

UNIVERSITE NATIONALE DU BENIN

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

ANNEE 1989

N° 452

89/035

**RECHERCHE PAR LA TECHNIQUE
D'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE
DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* AU NIVEAU
DE L' ENDOCOL ET DE L' URETRE
(A PROPOS DE 120 FROTTIS EFFECTUES A COTONOU)**

THESE

présentée et soutenue publiquement
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

DIPLOME D' ETAT

par

Anatole Adébowalé O. LALEYE

né le 3 Juillet 1961 à Porto - Novo

9/035

Président du Jury
Professeur Henri MOURAY

Directeur de thèse
Professeur Agrégé B. R. DARBOUX

UNIVERSITE NATIONALE DU BENIN

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

PERSONNEL DE LA FACULTE

DOYEN

: Eusèbe A L I H O N O U

VICE-DOYEN

: Nazaire P A D O N O U

SECRETAIRE PRINCIPAL

: Charlemagne M. AHOSSI

LISTE DU PERSONNEL ETABLIE EN 1989

PROFESSEURS

1	Dr Vincent DAN	PEDIATRIE ET GENETIQUE MEDICALE
2	Dr Edouard GOUDOTE	ANATOMIE CHIRURGIE
3	Dr Henry-Valère T. KINIFFO	PATHOLOGIE CHIRURGICALE
4	Dr Eusèbe M. ALIHONOU	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
5	Dr Benoît-Christophe SADELER	PARASITOLOGIE
6	Dr Honoré ODGULAMI	CHIRURGIE GENERALE
7	Dr Félix Adjaï HAZOUME	PEDIATRIE ET GENETIQUE MEDICALE
8	Dr Alexis HOUNTONDJI	MEDECINE INTERNE
9	Dr Bruno MONTEIRO	MEDECINE INTERNE
10	Dr Souleymane BASSABI	OPHTALMOLOGIE
11	Dr Léon Ayité MEDJI	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE

PROFESSEURS-AGREGES

12	Dr René Galbert AHYI	PSYCHIATRIE
13	Dr Nazaire PADONOU	CHIRURGIE GENERALE
14	Dr Isidore Sossa ZOHOUN	HEMATOLOGIE
15	Dr César AKPO	UROLOGIE
16	Dr Yves Hilarion AGBOTON	SANTE PUBLIQUE
17	Dr Béatrice AGUCESSY AHYI	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
18	Dr Théophile SODOGANDJI	PHARMACOLOGIE
19	Dr Hippolythe AGBOTON	CARDIOLOGIE
20	Dr Thérèse Ange A. AGOSSOU	PSYCHIATRIE
21	Dr Martin K. CHOBLI	ANESTHESIE-REANIMATION
22	Dr Barthélémy R. DARBOUX	BIOLOGIE HUMAINE
23	Dr Florencia PADONOU	DERMATOLOGIE
24	Dr René Xavier FERRIN	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
25	Dr Kémoko O. BAGNAN	CHIRURGIE GENERALE
26	Dr Théophile K. ZOHOUN	SANTE PUBLIQUE

PROFESSEURS-ASSISTANTS

1	Dr Comlan T. ADJIDO	PSYCHIATRIE
2	Dr Cyrille AHOSSI	MICROBIOLOGIE
3	Dr Eliane AISSI-YEHOUESST	PARASITOLOGIE
4	Dr Simon AKPONA	BIOCHIMIE
5	Dr Dominique ATCHADE	ANESTHESIE-REANIMATION
6	Dr Blaise AYIVI	PEDIATRIE
7	Dr Amidou BABA-MOUSA	SANTE PUBLIQUE
8	Dr Coffi André BIGOT	HEMATOLOGIE
9	Dr Sèmiou BILEOMA	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
10	Dr Martin GNINAFON	MEDECINE INTERNE
11	Dr Celestin Y. HOUNKPE	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
12	Dr Nicolas KODJOH	MEDECINE INTERNE
13	Dr Sèmiou LATOUNDJI	HEMATOLOGIE
14	Dr Achille MASSOUGBODJI	PARASITOLOGIE
15	Dr Marina MASSOUGBODJI	CARDIOLOGIE
16	Dr Germain OUSSA	OPHTALMOLOGIE
17	Dr Jijoho L. PADONOU	CHIRURGIE GENERALE
18	Dr José de SOUZA	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
19	Dr Sogbadji VODOUHE	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
20	Dr Karl A. A. VOYEME	ANATOMIE-CHIRURGIE
21	Dr Hubert YEDOMON	DERMATOLOGIE

8 Dr Jacques LLDRY

BIOPHYSIQUE
FACULTE DE MEDECINE
UNIVERSITE DE MONTPELLIER (FRANCE)

9 Dr de MASCAREL

ANATOMIE PATHOLOGIQUE
FACULTE DE MEDECINE
UNIVERSITE DE BORDEAUX II (FRANCE)

10 Dr Henri MOURAY

BIOCHIMIE
U.E.R. DE MEDECINE DE TOURS (FRANCE)

11 Dr WALLON

ANATOMIE-PATHOLOGIQUE
FACULTE DE MEDECINE
UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN
(BELGIQUE)

12 Dr P. WITTOUCK

PHYSIOLOGIE
UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN
(BELGIQUE)

PAR DELIBERATION, LA FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE DE
COTONOU A ARRETE QUE LES OPINIONS EMISES DANS CETTE THESE
N'ENGAGENT QUE SON AUTEUR.

DEDICACES....

A MON PERE

A MA MERE

Vous m'avez donné la vie et élevé dans la foi et la dignité.

Vos peines, aujourd'hui pourront être enfin couronnées de succès. Puisse le Ciel vous accorder longévité...

Témoignage de ma gratitude et de mon filial attachement.

A MON FRERE Barnabé

A MA SOEUR Félicité

Vous constituez pour moi de brillants exemples dans ce métier noble que vous m'avez encouragé à embrasser.

Vos multiples sacrifices, vos encouragements dans les moments difficiles m'ont permis de finir avec bonheur ce travail.

Soyez rassurés de ma gratitude.

A TOUS MES FRERES

A TOUTES MES SOEURS

L'esprit de famille qui a toujours prévalu en notre sein a été déterminant dans l'aboutissement heureux de mes études. Je sais que je peux toujours compter sur vous.

A TOI Elise

Puisses-tu trouver en ce travail le témoignage de mon fidèle attachement.

Tendresses infinies.

A MON FILS Christel-Marie Fortunat

Afin que tu puisses faire mieux que moi.

A Isaac CHOKKI

De longues années passées ensemble et une solidarité à toute épreuve ont cimenté ce lien heureux qui existe entre nous. Pour tout ce que tu n'as cessé d'être pour moi.

Profondes gratitude.

A MA NIECE,

Marcelline AFFOIGNON épouse AGUEMON

Je ne saurais te dire mes remerciements pour le soutien multidimensionnel que tu n'as cessé de m'apporter tout au long de mes études médicales.

Infinies gratitude.

A MA BELLE-MERE

En vous j'ai trouvé une seconde mère, soucieuse de ma réussite dans mes études. Ce travail est aussi le vôtre.

Filial attachement.

A Lucien TOUDONOU

Que ce travail, pour lequel tu t'es sacrifié constitue pour toi un ~~exemple~~ que tu dois dépasser.

Sentiments fraternels.

A TOUTE MA BELLE-FAMILLE

Affectueuses pensées

A Emilien LALEYE et son Epouse

A Osseni LALEYE et son Epouse

Sincères remerciements pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A Mathieu LAWSON

Daigne trouver ici l'expression de ma profonde gratitude

A Messieurs

AMINOU Machipoudi

IBIKOUNLE Sèmiou

Sincères remerciements

A tout le personnel du laboratoire de l'UNITE de DIAGNOSTIC et d'ETUDES CYTOLOGIQUES

Pour la bonne ambiance qui a régné tout au long de ce travail.

Sincères remerciements.

Au Docteur ADEGBININ

Au Docteur Hubert VODOUGNON

A Monsieur Daniel AGBODJOGBE

A Monsieur Soulé SANNI

Pour votre précieuse contribution à nos recherches.
Profondes gratitude.

A tout le personnel du Projet "Matériels d'Enseignement
pour les Personnels de Santé " (MEPS).

A Delphine CHINA

Emile AGBOGNIHOUE

Alain AMEGANKPOE

Ce travail n'a pu être réalisé qu'avec votre concours.
C'est le lieu de vous renouveler nos sincères remerciements.

A tous ceux qui, de près ou de loin m'ont apporté leur
assistance.

Acceptez cet humble témoignage de ma reconnaissance.

A TOUS NOS MAITRES
DE LA FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

Aux Professeurs

Vincent DAN
Edouard GOUDOTE
Henry-Valère T. KINIFFO
Benoît Christophe SADELER
Honoré ODOULAMI
Félix Adjai HAZOUME
Alexis HOUNTONDJI
Bruno MONTEIRO
Souleymane BASSABI
Léon Ayité MEDJI

Aux Professeurs-Agrégés

Isidore Sossa ZOHOUN
Hippolyte AGBOTON
Martin K. CHOBLI
Florenzia PADONOU
Kémoko O. BAGNAN
Théophile ZOHOUN

Aux Professeurs-Assistants

Achille A. MASSOUGBODJI
Jijoho L. PADONOU

Veillez accepter, Chers Maîtres, notre très sincère
reconnaissance pour avoir contribué à notre formation.

Hommages respectueux

Au Professeur Eusèbe Magloire ALIHONOU
Doyen de la Faculté
Professeur de Gynécologie-Obstétrique

Votre sens du travail bien fait, votre haute culture et votre art médical ont toujours forcé notre admiration.

Vous nous avez autorisé à venir dans votre service faire nos recherches et avez créé toutes les facilités pour la réalisation de ce travail qui, nous l'espérons, ne vous décevra pas.

Veillez l'accepter en témoignage de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.

Au Professeur-Agrégé Nazaire PADONOU
Vice Doyen de la Faculté
Professeur-Agrégé de Chirurgie Générale

Vos remarquables qualités d'homme et d'enseignant, ainsi que votre dextérité opératoire font de vous un Maître digne et respecté.

Sentiments déferents et Hommages respectueux.

Aux Professeurs - Agrégés :

- César AKPO, Professeur-Agrégé d'Urologie
- René PERRIN, Professeur-Agrégé de Gynécologie-Obstétrique

Pour avoir contribué activement à la réalisation de ce travail.

Daignez l'accepter comme témoignage de notre reconnaissance et de notre admiration.

A notre Maître de Thèse

Le Docteur Raphaël B. DARBOUX

Professeur-Agrégé de Biologie Humaine

Vous nous avez inspiré ce sujet de thèse et vous nous avez guidé à toutes les étapes de ce travail.

Votre modestie, votre patience, votre esprit de synthèse et votre simplicité dans la dignité font de vous un Maître incontestable.

Nous gardons inoubliable le souvenir de la bonne ambiance de nos séances de travail et de votre disponibilité de tous les instants malgré vos multiples occupations.

Après de vous nous avons acquis le sens du travail bien fait, de l'humilité et de la confiance en soi.

Votre soutien matériel a été déterminant dans l'achèvement de ce travail.

Il est des dettes que nul ne saurait jamais payer...

Mais soyez rassuré, Cher Maître, de nos sentiments sincères de gratitude infinie et de profond attachement.

Au Docteur HAOT

Professeur d'Anatomie Pathologique

à la Faculté de Médecine de l'Université Catholique de Louvain
(Belgique).

C'est l'occasion pour nous de vous exprimer nos remerciements pour vos conseils et suggestions. Votre disponibilité permanente et vos critiques ont été d'un grand secours pour nous.

Nous demeurons émerveillé par vos qualités de coeur et d'enseignant.

Veillez trouver ici notre humble et infinie reconnaissance.

A NOS JUGES

Monsieur le Président du Jury

C'est pour nous un honneur de vous voir présider ce Jury. Nous restons persuadé que vos conseils et recommandations nous serviront à améliorer ce travail et à mieux jouer notre rôle dans la société médicale universelle.

Messieurs les Membres du Jury

Vous nous faites l'honneur de siéger à notre Jury. Soyez assurés que vos critiques seront pour nous une source de progrès.

Hommages respectueux

Liste des abréviations

- M.S.T. : Maladies Sexuellement Transmissibles
A.R.N : Acide ribonucléique
A.D.N : Acide désoxyribonucléique
C.U.G.O : Clinique Universitaire de Gynécologie et
d'Obstétrique
C.N.H.U : Centre National Hospitalier et Universitaire
U.D.E.C : Unité de Diagnostic et d'Etudes Cytologiques
U.N.G. : Urétrite non gonococcique

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION.....	2
CHAPITRE I : GENERALITES.....	4
1.1. Historique.....	5
1.1.1. Pathologie infectieuse à Chlamydiae.....	5
1.1.2. Diagnostic biologique.....	7
1.2. Rappels sur les Chlamydiae.....	9
1.2.1. Classification.....	9
1.2.2. Cycle de développement.....	11
1.2.3. Structure et composition chimique.....	12
1.2.4. Pouvoir antigénique.....	12
1.2.5. Pouvoir pathogène.....	12
1.2.5.1 <u>Chlamydia trachomatis</u>	12
- Les atteintes uréthro-génitales chez l'homme...12	
- Les atteintes génitales féminines.....14	
- La lymphogranulomatose vénérienne.....15	
- Les atteintes extra-génitales.....16	
- Les chlamydioses du nourrisson et de l'enfant.18	
1.2.5.2 La psittacose.....	19
1.2.6. Les moyens diagnostiques.....	20
1.2.6.1. L'examen direct ou bactériologique.....	20
- Le prélèvement.....	20
- Les méthodes de coloration.....	20
- L'immunofluorescence directe.....	21
- L'isolement et l'identification par culture...23	
1.2.6.2 Le diagnostic indirect ou sérologique....	24
- La réaction de fixation du complément.....	24
- L'immunofluorescence indirecte.....	24
- La méthode immuno-enzymatique	25

CHAPITRE II : CADRE, MATERIEL ET METHODE	
DE TRAVAIL.....	26
2.1. Cadre d'Etude.....	27
2.1.1 Bref aperçu géographique sur la ville de Cotonou.....	27
2.1.2 L'Unité de Diagnostic et d'Etudes Cytologiques (U.D.E.C.).....	28
2.1.3 Les autres services impliqués.....	29
2.2. Matériel de travail.....	30
2.2.1 Le Microscope à immunofluorescence.....	30
2.2.1.1 Principe.....	30
2.2.1.2 Description	30
2.2.2 Le matériel de prélèvement.....	34
2.2.3 Autre matériel.....	34
2.2.3.1 Le réactif.....	34
2.2.3.2 Le matériel divers.....	36
2.3. Méthode de travail.....	37
2.3.1. Détermination de l'échantillon : type d'étude et échantillonnage.....	37
2.3.2. Le protocole opératoire.....	37
2.3.2.1 Le prélèvement.....	38
2.3.2.2 La réalisation du frottis et sa coloration	
- La réalisation de frottis.....	38
- La coloration des lames.....	38
2.3.2.3 La lecture et l'interprétation des lames.....	39
2.3.3 La transcription et traitement des données.....	40
2.3.4 Les contraintes de l'étude.....	41

CHAPITRE III : RESULTATS.....44

3.1 Les caractéristiques de l'échantillon.....45

3.1.1 La provenance de nos prélèvements.....45

3.1.2 L'indication du frottis.....45

3.1.3 Le sexe et l'âge.....47

3.1.3.1 Le sexe et l'âge dans notre échantillon..47

3.1.3.2 Le sexe, l'âge et le résultat du frottis.50

3.1.4 Les groupes ethniques.....54

3.2. Recherche des facteurs de risque.....56

3.2.1 L'âge du début des activités sexuelles.....56

3.2.2 La situation matrimoniale.....56

3.2.3 Le nombre de partenaires sexuels.....57

**3.2.4 Le nombre de partenaires sexuels
du conjoint.....58**

3.2.5 La profession et le niveau d'instruction...58

3.3 Les données cliniques.....59

3.3.1 Les antécédents.....59

3.3.2 Les manifestations cliniques.....59

**CHAPITRE IV : DISCUSSIONS COMMENTAIRE ET REVUE
DE LA LITTERATURE.....61**

4.1 Discussions et Commentaire.....62

4.2 Revue de la littérature.....64

**4.2.1 A propos des infections uro-génitales
à Chlamydia trachomatis.....64**

**4.2.2 Intérêt de la technique
d'immunofluorescence..... 66**

CONCLUSION ET SUGGESTIONS70

ANNEXES75

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....80

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'actuelle poussée des maladies sexuellement transmissibles (M.S.T.) à travers le monde et en particulier dans nos pays en développement, a conduit l'Organisation Mondiale de la Santé à considérer cette catégorie d'affection comme un de ses objectifs prioritaires.

L'importance des M.S.T. est considérable en Santé Publique car elles posent un problème de pathologie infectieuse difficilement contrôlable. De nombreux facteurs extrinsèques intimement liés à la civilisation favorisent cette expansion brutale et relativement récente : population jeune à activité sexuelle importante, urbanisation, migration de populations, facilité des déplacements grâce aux moyens de transport modernes.

Dans la plupart des statistiques de par le monde, les infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis viennent en tête des M.S.T.. Selon les vénéréologues et les gynécologues, ces infections sont menaçantes par les complications redoutables auxquelles sont exposés les patients. C'est pourquoi, l'intérêt que portent cliniciens et bactériologistes aux Chlamydiae n'a fait que croître ces dernières décennies.

Pour les biologistes, la recherche de ces agents pathogènes dans les infections uro-génitales est devenue un impératif. Dans un passé encore récent elle nécessitait l'emploi d'un matériel coûteux et imposait un long délai dans l'obtention des résultats.

Le progrès technologique a révolutionné les moyens de mise en évidence de ces bactéries et a ainsi mis à la disposition des laboratoires même modestes, des techniques simplifiées et fiables telle que l'immunofluorescence directe utilisant des anticorps monoclonaux fluorescents.

