20].

La cœlioscopie transvaginale après incision du cul de sac de Douglas (ou culdoscopie) est très peu utilisée.

La cœlioscopie est le seul examen qui est capable de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de salpingite (mais aussi d'endométrite). Il convient de la proposer au moindre doute diagnostique, d'autant que cette procédure peut être réalisée dans le cadre de la chirurgie ambulatoire.

La cœlioscopie permet de suspecter une étiologie chlamyidienne devant certains tableaux (pelvis visqueux), d'effectuer les prélèvements nécessaires à l'identification du ou des germes responsables, de porter le diagnostic de périhépatite parfois associé à la salpingite, de mettre en œuvre certains gestes thérapeutiques (ponctions de collection purulente, rinçage de la cavité pelvienne à l'aide d'antiseptiques et/ ou d'antibiotiques) [29].

De plus, les techniques de microlaparoscopie élargissent encore l'utilisation de l'endoscopie [28]. La laparoscopie est un examen endoscopique de la cavité abdominale préalablement distendue par un pneumopéritoine à l'aide d'un tube photophore (laparoscope) introduit au travers d'une courte incision abdominale qui permet souvent un traitement chirurgical initial qui se limite généralement à la destruction atraumatique des adhérences.

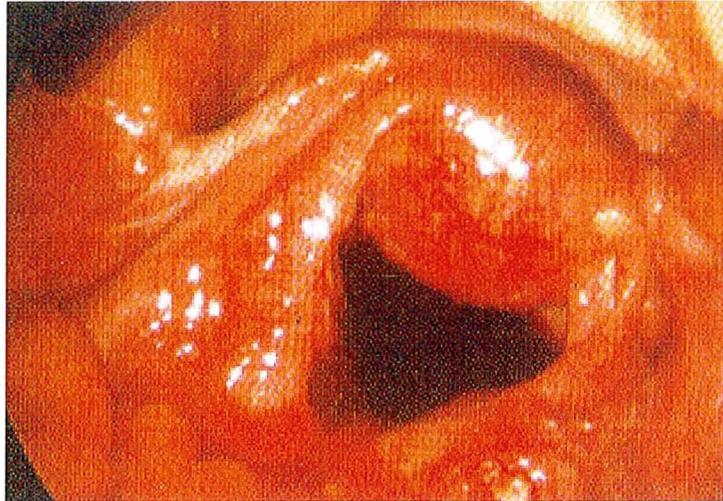


Photo n° 3 : Salpingite aiguë catarrhale [5].

### **2.1.2.5. Complications d'une salpingite**

#### **2.1.2.5.1. Complications aiguës**

- **Abcès pelviens**

Les abcès tubaires (pyosalpinx), ovariens ou du Douglas constituent une des deux principales complications [42]. La symptomatologie est nettement plus marquée que dans les infections non compliquées. Il y a présence de signes généraux avec fièvre et altération de l'état général. Les douleurs pelviennes sont importantes et s'accompagnent volontiers de troubles du transit. Le toucher vaginal est douloureux ; on trouve entre autre une masse pelvienne latéro-utérine, unie ou bilatérale, peu mobile par rapport à l'utérus. L'échographie montre la présence d'une collection liquidienne pelvienne. La cœlioscopie quant à elle confirme le diagnostic et constitue un temps thérapeutique essentiel [71].

- **Pelvi péritonite**

Le tableau clinique n'a rien de spécifique par rapport à d'autres péritonites. Au moindre doute, en particulier chez les patientes non préalablement appendicectomisées, une exploration chirurgicale par laparotomie ou cœlioscopie est réalisée [74].

Les autres formes de complications aiguës, telles que les thrombophlébites pelviennes sont devenues très rares.

#### **2.1.2.5.2. Passage à la chronicité**

En l'absence de complication, la disparition sous traitement des signes cliniques n'est pas la

garantie d'une véritable guérison. Le passage à la chronicité peut se produire notamment en cas de traitement inadéquat ou insuffisant. De plus, l'éradication des agents pathogènes par une antibiothérapie adaptée n'est pas le garant d'une reconstitution *ad-integrum* de l'appareil génital [44]. Même en l'absence de passage à la chronicité et alors qu'une antibiothérapie efficace a été instaurée, les réactions immuno-allergiques peuvent s'être enclenchées, induisant fréquemment des lésions scléroinflammatoires tubo-pelviennes irréversibles, source potentielle de séquelles. Ainsi, une patiente peut être guérie sur le plan clinique et bactériologique tout en gardant des stigmates pelviens irréversibles. Le diagnostic des lésions séquellaires tubo-pelviennes [61] n'est souvent fait qu'à distance de l'infection, à l'occasion d'un bilan pour infertilité ou pour des douleurs pelviennes chroniques. Les patientes stériles peuvent avoir recours à des procréations médicalement assistées. Les séquelles des infections tubaires (en particulier les stérilités) peuvent nécessiter des plasties de trompes.

Les salpingites sont également responsables de grossesses extra-utérines qui nécessitent toujours une intervention. Une rupture de trompe constitue une urgence chirurgicale.

On peut également observer des troubles de l'ovulation (dystrophie par enfouissement adhérentiel ovarien).

*Chlamydia trachomatis* a aussi été mis en cause dans les accouchements précoces et dans des ruptures prématurées de membranes. L'infection fœtale qui en découle serait une cause de mort *in-utero*.

### **2.1.2.5.3. Récidive ultérieure**

Une récidive à distance est favorisée par :

- la poursuite d'un comportement sexuel à risque (partenaires multiples, rapports non protégés).
- la possibilité d'une réactivation des phénomènes immuno-inflammatoires pelviens à l'occasion d'une infestation par un nouveau microorganisme pathogène.
- une diminution des défenses immunitaires cervico-utérines ; une telle hypothèse est probable, bien que non formellement démontrée [37].

En conclusion, les formes aiguës sont généralement prises en charge rapidement mais les formes chroniques plus insidieuses sont de diagnostic difficile car les symptômes manquent de spécificité et ce seront malheureusement les séquelles fonctionnelles qui permettront un diagnostic rétrospectif.

### **2.1.3. Syndrome de Fitz-Hugh-Curtis ou périhépatite**

Ce syndrome compliquerait jusqu'à 30 % des salpingites à *Chlamydia*. A partir de l'infection cervicale, le germe gagne l'utérus, les trompes puis le pelvis et la région périhépatique au niveau de laquelle la bactérie se multiplie dans le repli du péritoine rétrohépatique [36].

Les lésions périhépatiques que la coéloscopie permet de visualiser sont assez souvent latentes cliniquement. Il y a présence d'un enduit blanchâtre à la surface du foie et des adhérences en « cordes de violon » [29] tendues entre le diaphragme et la capsule de Glisson. La capsule de Glisson est une membrane fibreuse d'enveloppe du foie sous-jacente au revêtement péritonéale [20]. Ces adhérences pelviennes ou rétrohépatiques peuvent provoquer des phénomènes douloureux notamment des douleurs spontanées, des dyspareunies. Des nausées

et vomissements peuvent compléter le tableau clinique. Cette périhépatite est suspectée devant tout syndrome douloureux fébrile de l'hypocondre droit d'une jeune femme lorsqu'il y a présence d'une symptomatologie de type salpingite.

La périhépatite à *Chlamydia* peut mimer une cholécystite. Historiquement, la méconnaissance de l'infection à *Chlamydia trachomatis* a pu amener les femmes qui présentaient une périhépatite à subir une intervention pour cholécystectomie [49].

## **2.2. Chez l'homme**

Chez l'homme, les atteintes sont essentiellement localisées au niveau de l'épididyme et de la prostate.

### **2.2.1. Epididymite**

L'épididymite est une complication rare mais grave. Elle se traduit par de la fièvre, des douleurs épидидymaires ou testiculaires associées à une urétrite. Une orchite peut être associée. Le diagnostic se fait devant une grosse bourse unilatérale rouge, chaude, douloureuse dans un contexte fébrile [59]. Il n'existe pas d'ascension du testicule et la douleur est soulagée par la suspension.

A l'examen, l'épididyme augmenté de volume forme une masse douloureuse à la palpation mais les testicules sont indemnes. Les atteintes bilatérales entraînent des stérilités. Le principal diagnostic différentiel est la torsion aiguë du testicule survenant en principe dans un contexte d'apyrexie. Dans les cas difficiles, un échodoppler testiculaire peut être nécessaire, à condition que cet examen ne retarde pas l'intervention chirurgicale qui est une urgence.

Il vaut mieux opérer une épидидymite que de laisser évoluer une torsion du testicule. Le diagnostic est facilement suspecté lorsqu'il existe des signes urétraux en particulier un écoulement urétral ou une urétrite récente souvent asymptomatique.

L'épididymite ou l'orchi-épидидymite du sujet jeune est due le plus souvent à *Chlamydia trachomatis*. Près de 50 % des épидидymites aiguës observées chez l'homme de moins de 35 ans aux Etats-Unis seraient dues à cette bactérie. Ces épидидymites ne se distinguent pas au point de vue clinique de celles des autres bactéries (*Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*) qui doivent bien entendu être systématiquement recherchées.

### **2.2.2. Autres**

En dehors des complications immédiates, l'infection masculine à *Chlamydia trachomatis* pourrait être responsable de lésions tardives et de stérilités. Les patients peuvent présenter des signes locaux parfois mal définis avec une atteinte prostatique. Celle-ci est évoquée sur des troubles fonctionnels et des anomalies échographiques. La recherche des bactéries dans les sécrétions prostatiques ou le sperme est souvent positive mais c'est presque toujours une flore banale (*E. coli*, *Enterococcus spp*) qui est isolée. Cette recherche peut être négative. Selon le cas, le diagnostic de prostatite chronique bactérienne ou abactérienne sera porté [9].

### 2.3. Chez l'homme et la femme

Le syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter (F.L.R) est secondaire à une infection à *Chlamydia* mais il peut également faire suite à une infection par *Salmonella*, *Shigella* ou encore *Yersinia*. Ce syndrome survient préférentiellement chez les sujets porteurs de l'antigène HLA B27. Dans les suites d'une infection vénérienne, le syndrome de F.L.R touche 20 hommes pour 1 femme alors que le rapport est de 3 hommes pour 2 femmes après une infection entérique. Il faut noter que ce syndrome est rare chez l'enfant.

Le syndrome de F.L.R. est constitué de nombreux signes cliniques (figure n°9) parmi lesquels on peut dégager une triade classique [54] :

- 1) urétrite avec polyurie et dysurie.
- 2) conjonctivite avec écoulement purulent, chémosis (œdème de la conjonctive oculaire), œdème palpébral et éventuellement un iritis (inflammation de l'iris).
- 3) atteinte articulaire avec arthrite, lombalgie, talalgie, douleurs fessières.

L'arthrite correspond a un facteur de gravité dans le pronostic de ce syndrome.

D'autres manifestations cliniques peuvent être présentes dans ce syndrome avec notamment des troubles digestifs de type diarrhées ou encore des lésions cutanées de type psoriasiformes. Parfois on note des atteintes cardiaques dont les signes sont inconstants avec un reflux aortique par atteinte inflammatoire des valves de la paroi de l'aorte.

Les formes simples de la maladie régressent en 6 mois. Cependant, il y a parfois des épisodes récurrents d'arthrite chez 5 à 50 % des patients, voir une atteinte articulaire chronique dans 10 à 30 % des cas. Dans les cas les plus graves, il y a apparition d'une spondylarthrite ankylosante qui toucherait 30 à 50 % des patients HLA B27 [75].

Les autres séquelles sont moins fréquentes :

- rétrécissement urétral.
- cataracte (la cécité étant exceptionnelle).
- nécrose de la racine de l'aorte.

A côté du syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter des atteintes articulaires à *Chlamydia trachomatis* ont été décrites dans lesquelles la bactérie n'a pas été isolée au cours des prélèvements articulaires mais des antigènes bactériens ont été détectés par immunofluorescence et de l'ARN chlamydien par biologie moléculaire. Une explication à ces résultats serait la présence de la bactérie sous forme cryptique dans des macrophages.

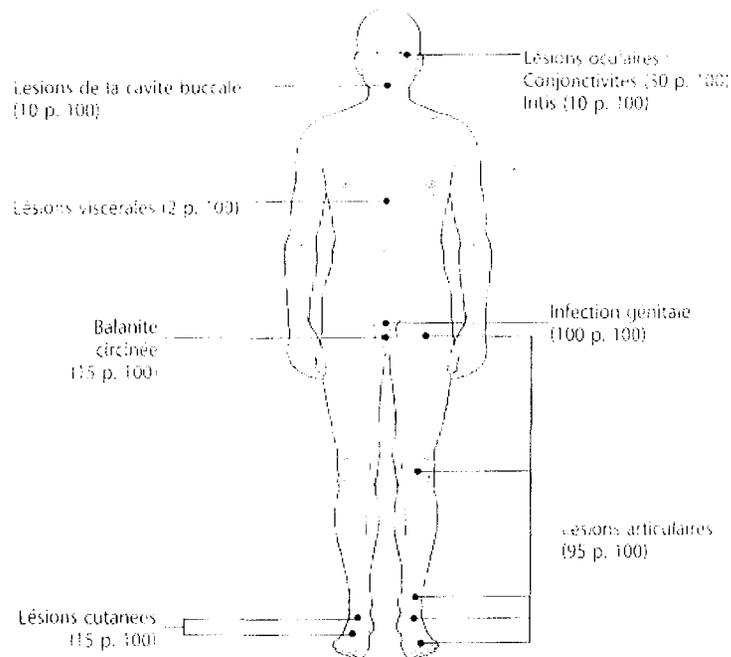


Figure n° 9 : Manifestations du syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter [75].

## **2.4. Infections néonatales**

Le nouveau-né s'infecte au cours passage dans la filière génitale si la mère est porteuse de *Chlamydia trachomatis*. Les manifestations de l'infection sont diverses. Il peut s'agir d'une part d'infection oculaire et d'autre part d'infection pulmonaire.

### **2.4.1. Infection oculaire**

Le nouveau né n'a pas de moyens de défense locale d'une part par absence de formations lymphoïdes locales et d'autre part par l'absence des larmes ce qui favorise l'infection oculaire.

*Chlamydia trachomatis* est actuellement la cause la plus fréquente des conjonctivites néonatales, représentant 50 à 75% des cas alors que le gonocoque a quasiment disparu dans les pays occidentaux du fait des traitements maternels et de la prophylaxie postnatale systématique par collyre. La méthode de Crédé (instillation de collyre antibiotique) n'est pas toujours suffisante pour prévenir ces infections.

Les signes cliniques de la conjonctivite néonatale apparaissent entre le 5<sup>ème</sup> et le 12<sup>ème</sup> jour généralement dans les 8 jours [62].

Les signes initiaux comportent un écoulement muqueux puis les sécrétions deviennent purulentes (photo n°4) et un œdème palpébral se développe. L'atteinte est fréquemment unilatérale.

En l'absence de traitement, les conjonctivites à *Chlamydia* ont des conséquences limitées. Il n'y a habituellement pas de cicatrice ni d'atteinte cornéenne et pas de séquelles visuelles. Cependant, il existe tout de même un risque d'opacification de la cornée. Ces conjonctivites sont observées chez 1% des nouveau-nés dans les pays occidentaux mais peut atteindre 40 à 80 % des enfants dans les pays en voie de développement. Cette conjonctivite est parfois associée à une rhinite ou à une atteinte de l'oreille moyenne et l'état général est satisfaisant [63].



Photo n° 4 : Infection de l'œil du nourrisson par *Chlamydia trachomatis* [75].

### **2.4.2. Infection respiratoire**

Environ 10 à 20% des enfants exposés (nés de mère colonisée) développent une pneumopathie classiquement entre 15 jours et 15 semaines de vie [48]. Cette pneumopathie est non fébrile dans 95 % des cas. Elle est fréquemment précédée d'une rhinorrhée.

Elle se caractérise par :

- une tachypnée, une hyperinflation.
- une toux sèche, quinteuse et persistante, habituellement non émétisante mais gênant le sommeil et l'alimentation.
- l'altération de l'état général est souvent discrète [34].

L'auscultation pulmonaire, parfois normale peut mettre en évidence des râles fins. Environ la moitié des enfants atteints, a une conjonctivite préexistante ou concomitante et/ou une inflammation tympanique.

La radiographie thoracique quant à elle objective une distension pulmonaire et des images alvéolo-interstitielles. Elle montre des infiltrats bilatéraux des hiles.

Du point de vue biologique, on note une leucocytose. L'éosinophilie sanguine et l'augmentation des immunoglobulines n'ont qu'une faible valeur d'orientation.

