



DCEM1

MODULE INFECTIEUX BACTÉRIOLOGIE PARASITOLOGIE VIROLOGIE

TOME 2

Enseignants ayant participé à l'élaboration du module d'enseignement

Microbiologie - Virologie

Pr. Hinda Triki, Pr. Ilhem Boutiba, Pr. Olfa Bahri, Pr. Wafa Achour, Pr. Hanene Smaoui,
Pr. Ag. Lamia Thabet, Pr. Ag. Asma Ferjani, Pr. Ag. Habiba Naija, AHU Manel Hamdoun,
AHU Héla Hannachi, AHU Lamia Kanzari, AHU Yosra Chebbi

Parasitologie - Mycologie

Pr Aida Bouratbine, Pr Karim Aoun, Pr Kalthoum Kallel , Pr Emna Siala , Pr Sonia Trabelsi,
Pr Rym Ben Abdallah , Pr Ag Meriam Bouchekoua , Pr Ag Aicha Kallel , Pr Ag Dorsaf Aloui,
Pr Ag Sarra Cheikhrouhou, Pr Ag Latifa Mtibaa, Dr Kalthoum Dridi

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2024-2025

PLAN

MICROBIOLOGIE MÉDICALE

Rôle du laboratoire dans le diagnostic d'une infection bactérienne	Bactériologie	3
Les coques à Gram positif <i>(staphylococcus, streptococcus, enterococcus)</i>	Bactériologie	13
Les antibiotiques	Bactériologie	30
Infections hospitalières ou nosocomiales : Germes hospitaliers	Bactériologie	42
Germes responsables de méningites purulentes	Bactériologie	49
Bactéries anaérobies strictes	Bactériologie	57
Brucella	Bactériologie	64
Rickettsia. Coxiella Burnetti	Bactériologie	70
Diarrhées aigues infectieuses d'origine bactérienne et virale:		
Agents étiologiques, pathogénie et diagnostic au laboratoire	Bactériologie	81
Virus de la grippe	Virologie	90
Les virus de l'immunodéficience humaine (VIH)	Virologie	98
Herpetoviridae – Infections à herpes virus	Virologie	110
Le virus de la rage	Virologie	122

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MÉDICALES

Entomologie médicale	Parasitologie	129
Le paludisme	Parasitologie	135
Les leishmanioses	Parasitologie	142
Les nématodes	Parasitologie	147
Les cestodes	Parasitologie	160
L'hydatidose	Parasitologie	165
Les trématodes	Parasitologie	171
L'amoebose	Parasitologie	180
La giardiose	Parasitologie	185
La trichomonose uro-génitale	Parasitologie	188
Les candidoses	Mycologie	190
Les malassezioses	Mycologie	194
Les dermatophyties	Mycologie	196
Les aspergilloses	Parasitologie, Mycologie	201
La toxoplasmose	Parasitologie	205
Les parasitoses et mycoses opportunistes	Parasitologie	213
Les mycoses opportunistes	Mycologie	216

RÔLE DU LABORATOIRE DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION BACTÉRIENNE

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage l'étudiant devra être capable de:

- 1- Préciser les principales flores bactériennes commensales de l'Homme.
- 2- Préciser les différentes méthodes du diagnostic bactériologique direct et leurs intérêts.
- 3- Indiquer l'intérêt et les limites de la sérologie bactérienne.
- 4- Préciser les conditions pré-analytiques à respecter afin de garantir la qualité du résultat des principaux examens bactériologiques (hémocultures et examen cytobactériologique des urines).
- 5- Interpréter le résultat des examens bactériologiques (hémocultures et examen cytobactériologique des urines) en fonction des données clinico-biologiques.

Pre-requis

- 1- Cours : cellule bactérienne, croissance et nutrition bactérienne, facteurs de pathogénicité (PCEM1)

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses représentent la première cause de mortalité dans le monde (17 millions/an). Elles se définissent comme étant un état pathologique transmissible induit par un agent infectieux (champignons, parasites, bactéries, virus). Les examens de microbiologie médicale s'inscrivent dans un but diagnostique, pronostique, thérapeutique, préventif ou épidémiologique.

Le médecin praticien contribue considérablement à la fiabilité des résultats de ces examens par l'adéquation de sa prescription, la qualité du prélèvement, de son conditionnement et de son transport.

Un prélèvement à visée diagnostique n'est utile que si le résultat de l'analyse influe sur l'attitude thérapeutique.

1- GÉNÉRALITÉS

Les bactéries d'intérêt médical ne représentent qu'une infime partie du monde microbien estimé à plusieurs milliers d'espèces bactériennes. Dès sa naissance, l'Homme est donc placé dans un environnement microbien considérable et va très rapidement établir différents types de relations selon la nature des bactéries :

A. SAPROPHYTISME : dans ce type de relation, bactérie et Homme ont un comportement strictement indépendant l'un de l'autre. Les bactéries saprophytes se développent dans la nature, aux dépens des végétaux et des produits animaux. Elles peuvent occasionnellement transiter par la surface de la peau et des muqueuses.

B. COMMENSALISME : Les bactéries commensales ne peuvent vivre qu'au contact ou à proximité immédiate des cellules animales et humaines dont elles sont étroitement tributaires. Elles n'induisent pas de manifestations pathologiques chez l'hôte.

Les flores commensales bactériennes de l'Homme constituent un ensemble de communautés bactériennes groupant différents genres et espèces stables, variant peu d'un individu à l'autre et se situant sur la peau et sur une grande partie des muqueuses des sujets sains.

Quatre flores principales peuvent être décrites :

- La flore cutanée : essentiellement formée de cocci à Gram positif (staphylocoques à coagulase négative, Micrococcus) et de bacilles à Gram positif (Corynébactéries, Propionibacterium)

- La flore naso-pharyngienne : rassemble les streptocoques (dont *Streptococcus pneumoniae*), *Moraxella*, *Haemophilus* et les staphylocoques (dont *Staphylococcus aureus*).
- La flore digestive : comporte essentiellement des bactéries anaérobies (*Bacteroides*, *Bifidobactrium*, *Clostridium*), et dans une moindre proportion, des entérobactéries, des entérocoques et des streptocoques.
- La flore génitale chez la femme en âge de procréation, principalement formée de lactobacilles (bacille à Gram positif) et appelée également flore de Doderlein.

C. PATHOGÉNICITÉ : peut être définie comme la capacité d'une bactérie à provoquer une maladie chez l'hôte. On distingue :

- Les bactéries pathogènes spécifiques : Ces bactéries entraînent une maladie cliniquement définie et physiologiquement spécifique (scarlatine, fièvre typhoïde, tuberculose, choléra etc.) où les facteurs bactériens de pathogénicité jouent un rôle essentiel. Dans la majorité des cas, ces bactéries sont pathogènes facultatives car elles peuvent exister dans la nature ou chez les porteurs sains. Quant aux bactéries pathogènes obligatoires, elles sont incapables de se multiplier hors d'un foyer infectieux (blennorragie, chancre mou, syphilis, tuberculose, brucellose, lèpre). Leur présence dans un produit pathologique signe la maladie.
- Les bactéries pathogènes opportunistes : Il s'agit de bactéries dont la présence dans un organisme ne provoque habituellement pas une maladie. Ce type de bactérie fait généralement partie des flores commensales de l'individu concerné ou des flores saprophytes en transit. Elles ne peuvent exprimer un réel pouvoir pathogène que par déficience de l'hôte ou par modification importante de leur environnement.

2. PRINCIPES DE L'EXAMEN BACTERIOLOGIQUE :

Comme tous les examens de biologie médicale, les examens bactériologiques se déroulent en trois phases :

- La phase pré-analytique : Comprend la prescription médicale de l'examen bactériologique, le prélèvement d'un échantillon avec recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, la conservation de l'échantillon jusqu'à son transport au laboratoire.
- La phase analytique : Le processus technique permettant l'obtention du résultat d'analyse bactériologique
- La phase post-analytique : Comprend la validation et l'interprétation contextuelle des résultats ainsi que leur communication au prescripteur dans un délai approprié.

Le biologiste est responsable de l'ensemble des trois phases de l'examen. Cependant, le clinicien est le garant de la qualité de la phase pré-analytique, qui précède l'évaluation proprement dite de l'échantillon au laboratoire.

La prescription d'un examen bactériologique est un acte de réflexion qui répond à un objectif diagnostique, pronostique, thérapeutique ou préventif. Elle est guidée par la symptomatologie, l'examen clinique et la consultation éventuelle des autres examens biologiques déjà pratiqués.

L'examen bactériologique demandé doit être explicitement écrit sur l'ordonnance de prescription, ainsi que la nature de l'échantillon biologique, son origine anatomique et son mode de recueil (urine sur sonde par exemple). L'ordonnance doit comprendre également le nom et la qualité du prescripteur, l'identité complète du malade, son âge, le but recherché de l'analyse (recherche de bactéries spécifiques telles que les mycobactéries par exemple) et les renseignements cliniques pertinents et utiles à la validation du résultat (grossesse, affections associées, prise d'antibiotiques, notion de contagé, contact avec les animaux, séjour en zone d'endémie, état d'immunodépression, etc.)