Au Bénin, malgré l'intérêt croissant que portent médecins et biologistes aux chlamydioses, les laboratoires nationaux sont limités dans leurs investigations. Notre étude se propose d'ouvrir de nouvelles perspectives dans la lutte contre les chlamydioses uro-génitales à Chlamydia trachomatis chez nous et s'intitule :

"Recherche par la technique d'immunofluorescence directe de Chlamydia trachomatis au niveau de l'endocol et de l'urètre. (A propos de 120 frottis effectués à Cotonou)"

Les objectifs de ce travail sont les suivants :

1- Evaluer la fréquence des infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis dans cet échantillon.

2- Rechercher les facteurs de risque.

3- Implanter la technique d'Immunofluorescence directe qui n'est pas pratiquée dans notre pays.

4- Faire des suggestions pour la prévention et la lutte contre les chlamydioses uro-génitales

CHAPITRE I : GENERALITES

1.1. HISTORIQUE

1.1.1. Pathologie infectieuse à Chlamydiae

La première référence à une affection dont l'étiologie chlamydienne est aujourd'hui reconnue a été retrouvée dans les papyrus de EBERS datant de 1500 ans avant Jésus-Christ [52]. Le médecin sicilien, FEDONIUS DIASCARIDES décrit alors une affection oculaire à séquelle cicatricielle et son traitement au moyen des sels de cuivre. Il la dénomme "Trachoma" c'est à dire yeux rouges [64]. Aujourd'hui cette affection oculaire est bien connue ; il s'agit du trachome dû à Chlamydia trachomatis.

En 1786, dans son traité de maladies vénériennes, HUNTER, le premier, mentionne la lymphogranulomatose vénérienne.

La première reconnaissance de la pneumonie atypique est en général attribuée à RITTER, en 1880, qui a noté l'association possible de cette maladie avec la présence d'oiseaux exotiques.

MORANGET en 1895 propose le terme de "psittacose" pour désigner les pneumonies, survenant chez des sujets ayant eu un contact avec des perroquets atteints d'une affection analogue.

HALBERSTAEDTER et Von PROWAZEK, en 1907, découvrent sur des frottis faits chez des sujets atteints de trachome, des inclusions cytoplasmiques caractéristiques dans les cellules épithéliales conjonctivales [28]. Peu après, ils retrouvent des inclusions identiques au niveau du col de l'utérus d'une mère et des conjonctives de son nouveau-né. Ils proposent le nom de Chlamydozoa pour les relier aux protozoaires.

Des 1909, LINDER [58] trouve des inclusions analogues dans les cellules épithéliales de l'urètre chez trois hommes souffrant d'une urétrite subaiguë amicrobienne ; il réalise

ensuite une série d'inoculation croisée, notamment une transmission expérimentale d'un singe à un autre.

FRISH et collaborateurs en 1910, découvrent les mêmes inclusions dans des cas d'ophtalmopathie néo-natale non gonococcique et dans des infections urétrales et cervicales. THYGERSON, en 1934, reconnaît une ressemblance dans le cycle de développement de l'agent de la psittacose et les modifications morphologiques observées dans les cellules conjonctivales des agents du trachome et de la conjonctivite à inclusions.

En 1940, RAKE, isole l'agent d'une maladie sévissant dans les régions subtropicales d'Afrique et d'Asie, connue et décrite déjà en 1833 par WALLACE, mais attribué à DURAND, NICOLAS et FAVRE en 1913 : la lymphogranulomatose vénérienne.

HARKNESS signale en 1944 la présence d'inclusions dans de nombreux cas d'urétrites amicrobiennes et dans sept cas de syndrome uréthro-conjonctivo-synovial. Il les assimile à des inclusions virales.

Ces dernières décennies, un problème diagnostique majeur a surgi, qui est celui des urétrites non gonococciques ou des urétrites post-gonococciques pour lesquelles les Chlamydiae représentent à l'heure actuelle l'étiologie la plus fréquente (45 à 50 % des cas) avec Ureaplasma urealyticum (50 à 65 % des cas).

En fait, les manifestations cliniques très différentes, qui semblent liées aux mêmes micro-organismes, ont déchaîné les passions depuis la fin du 19^e siècle jusqu'à 1968, où PAGE a individualisé deux espèces dans le genre Chlamydia : Chlamydia trachomatis et Chlamydia psittaci.

Chlamydia psittaci, réunit les souches présentant des inclusions diffuses, n'élaborant pas de glycogène, pathogènes surtout pour les animaux, en particulier, les oiseaux, mais aussi parfois pour l'homme donnant la psittacose.

Chlamydia trachomatis réunit les souches présentant des inclusions compactes, élaborant le glycogène. Il a un pouvoir pathogène électif pour l'homme.

A partir de 1975, le rôle des Chlamydiae dans les M.S.T. leur donne une place importante en pathologie infectieuse courante. EILARD et collaborateurs en 1976, puis MAROH et collaborateurs en 1977 ont les premiers établi avec certitude le rôle de Chlamydia trachomatis dans les salpingites aiguës et chroniques [71].

1.1.2. Diagnostic biologique

Un long chemin a été parcouru dans le diagnostic biologique des infections à Chlamydiae. En 1930, des cultures d'agent de la psittacose et du lymphogranulomatome vénérien sont réalisées dans le sac vitellin d'oeuf de poule embryonné [50]. En 1957, l'accent est mis sur la culture de l'agent du trachome grâce aux travaux de T'ANG et collaborateurs [52].

GORDON et collaborateurs en 1969 [58], décrivent les techniques de culture cellulaire sur lesquelles sont basées les méthodes modernes, ouvrant ainsi une ère de progrès scientifiques intéressants qui ont contribué à une meilleure connaissance de la pathologie humaine à Chlamydiae. La même année, MOULDER lève la controverse qui existait sur la nature virale ou bactérienne de la Chlamydia en montrant que le micro-organisme est une bactérie ayant des affinités avec les cocci Gram négatif.

L'amélioration des techniques, comme la microscopie à immunofluorescence, la microscopie électronique, les techniques sérologiques, a permis de compléter les connaissances sur les chlamydioses.

De nouvelles méthodes simples et fiables ont vu le jour. TAM et collaborateurs en 1964 [78] ont proposé une méthode prometteuse, la recherche directe de Chlamydia trachomatis sur frottis à l'aide d'anticorps monoclonaux marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine, dirigés contre tous les sérotypes de Chlamydia trachomatis. Ce fut l'immunofluorescence directe, méthode révolutionnaire accessible à tout laboratoire [56].

1.2. RAPPELS SUR LES CHLAMYDIAE

1.2.1. Classification

Les Chlamydiae sont de minuscules bactéries parasites intracellulaires obligatoires, qui ont été longtemps confondues avec les virus. De nombreuses dénominations ont été successivement proposées. HALBERSTAEDTER et Von PROWAZEK en 1907 proposèrent le nom de Chlamydozoa [28]. Puis on parla de : Miyagawanella, Chlamydozoon oculo-génitale (MOSKOWSKY-1945), Bedsonia (1953), néo-Rickettsies, TRIC Agents (1963), enfin de Chlamydia.

Chlamydia est l'unique genre de l'unique famille des Chlamydiaceae, de l'ordre des chlamydiales [74].

On les divise en deux espèces depuis les travaux de PAGE en 1968 : Chlamydia psittaci et Chlamydia trachomatis sur la base de leur pouvoir antigénique, des inclusions intracellulaires, de la sensibilité aux sulfonamides et du pouvoir pathogène de chacun.

Le genre Chlamydia psittaci est, avant tout, ubiquitaire et isolé chez de nombreuses espèces animales. Il peut être responsable d'affections humaines comme la psittacose.

Dans le genre Chlamydia trachomatis on distingue trois groupes rassemblant chacun des sérotypes différents :

- les sérotypes A, B, Ba et C agents du trachome
- les sérotypes D, E, F, G, H, I, J et K responsables de la conjonctivite à inclusions de l'adulte, des pneumonies et ophtalmopathies néonatales ainsi que des infections génitales notamment les urétrites, les cervicites et les rectites non gonococciques ou post gonococciques. Peut-être interviennent-ils dans le syndrome de FIESSINGER-LEROY-REITER qui associe une polyarthrite, une conjonctivite bilatérale et une urétrite non gonococcique.

- les sérotypes L1, L2 et L3, agents de la lymphogranulomatose vénérienne [74].

Le schéma n°1 résume la classification des Chlamydiae

Récemment, il a été découvert par l'équipe de GRAYSTON des souches dites TWAR (TW : TAIWAN 183 ; AR : 39 acute respiratory) [35]. Ces souches en attente de classement en raison de leurs multiples particularités, sont très difficiles à isoler. Elles sont responsables de pneumopathies assez semblables à celles observées au cours des infections à Mycoplasma pneumoniae [65].

En raison de leur parasitisme obligatoire on a longtemps pris les Chlamydiae pour des virus. Mais elles diffèrent des virus par les caractères suivants :

- comme les bactéries elles possèdent ARN et ADN,
- elles se reproduisent par cissiparité,
- elles ont une paroi faite de protéoglycannes pauvres en acide muramique,
- elles possèdent des ribosomes,
- elles sécrètent des enzymes métaboliquement actives et peuvent libérer du gaz carbonique à partir du glucose ; certaines peuvent synthétiser des folates,
- leur développement peut être inhibé par des drogues antimicrobiennes.

La caractéristique essentielle de ces bactéries, qui fait leur originalité et crée un ordre à part dans la classification systématique est leur déficience énergétique qui empêche leur autonomie et en fait des parasites obligatoires.

1.2.2. Cycle de développement

Le cycle de développement des Chlamydiae à l'intérieur des cellules est unique dans le monde bactérien [4].

La nécessité du parasitisme cellulaire crée chez ces bactéries un véritable cycle de multiplication où se succèdent des particules de taille et de morphologie différentes dont l'objet est de reproduire la particule infestante ou corps élémentaire, seul capable de se fixer sur une cellule pour l'infecter [74].

Le cycle de développement de la Chlamydia dure de 48 à 72 heures. Il débute lorsque le corps élémentaire, petite particule infestante, rigide et de forme sphérique, de $0,5\mu$ de diamètre, pénètre dans la cellule hôte par une vacuole de phagocytose originaire de sa membrane superficielle. Le mécanisme de cette phagocytose est mal connu. Le corps élémentaire se réorganise ensuite pour constituer un élément de diamètre plus grand $0,9\mu$, le corps réticulé ou corps initial qui est la réplique métaboliquement active du micro-organisme.

Toujours enfermé dans la vacuole fixée à la membrane, le corps réticulé synthétise de nouvelles substances et se reproduit par cissiparité. Les corps réticulés cessent de se diviser 18 à 24 heures après le début de l'infection et se "condensent" pour former des corps élémentaires.

Tout au long du cycle, la microcolonie ou corps d'inclusion reste à l'intérieur de la vacuole en développement. A la fin du cycle la vacuole éclate et les corps élémentaires libérés vont infecter de nouvelles cellules [31, 70, 73].

Le schéma N°2 résume le cycle de développement des Chlamydiae (voir page 11 bis)

Cycle de développement des Chlamydiae

d'après LADANY S. et SAROV I.

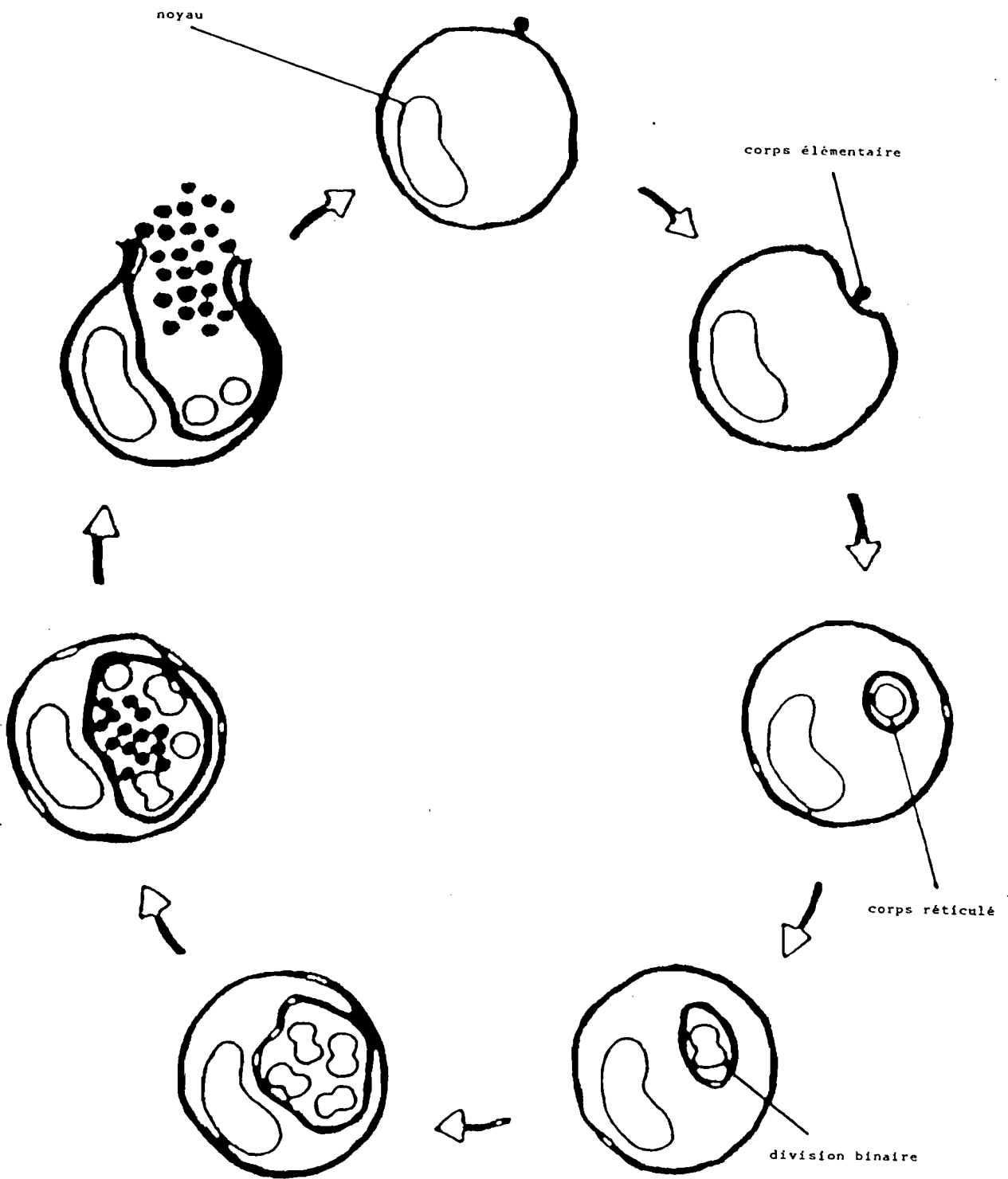


Schéma n°2

1.2.3. Structure et Composition chimique

Les Chlamydiae sont des micro-organismes sphériques. Ils contiennent de l'acide désoxyribonucléique sous forme d'un filament génétique unique circulaire et de l'acide ribonucléique réparti en formations ribosomales de taille variable, dispersées dans une substance protoplasmique elle-même limitée par une membrane à triple feuillet.

La paroi cellulaire ressemble à celle des bactéries Gram négatif. Elle est constituée de protéoglycanes pauvres en acide muramique.

1.2.4. Pouvoir antigénique

L'étude de l'antigénicité des Chlamydiae montre que toutes les souches isolées ont des caractères antigéniques, morphologiques et tinctoriaux communs. Elles diffèrent l'une de l'autre par des propriétés spécifiques à chaque agent : c'est la spécificité antigénique de type, et par une différence de sensibilité à certaines drogues (sulfadiazines).

1.2.5. Pouvoir Pathogène

L'affinité particulière des Chlamydiae pour les cellules du revêtement cylindrique où elles trouvent des sites d'attachement permet de mieux comprendre les phénomènes pathologiques dont elles sont responsables.

1.2.5.1 Chlamydia trachomatis

- Les atteintes uréthro-génitales chez l'homme

Les aspects cliniques uréthro-génitaux en rapport avec Chlamydia trachomatis sont fort divers.

* Les urétrites non spécifiques

Il s'agit le plus souvent d'une urétrite dont l'origine gonococcique n'a pu être démontrée, c'est l'urétrite non gonococcique (U.N.G) dont les manifestations sont identiques à celles d'une urétrite de cause infectieuse, avec une acuité plus ou moins marquée des symptômes.

Quelquefois, cette urétrite s'installe après une véritable gonorrhée, deux à trois semaines après un traitement par la pénicilline, la spectinomycine ou l'ampicilline dans 30 à 60 % des cas [10, 31, 32].

Cette urétrite le plus souvent subaiguë s'installe après une période d'incubation toujours difficile à préciser, de deux à trois semaines, après un rapport avec un nouveau partenaire.

L'écoulement, toujours séro-purulent ou franchement purulent, peut être abondant. Il s'accompagne de dysurie plus ou moins importante, mais toujours moindre que dans le cas de gonorrhée, de douleurs urétrales généralement fugaces, ou de sensation de brûlures surtout le long de la veine dorsale de la verge.

Cet écoulement est le plus souvent intermittent. Quelquefois d'importance minime, il se réduit à une sécrétion matinale, muco-purulente qui peut coaguler et obturer le méat au réveil ou laisser des taches dans le linge de corps. Cet aspect intermittent harcèle le plus souvent le patient et l'inquiète au plus haut point.

D'autres fois, l'urétrite prend un caractère aigu, purulent identique à une gonorrhée, mais cet aspect est rare et semble lié davantage à une étiologie mixte.

Méconnue et en absence de traitement, l'infection peut se propager vers les structures annexes et être à l'origine de complications à type d'épididymite, de balanite, de cowpérite, de prostatite et de prostatovésiculite. Des cas de rétrécissement urétral ont été observés après des urétrites traînantes. D'après les auteurs suédois, l'incidence du rétrécissement urétral après une infection à Chlamydia est de 4 % tandis qu'il n'est que de 0,3 % après une gonococcie [74]

- Les atteintes génitales féminines

L'infection à *Chlamydia* passe souvent inaperçue chez la femme qui représente ainsi le "réservoir de bactéries" [10].

