

Chapitre VII : Autres bactéries

1. Leptospira

1.1. Introduction

La leptospirose est une anthroponose associée à une bactérie qui, émise par les urines d'animaux infectés, survit dans l'environnement (eaux douces). L'homme est un hôte accidentel contaminé soit par voie directe (contact avec un animal infecté) soit, le plus souvent, par voie indirecte (contact avec les eaux douces ou des sols souillés par des urines ou tissus d'animaux infectés). Certaines professions sont plus particulièrement exposées (maladie professionnelle). Sept espèces pathogènes sont associées à la maladie humaine et animale.

1.2. Historique

En 1915, Inada et Ido isolent *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, et montrent que le rat en est l'hôte privilégié.

1.3. Ecologie et pouvoir pathogène

*Diversité extrême des espèces animales réservoirs :

- domestiques : bovins, porcins, petits ruminants, chiens.
- sauvages : suidés, cervidés, primates, rongeurs (+++), batraciens.

* Existence d'hôtes préférentiels, non exclusifs, pour certains sérovirs qui explique les différents faciès épidémiologiques de la maladie :

- rats (*R. rattus* et *R. norvegicus*) pour *icterohaemorrhagiae*;
- campagnol pour *grippotyphosa* ;
- chien pour *canicola*;
- bovins et ovins pour *hardjo*;
- porcs, suidés sauvages et bovins pour *pomona*.

* Expression clinique extrêmement variable selon l'espèce animale :

- Formes aiguës : septicémies, hépatites, néphrites et hémoglobinuries (formes ictero-hémorragiques des primates non humains et des canidés).
- Formes subaiguës : signes généraux discrets, avortements fréquents (bovins, porcins).
- Formes chroniques : avortements, néphrites interstitielles, infertilité, uvéites (chevaux). Les infections chroniques sont beaucoup plus fréquentes que les infections aiguës ou subaiguës.

* Animaux porteurs contaminent leurs congénères par transmission directe (passage transplacentaire, rapports sexuels, allaitement) et les autres espèces animales par transmission indirecte (milieu extérieur souillé par l'urine des animaux infectés). Le portage rénal est asymptomatique chez les rongeurs et les micro-mammifères terrestres, assurant la contamination continue de leur environnement.

* Survie dans l'environnement

Pas de multiplication dans le milieu extérieur. Survie jusqu'à 6 mois dans l'eau, les sols boueux à pH légèrement alcalin, d'une salinité très faible et en l'absence de rayonnements ultraviolets.

1.4. Épidémiologie

Répartition hétérogène des espèces pathogènes. Quelques sérovirs ubiquistes : *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *pomona* et *hardjo*.

1.5. Physiopathogénie

La première phase de l'infection est liée au passage transcutané ou transmuqueux dont le processus reste inconnu. Les leptospires peuvent traverser la peau saine et leur mobilité contribue à leur diffusion dans l'organisme hôte. Il n'y a pas d'afflux de cellules inflammatoires au point d'entrée. Leur multiplication s'effectue dans le sang et dans les organes cibles. Les anticorps sont opsonisants et mettent en jeu la phagocytose par les macrophages et les Le foie semble jouer un rôle fondamental dans la phase initiale de la maladie puisque, *in vivo*, les leptospires y induisent une apoptose des hépatocytes à même de favoriser leur multiplication semble s'effectuer via un second passage dans la circulation générale. Enfin, des capacités invasives des leptospires pour les cellules eucaryotes, via l'endocytose médiée par récepteur, ont été montrées *in vitro*.

1.6. Diagnostic biologique

Le diagnostic se fait surtout par la culture et l'identification, par l'amplification génique (PCR) et par la sérologie. Ces trois approches sont complémentaires pour le diagnostic biologique de la leptospirose.

- Prélèvements : hémostase, LCR et uroculture.
- L'examen direct au microscope à fond noir est à proscrire à cause des faux positifs (débris cellulaires, fibrine).
- La culture s'effectue sur des milieux particuliers à 30°C à l'obscurité durant 2 mois. L'agitation des cultures facilite la croissance (métabolisme aérobie). Un examen hebdomadaire est effectué au microscope à fond noir.
- Diagnostic sérologique (ELISA, test de micro agglutination).
- Diagnostic moléculaire (PCR) : Il peut être positif dès le second jour de la maladie puis jusqu'au 12ème jour. La recherche s'effectue à partir du sérum, LCR, urines, humeur aqueuse. Les limites sont les faux négatifs (inhibiteurs, charge bactérienne faible).

1.7. Caractère bactériologique

Morphologie : bactéries finement spiralées, flexibles, mobiles et aux extrémités en crochets visualisées au microscope à fond noir. Diamètre cellulaire : 0,1 mm ; longueur : 6 à 12 mm.

Les caractères morphologiques, la mobilité et la croissance en EMJH (seul spirochète poussant sur ce milieu) affirment l'appartenance au genre *Leptospira*.

La première étape de détermination de l'espèce différencie les souches pathogènes des saprophytes (Croissance à 13°C et en présence de 8-azaguanine). L'identification précise de l'espèce, du sérogroupe et du sérovar a un intérêt épidémiologique fondamental.

1.8. Sensibilité aux antibiotiques

Ces bactéries sont sensibles au quasi-totalité des antibiotiques. *In vitro*, l'ampicilline et le céfotaxime ont les CMI et CMB les plus basses. Chez le hamster infecté expérimentalement, la doxycycline assure une élimination complète des leptospires, y compris au niveau rénal. Chez l'animal, la streptomycine est la plus utilisée.

1.9. Prophylaxie

Il existe des vaccins inactivés destinés aux bovins (*hardjo*), porcs (*pomona*) et chiens (*canicola*, *icterohaemorrhagiae*). Efficacité non démontrée sur le portage urinaire et les troubles de la reproduction. Tandis que la prophylaxie humaine repose sur la protection collective (efficacité certaine, mais mise en œuvre difficile de : dératisation, contrôle des effluents des élevages industriels, drainage des zones inondées) et individuelle (bottes, gants, antibioprophylaxie, vaccin humain inactivé).