Le prélèvement est un acte clé de la phase pré-analytique. Le site est choisi en fonction de la symptomatologie clinique et de la bactérie suspectée ; le prélèvement peut donc être effectué dans les organes cibles (liquide cérebrospinal, abcès profonds, tissu osseux, épanchement, etc.) ou dans le sang au cours d'une infection systémique. Le prélèvement à visée diagnostique doit être réalisé le plus tôt possible, et à chaque fois que c'est possible, avant toute antibiothérapie. Les échantillons sont recueillis dans des récipients stériles, à usage unique et étanches. Le transport des prélèvements doit être rapide avec protection des bactéries fragiles (à chaud) si elles sont suspectées.

Pour une prise en charge correcte des échantillons, le clinicien doit se référer au guide technique du laboratoire. Une collaboration étroite entre cliniciens et microbiologistes est décisive.

3. DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE DE L'INFECTION BACTERIENNE :

Ce diagnostic peut être direct ou indirect.

- **Le diagnostic direct** : consiste à isoler la bactérie ou, à défaut, détecter un de ses constituants (protéines, antigènes, acides nucléiques, etc.).

- **Le diagnostic indirect** : vise à mettre en évidence chez le patient divers anticorps caractéristiques de l'infection (séro-diagnostic ou diagnostic sérologique). Ces anticorps n'apparaissent pas immédiatement mais après une certaine durée d'évolution de la maladie et persistent souvent longtemps après la guérison.

La recherche d'une hypersensibilité de type retardée (immunité cellulaire) rentre également dans le cadre du diagnostic indirect (exp : intradermo réaction à la tuberculine).

2.1. DIAGNOSTIC DIRECT :

2.1.1. BACTÉRIOLOGIE CLASSIQUE :

La bactériologie classique a pour but d'isoler la bactérie responsable de la maladie. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un examen cytobactériologique d'un liquide biologique (urines, crachats, liquide de ponction, etc.). D'autres analyses sont également possibles tels que l'examen bactériologique des selles ou d'une biopsie.

a. Examen macroscopique :

Première étape de l'analyse au laboratoire, il permet de noter une modification de l'aspect ou de l'odeur du prélèvement orientant déjà le diagnostic. Un aspect trouble voire purulent est en faveur d'une étiologie bactérienne.

b. Examen microscopique :

Il peut se faire à l'état frais ou après coloration.

b.1. Examen à l'état frais :

Une goutte du produit pathologique placée entre lame et lamelle est examinée au microscope. Cet examen a deux objectifs essentiels :

- Rechercher une réaction inflammatoire par la détection quantitative ou semi quantitative des leucocytes selon la nature du prélèvement
- Observer la morphologie des bactéries si elles existent ainsi que leur éventuelle mobilité

b.2. Examen après coloration :

Deux types de colorations sont réalisés en routine

- Coloration au bleu de méthylène : permet d'étudier la morphologie des bactéries et de préciser la formule leucocytaire (pourcentages de lymphocytes et de polynucléaires neutrophiles)

- Coloration de Gram : permet de préciser la morphologie des bactéries (bacilles ou cocci), leur affinité tinctoriale (Gram positif, Gram négatif) et leur mode de regroupement (en chainettes ou en diplocoques en grain de café par exemple)

D'autres colorations peuvent être réalisées sur demande spécifique du clinicien pour les bactéries non colorables par la méthode de Gram (coloration de Ziehl-Neelsen pour les mycobactéries).

Si le prélèvement a été réalisé dans un contexte d'urgence, les résultats préliminaires de l'examen macroscopique et microscopique doivent être rapidement transmis au clinicien.

c. Mise en culture :

La culture permet de confirmer l'étiologie bactérienne. Elle se fait sur des milieux de culture appropriés dont le choix est orienté par les renseignements cliniques (exemple : suspicion de brucellose), le type du prélèvement et des bactéries suspectées (milieux enrichis pour culture du liquide cérébrospinal (LCS), milieux sélectifs pour les selles) et les données de l'examen microscopique. Les milieux de culture sont généralement incubés à 37°C dans différentes conditions atmosphériques en fonction des exigences de la (des) bactérie(s) suspectée(s) ; Pour les germes banals, l'incubation est de 24 à 48heures. Une durée plus longue ou des conditions spécifiques d'incubation sont nécessaires pour certaines bactéries dont la recherche se fait sur demande spécifique (exp : mycobactéries ou Brucella).

L'interprétation de la culture peut être :

- Qualitative : résultat positif quel que soit le nombre des bactéries isolées (site physiologiquement stérile et recueilli stérilement, exemple : LCS)
- Quantitative : permettant la numération bactérienne dans un échantillon dont le recueil est associé à un risque de contamination, exemple : urines, prélèvements respiratoires). Dans ce cas, la ou les bactéries isolées ne seront incriminées que si leur nombre dépasse un seuil de significativité.

d. Interprétation des résultats et identification bactérienne :

L'interprétation est réalisée en fonction des résultats des examens macroscopique, microscopique et de la culture ainsi que

les renseignements cliniques fournis par le clinicien. Si la ou les bactérie(s) isolée(s) est (sont) considérée(s) responsable(s) de l'infection, une identification complète est réalisée.

e. Antibiogramme

Il permet la détermination de la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques. Il permet ainsi l'adaptation du traitement antibiotique prescrit en première intention.

2.1.2. RECHERCHE D'ANTIGÈNES SOLUBLES

Les antigènes solubles sont des antigènes spécifiques d'une espèce bactérienne qui sont libérés dans les liquides biologiques où ils peuvent persister. Leur détection est réalisée par plusieurs techniques (agglutination de particules de latex, immuno-chromatographie,etc.) qui offrent certains avantages : simplicité, rapidité (3 minutes à 1 heure), précocité (dès le début des signes), même après un traitement antibiotique adapté (infections décapitées).

Cependant, leur sensibilité et leur spécificité sont variables, dépendant du type de la technique et de la qualité des immuns sérums employés.

Exemples :

- Recherche des antigènes de *Streptococcus pneumoniae* dans le LCS pour le diagnostic des méningites bactériennes
- Recherche des antigènes solubles urinaires de *Legionella pneumophila* sérotype 1 ou de *Streptococcus pneumoniae*
- Recherche du streptocoque du groupe A sur prélèvement de gorge

2.1.3. MÉTHODES MOLÉCULAIRES

La bactériologie classique peut être prise en défaut dans certains cas :

- Culture impossible de la bactérie en cause (traitement antibiotique préalable, certaines bactéries telle que *Treponema pallidum*)
- Culture trop complexe : *Chlamydia trachomatis*
- Culture trop lente : *Mycobacterium tuberculosis*

Les méthodes moléculaires peuvent donc être indiquées dans ces cas. Il s'agit essentiellement d'une amplification génique par PCR (polymerase chain reaction) de séquences spécifiques d'ADN bactériens. Différents types de PCR peuvent être utilisés

Exemples :

- Approche syndromique : recherche de plusieurs germes par PCR multiplexe
- Détection d'agent étiologique spécifique le plus fréquemment incriminé dans l'infection : le méningocoque peut être détecté par PCR dans le sang ou LCS en cas de méningococcémie ou détection de *Chlamydia trachomatis* dans les prélèvements génitaux

2.2. DIAGNOSTIC INDIRECT

2.2.1. PRINCIPE :

Le diagnostic sérologique se fait par la recherche des anticorps antimicrobiens dans le sang. En effet, l'organisme hôte réagit vis-à-vis d'un antigène étranger par une réponse immune spécifique qui rend possible ce diagnostic indirect. La sérologie a plusieurs indications :

- Mise en évidence de l'agent causal techniquement difficile par les méthodes traditionnelles (*Treponema Pallidum* par exemple)
- Infection traitée ou guérie (diagnostic rétrospectif)
- Vérification du statut immunitaire (efficacité vaccinale)
- Enquêtes séro-épidémiologiques afin d'apprecier l'état d'immunité ou la diffusion d'une infection dans une population.
- Prélèvement tardif par rapport aux signes cliniques.

2.2.2. INTERPRÉTATION D'UN SÉRODIAGNOSTIC

L'interprétation des résultats sérologiques nécessite souvent une confrontation clinico-biologique. Ceci est lié aux problèmes de réactions croisées (production d'anticorps dirigés contre des antigènes similaires aux antigènes portés par la bactérie concernée), à la cinétique et au délai d'apparition des anticorps et la possibilité de leur persistance au long cours. Les anticorps bactériens apparaissent généralement après un délai variable de 8 à 10 jours et sont détectables entre 15 et

21 jours selon les techniques.

Pour donner plus de fiabilité aux résultats sérologiques, il est préférable de faire deux titrages d'anticorps à 15-21 jours d'intervalle. Les éléments en faveur d'une infection en évolution sont :

- Une séroconversion objectivée par l'apparition d'anticorps spécifiques : premier serum négatif et deuxième serum positif
- Elévation significative du titre d'anticorps dans le 2ème serum (selon la technique utilisée)

Dans certains cas, une recherche positive des anticorps de type IgM est le plus souvent en faveur d'une primo-infection.

2.2.3. PRINCIPALES SÉROLOGIES BACTÉRIENNES

- Bactéries responsables d'infections pulmonaires : Legionella pneumophila, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae
- Bactéries responsables d'infections génitales : Treponema pallidum
- Bactéries responsables de maladies disséminées difficiles à cultiver : brucellose, borrélioses (maladie de Lyme), rickettioses, fièvre Q, leptospirose, bartonellose, tularémie.