Les manifestations cliniques sont en général assez banales mais le risque d'infection ascendante pouvant provoquer une salpingite en fait toute la gravité.

La période d'incubation est variable allant de 4 à 30 jours et plus. Parfois elle est impossible à préciser. Dans la majorité des cas, on constate l'existence de leucorrhées isolées sans autres manifestations subjectives. Cependant à l'examen, on découvre des signes d'une exocervicite. Il s'agit, soit de cervicite érosive, soit d'un "érythème cervical" (le col "fragile" saigne au moindre contact).

Un tableau de vulvo-vaginite subaiguë est parfois décrit associant leucorrhées plus ou moins abondantes, prurit ou brûlures vulvo-vaginales et parfois dyspareunie et aussi localisations exo ou endocervicales. Du point de vue statistique, la dysplasie du col serait favorisée par l'infection chronique à *Chlamydia* comme elle l'est par le virus de l'herpès [76].

La dissémination de l'infection aux annexes génitales est la cause de complications génitales.

Les salpingites apparaissent en général chez des femmes jeunes et constituent la complication la plus redoutable. Elles ont un "double visage":

- d'une part les salpingites aiguës. On estime en France et dans d'autres contrées que *Chlamydia trachomatis* est responsable de 50 % des salpingites aiguës [31]. Elles se présentent sous divers aspects cliniques. La douleur est pratiquement constante mais unilatérale dans 20 à 40 % des cas et peut donc être trompeuse. Elle s'associe parfois à des métrorragies et fait évoquer d'autres diagnostics. La fièvre

et les modifications de l'hémogramme ne sont constatées que dans la moitié des cas.

- d'autre part les salpingites chroniques silencieuses. Le risque évolutif majeur est la stérilité tubaire

L'association d'un syndrome inflammatoire pelvien et d'une périhépatite (syndrome de FITZ-HUGH-CURTIS) fait l'objet de publications de plus en plus fréquentes [74]. Deux risques évolutifs dominent ce syndrome : péritonite ou stérilité tubaire si la salpingite est masquée par le syndrome hépatique et risque d'adhérences capsulo-diaphragmatiques ultérieures.

- La lymphogranulomatose vénérienne

Elle est due au Chlamydia trachomatis de sérotypes L1 L2 et L3. Maladie concentrée dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique et d'Asie, elle est souvent rencontrée chez les prostituées, les homosexuels, les marins, les voyageurs de commerce et les militaires qui reviennent des pays d'endémie. Elle est plus fréquente chez l'homme que chez la femme: 2 à 6 hommes pour une femme [10].

Les manifestations de la maladie sont généralement séparées en syndrome génital et en syndrome génito-ano-rectal.

Dans sa forme classique, la maladie se manifeste par :

- une lésion primaire
- une adénopathie inguinale
- une atteinte de l'état général avec fièvre, frissons, malaises, perte de poids avec souvent splénomégalie et hyperglobulinémie.

Le syndrome génito-ano-rectal se voit dans 25 % des cas et plus fréquemment chez la femme, et se manifeste par un écoulement sanglant et muco-purulent. A l'examen rectoscopique, la muqueuse apparaît enflammée, ulcérée et saignant au contact.

En l'absence de traitement, des abcès pararectaux, des rétrécissements rectaux et des fistules recto-vaginales peuvent se constituer.

D'autres atteintes peuvent avoir lieu au cours de la maladie telle que :

- la méningite et la méningo-encéphalite
- la pneumonie
- la kérato-conjonctivite avec adénopathie retro-auriculaire et oedème palpébral constituant le syndrome oculoglandulaire de PARINAUD
- la polyarthrite généralement indolore avec liquide synovial stérile
- des lésions cutanées à type d'érythème multiple, d'érythème noueux
- le rash scarlatiniforme.

Ces manifestations surviennent de préférence après excision d'adénites, ou résection de tissus infectés.

Les manifestations primaires extra-génitales sont rares, mais les ulcérations peuvent survenir au point d'inoculation.

- Les atteintes extra-génitales

* Le trachome

C'est une atteinte oculaire connue depuis l'antiquité due au Chlamydia trachomatis de sérotypes A, B, Ba et C de .

A l'état endémique, dans les régions tempérées, il est importé dans les contrées du Nord.

La période d'incubation est difficile à préciser dans l'infection naturelle. La maladie peut prendre une allure aiguë ou au contraire insidieuse, faisant suite à une période de conjonctivite aiguë.

Elle se manifeste par une conjonctivite granulomateuse avec lésions folliculaires puis infiltration et épaissement de la muqueuse tarsienne.

Des complications peuvent survenir et donner lieu à des ulcères cornéens, des uvéites, rarement des iritis.

* La conjonctivite à inclusion

Encore appelée paratrachome, elle peut être isolée ou faire partie du syndrome de FIESSINGER - LEROY - REITER.

La conjonctivite présente au début un aspect hyperhémique avec rougeur intense et photophobie. Ensuite apparaissent un écoulement lacrymal séro-purulent et de petits follicules palpébraux.

Souvent unilatérale, cette conjonctivite régresse spontanément dans la majorité des cas. Cependant, le passage à la chronicité a été décrit conduisant à une atteinte cornéenne ou iridienne sévère [74].

* Les atteintes diverses

L'atteinte articulaire

Elle peut accompagner l'urétrite à Chlamydia trachomatis ou être isolée.

Elle revêt divers aspects et peut faire partie du syndrome uréthro-conjonctivo-synovial. Il s'agit en général d'arthralgies transitoires diffuses, touchant les grosses articulations de façon asymétrique.

Dans la majorité des cas on constate une atteinte des genoux, mais aussi des articulations sacro-iliaques, des pieds et surtout des orteils.

Dans les atteintes périphériques, l'articulation est rouge, chaude, augmentée de volume. la ponction synoviale ramène un liquide de type inflammatoire avec présence d'inclusions dans les cellules synoviales.

Les autres localisations

L'atteinte cardiaque peut se manifester par une péricardite bénigne et plus rarement par une endocardite sévère.

L'atteinte neurologique se présente sous forme de mononévrite, l'atteinte pulmonaire sous forme de pneumonie.

La localisation laryngée est souvent rapportée surtout chez des partenaires d'hommes ou de femmes atteints après pratique de contacts oro-génitaux.

La stomatite peut siéger au niveau du palais, de la face interne des joues, de la muqueuse buccale, rarement des lèvres.

La glossite peut se manifester sous forme d'une aire ovale rouge donnant un aspect de <<langue en carte de géographie>>.

La localisation anale : rarement il existe des sécrétions purulentes. Parfois on trouve des Chlamydiae au niveau d'ectodermoses érosives pluriorificielles.

- Les chlamydioses du nourrisson et de l'enfant

* Pneumopathie et pneumonie interstitielles

BEEM et SAXONE en 1977 ont identifié Chlamydia trachomatis comme agent pathogène des pneumopathies interstitielles du nouveau-né aux Etats-Unis.

Selon SCHACHTER [73] à San Francisco, la moitié au moins des pneumonies du nouveau-né serait due à Chlamydia trachomatis. En France, COUVREUR a rapporté en 1980 un certain nombre de cas survenant avant l'âge de trois mois.

L'ensemble des auteurs est d'accord pour admettre la notion de contamination vaginale périnatale et de propagation au tractus respiratoire de Chlamydia trachomatis.

SCHACHTER signale l'association fréquente avec une otite moyenne dont la paracentèse permet l'isolement de Chlamydia trachomatis au niveau des sécrétions blanchâtres.

Chlamydia trachomatis a pu être isolée dans le pus après aspiration naso-pharyngée ou trachéo-bronchique et au cours de prélèvements biopsiques du parenchyme pulmonaire.

* Conjonctivite du nouveau-né ou ophtalmopathie néonatale

Il s'agit d'une conjonctivite muco-purulente, contractée lors du passage du foetus dans les voies génitales de la mère au moment de l'accouchement. En général, elle débute de façon aiguë et unilatérale. La période d'incubation, du quatrième au quatorzième jour après la naissance, est plus longue que pour une conjonctivite à Neisseria gonorrhoeae.

Dans les cas sévères, on peut observer des cicatrices et un micropanus simulant un trachome. Si le traitement est mis en oeuvre avant le douzième jour, ces complications ne sont pas observées.

En Résumé: Chlamydia trachomatis est responsable d'infections variées liées à des sérotypes variés pouvant atteindre la conjonctive et la sphère génitale (urétrite, cervicite) [80]. L'évolution à bas bruit des infections est à l'origine de bon nombre de complications (épididymite, salpingite, périhépatite, stérilité) et de la transmission de la mère à son nouveau-né lors de l'accouchement (conjonctivite, pneumopathie)

1.2.5.2 La psittacose

Cette affection est due exclusivement à Chlamydia psittaci. Elle débute chez l'homme après une période d'incubation d'environ 10 jours par l'atteinte de l'état général avec asthénie, fièvre et courbatures.

Il est insuffisamment connu que chez l'homme la psittacose peut souvent passer inaperçue. Dans les cas les plus sévères, un syndrome de pneumonie vraie s'installe à la fin de la première semaine ou au cours de la deuxième semaine. Une hépatomégalie peut compléter le tableau.

Mentionnons que la Chlamydia psittaci ne faisant pas l'objet de nos recherches, il n'en sera plus question dans la suite de notre travail.

1.2.6. Les moyens diagnostiques

Comme pour toute maladie infectieuse, le diagnostic des chlamydioses comprend deux volets :

- la mise en évidence du microbe ou de son antigène : c'est le diagnostic direct.

- la découverte de l'anticorps, soit dans le sérum, soit localement dans les sécrétions : c'est le diagnostic indirect.

1.2.6.1 L'examen direct ou bactériologique

- Le prélèvement

C'est une étape fondamentale qui conditionne le diagnostic biologique. L'objectif est de recueillir du matériel infecté : le prélèvement doit être riche en cellules épithéliales provenant du site de l'infection.

Les modalités générales de prélèvement sont les suivantes:

- le patient n'aura pas pris d'antibiotique depuis trois semaines

- le matériel de prélèvement utilisé doit permettre un léger grattage de la muqueuse : il peut s'agir de curette ophtalmique à bout émoussé, d'écouvillon de coton ou de dacron. Les plus récents et les mieux adaptés sont les écouvillons en plastique avec une olive terminale spiralée en relief.

- Les méthodes de coloration

Plusieurs techniques de coloration ont été rapportées dans la littérature, telles les colorations de MACHIAVELLO, de STAMP, de GIMENEZ, toujours décevantes [4,11,18]. Aussi décevante et surtout peu sensible est la coloration par les réactifs iodés qui décèlent l'accumulation du glycogène à certains stades du cycle de multiplication de Chlamydia trachomatis [14,16,60].

La basophilie des corps réticulés et des corps intermédiaires d'une part, l'acidophilie relative des corps élémentaires d'autre part, font de la coloration de GIEMSA une bonne technique de détection de l'inclusion tout entière [13]. Malheureusement, la sensibilité de l'examen direct est d'autant plus faible que l'affection prend un caractère chronique. De nombreux artéfacts liés à la confection du frottis et à la coloration sont à l'origine de nombreuses discordances dans l'appréciation de cette méthode de diagnostic. La positivité ne peut être affirmée que sur la présence de masses intracytoplasmiques granuleuses, juxtanucléaires, entourées d'une zone claire et d'une couronne bleu intense de cytoplasme condensé correspondant à la limite de la vacuole phagosomique. L'observation de ces images est rare mais pathognomonique. La recherche des cellules parasitées demande une grande patience et un long temps d'observation ce qui grève considérablement la méthode.

- L'immunofluorescence directe

* Son principe

L'immunofluorescence est une méthode très sensible permettant l'étude topographique d'antigènes dans les cellules et les tissus ainsi que la reconnaissance et la différenciation des virus, des bactéries et des champignons microscopiques.

Les anticorps spécifiques sont liés à des colorants fluorescents (en général l'isothiocyanate de fluorescéine) par une combinaison solide.

Ils se combinent avec l'antigène recherché : dans le cas présent la Chlamydia.

Les endroits de la préparation où sont fixées les molécules d'anticorps s'éclairent lorsqu'ils reçoivent la lumière d'excitation adéquate, tandis que le fond non fluorescent reste foncé.

Dans le test d'immunofluorescence directe l'antigène recherché est directement reconnaissable par sa liaison avec l'anticorps spécifique marqué. Il peut s'agir d'antigène, de bactéries, de virus, etc...

* Sa réalisation

Il est impératif pour cette réalisation de préparer un bon étalement et d'utiliser des lames de verre bien dégraissées, essuyées et propres. Le frottis peut se réaliser selon deux techniques :

- soit que l'écouvillon de coton ou de dacron est exprimé sur la lame par un mouvement de rotation en appuyant fortement là-dessus.

- soit que l'écouvillon est trempé dans 100 à 200 ml de solution tampon PBS ou d'eau physiologique, 20 à 50 microlitres de cette suspension sont déposés sur la lame.

Les frottis séchés sont fixés à l'acétone à froid

A l'heure actuelle, le réactif utilisé pour déceler la présence de particules sur les étalements est un anticorps monoclonal de titre élevé conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine. Ce réactif doit être conservé à l'abri de la lumière à + 4°C.

La lecture se fait au microscope à fluorescence. Les particules correspondantes à des Chlamydiae apparaissent comme de petits points ronds, réguliers de fluorescence vert pomme, de dimension variable 0,3 μ à 0,9 μ de diamètre.

* Domaine d'application

Contrairement aux autres méthodes d'analyses bactériologiques, la technique d'immunofluorescence permet l'examen simultané et combiné de la spécificité sérologique et immunologique ainsi que des caractéristiques morphologiques.

Le domaine d'application comprend la bactériologie et la virologie, l'immunopathologie, la mycologie, la parasitologie ainsi que la botanique.

Cette méthode connaît aujourd'hui une application de plus en plus grande dans le diagnostic et la recherche virologique. De nombreuses maladies peuvent être diagnostiquées de façon rapide et fiable grâce à cette méthode.

- L'isolement et l'identification par culture

La culture reste aujourd'hui la méthode de référence pour le diagnostic direct. C'est une méthode relativement lourde que seuls les laboratoires rompus aux études virologiques peuvent accomplir.

Des lignées cellulaires permanentes type Mc COY, L929, HELA 229 ou BMK 21 sont utilisées en culture.

L'isolement comporte 3 étapes à partir de la lignée cellulaire choisie :

- une couche cellulaire uniforme est obtenue sur lamelles (tube à fond plat type BIJOU).
- l'échantillon est projeté sur les cellules par centrifugation
- on ajoute un milieu contenant un inhibiteur de la réplication.

L'identification se fait après 48 à 72 heures d'incubation à 36°C en atmosphère de gaz carbonique à 5 %. Le milieu est retiré et les cellules sont fixées au méthanol. Les inclusions qui se sont développées peuvent être décelées par des colorations diverses :

- par la méthode de coloration au lugol qui révèle le glycogène accumulé au cours du cycle de développement des particules. C'est une méthode simple et de réalisation rapide

mais peu sensible, inconstante et ne convenant que pour certaines souches de Chlamydia trachomatis.

- par la coloration de GIEMSA à 10 % dans une solution tampon de pH 6,8. C'est la méthode de choix. Elle est basée sur l'affinité tinctoriale propre des Chlamydiae.

- par une méthode de coloration fluorescente avec une solution à 0,1 % d'orangé d'acridine à pH acide. La nécessité d'avoir un dispositif de fluorescence limite l'emploi de cette méthode.

- par une méthode immunologique indirecte utilisant un anticorps et une antiglobuline marquée soit par l'isothiocyanate de fluorescéine (immunofluorescence) soit par une enzyme (peroxydase, phosphatase).

La technologie de la culture des Chlamydiae a évolué ces dix dernières années : l'utilisation des microplaques pour cultures de tissus allège considérablement les manipulations.

1.2.6.2 Le diagnostic indirect ou sérologique

- La réaction de fixation du complément

C'est une réaction d'hémolyse qui utilise un antigène thermostable de nature lipido-polypeptidique, extrait de la paroi du micro-organisme. Cet antigène commun à toutes les espèces de Chlamydiae, ne permet pas de discerner les infections à Chlamydia trachomatis des infections à Chlamydia psittaci. Ainsi, bien que d'une grande sensibilité ce test manque de spécificité.

L'antigène reconnu étant commun à toutes les espèces, des réactions croisées avec les autres Chlamydiae peuvent gêner l'interprétation.

- L'immunofluorescence indirecte

Il s'agit de technique d'immunofluorescence indirecte réalisée à l'aide d'un anticorps standard fluorescent. La méthode de référence en la matière est la micro-immunofluorescence mise au point par WANG et GRAYSTON en 1970.

L'antigène est constitué de particules purifiées ou non obtenues à partir des membranes vitellines d'oeuf de poule embryonné, infectées avec Chlamydia trachomatis.

Cette méthode est beaucoup plus sensible et met en évidence une spécificité d'espèce et une spécificité de type. Elle permet de classer Chlamydia trachomatis en 15 sérotypes répartis en trois groupes (déjà vu antérieurement)

- La méthode immuno-enzymatique

Les techniques immuno-enzymatiques utilisées depuis longtemps sont mieux adaptées au dépistage de routine car plus rapides et plus faciles à lire.

Des méthodes d'extraction et de solubilisation par certains détergents des protéines contenues dans la membrane externe des particules ont permis d'obtenir des antigènes mieux définis. La nature protéique de ces antigènes permet de les doser et de les fixer aisément sur un support électriquement chargé (alvéoles, tubes ou billes de polystyrène). Ainsi absorbé, l'antigène réagit avec l'anticorps spécifique.

Le complexe formé peut être secondairement révélé par un système enzyme-substrat et la coloration qui en résulte s'apprécie par spectrophotométrie. L'intensité de la coloration est proportionnelle au titre d'anticorps fixé sur l'antigène. Cependant toute trace de protéine fixée de façon non spécifique risque d'interférer et de compliquer l'interprétation [74].