2. Mycoplasma

1. Taxonomie

Les mycoplasmes sont des procaryotes dépourvus de paroi. Ils sont largement répandus dans la nature, chez l'animal, chez l'homme, les insectes et les plantes.

Classe	Mollicutes				
Ordre	Mycoplasmatales		Acholeplamatales	Anaeroplasmatales	
Famille	Mycoplasmataceae		Acholeplamataceae	Anaeroplasmataceae	
Genre	<i>Mycoplasma</i>	<i>Ureaplasma</i>	<i>Acholeplasma</i>	<i>Anaeroplasma</i>	<i>Asteroplasma</i>
Nb espèces	100	6	13	4	1
Habitat	Homme, animaux	Homme, animaux	Animaux, insectes et plantes	Rumen des bovins et des ovins	Rumen des bovins et des ovins

Tableau : Classement et habitat des mycoplasmes.

L'ordre des Entomoplasmatales est pathogène pour les insectes et les plantes.

2. Caractères bactériologiques

Les mycoplasmes sont des bactéries dépourvues de paroi, de petite taille (300 nm) et, de ce fait, non perceptibles au microscope optique. Le cytoplasme contient un génome très court et des ribosomes. La membrane en trois feuillets contient des lipides en grande quantité, des glucides, des glycolipides et des protéines.

La culture en atmosphère microaérophile est lente mais possible sur des milieux acellulaires pourvu qu'ils contiennent du cholestérol et des extraits de levure, précurseurs pour la synthèse d'acides nucléiques. Les mycoplasmes peuvent être cultivés en culture cellulaire (mycoplasmes très exigeants d'espèces aviaires). Les colonies, très petites, apparaissent en plusieurs jours et doivent être observées au microscope inversé ou à la loupe. Elles ont une allure caractéristique "en oeuf sur le plat".

In vivo, les mycoplasmes se multiplient en dehors des cellules mais adhèrent à leur surface (parasite extracellulaire des muqueuses des animaux). Ils sont sensibles à l'environnement (pH, température, agents tensioactifs, pression osmotique).

Fermentation du glucose, hydrolyse de l'arginine ou de l'urée sont des caractères métaboliques utiles à l'identification bactériologique.

Les mycoplasmes possèdent des antigènes spécifiques de groupes d'espèces.

3. Pouvoir pathogène :

Mycoplasma comprend des espèces commensales (appareil génital de l'homme et des animaux) et des espèces pathogènes responsables de nombreuses maladies, surtout chez l'animal. *Mycoplasma* est responsable d'affections respiratoires et génitales

Les mycoplasmes sont à l'origine de mycoplasmose sporadique et endémiques aux conséquences socioéconomiques majeures.

Mycoplasma est l'agent de la PPCB, PPCC, l'agalactie contagieuse des brebis et des chèvres, des maladies respiratoires chroniques des oiseaux, des arthrites et de mammites chez les ruminants.

4. Facteurs de virulence

- . Adhérence aux épithéliums cellulaires (à l'exception de *M. gallisepticum*, *M. pulmonis* et *M. hyopneumonia*).
- . Production d'enzymes extracellulaire.
- . L'interaction entre les mycoplasmes et les cellules du système immunitaire (macrophages et monocytes) induit la production de pro-inflammatoire cytokines comme le facteur de nécrose tumorale α , les interleukines et l'interféron γ .
- . Lipide et lipoprotéine membranaire.

5. Diagnostic biologique

Du fait de l'adhérence des mycoplasmes, les prélèvements doivent ramener des cellules. Les milieux solides sont ensemencés avec quelques gouttes d'échantillon (liquide pleural, lymphé péripneumonique ou broyat de poumon) ou par empreintes réalisées à la surface de la gélose à partir de sections de poumons ou de ganglion. Les brossages bronchiques ou lavages broncho-alvéolaires, les produits de grattage des muqueuses ou les liquides biologiques centrifugés conviennent beaucoup mieux que les prélèvements sur écouvillons.

Le diagnostic microscopique direct est difficile et se fait après coloration. La technique de May-Grünwald Giemsa est la plus fréquemment utilisée.

On peut cependant rechercher, avec des chances de succès, les antigènes par des techniques immunologiques : immunofluorescence directe ou indirecte, immunoenzymologie ou immunoprécipitation.

La culture des mycoplasmes, qui prend plusieurs jours, nécessite des milieux spéciaux et un protocole rigoureux. L'identification se fonde sur la morphologie des colonies et sur les propriétés métaboliques.

Le diagnostic sérologique est essentiel dans les infections à *Mycoplasma pneumoniae*. Les anticorps spécifiques sont révélés par diverses techniques : ELISA ou immunoblotting.

6. Traitement

Les mycoplasmes sont insensibles aux bétalactamines ; il faut utiliser les macrolides (érythromycine, spiramycine et tylosine) ou les cyclines. Des vaccins sont en projet. Le contrôle et la prévention des mycoplasmoses nécessitent des moyens diagnostiques performants et une structure de surveillance épidémiologique efficace.

Ce sont des microorganismes qui satisfont aux critères suivants :

❑ Croissance sur milieux artificiels liquides ou solides (acellularaires).

❑ Les colonies, très petites, incrusté dans la gélose, apparaissent en plusieurs jours et doivent être observées au microscope inversé ou à la loupe. Elles ont une allure caractéristique "en oeuf sur le plat".

❑ Pléomorphisme très marqué (forme coccoïdes, en anneau, en masse, en chaînette...) dû à l'absence d'une paroi rigide.

❑ Exigence en cholestérol (serum) et en protéines dans les milieux de cultures.

❑ Toutes les espèces sont résistantes à la pénicilline (de façon formelle).