3. DIAGNOSTIC DES BACTERIEMIES :

Le sang est physiologiquement stérile. Les bactériémies correspondent au passage momentané de bactéries dans la circulation sanguine. Issu d'un foyer infectieux appréciable ou non, ce passage peut engendrer des signes généraux graves dus aux embolies microbiennes, aux toxines bactériennes et aux effets nocifs de la dégradation cellulaire. **L'hémoculture** (définie par la mise en culture microbiologique du sang) permet de déceler la présence de bactéries dans le sang du patient.

3.1. INDICATIONS :

Toute fièvre d'origine indéterminée, notamment accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection, doit faire pratiquer des hémocultures. La réalisation des hémocultures est indiquée également dans le diagnostic étiologique d'une endocardite infectieuse ou en cas d'un foyer infectieux indéterminé.

3.2. PRELEVEMENT :

3.2.1. CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT :

Du fait du passage intermittent de bactéries dans le sang, il est donc nécessaire :

- de prélever lors des épisodes bactériémiques : fièvre >38,5°C, frissons, hypothermie <36,5°C
- d'effectuer les prélèvements au début de la maladie (c'est à ce stade que l'on a le plus de chance d'avoir des hémocultures positives)
- Si possible, prélever avant tout traitement antibiotique

3.2.2. TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENTS :

Le prélèvement sanguin est une étape **primordiale** du diagnostic des bactériémies. La ponction veineuse directe au niveau du pli du coude est la méthode privilégiée. Les autres sites de prélèvement, notamment à travers un dispositif intra-vasculaire augmentent considérablement la fréquence des contaminants et sont donc déconseillés.

Afin de garantir un bon rendement de l'examen et de réduire au maximum le risque de contamination, plusieurs conditions doivent être respectées :

- Porte de la chambre fermée
- Port d'un masque de type chirurgical
- Lavage ou désinfection hydro-alcoolique des mains du préleur
- Port de gants non stériles
- Désinfection rigoureuse de l'opercule des flacons d'hémoculture et du point de ponction avec un produit approprié (privilégier les produits iodés et respecter le temps de contact : 1 à 2min)
 - Ne plus palper la veine après désinfection++
 - Prélever le sang en commençant par le flacon aérobie puis anaérobiose tout en contrôlant visuellement le bon remplissage (chaque hémoculture doit obligatoirement inclure un flacon aérobie et un flacon anaérobiose)
 - Identification correcte de l'ensemble des flacons

La quantité de sang totale mise en culture est le paramètre le plus influent sur la sensibilité de la technique. Un volume insuffisant est associé à une perte de chance diagnostique. Chez l'adulte, la concentration des bactéries au cours des épisodes bactériémiques est généralement très faible (1UFC/ml de sang). Le volume minimum requis par flacon est de 10ml soit 40 à 60ml par 24h (4 à 6 flacons correctement remplis). Chez l'enfant, la concentration bactérienne est plus élevée que chez l'adulte. Cela permet de limiter la quantité de sang à prélever; 3 à 6 ml /24 h chez l'enfant pesant moins de 12Kg, 20 à 24ml/24h chez l'enfant pesant entre 12 et 36kg et 40 à 60ml/24h chez les enfants pesant >36kg. L'intervalle entre deux prélèvements d'hémocultures importe peu : la qualité du diagnostic est équivalente, quel que soit cet intervalle, y compris lorsque les deux prélèvements sont réalisés simultanément. Le « prélèvement unique » (4 à 6 flacons en un seul prélèvement sanguin) optimise la spécificité de la technique en réduisant le risque de contamination, et garantit une sensibilité maximale par le recueil d'emblée d'un volume de sang optimal.

L'ordonnance de prescription doit mentionner tous les éléments cliniques utiles à l'interprétation des résultats : état d'immunodépression, prise d'antibiotiques, signes cliniques, port d'un dispositif intraveineux, suspicion de bactéries à croissance lente, etc.)

Une fois prélevés, les flacons d'hémocultures doivent être acheminés au laboratoire dès que possible, et à température ambiante. En cas d'envoi différé au laboratoire et pour les systèmes automatisés, il est recommandé de maintenir les flacons inoculés à température ambiante. En méthode manuelle, les flacons sont par contre incubés à l'étuve dès que possible.

3.3. CONDUITE DE L'EXAMEN AU LABORATOIRE

L'incubation des flacons à 37°C pendant 5 à 7 jours est suffisante. Dans la plupart des cas, les flacons sont incubés dans des systèmes automatisés à détection continue. Ces systèmes améliorent la vitesse de croissance par l'agitation permanente des flacons et détectent de façon plus sensible et plus rapide des flacons positifs grâce à une détection continue de la croissance bactérienne (lecture toutes les 10 min).

Dès la détection d'un flacon positif, un état frais et une coloration de Gram sont effectués et le résultat est immédiatement communiqué au clinicien afin de lui donner un premier élément d'information en attendant l'identification complète du germe et l'antibiogramme.

3.4. INTERPRETATION DES RESULTATS :

L'interprétation se base sur le nombre de flacons positifs, la nature de la ou des bactéries isolées et le contexte clinique. En effet, une confrontation clinico-biologique reste indispensable afin d'établir l'implication du germe isolé. Il est à noter que chez certains patients, les hémocultures peuvent être polymicrobiennes (immunodéprimés, foyer digestif, etc.). Toutes les espèces présentes doivent alors être considérées comme ayant le même potentiel infectieux.

Schématiquement, on peut distinguer 3 situations :

- Plusieurs hémocultures sont positives à une même bactérie. Celle-ci est considérée comme responsable de la bactériémie quelque soit sa nature.

- Toutes les hémocultures faites sont négatives: ceci est un argument pour éliminer une cause bactérienne à une fièvre mais ne permet pas d'éliminer définitivement le diagnostic. Les causes de faux négatifs étant nombreuses (prélèvement tardif au cours de la maladie, prise d'antibiotiques, quantité de sang insuffisante, conditions et temps de culture non adaptés à la bactérie). Il ne faut pas hésiter à répéter les prélèvements devant la persistance des signes infectieux.

- Une seule hémoculture est positive sur l'ensemble des hémocultures pratiquées : Dans ce cas, la difficulté est de différencier entre une contamination du flacon et une vraie bactériémie

• Si la bactérie isolée a un pouvoir pathogène indiscutable (Brucella, méningocoque, pneumocoque, Listeria, entérobactéries, streptocoque β hémolytique, entérocoques, S. aureus, P. aeruginosa, etc.), le diagnostic de bactériémie est retenu et une identification avec un antibiogramme sont réalisés quelque soit le contexte clinique.

• Si la bactérie est fréquemment responsable de contamination (staphylocoque à coagulase négative (SCN), Bacillus, streptocoque α hémolytique). L'isolement de l'une de ces espèces doit faire rechercher un contexte particulier : endocardite pour les streptocoques α-hémolytique, dispositif intra vasculaire chez un immunodéprimé pour les SCN.

4. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DES INFECTIONS URINAIRES COMMUNAUTAIRES:

4.1. BANDELETTE URINAIRE :

La bandelette urinaire (BU) est une méthode de dépistage rapide permettant de mettre en évidence, au lit du malade, la présence d'une bactériurie et d'une leucocyturie. Elle peut être réalisée chez l'adulte et le nourrisson de plus de 1 mois.

Comme pour l'examen cytobactériologique des urines (ECBU), le prélèvement d'urines doit être réalisé à partir du 2ème jet urinaire. Cependant, une toilette périnéale préalable n'est pas nécessaire. La bandelette doit être trempée dans des urines

fraîchement émises, dans un récipient propre et sec. L'utilisation de la BU suppose le respect des délais de péremption, des conditions de conservation et du temps de lecture.

La BU est le seul examen recommandé dans les cystites aigues simples. Dans toutes les autres situations, elle apporte uniquement une aide au diagnostic et ne dispense pas de la réalisation d'un ECBU.

4.2. EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES (ECBU) :

L'ECBU est l'analyse microbiologique la plus fréquemment réalisée au laboratoire. Elle permet de confirmer le diagnostic d'une infection urinaire, d'identifier la bactérie en cause et de guider le traitement. Les causes d'erreur sont cependant nombreuses, liées aux possibilités de contamination au moment du prélèvement essentiellement chez la femme et le nourrisson.

4.1.1. RECUEIL DES URINES :

Physiologiquement, les urines sont stériles et la leucocyturie urinaire se limite à quelques éléments par ml. Le recueil des urines doit être réalisé en respectant les bonnes pratiques afin d'éviter la contamination par les bactéries du périnée et de la portion distale de l'urètre (SCN, entérocoques, E. coli, Proteus, etc.).

a. Chez l'adulte :

Afin de concentrer les urines au maximum, le prélèvement doit être effectué de préférence sur les premières urines du matin ou, à défaut, sur des urines ayant séjourné au moins 4h dans la vessie. Après un lavage ou une friction hydro-alcoolique des mains, le patient réalise une désinfection soigneuse du méat et de la région périphérique avec une solution antiseptique (Dakin ou savon antiseptique). Le recueil se fait ensuite sur le 2ème jet urinaire dans un flacon stérile (éliminer le premier jet urinaire ≈ 20 à 30ml).

b. Chez l'enfant et le nourrisson :

Devant un syndrome fébrile, les indications du recueil urinaire doivent tenir compte de la probabilité d'IU selon l'existence ou non de facteurs de risque : âge inférieur à 3 mois, sexe masculin, antécédent de pyélonéphrite aiguë (PNA) ou d'uropathie, fièvre isolée > 39°C depuis plus de 48 heures. Chez l'enfant de plus d'un mois, en dehors des situations d'urgence et de conditions particulières (notamment neutropénie), l'ECBU ne doit être réalisé qu'après réalisation d'une bandelette urinaire positive pour les leucocytes et/ou les nitrites. Chez le grand enfant continent, le prélèvement d'urine se fait au milieu du jet en suivant les mêmes conditions que chez l'adulte.