CHAPITRE II : CADRE, MATERIEL ET METHODE DE TRAVAIL

A sa création en 1984, l'U.D.E.C. comptait au sein de son personnel un Médecin Spécialiste d'Anatomie Pathologique qui a été appelé à d'autres fonctions. Aussi, les activités relevant de l'anatomo-pathologiste sont depuis lors exécutées par l'Université Catholique de LOUVAIN (BELGIQUE) à laquelle une convention lie la Faculté des Sciences de la Santé.

L'U.D.E.C. reçoit et analyse les pièces opératoires en provenance des centres de santé situés sur toute l'étendue du territoire national. Elle constitue aussi une structure de lutte contre les cancers notamment le cancer de sein et de l'utérus par l'organisation de campagnes de dépistage systématique.

Une partie des activités de l'U.D.E.C. couvre le secteur de la reproduction humaine avec l'étude des biopsies d'endomètre, la réalisation de spermogramme, de spermocytogramme et de test post coïtal, ce en collaboration avec le Centre de Recherche en Reproduction Humaine, Centre Collaborateur OMS, dirigé par le Professeur Eusèbe ALIHONOU.

2.1.3. Les autres services impliqués

Nous recevons des patients venant :

- de la Clinique Universitaire de Gynécologie et d'Obstétrique du C.N.H.U. de Cotonou, service du Professeur Eusèbe ALIHONOU,
- de la maternité de Cotonou I
- du service d'Urologie du C.N.H.U. de Cotonou, service du Professeur Agrégé César AKPO
- de certains cabinets privés de la ville de Cotonou.

CHAPITRE II : CADRE, MATERIEL ET METHODE DE TRAVAIL

2.1. CADRE D'ETUDE

Nous avons choisi comme cadre d'étude l'Unité de Diagnostic et d'Etudes Cytologiques (U.D.E.C).

Pour mieux situer ce cadre, nous allons brièvement rappeler la situation géographique de Cotonou.

2.1.1 Bref aperçu géographique sur la ville de Cotonou.

Cotonou, capitale économique de la République Populaire du Bénin est aussi le chef-lieu de la province de l'Atlantique. Ville cosmopolite s'étendant d'Est en Ouest sur 14,2 Km et du Nord au Sud sur 4,8 Km, elle est limitée :

- au Nord par la berge sud du lac Nokoué
- au Sud par l'océan Atlantique
- à l'Est par le méridien passant par la borne kilométrique N°7 de la route Cotonou-Porto-Novo
- à l'Ouest par le méridien passant par le centre émetteur de la radio-diffusion.

Au point de vue climatique, Cotonou connaît quatre saisons : deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches.

Sur le plan administratif, la ville est divisée en six districts urbains.

Au point de vue population, la ville abrite 330.623 habitants dont 100.060 femmes âgées de plus de 15 ans soit 30,26 %. Les groupes ethniques du sud y sont prédominants.

Au plan sanitaire, Cotonou se distingue des autres villes du Bénin par les infrastructures qui y sont implantées. En effet elle abrite le Centre National Hospitalier et Universitaire, hôpital national de référence où se trouvent la Clinique Universitaire de Gynécologie-Obstétrique (C.U.G.O) et le service d'Urologie. Cotonou abrite aussi la maternité de Cotonou I, l'Unité de Diagnostic et d'Etudes Cytologiques, de

nombreux centres de santé de district et de nombreux cabinets médicaux privés.

2.1.2. L'unité de Diagnostic et d'Etudes Cytologiques (U.D.E.C.)

L'Unité de Diagnostic et d'Etudes Cytologiques a constitué notre plate-forme technique. Tous nos prélèvements y sont acheminés pour la coloration et la lecture.

L'U.D.E.C. est située sur le Campus Universitaire du Champ-de-foire à la Faculté des Sciences de la Santé. Elle est née en 1984 et est l'émanation des laboratoires d'anatomie pathologique et de biologie humaine.

Elle couvre une superficie de 100 m² et compte 4 locaux. Deux de ces locaux sont affectés aux activités techniques, un à la réalisation des prélèvements et le dernier sert de bureau et de salle d'accueil.

Récemment, une salle dans le nouveau bâtiment de l'Institut des Sciences Biomédicales Avancées (I.S.B.A.) a été affecté à l'U.D.E.C. pour servir à l'exécution des activités techniques.

Le personnel travaillant à l'U.D.E.C. comprend actuellement :

- un Médecin Spécialiste en Embryologie et en Histologie Humaine, Professeur Agrégé de Biologie Humaine, notre Maître
- un Médecin assistant-stagiaire en Anatomie Pathologique
- un Médecin Généraliste nanti par ailleurs d'un diplôme de technicien supérieur de laboratoire
- un étudiant chercheur préparant sa thèse
- trois techniciens supérieurs de laboratoire
- Une technicienne supérieure stagiaire
- une aide-laborantine
- une secrétaire réceptionniste.

Les activités de l'U.D.E.C comportent deux volets: un volet histopathologie et un volet cytopathologie

A sa création en 1984, l'U.D.E.C. comptait au sein de son personnel un Médecin Spécialiste d'Anatomie Pathologique qui a été appelé à d'autres fonctions. Aussi, les activités relevant de l'anatomo-pathologiste sont depuis lors exécutées par l'Université Catholique de LOUVAIN (BELGIQUE) à laquelle une convention lie la Faculté des Sciences de la Santé.

L'U.D.E.C. reçoit et analyse les pièces opératoires en provenance des centres de santé situés sur toute l'étendue du territoire national. Elle constitue aussi une structure de lutte contre les cancers notamment le cancer de sein et de l'utérus par l'organisation de campagnes de dépistage systématique.

Une partie des activités de l'U.D.E.C. couvre le secteur de la reproduction humaine avec l'étude des biopsies d'endomètre, la réalisation de spermogramme, de spermocytogramme et de test post coïtal, ce en collaboration avec le Centre de Recherche en Reproduction Humaine, Centre Collaborateur OMS, dirigé par le Professeur Eusèbe ALIHONOU.

2.1.3. Les autres services impliqués

Nous recevons des patients venant :

- de la Clinique Universitaire de Gynécologie et d'Obstétrique du C.N.H.U. de Cotonou, service du Professeur Eusèbe ALIHONOU,
- de la maternité de Cotonou I
- du service d'Urologie du C.N.H.U. de Cotonou, service du Professeur Agrégé César AKFO
- de certains cabinets privés de la ville de Cotonou.

2.2. MATERIEL DE TRAVAIL

Il comprend le microscope à immunofluorescence, le matériel de prélèvement et les réactifs.

2.2.1. Le microscope à immunofluorescence

2.2.1.1. Principe

La microscopie à fluorescence est une technique par laquelle des spécimens rendus fluorescents sont examinés au microscope. Ceci implique l'illumination du spécimen par une lumière de longueur d'onde courte (ultra violet) tandis que la fluorescence est visualisée en lumière d'onde longue.

2.2.1.2. Description

Le microscope utilisé dans le cadre de notre étude est de type SM-LUX, de marque LEITZ, de fabrication allemande, muni d'un illuminateur en lumière réfléchi pour la fluorescence de type PLOEMOPAK 2-3. Cet appareil nous a été offert par l'Université Catholique de Louvain (Belgique) qui en assuré l'installation et la formation du personnel de l'U.D.E.C. à son maniement.

Le microscope SM-LUX est destiné aux examens de laboratoire et aux travaux pratiques.

Avec le PLOEMOPAK 2-3, il est transformé en un excellent microscope pour la fluorescence en lumière réfléchi. Son utilisation en lumière transmise est intégralement conservée, de sorte que les procédés d'observation double simultanée, tels les contrastes de phase et fluorescence, polarisation et fluorescence, ou contraste différentiel et fluorescence peuvent être appliqués.

Ce microscope est muni de systèmes interchangeable de filtres comportant : un filtre d'excitation, un miroir séparateur et un filtre d'arrêt. Suivant le colorant fluorescent utilisé, la longueur d'onde d'excitation requise est différente. On procède dès lors à un changement de système de filtres

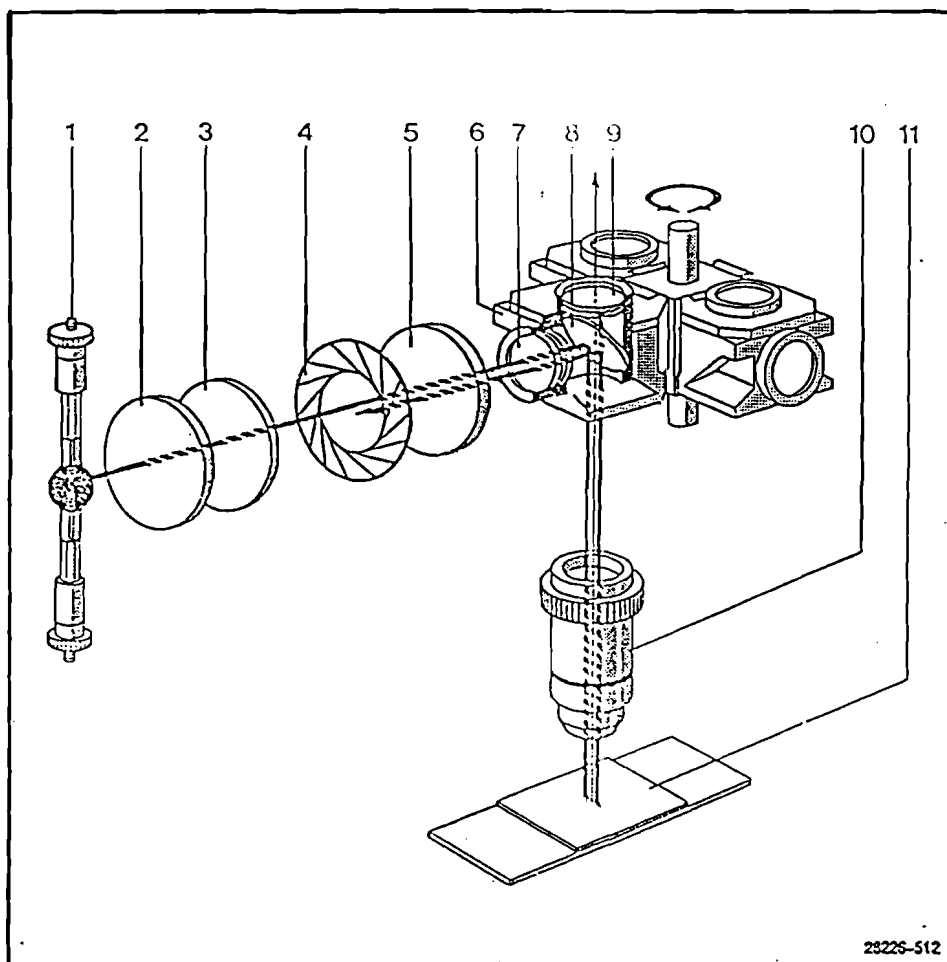
Les rayons provenant de la source de lumière traversent d'abord le filtre d'excitation, rencontrent ensuite un filtre de réflexion à bande étroite et sont renvoyés par celui-ci sur l'objectif, qui fait fonction de condenseur. L'objectif concentre donc les rayons d'excitation dans le champ de l'objet. La lumière de fluorescence émise à cet endroit est rassemblée par l'objectif. Elle rencontre en sens inverse le filtre de réflexion à bande étroite qui la laisse passer, étant d'une longueur d'onde différente de celle de la lumière d'excitation. Ainsi elle parvient à travers le filtre d'arrêt jusqu'à l'oculaire.

Les blocs de filtre pour lumière réfléchie comprennent, outre les filtres d'excitation et d'arrêt, un filtre de réflexion à bande passante (diviseur dichromatique).

Le filtre de réflexion à bande étroite est un filtre interférentiel diélectrique. Il possède un haut pouvoir de réflexion dans un domaine spectral bien défini. On l'appelle aussi miroir séparateur dichroïque, diviseur de couleur ou réflecteur. A l'aide du filtre de réflexion à bande étroite on peut réaliser une séparation précise des rayons d'excitation à ondes courtes et des rayons d'émission à ondes longues.

Le filtre à bande passante est un filtre à deux pentes raides. Il peut s'agir ici de verres de couleur, de filtre interférentiel ou de la combinaison des deux.

Schéma n°3 principe du PLOEMOPAK 2.3

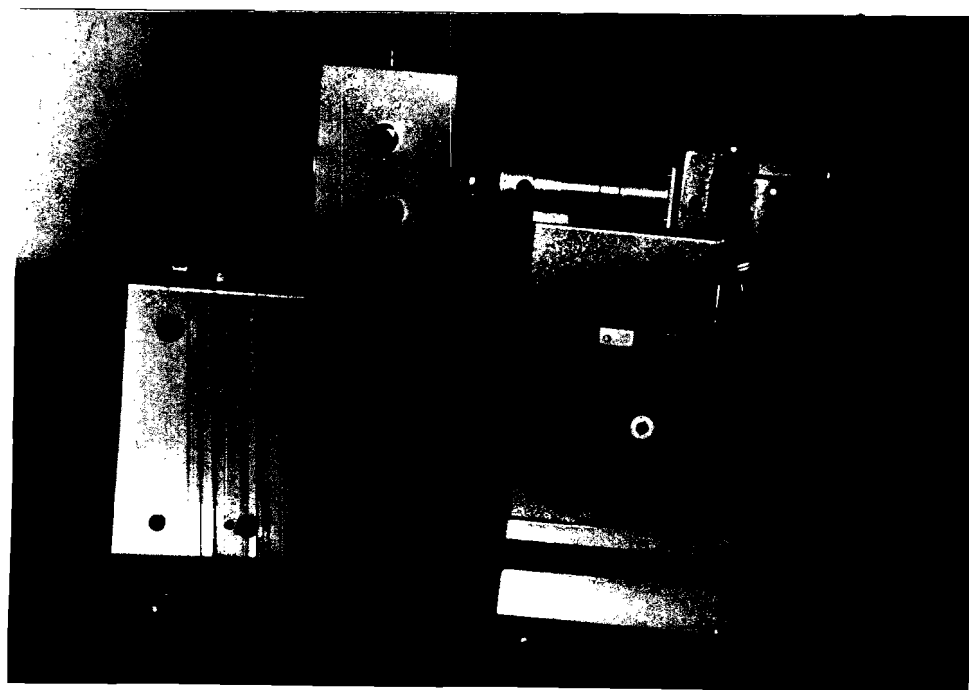


- 1 Source de lumière
- 2 Filtre anticalorique
- 3 Filtre d'atténuation du rouge
- 4 Diaphragme de champ
- 5 Lentille
- 6 Système de filtre avec filtre d'excitation miroir séparateur dichroïque et filtre d'arrêt
- 7 Filtre d'excitation
- 8 Miroir séparateur dichroïque
- 9 Filtre d'arrêt
- 10 Objectif
- 11 Préparation

extrait de la notice d'utilisation

29228-512

Photo 1 : Le microscope à immunofluorescence



2.2.2. Le Matériel de prélèvement

Le matériel de prélèvement offert gracieusement par l'Université Catholique de Louvain est de marque Syva MicroTrak et est livré en coffret de 20 trousse. Chaque trousse contient :

- un écouvillon large en dacron destiné aux prélèvements endocervicaux chez les femmes enceintes
 - un écouvillon fin en dacron pour les prélèvements urétraux
 - une cytobrosse pour les prélèvements endocervicaux chez la femme en dehors de toute grossesse
 - une lame porte-objet à puits central de 8 millimètres
 - une ampoule d'acétone pour la fixation du frottis.
- (voir page suivante photo du matériel de prélèvement).

2.2.3. Autre matériel

2.2.3.1 Le réactif

Le réactif est présenté sous forme lyophilisée que l'on remet en suspension par un diluant de reconstitution contenant 0,1 % d'azide de sodium dans de l'eau désionisée.

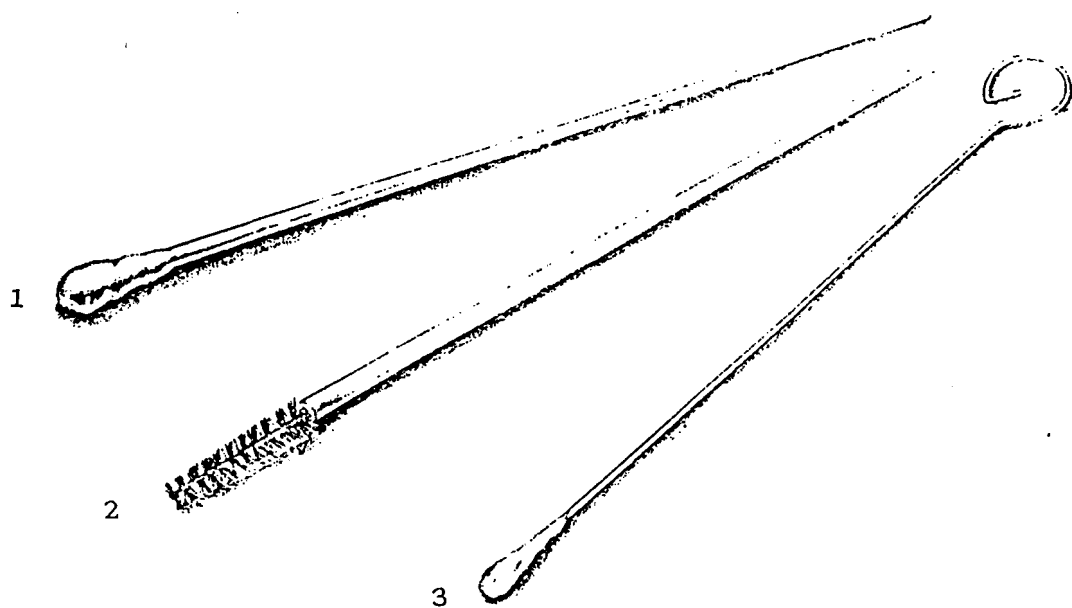
Il contient des anticorps monoclonaux murins purifiés spécifiques de Chlamydia trachomatis marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine, un contre colorant ou colorant différentiel, le bleu EVANS et des inhibiteurs de colorations non spécifiques dans une solution tampon PBS (phosphate Buffered Saline).