L'infection peut se présenter sous la forme d'une rhinite obstructive, d'une laryngite et d'une bronchiolite.

Des formes graves avec apnées récidivantes et détresse respiratoire ont été décrites [40]. L'infection à *Chlamydia trachomatis* a été parmi les étiologies des apnées du nourrisson et jouerait un rôle probablement mineur dans la mort subite.

Le caractère peu spécifique des signes cliniques et paracliniques entraîne fréquemment un retard du diagnostic. Cependant, l'évolution est lentement favorable et la guérison spontanée peut se faire en 4 à 6 semaines [32]. A long terme, il peut persister une hyper réactivité bronchique.

*Chlamydia trachomatis* est la cause de 6 à 30% des infections respiratoires basses du nourrisson avant 6 mois [76]. Des atteintes tardives jusqu'à 18 mois ont été rapportées faisant évoquer la possibilité d'une transmission horizontale.

### **3) Lymphogranulomatose vénérienne**

#### **3.1. Généralités**

La maladie de Nicolas Favre a été décrite en 1913 par Durand, Nicolas et Favre à Lyon sous le nom de lymphogranulomatose inguinale subaiguë vénérienne (LGV). La LGV est due à *Chlamydia trachomatis* et plus exactement aux sérovars L1, L2, L2a, L3 de *Chlamydia trachomatis* [16], sérovars agressifs responsables d'infection invasive et systémique.

Il s'agit d'une maladie sexuellement transmissible qui est responsable d'ulcération génito-anales et d'adénopathies inflammatoires [72]. Elle est observée dans les deux sexes mais avec une forte prédominance masculine. Elle concerne principalement les homosexuels et les prostituées.

La LGV est endémique dans les régions tropicales et subtropicales sur tous les continents [33]. Dans les pays occidentaux, les quelques cas observés sont sporadiques et correspondent à des maladies d'importation.

Comme pour toutes les MST, elle peut être associée aux autres infections vénériennes telles que le SIDA, la syphilis, la gonococcie.

Le réservoir est constitué par les patientes malades et les porteurs sains (portage asymptomatique dans l'endocol et la muqueuse rectale).

#### **3.2. Physiopathologie**

La LGV est tout d'abord une maladie du tissu lymphatique bien que les souches de *Chlamydia trachomatis* biovar LGV infectent les macrophages. C'est une thrombolympangite et une périlympangite avec extension de l'inflammation au ganglion infecté et aux tissus adjacents [55]. Une réaction d'hypersensibilité retardée est évoquée pour expliquer les lésions tissulaires de cette infection chronique.

L'infection est possible du fait d'une lésion ou d'une abrasion cutanée qui fournit une porte d'entrée à la bactérie et lui permet de traverser l'épithélium puis de gagner les tissus lymphatiques.

### **3.3. Clinique**

Il existe deux formes cliniques de la LGV avec d'une part la forme génitale et d'autre part la forme anorectale.

#### **3.3.1. Forme génitale**

La forme génitale de la LGV évolue en trois stades.

##### **3.3.1.1 Phase primaire**

La phase primaire ou cutanéomuqueuse est marquée par la formation d'une ulcération au site d'inoculation (au niveau des organes génitaux) qui porte le nom de chancre.

Cette lésion au point d'inoculation apparaît 2 à 30 jours après la contamination. Il s'agit d'une lésion qui n'a aucun caractère spécifique, érosif, papuleux, ulcéreux, herpétiforme le plus souvent indolore. Ce chancre passe le plus souvent inaperçu du fait de sa petite taille [54], de son caractère transitoire avec une guérison spontanée en 8 à 10 jours et de son siège volontiers profond notamment au niveau :

- du col utérin.
- de la paroi postérieure du vagin.
- de la zone intra urétrale.

La localisation du chancre peut également être externe :

- chez la femme, le siège se situe au niveau des grandes lèvres.
- chez l'homme, les localisations externes sont diverses :
  - sillon balano-préputial.
  - sur le fourreau (photo n°5).
  - l'orifice urétral.
  - le scrotum.

Des atteintes comme une urétrite, une vulvite et une vaginite sont possibles [49] , [75].



Photo n° 5 : Lésion primaire du sillon balano-préputial [75].

### **3.3.1.2. Phase secondaire**

A ce stade, la bactérie a gagné les vaisseaux lymphatiques puis les ganglions satellites au niveau desquels elle se multiplie à l'intérieur des macrophages. Cette phase est caractérisée par les adénopathies apparaissant dans les territoires de drainage du chancre 10 à 30 jours après celui-ci. C'est pratiquement toujours à ce stade que le patient est vu, alors même que le chancre a disparu.

Il s'agit le plus souvent chez l'homme d'une adénopathie inguinale, en règle générale unilatérale et pluriganglionnaire qui évolue vers la fistulisation à la peau en de multiples orifices (pomme d'arrosoir). La coalescence de plusieurs ganglions induit la formation d'un bubon. Le ligament de Poupart provoque l'étranglement du bubon inguinofémoral réalisant le signe de la poulie de Greeblatt (photo n°6) qui n'est pas pathognomonique mais évocateur d'une LGV [29].



Photo n° 6 : Signe de la poulie de Greeblatt [75].

Chez la femme, le drainage lymphatique se fait vers la paroi antérieure du rectum entraînant des lésions de la muqueuse rectale avec décharges anales mucopurulentes. Des adénopathies iliaques profondes sont fréquentes (parfois même isolées lorsque le chancre est cervical, vaginal ou urétral) ainsi que des signes généraux d'intensité variable parmi lesquels on trouve :

- une fièvre rarement élevée.
- des myalgies.
- une arthrite.
- une hépatosplénomégalie.
- une méningite.
- un érythème morbilliforme.
- un érythème noueux.

Concernant la biologie, on retrouve fréquemment une hyperleucocytose et un syndrome inflammatoire.

En l'absence de traitement, l'évolution se prolonge pendant plusieurs mois avec des suppurations chroniques (photo n° 7) et des cicatrices fistuleuses [49]-[75].



Photo n° 7 : Fistulisation du bubon.

### **3.3.1.3. Phase tertiaire.**

Au cours de cette phase tertiaire ou cicatricielle, on observe la formation de lésions fibreuses qui sont la conséquence tardive du processus inflammatoire ganglionnaire. Cette phase succède à la précédente ou plus souvent à une atteinte lymphatique rétropéritonéale passée inaperçue (femmes et homosexuels, en l'absence du bubon inguinal). L'oblitération des voies lymphatiques entraîne l'apparition de lymphoedèmes génitaux comme un éléphantiasis du scrotum et du pénis chez l'homme (photo n° 8).

De rares formes buccopharyngées de la LGV, accompagnées d'atteinte des ganglions cervicaux, ont été décrites [16]-[75].



Photo n° 8 : Eléphantiasis du scrotum [75].

### **3.3.2. Forme anorectale**

La muqueuse rectale est le siège de la primo-infection après un rapport réceptif. La bactérie gagne ensuite les ganglions pelviens et péri-rectaux.

Le stade tertiaire apparaît des années après la primo-infection mais sa survenue n'est pas obligatoire. A ce stade, la bactérie est rarement isolée. Cette phase est l'apanage des lésions rectales. La proctocolite est due à l'hyperplasie des tissus lymphatiques intestinaux et périrectaux. Les lésions se traduisent par un ténesme, des douleurs rectales et parfois un écoulement purulent. Les abcès périrectaux ou ischio-rectaux peuvent entraîner la formation de fistules vaginorectales ou anales qui nécessitent des traitements chirurgicaux. La persistance des lésions inflammatoires locales favorise la survenue d'une anorectite sténosante avec rétrécissement du rectum [75].

## **VI/ EPIDEMIOLOGIE**

Les infections génitales à *Chlamydia trachomatis* sont observées dans le monde entier. Les chlamydioses génitales constituent la plus fréquente des maladies sexuellement transmissibles d'origine bactérienne. Le réservoir de la bactérie est exclusivement humain et sa transmission, surtout vénérienne, est favorisée par l'absence ou la discrétion des symptômes.

## 1) Les données épidémiologiques françaises

Les données épidémiologiques sur *Chlamydia* en France au cours de ces vingt dernières années mettent en évidence plusieurs points :

- des travaux actuels indiquent une prévalence égale ou supérieure à 10% chez les 15-20 ans (généralement asymptomatiques) alors qu'elle se situe aux environs de 2 à 3% chez les adultes [30]. L'âge jeune constitue le principal facteur de risque [10].
- ces chiffres moyens sont en régression par rapport aux années 1970 mais les infections à *Chlamydia trachomatis* persistent et leur prévalence est de 4 à 25% dans les dispensaires anti-vénéériens.
- dans environ 60% des infections à *Chlamydia trachomatis*, on note la présence d'un autre agent infectieux tels que le gonocoque, *Uréaplasma uréalyticum* ou encore *Candida albicans*.
- la prévalence actuelle de *Chlamydia trachomatis* est d'environ 2 à 7% dans la population féminine. Selon certains auteurs, l'infection serait plus fréquente chez la femme que chez l'homme. Cependant, d'autres auteurs pensent que les infections génitales à *Chlamydia trachomatis* sont réparties équitablement entre les deux sexes. La fréquence supérieure d'infections génitales chez les femmes s'expliquerait par le fait que la maladie est plus souvent diagnostiquée chez les femmes. Ceci est dû, d'une part à l'existence d'une symptomatologie qui amène les femmes à consulter et d'autre part à la pratique d'examen gynécologiques réguliers ainsi qu'à des dépistages dans les dispensaires et les centres de planning familial.
- la précocité des premiers rapports, le nombre total de partenaires [38] et l'utilisation d'une contraception orale [35] revêtent une moindre importance ou ne constituent que des cofacteurs.
- chez la femme, la plupart des localisations génitales hautes, salpingites principalement, sont la conséquence d'une chlamydiose basse souvent passée inaperçue. C'est pourquoi, il est important d'effectuer des dépistages pour traiter les infections basses et ainsi prévenir un grand nombre de salpingites. Certains auteurs estiment que le dépistage chez toutes les femmes de moins de 26 ans et chez celles ayant plus de deux partenaires dans l'année suffirait à détecter 87% des infections génitales à *Chlamydia trachomatis*.

D'autres chiffres mettent en avant l'importance des dépistages :

- si dans 50 à 70% des cas, les formes sont asymptomatiques, on estime que 5% des femmes contaminées font une salpingite aiguë et 5% font une salpingite silencieuse.

- parmi les femmes qui demandent une IVG, 12 % seraient porteuses de *Chlamydia trachomatis*. Des travaux ont montré que la présence de *Chlamydia trachomatis* dans les voies génitales basses multiplie par 10 le risque de salpingite aiguë après IVG.
- à court terme jusqu'à 40% des femmes infectées présentent un syndrome inflammatoire pelvien de gravité variable.
- le risque d'infertilité secondaire à une salpingite est estimé à 15% ; risque d'autant plus élevé que les infections sont récidivantes [31].
- par ailleurs, on estime à 3750 le nombre de femmes demandant une fécondation *in vitro* (FIV) chaque année du fait de complications d'une infection à *Chlamydia trachomatis*.
- le risque de grossesse ectopique secondaire à un syndrome inflammatoire pelvien est de 9%.

## **2) Description d'une étude écossaise**

Une étude menée en Ecosse auprès de jeunes conscrits montre que contrairement aux données épidémiologiques britanniques la prévalence de l'infection à *Chlamydia trachomatis* est de l'ordre de 10% chez les hommes et non pas environ 2% chiffre anormalement bas par rapport à la fréquence féminine de l'infection [6]. Les données épidémiologiques britanniques surprennent, trouvant une fréquence bien plus élevée d'infections à *Chlamydia trachomatis* chez les femmes que chez les hommes. Aussi la notion de biais de sélection a-t-elle été évoquée à propos des enquêtes menées chez les hommes. C'est pourquoi cette étude s'est basée sur un échantillonnage représentatif.

McKay et ses collaborateurs ont recherché de façon systématique la bactérie dans une population masculine en tentant d'éviter ce fameux biais de sélection.

Une caserne (Glencorse) à proximité d'Edinburgh a servi de réservoir de volontaires. Entre avril 2001 et avril 2002, il a été demandé aux conscrits (798 au total) s'ils acceptaient qu'à l'analyse d'urine systématique soit greffé un dépistage de *Chlamydia trachomatis* lors des visites d'incorporation [47]. Il n'y a eu aucun refus.

Les 798 hommes de 16 à plus de 25 ans ont été dépistés. Ces 798 hommes provenaient de tout le Royaume-Uni (714 hommes) et même pour certains d'autres pays du Commonwealth (84 hommes). Les conscrits sont classés par âges en 2 groupes :

- les 16-25 ans.
- les plus de 25 ans.

Sur les 798 recherches pratiquées, 78 se sont révélées positives soit 9,8%. Les médecins ont constaté un taux d'infection similaire dans les deux groupes. Même en excluant des données les militaires originaires du Commonwealth, la prévalence de l'infection change peu passant à

9,3%. Parmi les 78 personnes infectées, 69 soit 88% étaient asymptomatiques. Les 12% restant ne présentaient que des signes cliniques mineurs qui n'avaient d'ailleurs pas été signalés au cours de l'examen médical. Les auteurs révèlent :

- la diminution de l'écart de prévalence entre hommes et femmes.
- la proportion d'infections asymptomatiques est bien supérieure au chiffre de 50% généralement admis.

La force de cette étude tient à ce que la participation a été de 100%. De plus, rien ne prouve que les 798 hommes avaient tous déjà eu des relations sexuelles si bien que le taux d'infection à *Chlamydia trachomatis* dépasse probablement les 9,8%.

Enfin, rien n'a démontré parmi les sujets enrôlés qu'ils aient eu une activité sexuelle particulièrement élevée. D'ailleurs, les personnes infectées avaient une médiane d'un partenaire (moyenne 1,68) au cours du dernier semestre.

### **3) L'utilité d'une politique de santé publique**

En France, il conviendrait de mettre en place des réseaux de surveillance complémentaires de ceux qui existent déjà pour *Chlamydia* et le gonocoque afin d'obtenir de véritables données épidémiologiques pour l'ensemble de la population. Ainsi, sur la base des informations recueillies, il sera possible de mettre en place une politique de dépistage et de prévention, à l'exemple des pays scandinaves qui s'y emploient depuis plus de 25 ans [70]. En effet, dans ces pays les infections à *Chlamydia trachomatis* représentaient un véritable problème de santé publique (comme en France d'ailleurs). A la différence de la France, ces pays ont mis en place des campagnes massives de dépistage auprès des adolescentes par le biais des médecines scolaires et universitaires. Le taux de MST en particulier dû à *Chlamydia trachomatis* a considérablement chuté (de 40 à 60 % selon les études) [8].

### **4) La lymphogranulomatose vénérienne**

La LGV est rarement rencontrée dans les pays industrialisés en dehors de cas d'importation contrairement à la répartition universelle des infections à *Chlamydia trachomatis* de sérovars D à K. En revanche, cette maladie est endémique en Afrique, en Amérique du Sud, aux Antilles, en Inde et en Papouasie-Nouvelle-Guinée sans que l'on sache exactement quelle est sa fréquence car le diagnostic de cervicite est difficile et les études rares. La LGV peut être associée à d'autres MST qu'il faut impérativement rechercher : syphilis, hépatite B et surtout infection par le VIH.

# VII/ CHLAMYDIA ET IMMUNITE

L'infection à *Chlamydia trachomatis* induit deux types de réponses immunitaires :

- la réponse humorale.
- la réponse cellulaire.

## **1) Réponse humorale**

La réponse humorale à l'infection varie dans son intensité et dans son expression selon la localisation de l'infection. Elle est généralement importante. L'infection chlamydienne entraîne chez l'hôte la production d'anticorps sériques de classe IgG, IgM et IgA spécifiques des antigènes tels que le LPS [26], la MOMP et la Heat Shock Protein (HSP) 60 chlamydienne.

### **1.1. Les cibles de l'infection humorale**

Les immunoglobulines humaines sont dirigées contre de nombreuses structures de *Chlamydia trachomatis*. L'immunité contre *Chlamydia trachomatis* est surtout dirigée contre la MOMP. Cette protéine possède des domaines constants et quatre domaines variables. Les variations antigéniques de ces derniers expliqueraient l'échappement de la bactérie au système immunitaire.