Chez le nourrisson incontinent, la modalité de prélèvement la plus utilisée est le sac collecteur, bien que de plus en plus controversé. Ce dispositif à usage unique est posé après une désinfection soigneuse de manière centrifuge et sans aller retour, par le personnel soignant ou les parents. Le collecteur ne doit pas être gardé plus de 30 minutes. Si l'enfant n'a pas encore uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf après avoir refait la même procédure de désinfection. Cette modalité de prélèvement s'accompagne d'un risque élevé de contamination avec une très faible VPP (< 50%). Une culture négative prélevée par sac collecteur écarte la possibilité d'infection urinaire, mais une culture positive a peu d'utilité. Dans la mesure du possible il faut préférer le prélèvement au milieu du jet dit « à la volée » (clean catch), par cathétérisme urétral ou par ponction sus pubienne vu les meilleurs résultats obtenus.

Dès qu'elles sont recueillies, les urines sont soigneusement transvasées dans un récipient stérile puis transportées au laboratoire.

c. Recueil des urines chez le malade sondé :

Voir mini-module « infections nosocomiales ».

d. Recherche de mycobactéries dans les urines :

Il s'agit d'un examen de seconde intention, réalisé sur demande spécifique. Le recueil se fait sur la totalité des urines du matin, trois jours de suite et après une restriction hydrique pratiquée la veille.

4.1.2. CONSERVATION ET TRANSPORT :

Les urines recueillies doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2h à température ambiante afin d'éviter la pullulation microbienne qui va fausser l'interprétation. Si le prélèvement ne peut être transporté immédiatement, il peut être exceptionnellement conservé entre +2°C et +8°C pendant moins de 24h.

4.1.3. EXAMEN AU LABORATOIRE :

a. Examen macroscopique :

L'aspect normal des urines est limpide avec un reflet jaune paille. Un aspect trouble ou franchement purulent oriente vers une infection. D'autres aspects anormaux sont possibles : hémorragique, icterique, etc.

b. Examen microscopique :

Les éléments figurés (leucocytes++, hématies) sont dénombrés à l'aide d'un dispositif à numération et leur nombre rapporté par millilitre. A l'état physiologique, l'urine est très pauvre en éléments cellulaires. Une leucocyturie $\geq 10^4$ éléments blancs/ml est considérée comme significative.

c. Mise en culture :

L'ensemencement des urines se fait sur milieu solide avec une technique permettant la numération des bactéries (bactériurie). Ce dénombrement bactérien est exprimé en unité formant colonie (UFC) par millilitre d'urine. Les seuils de significativité de la bactériurie sont définis en fonction de l'espèce en cause, du sexe du patient et du mode de recueil des urines (tableaux 1 et 2). Après 24h d'incubation à 37°C, et si le diagnostic d'infection urinaire est retenu, la bactérie en cause sera identifiée avec réalisation d'un antibiogramme.

d. Interprétation des résultats

Les différentes étapes de la phase pré-analytique ayant été bien respectées, l'interprétation de l'ECBU devra tenir compte de plusieurs paramètres :

- Les circonstances épidémiologiques (infection communautaire ou associée aux soins, antécédents, terrain)
- Le mode de recueil
- La présence de symptômes (urinaires ou généraux telle que la fièvre)
- La leucocyturie
- La bactériurie
- Un éventuel traitement antibiotique

La plupart des infections urinaires sont monomicrobiennes. Cependant, une infection à deux germes peut être observée chez des patients à risque (sonde à demeure, malformation urinaire, etc.). En milieu communautaire, les bactéries responsables d'infection urinaire sont essentiellement *Escherichia coli* (80% des cas), suivie de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, les entérocoques et les staphylocoques.

Les différents cas d'interprétation sont détaillés dans le tableau 3 ; Le diagnostic d'infection urinaire est généralement retenu devant la présence de symptômes évocateurs, d'une leucocyturie et d'une bactériurie significatives. Une colonisation urinaire est définie par la présence d'un micro-organisme dans les urines (bactériurie positive) sans manifestations cliniques associées. La leucocyturie n'intervient pas dans le diagnostic. Les deux situations où un dépistage et un traitement de la colonisation urinaire sont indiqués sont :

- La femme enceinte
- Avant une procédure urologique invasive programmée.

Tableau 1 : Seuils de significativité de la bactériurie pour le diagnostic des infections urinaires communautaires de l'adulte
(Recommandations STPI 2018)

Espèces bactériennes	Seuil de significativité	Sexe
<i>E.coli</i> , <i>S.saprophyticus</i>	10^3 UFC/ml	Homme ou femme
Entérobactéries autre qu' <i>E.coli</i> , entérocoque, <i>C.ucrealyticum</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i>	10^3 UFC/ml 10^4 UFC/ml	Homme Femme
Autres espèces	10^5 UFC/ml	Homme ou femme

Tableau 2 : Seuils de significativité de la bactériurie pour le diagnostic des infections urinaires de l'enfant
(Recommandations de La Société canadienne de pédiatrie¹)

Numération minimale de colonies indicatrice d'une infection urinaire		
	UFC/mL	Commentaires
Urine propre (clean catch)	$\geq 10^5$	Une croissance mixte est généralement indicatrice d'une contamination. Si la fillette s'assoit face au réservoir de la toilette, ses lèvres s'écartent, ce qui facilitera le prélèvement d'urine à mi-jet.
Prélèvement par cathéter*	$\geq 5 \times 10^4$	Une croissance mixte est généralement indicatrice d'une contamination. Les prélèvements sur sonde à demeure sont moins fiables.
Ponction sus-pubienne	Toute croissance	

¹ Robinson, Joan L., Finlay, Jane C., Lang, Mia Eileen, et al. Le diagnostic et la prise en charge des infections urinaires chez les nourrissons et les enfants. Paediatrics & child health, 2014, vol. 19, no 6, p. 320-325.

Tableau 3: Interprétation de l'examen cytobactériologique des urines pour le diagnostic des infections urinaires communautaires de l'adulte

Signes cliniques	leucocyturie EB/ml	bactériurie UFC/ml	Interprétation
NON	< 10^4	< 10^3	Urine normale non infectée
	Variable	\geq seuil de significativité (10^5 si femme enceinte)	Colonisation urinaire
OUI	> 10^4	< 10^3	Urine normale non infectée → rechercher une autre cause pouvant expliquer les symptômes
		\geq seuil de significativité	<ul style="list-style-type: none"> • Infection débutante • Malade immunodéprimé • Contamination surtout si ≥ 2 espèces
	> 10^4	\geq seuil de significativité	<ul style="list-style-type: none"> • 1 espèce : infection urinaire • 2 espèces : infection urinaire si patient à risque
		< seuil de significativité	<ul style="list-style-type: none"> • Infection décapitée • Infection à bactéries nécessitant une recherche particulière (mycobactéries) • Infection génitale (urétrite ou souillure Vaginale) • Leucocyturie non infectieuses (maladies auto-immunes, médicamenteuses, etc.)

LES COQUES A GRAM POSITIF

(*STAPHYLOCOCCUS, STREPTOCOCCUS, ENTEROCOCCUS*)

LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS/STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de:

- 1- Préciser le réservoir naturel et les modes de transmission de *S. aureus* et des autres staphylocoques
- 2- Citer les principaux facteurs de virulence de *S. aureus* en précisant leur rôle dans la pathogénie
- 3- Décrire la physiopathologie des infections staphylococciques
- 4- Décrire la démarche bactériologique pour poser le diagnostic d'une infection staphylococcique
- 5- Préciser les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les staphylocoques et leurs implications thérapeutiques
- 6- Préciser les règles de prévention des infections à staphylocoque en milieu hospitalier

Connaissances préalables requises

- 1- La cellule bactérienne (PCEM1 ; Thème 7)
- 2- La génétique bactérienne (PCEM1 ; Thème 7)
- 3- Cours les antibiotiques (DCEM1 ; Pathologie infectieuse)

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococcaceae* qui comprend plus de 44 espèces et dont l'espèce type est *Staphylococcus aureus* ou *staphylocoque doré* qui se distingue des autres staphylocoques, appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN), par la production d'une coagulase.

Ce sont des cocci à Gram positif très répandus dans la nature. Leur caractère ubiquitaire est dû à leur résistance particulière aux conditions hostiles de l'environnement telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau. Ce sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'Homme et de nombreux animaux à sang chaud. Ils jouent un rôle important avec les autres bactéries de la flore résidente dans l'équilibre de la peau et constituent une barrière contre les bactéries de la flore transitoire.

Du fait de sa grande virulence, *S. aureus* peut être responsable d'un grand nombre d'infections aussi bien nosocomiales que communautaires. En effet, il a été isolé dans 10% de toutes les infections et dans 20% des infections associées aux soins.