3. Coxiella

3.1. Introduction

Autrefois appelée : *Rickettsia*, *Coxiella burnetii* est l'agent d'une zoonose, la fièvre Q (Query fever, puis Q fever), décrite en 1935 chez des ouvriers d'un abattoir en Queensland, Australie. Elle a été renommée fièvre Q pour souligner les incertitudes concernant son étiologie et son épidémiologie (Q n'a pas de relation avec Queensland).

3.2. Systématique

Les études phylogénétiques, basées sur l'analyse de l'ARNr 16S, ont montré que le genre *Coxiella* appartient à la classe des Gammaproteobacteria et il est proche des genres *Legionella* et *Rickettsiella*. Dans la deuxième édition du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" le genre *Coxiella* est placé dans la famille des Coxiellaceae (ordre des Legionellales, classe des Gamma Proteobacteria, phylum ou division des "Proteobacteria", domaine ou empire des "Bacteria" ou des "Eubacteria").

Officiellement, le genre *Coxiella* ne renferme qu'une seule espèce, *Coxiella burnetii*.

3.3. Caractères bactériologiques

Coxiella burnetii est une bactérie intracellulaire obligatoire, en forme de bâtonnet, fortement pléomorphe ($0,2\text{-}0,4 \times 0,4\text{-}1 \mu\text{m}$) non mobile *in vivo*, la cellule cible est le monocyte-macrophage, c'est une bactérie qui possède une structure de paroi proche à celle des Gram négatif mais difficile à colorer par la technique de Gram si bien que la coloration la plus utilisée est celle de Gimenez.

Coxiella burnetii n'est pas cultivable sur des milieux inertes mais sa culture est possible en ayant recours à des œufs embryonnés ou à diverses lignées cellulaires (cellules Vero...).

Après des passages en série effectués sur cellules ou sur œufs embryonnés, les souches de *Coxiella burnetii* peuvent présenter une variation de phase antigénique au niveau de son LPS, comparable à la variation lisse-rugueuse (smooth-rough) :

- Les bactéries en phase I (smooth) possèdent un LPS complet, elles sont isolées des arthropodes, des autres animaux et de l'homme et elles sont douées d'un pouvoir infectieux important.
- Les bactéries en phase II (rough), obtenues au laboratoire après plusieurs cultures successives, présentent un LPS incomplet ou tronqué avec un faible pouvoir infectieux.

Chez l'homme ou l'animal infectés, cette variation de phase doit exister car la réponse en anticorps est généralement plus précoce et plus élevée vis-à-vis d'un antigène constitué par des bactéries en phase II. En revanche, le pouvoir protecteur des anticorps anti-phase I est nettement plus élevé que celui des anticorps anti-phase II. Les différences de comportement entre *Coxiella burnetii* en phase I et *Coxiella burnetii* en phase II permettent d'expliquer que seules les bactéries en phase I soient infectieuses.

Coxiella burnetii présente un cycle de multiplication complexe caractérisé par la présence de deux formes morphologiques : des variants de petite taille et d'autres de grande taille.

- Les variants de petite taille sont des bacilles ($0,2 \mu\text{m}$ sur $0,5 \mu\text{m}$), présentant un matériel nucléaire condensé et caractérisés par l'accumulation dans l'espace périplasmique de protéines et de fragments de peptidoglycane qui joueraient un rôle dans les capacités de résistance.

- Les variants de grande taille apparaissent plus polymorphes (longueur peut atteindre $2 \mu\text{m}$), ils présentent un nucléoïde dispersé, un espace périplasmique bien individualisé.

Les variants de petite taille sont métaboliquement peu actifs, ils correspondent aux bactéries extracellulaires, très résistantes dans le milieu extérieur et capables de se fixer sur les récepteurs

des cellules eucaryotes. Après pénétration et formation des phagolysosomes, l'acidité active le métabolisme et les variants de petite taille donnent naissance aux variants de grande taille métaboliquement actifs et aptes à se diviser par fission binaire (phénomène proche à celui de *Chlamydophila*).

In vitro, les variants de grande taille sont infectieux mais, compte tenu de leur fragilité dans le milieu extérieur, ils ne jouent certainement aucun rôle dans la transmission entre individus infectés et individus sains. En revanche, ils semblent responsables de la dissémination au sein d'un organisme infecté.

Au cours de leur multiplication, le variant de grande taille semble capable de présenter un phénomène proche de celui de la sporulation ; une pseudo-spore dont le développement ultérieur conduirait à un variant de petite taille libéré de la cellule soit par lyse cellulaire soit par exocytose. La sporulation n'est toutefois pas admise par tous les auteurs et il est possible que les variants de grande taille puissent donner des variants de petite taille par condensation sans passer par l'intermédiaire d'une pseudo-spore.

Les variants extracellulaires (de petite taille) de *Coxiella burnetii* sont très résistants dans le milieu extérieur même si la résistance apparaît variable selon les conditions (plus de 40 mois dans du lait écrémé conservé à température ambiante, au moins deux ans à - 20 °C, au moins 586 jours dans des excréments de tiques, elle peut survivre 8 mois dans la laine conservée à 20 °C, plus d'un mois dans de la viande conservée à + 4 °C et 7 jours dans l'eau).

Les souches de *Coxiella burnetii* supportent de grandes variations de pH et elles résistent aux UV, à la dessiccation et aux ultrasons. Elles sont thermostables (une heure à 60 °C et 30 minutes à 63 °C). Elles résistent à divers antiseptiques et désinfectants (formol à 5 p. cent, phénol à 1 p. cent, hypochlorite à 0,5 p. cent) mais elles sont détruites par l'éther, le chloroforme à 5 p. cent, l'éthanol à 70 p. cent et le formol à 10 p. cent.