L'immunité est également dirigée contre des protéines de stress [Heat Shock Proteins (HSP)] [77]. Parmi ces protéines de stress, une décrite chez *Chlamydia trachomatis* est particulièrement intéressante du point de vue immunobiologique car elle possède 95% d'homologie en acides aminés avec les autres protéines de stress des autres espèces de *Chlamydia*, 60% d'homologie avec son homologue d'autres espèces bactériennes et 50% avec les HSP humaines. On note une protéine de 57 kDa (HSP60) qui présente des épitopes spécifiques de genre et d'espèce. Elle est proche de la HSP60 humaine [53]. La HSP60 chlamydienne comporte 13 épitopes majeurs reconnus par des sérums humains dont sept montrent des réactions croisées avec la HSP60 humaine. Elle est exprimée pendant tout le cycle de développement et pourrait intervenir dans la réorganisation des CE et CR ou dans le maintien de la forme monomérique de la MOMP des CR.

Des IgG anti-HSP60 chlamydienne ont été mis en évidence :

- chez 84% des femmes séropositives vis à vis de *Chlamydia trachomatis* ayant une stérilité tubaire [66].
- chez 31% des femmes avec un syndrome inflammatoire pelvien.
- 17% des femmes avec une grossesse extra-utérine.
- 9% des témoins.

Certains travaux suggèrent qu'une réponse auto-immune à l'HSP60 humaine peut se développer à la suite d'une infection génitale haute chez la femme à *Chlamydia trachomatis*

par réaction croisée avec la HSP60 chlamydienne. Cette réponse auto-immune pourrait être partiellement responsable des lésions et de l'obstruction tubaire. On ne sait pas si l'infection chlamydienne persistante, caractérisée par une réponse anti-HSP60 chlamydienne est la cause du syndrome inflammatoire pelvien ou si une réponse auto-immune à l'HSP60 humaine est responsable de l'inflammation en l'absence d'infection. La réponse auto-immune pourrait prolonger les lésions tissulaires alors que la croissance chlamydienne est inhibée par la réponse immune acquise.

L'immunité humorale n'est jamais suffisante pour assurer l'élimination de la bactérie et ne protège pas contre une réinfection.

### **1.2. Les infections génitales basses**

Les IgM apparaissent précocement, persistent un mois au maximum et sont le témoin d'une infection récente. Les IgM sont spécifiques du sérovar responsable de l'infection. Plus tard, des titres faibles d'IgG <64 sont détectés au cours de ces infections urogénitales basses (urétrite chez l'homme et cervicite chez la femme). Lors d'une réinfection par une souche homologue, les anticorps de rappel sont uniquement des IgG. En revanche, la réinfection par une souche de sérovar différent stimule les IgM puis les IgG dirigés contre ce nouveau sérovar et les IgG de la première souche [5].

Par ailleurs, des anticorps de classe IgG et IgA ont été mis en évidence dans les sécrétions cervicales et paraissent associés à une infection active. La neutralisation de l'infection par les anticorps locaux semble probable car les IgA sécrétoire anti-*Chlamydia trachomatis* dans le mucus cervical sont inversement corrélés avec la perte quantitative de la bactérie dans le tractus génital.

Dans ces infections basses, la réaction humorale est limitée si bien que la sérologie n'apporte aucun élément diagnostique.

### **1.3. Les infections génitales hautes**

Lors de ces infections (épididymite chez l'homme, salpingite et syndrome inflammatoire pelvien chez la femme) des titres plus élevés d'anticorps sont observés (IgG  $\geq$  64).

La réponse spécifique de sérovar pour les titres bas devient hétéro-spécifique et les anticorps peuvent persister pendant des mois et même plusieurs années. La présence d'IgA sériques dont la demi vie est de 5 à 6 jours constitue un marqueur d'infection évolutive malgré la constatation de résultats discordants. La persistance d'un titre d'IgA  $\geq$  16 semble cependant être un facteur de gravité et d'évolution de la salpingite chez la femme [67]. La présence d'IgA sécrétoire anti-*Chlamydia trachomatis* dans le liquide séminal constituerait un marqueur de l'hypo-fertilité masculine [64].

## **2) Immunité cellulaire**

L'infection primaire génitale provoque de la part de l'hôte une réaction inflammatoire importante avec un afflux et une prédominance des polynucléaires neutrophiles lors de la phase initiale puis une infiltration de lymphocytes et des macrophages.

Dans les infections génitales, la réponse inflammatoire se traduit par la formation de follicules

lymphoïdes avec des centres germinatifs. Ces centres germinatifs contiennent des lymphocytes B (LB) au centre et des lymphocytes T (LT) dans la région périphérique. Cette infiltration par les cellules plasmiques et les lymphocytes T, accompagnée de follicules lymphoïdes est pathognomonique de l'endométrite à *Chlamydia*. Les interactions entre les antigènes chlamydiens et les sous classes de lymphocytes T dans l'endomètre au cours du cycle menstruel ou lors d'infection ascendante sont cependant peu connues. Dans les trompes lors d'obstructions, on retrouve une infiltration diffuse sous épithéliale par des cellules mononucléées et des polynucléaires qui passent à travers l'épithélium dans la cavité tubaire. Beaucoup de lymphocytes T sont présents dans l'épithélium et le stroma ; l'activité fibroblastique est également augmentée.

Les lymphocytes T sont divisés en deux sous-populations. On trouve d'une part les lymphocytes T CD4 et d'autre part les lymphocytes T CD8 (lymphocytes cytotoxiques). Suivant le modèle animal et la souche infectante ces deux sous-populations de lymphocytes T contribuent à la guérison dans des proportions variables :

- chez la souris lors d'une infection génitale les lymphocytes T CD4 ont un rôle prédominant par rapport aux lymphocytes T CD8. Les souris déficientes en lymphocytes T CD4 ont des évolutions beaucoup plus longues, des lésions plus importantes et leurs organes génitaux révèlent un nombre plus élevé d'inclusions formant unité (IFU). Par ailleurs, si l'on transfère passivement des cellules spléniques enrichies en lymphocytes T CD4, on obtient une guérison plus rapide des souris qu'un transfert de lymphocytes T CD8 ou de lymphocytes B [5].
- chez le singe en revanche, les lymphocytes T CD8 représentent le phénotype infiltrant dominant durant la salpingite aiguë et répétée à *Chlamydia trachomatis*.
- chez la femme ce sont également les lymphocytes T CD8 qui prédominent dans l'endomètre. Cependant le fait que des femmes VIH positives aient un risque élevé de syndrome inflammatoire pelvien à *Chlamydia trachomatis* suggère que les lymphocytes T CD4 jouent un rôle important dans la limitation de l'infection chlamydienne. Il est possible que les lymphocytes T CD8 influencent l'issue de l'infection chlamydienne davantage par la sécrétion de cytokines que par cytotoxicité [22].

### **3) Rôles des cytokines et profils des réponses immunitaires**

#### **3.1. Rôle relatif des deux sous classes de lymphocytes T Helper**

Le rôle des TH1 (LT Helper 1) et TH2 (LT Helper 2) dans la pathogenèse des infections à *Chlamydia trachomatis* et les mécanismes de défense de l'hôte n'est pas clairement défini. La plupart des études suggèrent que la réponse TH1 est primordiale dans la résolution d'une infection à *Chlamydia* et jouerait un rôle protecteur. En revanche, la réponse TH2 serait néfaste. La réponse TH1 est responsable de l'hypermensibilité retardée [58].

L'infection de certaines souris par voie intra-utérine permet de mettre en évidence après 4 jours d'infection un profil de cytokines combinant les types TH1 et TH2 dans le tractus génital :

- TH1 : ARNm de IL-2 et IFN  $\delta$ .
- TH2 : ARNm de IL-6 et IL-10.

Deux semaines après l'inoculation, le profil est plutôt orienté vers une réponse de type TH1.

### **3.2. Rôle de l'interféron**

L'interféron  $\delta$  (IFN  $\delta$ ) est un des facteurs de stress le plus utilisé. Il est caractéristique de la réponse TH1 et particulièrement important dans l'immunité protectrice contre les *Chlamydia*. L'IFN  $\delta$  contribue au contrôle de l'infection génitale. Il entraîne une déplétion en tryptophane, acide aminé essentiel à la croissance de *Chlamydia*, par induction de l'enzyme 2,3 dioxxygenase et stimule la production de NO bactéricide [14].

#### **3.2.1. Chez la souris.**

Une série d'expérience sur les souris [41] met en évidence le rôle de l'IFN  $\delta$  :

- un traitement avec des anticorps anti-IFN  $\delta$  entraîne une prolongation significative de l'infection génitale tandis que l'administration passive d'IFN  $\delta$  à des souris « nudes » chroniquement infectées aboutit à la guérison de quelques animaux.
- la déficience en récepteur de l'IFN  $\delta$  entraîne une infection primaire ascendante sévère de durée prolongée ; malgré une production importante d'IgA et IgG locales ces souris ne sont pas protégées contre une réinfection.
- les cellules NK (Natural Killer) produisent de l'IFN  $\delta$  et jouent un rôle important lors de l'infection génitale de la souris. La déplétion en NK exacerbe le cours de l'infection et entraîne une réponse de type TH2. Cependant nous ne savons pas si les observations chez la souris sont représentatives de ce qui se passe chez la femme.

#### **3.2.2. In vitro**

*In vitro* l'IFN  $\delta$  entraîne un arrêt de la réplication des CR mais pas leur élimination. Ainsi s'expliqueraient la persistance ou la latence et la reprise possible de la réplication par déplétion en IFN  $\delta$ . L'inhibition de la croissance chlamydienne par l'IFN  $\delta$  diffère entre les espèces et les souches de *Chlamydia trachomatis*. Cette différence pourrait influencer profondément le cours de l'infection. Les études rapportant des effets minimes ou nuls de l'IFN  $\delta$  ont été menées avec des souches de *Chlamydia trachomatis* sérovars L2, de *Chlamydia muridarum* qui s'avèrent très résistantes. Au contraire, les souches de *Chlamydia trachomatis* des sérovars A ou B sont très sensibles à l'IFN  $\delta$ . Cette différence de sensibilité pourrait être liée au fait que le tryptophane n'est un acide aminé essentiel que pour certaines chlamydia. En effet, l'opéron permettant la biosynthèse du tryptophane a été détecté dans les génomes des sérotypes D et L2 de *Chlamydia trachomatis* et de *Chlamydia muridarum*, mais

il est absent dans le génome de *Chlamydomyphila pneumoniae*, qui est très sensible à l'action de l'IFN  $\delta$  [50].

### **3.3. Rôle du facteur de nécrose tissulaire $\alpha$ (TNF $\alpha$ )**

Le TNF  $\alpha$  intervient dans la résistance non spécifique. Il agit en synergie avec l'IFN  $\delta$ . Il inhibe la conversion des CR en CE *in vitro* et a une action anti chlamydienne directe. Le TNF  $\alpha$  a été mis en évidence dans les sécrétions génitales de souris et de cobayes 2 à 3 jours après inoculation intra-vaginale. Il pourrait être responsable de l'afflux local des polynucléaires neutrophiles et à l'origine de l'activation des cellules NK pendant les jours de l'infection. La déplétion en TNF  $\alpha$  entraîne une diminution du nombre de cellules en apoptose dans les cornes utérines au 7<sup>ème</sup> jour chez la souris.

### **3.4. Rôle des cellules dendritiques et épithéliales**

Le rôle des cellules présentatrices de l'antigène est important dans le déroulement de la réponse immunitaire.

#### **3.4.1. Cellules dendritiques**

Ce sont les cellules dendritiques qui sont les plus efficaces. Elles sont présentes en quantité abondante dans de nombreux organes tels que le vagin, le col de l'utérus et dans d'autres tissus épithéliaux. Préalablement incubées avec des *Chlamydiae*, les cellules dendritiques présentent les antigènes bactériens spécifiques des *Chlamydiae* aux Lymphocyte T CD4. Les cellules dendritiques induisent une réponse efficace contre *Chlamydia trachomatis*. Elles sécrètent une cytokine pro-inflammatoire (IL-12) qui intervient dans l'initiation de la réponse de type TH1.

#### **3.4.2. Les cellules épithéliales**

Il a aussi été suggéré que les cellules épithéliales infectées pouvaient jouer un rôle dans l'initiation du processus inflammatoire par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que IL-1  $\alpha$  et IL-8 [5].

## **4) Vaccination**

Quelques essais de vaccination ont été menés chez l'homme avec des résultats variables [56]. Certaines études mettent en évidence une protection de courte durée et partielle. Cette protection a pu être obtenue avec une forte quantité de corps élémentaires. En revanche, lors d'une infection, d'autres études ont montré une augmentation des symptômes et l'établissement d'une réaction d'hypersensibilité. De toute façon, le coût élevé de la préparation des corps élémentaires a fait abandonner ces études car il était excessif par rapport à celui des antibiotiques.

Il a été suggéré d'utiliser la MOMP de *Chlamydia trachomatis* comme vaccin, mais il faudrait associer plusieurs sérotypes ou vacciner avec les parties constantes. Des études chez la souris ont mis en évidence une réponse de type TH1 avec hypersensibilité retardée accompagnée d'une augmentation de la sécrétion d'IFN  $\delta$ , d'une baisse de la production d'anticorps ainsi qu'une prolifération lymphocytaire ; cependant l'effet anti-bactérien reste modeste. L'utilisation d'un vaccin tué pourrait avoir un effet délétère. Ce vaccin pourrait ne pas prévenir une infection et quand celle-ci surviendrait elle équivaldrait à une réinfection en induisant des lésions plus importantes que celles dues à la primo-infection.

## **VIII/ FACTEURS FAVORISANT LES INFECTIONS A CHLAMYDIA**

Les infections à *Chlamydia* sont favorisées par des facteurs génétiques d'une part et par des facteurs hormonaux d'autre part.

### **1) Rôle des facteurs génétiques**

Certains travaux suggèrent que les facteurs génétiques liés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I sont associés à une résistance ou à un risque accru d'infections à *Chlamydia trachomatis*.

#### **1.1. Dans la population humaine**

Le risque de maladie inflammatoire pelvienne est augmentée chez les femmes HLA-A31 ayant une infection à *Chlamydia trachomatis*. En revanche, les allèles de classe II ne sont pas forcément corrélés à une augmentation du risque de stérilité tubaire chez les femmes ayant des anticorps anti-*Chlamydia trachomatis*.

Chez l'homme, il est admis que les complications à type d'arthrite réactionnelle observées dans le syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter surviennent préférentiellement chez les sujets possédant l'antigène HLA-B27 [29].

#### **1.2. Chez le macaque**

Chez le macaque, des différences de sensibilité ou des résistances à l'infection sont également liées au CMH de classe I. Une injection unique de *Chlamydia trachomatis* chez des animaux sensibles provoque une réaction inflammatoire pelvienne dans les deux semaines.

En revanche, chez des animaux résistants, cette réaction inflammatoire pelvienne apparaît deux semaines après une 2<sup>ème</sup> injection de *Chlamydia trachomatis*.

### **1.3. Chez la souris**

La sensibilité à l'infection est également sous contrôle génétique. Cette différence de sensibilité n'est pas associée uniquement au système majeur d'histocompatibilité mais à des fonds génétiques différents. Une salpingite expérimentale peut être créée chez les souris C3H qui présentent des lésions importantes et une diminution de la fertilité, alors que les lésions sont discrètes chez d'autres souris (TO et CBA) et que certaines sont résistantes (C57/BI).

## **2) Rôle des facteurs hormonaux**

### **2.1. Chez la femme**

Le risque d'infection cervicale à *Chlamydia trachomatis* augmente chez les femmes sous contraceptifs oraux [5]. En revanche, le risque de maladie inflammatoire pelvienne diminue. Aucun effet n'est constaté sur le risque de stérilité tubaire.

Le mécanisme de protection vis-à-vis du risque de maladie inflammatoire pelvienne n'est pas connu.

### **2.2. Chez le cobaye**

Le système de reproduction du cobaye femelle se rapproche morphologiquement et histologiquement de celui de la femme. Le cycle œstral est de 17 jours.

Un traitement quotidien avec des doses physiologiques et thérapeutiques d'œstradiol ou avec un contraceptif oral à dominante œstrogénique augmente la durée et l'intensité de l'infection. En revanche, un traitement à la progestérone n'a pas d'incidence sur l'évolution de l'infection mais n'est pas capable de supprimer l'effet des œstrogènes.

### **2.3. Chez la souris**

L'inoculation de *Chlamydia trachomatis* dans la bourse ovarienne des souris provoque une salpingite expérimentale. On traite un groupe de souris par de la progestérone 7 jours avant l'inoculation de *Chlamydia trachomatis*. Toutes les souris traitées sont infectées. En revanche, aucune souris n'est infectée dans le groupe non traité. L'inoculation par voie vaginale de la souche MoPn (souche de *Chlamydia muridarum*) des souris C3H durant la phase lutéale du cycle entraîne un plus grand nombre d'infections génitales hautes que durant la phase folliculaire.