1. ÉPIDÉMIOLOGIE

Le réservoir essentiel de *S. aureus* est l'Homme. Le site de colonisation préférentiel est la muqueuse nasale, mais il peut être aussi retrouvé au niveau du tube digestif et du vagin. À partir de ces sites de portage, *S. aureus* colonise les territoires cutanés, en particulier les zones humides (aisselles, périnée) et les mains.

Ce portage peut être permanent ou intermittent. Le taux de portage augmente en fonction du terrain (diabète, hémodialyse, toxicomanie...) et en fonction de la fréquence des contacts septiques.

A partir de ces différents gîtes et à l'occasion d'un déséquilibre hôte-bactérie, *S. aureus* peut diffuser et entraîner une infection.

La transmission intra ou interhumaine est en rapport avec un contact direct (manuportage). Plus rarement, elle peut être indirecte à partir d'une source environnementale (vêtements, draps, dispositifs médicaux et poussières). En effet, c'est un germe résistant dans le milieu extérieur, il peut persister sur les poussières de l'air et les surfaces. C'est une bactérie qui représente un problème de santé publique étant donné son implication dans les infections communautaires mais aussi associées au soins.

2. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES

2. 1. MORPHOLOGIE:

S. aureus se présente sous forme de cocci à Gram positif habituellement disposés en amas, rappelant des grappes de raisin (Fig 1).

2. 2. CARACTÈRES CULTURAUX

S. aureus est aéro-anaérobiose facultatif. Il se développe rapidement sur milieux usuels.

La plupart des souches produisent un pigment doré ou citrin non diffusible dans le milieu d'où son nom staphylocoque doré (Fig 2).

S. aureus tolère le sel et pousse dans un milieu contenant 75g‰ de NaCl. Cette propriété est utilisée dans la préparation du milieu Chapman, milieu sélectif pour l'isolement des staphylocoques à partir d'un produit pathologique polymicrobien.

2. 3. CARACTÈRES METABOLIQUES

S. aureus produit une enzyme appelée catalase qui permet de différencier du genre Streptococcus. Il métabolise plusieurs hydrates de carbone dont le glucose et le mannitol. Ce dernier est utilisé dans la préparation du milieu Chapman (milieu gélosé sélectif pour la croissance des staphylocoques).

2.4. LA STRUCTURE ANTIGENIQUE

Comme les autres bactéries à Gram positif, les acides lipoteichoïques interviennent dans la colonisation, en particulier par la partie hydrophobe orientée vers l'extérieur de la bactérie.

S. aureus possède des protéines de surface appelées des adhésines, ancrées dans le peptidoglycane bactérien. Elles facilitent la fixation de *S. aureus* sur la matrice extracellulaire. Parmi elles on cite :

a. Protéine A (Spa): Elle est spécifique de *S. aureus*. C'est le principal facteur de virulence (adhésion, inhibition de la phagocytose et déclenchement de la réaction inflammatoire).

b. Protéine de liaison au collagène (Cna): Elle constitue un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires.

c. Protéine de liaison à la fibronectine (FnBP): Elle contribue à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux (cathéter, prothèse). Elle joue un rôle dans les infections sur corps étranger.

d. Coagulase liée ou clumping factor: Elle réagit directement avec le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma.

e. Capsule polysaccharidique: Les souches capsulées présentent une virulence accrue ; elles résistent mieux à la phagocytose.

f. Slime: C'est une substance amorphe qui permet à la bactérie d'adhérer aux biomatériaux ; elle provoque la formation d'un biofilm, engluant les bactéries, en les protégeant du système immunitaire et la pénétration des antibiotiques.

2.5. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

Les staphylocoques sont naturellement sensibles à nombreux antibiotiques mais se caractérisent par une aptitude remarquable à acquérir de multiples caractères de résistance.

a. β-lactamines: La résistance de *S. aureus* aux β-lactamines relève de plusieurs mécanismes :

a.1. Production d'une pénicillinase plasmidique : Elle induit une résistance aux pénicillines G et A, aux carboxypénicillines et aux acyluréidopénicillines, mais n'a pas d'effet sur les pénicillines M (méticilline, oxacilline, cloxacilline), les céphalosporines et les pénèmes. Cette pénicillinase staphylococcique est inactivée par les inhibiteurs de β-lactamases comme l'acide clavulanique. Plus de 90% des staphylocoques sont producteurs de pénicillinase.

a.2. Modification de la cible, d'origine chromosomique

Elle est responsable de la résistance à la méticilline et à toutes les β-lactamines par l'élaboration d'une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle (PLP2a) de faible affinité aux β-lactamines ; ces souches sont appelées *S. aureus* résistants à la méticilline ou SARM. Cette résistance est croisée à toutes les molécules de la famille des β-lactamines sauf les nouvelles céphalosporines de 5ème génération, (ceftaroline et ceftobiprole) qui ont montré leur efficacité contre certaines souches de SARM. Les SARM présentent généralement des résistances associées aux autres familles d'antibiotiques (souches multirésistantes). Elles sont surtout isolées en milieu hospitalier, essentiellement en milieu de réanimation. Leur fréquence en Tunisie varie de 12 à 20%. Initialement d'origine nosocomiale, des SARM d'origine communautaire ont été récemment rapportés, un peu partout dans le monde. Les SARM communautaires sont particulièrement virulents. Ils portent le gène codant la synthèse de la leucocidine de Panton-Valentine (toxine PVL).

b. Aminosides: Les résistances acquises aux aminosides sont dues à une inactivation de l'antibiotique par diverses enzymes bactériennes.

Parmi les aminosides, la molécule la plus active est la gentamicine et toute souche résistante à cet antibiotique résiste aux autres aminosides.

c. Macrolides et apparentés : MLS (Macrolides, Lincosamines, Synergistines)

Les macrolides (érythromycine, josamycine) et les lincosamines (lincomycine, clindamycine) sont généralement efficaces mais restent bactériostatiques contrairement aux synergistines(pristinamycine, Quinupristine/dalfopristine), molécules bactéricides et qui sont presque toujours actives constituant ainsi d'excellentes molécules antistaphylococciques.

d. Glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) : Ils restent les antibiotiques de choix pour le traitement des infections à SARM. Cependant, quelques souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée ou, intermédiaires aux glycopeptides (souches dites GISA) sont de plus en plus rapportées dans la littérature.

e.Oxazolidinone(linézolide): Il constitue une bonne alternative en cas d'infection à SARM avec une sensibilité diminuée aux glycopeptides.

f. Autres antibiotiques: Fosfomycine, acide fusidique, rifampicine, cyclines, sulfamides et fluoroquinolones gardent une bonne activité sur les staphylocoques. Ils doivent être utilisés en association pour éviter la sélection de mutants résistants.

3. FACTEURS DE VIRULENCE ET PHYSIOPATHOLOGIE

S. aureus, bactérie pyogène et toxinogène, exprime **plusieurs facteurs de virulence** notamment des protéines de surface qui initialisent la colonisation tissulaire, des facteurs qui inhibent la phagocytose et des toxines qui endommagent les cellules.

3.1. TOXINES

a. Hémolysines: L'hémolysine alpha est la plus fréquente. Elle agirait sur la membrane cellulaire des globules rouges en provoquant des troubles osmotiques et une hémolyse. Les plaquettes et les monocytes sont sensibles à cette toxine et libèrent des cytokines et autres médiateurs de l'inflammation expliquant le choc septique au cours des infections graves à *S. aureus*. Cette hémolysine peut détruire les cellules endothéliales et favorise ainsi la dissémination des bactéries et la survenue de métastases infectieuses.

b. Leucocidine de Panton et Valentine: C'est une cytotoxine leucotoxique et dermonécrotique jouant un rôle dans l'extension des lésions. Elle est impliquée dans des infections graves, telles que la pneumonie nécrosante, les infections ostéo-articulaires et les infections cutanées.

c. Exfoliatines ou épidermolyssines: Elle présente une activité spécifique sur la peau. Elle entraîne une desquamation du ciment intercellulaire et un élargissement des espaces intercellulaires. Cliniquement, elle est responsable des différentes formes de staphylococcies cutanées bulleuses en fonction de l'état immunitaire (présence d'Ac anti-exfoliatines).

d. Entérotoxines: Certaines souches de *S. aureus*秘ètent des toxines provoquant des manifestations cliniques digestives. Les manifestations cliniques provoquées par les souches entérotoxinogènes se présentent sous 2 formes particulières :

- **Intoxications alimentaires** sont les plus fréquentes. Elles sont observées après l'ingestion d'aliments contenant l'entérotoxine et surviennent généralement sous forme d'épidémies dans les collectivités (toxi-infection alimentaire collective). La recherche de souche toxinogène et de toxine est possible dans les aliments ou dans le vomi des patients.

- **Entérocolite aiguë pseudomembraneuse** survient essentiellement chez les patients ayant reçu une antibiothérapie qui a sélectionné une souche intestinale de *S. aureus* résistante au traitement et sécrétrice d'entérotoxine

e-Toxine du syndrome du choc toxique ou TSST1 (ToxicShock Syndrome Toxine 1): C'est un superantigène qui joue un rôle essentiel dans la pathogénie du syndrome du choc toxique survenant chez des sujets réceptifs dépourvus d'anticorps anti-TSST1.