Les anticorps sont dirigés contre la principale protéine de la membrane externe, commune aux 15 sérotypes de Chlamydia trachomatis.

Cette protéine est présente dans le corps élémentaire et le corps réticulé.

Le réactif utilisé pour notre étude est le MICROTRAK test direct de la firme SYVA bio Mérieux.

Photo 2 : Le matériel de prélèvement.



1 - Ecouvillon large en dacron

2 - Cytobrosse

3 - Ecouvillon fin en dacron

2.2.3.2 Le matériel divers

Nous citerons :

- un jeu de spéculum
- une pipette de 2 millilitres : elle permet de prélever le diluant nécessaire à la reconstitution du réactif
- une micropipette de 30 microlitres : elle permet de prélever la quantité de réactif indiquée pour la coloration de chaque lame.
- un Bêcher pour laver les lames
- un humidificateur pour incuber les lames colorées
- le fluide de montage : il contient un tampon phosphate, du glycérol et un agent inhibiteur du photoblanchiment.
- les lamelles couvre-objet

2.3. METHODE DE TRAVAIL

2.3.1. La détermination de l'échantillon : type d'étude et échantillonnage

Il s'agit d'une étude prospective portant sur un échantillon de 120 individus dont 91 femmes et 29 hommes âgés de 15 à 50 ans. C'est donc une population en pleine activité sexuelle. On y distingue deux groupes

- le premier regroupe les sujets ayant bénéficié d'un frottis de dépistage systématique
- le second réunit les sujets chez qui il y a une suspicion d'infections génitales.

Notre échantillon est constitué de patientes et de patients venant de :

- la C.U.G.O
- la maternité de Cotonou I
- du service d'urologie du C.N.H.U
- de certains cabinets médicaux de la ville

2.3.2 Le protocole opératoire

2.3.2.1 Le prélèvement

Tout patient devant bénéficier d'un prélèvement est avant tout mis en confiance et assuré de la bénignité de l'examen et de son bien-fondé.

La technique de prélèvement mérite d'être décrite :

Chez l'homme : le patient ne doit pas avoir uriné depuis une heure. Certains préconisent 3 heures. Après avoir rassuré le patient on introduit l'écouvillon jusqu'à 2 à 4 centimètres dans l'urètre, puis on le tourne 5 à 10 secondes en frottant soigneusement le canal urétral pour prélever des cellules.

Chez la femme : Pour un prélèvement cervical il faut :

- placer un spéculum chez la femme en position gynécologique
- nettoyer le col avec un écouvillon stérile en coton ou gaze
- introduire la cyto-brosse dans le canal endocervical d'environ un centimètre
- tourner 5 à 10 secondes en frottant soigneusement le canal endocervical pour prélever des cellules
- retirer la cyto-brosse en évitant de toucher les parois vaginales

Après le prélèvement le patient se prête à un questionnaire préétabli portant sur l'état matrimonial, les antécédents pathologiques, les données cliniques et les données biologiques ; ce questionnaire est joint en annexe à notre travail.

2.3.2.2. La réalisation du frottis et sa coloration

- La réalisation du frottis

Le matériel de prélèvement (cytobrosse chez la femme et écouvillon chez l'homme), une fois le prélèvement effectué, est placé sur une lame à puits central de 8 millimètres. On fait rouler fermement un côté de la cytobrosse ou de l'écouvillon sur une moitié du puits, puis l'autre côté sur l'autre moitié jusqu'à le recouvrir uniformément. Après vérification du bon recouvrement du puits on laisse sécher la lame à l'air. Elle est ensuite posée à plat, on l'imbibe de 0,5 millilitre d'acétone qu'on laisse évaporer complètement.

Les lames ainsi fixées sont conservées au réfrigérateur entre 2° et 4°C et sont colorées dans un délai maximum de 7 jours.

- La coloration des lames

À chaque série de détermination sont jointes deux lames contrôles fournies par la firme : l'une contient une

suspension de cellules infectées par les Chlamydiae et sert de contrôle positif; la seconde contient des cellules vierges d'infection et sert de contrôle négatif.

La coloration des lames se fait de la façon suivante : on ajoute 30 microlitres de réactif aux lames contrôles et à l'échantillon fixé en s'assurant que la totalité du puits est recouverte. On laisse incuber les lames pendant 15 minutes dans un bac humidificateur. Cet humidificateur évite le dessèchement des anticorps sur l'échantillon, ce qui entraînerait une liaison non spécifique.

Après 15 minutes d'incubation, on aspire l'excès de réactif. On rince les lames en les agitant doucement dans de l'eau distillée pendant 10 secondes. L'excès d'eau est éliminé en secouant doucement les lames, on essuie le bord de chaque lame avec du papier absorbant, puis on laisse sécher à l'air. On ajoute une goutte de fluide de montage au centre de chaque lame. Enfin une lamelle couvre-objet est placée sur la goutte et toutes les bulles d'air sont éliminées.

2.3.2.3 Lecture et interprétation des lames

La lecture est faite à l'objectif 100 à immersion du microscope SM-LUX muni du PLOEMOPAK 2-3. Elle est assurée par un technicien supérieur de laboratoire et nous même, chacun ignorant le résultat obtenu par l'autre.

Les lames étant colorées et montées comme décrit au préalable, on dépose une goutte d'huile à immersion sur la lamelle couvre-objet. On procède d'abord à un balayage de tout le puits en lumière blanche tout en faisant la mise au point. Une fois les cellules visibles, on éteint la source de lumière blanche et on ouvre le diaphragme de champ pour passer à l'observation en fluorescence. A ce moment, les yeux restant toujours placés sur les oculaires, on achève la mise au point

au moyen de la vis micrométrique jusqu'à ce qu'on obtienne la netteté parfaite de l'image.

Les cellules épithéliales et les polynucléaires apparaissent rouges car colorés par le bleu EVANS. Les corps chlamydiens apparaissent comme des grains de petite taille, de fluorescence vert pomme homogène sur un tapis de cellules épithéliales rouges, on dirait "comme des étoiles dans le ciel". Parfois ils forment des particules plus grosses. En actionnant la vis micrométrique, ces particules montrent un centre non coloré ; il s'agit, en général de grosses particules qui peuvent correspondre à des corps réticulés ou à des amas de corps réticulés.

Il faut différencier les artéfacts des Chlamydiae : il s'agit de particules présentant une brillance de couleur jaune, une taille irrégulière et une forme différente. Un minimum de dix particules fluorescents caractéristiques est le seuil de positivité retenu par le fabricant afin d'éviter les faux positifs.

Partant de ces critères, nous avons considéré comme positifs les tests ayant au moins dix particules fluorescents, négatifs ceux qui n'en ont pas et douteux ceux compris entre 1 et 9 particules.

Dans ce dernier cas, nous procédons si possible à un nouveau prélèvement. Sinon ces résultats sont dits ininterprétables.

Mentionnons que le laboratoire de l'UDEC ne disposant pas de matériel de micrographie en fluorescence, il ne nous est pas possible de montrer une image de frottis positif.

2.3.3 La transcription et le traitement des données

Toutes les données obtenues à travers l'interrogatoire, l'examen clinique et le résultat du frottis sont codifiées et saisies sur un ordinateur type XT/IBM compatible. La saisie

des données a été faite par nous-même avec l'aide d'un informaticien qui en a fait le programme. Le logiciel utilisé pour le traitement est le dBase III Plus.

Pour nos calculs, nous avons utilisé les méthodes descriptives; au besoin le test de X^2 de Pearson et le risque relatif estimé (R.R.E) avec son intervalle de confiance permettront de faire notre étude analytique des facteurs de risque. Les formules statistiques appliquées dans les comparaisons de deux moyennes, de deux pourcentages et le test de X^2 figurent en annexe.

2.3.4 Les contraintes de l'étude

Les difficultés rencontrées au cours de cette étude sont nombreuses et de divers ordres.

Il s'agit d'une première étude portant sur ce sujet à Cotonou il n'existe aucun travail antérieur pouvant nous servir de référence au démarrage du nôtre.

Le coût élevé du matériel de prélèvement et de traitement des frottis limitent la taille de notre échantillon. Pour amortir les frais de l'étude, le laboratoire a sollicité de chaque patient venant pour une suspicion d'infection génitale une participation de 2.500 F CFA au lieu de 5.200 F CFA que coûtait le frottis à l'U.D.E.C. Il ne nous a pas été facile de convaincre tous les patients à donner cette contribution, la conjoncture économique nationale difficile et le bas niveau socio-économique de la plupart d'entre eux ne permettent pas de le faire.

A la maternité au cours des consultations, plusieurs cabines fonctionnent simultanément et les femmes sont souvent incapables de fournir des renseignements corrects. Par ailleurs les patients sont réticents à certaines questions qui relèvent de leur vie privée, ce qui rend difficile l'enquête.

Des problèmes et contraintes techniques n'ont pas manqué de surgir. En effet, au début de nos recherches nous nous sommes vu confronté aux difficultés de réglage du microscope à immunofluorescence utilisé. Cet obstacle a été vite surmonté car nous avons bénéficié des instructions d'un Professeur de l'Université Catholique de Louvain en mission à la Faculté des Sciences de la Santé.

Pour pallier à la pénurie du matériel de prélèvement, nous avons utilisé plusieurs artifices. Nous avons tenté une première fois mais en vain de récupérer les lames à puits central déjà utilisées en les lavant puis en les laissant séjourner dans de l'eau de javel. Ce procédé a été un échec car la couche de peinture recouvrant la lame et à travers laquelle est aménagé le puits a été emportée. Nous avons essayé aussi de faire des prélèvements sur des lames ordinaires sur lesquelles nous avons délimité au moyen d'un graveur un cercle. Et c'est dans ce cercle que s'est fait le frottis. Ce procédé aussi s'est avéré infructueux car le liquide de montage fuit du dessous de la lamelle couvre-objet et compromet la lecture. Une deuxième tentative de récupération des lames à puits central a été concluante. En effet, sur conseil de notre Maître, nous avons, après avoir éliminé les lames précédemment positives, lavé les lames négatives et les avons laissés sous un jet d'eau pendant au moins deux heures. Le résultat a été concluant car sur ces lames lavées nous n'avons plus retrouvé de cellules au microscope.

Par ailleurs, la qualité du frottis dépend pour une grande part du prélèvement. En effet, les prélèvements cervicaux faits avec un écouvillon en dacron sont pauvres en cellules et les résultats moins probants, d'où la nécessité d'utiliser une cytobrosse chez les femmes.

Enfin, la lecture des frottis impose d'autres contraintes. Elle ne peut se faire qu'en salles obscures; ceci nous a obligé à déplacer le microscope vers la salle d'auto-

apprentissage et à travailler en nous cachant sous une toile noire. De plus, il est quasi impossible de lire correctement plus de six lames à la fois car l'attention baisse et les risques de mauvaises interprétations sont grandes. Ce qui fait que nous sommes obligé de faire la lecture tous les après-midi pour ne pas laisser s'accumuler les prélèvements, le vieillissement du prélèvement grèvant beaucoup le résultat.

CHAPITRE III : RESULTATS

3.1 LES CARACTERISTIQUES DE L'ECHANTILLON

3.1.1 La provenance des prélèvements

Notre échantillon se compose de (Tableau 1) :

- 20 frottis effectués à la maternité de Cotonou I représentant 16,67% de la population.

- 38 frottis venus de la C.U.G.O soit 31,67%

- 37 frottis de patients venant de la consultation d'urologie du C.N.H.U soit 30,83%

- 25 frottis de patients adressés par des cabinets médicaux de la ville de Cotonou soit 20,83 % de la population.

Cette répartition montre que les services du C.N.H.U impliqués dans notre étude ont fourni la plus grande partie de notre échantillon.

La vocation universitaire du C.N.H.U, et l'intérêt que portent les chefs de services aux infections à Chlamydia expliquent cette répartition.

Tableau n°1

Répartition de la population étudiée suivant le service de provenance

PROVENANCE	MATERNITE Cotonou I	C.U.G.O	UROLOGIE	CONSULTATION de ville
NOMBRE	20	38	37	25
POURCENTAGE	16,67 %	31,67 %	30,83 %	20,83 %

3.1.2 L'indication du frottis (Tableau 2)

Le frottis a été réalisé dans le cadre d'un dépistage systématique dans 59,17% des cas. Il est motivé par une suspicion d'infection génitale dans 40,83% des cas de notre effectif.

Tableau n°2

Répartition de la population suivant l'indication du frottis et le résultat du test.

Résultat Indicateur	POSITIF		NEGATIF		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Dépistage	16	13,33 %	55	45,83	71	59,17
Suspicion	16	13,33 %	33	27,50	49	40,83
TOTAL	32	26,66	88	73,33	120	100

La plupart des patients adressés des consultations médicales de la ville viennent pour une suspicion d'infection génitale. Il en est de même des patients venant du service d'urologie.

Le dépistage systématique s'est effectué surtout à la C.U.G.O et à la maternité de Cotonou I.

Les frottis systématiques sont positifs dans 22,53 % des cas soit une fois sur cinq. Les frottis motivés par une suspicion d'infection génitale sont positifs dans 32,65 % des cas soit une fois sur trois.

En comparant ces deux pourcentages, on se rend compte que la différence n'est pas significative au risque $\alpha = 5 \%$. L'infection uro-génitale à Chlamydia trachomatis existe aussi bien de façon symptomatique qu'asymptomatique dans notre échantillon.

Tableau n°3

Répartition selon le sexe, l'indication du frottis et le résultat

		INDICATION											
		DEPIST.SYSEMAT.				SUSPICION.INFECT				TOTAL			
RESUL.	SEXE	Positif		Négatif		Positif		Négatif		Positif		Négatif	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
	Masculin	1	0,83	3	2,5	8	6,66	17	14,16	9	7,5	20	16,66
	Féminin	15	12,5	52	43,33	8	6,81	16	13,31	23	13,33	68	36,66
	Total	16	13,33	55	45,83	16	13,33	33	17,5	32	26,66	88	73,33

Un homme sur quatre ayant fait un frottis de dépistage systématique a un résultat positif soit 25 %. Quinze femmes sur 67 ayant fait un frottis de dépistage systématique ont un résultat positif soit 22,38% la différence entre ces deux pourcentages n'est pas significative au risque $\alpha = 5\%$. Le risque de portage asymptomatique est le même dans les deux sexes dans notre série.

3.1.3 Le sexe et l'âge

3.1.3.1 Le sexe et l'âge dans notre échantillon.

La population étudiée compte 29 hommes et 91 femmes soit globalement 1 homme pour 3 femmes.

Tableau n°4

Répartition de la population selon le sexe et selon l'âge

SEXE AGE	Masculin		Féminin		Total	
	Nombre	Pourcent.	Nombre	Pourcent	Nombre	Pourcent.
]15-20[1	0,83%	5	4,16%	6	5 %
[20-25[7	5,83%	23	19,16%	30	25 %
[25-30[9	7,5%	25	20,83%	34	28,33%
[30-35[9	7,5%	14	11,67	23	19,17%
[35-40[3	2,5%	14	11,67	17	14,17%
[40-45[0	0	7	5,85	7	5,83%
[45-50[0	0	3	2,5	3	2,5%
Total	29	24,27	91	74,83	120	100

Comme le montre le tableau 5 et l'histogramme, la tranche d'âge de 25 à 30 ans a la plus forte fréquence de survenue d'une chlamydirose uro-génitale. D'autre part, la courbe des fréquences croît régulièrement de 18 à 22 ans, reste en plateau entre 22 ans et 26 ans puis décroît régulièrement jusqu'à 42 ans.