3.4. Eléments d'épidémiologie

3.4.1. Répartition géographique et réservoirs

Coxiella burnetii a une répartition géographique mondiale. Le réservoir de germes est constitué par de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages : bovins, ovins, caprins, chevaux, chameaux, porcs, chiens, chats, lapins, rongeurs sauvages (rats, souris, campagnols...), diverses espèces d'oiseaux domestiques et sauvages, tiques, poux... Expérimentalement, il est possible d'infecter des amibes dans lesquelles les bactéries restent vivantes durant six semaines. De manière similaire à ce qui est décrit avec les *Francisella tularensis* (il est possible que les amibes constituent un réservoir naturel de germes).

Les animaux éliminent le germe dans les urines, les selles, le lait et plus spécialement dans les produits de mise bas et d'avortements. Par ailleurs, la bactérie est présente dans le lait après accouchement.

3.4.2. Modes de contamination

L'épidémiologie de la fièvre Q se caractérise par deux cycles de transmission, l'un concernant les animaux sauvages et l'autre les animaux domestiques.

3.4.2.1. Cycle sauvage

Les tiques semblent jouer un rôle important dans la transmission entre les vertébrés sauvages (rongeurs, les lagomorphes et les oiseaux).

Dans les premiers stades de l'infection, les animaux présentent souvent une bactériémie transitoire permettant une contamination des tiques. *Coxiella burnetii* se multiplie dans l'estomac et l'intestin et elle est éliminée dans les déjections.

Les tiques infectées contaminent les vertébrés soit par morsure soit par l'intermédiaire de leurs déjections qui contaminent la peau et le pelage des animaux. Chez les tiques, il existe une transmission trans-ovarienne et trans-stadiale. Les tiques sont également capables de transmettre directement l'infection à des vertébrés domestiques, voire même à l'homme, mais ce mode de contamination ne semble pas majeur. Les animaux infectés excrètent le germe dans le milieu extérieur dans lequel les bactéries peuvent survivre durant plusieurs semaines. L'environnement constitue une source de contamination aussi bien pour les animaux sauvages que pour les animaux domestiques.

3.4.2.2. Cycle domestique

Les animaux domestiques s'infectent éventuellement par des morsures de tiques mais, le plus souvent, par l'inhalation d'aérosols infectés. Les individus infectés sont généralement asymptomatiques mais ils excrètent la bactérie dans les selles, les urines et le lait. L'excrétion peut se prolonger durant 8 mois. Chez les femelles en gestation, la contamination du placenta et des annexes fœtales est massive et ils peuvent contenir jusqu'à un milliard de germes par gramme. Il en résulte une contamination très importante du milieu extérieur dans lequel les bactéries survivent plusieurs semaines.

Chez l'homme, l'inhalation de poussières infectées constitue le principal mode de contamination. La multiplicité des réservoirs, la contamination massive de l'environnement, la résistance du germe dans le milieu extérieur, la forte infectiosité du germe (une bactérie suffit à contaminer l'homme ou le cobaye) et la dissémination de poussières contaminées par le vent expliquent que les circonstances de la contamination humaine sont multiples.

Les ruminants domestiques (bovins, caprins, ovins) semblent constituer la principale source de contamination pour l'homme. Les individus les plus exposés sont ceux qui ont des contacts professionnels avec les animaux : éleveurs, vétérinaires, employés d'abattoir, scientifiques expérimentant sur les ruminants... Des cas d'infection humaine peuvent résulter d'une transmission par des carnivores domestiques (chiens et surtout chats : 6 à 20 % des chats peuvent être séropositifs) ou des lapins d'agrément qui contaminent l'homme et le milieu ambiant notamment lors de la mise bas. D'autres modes d'infection sont qualifiées de faible (consommation d'eau, d'aliments contaminés et surtout de lait cru ou de produits laitiers au lait cru).

3.5. Pouvoir pathogène

3.5.1. Notions générales

Coxiella burnetii est une bactérie possédant un grand pouvoir infectieux et, chez des volontaires humains, l'inhalation d'une seule bactérie peut provoquer une infection. Le mode de contamination a été évoqué pour expliquer les différentes formes cliniques de la fièvre Q : une contamination par voie respiratoire provoquerait préférentiellement une pneumonie et une contamination par voie digestive, résultant notamment de la consommation de lait cru, provoquerait plus volontiers des hépatites.

Aussi bien chez l'homme que chez les animaux, après une infection inapparente ou cliniquement exprimée, *Coxiella burnetii* peut induire des infections persistantes généralement asymptomatiques. Les organes et tissus hébergeant les bactéries persistantes (sous la forme de variants de petite taille ou de pseudo-spores ?).

Chez les vertébrés domestiques, l'infection à *Coxiella burnetii* est souvent inapparente mais, au moins chez les ruminants, elle peut être associée à de l'infertilité, à une diminution du poids des nouveau-nés, à des avortements (avortements en fin de gestation chez les ruminants), à de la mortalité néonatale ou à des mises bas prématurés.

D'autres formes ont été décrites : pneumonies, métrites, conjonctivites, arthrites.

Chez le chien, la fièvre Q a été rendue responsable de cas de mortinatalité.

Expérimentalement, l'infection peut être transmise à des animaux de laboratoire : souris, cobayes, rats, hamsters, lapins, singes... Chez ces animaux, l'infection peut être asymptomatique ou se traduire par de la fièvre ou par la formation de granulomes voire même être mortelle lorsque l'inoculum est important.

3.5.2. Pouvoir pathogène pour l'homme

Dans la majorité des cas, l'infection par *Coxiella burnetii* demeure asymptomatique et sur 100 individus infectés seuls 40 présentent des signes cliniques. Même lorsqu'elle est cliniquement exprimée, la fièvre Q évolue le plus souvent sous une forme modérée si bien que l'hospitalisation ne concerne en moyenne que 2 à 4 p. cent des malades. Après une incubation de une à trois semaines, la fièvre Q évolue sous une forme aiguë ou sous une forme chronique. Les formes chroniques sont les plus graves et elles sont plus fréquentes chez les patients immunodéprimés (infections par le virus HIV, cancers, traitements immunosupresseurs) ou souffrant d'une valvulopathie ainsi que chez les femmes enceintes.