3.2. ENZYMES

a. Coagulase libre: Enzyme chromosomique, capable de coaguler le plasma de lapin (à la base du test de la coagulase en tube qui est un marqueur de l'identification de *S. aureus*). Elle jouerait un rôle dans la pathogénie de *S. aureus* en coagulant le plasma autour des bactéries et en les protégeant de la phagocytose; elle est aussi responsable des thrombophlébites suppurées.

b. Fibrinolysine ou staphylokinase: Elle a une action fibrinolytique en activant le plasminogène en plasmine. Elle fragmente le caillot et contribue à la formation de microembols suppurés essaimant à distance et créant des métastases infectieuses.

c. Lipases et FAME (Fattyacidmodifying enzyme): Exprimées par 80% des souches de *S aureus* et quelques souches de SCN, elles semblent constituer un facteur de virulence important dans les abcès, où elles modifient les lipides antibactériens, favorisant ainsi la survie des staphylocoques.

d. Nucléases: Enzymes capables d'hydrolyser l'ADN, elles interviennent dans la formation des lésions tissulaires. On distingue :

- DNase thermolabile produite par différentes espèces du genre *Staphylococcus*.
- DNase thermostable produite par toutes les souches de *S. aureus* et seulement 5% des autres espèces du genre *Staphylococcus*.

e. Hyaluronidase: C'est une enzyme qui hydrolyse l'acide hyaluronique et favorise ainsi la diffusion du staphylocoque dans le tissu conjonctif.

4. PHYSIOPATHOLOGIE (FIG 3)

Toute lésion cutanée même minime favorise la colonisation par les staphylocoques. En effet, leur prolifération sur la peau et les muqueuses et l'apparition d'une infection staphylococcique résultent d'un déséquilibre entre l'hôte et le microbe, en faveur de celui-ci. Les facteurs favorisants sont locaux et généraux.

Parmi ces facteurs, on peut citer :

- La présence d'un dispositif médical comme les cathéters ou toute autre effraction même minime du revêtement cutané qui peut être favorisée par la colonisation des tissus par les bactéries de la flore commensale. Toutefois l'intégrité du revêtement cutané n'empêche pas cette colonisation.

- Une antibiothérapie à large spectre qui peut être responsable de la sélection de staphylocoques multirésistants.
- Un terrain fragilisé : état immunitaire affaibli par une maladie sous-jacente (diabète, insuffisance rénale chronique...) ou par un traitement immunosuppresseur.

Au niveau de la porte d'entrée, les lésions tissulaires sont caractérisées au début par une réaction inflammatoire intense avec afflux de nombreux leucocytes, suivie rapidement de phénomènes suppuratifs et nécrotiques caractéristiques.

A partir de ce foyer initial, le processus tend à diffuser par atteinte les veines avec la formation d'une phlébite dont le thrombus contient de nombreux staphylocoques. Si l'infection est maîtrisée, elle reste localisée, sinon les embols septiques passent dans le sang avec formation d'abcès septiques siégeant dans n'importe quel organe. Dans ce cas, même si l'évolution est favorable, un réveil de ces gîtes microbiens est possible longtemps après l'infection initiale.

La virulence de *S. aureus* est due essentiellement à la sécrétion de ses nombreuses toxines et enzymes et à sa richesse en antigènes de surface. En effet, la colonisation et l'adhésion est favorisée par les protéines de surface, notamment la protéine A. La staphylocoagulase serait responsable de la formation de thrombophlébites. Elle aurait un rôle antiphagocytaire en protégeant les staphylocoques par une gaine de fibrine. La staphylokinase contribuerait à la formation de métastases septiques par la dislocation du caillot endoveineux et la dissémination de microembols suppurés. D'autres enzymes (hyaluronidase, Dnase) joueraient un rôle dans la diffusion tissulaire du germe. La catalase aurait un rôle antiphagocytaire empêchant l'action du peroxyde d'hydrogène produit par les phagocytes. La protéine A généreraient l'action des anticorps spécifiques en se fixant sur le fragment Fc des Ig. Un des mécanismes de diffusion de l'infection serait la persistance dans les cellules phagocytaires permettant aussi le passage vers la chronicité dans certaines infections.

5. IMMUNITE

Du fait de la fréquence du portage sain chez l'Homme, il existe une forte immunité naturelle contre les staphylocoques. La phagocytose semble jouer un rôle majeur dans la résistance aux infections staphylococciques. Les pathologies affectant l'activité phagocyttaire et bactéricide des polynucléaires augmentent la réceptivité de l'hôte.

L'immunité humorale joue un rôle plus difficile à démontrer. Les anticorps dirigés contre les antigènes de paroi sont opsonisants, favorisant la phagocytose par les polynucléaires et les macrophages. Les anticorps anti-enzymes et anti-toxines joueraient un rôle protecteur incertain.

6. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le diagnostic d'une infection staphylococcique est direct. Il repose essentiellement sur la mise en évidence du germe dans les produits pathologiques.

6.1. PRELEVEMENT: La présence des staphylocoques à l'état commensal sur la peau et les muqueuses rend parfois difficile l'interprétation du diagnostic ; d'où la nécessité d'insister sur les conditions d'asepsie rigoureuse lors du recueil des prélèvements. Ces prélèvements peuvent être divers selon le site de l'infection (pus divers, liquides de ponction, hémocultures, urines, prélèvements ostéo-articulaires...).

6.2. EXAMEN DIRECT ET CULTURE: L'examen direct au microscope optique montre la présence de nombreux cocci à Gram positif disposés en amas associés à une réaction inflammatoire à polynucléaires neutrophiles plus ou moins altérés.

La mise en culture est effectuée sur milieux ordinaires pour les produits pathologiques monomicrobiens et sur milieu Chapman pour les produits pathologiques polymicrobiens.

L'identification du genre *Staphylococcus* est basée sur la morphologie, l'aspect des colonies sur milieux gélosés et la présence de catalase.

L'identification de l'espèce *S.aureus* est basée sur la mise en évidence de la coagulase libre et de la protéine A.

6. 3. ANTIBIOTIQUE: Les infections staphylococciques posent parfois des problèmes thérapeutiques du fait de la fréquence de souches multirésistantes aux antibiotiques. Ainsi, le traitement doit être nécessairement guidé par les tests de sensibilité aux antibiotiques de la souche isolée.

La résistance à la méticilline est détectée en routine par la détermination de l'activité de la céfoxitine à 37°C. L'étude de la sensibilité des staphylocoques aux glycopeptides doit impérativement être faite par dilution en milieu liquide.

7. BASES THÉRAPEUTIQUES :

L'antibiothérapie vis-à-vis de *S.aureus* doit être orientée par l'antibiogramme d'une part et les données cliniques d'autre part.

Le traitement des infections à *S.aureus* sensible à la méticilline est basé sur l'administration de l'oxacilline qui peut être associé à un aminoside.

Pour les infections à SARM, les glycopeptides restent le traitement de choix. Par ailleurs, le linézolide peut être prescrit dans les infections cutanées et les pneumopathies à SARM. Dans les infections toxiniques, notamment dans les pneumopathies nécrosantes à *S.aureus* sécréteur de LPV, le recours à des molécules au pouvoir antitoxinique est recommandé comme la clindamycine ou la rifampicine.

Les soins locaux, le débridement et le drainage des lésions suppuratives collectées constituent aussi un pilier important dans la prise en charge thérapeutique.

8. PREVENTION

Les infections staphylococciques peuvent être prévenues en suivant les règles d'hygiène notamment le lavage des mains, la stérilisation des dispositifs médicaux réutilisables, la désinfection des surfaces ainsi que la bonne gestion du linge, et des déchets émanant des activités de soin comme les pansements septiques.

Les patients à haut risque comme les malades hémodialysés, les candidats à une chirurgie cardiaque et ceux qui ont des dermatites atopiques doivent bénéficier d'un dépistage de SARM afin de diminuer le risque d'infection qui peut être particulièrement grave chez ces patients.

La rationalisation de l'antibiothérapie et la limitation des indications des gestes invasifs constituent des piliers de la prévention des infections à SARM. En effet, les indications et la durée de toute antibiothérapie doivent être toujours optimisées ainsi que la pose de matériel comme les cathéters et les sondes urinaires ou d'intubation.

En cas de présence de SARM chez un patient hospitalisé, un isolement septique doit être recommandé.

LES STAPHYLOCOQUES À COAGULASE NÉGATIVE (SCN)

La majorité des SCN sont des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales. Trois facteurs favorisent ces infections : l'immunodépression, la présence de cathéters veineux ou de matériaux prothétiques et la multirésistance des SCN aux antibiotiques.

S. epidermidis est l'espèce la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier. *S. epidermidis* peut provoquer des infections chez les sujets porteurs de matériel étranger (cathéter intra-vasculaires, prothèses ostéo-articulaires, valves de dérivation du liquide céphalo-rachidien...). La production d'exopolysaccharides augmente sa capacité d'adhésion aux biomatériaux et va empêcher la pénétration des antibiotiques, rendant leur éradication difficile. *S. epidermidis* est aussi responsable de septicémies notamment dans les services d'oncologie et de néonatalogie, de péritonites chez les patients en dialyse péritonéale, d'endocardites surtout chez les sujets porteurs de prothèse valvulaire cardiaque, d'infections sur valve de dérivation du liquide céphalo-rachidien. Plus rarement, cette espèce est responsable d'infections sur prothèse orthopédique, de cystites et de pyélonéphrites.

S. haemolyticus est la seconde espèce responsable d'infections humaines, en particulier de suppurations, d'infections urinaires et de septicémies.