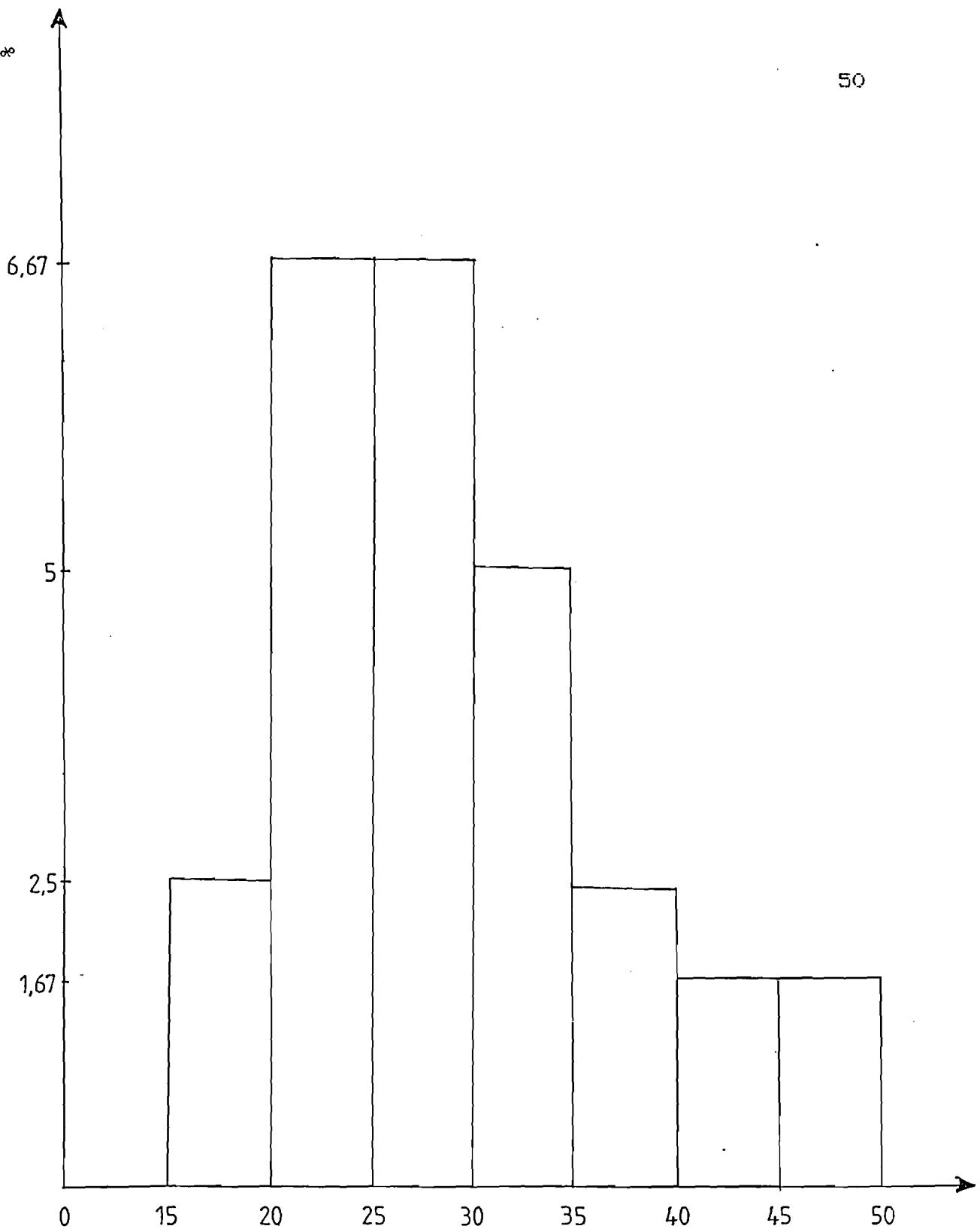
Tableau n°5

Répartition de la population suivant l'âge et suivant le résultat du frottis

Résultat AGE	POSITIF		NEGATIF		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
[15 - 20[3	2,5	3	2,5	6	5
[20 - 25[8	6,67	22	18,33	30	25
[25 - 30[8	6,67	26	21,67	34	28,33
[30 - 35[6	5	17	14,17	23	19,17
[35 - 40[3	2,5	14	11,67	17	14,17
[40 - 45[2	1,67	5	4,16	7	5,83
[45 - 50[2	1,67	1	0,83	3	2,5
TOTAL	32	26,67	88	73,33	120	100

3.1.3.2 Le sexe, l'âge et le résultat du frottis

Dans la population masculine, 9 frottis sur 29 soit 31,03% sont positifs. Chez les femmes, 23 frottis sur 91 sont positifs soit 25,27 %.



tranche d'âge

Histogramme : Fréquence de la Chlamydia trachomatis selon les tranches d'âge

Tableau n°6

Répartition de la population masculine suivant l'âge et le résultat du frottis

Résultat AGE	POSITIF		NEGATIF		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
]15 - 20[0	0	1	3,45	1	3,45
[20 - 25[1	3,45	6	20,69	7	24,14
[25 - 30[4	13,79	5	17,24	9	31,03
[30 - 35[3	10,34	6	20,69	9	31,03
[35 - 40[1	3,45	2	6,90	3	10,35
[40 - 45[0	0	0	0	0	0
[45 - 50[0	0	0	0	0	0
TOTAL	9	31,03	20	68,97	29	100

Tableau n°7

Répartition de la population féminine suivant l'âge et le résultat du frottis

Résultat AGE	POSITIF		NEGATIF		TOTAL	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
]15 - 20[3	3,30	2	2,20	5	5,5
[20 - 25[7	7,69	16	17,58	23	25,27
[25 - 30[4	4,39	21	23,08	25	27,47
[30 - 35[3	3,30	11	12,09	14	15,39
[35 - 40[2	2,20	12	13,19	14	15,39
[40 - 45[2	2,20	5	5,5	7	7,69
[45 - 50[2	2,20	1	1,1	3	3,30
TOTAL	23	25,27	68	74,73	91	100

La comparaison entre ces pourcentages montre une grande différence. Celle-ci s'explique par le fait que la plupart des hommes de notre série, 25 sur 29, ont été vus pour une suspicion d'infection génitale tandis que la majeure partie des femmes, 67 sur 91, a bénéficié d'un frottis de dépistage systématique. Les hommes de notre série avaient donc plus de chance d'avoir un frottis positif.

Nous avons essayé de comparer les résultats positifs dans les deux sexes selon les tranches d'âge.

Le diagramme suivant montre les graphiques des fréquences de résultats positifs selon la tranche d'âge chez les hommes et chez les femmes.

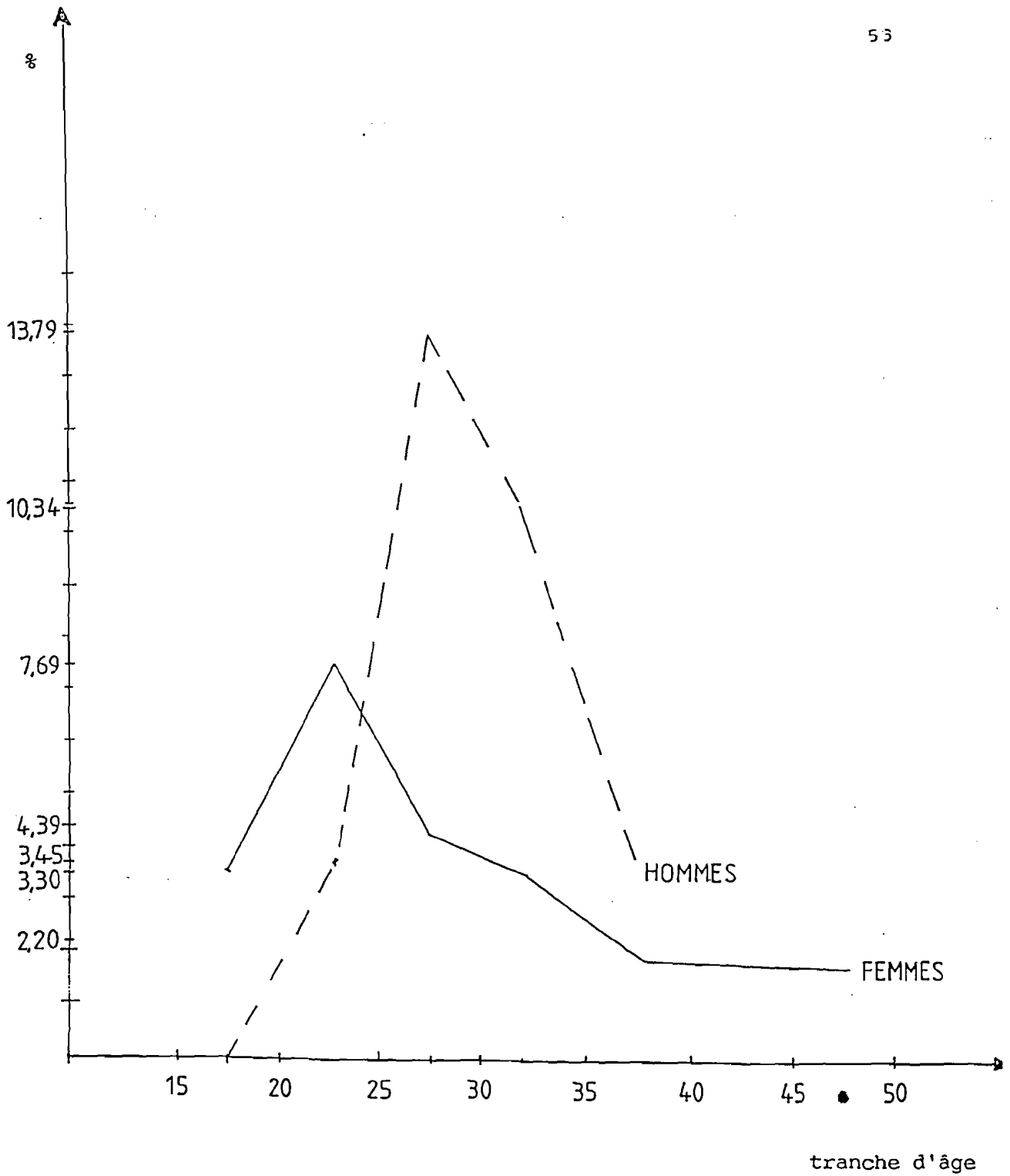


Diagramme : Fréquence comparée des résultats positifs dans les deux sexes

Les deux graphiques ont la même allure générale. Mais à partir de la tranche d'âge de 40 à 45 ans la fréquence de portage chez les hommes arrive à 0 % tandis que chez les femmes, cette fréquence arrivée à 2,20% dans la tranche d'âge de 35 à 40 ans y demeure en plateau jusqu'à 40 - 45 ans.

Chez les femmes, le portage apparaît déjà autour de 16 ans, croît et atteint son maximum entre 20 et 25 ans puis décroît pour se stabiliser à partir de la quarantaine à une valeur fixe de 2,20 %.

Chez les hommes, le portage apparaît entre 20 et 25 ans, croît et atteint son maximum entre 25 et 30 ans puis décroît.

D'autre part, la fréquence maximale est plus élevée chez les hommes que chez les femmes.

Partant de ces constatations, nous pourrions dire que d'une façon générale, les deux diagrammes suivent l'évolution des activités sexuelles à travers l'âge. En effet, aux tranches d'âge extrêmes, les fréquences sont les plus basses ou nulles tandis qu'elles sont maximales entre 20 et 30 ans, âges entre lesquels l'activité sexuelle est la plus intense.

3.1.4 Les groupes ethniques

Notre enquête s'étant déroulée à Cotonou, ville cosmopolite, on retrouve tous les grands groupes ethniques du pays dans notre série, de même que des étrangers. On note une nette prédominance du groupe des fon et apparentés, ceci est en rapport avec la prédominance de ce groupe ethnique à Cotonou.

L'effectif réduit de notre échantillon ne permet pas d'établir une corrélation entre l'appartenance à un groupe ethnique et le risque d'infection uro-génitale à Chlamydia trachomatis.

Le tableau 8 donne la répartition de la population étudiée suivant le groupe ethnique et le résultat du frottis.

Tableau n°8

Répartition de la population suivant le résultat du frottis et le groupe ethnique

Groupe ethnique	A	B	C	D	E	Z
	Nbre %	Nbre %	Nbre %	Nbre %	Nbre %	Nbre %
Positif	20 16,67	7 5,83	1 0,83	2 1,67	2 1,67	0 0
Négatif	52 43,33	13 10,83	13 10,83	2 1,67	4 3,33	4 3,33
TOTAL	72 60	20 16,66	14 11,86	4 3,33	6 5	4 3,33

A = Fon, Mahi, Goun, Aizo

B = Adja, Péda, Mina, Popo

C = Yoruba, Nagot, Holi, Idatcha

D = Dendi, Bariba, Ditamari, Haoussa, Peulh

E = Etrangers

Z = Non précisés

3.2 RECHERCHE DES FACTEURS DE RISQUE

3.2.1 L'âge du début des activités sexuelles

Nous avons comparé les résultats du frottis chez les sujets ayant eu moins de 20 ans au début des activités sexuelles à ceux ayant eu plus de 20 ans à ce début. Dans le premier groupe les frottis ont été positifs dans 26,43 % des cas contre 27,27% dans le second groupe. La différence entre les deux groupes n'est pas significative $X^2 = 0,08$

L'âge du début des activités sexuelles dans notre série n'est pas un facteur de risque.

Tableau n°9

Age du début des activités sexuelles et résultats

Groupes étudiés ethnique	Nombre de prélèvement	POSITIF		NEGATIF	
		N	%	N	%
Début activité sexuelle avant 20 ans	87	23	26,43	64	73,57
Début activité sexuelle après 20 ans	33	9	27,27	24	72,73

3.2.2 La situation matrimoniale

85 patients de notre série vivent en couple et 35 sont célibataires.

Le frottis est positif chez 21 patients vivant en couple soit 24,70% et négatif chez 64 soit 75,30%.

Chez les célibataires, le frottis est positif dans 11 cas soit 31,42% et négatifs dans 24 cas soit 68,58%

La différence ici également n'est pas significative. Dans notre série, la situation matrimoniale ne constitue pas un facteur de risque.

Tableau n°10

Répartition de la population selon le résultat et le mode de vie (célibataire ou en couple)

Groupes étudiés	Nombre de prélèvement	POSITIF		NEGATIF	
		N	%	N	%
Vie en Célibataire	35	11	31,42	24	68,58
Vie en Couple	85	21	24,70	64	75,30

3.2.3 Le nombre de partenaires sexuels

Dans notre série 78 patients déclarent avoir un seul partenaire sexuel et 42 déclarent en avoir plus d'un.

Dans le premier groupe, le frottis est positif dans 19,23 % des cas contre 40,47% des cas dans le second groupe.

La différence entre ces deux groupes est significative ($X^2 = 5,26$)

Les patients ayant plus d'un partenaire sexuel sont plus sujets à faire une infection uro-génitale à Chlamydia trachomatis.

Tableau n°11

Répartition de la population selon le résultat du frottis et le nombre de partenaires sexuels

Groupes étudiés	Nombre de prélèvement	POSITIF		NEGATIF	
		N	%	N	%
1 partenaire sexuel	78	15	19,23	63	80,77
Plus d'un partenaire	42	17	40,47	25	59,53

De plus , le risque augmenterait avec le nombre de partenaires. Nous avons noté en effet que la fréquence des frottis positifs augmente avec le nombre de partenaires sexuels : 11,71 % des cas chez les patients ayant 2 partenaires, 17,64 % chez les sujets ayant 3 partenaires, 23,52% chez les sujets qui ont 4 partenaires et 47,13% chez ceux qui ont plus de 4 partenaires.

3.2.4 Le nombre de partenaires sexuels du conjoint

Il n'a pas été possible d'obtenir des réponses fiables à la question. La plupart des patients notamment les femmes y répondent sans conviction. On ne saurait donc tabler sur ces réponses pour affirmer ou infirmer que le nombre de partenaires sexuels du conjoint est un facteur de risque.

3.2.5 La profession et le niveau d'instruction

Ils semblent ne pas jouer sur la fréquence du portage dans notre série

En résumé :

Nous n'avons retrouvé qu'un seul facteur qui soit significatif, le nombre de partenaires sexuels. L'âge au début des activités sexuelles, la situation matrimoniale, le nombre de partenaires sexuels du conjoint de même que la profession et le niveau d'instruction ne semblent pas constituer dans notre série des facteurs de risque. Mais l'on devra se garder de toute spéculation, l'étendue de notre échantillon ne permet pas de faire de façon exhaustive l'étude des facteurs de risque.

3.3 LES DONNEES CLINIQUES

3.3.1 Les antécédents

Chez les hommes, l'étude des antécédents a permis de noter une urétrite dans 7 cas sur les 9 positifs, une orchio-épididymite dans 3 cas, une stérilité dans 2 cas. Dans un cas d'homme positif il n'y a aucun antécédent.

Aussi constatons-nous que l'antécédent majeur dans notre série chez les hommes est l'urétrite.

Chez les femmes, nous avons retrouvé une cervicite dans 14 cas positifs sur 32, une infection urinaire dans 7 cas, une stérilité dans 4 cas, une pelvi-péritonite et une salpingite dans 2 cas.

La cervicite représente l'antécédent majeur dans notre série chez les femmes.

3.3.2 Les manifestations cliniques (Tableau 12)

La manifestation prédominante chez les hommes de notre échantillon ayant un frottis positif est l'uréthralgie. Elle existe dans 8 cas sur 9. L'écoulement urétral vient en seconde position 6 fois sur 9. On note dans un cas une douleur pelvienne, dans un autre une douleur testiculaire. On ne retrouve aucun symptôme chez un seul homme à frottis positif.

Tableau n°12

Les manifestations cliniques retrouvées chez les hommes à frottis positif de notre échantillon

Manifestations cliniques	Écoulement urétral	Uréthralgie	Douleur pelvienne	Douleur testiculaire	Sans symptôme
Nombre	6	8	1	1	1
Pourcentage	66,66%	88,88%	11,11%	11,11%	11,11%

Plusieurs de ces signes cliniques peuvent se retrouver chez le même patient; ce qui explique que la somme des pourcentages figurés dans ce tableau est supérieure à 100%

Chez les femmes les leucorrhées dominent le tableau clinique. On les retrouve dans 20 cas sur 29. Les douleurs pelviennes sont observées dans 14 cas, la dyspareunie dans 11 cas, les brûlures vulvo-vaginales dans 7 cas et les brûlures mictionnelles dans 5 cas.

Tableau n°13

Les manifestations cliniques retrouvées chez les femmes à frottis positif de notre échantillon

Manifestations cliniques	Brûlures vulvo-vaginales	Leucorrhées	Brûlures mictionnelles	Dyspareunie	Douleur pelvienne
Nombre	7	20	5	11	14
Pourcentage	30,47 %	86,95%	21,73%	47,82%	60,87%

**CHAPITRE IV : DISCUSSIONS
COMMENTAIRE ET REVUE DE LA
LITTERATURE**

4.1 DISCUSSIONS ET COMMENTAIRE

Dans notre série, l'évolution de la fréquence du portage de Chlamydia trachomatis traduit celle des activités sexuelles avec l'âge. D'une façon générale, avant 16 ans, l'activité sexuelle dans nos régions est modérée. Entre 18 et 22 ans, c'est l'âge des premières expériences sexuelles. Les adolescents cèdent à la tentation et multiplient les rapports sexuels. Aussi, le risque de maladies sexuellement transmissibles croît-il dans cette tranche d'âge d'où l'accroissement progressif du portage de Chlamydia trachomatis.

Entre 22 et 26 ans, les jeunes, libérés des contraintes parentales connaissent une activité sexuelle intense d'où l'observation des plus hautes fréquences d'infections génitales.

Après 26 ans, progressivement, les jeunes prennent de la responsabilité et sont confrontés aux exigences de la vie de ménage et de société. L'activité sexuelle est alors plus disciplinée et la fréquence d'apparition des infections génitales diminue.

A partir de 40 ans, c'est l'âge adulte, les individus doivent faire face aux grands problèmes de la vie.

Ainsi donc, l'apparition d'une chlamydie uro-génitale, comme toutes les maladies sexuellement transmissibles, est plus fréquente chez les sujets jeunes.