La fièvre Q aiguë se traduit soit par des signes cliniques non spécifiques évoquant une grippe (fatigue, fièvre, frissons, céphalées, arthralgies) soit par des pneumonies atypiques accompagnées parfois de détresse respiratoire soit par des signes d'atteinte hépatique (augmentation des enzymes hépatiques, parfois hépatomégalie, rarement jaunisse). Dans tous les cas, le pronostic des infections aiguës est bon, les symptômes régressent en deux à trois semaines et la mortalité < 1 %.

La fièvre Q chronique qui peut se produire plusieurs mois ou années après une infection aiguë. Le pronostic des formes chroniques est grave et le taux de mortalité peut atteindre 15 %.

3.6. Diagnostic bactériologique et sérologique

La manipulation de prélèvements renfermant des souches de *Coxiella burnetii* fait courir un risque au manipulateur. *Coxiella burnetii* est classée parmi les germes du groupe 3 (en fonction du risque d'infection pour l'homme) et elle ne peut être manipulée que dans un laboratoire spécialisée.

3.6.1. Mise en évidence dans les tissus

La bactérioscopie est utilisée en médecine vétérinaire. Des calques de cotylédons, d'organes de l'avorton ou des frottis de prélèvements vaginaux sont colorés par la méthode de Gimenez, de Stamp ... Sa sensibilité est faible et sa spécificité est médiocre car *Coxiella burnetii* peut être confondue avec des brucelles ou avec des *Chlamydophila*.

La PCR peut être appliquée directement à une grande variété d'échantillons (biopsies pulmonaires et hépatiques, placentas, échantillons congelés ou inclus dans la paraffine, lait, voire même poussières). En revanche, elle donne des résultats décevants lorsqu'elle est effectuée sur du sang (nombreux résultats faussement positifs).

3.6.2. Isolement (culture)

Elle est peu utilisée en raison des risques pour le personnel et de sa faible sensibilité. Les cellules les plus utilisées sont des fibroblastes embryonnaires humains (cellules HEL) très sensibles à l'infection et faciles à cultiver.

Le prélèvement (le plus souvent une biopsie ou la couche leucocytaire obtenue à partir du sang) est inoculé sur des cellules HEL placées dans un tube "bijou". Après centrifugation (700 X g, 1 heure, 20 °C) pour favoriser l'attachement et la pénétration des bactéries, les cellules sont incubées à 37 °C dans une atmosphère contenant 5 % de CO₂. Après 5 à 7 jours de culture, la recherche de *Coxiella burnetii* est effectuée soit par coloration de Gimenez soit par une technique d'immunofluorescence soit par PCR. La culture n'est pas utilisée en routine pour le diagnostic, surtout en médecine vétérinaire, mais elle est indispensable pour des études épidémiologiques poussées.

3.6.3. Sérologie

Le diagnostic sérologique reste la clef de voûte du diagnostic biologique de la fièvre Q. De nombreuses techniques ont été proposées mais seules les techniques de fixation du complément et d'immunofluorescence indirecte sont commercialisées en France par exemple. La réaction de fixation du complément n'est plus guère utilisée chez l'homme et la réaction d'immunofluorescence indirecte est considérée comme la technique de référence.

3.7. Sensibilité aux antibiotiques

Coxiella burnetii n'est pas cultivable sur milieux inertes si bien que l'antibiogramme ne peut être effectué selon les techniques classiques. Pour évaluer la sensibilité aux antibiotiques, des modèles expérimentaux recourant à des œufs embryonnés, à des animaux de laboratoire (cobaye) ou à des cultures cellulaires ont été développés. En utilisant des œufs embryonnés inoculés par voie intravitelline, les bêta-lactamines, le chloramphénicol, la clindamycine et l'érythromycine sont dépourvus d'efficacité. Les souches de *Coxiella burnetii* isolées d'infections chroniques semblent plus résistantes aux antibiotiques, notamment à la doxycycline, que les souches isolées d'infections.

En fait, pour être actif vis-à-vis de *Coxiella burnetii*, un antibiotique doit pénétrer dans les cellules, se concentrer dans les phagolysosomes et rester actif à un pH inférieur à 5. L'ensemble de ces exigences explique l'inefficacité des bêta-lactamines qui ne se concentrent pas dans les cellules, l'inefficacité des aminosides qui pénètrent dans les phagolysosomes mais qui sont inactivés à pH acide et le manque d'efficacité des macrolides qui sont plus actifs à pH basique. De plus, des phénomènes de résistance acquise ont été décrits vis-à-vis des tétracyclines ou des quinolones et des différences de sensibilité selon les souches ont été rapportées vis-à-vis de la doxycycline, de la ciprofloxacine et de la rifampicine.

Parmi les antibiotiques généralement considérés comme actifs (rifampicine, cotrimoxazole, fluoroquinolones, tétracyclines et clarithromycine) aucun n'est doué de propriétés bactéricides vis-à-vis de *Coxiella burnetii*. Lors de fièvre Q aiguë, un simple traitement bactériostatique est suffisant mais lors de formes chroniques une antibiothérapie bactériostatique est insuffisante car elle contrôle l'infection sans entraîner une véritable guérison bactériologique. Il semble que l'absence d'activité bactéricide de certaines molécules soit liée à un manque d'efficacité à pH acide et que l'alcalinisation des phagolysosomes soient aptes à restaurer une activité optimale. Ainsi, l'adjonction d'hydroxychloroquine (molécule apte à alcaliniser les phagolysosomes) aux fluoroquinolones ou à la doxycycline restaure l'activité bactéricide de ces antibiotiques.

Chez les animaux, les tétracyclines sont les molécules les plus utilisées pour le traitement.