Au sein des SCN, deux espèces sont responsables d'infections communautaires : *S. saprophyticus* par ses capacités à adhérer à l'épithélium vésical et de provoquer des cystites chez les jeunes femmes et *S. lugdunensis* souvent responsable d'infections cutanées et d'endocardites infectieuses.

Les SCN sont différenciés sur la base de leurs caractères métaboliques et biochimiques.

LECTURES RECOMMANDÉES

1. *Précis de bactériologie clinique. Staphylococcus. In J Freney - ESKA2007. pp783-830.*
2. <http://www.microbes-edu.org/etudiant/etudiants.html>
3. *Staphylococcus aureus. Pediatrics in Review. Devlynne S Ondusko et Dawn Nolt. Juin 2018, 39 (6), 287-298*
4. *Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. Virulence. 2021;12(1):547-569*
5. https://cnr-staphylocoques.univ-lyon1.fr/icap_website/2332/46085

EVALUATION FORMATIVE

1. Parmi les substances élaborées par *S. aureus*, indiquer celle(s) qui est (sont) responsables (s) de phénomènes thrombo-emboliques :

- A- hémolysine
 - B- coagulase
 - C- hyaluronidase
 - D- fibrinolysine
 - E- entérotoxine
-

2. Parmi les caractères suivants lesquels permettent de définir l'espèce *S aureus* :

- A- cocci à Gram+ ne possédant pas de catalase
 - B- produit toujours une coagulase
 - C- le plus souvent sensible à la pénicilline G
 - D- produit parfois une toxine érythrogène
 - E- élabore une protéine spécifique : la protéine A
-

3. Au laboratoire, l'implication de *S.aureus* au cours d'une infection est suspectée devant la présence de :

- A- nombreux polynucléaires neutrophiles (PNN) à l'examen microscopique du frottis
 - B- un coagulum dans le flacon d'hémoculture
 - C- une hémolyse sur la gélose au sang d'une subculture
 - D- un aspect doré des colonies
 - E- une croissance exclusive sur des milieux de culture enrichis
-

4. *S aureus* :

- A- n'est jamais isolé chez le sujet sain
 - B- est fréquemment responsable d'infections chez le diabétique
 - C- est responsable de complications rhumatismales
 - D- est fréquemment responsable d'infections chez les sujets qui présentent une diminution de l'activité phagocytaire des polynucléaires
 - E- est souvent résistant à la pénicilline
-

Question n°4 : Réponse : B-D-E

Question n°3 : A-B-C-D

Question n°2 : B-E

Question n°1 : B-D

Réponses :

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

- 1- Enumérer les caractères bactériologiques essentiels qui permettent la classification des *Streptococcaceae*.
- 2- Citer les principaux facteurs de virulence de *S.pyogenes*, préciser leur rôle dans la pathogénie
- 3- Décrire les mécanismes physiopathologiques des infections streptococciques et des complications post streptococciques
- 4- Décrire la démarche bactériologique pour poser le diagnostic d'une infection *S.pyogenes*
- 5- Citer les principaux facteurs de virulence de *S.pneumoniae* et préciser leur rôle dans la pathogénie
- 6- Décrire les mécanismes physiopathologiques des infections à *S. pneumoniae*
- 7- Décrire la démarche bactériologique pour poser le diagnostic d'une infection à *S. pneumoniae*
- 8- Préciser les principaux mécanismes de résistance aux β-lactamines chez *S. pneumoniae* et leurs implications thérapeutiques
- 9- Justifier les indications des vaccins anti-pneumococciques en fonction de leur composition
- 10- Préciser le réservoir naturel et les modes de transmission de *S. agalactiae*
- 11- Décrire la démarche bactériologique pour poser le diagnostic d'une infection à *S. agalactiae*
- 12- Préciser les indications et les modalités de dépistage de *S. agalactiae* chez la femme enceinte
- 13- Préciser le réservoir naturel et les modes de transmission des entérocoques
- 14- Décrire la démarche bactériologique pour poser le diagnostic d'une infection aux entérocoques
- 15- Préciser les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les entérocoques

INTRODUCTION

Le genre *Streptococcus* réunit de nombreuses espèces bactériennes au pouvoir pathogène très différent. L'immunité conférée par les infections qu'ils provoquent est spécifique d'espèce. Certaines espèces sont très virulentes, comme *S. pyogenes* ou *S. pneumoniae*. D'autres espèces sont habituellement commensales mais deviennent des pathogènes opportunistes dans certaines circonstances. C'est le cas des streptocoques non groupables (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*...) qui peuvent être responsables d'endocardites. Certaines espèces déterminent des lésions d'évolution subaiguë ; tel que *S. mutans* qui peut être responsable de caries dentaires.

Le genre *Streptococcus* regroupe des cocci à Gram positif, immobiles, groupés en chaînettes plus ou moins longues. Elles sont pour la majorité des bactéries exigeantes nécessitant des milieux de cultures enrichis ; elles sont anaérobies aéro-tolérantes, dépourvues de cytochrome oxydase et de catalase.

1. CLASSIFICATION

Avant l'utilisation des techniques de biologie moléculaire, la classification des streptocoques reposait essentiellement sur 3 types de caractères :

1.1. LA CAPACITÉ DE LYSER LES GLOBULES ROUGES

L'étude de l'activité hémolytique sur gélose au sang permet de distinguer 3 variétés :

- Les streptocoques β hémolytiques donnant une hémolyse franche et totale en 24 à 36 h.
- Les streptocoques α hémolytiques donnant une hémolyse partielle de couleur verdâtre.
- Les streptocoques non hémolytiques ne donnant aucune hémolyse.

1.2. LA PRÉSENCE D'UN ANTIGENE POLYOSIDIQUE C spécifique de groupe permettant de distinguer 20 sérogroupes différents selon la classification de Lancefield (de A à H, et de K à V). Les streptocoques dépourvus d'antigène polyosidique sont dits non groupables.

1.3. PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

Cette approche reste utilisée en pratique courante pour l'identification. Actuellement, les critères de la taxonomie moléculaire ont permis de définir des groupes génomiques et d'individualiser de nouvelles espèces. Ainsi, on classe actuellement les streptocoques en «ensembles» et «sous-ensembles» (Tableau 1).

2. STREPTOCOCCUS PYOGENES OU STREPTOCOQUE DU GROUPE A (SGA)

S. pyogenes est l'espèce type du genre *Streptococcus*. C'est une bactérie pathogène qui joue un rôle considérable en pathologie humaine par la diversité des infections aiguës qu'elle provoque (érysipèle, impétigo, angine, scarlatine...) et par la possibilité de déclencher au décours de l'infection initiale des manifestations non suppuratives souvent graves (rhumatisme articulaire aigu, glomérulonéphrite aiguë). Malgré sa grande virulence, SGA garde une très bonne sensibilité à la pénicilline G qui constitue la base thérapeutique des infections suppuratives.

2.1. ÉPIDÉMIOLOGIE

L'Homme est le réservoir naturel du SGA. La transmission se fait le plus souvent directement par la salive et les sécrétions nasales. La transmission de cette bactérie est essentiellement directe par voie aérienne ou cutanée. Le risque de transmission augmente avec la proximité et la durée d'un contact avec un malade. Il existe une proportion élevée (20%) de porteurs sains notamment parmi les enfants qui constituent un réservoir important pouvant déclencher des épidémies. Dans le milieu hospitalier, le portage du personnel soignant est fréquent dans l'entourage des infections invasives.

Parmi les facteurs de risque d'une infection à SGA :

- Age supérieur à 65 ans
- Varicelle évolutive
- Lésions cutanées et brûlure
- Toxicomanie intra-veineuse
- Corticothérapie, diabète, infection à VIH

La présence de cas groupés d'infection invasive à SGA impose une enquête épidémiologique autour du cas et une antibio-prophylaxie pour les sujets contacts ayant des facteurs de risque.

2.2. CARACTÈRES BACTÉRIologiques

A. MORPHOLOGIE

Ce sont des cocci à Gram positif groupés en chaînettes, parfois capsulés (Fig 4).

B. CARACTÈRES CULTURAUX

Les SGA nécessitent pour leur culture des milieux enrichis.

- Gélose additionnée de 5% de sang : Les SGA donnent en 24h à 37°C des colonies translucides entourées d'une zone d'hémolyse complète de type β.

C. STRUCTURES ANTIGÉNIQUES

c.1. Capsule :

Une capsule d'acide hyaluronique peut être observée chez quelques souches. Elle a un pouvoir antiphagocytaire mais non immunogène. Certaines souches dites hypercapsulées sécrètent une quantité plus importante de capsule et sont particulièrement virulentes.

c.2. Polyside C :

C'est l'antigène spécifique de groupe.

c.3. Protéine M :

C'est le facteur essentiel de la virulence. Elle intervient dans l'adhésion du SGA aux cellules épithéliales des muqueuses et de la peau et a un pouvoir antiphagocytaire. Elle est constituée de sous-unités peptidiques répétitives et conservées et d'une partie immunogène variable responsable de la spécificité de type. Il existe plus de 150 types différents de protéine

M. Le pouvoir néphritogène ou rhumatogène du SGA est associé à certains types de protéines M qui présentent des homologies structurales avec certaines protéines humaines. La protéine M confère une immunité durable et protectrice mais spécifique de type.

c.4. Autres structures antigéniques :

Plus d'une douzaine d'autres structures antigéniques sont présentes à la surface du SGA (l'acide téichoïque, les protéines R et T, ...). Elles jouent un rôle important dans l'adhésion aux cellules épithéliales.