L'apparition plus précoce du portage chez les femmes que chez les hommes pourrait s'expliquer de la façon suivante : l'activité sexuelle commence plus tôt chez les femmes que chez les hommes en raison d'une part des sollicitations multiples auxquelles elles sont soumises de la part des hommes plus âgés et d'autre part de la possible instabilité qui caractérise certaines femmes à cet âge, toutes choses qui leur font multiplier les rencontres d'où le risque d'infection.

Entre 20 et 25 ans chez les femmes, c'est l'âge d'une intense activité sexuelle, ceci explique le fait qu'on retrouve les fortes fréquences de portage dans cette tranche d'âge.

Autour de 25 ans, la plupart des femmes se marient. A partir de ce moment, l'activité sexuelle devient disciplinée. On observe dans notre série qu'après 35 ans, la fréquence arrive à son minimum et y demeure même au-delà de 40 ans. L'infection à Chlamydia pourrait rester longtemps asymptomatique, et à cet âge, c'est à l'occasion des frottis de dépistage de cancer du col à l'U.D.E.C que nous avons recherché les Chlamydiae. Ceci expliquerait la persistance d'un taux faible de portage chez ces femmes.

Chez les hommes, l'activité sexuelle apparaîtrait plus tard que chez les femmes. La fréquence maximale est atteinte ici entre 25 et 30 ans. A cet âge, la plupart des hommes sont sans responsabilité et se plaisent à multiplier les partenaires sexuelles d'où l'élévation du risque d'infection. Puis entre 30 et 35 ans, âge où intervient souvent le mariage chez l'homme, les responsabilités obligent, on assiste à une réduction relative des activités sexuelles.

Nous ne saurions préjuger ce qui se passe chez les hommes avant 20 ans et 40 ans car dans notre série nous n'avons pas de sujet de sexe masculin de ces âges.

4.2 REVUE DE LA LITTERATURE

4.2.1 A PROPOS DES INFECTIONS URO-GENITALES A CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Dans notre étude recherchant Chlamydia trachomatis au niveau de l'endocol et de l'urètre, nous avons noté la présence de ce micro-organisme dans 32,65% des infections uro-génitales basses manifestes et dans 22,53% des cas chez des sujets apparemment sains.

HENRY-SUCHET [31] a signalé la présence de ce micro-organisme dans 30 à 60% des infections génitales. SIBOULET [74, 75] à l'Institut FOURNIER de Paris a trouvé que Chlamydia trachomatis est responsable de 58% des infections génitales. ORIEL [61] en Angleterre mentionne la présence de cet agent pathogène dans 45 à 58% des cas.

Des études de prévalence de Chlamydia trachomatis dans les urétrites non gonococciques ont été entreprises dans plusieurs pays. Nous résumons dans le tableau n°14 les résultats de quelques études

Tableau n°14

Prévalence de Chlamydia trachomatis dans les urétrites non gonococciques

Auteurs	Pays	Taux de prévalence
Groupe Scientifique OMS [36]	NIGERIA	30 - 50 %
MABEY et coll [51]	GAMBIE	15,4%
Groupe Scientifique OMS [36]	VENEZUELA	63 %
EL MDAGHRI [25]	EGYPTE	40,9 %
WHO WORKING GROUP [82]	USA	40 %

Dans notre étude Chlamydia trachomatis est retrouvé dans 22,53% des cas où les sujets sont apparemment sains avec un même taux pour les hommes que pour les femmes. Pour CATALAN [11], le portage asymptomatique serait plus fréquent chez la femme qui représenterait le " réservoir de germe pathogène ". SIBOULET et collaborateurs [76] par contre ont trouvé le taux de portage asymptomatique plus élevé chez l'homme (12%) que chez la femme (5%).

L'étude de l'âge dans notre échantillon fait remarquer qu'il s'agit d'une affection du sujet jeune comme le sont d'ailleurs la plupart des maladies sexuellement transmissibles. Les sujets aux partenaires multiples semblent être les plus exposés. La taille de notre échantillon ne permet cependant pas de faire une étude approfondie des facteurs de risque. Une telle étude devra être envisagée dans le cadre d'un travail de plus grande envergure. A l'Institut FOURNIER de Paris, une étude intéressante a permis de préciser les particularités des infections à Chlamydia trachomatis en ce qui concerne l'âge, la période d'incubation, le mode de contamination et les facteurs de risque. D'après cette étude, l'homme marié, cadre, entre 30 et 40 ans ayant plusieurs partenaires occasionnelles constitue le cas le plus fréquent [75].

Mais l'infection à Chlamydia trachomatis ne se limite pas aux voies uro-génitales basses.

ZORN et collaborateurs [84] dans une étude portant sur 79 femmes, ont affirmé l'existence d'endométrite à Chlamydia trachomatis.

DIQUELOU et collaborateurs [23] en 1988, dans une étude bicentrique ont montré la relation significative existant entre les infections à Chlamydia trachomatis et les grossesses extra-utérines. D'après ce travail, le spermatozoïde en tant que vecteur possible du micro-organisme, pourrait le conduire à infecter le produit de conception. Cette étude laisse ainsi

penser que Chlamydia trachomatis est un agent étiologique des grossesses extra-utérines.

KIVIAT et collaborateurs [40,41] à l'instar des suédois MARDH, THEHARNE et WESTRÖM, ont démontré la présence de ce micro-organisme dans les salpingites et autres inflammations du péritoine.

BREMOND et collaborateurs [7] ont pu établir à partir d'une étude faite chez des femmes ayant des problèmes de conception, une relation entre les infections génitales à Chlamydia trachomatis et les stérilités. Ils en ont fait par ailleurs une étude des facteurs de risque.

ALLERDING et collaborateurs [2] d'une part, ANWARI et collaborateurs [3] d'autre part, pensent que les infections cervicales chroniques à Chlamydia trachomatis favoriseraient la survenue des néoplasmes cervicaux.

Il serait donc intéressant au Bénin, que les gynécologues, à l'occasion des coelioscopies et opérations pour grossesses extra-utérines, stérilité et autres infections génitales fassent des prélèvements à la recherche de ce micro-organisme.

Les gynécologues, à l'occasion des frottis de dépistage de cancer du col devront s'appliquer à faire des prélèvements à la recherche de ce micro-organisme chez les femmes.

4.2.2 INTERET DE LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE

Pour notre étude, nous avons employé des anticorps monoclonaux fluorescents type MicroTrak. Notre seuil de positivité a été fixé à 10 particules élémentaires comme le recommande le fabricant. Mais certains travaux tels que celui de UYEDA et collaborateurs [81] et de ROMFALLO et collaborateurs [66] ont montré que, après une formation effective des techniciens, l'identification d'au moins deux corps élémentaires suffit à affirmer la positivité du test.

Dans la recherche des Chlamydiae, la culture reste la technique de référence. Mais dans nos conditions, elle ne pourrait être réalisée ; elle nécessite en effet un

laboratoire bien équipé, un matériel lourd et coûteux et une haute technicité.

Plusieurs équipes ont fait la comparaison entre la culture et l'immunofluorescence directe. D'une façon générale, la concordance est comprise entre 92 et 94%, la sensibilité entre 70 et 100% et la spécificité entre 93 et 99,5%. Le tableau n°15 résume les résultats de quelques études.

Tableau n°15

Concordance, sensibilité et spécificité de la recherche de *Chlamydia trachomatis* par immunofluorescence directe

AUTEURS	Nombre de patients	Concordance	Sensibilité	Spécificité
TAM [78] et Coll	929	96 %	93 %	96 %
UYEDA [81] et Coll	401	99 %	96 %	99,5 %
CATALAN [15]	250	98 %	100 %	97 %
SCHACHTER [72]	350	95 %	70 %	94 %
MORIER et Coll [56]	760	95 %	85 %	97 %

Ces résultats confirment que l'examen direct utilisant les anticorps monoclonaux fluorescents représentent une possibilité de rechange à l'isolement sur culture cellulaire qui demeure la référence pour le diagnostic des infections à *Chlamydia trachomatis*.

L'examen direct par immunofluorescence directe présente plusieurs avantages. Il est plus simple et plus rapide que l'isolement sur culture cellulaire ; on peut déjà obtenir le résultat une heure après le prélèvement. Un autre avantage majeur de cette méthode réside dans le fait que, le prélèvement une fois étalé et fixé sur lame porte-objet, peut facilement être transporté d'une région éloignée jusqu'au

centre de lecture, contrairement au prélèvement pour culture qui exige d'être transporté dans des conditions spéciales.

Ces avantages ajoutés à son coût moindre par rapport à la culture, à sa sensibilité et à sa spécificité font qu'elle se prête mieux aux travaux de dépistage dans nos pays en développement.

L'examen direct par immunofluorescence est tributaire d'un prélèvement correctement effectué car il doit absolument contenir des cellules épithéliales provenant du site de l'infection. En effet, les corps élémentaires de Chlamydia trachomatis qui fixent l'anticorps monoclonal conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine se trouvent sur ou dans les cellules épithéliales. Aussi, la cytobrosse pour les prélèvements cervicaux nous paraît-elle mieux indiquée que l'écouvillon de dacron.

Un autre écueil dans la réalisation d'un bon frottis est l'excès de mucus que l'on retrouve au niveau du col chez certaines femmes. Il est donc important qu'avant le prélèvement chez la femme, on procède au nettoyage soigneux du canal endocervical à l'aide d'un tampon de gaze ou de coton.

Par ailleurs, lors de la coloration des lames, il faut veiller à ce que le réactif ne sèche pas car ceci entraîne des réactions faussement positives. On y pallie en laissant les lames incuber dans un humidificateur le temps prescrit pour la coloration.

De plus, pour la lecture, des critères morphologiques stricts sont indispensables à l'identification des corps élémentaires et permettent d'éviter des erreurs de lecture: les corps élémentaires sont de petites particules rondes d'environ 300 nanomètres de diamètre, à bord net et d'une fluorescence vert-pomme uniforme. On doit se méfier aussi des réactions non spécifiques dues à la fixation de l'anticorps à la protéine A de certains staphylocoques présents sur les frottis [56].

Un désavantage de l'examen direct est cependant la fréquence des résultats ininterprétables dus à l'absence de

cellules épithéliales sur le frottis. Pour certains auteurs comme MORIER et collaborateurs [55], cette situation est due non seulement à la mauvaise qualité du prélèvement mais aussi à la présence de certains facteurs cytotoxiques dans les prélèvements.

En total, la technique d'immunofluorescence directe se révèle être une possibilité fiable de recherche à l'isolement sur culture cellulaire de Chlamydia trachomatis. Sa bonne incorporation exige un bon prélèvement et une bonne technique de coloration.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

CONCLUSION

Notre étude a consisté en une utilisation de la technique d'immunofluorescence directe pour détecter Chlamydia trachomatis sur des frottis cervicaux et urétraux. Ces frottis pratiqués sur 120 individus l'ont été systématiquement dans 71 cas soit 59,17 % et sur indication d'une suspicion d'infection génitale dans 49 cas soit 40,83 %

A l'issue de cette étude nous avons abouti aux observations suivantes :

- le portage asymptomatique de Chlamydia trachomatis existe dans 22,53 % des cas dans notre série, avec un même risque de survenue pour les hommes que pour les femmes.

- Chlamydia trachomatis existe dans 32,65% des cas d'infections génitales manifestes.

- L'infection à Chlamydia trachomatis, comme toutes les maladies sexuellement transmissibles est une affection du sujet jeune ; les plus fortes fréquences de positivité du frottis sont retrouvées entre 20 et 25 ans chez les femmes et entre 25 et 30 ans chez les hommes.

- le nombre de partenaires sexuels constitue le seul facteur de risque significatif dans notre série ; et le risque d'une chlamydie uro-génitale augmente avec le nombre de partenaires sexuels.

Les autres facteurs de risque mentionnés dans la littérature n'ont pas pu être affirmés en raison de la petite taille de notre échantillon. Un travail de plus grande envergure pourra faire une étude exhaustive de ces facteurs de risque.

- l'immunofluorescence directe, technique relativement récente, simple, rapide et fiable est une possibilité de rechange à la culture cellulaire pour le diagnostic des infections à Chlamydia trachomatis dans les laboratoires modestes.

A la lumière de tout ce qui précède, et eu égard aux graves complications auxquelles les chlamydioses exposent les patients, il importe que cliniciens, biologistes et autres intervenants en matière de santé conjuguent leurs efforts pour mener à temps une lutte contre ces infections au Bénin.

SUGGESTIONS

Au terme de cette étude, nous voudrions formuler des suggestions pour la prévention des infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis au Bénin. Cette prévention comme celle de toutes les maladies sexuellement transmissibles passe surtout par l'information du public, le dépistage de l'infection et son traitement.

1. Au personnel de santé nous demanderions :

- d'informer largement le public par tous les moyens médiatiques :

* des risques d'infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis liés à l'activité sexuelle, surtout à la multiplicité des partenaires sexuels.

* des symptômes d'infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis et de la nécessité d'un traitement médical approprié.

* de l'importance et de la gravité des formes asymptomatiques de ces infections.

* des séquelles graves auxquelles ces infections non traitées ou mal traitées exposent les patients.

* du rôle bénéfique des préservatifs pour une prophylaxie individuelle des infections à Chlamydia trachomatis et des autres maladies sexuellement transmissibles.

Cette information pourra se faire, non seulement par voie de presse (radio, télévision, journaux) mais aussi dans les collèges, au cours des consultations médicales et à travers des séances de causeries organisées dans le cadre de l'éducation pour la santé.

- de rechercher activement et de traiter correctement tous les partenaires sexuels des sujets infectés afin de rompre la chaîne de contamination.

2- Aux autorités politico-administratives nous demanderions :

- d'offrir aux médecins et biologistes les moyens pour mettre en place et exécuter un programme national cohérent de dépistage des infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis.

Ce programme pour être réalisable devra s'appuyer sur les structures déjà existantes. Dans ce cadre, en attendant que les laboratoires périphériques soient dotés de microscope à immunofluorescence et de techniciens entraînés, l'U.D.E.C pourrait constituer la plate-forme technique pour ce travail.

- de créer et d'équiper des dispensaires pour le traitement des maladies sexuellement transmissibles en général.

- d'encourager les patients à venir se soigner dans ces centres en y offrant des soins de bonne qualité et à un moindre coût.

3- Aux biologistes nous demanderions d'entreprendre une étude cytologique approfondie des Chlamydiae afin de définir des critères morphologiques précis permettant d'affirmer la présence de ces micro-organismes sur des frottis ordinaires. Ceci aura l'avantage de réduire le coût du programme de dépistage et de donner aux laboratoires périphériques un moyen simple de diagnostic biologique de ces infections.

C'est à ce prix que l'on pourra espérer contrôler les infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis au Bénin.

ANNEXE

ANNEXE I : QuestionnaireI. Renseignements généraux

1. Numéro de fiche.....	
2. Age	
3. Sexe
4. Ethnie.....	
5. Niveau d'instruction.....	
6. Profession.....	
7. Lieu de résidence.....	
8. Situation matrimoniale..... M=marié (e) D=divorcé (e) C=célibataire V=veuf (ve) Z=non précisé	
9. Profession du ou de la partenaire du pa- tient	
10. Vivez-vous avec votre partenaire?..... D=Dui N=Non Z= Non précisé	
11. Age au début des activités sexuelles.....	
12. Combien de fois êtes vous remarié?.....	
13. Combien de partenaires sexuels (les) avez vous?.....	
14. Combien de coépouses avez-vous?.....	

II. Antécédents pathologiques

15. Notion de stérilité.....	
16. Antécédent de cervicite.....	
17. Antécédent de pelvi-péritonite.....	
18. Antécédent de grossesse extra-utérine....	
19. Antécédent de salpingite.....	
20. Antécédent d'urétrite.....	

- | | |
|---|----|
| 21. Antécédent d'orchi-épididymite..... | II |
| 22. Avez-vous déjà fait une infection urinaire traînante?..... | II |
| 23. Avez-vous déjà fait un frottis cervico-vaginal ou un examen bactériologique de prélèvement urétral? | II |
| 24. Si oui quels en sont les résultats?..... | II |

III. Données cliniques

- | | |
|---|-----|
| 25. Avez-vous un écoulement urétral ou des pertes vaginales (leucorrhées)?..... | II |
| 26. Si oui depuis quand? | II |
| 27. Avez-vous des brûlures mictionnelles?.... | II |
| 28. Avez-vous des brûlures vulvo-vaginales?.. | II |
| 29. Avez-vous fait une hématurie? | II |
| 30. Avez-vous une dyspareunie?..... | II |
| 31. Avez-vous des douleurs pelviennes?..... | II |
| 32. Examen au spéculum (exo-cervicite?) | |
| 33. Durée des symptômes..... | III |
| 34. Avez-vous reçu des antibiotiques?..... | II |

IV. Données biologiques

- | | |
|---|----|
| 35. Indication du frottis..... | II |
| 1= systématique | |
| 2= suspicion de chlamydie uro-génitale | |
| 9= non précisé | |
| 36. Résultat d'immunofluorescence directe.... | II |
| 1= positif 2= négatif 3= douteux | |

Deux choses importantes sont nécessaires pour lire la table :

- le degré de liberté : $k - 1$
- et le risque α

Lorsque le X^2 de la table est inférieur au X^2 observé, la différence est dite significative.

Lorsque le X^2 de la table est supérieur au X^2 observé, la différence n'est pas significative.