Chez la rate ovariectomisée, les animaux traités par de la progestérone montrent une inflammation sévère du vagin et de l'utérus contrairement aux animaux recevant de l'œstradiol ou les deux hormones.

Ces résultats des études animales suggèrent que l'infection chlamydienne chez la femme ne doit pas avoir les mêmes conséquences selon la période du cycle où elle se produit .

## **IX/ PERSISTANCE PAR ALTERATION DU CYCLE DE DEVELOPPEMENT**

### **1) In vitro**

Dans certaines conditions, un retard de la maturation des CR ou une inhibition de la différenciation des CR en CE entraînent une altération du cycle de développement. Ce phénomène qui présente une série d'altérations morphologiques et physiologiques de *Chlamydia* est dénommé par certains auteurs : « forme cryptique ». La division des CR est fortement ralentie avec d'une part la formation de CR géants et d'autre part l'arrêt de la maturation en CE. Dans cette relation particulière hôte-bactérie, la bactérie est viable mais non cultivable. *In vitro*, cette condition peut être induite par plusieurs facteurs :

- l'absence de nutriments essentiels (acides aminés, vitamines B) bloque le développement de *Chlamydia* et des cellules hôtes.
- la présence de facteurs immunologiques tels que l'IFN  $\delta$  inhibe la maturation des CR en CE par induction de l'activité de l'indolamine 2,3 dioxygénase (IDO) qui dégrade le tryptophane indispensable à la croissance de *Chlamydia trachomatis*. L'IFN  $\delta$  est le médiateur d'une infection persistante qui peut être maintenue en culture cellulaire pendant plusieurs semaines de manière réversible.
- la présence d'antibiotiques tels que les pénicillines provoque des altérations morphologiques et physiologiques similaires à celles induites par l'IFN  $\delta$ . L'action de ces antibiotiques se traduit par une inhibition complète de l'expression d'OMP2 et d'OMP3, mais la synthèse de la MOMP est très peu affectée. La maturation des CR en CE est inhibée et des CR géants se forment présentant souvent des divisions cellulaires inégales qui aboutissent au bourgeonnement de CR de petite tailles. L'inclusion n'est plus détectable ; cependant la multiplication de la bactérie est ralentie mais non arrêtée [3]. En effet, en utilisant le système *Chlamydia trachomatis*-amoxicilline il a été montré que les concentrations d'antibiotique nécessaire pour l'inhibition complète des ARNm sont 200 fois plus élevées que celles suffisantes pour empêcher la formation d'inclusions détectables en immunofluorescence. L'existence chez *Chlamydia trachomatis* de l'ensemble des gènes qui effectuent la biosynthèse du peptidoglycane fournit une base rationnelle aux effets des pénicillines sur le cycle chlamydien. L'hypothèse selon laquelle le peptidoglycane de *Chlamydia* joue un rôle dans la division et/ou la maturation du CR n'est pas en contradiction avec l'induction

de formes aberrantes par les pénicillines et de plus expliquerait certains résultats rapportant la présence de peptidoglycane dans le CR.

Des infections cryptiques ont été maintenues jusqu'à un an en culture cellulaire et l'élimination du facteur stress a souvent été suffisante pour permettre la réapparition du cycle normal [4]. Les CR géants présentent plusieurs sites de condensation de l'ADN et se différencient en plusieurs CE capables d'initier un nouveau cycle infectieux.

Au cours de l'infection cryptique, l'expression génique est fortement altérée :

- la HSP60 est produite en grande quantité.
- les protéines de membranes autres que la MOMP sont complètement absentes.
- la MOMP reste présente en très faible quantité.
- la LPS reste également présent en faible quantité.

Cette altération de l'expression génique explique le fait qu'en condition cryptique, l'inclusion chlamydienne n'est plus détectable à l'examen microscopique souvent effectué avec les anticorps marqués spécifiques des protéines de membranes. L'expression de l'ARNr16S à des niveaux quasi normaux indique le maintien d'une activité transcriptionnelle et traductionnelle.

## **2) Infection persistante in vivo**

Chez l'hôte, les *Chlamydia* induisent une réponse immunologique de type cellulaire (TH1). Des infections répétées jouent certainement un rôle dans la stimulation de cette réponse et dans l'induction des changements pathologiques. De plus, l'infection persistante par des formes cryptiques de *Chlamydia* pourrait également jouer un rôle dans la pathologie par une stimulation chronique de la réponse immunitaire. L'hypothèse d'une infection persistante *in vivo* a été émise par Schachter en 1978. Celui-ci a mis en évidence des cas de développement de trachome aigu chez des individus adultes qui ont quitté depuis leur enfance les zones d'endémie et qui n'ont pas développé d'infection oculaire depuis leur départ de ces zones. Il a donc été supposé qu'une infection dans l'enfance évoluerait pour son propre compte, à bas bruit et aboutirait en l'absence de réinfection à une infection oculaire chronique conduisant au trachome.

Suite à cette découverte des recherches ont été menées au niveau des pathologies sexuelles provoquées par *Chlamydia trachomatis*. Ces études apportent d'autres arguments en faveur d'une infection cryptique *in vivo*. La présence d'acides nucléiques et d'antigènes chlamydiens en l'absence d'isolement en culture cellulaire ont été mis en évidence non seulement chez des patients atteints du syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter mais aussi chez des femmes souffrant de problème de stérilité. Certaines de ces études ont rapporté la détection d'ARN (les ARN sont facilement et rapidement dégradés *in vivo*) ce qui suggère la présence de microorganismes vivants. De plus, les inclusions de *Chlamydia* peuvent apparaître après

plusieurs passages en série d'échantillon initialement négatif. Cela permet d'évoquer la présence de formes cryptiques chez le patient, réactivées en formes normales après les passages en culture cellulaire par élimination de la source de stress présente *in vivo*.

Les gènes de biosynthèse du tryptophane permettent à *Chlamydia trachomatis* de mieux survivre dans les cellules infectées en condition de déplétion de l'acide aminé induite par l'IFN  $\delta$  au cours de la réponse immunitaire [14]. *Chlamydia trachomatis* peut aussi parvenir à l'établissement d'une infection persistante qui permet la transmission de la bactérie lors des contacts sexuels.

Aujourd'hui encore, nous n'avons pas la preuve que *Chlamydia trachomatis* provoque une infection cryptique *in vivo*. Il peut être simplement supposé qu'une infection à *Chlamydia trachomatis in vivo* est caractérisée par une succession continue :

- de cycles aberrants induits par la production locale de cytokines et la limitation de substances nutritives.
- de cycles productifs qui réapparaissent quand les conditions favorables sont rétablies.

Les *Chlamydia* pourraient persister ainsi plusieurs mois voir plusieurs années chez leurs hôtes.

L'infection chronique serait une succession d'entrées en état cryptique et d'activations. Ceci permettrait d'expliquer comment la bactérie peut persister dans l'épithélium en renouvellement constant.

## **X/ METHODES DIAGNOSTIQUES**

### **1) Diagnostic bactériologique direct**

Pour *Chlamydia trachomatis* de nombreuses techniques sont maintenant disponibles.

Ces techniques font appel à des principes différents à savoir :

- la culture cellulaire.
- la détection des antigènes.
- la détection du génome.

Le choix de la méthode dépendra du prélèvement et du contexte clinique.

## **1.1. Prélèvements**

D'une manière générale, le prélèvement doit contenir des cellules, être mis dans un milieu de transport adéquat et être fait en dehors de toute antibiothérapie. Les conditions de conservation varient selon la technique de diagnostic utilisée.

### **1.1.1. Matériel de prélèvement**

L'écouvillon sert à réaliser des prélèvements génitaux et oculaires. Cet écouvillon peut être en coton, en alginate ou en dacron mais il ne faut en aucun cas utiliser un écouvillon ayant une tige en bois [27]. Il faut préférer les écouvillons à olive plastique pour les femmes et les écouvillons à tige métallique pour les hommes et pour les prélèvements conjonctivaux.

Les écouvillons doivent être déchargés dans un milieu de transport. Il est préférable de retirer ceux-ci du milieu de transport en raison d'une toxicité possible.

Pour l'examen direct des frottis devant être colorés par des anticorps monoclonaux fluorescents, l'écouvillon doit être déroulé sur une lame et les frottis fixés au méthanol ou à l'acétone. Les pièces opératoires doivent être placées en milieu de transport.

Pour le prélèvement endocervical, la cytobrosse permettrait de collecter davantage de cellules et de mieux récupérer les bactéries.

### **1.1.2. Sièges des prélèvements**

#### **1.1.2.1. Recherche de *Chlamydia trachomatis* dans les voies génitales masculines**

Chez l'homme, il faut prélever dans l'urètre (photo n° 9) sur 2 à 3 cm à partir du méat sans provoquer de saignements [26]. Le prélèvement est fait avant miction de façon à recueillir également les sécrétions qui sont souvent peu abondantes. Le matériel utilisé peut être :

- une olive striée en plastique.
- un écouvillon fin en nylon ou en dacron chimiquement neutre monté sur une tige d'aluminium.

Les techniques d'amplifications géniques sont très sensibles et la recherche des acides nucléiques bactériens peut être faite à partir des urines. Ce prélèvement très pratique peut être utilisé pour le dépistage. La seule contrainte est l'obtention du premier jet d'urine qui est riche en cellule.

Le sperme est un prélèvement qui ne convient pas pour la culture cellulaire du fait de sa cytotoxicité. Il peut être recueilli stérilement par masturbation et les *Chlamydia* seront recherchées par immunofluorescence. Cette recherche peut également être faite par amplification génique bien que les techniques utilisées ne soient pas, pour le moment, validées et qu'elles soient sujettes à des faux négatifs du fait de la présence d'inhibiteurs dans le prélèvement.

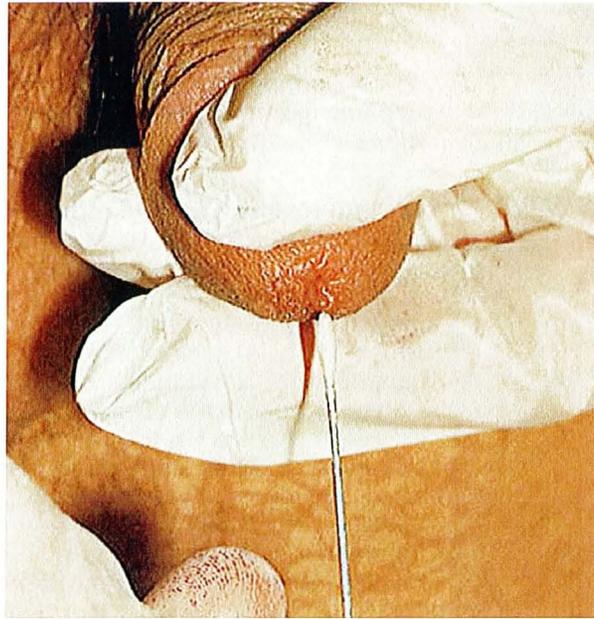


Photo n° 9 : Réalisation d'un prélèvement urétral [75].

### **1.1.2.2. Prélèvements urogénitaux chez la femme**

Les prélèvements se font sous spéculum. Chez la femme le prélèvement urétral est pratiqué comme chez l'homme c'est à dire après avoir vidé la vessie il faut insérer l'écouvillon dans le canal urétral. Il faut faire tourner l'écouvillon pendant au moins 5 secondes [26]. Ensuite, on réalise le retrait de l'écouvillon que l'on dépose dans le milieu de transport. Le prélèvement de l'endocol doit être effectué après la toilette du col avec un tampon de gaze stérile. On réalise l'introduction de l'écouvillon dans le canal endocervical à une profondeur de 2 à 3 cm. Il faut faire tourner l'écouvillon plusieurs fois pendant 10 à 30 secondes. Enfin, on retire l'écouvillon sans toucher les parois vaginales, écouvillon que l'on dépose dans le milieu de transport. L'association de ces deux sites (urétral et endocervical) permet d'optimiser la recherche de la bactérie. Les écouvillons des deux sites doivent être déchargés dans le même milieu de transport. L'olive striée est également utilisée pour prélever dans l'endocol et l'urètre.

Dans le cadre d'un dépistage, c'est à dire sans examen gynécologique, le premier jet d'urine sans nettoyage périnéal préalable est un prélèvement acceptable à condition d'utiliser une technique d'amplification avec contrôle interne.

D'autres prélèvements comme le simple écouvillonnage vaginal ou vulvaire semblent donner, avec les méthodes d'amplification des résultats aussi intéressants que les urines.

### **1.1.2.3. Prélèvements tubaires ou péritonéaux**

Ces deux prélèvements sont effectués sous cœlioscopie. Plusieurs gestes peuvent être pratiqués :

- un grattage de l'orifice des trompes.
- le recueil de liquide dans le cul-de-sac de Douglas.

### **1.1.2.4. Prélèvements anaux**

Les prélèvements anaux sont obtenus par grattage de la muqueuse du canal anal.

### **1.1.2.5. Prélèvements lors de suspicion de LGV**

Il faut effectuer une aspiration à la seringue du ganglion d'adénite et éventuellement un frottis de la muqueuse rectale ou une biopsie [75].

### **1.1.2.6. Prélèvements oculaires**

Les prélèvements oculaires sont effectués en grattant la conjonctive inférieure chez le nouveau-né en cas de suspicion d'infection par une *Chlamydia* d'origine génitale. Il sera nécessaire d'éliminer les exsudats purulents à l'aide d'un tampon stérile.

### **1.1.2.7. Prélèvements lors d'une pneumopathie tardive du nouveau-né**

Dans le cas de pneumopathies tardives du nouveau-né, le prélèvement consistera en un prélèvement pharyngé ou une aspiration endotrachéale.

### **1.1.2.8. Prélèvements en cas de suspicion de syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter**

Devant une arthrite ou des manifestations évoquant un syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter, *Chlamydia trachomatis* peut être recherché :

- dans le liquide articulaire prélevé par ponction.
- au niveau génital.
- au niveau conjonctival.

### **1.1.3. Prélèvements en fonction du contexte clinique.**

Ce point est présenté par le tableau n° 4 :

<b>CONTEXTE CLINIQUE</b>	<b>PRELEVEMENTS</b>
Infection génitale basse symptomatique	F : écouvillonnage endocol + urètre H : écouvillonnage urétral ou 1 <sup>er</sup> jet d'urine
Dépistage	H et F : 1 <sup>er</sup> jet urine F : écouvillonnage vaginal/ vulvaire
Infection génitale haute	F : écouvillonnage endocol + urètre et prélèvements percoelioscopies (trompe, liquide du cul-de-sac de Douglas). H : urine du 1 <sup>er</sup> jet, sperme
LGV	ulcération génitale bubon inguinal
Infection conjonctivale	grattage conjonctive inférieure
Pneumopathie du nouveau né	aspiration nasopharyngée, endotrachéale
Arthrite réactionnelle	prélèvements génitaux + ponction articulaire + conjonctive

Tableau n° 4 : sites de prélèvements en fonction du contexte clinique [5].

### **1.1.4. Prise en charge du prélèvement**

#### **1.1.4.1. Prélèvement pour mise en culture**

##### **1.1.4.1.1. Milieu de transport**

Une fois le prélèvement effectué, il faut le déposer dans un milieu de transport pour protéger les cellules recueillies et les bactéries qui sont fragiles en dehors du corps humain. Le prélèvement est déposé dans du milieu hypersaccharosé (2SP ; 0,2M saccharose, 15mM K2 HPO4, 6mM KH2PO4) [17] qui peut être supplémenté avec 5% de sérum de veau fœtal (ou

de sérumalbumine bovine). L'addition d'antibiotiques (vancomycine, gentamicine et amphotéricine ou nystatine) est nécessaire pour éviter les souillures car les prélèvements proviennent de sites contaminés [26].

Si le prélèvement est effectué par grattage, il peut être directement relargué ou bien l'extrémité de l'olive striée est coupée et laissée dans le milieu de transport.

En revanche, si le prélèvement est effectué à l'écouvillon, ce dernier sera déchargé dans le milieu puis éliminé [18].

#### **1.1.4.1.2. Conservation des prélèvements**

Si le prélèvement doit être traité dans les 24 à 48 h, il faut déposer le milieu de transport inoculé immédiatement à + 4°C [27]. Si le délai avant le traitement au laboratoire est plus long, il faut congeler le tube à -70°C mais ceci aux dépens d'une perte de viabilité de la bactérie. La conservation à -20°C néfaste non seulement pour la bactérie mais également pour les antigènes bactériens doit être évitée.

Seule la culture exige des conditions strictes de transport, délai et température de manière à ne pas affecter la viabilité de la bactérie.