3.8. Prophylaxie

Les pertes économiques engendrées par la fièvre Q sont peu importantes ce qui n'encourage pas une lutte active pour supprimer ou pour réduire l'infection des animaux domestiques.

3.8.1. Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire de la fièvre Q repose avant tout sur les mesures d'hygiène et les bonnes pratiques d'élevage (désinfection, mise bas en box isolés, destruction des placentas et des avortons, lutte contre les tiques, surveillance des chiens, contrôle des échanges d'animaux, hygiène du personnel...). Le port de masques et des conditions d'hygiène rigoureuses pourraient limiter la contamination du personnel des abattoirs ou des entreprises travaillant avec des produits d'origine animale (lait, viande, peau, laine...).

La manipulation de souches de *Coxiella burnetii* ne peut se faire que dans un laboratoire de type P3 (un laboratoire spécialisé) employant un personnel informé des risques, ce qui limite les possibilités de contamination. Toutefois, les risques de contamination sont importants pour le personnel travaillant dans un laboratoire de diagnostic non spécialisé mais pouvant recevoir un prélèvement contaminé. Le respect des précautions élémentaires telles que le port de masques et de gants et l'utilisation de postes de sécurité microbiologique permettent de limiter les risques.

3.8.2. Prophylaxie médicale

Chez les ruminants, la prophylaxie médicale fait appel aux antibiotiques ou à la vaccination. Les antibiotiques, notamment les tétracyclines, sont utilisés pour limiter les avortements au sein d'un troupeau infecté mais il ne permettent pas de supprimer l'excrétion bactérienne. Les vaccins actuellement disponibles sont préparés à partir de souches en phase I ou de souches en phase II.

Chez l'homme, les vaccins sont préparés à partir de *Coxiella burnetii* en phase I qui donnent de bien meilleurs résultats que les vaccins utilisant des souches en phase II. Les candidats à la vaccination sont les personnels des laboratoires travaillant sur *Coxiella burnetii* ainsi que les éleveurs, les vétérinaires, les employés d'abattoir et d'une manière générale, toutes les personnes qui ont des contacts fréquents avec les animaux ou leurs produits ou même, il convient d'envisager une vaccination chez les personnes susceptibles d'être victimes des formes chroniques de fièvre Q (individus immunodéprimés...).

4. Chlamydophila

4.1. Taxonomie

Le genre *Chlamydophila* constitue, avec le genre *Chlamydia*, la famille des *Chlamydiaceae* et il comprend actuellement 6 espèces : *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila caviae*, *Chlamydophila felis*, *Chlamydophila pecorum*, *Chlamydophila pneumoniae* et *Chlamydophila psittaci*.

4.2. Caractère bactériologique

Ce sont des bactéries de petite taille, (0,2 micromètre) parasites cellulaires obligatoires, possédant ADN et ARN, dont la paroi, mince, ressemble à celle des bactéries à Gram négatif.

4.3. Cycle de développement

Leur cycle de développement les différencie de tous les autres procaryotes ; il se déroule dans la cellule à l'intérieur d'une vacuole dérivée d'une invagination de la membrane cellulaire.

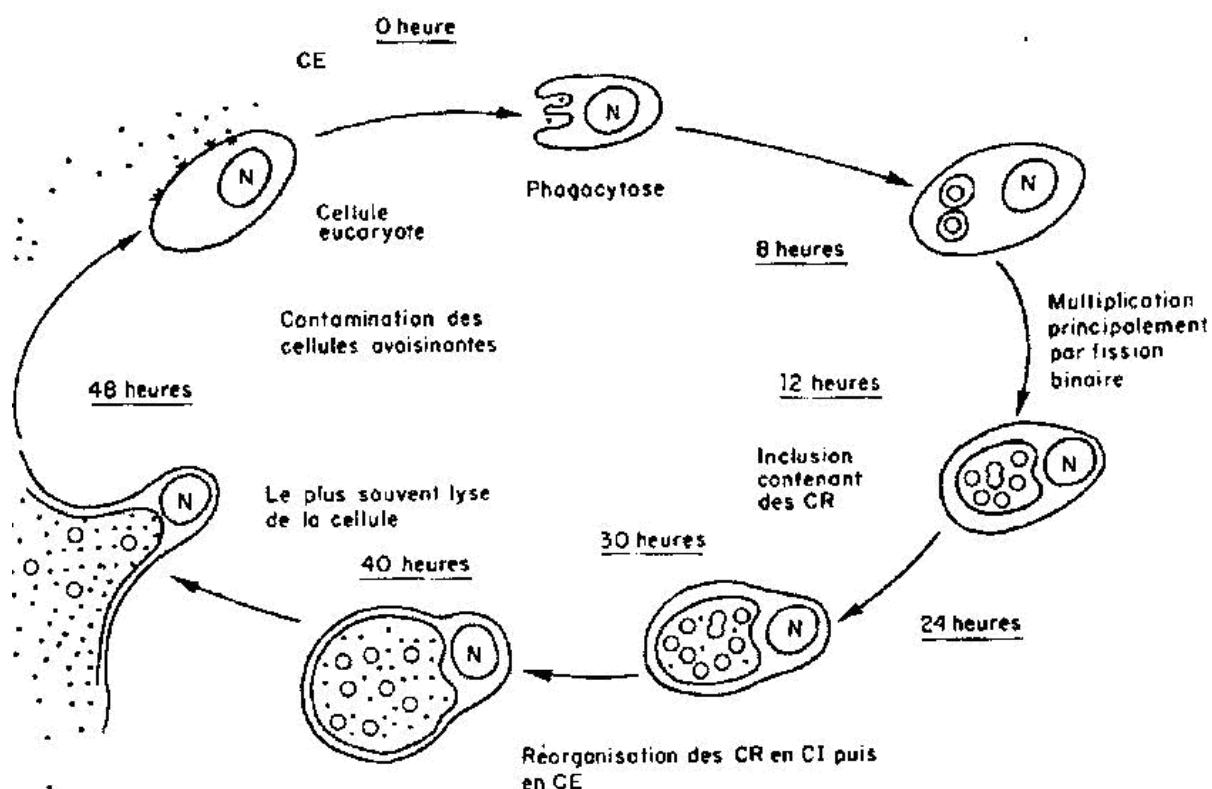


Figure 7-1 : Cycle de développement des *Chlamydia*

Les *chlamyiae* pénètrent dans la cellule par phagocytose sous forme de corps élémentaires de 0,2 micromètre et sont englobés dans une vacuole dans laquelle ils se transforment en corps intermédiaires puis en corps réticulés (0,8 à 1 µm). Ils se multiplient par division binaire; la vacuole augmente de taille et devient une grande inclusion basophile. Après 4 à 5 divisions, les corps réticulés subissent une maturation en corps intermédiaires puis en nouveaux corps élémentaires.