Conditions de validité :

Il faut que tous les effectifs calculés soient égaux ou supérieurs à 5.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- ADDISS (D.G), DAVIS (J.P), KATCHER (M.L)

Testing for Chlamydia trachomatis : objective criteria for recommendations for screening using nonculture techniques.
Wis Med.J. 1987, 86, (9), pp. 25-27

2- ALLERDING (J.T), JORDAN (W.S), BOARDMAN (E.R)

Association of human papillomavirus and Chlamydia infections with incidence of cervical neoplasia.
Acta Cytologica 1985, 29, (5), pp. 653-657

3- ANWARI (B.H), LEIMAN (G), MARKOWITZ (S)

Cytologically detected Chlamydia changes and progression of cervical intraepithelial neoplasia.
Acta Cytologica 1985, 29, (5), pp. 661-663

4- ARCHAMBAUD (M), CHABANON (G)

Diagnostic au laboratoire de pratique courante des infections uro-génitales à Chlamydia trachomatis.
Feuillets de Biologie 1983, 26, (147), pp. 41-45

5- AUBERTIN (J)

Actualités sur l'infection à Chlamydia.
Bond. Méd 1984, 17, (12), pp. A43-A46

6- AVOY (D.R)

New focus on screening for Chlamydia trachomatis in women.
Adv. therapy 1984, (1), pp. 207-214

7- BREMOND (A), [et al]

Stérilité et infection à Chlamydia. Etude des facteurs de risque.
J.Gynécol. Obstet. Biol. Reprod. 1986, 15, (2), pp. 137-139

- 8- BRENDA (J.T), EVAN (R.T), HAWKINS (D.A),
TAYLOR-ROBINSON (D)

Sensitivity of detecting Chlamydia trachomatis elementary bodies in smears by use of a fluorescein labelled monoclonal antibody : comparison with conventional chlamydial isolation.

J.Clin.Pathol. 1984, (37), pp. 812-816

- 9- BRUNHAM (R.C), MACLEAN (I.W), BINNS (B), PEELING (R.W)

Chlamydia trachomatis : its roll in tubal infertility.

J. Infect. Dis. 1985, 152, (6), pp. 1275-1282

- 10- CATALAN (F)

Les Chlamydiae : importance en pathologie humaine

Revue de l'Institut Pasteur de Lyon 1980, 13, (1), pp. 123-131

- 11- CATALAN (F)

Chlamydia et germes sexuellement transmis : description et diagnostic bactériologique.

Revue du Rhumatisme 1983, 50, (12), pp. 795-798

- 12- CATALAN (F)

Rôle du laboratoire dans le diagnostic des infections microbiennes uro-génitales.

Bull. Acad. Nat. Méd 1979, 163, (6), pp. 585-592

- 13- CATALAN (F)

Rôle du laboratoire dans les infections à Chlamydiae.

L.M.M. Méd. du Sud-Est 1981, 17, (18), pp. 5134-5139

- 14- CATALAN (F)

Apport des méthodes récentes au diagnostic des Chlamydiae.

Annales de Biologie Clinique 1985, 43, (2), pp. 157-161

15- CATALAN (F), BEN KHEDIJA (F), SEDNAOUI (P), [et al]

Infections à Chlamydiae et mycoplasmes et cystites inexplicées.
Contraception - Fertilité - Sexualité 1985, supp. 13, (1), pp. 305-311

16- CATALAN (F), EDLINGER (E), SIBOULET (A), [et al]

Adaptation à la pratique médicale courante et à l'épidémiologie des nouvelles méthodes d'isolement des Chlamydiae.
Ann. microbiol. (Institut Pasteur) 1978, 129A, pp. 329-339

17- CATALAN (F), KHOURY (B), QUIZMAN (E), [et al]

Critique des méthodes d'investigations in vitro sur l'activité des antibiotiques vis à vis de Chlamydia trachomatis.
Médecine et Maladies Infectieuses 1983, 13, (numéro hors série), pp. 724-726

18- CATALAN (F), KHOURY (B), QUIZMAN (E), [et al]

Nouvelles méthodes de diagnostic des infections à Chlamydia.
Rev.Fr. Gynécol. Obst. 1984, 79, (10), pp. 617-623

19- CHO-CHOU (K), CHI (E.Y)

Ultrastructural study of Chlamydia trachomatis surface antigens by immunogold staining with monoclonal antibodies.
Infect Immun. 1987, 5, (5), pp. 1324-1328.

20- COUDRON (P.E), FEDORKO (D.P), DAWSON (M.S), [et al]

Detection of Chlamydia trachomatis in genital specimens test.
Ann. J. Clin Pathol. 1986, 85, (1), pp. 89-91

21- DE MICCO (PH), RAOULT (D.)

Orientation diagnostique devant une maladie sexuellement transmise.
Méditerranée Médicale 1983, (295), pp. 43-47

22- DIQUELOU (J.Y), PIA (P), TESQUIER (L), [et al]

Cultures positives pour Chlamydia trachomatis chez les femmes ayant une grossesse extra-utérine.
Presse Médicale 1987, 16, (1), p 32

23- DIQUELOU (J. Y), PIA (P), TESQUIER (L), [et al]

La place de Chlamydia trachomatis dans l'étiologie infectieuse des grossesses extra-utérines.
J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. 1988, 17, pp 325 - 332

24- DUTILH (B), BEBEAR (C)

Chlamydia trachomatis : recherche par test direct et par culture dans 100 prélèvements génitaux.
Ann. Biol. Clin. 1985, 43, pp. 275-278

25- EL MDAGHRI (N), BENBACHI (M), CHAKIB (A)

Prévalence de Chlamydia trachomatis dans les urétrites masculines à Casablanca.
Presse Médicale 1986, 15, (25), pp. 1203-1204

26- GRABBER (C.D), WILLIAMSON (O), PIKE (J), VALICENTI (J)

Detection of Chlamydia trachomatis infection in endocervical specimen using direct immunofluorescence.
Obstet. Gynecol. 1985, 60, (5), p. 727

27- HACKSTADT (T)

Identification and properties of chlamydial polypeptides that bind eucaryotic cell surface components.
J. Bact. 1986, 165, (1), pp. 13-20

28- HALBERSTAEDTER (H), VON PROWAZEK

Über Zilleinschlüsse Parasitärer Natur beim Trachom.
Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Samke 1907, 26, p. 44

29- HENRION (R).

Maladies sexuellement transmissibles et stérilités.
Médecine et Maladies Infectieuses 1983, 13, (n°spécial
hors série), pp. 621-626

30- HENRION (R)

Réflexion sur la prévention des infections à Chlamydia
trachomatis chez la femme.
Rev. Fr. Gynécol.Obst. 1984, 79, (10), pp. 603-607.

31- HENRY-SUCHET (J)

Conséquences des maladies sexuelles transmissibles chez
les femmes: les salpingites.
Revue Française de Gynécologie et d'Obstétrique 1984, 79,
(10), pp. 625-633

32- HOLMES (K.K)

The Chlamydia epidemic.
JAMA 1981, (245), pp. 1718 -1721

33- HONG TJIAM (K), VAN HEIJST (Y.B), VAN ZUUREN (A),
[et al]

Evaluation of an Enzyme Immunoassay for the diagnosis of
chlamydial infections in urogenital specimens.
Journal of Clinical Microbiology 1986, 23, (4),
pp. 752-754

34- GOLDENRING (J).

Long term vaginal carriage of Chlamydia ?
Lancet 1987, 1, (8535), P. 804.

35- GRAYSTON (J.T), KUO (C.C), WANG (S.P), ALTMAN (J)

A new Chlamydia psittaci strain, TWAR isolated in acute
respiratory tract infections.
N.Engl.J.Med. 1986, 315, pp.161-168

36- GROUPE SCIENTIFIQUE DE L'OMS

Urétrites non gonococciques et autres maladies à transmission sexuelle choisies pour leur importance sanitaire.

OMS, série de rapports techniques 1981, 660

37- JACZEK (K.H)

Genital Chlamydia trachomatis : detection, treatment and patient education.

Can.Fam.Physician 1985, (31), pp. 1861-1865

38- JENUM (P.A)

Antibodies against Chlamydia measured by an ELISA method.

Acta. Path. Microbiol Immunol. Scand. 1985, (93), pp. 175-182.

39- JONES (M.F), SMITH (F.T), HOUGLUM (J.A), HERMANN (J.E)

Detection of Chlamydia trachomatis in genital specimens by Chlamydiazyme test.

J. Clin. Microbiol. 1984, 20, (3), pp. 465-467

40- KIVIAT (B.N), PAAVONEN (J.A), BROCKWAY (J), [et al]

Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections.

I. Epithelial and inflammatory cellular changes.
JAMA. 1985, 253, (7), pp. 989-996.

41- KIVIAT (B.N), PETERSON (M), KINNEY-THOMAS (E), [et al]

Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections.

II. Confirmation of Chlamydia trachomatis infection by direct immunofluorescence using monoclonal antibodies.
JAMA. 1985, 253, (7), pp. 997-1000.

42- KIVIAT (N.B), PETERSON (M), WOELNER-HANSSSEN (P), [et al]

Localization of Chlamydia trachomatis infection by direct immunofluorescence and culture in pelvic inflammatory disease.

AM. J.Obstet Gynecol.1986, 154, (4), pp. 865-873

43- LADANY (S), SAROV (I)

Recent advances in Chlamydia trachomatis?
Eur. J. Epidemiol. 1985, 1, (4),
pp. 235-256.

44- LARSEN (J.H), WULF (H.C), FRIIS-MOELLER (A)

Comparison of a fluorescent monoclonal antibody assay and
a tissue culture assay for routine detection of infections
caused by Chlamydia trachomatis.
Eur. J. Clin Microbiol. 1986, 5, (5), pp. 554-558

45- LEMA (F), ROUGEOT (C), FUENTES (V), [et al]

ELISA for detection of human antibodies to Chlamydiae.
Journal of Immunological Methods 1986, (94), pp. 153-159

46- LEVITT (D), BAROL (J)

The immunobiology of Chlamydia.
Immunol Today 1987, 8, (7-8), pp. 246-251

47- LEVY (A.R), WARFOR (A)

Evaluation of the modified Chlamydiazyme Immunoassay for
the detection of Chlamydial antigen.
A.J.C.P. 1986, (3), pp. 330-335

48- LINDNER (L.E), GEERLINE (S), NETTUM (J.A), [et al]

Identification of Chlamydia in cervical smears by
immunofluorescence technic : sensivity and specificity.
Am.J.Clin Pathol. 1986, 85, (2), pp. 180-185

49- LOUCKS (A)

Chlamydia : an unheralded epidemic.
Am. J.Nurs. 1987, 87 (7), pp. 920-922

50- LUTHER (E.L), SONJA (G) NETTUM (J.A), [et al]

The cytologic features of Chlamydial infections.
ACTA Cytologica 1985, 29, (5), pp. 676-681

51- MABEY (D.C), WHITE (H.C)

Genital and neonatal infection in a trachoma endemic area.
Lancet 1982, ii, pp.300-301

52- MANIRE (G.P), WYRICK (P.B), BRANDE (A.J), DAVIS (C.E)

The Chlamydiae.
Infections Diseases and Medical Microbiology 1986,
pp. 449-455

53- MILTON (R.T), WALTER (E.S), HUNTER (H), [et al]

Culture-independent diagnosis of Chlamydia trachomatis
using monoclonal antibodies.
New Engl. J. Med. 1984, (310),
pp. 1146-1150.

54- MONCADA (J.V), SCHACHTER (J), WOFSY (C)

Prevalence of Chlamydia trachomatis lung infection in
patients with acquired immune deficiency syndrome.
J. Clin. Microbiol. 1986, 23, (5), p. 986

55- MUNDAY (J.E) THOMAS (B.J), TAYLOR-ROBINSON (D)

The Micro-Track test for rapid detection of Chlamydiae in
diagnosing and managing women with abdominal pains.
Genitourin Med. 1986, 62, (1), pp. 15-16

56- MORIER (P), FRENK (E), WALZER (C)

Détection à l'examen direct par anticorps monoclonaux
fluorescents de Chlamydia trachomatis dans les infections
des voies génito-urinaires basses.
Ann. Dermatol. Vénérol. 1986, 113, (9),
pp. 799-803

57- NORMAND (P)

La prévention des maladies sexuellement transmissibles.
Médecine d'Afrique Noire 1987, 34, (3), pp. 191-199

58- ORFILA (J)

Généralités sur les Chlamydiae. Applications clinique, diagnostique et thérapeutique.
Médecine et Maladies Infectieuses 1985, 15, (9 bis), pp. 464-472

59- ORFILA (J)

Chlamydia trachomatis : agent of trachoma.
Arch. Inst. Pasteur (Tunis). 1986, 63, (1), pp. 169-174

60- ORFILA (J)

Le diagnostic biologique des infections à Chlamydia.
Rev. Fr. Gynecol. Obst. 1984, 74, (10), pp. 609-615

61- ORIEL (J.D)

The carrier state : Chlamydia trachomatis.
J. Antimicrob. Chemother. 1986, 18, (suppl A), pp. 67-71

62- PAISLEY (J.W), LAUER (B.A), MELINKOVICH (P), [et al]

Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis pneumonia in infants by direct immunofluorescence microscopy of naso pharyngeal secretions.
Clin. Lab. Obser. 1986, 109, (4), pp. 653-655

63- PHILLIPS (R.S), HANFF (P.A), KAUFFMAN (R.S), ARONSON (M.D)

Use of a direct fluorescent antibody test for detecting Chlamydia trachomatis cervical infection in women seeking routine gynecologic care.
J. Infect. Dis. 1987, 156, (4), pp. 575-581

64- RIDGWAY (G.L)

Chlamydial infections in man.
Post graduate Medical Journal 1986, (62), pp. 249-253

65- ROGER (A), AUBERT (C), GRIMBERT (D), ROGER (F)

Infection respiratoire à Chlamydia TWAR au cours d'une infection à cytomégalovirus.

Presse Médicale 1988, 17, (33), pp. 1699-1702

66- ROMPALO (AM), SUCHLAND (R.J), PRICE (C.B), STAMM (W.E)

Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis rectal infection by direct immunofluorescence staining.

J. Infect. Dis. 1987, 155, (5), pp. 1075-1076

67- ROSA (J.B), CARMONA (O), MACHADO (H), ESPARZA (J)

Chlamydial infection in Papanicolaou stained cervical smears.

Acta Cytologica 1984, 28, (4), pp. 472-475

68- ROUHAN (D), LENOC (P)

Détection de Chlamydia trachomatis dans divers produits pathologiques. Comparaison entre I.F directe, Chlamydiazyme et cultures cellulaires.

Ann. Biol. Clin. 1987, 45, (2), pp. 160-164

69- ROUSSEAU (S), ROUSSELLIER (P)

Diagnostic Biologique des infections à Chlamydia.

Méditerranée Médicale 1985, (336), pp. 13-19

70- SAWICKI (L)

Laboratory methods for the Chlamydia.

Lab. Management 1980, (18), pp. 42-47

71- SCIEUX (C), COLIMON (R), BIANCHI (A), [et al]

Intérêt diagnostique de la recherche des anticorps antichlamydiens au cours des salpingites : 379 observations.

Presse Médicale 1987, 16, (15), pp. 715-718

72- SCHACHTER (J)

Immunodiagnosis of Sexually Transmitted Disease.
Yale J. Biol. Med. 1985, 58,
pp. 443-452

73- SCHACHTER (J), GROSSMAN (M)

Chlamydial infections.
Ann. Rev Med. 1981, (32), pp. 45-61

74- SIBOULET (A) et collab.

Infections dues à Chlamydia trachomatis "in" Abrégés
Maladies sexuellement transmissibles.
Masson Ed, (Paris) 1984, pp. 107-131

75- SIBOULET (A), BOHBOT (J.M), SIBOULET (A), CATALAN (F)

Manifestations uro-génitales à Chlamydia trachomatis.
L.M.M. Médecine du Sud-Est 1981, 17, (18), pp. 148-150

76- SIBOULET (A), BOHBOT (J.M), [et al]

Les infections uréthro-génitales à Chlamydia trachomatis.
Bulletins et Mémoires de la Société de Médecine de Paris
1982, (4), pp. 103-113

77- SONJA (G), NEETTUM (J.A), LINDNER (L.E), [et al]

Sensitivity and specificity of the Papanicolaou. Stained
cervical smear in the diagnosis of Chlamydia trachomatis
infection.
Acta Cytologica 1985, 25, (5), pp. 671-675

78- TAM (MR), STAMM (WE), HANDSFIELD (H.M), [et al]

Culture independent diagnosis of Chlamydia trachomatis
using monoclonal antibodies.
N. Engl J. Med. 1984, (310), pp. 1146-1150

79- TAYLOR-ROBINSON (D), BRENDA (J.T), OSBORN (M.F)

Evaluation of enzyme immunoassay (chlamydiazyme) for detecting *Chlamydia trachomatis* in genital tract specimens.

J. Clin Pathol. 1987, (40), pp. 194-199

80- THOMPSON (S.E), WASHINGTON (A.E)

Epidemiology of sexually transmitted *Chlamydia trachomatis* infection.

Epidemiol. Rev. 1983, (5), pp. 96-123

81- UYEDA (C.T), WELBORN (P), ELLISON-BIRANG, [et al]

Détection rapide des infections à *Chlamydiae* au moyen du test Direct Microtrak.

J. clin. Microbiol. 1984, 20, (5), pp. 948-950

82- WHO WORKING GROUP

Extra-ocular *Chlamydia* infection.

WHO Bull. 1981, 64, (4), pp. 481-492

83- YOSHIO (S)

Cytomorphologic and immunocytochemical studies of *Chlamydial* infections in cervical smears.

Acta Cytologica 1985, 29, (5), pp. 676-681

84- ZORN (B), CHITRIT (Y), GIACOMINI (T), [et al]

Mise en évidence de *Chlamydia trachomatis* au niveau de l'endomètre.

Presse Médicale 1987, 16, (32), p. 1702

S E R M E N T

Devant le peuple Béninois,

En présence des Maîtres de cette Faculté et de mes

Condisciples,

Je promets et je jure d'être fidèle dans l'exercice de ma profession,

- aux intérêts du Peuple Béninois et de sa Révolution
- aux principes fondamentaux de la Médecine Universelle
- aux lois de l'honneur et de la probité.

Je rendrai aux générations futures l'instruction que j'ai reçue en m'acquittant dignement et honnêtement de mes fonctions dans le but de:

- promouvoir, améliorer et renforcer l'état de santé du Peuple,
- aider la communauté à prendre en charge elle-même sa santé
- contribuer aux progrès de la Pratique Médicale et de la Science.

Que le Peuple m'accorde son estime si je reste fidèle à mes promesses.

Qu'il me méprise et me rejette si j'y manque.