#### **1.1.4.2. Prélèvements pour les autres techniques de diagnostic**

Les milieux de transport permettant l'extraction des antigènes ou des acides nucléiques supportent une température ambiante pendant 24 à 48 h et une semaine à + 4°C.

Pour l'immunofluorescence directe, un frottis sur lame bien étalé et fixé, en général, au méthanol est suffisant.

Pour la biologie moléculaire, la conservation du prélèvement à + 4°C suffit. Les contraintes de temps et de milieu de conservation sont limitées car le prélèvement est traité pour l'extraction de l'ADN. L'utilisation de l'eau physiologique comme milieu de transport est suffisante pour un frottis. Les liquides ou les biopsies doivent être déposés dans un tube sec. Dans tous les cas, il faut quand même amener le prélèvement sans délai au laboratoire mais le transport ne nécessite pas de précautions particulières.

### **1.2. Culture cellulaire**

#### **1.2.1. Introduction**

La culture cellulaire de *Chlamydia trachomatis* est réservée aux laboratoires spécialisés disposant d'installations spécifiques. Pour le diagnostic, un laboratoire de sécurité L2 est nécessaire.

#### **1.2.2. Modalités de la culture**

La mise en culture est possible à partir d'un grand nombre de type de prélèvement. La culture ne convient pas à certains prélèvements comme le sperme qui peut poser un problème de toxicité pour les cellules. Certains auteurs ajoutent que des prélèvements tels que les urines, les liquides péritonéaux et articulaires ne conviennent pas non plus à la mise en culture

toujours en raison de leur toxicité cellulaire. Les biopsies doivent être broyées et diluées dans du milieu 2 SP avant inoculation.

Deux lignées cellulaires sont habituellement utilisées pour la culture de *Chlamydia trachomatis* [27] :

- les cellules *Mc Coy*.
- les cellules *HeLa 229*.

Le prélèvement est déposé sur un tapis cellulaire établi. La culture est faite sur des plaques à 24 puits ou dans des flacons individuels. Au fond des puits, une lame de verre sur laquelle sont étalées les cellules permet de récupérer après incubation le tapis cellulaire pour faire une coloration à la recherche des inclusions de *Chlamydia trachomatis*.

La culture est souvent faite à partir de prélèvements plurimicrobiens (urètre, endocol). Il est donc nécessaire d'ajouter des antibiotiques et des antifongiques dans le milieu pour éviter toute souillure. Il faut proscrire les pénicillines car comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, elles inhibent la réplication de la bactérie. Toutefois, la gentamicine ou l'amikacine peuvent être utilisées ainsi que la fungizone.

### **1.2.3. Facteurs affectant le résultat de la culture cellulaire**

A toutes les étapes, on peut mettre en évidence des facteurs affectant le résultat des cultures [27].

Au niveau du prélèvement :

- qualité de l'écouvillon.
- milieu de transport.
- conditions de transport.
- conservation du prélèvement.

Au niveau des modalités de la culture cellulaire :

- choix de la lignée.
- préparation des cellules.

A d'autres niveaux :

- la quantité de prélèvementensemencée.
- la vitesse et température de centrifugation.
- la révélation des inclusions.

La sensibilité de la culture a été améliorée par l'étape de centrifugation qui favorise le contact entre la bactérie et les cellules. Cette centrifugation est indispensable pour la recherche de *Chlamydia trachomatis*.

L'infection est également favorisée par le traitement des cellules par le DEAE-dextran qui a été proposé comme alternative à la centrifugation.

Un traitement des cellules à la cycloheximide provoque le blocage de leur métabolisme protéique mais préserve leur métabolisme énergétique nécessaire au développement de la bactérie. Ce traitement favorise la multiplication des *Chlamydia*.

#### **1.2.4. Révélations**

Seules les inclusions de *Chlamydia trachomatis* contiennent du glycogène.

Dans les débuts du diagnostic des infections génitales à *Chlamydia trachomatis*, on utilisait cette propriété si bien qu'avec le réactif de Lugol les inclusions étaient colorées en brun foncé.

On peut également utiliser la coloration *May-Grunwald-Giemsa* (MGG) qui colore les inclusions de *Chlamydia trachomatis* de teinte claire avec peu de corps bactériens à l'intérieur. Elles peuvent être visualisées au microscope à fond noir où elles apparaissent vert brillant sur un fond violet foncé. Cette méthode était utilisée pour le diagnostic avant la mise à disposition des anticorps monoclonaux utilisés maintenant pour la révélation des inclusions [27].

Aujourd'hui, des anticorps monoclonaux spécifiques de *Chlamydia trachomatis* sont commercialisés. Ces anticorps peuvent être marqués à la fluorescéine, à la peroxydase ou encore à la phosphatase alcaline. Ceci permet l'examen des cellules au microscope à fluorescence ou au microscope optique.

L'utilisation de tout autre système de révélation des inclusions (extraction d'antigènes et coloration enzymatique, sonde moléculaire) est moins sensible.

#### **1.2.5. Intérêt de la culture**

L'intérêt de la culture est le recueil des souches nécessaire à leur identification au niveau du sérovar et à l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques. L'identification des sérovats de *Chlamydia trachomatis* si elle n'a pas d'application thérapeutique immédiate présente un intérêt épidémiologique et, au niveau individuel, permet de différencier les recontaminations des rechutes dans la mesure où les deux souches isolées n'ont pas le même sérovar.

#### **1.2.6. Conclusion**

Pour *Chlamydia trachomatis*, la culture cellulaire reste la méthode de référence avec une spécificité de 100% mais une sensibilité extrêmement variable d'un laboratoire à l'autre en raison de l'impossibilité de standardiser toutes les étapes. La sensibilité dépend également du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon et de leur état répliatif, fonction du stade de la maladie, aiguë ou chronique. Elle est dans les meilleurs cas de 80 à 90% mais elle peut descendre à 50%.

### **1.3. Techniques immunologiques**

#### **1.3.1. Immunofluorescence directe**

Le test d'immunofluorescence directe consiste à étaler l'échantillon prélevé par écouvillonnage sur lame [5]. L'examen au microscope UV permet de vérifier si le prélèvement obtenu est de qualité. Il doit contenir des cellules épithéliales, témoin de la qualité du prélèvement.

Lorsque le diagnostic est positif, les *Chlamydia* apparaissent de différentes façons selon qu'il s'agit de corps élémentaires (CE) ou de corps réticulés (CR). Les CE apparaissent comme des points brillants tandis que les CR ont l'aspect de petits anneaux de couleur vert pomme. Lorsqu'un prélèvement contient au moins 5 corps élémentaires il est positif.

Très rarement des inclusions intracellulaires peuvent être observées.

L'immunofluorescence directe nécessite un observateur entraîné. Pour la recherche de *Chlamydia trachomatis*, l'immunofluorescence directe est réservée aux prélèvements urétraux, génitaux et oculaires. Cette technique présente l'avantage d'une grande sensibilité pour un observateur entraîné mais son inconvénient majeur est celui de la subjectivité de la lecture [26].

### **1.3.2. ELISA**

L'automatisation de la lecture de la plupart des tests ELISA permet non seulement de pouvoir traiter un grand nombre d'échantillon mais aussi d'avoir un résultat objectif. Il existe des tests unitaires mais peu sensibles. Les inconvénients de ces tests sont leur manque de sensibilité (elle est au mieux de 50%) et parfois leur manque de spécificité du fait de l'absence de contrôle visuel. Un test de confirmation devrait être systématiquement pratiqué pour les résultats positifs. Ces tests de confirmation augmentent le coût du diagnostic ainsi que les délais de rendu de résultat. Cependant, grâce à l'utilisation des anticorps monoclonaux, ils permettent d'obtenir une spécificité proche de 100%. Les tests sur membranes ont l'avantage d'être simples d'utilisation et rapides (30 minutes) mais sont réservés aux prélèvements endocervicaux.

Cette technique immunoenzymologique est de moins en moins utilisée du fait du développement des techniques d'amplification génique, qui bénéficient d'une excellente sensibilité.

## **1.4. Tests de biologie moléculaire avec ou sans amplification génique**

Les techniques de biologie moléculaire sont les plus utilisées pour le diagnostic des infections à *Chlamydia trachomatis*. En effet, *Chlamydia trachomatis* est l'une des premières bactéries à avoir bénéficié du diagnostic de routine par polymérase chain reaction (PCR) dans certains laboratoires de biologie médicale. Ces techniques sont réalisables dans les laboratoires qui possèdent les installations permettant d'opérer dans de bonnes conditions.

Toutes ces techniques sont généralement très sensibles et très spécifiques (> 98%). Elles sont semi automatisées et permettent de s'affranchir des contraintes particulières de conservation des prélèvements. Elles constituent un outil de détection intéressant sur les échantillons pour lesquels la culture et les tests antigéniques sont en défaut notamment les urines, le liquide articulaire, le sperme et les tissus [27].

### **1.4.1. La cible**

Les cibles utilisées sont soit le plasmide, soit le gène de la MOMP. Le plus souvent la cible d'amplification est définie sur le plasmide ; en effet celui-ci est très conservé dans toutes les souches humaines et présente l'avantage d'être multicopies. La sensibilité de la technique est ainsi meilleure [14].

### **1.4.2. Intérêt de la biologie moléculaire.**

L'amplification génique trouve une bonne indication pour le dépistage des infections à *Chlamydia trachomatis* car elle permet la recherche de la bactérie à partir des urines. Elle a permis d'augmenter la sensibilité du dépistage ainsi que la recherche de la bactérie dans les prélèvements avec lesquels la culture est le plus souvent négative, tels ceux effectués au cours d'une coelioscopie.

La recherche des acides nucléiques joue un rôle majeur dans le cadre d'études physiopathologiques notamment dans les cas de processus inflammatoires chroniques dans lesquels la présence de *Chlamydia* est suspectée. Souvent la culture ne permet pas la détection de la bactérie mais l'amplification génique quant à elle met en évidence l'ADN bactérien à partir des prélèvements biopsiques. Ceci permet donc de rattacher les lésions à la bactérie. La recherche des ARN bactériens à partir de ces sites permet, en cas de positivité, non seulement d'affirmer la présence de la bactérie mais aussi la présence d'une activité métabolique.

### **1.4.3. Les différentes méthodes**

Il existe actuellement quatre tests de détection par amplification génique de *Chlamydia trachomatis* disponibles sur le marché français mettant en jeu des principes totalement différents. Il s'agit de :

- la PCR : polymerase chain reaction.
- Gap-LCR : ligase chain reaction.
- TMA : Transcription mediated amplification.
- SDA : Strand displacement amplification.

#### **1.4.3.1. Polymerase chain reaction (PCR) ou réaction de polymérisation en chaîne**

Le test commercialisé en France sur le principe de la PCR porte le nom d'AMPLICOR® Roche Diagnostics [27]. Le principe est l'amplification cyclique d'un segment de l'ADN cible située entre deux amorces dont la séquence est spécifique de l'ADN recherché. La technique met en jeu une ADN polymérase ADN-dépendante thermorésistante (le plus souvent de *Thermus aquaticus*).

La réaction se déroule en trois étapes [14] :

- 1) fusion de l'ADN pour séparer les 2 brins appariés (92- 94°C).
- 2) hybridation des amorces (45- 60°C).
- 3) élongation par l'ADN polymérase

L'augmentation de la quantité d'ADN est exponentielle (en théorie) et après quelques cycles, seule la partie encadrée par les amorces est produite en quantité notable.

La détection de l'ADN amplifié peut être faite sur gel d'agarose avec du bromure d'éthidium après électrophorèse, qui permet de vérifier que le brin amplifié a bien la taille attendue, ou par hybridation en phase solide. Dans les techniques quantitatives récentes, la réaction est suivie en temps réel grâce à un fluorophore qui s'insère dans l'ADN double brin et devient alors fluorescent (SYBR green). L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'ADN synthétisé.

Pour la recherche de l'ARN, une étape préalable de synthèse d'ADNc est réalisée à l'aide d'une transcriptase inverse (ADN polymérase ARN dépendante) de rétrovirus, le plus souvent à l'aide d'une des amorces utilisée ensuite pour la PCR proprement dite.

### **1.4.3.2. Gap-LCR (ligase chain reaction) ou réaction de ligation en chaîne**

Le test commercialisé en France basé sur le principe de la LCR porte le nom de LCX® Abbott.

La réaction de ligation en chaîne est une technique qui met en jeu deux enzymes thermoresistantes de *Thermus aquaticus* :

- l'ADN polymérase ADN dépendante.
- la ligase.

Dans la mise en œuvre, la gap-LCR est proche de la PCR puisqu'elle se déroule de façon cyclique. Cependant, elle utilise deux jeux d'amorces qui ne sont séparés sur chacun des brins que par trois nucléotides. L'espace manquant se compose respectivement de dTdTdC et dCdTdC. Seuls deux desoxynucléotides sont donc nécessaires pour que la réaction d'amplification ait lieu. Après la fusion, les amorces s'hybrident à l'ADN cible. La polymérase assure la mise en place des nucléotides manquant puis la ligase relie les deux amorces.

A l'étape suivante, l'hybridation sera donc sur le segment ainsi obtenu aboutissant à la formation d'amplicons de taille limitée dont la production est exponentielle [14].

### **1.4.3.3. Transcription mediated amplification (TMA) ou amplification isotherme d'ARNr après action d'une transcriptase inverse et d'une ARN polymérase**

Le test commercialisé en France par le laboratoire Gen-Probe biomérix porte le nom de TMA® [5].

C'est une technique d'amplification de l'ARN et de l'ADN qui se déroule en continu à température constante (42°C) après une étape initiale de fusion à 94°C.

La première étape consiste en une transcription qui synthétise un ADN double brin à partir d'un ARN (ou d'un ADN). Cette étape utilise une amorce marquée avec la séquence promotrice reconnue par l'ARN polymérase ADN dépendante du bactériophage caudé T3.

La deuxième amorce permet d'encadrer le segment d'ADN à amplifier. Une fois l'ADN double brin synthétisé, l'ARN polymérase de T3 synthétise des ARN qui serviront de substrat à la transcriptase inverse.

Le cycle ainsi mis en route aboutit rapidement à la formation d'une grande quantité d'ARN (et d'ADN). Les amplicons peuvent être détectés par hybridation. La TMA est automatisée et peut être modifiée pour être rendue quantitative [14].

#### **1.4.3.4. Stand displacement amplification (SDA) ou amplification par déplacement de brin**

Le test BD Probetec® est commercialisé en France par le laboratoire Becton-Dickinson. C'est un système complexe d'amplification de l'ADN à température constante de 50 à 55°C. Elle met en jeu deux enzymes de *Bacillus stearothermophilus* :

- une ADN polymérase ADN dépendante dépourvue d'activité exonucléase 5' (fragment de klenow de la polymérase I de Kornberg).
- une enzyme de restriction qui coupe la séquence 5'C<sup>^</sup>T(C)CGA(G)G3'.

La synthèse d'ADN repose sur l'existence d'un site de restriction asymétrique puisque l'amorce porte une cytosine non modifiée en amont du site de coupure. Après amorçage interne, le site de coupure est donc respecté. Néanmoins, le brin sur lequel s'hybride l'amorce porte le site complémentaire qui a été synthétisé *in vitro* ; celui-ci possède donc une cytosine modifiée et ne peut pas être coupé. A partir de l'amorce hybridée, un nouvel amorçage peut se produire après coupure du bien néosynthétisé et de l'ADN peut ainsi être produit en continu. La synthèse d'ADN se déroule de façon symétrique sur le brin complémentaire, ce qui assure une synthèse exponentielle d'ADN. La révélation de la réaction utilise le même principe avec une sonde qui porte le site de restriction et de part et d'autre de celui-ci un composé fluorescent et un "quencher". Une fluorescence est émise quand ces deux molécules sont séparées [14].

#### **1.4.4. Modalités**

La mise en œuvre des techniques de biologie moléculaire n'est possible qu'à la condition que soit faite la recherche d'inhibiteurs qui peuvent être présents dans les prélèvements et être responsables de résultats faussement négatifs. Ceci est vrai en particulier avec les prélèvements génitaux. Il faut donc inclure des témoins positifs et négatifs en parallèle et un témoin interne (d'extraction et d'amplification) doit être ajouté dans le prélèvement. Les précautions habituelles indispensables doivent être prises lors de l'utilisation des techniques d'amplification génique.

#### **1.4.5. Conclusion**

Les techniques d'amplification génique sont onéreuses, mais leur utilisation est de plus en plus courante car elles permettent de rendre accessible le diagnostic au plus grand nombre. L'automatisation permet des dépistages systématiques. La sensibilité des techniques de détection serait suffisante pour permettre une détection malgré la dilution des échantillons.