L'inclusion finit, après un délai de 48 à 72 heures, par éclater en lysant la cellule hôte et en libérant des corps élémentaires qui parasitent de nouvelles cellules.

Les corps élémentaires sont la forme virulente mais leur pouvoir infectieux diminue sitôt l'entrée dans la cellule et devient nul pour les corps réticulés.

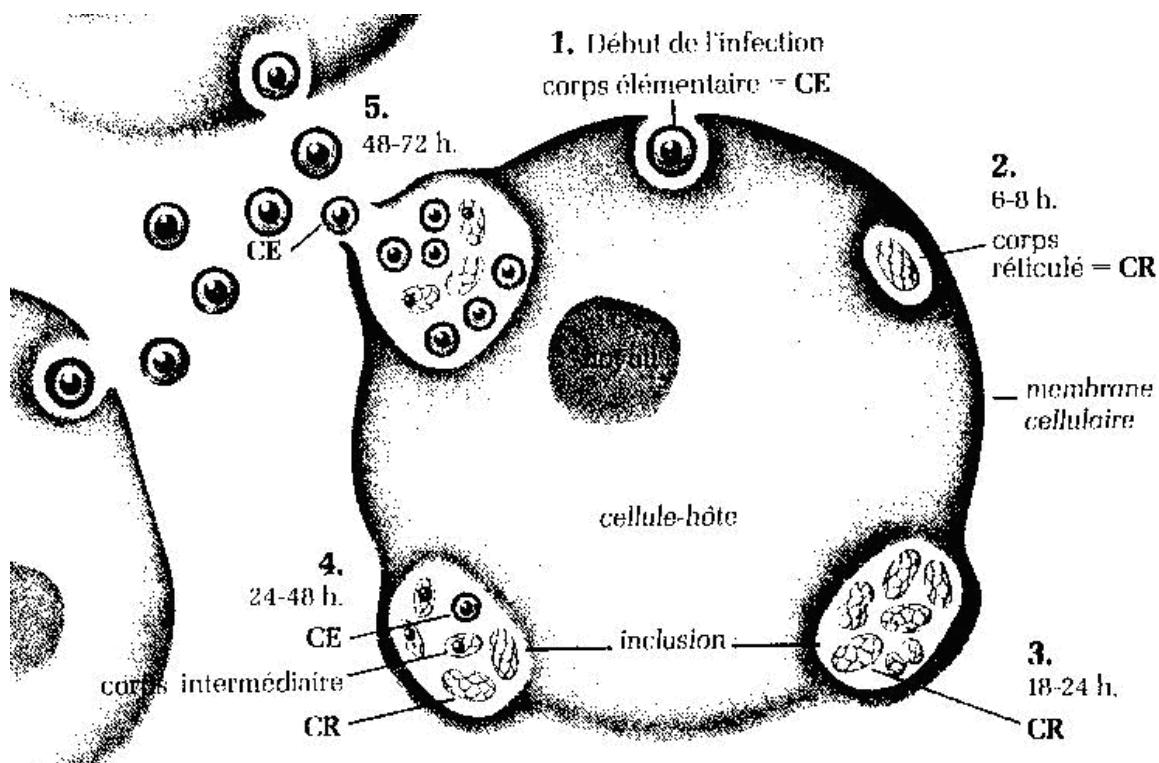


Figure 7-2 : Cycle de développement des *Chlamydia*

4.4. Structure antigénique

La paroi contient plusieurs structures antigéniques.

- Un antigène de genre, thermostable, de structure lipopolysaccharidique (LPS) très proche de celle du LPS des bactéries à Gram négatif. Il est présent à tous les stades de développement et commun aux trois espèces ; il est extractible et utilisable en réaction de fixation du complément pour le diagnostic de la lymphogranulomatose vénérienne et de l'ornithose-psittacose qui sont des affections provoquant une forte réponse anticorps décelable par cette réaction peu sensible.

+ Un antigène spécifique d'espèces, protéique, correspondant à la "protéine majeure de la membrane externe" (PMME) thermolabile, présent à tous les stades du développement et différents selon les espèces.

+ Des antigènes spécifiques de types, protéiques, qui caractérisent les différents sérotypes : 13 pour *psittaci*, (un seul pour *pneumoniae*.)

Les anticorps dirigés contre ces différents antigènes sont décelables par réaction d'immunofluorescence indirecte, par technique ELISA ou par Western blot. Ils n'ont guère de pouvoir protecteur.

4.5. Habitat et pouvoir pathogène

. *Chlamydophila abortus* est une espèce présentant un tropisme pour le placenta des ruminants (bovins, caprins et ovins) et elle est responsable d'avortements (avortement enzootique des petits ruminants) et de mortalités néonatales. Plus rarement, cette espèce a été mise en cause lors d'avortements chez des juments, des carnivores, des lapines, des porcs, des souris et des cobayes. Toutes les souches semblent former un unique sérovar.

. *Chlamydophila caviae* est une espèce bien adaptée au cobaye. *Chlamydophila caviae* est une espèce non invasive colonisant l'épithélium de la conjonctive et, parfois, les épithéliums des voies génitales.