### **1.5. Test d'hybridation d'acide nucléique (sondes ADN)**

Une sonde chimioluminescente d'ADN, qui est complémentaire d'une séquence spécifique de l'ARN ribosomal (rRNA) de *Chlamydia trachomatis*, peut hybrider avec un rRNA de

*Chlamydia* présent dans l'échantillon [26]. Les hybrides ADN-rRNA sont adsorbés sur des particules magnétiques et mises en évidence dans un luminomètre qui donne un résultat quantitatif. Cette technique d'hybridation présente les avantages de l'ELISA avec une meilleure spécificité mais souffre également d'un manque de sensibilité. L'hybridation tend à être abandonnée au profit des techniques d'amplification.

### 1.6. Intérêt des méthodes de détection de *Chlamydia trachomatis* en fonction des échantillons biologiques

Ce point est présenté dans le tableau n° 5 :

		culture cellulaire	IFD*	EIA**	sonde	amplification
Infection génitale basse	F : endocol urètre +	+	+	+	+	+
	H : urètre	+	+	-	+	+
	H : urine du 1 <sup>er</sup> jet	-	-	-	-	+
Dépistage	F : urine du 1 <sup>er</sup> jet	-	-	-	-	+
	F : vulve, vagin	-	-	-	-	+
	H : urine du 1 <sup>er</sup> jet	-	-	-	-	+
Infection génitale haute	F : liquide péritonéal	-	-	-	-	+
	F : endomètre trompe	+	-	-	-	+
	H : sperme	-	-	-	-	+
Liquide articulaire		-	-	-	-	+
Contrôle post thérapeutique		+	-	-	-	?

+ : technique utilisable.

- : technique inutilisable.

? : technique d'interprétation difficile.

\* : Immunofluorescence directe.

\*\* : ELISA.

Tableau n° 5 : Intérêt des méthodes de détection de *Chlamydia trachomatis* en fonction des échantillons biologiques [5].

## **2) Sérodiagnostic**

Il consiste en la mise en évidence des anticorps circulants. Au cours d'une infection à *Chlamydia*, la réponse anticorps complexe fait intervenir des anticorps spécifiques de genres, d'espèces et de sérovars. La sérologie est très souvent demandée mais ses résultats sont souvent difficiles à interpréter car la présence d'anticorps dans la population et leur persistance après une infection à des titres élevés rendent difficile l'interprétation des résultats, même en cas de prélèvements itératifs.

### **2.1. Micro-immunofluorescence**

#### **2.1.1. Généralités**

La micro-immunofluorescence a été mise au point initialement pour le sérotypage des souches de *Chlamydia trachomatis*. Elle a ensuite été adaptée au diagnostic. Cette technique différencie et titre toutes les classes d'immunoglobulines humaines ou spécifiquement les anticorps de la classe IgG, IgA, IgM. La micro-immunofluorescence constitue la méthode de référence et permet un sérodiagnostic d'espèce.

#### **2.1.2. Modalités**

La micro-immunofluorescence consiste à déposer des microgouttes d'une suspension de corps bactériens sur une lame de verre. Ces suspensions sont composées de corps élémentaires (CE) et de corps réticulés (CR) cultivés sur l'œuf de chacun des 18 sérovars de *Chlamydia trachomatis* [27]. Après séchage et fixation, les corps bactériens sont mis en contact avec des dilutions de sérums de patients. Après incubation et révélation par des immunoglobulines anti-immunoglobulines humaines marquées à la fluorescéine, la lecture est faite au microscope à fluorescence.

#### **2.1.3. Résultats**

En cas de positivité, les corps bactériens apparaissent sous forme de multiples points brillants de taille irrégulière donnant un aspect de « ciel étoilé ». Le titre d'anticorps est donné par la dernière dilution de sérum qui fournit une fluorescence nette avant une baisse brutale.

#### **2.1.4. Evaluation de la micro-immunofluorescence**

Récemment, une étude multicentrique a évalué la responsabilité de la micro-immunofluorescence sur un panel de 22 sérums dans 14 laboratoires. Les pourcentages de concordance vont de 56 à 92% pour les IgG et de 44 à 100% pour les IgM. Ces variations sont dues non seulement aux différences de préparation de antigènes mais également à la lecture interprétative de chaque examinateur [5]. En effet, la lecture des lames est fastidieuse et relativement subjective.

La valeur de résultat est fonction :

- de l'expérience de l'examineur.
- de sa fatigue visuelle.

## **2.2. Réaction de fixation du complément**

Elle permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques du genre *Chlamydia* mais elle est très peu sensible et ne permet pas de rechercher les anticorps dirigés contre *Chlamydia trachomatis* au cours d'infections génitales. Cette technique n'est plus guère employée et son utilisation est limitée au diagnostic de la LGV.

## **2.3. Les tests immunoenzymatiques**

La plupart des techniques immunoenzymatiques utilisent un broyat de bactéries d'une espèce donnée fixé sur les puits d'une microplaque. Des techniques ELISA sont disponibles pour *Chlamydia trachomatis*. Ces techniques ont l'avantage d'être rapides, automatisées, de traiter simultanément un grand nombre d'échantillons et de permettre une lecture objective [27].

Cependant, elles mettent le plus souvent en évidence des anticorps spécifiques de genre. Les techniques récentes permettent un diagnostic d'espèce grâce à l'amélioration de la spécificité de l'antigène par utilisation d'une fraction de la bactérie, soit des peptides spécifiques de MOMP de *Chlamydia trachomatis*, soit une fraction de LPS sous forme recombinante. L'appréciation quantitative des anticorps n'est pas bien codifiée. En effet, la correspondance entre l'absorbance ELISA et le titre d'anticorps en micro-immunofluorescence n'est pas parfaite. Il est possible de fixer un seuil de positivité considéré comme significatif valable pour la majorité des prélèvements. Il revient à chaque laboratoire de le déterminer en fonction de sa propre expérience ou de celle d'autres laboratoires. Si une quantification du titre d'anticorps est nécessaire, il faut mettre en œuvre la micro-immunofluorescence.

## **2.4. Sérologie en fonction du contexte clinique.**

La sérologie en fonction du contexte clinique est présentée dans le tableau n° 6.

<b>CONTEXTE CLINIQUE</b>		<b>SERODIAGNOSTIC</b>
dépistage		inutile
infection génitale basse	F	utile seulement pour évaluer l'extension
	H	inutile
infection génitale haute	F	IgG + IgA
	H	IgG + IgA
infection conjonctivale inférieure		inutile
arthrite réactionnelle		IgG + IgA
LGV		IgG
pneumopathie du nouveau-né		IgM

Tableau n° 6 : Sérodiagnostic en fonction du contexte clinique [5].

### **3) Tableau récapitulatif des différents tests pour le diagnostic des infections à Chlamydia**

Il s'agit du tableau n° 7.

Tableau n° 7 : Caractéristiques comparatives des différentes méthodes diagnostiques d'une infection à *Chlamydia trachomatis* [5].

		Dépistage	Sensibilité	Spécificité	Coût	Temps de travail	Délai de réponse	Equipement spécifique	Personnel entraîné
<b>DIAGNOSTIC DIRECT</b>	Culture cellulaire	Oui	Bonne	Excellente	Élevé	Important	2 à 3 jours	Oui	Oui
	Immunofluorescence directe	Non	Bonne	Bonne	Moyen	Moyen	2h	Non	Oui
	ELISA	Oui	Bonne	Bonne	Moyen	Faible	30 min à 3h	Non	Non
	Hybridation	Oui	Bonne	Bonne	Moyen	Faible	2 à 3h	Non	Non
	Amplificateur génique	Oui	Excellente	Excellente	Elevé	Moyen	24h	Oui	Oui
<b>SEROLOGIE</b>	Fixation du complément	Non	Faible	Bonne	Faible	Moyen	24h	Non	Non
	Micro-immunofluorescence	Non	Faible	Moyenne	Moyen	Important	4h	Non	Oui
	ELISA	Non	Faible	Moyenne	Moyen	Faible	2 à 3h	Non	Non

## **4) Attitudes diagnostiques en fonction de la pathologie**

### **4.1. L'urétrite**

Le diagnostic étiologique d'une urétrite à *Chlamydia trachomatis* repose sur la mise en évidence directe de la bactérie par plusieurs méthodes possibles :

- par la culture qui nécessite la grattage de l'épithélium urétral. C'est une technique mal acceptée par le patient.
- par les méthodes d'amplification qui permettent la mise en évidence de *Chlamydia trachomatis* dans le 1<sup>er</sup> jet d'urine à condition que la dernière miction soit antérieure à 3 heures.

Dans cette pathologie, la sérologie n'a aucun intérêt pour le diagnostic car l'infection restant superficielle le taux d'anticorps est faible [33].

### **4.2. La cervicite**

Devant des signes de cervicite, on effectue des prélèvements endocervicaux pour rechercher *Chlamydia trachomatis* mais aussi pour rechercher d'autres germes (*Neisseria gonorrhoeae*, mycoplasmes génitaux, *Treponema pallidum*). Comme la localisation cervicale de *Chlamydia trachomatis* s'accompagne quasiment toujours d'une infection urétrale une recherche sur les urines est généralement faite.

Sachant que la distinction clinique entre cervicite et infections génitales hautes n'est pas facile, et que dans les infections génitales hautes les titres d'anticorps sont élevés, un sérologie négative pour *Chlamydia trachomatis* constitue un argument en faveur d'une cervicite isolée.

La sérologie est donc utile pour évaluer l'extension de l'infection dans les voies génitales de la femme.

### **4.3. Infections génitales hautes**

Dans les infections génitales hautes des prélèvements sont réalisés au niveau de l'endocol et/ou de l'endomètre. D'autres prélèvements sont conseillés tels que l'aspiration du liquide du Douglas, fragments biopsiques des adhérences et des fragments tubaires. Ces prélèvements sont immédiatementensemencés sur des milieux spéciaux ou placés dans un milieu de transport.

En cas d'infection survenue sous dispositif intra-utérin (DIU), le dispositif est ôté et mis en culture. Sachant que ces infections génitales hautes sont multibactériennes, *Chlamydia trachomatis* n'est pas la seule bactérie recherchée.

Contrairement aux infections génitales basses, la sérologie prend tout son intérêt dans les infections génitales hautes étant donné l'accessibilité difficile du site infectieux chez la femme comme chez l'homme. Une infection génitale haute peut, en général, être considérée comme une infection ancienne. Les IgM ne sont plus présentes ; leur recherche est donc sans intérêt. Un taux élevé d'IgG ou d'Ig totales ( $\geq 64$ ) est significatif d'une infection, passée ou en cours. Un titre d'anticorps entre 64 et 256 en micro-immunofluorescence témoigne d'un

contact avec la bactérie et doit amener à un interrogatoire, à la recherche de facteurs de risque. Un tel titre peut également conforter un diagnostic présomptif d'infection à *Chlamydia*. Un titre élevé isolé d'IgG ( $\leq$  à 1024) avec l'antigène *Chlamydia trachomatis* chez une femme jeune doit amener à pratiquer des investigations complémentaires car il est très souvent associé à un syndrome inflammatoire pelvien. Chez un homme, un titre élevé permet un diagnostic étiologique d'une atteinte épидidymaire.

La mise en évidence d'une séroconversion (augmentation d'un facteur 4 du titre d'IgG), ce qui est extrêmement rare, ou d'une augmentation significative du taux d'anticorps (au moins deux dilutions) entre deux sérums prélevés à 15 jours d'intervalle permet le diagnostic d'infection en évolution. Si le titre reste en plateau, certains préconisent la recherche d'IgA en raison de leur demi vie courte. La recherche des IgA figure à la nomenclature de la sécurité sociale. Cependant, si elle peut apporter une aide à l'interprétation, en particulier dans les infections récentes, son utilisation ne fait l'objet d'aucun consensus.

Après une infection à *Chlamydia trachomatis*, la persistance d'anticorps à un taux élevé pendant plusieurs mois voire plusieurs années gêne toute interprétation ultérieure. D'autre part, une réinfection ne se traduit pas toujours par une nouvelle augmentation des titres d'anticorps. La recherche d'anticorps anti-HSP60 spécifiques de *Chlamydia* a été récemment proposée mais il n'y a pas encore de kit disponible sur le marché français. Des publications récentes ont montré une corrélation significative entre la présence d'anticorps anti-HSP60 et la présence d'une infection pelvienne ou d'une obstruction tubaire [5].

#### **4.4. LGV**

Le diagnostic repose sur la mise en évidence de *Chlamydia trachomatis* dans les lésions (chancre, rectite aiguë, adénopathies) et sur la sérologie de *Chlamydia trachomatis*. Une biopsie ganglionnaire est rarement nécessaire : elle montrerait de multiples micro-abcès sous capsulaires à polynucléaires entourés d'histiocytes et de cellules géantes.

##### **4.4.1. Mise en évidence de *Chlamydia trachomatis* dans les lésions**

Elle peut se faire :

- par culture cellulaire sur cellule *HeLa 229* ou *McCoy*.
- par les techniques de biologie moléculaire qui reconnaissent toutes les souches de *Chlamydia trachomatis* quel que soit le sérovar.

La mise en évidence de *Chlamydia trachomatis* dans le pus ganglionnaire signe le diagnostic de LGV (photo n° 10). Seuls les sérovars L de *Chlamydia trachomatis* ont un tropisme ganglionnaire. La présence de la bactérie dans les autres prélèvements (urètre, rectum) doit faire discuter une MST à *Chlamydia trachomatis* de sérovar non-L, fréquente dans le monde entier.

La sensibilité de la culture pour le diagnostic de LGV ne dépasse pas 50 à 75% du fait, en particulier, de l'effet toxique du pus sur les cultures cellulaires. Un génotypage moléculaire des souches L de *Chlamydia trachomatis* peut désormais être effectué par l'étude du polymorphisme de restriction du gène de la MOMP ou l'étude de la séquence de ce gène.

Les résultats de ces techniques de biologie moléculaire sont en parfaite corrélation avec les techniques classiques d'identification des sérovars L (L1 à L3) en culture cellulaire avec des anticorps monoclonaux.

#### **4.4.2. Sérologie**

La sérologie apporte des éléments de forte présomption. Les anticorps apparaissent vers le 10-15<sup>ème</sup> jour et sont multipliés par un facteur  $> 4$  en deux semaines. Dans la LGV, les titres d'anticorps anti-chlamydiens sont élevés ( $> 32$  en déviation du complément,  $> 3000$  en immunofluorescence indirecte). Cette forte réaction immunitaire est due à l'infection des macrophages et à la dissémination de la bactérie aux formations lymphatiques.

L'interprétation reste cependant difficile du fait des réactions croisées avec les autres sérovars de *Chlamydia trachomatis* comme par exemple au cours des rectites à *Chlamydia trachomatis* non L. De fait, seule une sérologie négative est un argument majeur pour éliminer le diagnostic de LGV.



Photo n° 10 : Aspiration ganglionnaire [75].

#### **4.5. Infections du nouveau-né**

Le diagnostic repose sur la recherche de la bactérie ou de ses constituants (diagnostic direct) et/ou des anticorps spécifiques (diagnostic indirect).

Le diagnostic direct doit être privilégié et le prélèvement riche en cellules épithéliales est obtenu par grattage des muqueuses avec un écouvillon après élimination des sécrétions purulentes.

La culture est la méthode de référence même s'il peut y avoir des faux négatifs.

La détection antigénique par immunofluorescence directe ou immunoenzymatique ne semble pas suffisamment sensible alors que la détection des acides nucléiques (PCR) donne d'excellents résultats.

La sérologie peut apporter un diagnostic étiologique en l'absence de prélèvement ou en cas de prélèvement trop tardif. Dans les atteintes oculaires ou respiratoires, il faut rechercher les IgM, qui sont spécifiques du nourrisson [8]. La recherche des IgG est sans intérêt puisqu'elles peuvent être d'origine maternelle. La présence d'IgA peut également, dans ce cas, apporter un

renseignement supplémentaire car leur courte durée de vie permet de confirmer une infection récente.

## **5) Typage des souches de *Chlamydia trachomatis***

Pour le typage des souches de *Chlamydia trachomatis*, il existe deux grandes méthodes :

- le sérotypage.
- le génotypage.

Les résultats des deux techniques sont concordants.

### **5.1. Le sérotypage**

Le sérotypage est historiquement réalisé grâce à des anticorps monoclonaux reconnaissant des épitopes portés par la MOMP. Ce sérotypage a été très utilisé au début des travaux sur *Chlamydia trachomatis*. Son usage est actuellement très limité car il a peu d'utilité pour les études épidémiologiques puisque seul un petit nombre de sérotype est responsable d'infections génitales au sein d'une population [14].

### **5.2. Le génotypage**

Les techniques de génotypage sont plus simples à utiliser. Les outils de la biologie moléculaire ont été développés pour étudier l'évolution des infections à *Chlamydia trachomatis* au sein d'une population.

Ces techniques utilisent deux types de support :

- soit le génome entier.
- soit une partie du génome.

Les techniques qui utilisent le génome entier sont :

- RFLP (restriction fragment length polymorphism) [60].
- RAPD (random amplification polymorphism determination).
- l'hybridation génomique.
- l'AFLP (amplified fragment length polymorphism).

Ces techniques sont difficiles à mettre en œuvre car elles nécessitent la culture de la bactérie.

Les techniques qui utilisent une partie du génome associent l'amplification par PCR de tout ou partie du gène de la MOMP et son analyse par RFLP ou par séquençage.

L'analyse des parties variables du gène de la MOMP fournit un outil très discriminant.

# **XI/ TRAITEMENT**

*Chlamydia trachomatis* étant une bactérie intracellulaire, les antibiotiques utilisés pour le traitement des infections doivent pouvoir pénétrer dans la cellule hôte. Ces antibiotiques doivent avoir un tropisme pour l'appareil génital. Les médicaments utilisés sont surtout :

- les tétracyclines.
- les macrolides.
- les fluoroquinolones.

Les traitements des infections génitales à *Chlamydia trachomatis* dans les pays en voie de développement sont limités par le coût des antibiotiques utilisables et souvent le diagnostic n'est pas effectué.

## **1) Méthode d'étude de l'activité des antibiotiques**

La méthode usuelle de détermination de la sensibilité de *Chlamydia* aux antibiotiques comporte deux étapes :

- la 1<sup>ère</sup> étape est une étape de culture de la bactérie sur lignées cellulaires en présence de concentrations croissantes d'antibiotiques.
- la 2<sup>ème</sup> étape consiste en un suivi de la détection au microscope des inclusions chlamydiennes colorées le plus souvent par un anticorps fluorescent [23].

Cette étude de la sensibilité des souches isolées ne se fait pas en routine étant donné la lourdeur des techniques. Le manque de standardisation des protocoles explique les différences de résultats observés entre les études. Les différences se situent dans :

- la nature des cellules utilisées.
- le support tubes ou plaques.
- la taille de l'inoculum bactérien : de  $10^2$  à  $10^7$  UFI (unités formant inclusion).
- les conditions de température.
- le temps d'incubation.
- la vitesse de centrifugation.
- l'intervalle de temps entre le moment de l'infection et l'ajout de l'antibiotique.
- la subjectivité de la lecture qui constitue un facteur de variabilité important dans la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) définie comme la dernière dilution inhibant la formation de toute inclusion.

En effet, pour des concentrations proches de la CMI, une réduction importante de la taille et de la fluorescence des inclusions de *Chlamydia* est observée. Une lecture plus objective en cytométrie de flux a été mise au point. Par cette technique, l'activité des antibiotiques est évaluée par le calcul de la concentration inhibitrice 50% ou CI 50, qui provoque une diminution de 50% de l'intensité de fluorescence comparée au témoin de cellules infectées, cultivées sans antibiotique qui représente le 100% [27].

Ces valeurs présentent l'avantage d'être :

- reproductibles.
- indépendantes de la gamme de concentrations testées .
- indépendantes de la taille de l'inoculum.

## **2) Sensibilité et résistance naturelle**

Etant donné le cycle de développement particulier de *Chlamydia*, les antibiotiques susceptibles d'avoir une activité doivent traverser plusieurs membranes [15] :

- celle de la cellule hôte.
- celle de la vacuole.
- celle de la bactérie.

Peu d'antibiotiques sont naturellement actifs sur *Chlamydia*. Parmi les antibiotiques potentiellement actifs (tableau n° 8), on trouve dans un ordre d'activité décroissante in vitro :

- la rifampicine qui possède les CMI les plus basses.
- les tétracyclines notamment la minocycline et la doxycycline.
- les fluoroquinolones les plus récentes (sparfloxacinine).
- les fluoroquinolones moins récentes (ofloxacinine, ciprofloxacine).

En revanche, les *Chlamydia* présentent une résistance naturelle :

- aux aminosides.
- à la vancomycine.
- aux quinolones de 1<sup>ère</sup> génération.
- au métronidazole.
- à la colimycine.

Parmi les  $\beta$  lactamines, seule la pénicilline G et l'amoxicilline présentent une certaine activité qualifiée de paradoxale puisque la bactérie est dépourvue de peptidoglycane. L'analyse du génome de *Chlamydia trachomatis* révèle la présence de tous les gènes nécessaires à la synthèse du peptidoglycane [13]. L'hypothèse avancée est que du peptidoglycane serait synthétisé transitoirement au cours de la différenciation du CR en CE. Ceci explique l'action de la pénicilline G qui en empêchant cette différenciation, entraîne la formation de formes morphologiquement anormales, non cultivables.

		<i>Chlamydia trachomatis</i> (CMI mg/L)
Rifampicine		0,005-0,2
Tétracyclines	Minocycline	0,001-0,2
	Doxycycline	0,01-0,2
Macrolides vrais et apparentés	Erythromycine	0,1-1
	Roxythromycine	0,03-0,8
	Azithromycine	0,03-1
	Josamycine	0,01-1
Fluoroquinolones	Ofloxacine	0,5-4
	Sparfloxacine	0,025-0,1

Tableau n° 8 : Activité de quelques antibiotiques vis à vis de *Chlamydia trachomatis* [27].

### 3) Résistance acquise

Les résistances acquises sous traitement sont exceptionnelles et seulement trois publications en font état. L'une observe une moindre sensibilité à l'érythromycine et les deux autres une résistance aux tétracyclines mais seulement exprimée par une faible partie de la population bactérienne (< 1%), nommé résistance hétérotypique.

*In vitro*, il a été possible de sélectionner des souches résistantes par passages répétés en présence d'antibiotiques. C'est ainsi que des mutants à haut niveau de résistance ont été sélectionnés avec :

- la rifampicine.
- les sulfamides.
- le triméthoprime.
- l'ofloxacine et la sparfloxacine [19].

L'analyse des séquences des gènes codant pour les cibles des quinolones, l'ADN gyrase et la topoisomérase IV a montré une mutation ponctuelle G→T sur le gène *gyrA* conduisant à une substitution sérine-83(Ser)→isoleucine (Ile), probablement responsable de la résistance. Cette mutation conduit à la création d'un site de coupure pour l'endonucléase Tsp509I détectable

par analyse de restriction du fragment d'amplification d'une partie du gène gyrA. Cette région est nommée QRDR " quinolone resistance determining region". Par cette méthode, il est possible d'analyser de nombreuses souches cliniques.

## **4) Protocole de traitement des différentes pathologies**

### **4.1. Traitement des urétrites**

Ce traitement reposait classiquement sur la prescription d'une cycline ou d'un macrolide pour une durée de sept jours. A présent, l'azithromycine ZITHROMAX®, macrolide hémisynthétique de la famille des azalides dont la longue demi-vie autorise une prise unique, constitue le traitement le plus adapté. Le ou les partenaires bénéficieront de la même prescription [42].

- traitements recommandés :
  - azithromycine (ZITHROMAX® monodose) 1g en prise unique.
  - doxycycline (DOXY Gé®) 100 mg 2 fois par jour pendant 7 jours.
- traitements alternatifs :
  - erythromycine base (EGERY®) 500 mg (ou 250 mg) 4 fois par jour pendant 7 jours.
  - erythromycine ethylsuccinate (ERY Gé ®) 800 mg (ou 400 mg) 4 fois par jour pendant 7 jours.
  - ofloxacin (OFLOCET®) 300 mg 2 fois par jour pendant 7 jours.

Le contrôle après traitement est inutile en l'absence d'une persistance des symptômes.

### **4.2. Traitement des cervicites**

Le traitement repose sur la prescription d'azithromycine ZITHROMAX® monodose. Les traitements recommandés et alternatifs sont exactement les mêmes que pour l'urétrite. Il faut également traiter le ou les partenaires. S'il s'agit d'une femme enceinte la doxycycline et l'ofloxacin sont contre-indiquées.

- les traitements recommandés sont donc [68] :
  - erythromycine base (EGERY®) 500 mg 4 fois par jour pendant 7 jours.
  - Amoxicilline (CLAMOXYL®) 500 mg 3 fois par jour pendant 7 jours.
- les traitements alternatifs sont :
  - erythromycine base (EGERY®) 250 mg 4 fois par jour.
  - azithromycine (ZITHROMAX®) 1 g en prise unique.

Ces traitements (recommandés et alternatifs) sont les mêmes pour une femme enceinte ayant une urétrite.

### **4.3. Traitement des épидidymites**

L'hospitalisation peut être nécessaire avec alitement et mise en place d'un suspensoir. Le traitement d'une orchio-épididymite très probablement due à *Chlamydia trachomatis* fait appel [5] :

- à la doxycycline (DOXY Gé ®) : 100 mg 2 fois par jour pendant 15 jours.
- aux fluoroquinolones : ofloxacine (OFLOCET®) 300 mg 2 fois par jour pendant 15 jours.

D'autres médecins recommandent : ceftriaxone (ROCEPHINE®) 250 mg IM + doxycycline (DOXY Gé ®) 100 mg 2 fois par jour pendant 10 jours.

### **4.4. Traitements des infections génitales hautes**

#### **4.4.1. Les infections génitales hautes non compliquées**

Ces infections sont habituellement traitées en ambulatoire. Le choix de l'antibiothérapie repose sur deux points :

- l'identification du ou des pathogènes, encore qu'il ne soit pas évident d'être certain d'avoir isolé tous les germes en cause (anaérobies notamment). C'est pourquoi une antibiothérapie à large spectre, active à la fois sur les aérobies (G+ et G-) et les anaérobies est le plus souvent justifiée.
- la prescription de molécules diffusant dans les tissus pelviens et actives sur les micro-organismes isolés. A noter que la plupart des études de diffusion pelvienne des antibiotiques dans les tissus pelviens ont été réalisées chez les sujets sains [24]. Elles ne prennent donc pas en compte l'inflammation pelvienne accompagnant l'infection génitale haute susceptible d'en entraver la diffusion et donc l'efficacité.

Le traitement doit avoir une durée de 15 à 20 jours en moyenne, selon l'évolution. La constatation d'infections génitales hautes décapitées par une antibiothérapie trop brève plaide aussi en faveur de traitement de longue durée. En outre, certains micro-organismes, comme *Chlamydia trachomatis*, sont difficiles à éradiquer. Depuis 1993, les Centers for disease Control américains, préconisent également des durées thérapeutiques d'au moins 14 jours [12].

Un suivi clinique et bactériologique est conseillé 3 à 6 mois après la fin du traitement pour s'assurer de la réalité de la guérison.

De nombreux schémas thérapeutiques sont proposés, nous en retiendrons que quelques-uns qui semblent les plus adaptés à une prise en charge ambulatoire.

Dans le traitement de la salpingite non compliquée sans facteur de risque, le traitement repose sur une bithérapie :

- amoxicilline/acide clavulanique (AUGMENTIN® ou CIBLOR®) 1g 3 fois par jour.
- doxycycline (DOXY Gé ®) 100mg 2 fois par jour.

Il faut prendre en compte les patientes allergiques à la pénicilline :

- clindamycine (DALACINE®) 400mg 3 fois par jour.
- pristinamycine (PYOSTACINE®) 1g 2 fois par jour.
- ofloxacin (OFLOCET®) 200mg 2 fois par jour.

En présence d'entérobactéries devenues résistantes à l'association amoxicilline/acide clavulanique + cycline, il est logique de substituer une fluoroquinolone à la cycline [43] :

- AUGMENTIN® ou CIBLOR® 1g 3 fois par jour.  
+
- OFLOCET® 200mg 2 fois par jour.

Tous ces traitements ont une durée de 15 à 20 jours selon l'évolution clinique. Contrairement aux Etats- Unis, le recours à la voie intramusculaire n'est pas habituel en France où les céphalosporines de 2<sup>ème</sup> génération (céfotétan, céfoxitine) sont plutôt réservées à l'antibioprophylaxie chirurgicale.

#### **4.4.2. Les infections génitales hautes compliquées**

Le traitement associe une antibiothérapie parentérale et un drainage chirurgical. L'antibiothérapie parentérale peut associer :

- amoxicilline/acide clavulanique (AUGMENTIN®) 1g 4 fois par jour ou cefotaxime (CLAFORAN®) 1g 4 fois par jour.  
+
- metronidazole (FLAGYL®) 500mg 2 fois par jour.  
+
- ofloxacin (OFLOCET®) 200mg 2 fois par jour ou un aminoside comme la netilmicine (NETROMICINE®) 300mg par jour.

L'antibiothérapie est poursuivie quelques jours avant un relais par voie orale.

Le traitement coelio-chirurgical sera réalisé 10 à 48h après l'instauration de l'antibiothérapie et consiste à mettre à plat un éventuel abcès et à laver abondamment la cavité pelvienne [42].

#### **4.4.3. Les autres mesures thérapeutiques**

##### **4.4.3.1. Les anti-inflammatoires**

Compte tenu du rôle important joué par les phénomènes inflammatoires et immuno-allergiques fréquents lors des infections génitales hautes, il est logique de prescrire des anti-inflammatoires dans la phase initiale du traitement [1]. Cette prescription peut être entravée par des troubles digestifs entraînés tant par les antibiotiques que par les anti-inflammatoires eux-mêmes.

#### **4.4.3.2. Traitement du ou des partenaires**

Ce traitement est systématique en cas d'infection de *Chlamydia trachomatis*. L'azithromycine (ZITHROMAX® monodose 1g en prise unique) est particulièrement adapté à cette indication. On conseillera de plus des rapports sexuels protégés jusqu'à la fin du suivi post-thérapeutique.

#### **4.5. Traitement de la LGV**

Le traitement recommandé est la doxycycline : 100mg 2 fois par jour pendant 21 jours. Les bubons doivent être ponctionnés et la chirurgie est souvent nécessaire au stade tertiaire ; en particulier en cas de sténose du rectum avec, dans les cas extrêmes la pose d'un anus artificiel [5].

#### **4.6. Traitement des pathologies du nouveau-né**

##### **4.6.1. La conjonctivite**

En cas de conjonctivite du nouveau-né, le traitement doit toujours associer une pommade ophtalmique à la tétracycline et de l'érythromycine par voie orale à la dose de 40mg/kg/jour pendant 14 jours [62], le traitement local étant insuffisant pour éradiquer le portage pharyngé. La prophylaxie des infections oculaires néonatales par des collyres ou pommades au nitrate d'argent, par l'érythromycine ou par les cyclines n'apparaît pas efficace. La seule façon de prévenir l'infection du nouveau-né est le dépistage des femmes enceintes, leur traitement et le traitement de leur conjoint [40].

##### **4.6.2. Pneumopathies du nouveau-né**

Le même traitement s'applique aux pneumopathies [52]. Il est recommandé chez le nouveau-né dont la mère a une infection à *Chlamydia trachomatis* documentée mais non traitée. Le diagnostic néonatal de l'infection à *Chlamydia trachomatis* doit entraîner systématiquement le traitement des parents.

# **CONCLUSION**

*Chlamydia trachomatis* est responsable de nombreux types d'infections sexuellement transmissibles dans l'espèce humaine.

Les infections génitales basses (cervicite, urétrite) le plus souvent asymptomatiques n'entraînent aucune complication médicale. En revanche, les infections génitales hautes (salpingite, syndrome pelvien inflammatoire) engendrent parfois de sérieuses séquelles parmi lesquelles on recense une stérilité féminine. C'est pourquoi la prévention doit devenir une priorité en terme de lutte contre *Chlamydia trachomatis* à l'image des pays scandinaves. Celle-ci doit se faire dans les collèges, les lycées et facultés pour sensibiliser les adolescents et les jeunes adultes, population de loin la plus touchée. Elle engendrerait un recul voire une disparition des pathologies dans les pays industrialisés.

Ainsi, tous les professionnels de santé doivent se mobiliser contre ce fléau sachant qu'actuellement il n'existe aucun vaccin.