. *Chlamydophila felis* est endémique dans les populations de chats et elle est responsable de conjonctivites et de rhinites. Toutes les souches semblent former un unique sérovar.

. *Chlamydophila pecorum* n'a été isolée que chez les mammifères, notamment les ruminants (bovins, caprins et ovins) mais aussi chez les porcs et chez les koalas. L'habitat de cette bactérie semble être l'intestin.

Chez les ruminants et chez les porcs, *Chlamydophila pecorum* est isolée lors de cas de conjonctivites, d'arthrites, d'encéphalomyélites, d'entérites, de pneumonies et d'avortements. Chez le porc, *Chlamydophila pecorum* pourrait être à l'origine de mortalités néonatales.

. *Chlamydophila pneumoniae* est divisée en 3 biovars : le biovar TWAR (l'homme= IR), le biovar Equin (IAs cheval) et le biovar Koala (IR surtout).

. *Chlamydophila psittaci* est divisée en 8 sérovars ; répandus dans le monde animal (oiseaux, bovins et ovins), l'homme n'étant qu'un hôte occasionnel.

La psittacose désigne la maladie des perroquets, perruches et serins ainsi que la maladie humaine ; le terme "ornithose" concerne les maladies des oiseaux sauvages ou de basse cour. Se traduit par une diarrhée accompagnée d'une perte de poids et des troubles respiratoires.

4.6. Diagnostic biologique

En raison du site intracellulaire de la bactérie, il est indispensable que le prélèvement contienne des cellules : l'écouvillonnage vaginal (avortement), rectal, nasal, cloacal, raclage doux de la muqueuse conjonctival (meilleur prélèvement chez le chat), prélèvement tissulaire (poumons, rate, foie, intestin..).

- On peut tenter de mettre en évidence *Chlamydia* dans les cellules atteintes par un examen microscopique. On observe le frottis après coloration de Giemsa ou coloration de Stamp (car les inclusions contiennent du glycogène) pour y déceler des cellules contenant des inclusions qui déforment le noyau. C'est une technique peu sensible et, lors de chlamydophilose abortive, elle expose à de nombreuses erreurs car les *Chlamydophila* peuvent être confondues avec des *Brucella* sp. ou avec *Coxiella burnetii*.
- L'isolement sur culture cellulaire est la méthode la plus fiable ; elle s'effectue sur cellules Mac Coy ou Hela. Le prélèvement doit être introduit dans un milieu spécial pour *Chlamydia* ou congelé à -70°C s'il ne peut être inoculé immédiatement. Il est dilué dans un milieu contenant un aminoside et centrifugé. Après 72 heures, on observe au microscope les cellules colorées par le Giemsa, l'iode ou en immunofluorescence directe après traitement par un monoclonal. Les techniques plus récentes d'immunofluorescence directe, utilisant un anticorps monoclonal anti *Chlamydia* marqué, permettent d'observer les corps élémentaires.
- Les techniques de biologie moléculaire sont plus sensibles. Les procédés disponibles sont soit l'hybridation ADN/ARN détectée par l'amplification en chaîne par polymérase (PCR).

- Le diagnostic sérologique [FC, immunofluorescence ou des techniques immuno-enzymatiques (ELISA ou autres)] est d'un grand secours car l'observation directe n'est pas très sensible et la culture n'est pas toujours réalisable.

NB : L'antigène est constitué de cellules infectées ou de corps élémentaires obtenus par culture de *Chlamydia* dans les sacs vitellins de l'oeuf de poule embryonné.

4.7. Traitement

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques des *Chlamydophila* n'est pas effectuée en routine (lourdeur des techniques et manque de standardisation).

In vivo, peu d'antibiotiques sont actifs sur les *Chlamydophila sp.* car ils doivent traverser les membranes (de la cellule, de la vacuole et de la bactérie). Les molécules les plus actives sont les tétracyclines, les macrolides et apparentés et les fluoroquinolones. Une résistance naturelle est notée vis-à-vis des aminosides, de la colistine, du métronidazole, des quinolones de première génération et de la vancomycine. En revanche, les résistances acquises sont exceptionnelles.

In vitro, les pénicillines inhibent la multiplication mais elles ne sont que très peu actives *in vivo* ; quant aux céphalosporines, elles sont inactives.

En médecine vétérinaire, les antibiotiques les plus utilisés sont les tétracyclines.

4.8. Prophylaxie

La prophylaxie sanitaire est difficile. Elle repose sur le contrôle à l'importation des oiseaux exotiques, sur une désinfection des cages et des locaux d'élevage, sur le contrôle et la limitation des populations de pigeons, sur l'isolement des animaux infectés, éventuellement sur l'élimination des animaux malades (notamment des oiseaux d'agrément). Des précautions particulières doivent être prises par le personnel des laboratoires d'analyse ou de recherche et par toutes personnes en contact avec des animaux reconnus infectés ou susceptibles d'être infectés.

Chez les volailles, des essais de vaccination ont été effectués avec une souche inactivée et adjuvée. Son utilisation permet de réduire l'intensité des lésions mais n'a aucun effet sur l'excrétion. En revanche, des vaccins sont disponibles pour prévenir la chlamydophilose féline à *Chlamydophila felis* et la chlamydophilose ovine à *Chlamydophila abortus*. Chez le chat, la vaccination fait appel à une souche vivante atténuée (souche FP Baker). Elle permet de réduire nettement l'importance des signes cliniques mais elle ne protège pas de manière absolue contre l'infection et les animaux vaccinés et infectés peuvent excréter le germe. Chez les ovins, deux types de vaccin sont utilisés. Les plus anciens font appel à des souches inactivées qui réduisent l'incidence des avortements mais ni le portage ni l'excrétion ne sont réduit. Plus récemment, un vaccin utilisant une souche vivante atténuée permettant, à la fois, une protection et une prévention du portage et de l'excrétion.