Les pharmaciens doivent donc jouer un rôle de prévention en tant qu'éducateur de santé.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- 1) BASSIL. S, LE BOUEDEC. G. Place des anti-inflammatoires dans le traitement des salpingites aiguës. J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. 1991, **20** : 1063-1067.
- 2) BAVOIL. P, OJCIUS. D, DAUTRY-VARSAT, SOURIAU. A, BERNARD. F, RODOLAKIS. A, HSIA. R. Chlamydia trachomatis ennemi intérieur : de la biologie moléculaire aux modèles animaux. Med Mal Infec. 1999, **29** : S23-S37.
- 3) BEATTY. WL, MORRISSON. RP, BYRNE. GI. Persistent Chlamydia : from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. Microbiol Rev. 1994, **58** : 686-99.
- 4) BEATTY. WL, MORRISSON. RP, BYRNE. GI. Reactivation of persistent chlamydia trachomatis infection in cell culture. Infect. Immun. 1995, **63** : 199-205.
- 5) BEBEAR. C. Mycoplasmes et Chlamydiae. Ed. Elsevier. 2002.
- 6) BENDAZON. G. Chlamydiase : la prévalence des infections masculines plus élevées qu'on ne le pense. Le quot. Méd. 2003, 7341.
- 7) BIGARD. MA. Guide pratique des maladies du tube digestif. Ed. Masson. 2001 : 259-260.
- 8) BLACKWELL. AL, THOMAS. PD, WAREHAM. K, EMERY. SJ. Healthy gains from screening for infection of the lower genital tract in women attending for termination of pregnancy. Lancet 1993, **342** : 206-209.
- 9) BOCCON-GIBOD. L, BAERT. L : les prostatites, in urologie. Pathologie Infectieuse et parasitaire. Ed Masson, Paris, 1985.
- 10) BOUCHER. J, BIANCHI. A, PRUDHOMME. M, WARSZAWSKI. J, GOULET. V, PERRIOT. Y, HENRY-SUCHET. J, ORFILA. J, LEROUX. MC, FEUR. E. Epidemiology of genital chlamydia infection in women attending family planning clinics in a Paris suburb (Val de Marne). 4<sup>th</sup> Meeting of Eur. Soc. For Chlamydia Res. Proceed, Helsinki Finland Saikku. P. Ed. 2000, 317.
- 11) BRUHAT. MA, MAGE. G, POULY. JL, MANHES. H, CANIS. M, WATTIEZ. A. Infections tubo péritonéales, In Coelioscopie opératoire. MEDSI- Ed Mc Graw-Hill. 1989, 59-61.
- 12) CENTERS FOR DISEASES CONTROL and prevention. S.T.D. Treatment Guidelines. Morbid. Mortal. Weekly Rev. 1993, **42** : 52-85.
- 13) CHOPRA. J, STOREY. C, TIMOTHY. JF, PEARCE. JH. Antibiotics, peptidoglycan synthesis and genomics : the chlamydial anomaly revisited. Microbiology. 1998, **144** : 2673-2678.
- 14) CORSARO. D, LE FAOU. A, Chlamydia. Ed. Tec et Doc. 2002.

- 15) CREMIEUX. AC. Pénétration intracellulaire des antibiotiques. La lettre de l'infectiologue 1989, **20** : 787-796.
- 16) DE BARBEYRAC. B, BEBEAR. C, GENIAUX. M . Maladie de Nicolas- Favre. Encycl. Med. Chir. Maladies infectieuses. 2001, 8-076-A-10-6.
- 17) DE BARBEYRAC. B, DUPON. M, BEBEAR. C. Infection à chlamydia. Encycl. Méd. Chir. Maladies infectieuses. 1997, 8-037-A-10.
- 18) DENIS. F. Les bactéries, champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant. Ed. John Libbey Eurotext. 2002 : 291-92.
- 19) DESSUS- BABUS. S, BEBEAR. CM, CHARRON. A, BEBEAR. C, DEBARBEYRAC. B. Sequencing of gyrase topoisomerase IV quinolone-resistance determining regions of Chlamydia trachomatis and characterization of quinolone-resistant mutants obtained in vitro. Antimicrob. Agents Chemoter. 1998, **42** : 2474-81.
- 20) Dictionnaire de médecine, Ed. Flammarion. 1975.
- 21) EB. F. Aspects microbiologiques des Chlamydia. Med. Mal. Infect. 1999, **29** : 5-22.
- 22) EB. F. Les infections à Chlamydiae. In : MEDJE. JL, REVILLARD. JP, RAOULT. D. Ed. Arnette.1997, 117-28.
- 23) EB. F. Sensibilité aux antibiotiques et traitement des infections à Chlamydia. La lettre de l'infectiologue. 1995, 10 : 290-298.
- 24) ELDER. MG, BYWATER. MJ, REEVES. DS. Pelvic tissue and serum concentrations of various antibiotics given as pre-operative medication. Br. J. Obstet. Gynecol. 1977, **84** : 887-893.
- 25) EVERETT. K, BUSH. P, ANDERSEN. A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic 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.
- 26) EYQUEM. A, ALOUF. J, MONTAGNIER. L. Traité de microbiologie clinique, Ed. Piccin Nuova Libreria, 1998.
- 27) FRENEY. J, RENAUD. F, HANSEN. W, BOLLET. C. Précis de bactériologie clinique, Ed. Eska. 2000.
- 28) FRESTE. J. Use of optical catheters for diagnostic office laparoscopy. J. Reprod. Med. 1996, 41 : 307-312.
- 29) GODEAU. P, HERSON. S, PIETTE. JC. Traité de médecine, deuxième édition TOME 1. 1975.

- 30) GOULET. V, SEDNAOUI. P. La surveillance des maladies sexuellement transmissibles en France par des réseaux de laboratoire. 1998, B.E.H N° 29.
- 31) GROSECLOSE. SL, ZAIDD. AA, DELISLE. S, LEVINE. WC, ST LOUIS. M. Estimated incidence and prevalence of genital Chlamydia trachomatis infections in the United States, 1996. Sex Trans Dis. 1999, **26** : 339-44.
- 32) HAMMERSCHLAG. M. Chlamydia trachomatis in children. *Pediatr. Ann.* 1994 ; 23 : 349-59.
- 33) HEDON. B, DARGENT. D, MADELENAT. P, FRYDMAN. S. Gynecologie. Ed. Marketing. 1998 : 23.
- 34) HEGGIE. A, LUMICAO. G, STUART. L, GYVES. M. Chlamydia trachomatis infection in mothers and infant. *Am. J. Dis. Child.* 1981 ; **135** : 507-11.
- 35) HENRY-SUCHET. J. Adolescents et chlamydirose. Le portage cervical chez les adolescentes, premières statistiques des CPF en application de la loi Calmat. *Contracept. Fertil. Sex.* 1995, **23** : 323-326.
- 36) HENRY-SUCHET. J. Périhépatites infra cliniques au cours de salpingites ou de stérilités tubaires. *Presse Médicale.* 1983, **12**: 1725.
- 37) HILLIS. SD, OWENS. LM, MARCHBANKS. PA, AMSTERDAM. LF, MCKENZIE. WR. Recurrent chlamydial infections increase the risks of hospitalization for ectopic pregnancy and pelvic inflammatory disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997, **176** : 103-107.
- 38) HOLMES. MD, SAFYER. SM, BICKELL. NA, VERMUND. SH, HANFF. PA, PHILLIPS. RS. Chlamydia cervical Infection in Jailed Women. *Am. J. Public Health.* 1993, **83** : 551-555.
- 39) HUECK. CJ. Type III Protein Secretion Systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998, **62** : 379-433.
- 40) JAINS. S. Perinatally acquired Chlamydia trachomatis associated morbidity in young infants. *J. Matern. Fetal. Med.* 1999, **8** : 130-3.
- 41) JOHANSSON. M, SCHON. K, WARD. M, LYCKE. N. Studies in knockow reveal that anti-chlamydial protection requires TH1 cells producing IFN $\delta$  : Is this true for humans ? *Scand. J. Immunol.* 1997, **46** : 546-52.
- 42) JUDLIN. P. Infection en gynécologie, Ed Masson. 2002.
- 43) JUDLIN. P, KOEBELE. A, ZACCABRI. A. Etude comparative des associations ofloxacine + amoxicilline-acide clavulanique VS doxycycline + amoxicilline-acide clavulanique dans le traitement des infections génitales hautes à Chlamydia trachomatis. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 1995, **24** : 253-259.
- 44) JUDLIN. P, MAJIDDI- AHI. A, BURLET. G. Complications et séquelles des salpingites. *Encycl. Med. Chir. Gynécol.* 1998, 472-A-10.

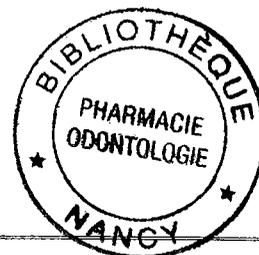
- 45) KAHN. JG, WALKER. CR, WASHINGTON. AE. Diagnosing pelvic inflammatory disease. A comprehensive analysis and considerations for developing a new model. Ed. *Jama*. 1991, **266** : 2594-2604.
- 46) KOSMA. P. Chlamydial lipopolysaccharide. *Bioch. Biophys. Acta*. 1999, **1455** : 387-402.
- 47) In *LANCET*, vol 361, 2003, p1792.
- 48) LUMICAO. G, HEGGIE. A. Chlamydia infections. *Pediatrics*. 1979, **26** : 269-74.
- 49) MORISSET. R, PECHERE. JC. Reconnaître, comprendre, traiter les MST. Ed. Edisem Inc. 1990, p167-170
- 50) MORRISON. RP. Differential sensitivities of Chlamydia trachomatis stains of inhibitory effects of gamma interferon. *Infect. Immun*. 2000, **68** : 6038-6040.
- 51) MOULDER. JW. Interaction of chlamydiae and host cells in vitro. *Microbiol. Rev*. 1991, **55** : 143-190.
- 52) PAUTARD. JC. Les infections néonatales à Chlamydia. *Lettre infect*. 1992, **7** : 269-75.
- 53) PEELING. RW, MABEY. DCW. Heat shock protein expression and immunity in chlamydial infections. *Inf. Dis. Obstet. Gynecol*. 1999, **7** : 72-9.
- 54) PEQUIGNOT. H. Pathologie médicale. Ed. Masson. 1975, 1578-81.
- 55) PITCHE. P, PLINGA. A and TACHANGAI- WALLA. K.  
La lymphogranulomatose vénérienne (lymphogranuloma venereum). *Cahier santé*. 1998, **8** : 239-244.
- 56) RANK. RG, BAVOIL. PM. Prospects for a vaccine against chlamydia genital disease. II Immunity and vaccine development. *Bull. Inst. Pasteur*. 1996, **94** : 55-82.
- 57) RAULSTON. JE. Chlamydial envelope components and pathogenhost cell interactions : a micro review. *Mol. Microbiol*. 1995, **15** : 607-616.
- 58) REGNAULT. JP : Elements de microbiologie et d'immunologie. Ed. Décarie. 2002 ; 156-92.
- 59) RICHAUD. C, JEAN. P, TAIB. E. Les épидидymites aiguës. *J. Urol*. 1986, **92** : 27.
- 60) RODRIGUEZ. P, VEKRIS. A, DE BARBEYRAC. B, DUTILH. B, BONNET. J, BEBEAR. C. Typing of Chlamydia trachomatis by restriction endonuclease analysis of amplified major outer membrane protein gene. *J. Clin. Microb*. 1991, **29** : 1132-1136.
- 61) SAFRIN. S, SCHACHTER. J, DAHROUGE. D. Long-term sequelae of acute pelvic inflammatory disease : A retrospective cohort study. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 1992, **166** : 1300-1305.

- 62) SALPIETRO. C, BISIGNANO, FULLIA. F, MARINO. A, BARBERI. I.  
La conjonctivite à Chlamydia trachomatis du nouveau-né. Arch. Pediatr. 1994, **6** : 317-20.
- 63) SARLANGUE. J. Infections à Chlamydia. In : BEGUE. P, ASTUC. J, Ed. Masson. 1999, 201-4.
- 64) SAROV. I, SAROV. B, LUNEFELD. E, ZION. H, CHAIM. W, PIURA. B.  
The significance of chlamydia specific serum IgA antibodies in Chlamydia trachomatis infections. Eur. Soc. For Chlamydia Res. 1988, 234-38.
- 65) SCHACHTER. J, GROSSMAN. M, SWEET. RL, HOLT. J, JORDAN. C, BISHOPE. E.  
Prospective study of perinatal transmission of Chlamydia trachomatis. Jama. 1986, **255** : 3374-7.
- 66) SCHAECHTER. M, MEDOFF. G, EISENSTEIN. BI. Microbiologie et pathologie infectieuse. Ed. De Boeck. 1999.
- 67) SELLORS. J, MAHONY. J, CHERNESKY. M, GOLDSMITH. C, RATH. D. Clinical findings related to Chlamydia IgA serology in pelvic inflammatory disease. Eur. Soc. For Chlamydia Res. 1988, 277.
- 68) SMITH. J, TAYLOR- ROBINSON. D. Infection due to Chlamydia trachomatis in pregnancy and the new born. Baillière's. Clin. Obstet. Gyn. 1993, **7** : 237-55.
- 69) STEPHENS. R, KALMAN. S, LAMMEL. C, FAN. J, MARATHE. R, ARAVIND. L, MITCHELL. W, OLINGER. L, TTUSOV. R, ZHAO. Q, KOOWIN. E, DAVIS. R.  
Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans : Chlamydia trachomatis. Science 1998, **282** : 754-9.
- 70) STRAY- PEDERSON. B. Prévention des MST. L'expérience norvégienne. Contracept Fertil Sex. 1996, **24** : 213-7.
- 71) TEISALA. K, HEINONEN. PK, PUNNONEN. R. Laparoscopic diagnosis and treatment of acute pyosalpinx. J. Reprod. Med. 1990, **35** : 19-21.
- 72) THIVOLET. J, BRUTZKUS. J. La maladie de Nicolas-Favre. Rev. Prat. 1976, **26** : 3295.
- 73) THOMAS. NS, LUSHER. M, STOREY. CC, CLARKE. IN.  
Plasmide diversity in Chlamydia. Microb. 1997, **143** : 1847-1854.
- 74) WESTROM. LV, BERGER. GS. Consequences of pelvic inflammatory diseases. In Berger GS, Westrom LS, New-York, Raver Press. 1992, 101-114.
- 75) WISDOM. A, HAWKINS. D : Atlas de poche des maladies sexuellement transmissibles. Ed. Flammarion. 1999.
- 76) ZAR. H, VAN DYK, YEATS. J, HANSLO. Chlamydia trachomatis lower respiratory tract infections in infants. Ann Trop. Pediatr. 1999, **19** : 9-13.

77) ZYGEL. U, KAUFMANN S. HE Role of heat shock proteins in protection from and pathogenesis of infection diseases. Clin. Microbiol. Rev. 1999, **12** : 19-39.



DEMANDE D'IMPRIMATUR



**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

présenté par **François BAL**

Sujet :

***Chlamydia trachomatis* dans les infections sexuellement transmissibles**

Jury :

Président : **Mme J. SCHWARTZBROD**, Professeur

Juges : **Mme M. ALBERT**, Maître de Conférences  
**M. JP. JALET**, Pharmacien

Vu,

Nancy, le 13-4-04

Le Président du Jury,

Le Directeur de thèse

**Mme J. SCHWARTZBROD**,  
Professeur

Vu et approuvé,

Nancy, le 13-4-04

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université  
Henri Poincaré-Nancy I,

*Chantal Finance*  
Le Vice Doyen  
**Chantal FINANCE**

1319

Vu,

Nancy, le 20 avril 2004

Le Président de l'Université Henri Poincaré-Nancy I,

**Jean-Pierre FINANCE**



N° d'identification : PH Nancy 04 n° 26

**CHLAMYDIA TRACHOMATIS DANS LES INFECTIONS  
SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES**

Soutenue le 13 mai 2004

par Monsieur BAL François

RESUME :

Depuis toujours les infections sexuellement transmissibles concernent l'espèce humaine. *Chlamydia trachomatis* est responsable à la fois d'infections génitales basses (cervicite, urétrite) et d'infections génitales hautes (salpingite, épидидymite).

Cette bactérie est caractérisée du point de vue clinique par des infections silencieuses dont une des conséquences est la stérilité féminine. Aujourd'hui, malgré des méthodes de dépistage et de diagnostic très efficaces notamment grâce à l'utilisation de la biologie moléculaire et malgré des traitements antibiotiques sans aucune résistance bactérienne, les infections à *Chlamydia trachomatis* demeurent un problème de santé publique. Les pouvoirs publics et les professionnels de santé doivent se mobiliser contre ce fléau sachant qu'il n'existe aucun vaccin à l'heure actuelle.

Le pharmacien a donc le devoir de jouer pleinement un rôle de prévention dans la lutte contre la transmission des infections sexuelles.

MOTS CLES : *Chlamydia trachomatis*, infection, épidémiologie, immunité, diagnostic, traitement.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Professeur J. SCHWARTZBROD	Bactériologie-Parasitologie	Bibliographique Thème : Biologie