D. LES SUBSTANCES ÉLABORÉES

S. pyogenes élabore de nombreux produits extracellulaires.

d.1. La streptolysine O (SLO) :

Elle possède une activité hémolytique et cytolytique sur les cellules eucaryotes. Elle se fixe sur le cholestérol membranaire provoquant des lésions par lesquelles s'effectue une fuite rapide de l'hémoglobine et des autres constituants. Elle est antigénique et entraîne la formation d'anticorps antistreptolysine O (ASLO) sauf en cas d'infection cutanée du fait de son inactivation par le cholestérol présent au niveau de la peau.

d.2. Les toxines érythrogènes ou exotoxines pyrogènes streptococciques (Eps) :

On distingue plusieurs types antigéniques dont les plus importants sont les types A, B et C (ou EpsA, EpsB ou EpsC). Les EPS sont immunogènes et entraînent la formation d'anticorps spécifiques. Elles sont responsables de l'éruption érythémateuse observée au cours de la scarlatine et de l'acquisition d'une hypersensibilité. Ainsi, deux catégories d'individus sont insensibles à l'action des Eps : le jeune enfant n'ayant pas acquis l'hypersensibilité, et l'adulte hypersensibilisé mais possédant des anticorps neutralisants. Eps A et EpsC sont sécrétées en très petites quantités par des souches infectées par un phage tempéré et ont des propriétés super-antigéniques. Elles sont capables de stimuler un grand nombre de Lymphocytes T responsables de choc toxique. EpsB de support génétique chromosomique est produite par toutes les souches.

d.3. Les streptokinases (SK) ou fibrinolysines :

Elles activent la transformation du plasminogène en plasmine entraînant la lyse de la fibrine. Les SK empêcheraient la formation des barrières de fibrine à la périphérie des lésions facilitant ainsi la propagation des streptocoques dans les tissus. Elles sont antigéniques entraînant la formation d'anticorps antistreptokinase (ASK) dont le dosage est aussi utilisé comme marqueur rétrospectif d'une infection streptococcique.

d.4. Les streptodornases ou nucléases (Dnases) :

Il existe 4 types (A, B, C et D) antigéniquement différents. Ces enzymes sont responsables de la polymérisation de l'ADN. Les anticorps antistreptodornase (ASD) sont utiles pour confirmer une infection streptococcique antérieure, pharyngée ou cutanée.

d.5. Autres substances :

La hyaluronidase permet la diffusion tissulaire du SGA, elle est immunogène.

La C5a peptidase qui est capable d'hydrolyser le composant C5a du complément sérique, empêche la mobilisation des macrophages.

E- SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

Le SGA est généralement sensible aux antibiotiques en particulier à la pénicilline G et aux macrolides, quelques résistances acquises vis à vis des tétracyclines peuvent être observées. Comme tous les streptocoques, SGA présente une résistance naturelle au bas niveau aux aminosides.

2.3. PHYSIOPATHOLOGIE ET IMMUNITÉ

A. MÉCANISME DES INFECTIONS CUTANÉO-MUQUEUSES :

Le SGA colonise les cellules épithéliales des voies aériennes supérieures ou de la peau. La protéine M constitue le facteur majeur de virulence. Elle permet l'adhérence par l'intermédiaire des fibrilles aux cellules épithéliales des muqueuses et de la peau et possède une action antiphagocytaire associée à celle de la capsule d'acide hyaluronique.

Ainsi, les streptocoques vont se multiplier et envahir les tissus en lysant les cellules épithéliales par la sécrétion de SLO. Cette dernière se fixe sur le cholestérol des membranes cellulaires et pénètre la double couche lipidique entraînant des troubles de la perméabilité cellulaire et la lyse. La diffusion des bactéries dans les tissus est facilitée par la sécrétion des autres enzymes extracellulaires (streptokinase et hyaluronidase). Les streptocoques qui se multiplient dans les tissus sont drainés vers le tissu lymphoïde (amygdales, ganglions lymphatiques). Ils peuvent chez certains malades persister dans les cellules épithéliales de la gorge et les ganglions lymphatiques pendant plusieurs semaines, parfois malgré une antibiothérapie.

pie adaptée. Cette persistance est l'un des facteurs incriminés dans le déclenchement des complications post-streptococciques. Dans la scarlatine, l'éruption résulte de l'action de la toxicité primaire des exotoxines pyrogènes et l'acquisition de l'hypersensibilité.

B. MÉCANISME DES COMPLICATIONS POST-STREPTOCOCCIQUES

L'apparition des complications post-streptococciques semble dépendre de facteurs épidémiologiques (fréquence des infections streptococciques), de facteurs liés à la bactérie (persistance des streptocoques dans les tissus, virulence particulière de certains sérotypes M) et de facteurs liés au terrain (intensité de la réaction immunitaire contre les toxines du streptocoque, prédisposition génétique particulière de certains sujets).

Ces complications sont la conséquence de processus immuno-allergiques :

- Le germe n'intervient pas directement, il n'est pas retrouvé dans les lésions qu'il provoque à distance. Celles-ci ne sont jamais suppurées mais inflammatoires.
- Les manifestations cliniques apparaissent toujours après un intervalle libre d'une ou plusieurs semaines après l'infection initiale et à ce stade, le germe n'est le plus souvent plus retrouvé au niveau du foyer initial.
- Il existe un syndrome inflammatoire clinique et biologique.

Le rhumatisme articulaire aigu (RAA) semble être la conséquence de réactions croisées entre certains antigènes du streptocoque et les antigènes présents sur différents tissus (myocarde, valves cardiaques, tissu articulaire).

Dans la glomérulonéphrite aiguë (GNA) post streptococcique, les lésions seraient induites par le dépôt d'immuns complexes au niveau de la membrane basale glomérulaire.

C. L'IMMUNITÉ

L'hôte infecté réagit à la colonisation des muqueuses des voies aériennes supérieures ou de la peau par une réaction inflammatoire intense avec afflux de nombreux polynucléaires neutrophiles au niveau du foyer infectieux. La réaction immunitaire spécifique se développe plus lentement caractérisée par l'apparition d'une immunité cellulaire (hypersensibilité retardée) et d'une immunité humorale (production d'anticorps contre les antigènes streptococciques).

La recherche de ces anticorps (Ac) est à la base du diagnostic sérologique des complications post-streptococciques. La grande majorité de ces Ac détectés au décours d'une infection streptococcique ne joue aucun rôle protecteur. Les principaux Ac protecteurs sont les Ac anti protéine M. Par leur effet opsonisant, ils facilitent la phagocytose des germes qui portent cet antigène. Cependant, les Ac anti-M sont spécifiques de type, par conséquent ils protègent l'hôte contre l'infection par un SGA du même type mais non contre un SGA de type différent. Ces Ac apparaissent tardivement (plusieurs semaines ou mois après la primo-infection) et par conséquent n'interviennent pas dans le processus de guérison au cours de l'infection aiguë.

Le retard dans l'apparition des Ac anti protéine M explique que leur recherche n'a pas d'intérêt dans un but diagnostique.

Les Ac anti-exotoxines et anti-enzymes (ASLO, ASDOR B, ASK) décelables par des réactions sérologiques spécifiques ne jouent pas un rôle dans l'immunité, mais leur mise en évidence est importante pour le diagnostic des complications post-streptococciques. Dans la scarlatine, l'immunité acquise est une immunité antitoxique et non antiseptococcique.

2.4. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

A. DIAGNOSTIC DES INFECTIONS SUPPURATIVES À SGA :

C'est un diagnostic direct reposant sur la mise en évidence du germe au niveau du foyer infectieux.

a.1. Prélèvements : Il s'agit le plus souvent d'un prélèvement au niveau des amygdales et du pharynx postérieur qui doit être pratiqué soigneusement à l'aide d'un écouvillon et sous un bon éclairage. Il peut également être isolé à partir de lésions cutanées et de prélèvements de pus. Plus rarement, le SGA peut être isolé à partir des prélèvements gynécologiques ou des hémodcultures. Il faut privilégier les ponctions par aiguille à l'écouvillonnage.

2. Examen direct : L'examen microscopique direct des prélèvements met en évidence la présence de nombreux cocci à Gram positif en chaînettes, souvent prédominants, par rapport à la flore commensale, dans les prélèvements polymicrobiens, et associés à une réaction inflammatoire à prédominance de polynucléaires neutrophiles plus ou moins altérés.

a.3. Culture : Les prélèvements monomicrobiens sontensemencés sur des milieux enrichis (gélose au sang). Les produits polymicrobiens (prélèvement de gorge) serontensemencés sur gélose sélective (gélose au sang additionnée d'acide nalidixique). L'incubation doit être faite en atmosphère enrichie de 5% de CO₂.

Après culture, la détermination du genre Streptococcus sera faite sur la morphologie et l'absence de catalase. L'identification du SGA sera orientée par l'aspect de l'hémolyse sur gélose au sang (hémolyse β) et sa sensibilité à la bacitracine (mais qui peut manquer). Elle sera confirmée par le groupage sérologique en présence d'immuns sérumspécifiques.

B. RECHERCHE DIRECTE DES ANTIGÈNES À PARTIR DES PRÉLÈVEMENTS DE GORGE

Il permet de faire un diagnostic rapide d'une angine streptococcique à partir d'un prélèvement pharyngé. Il s'agit d'un test rapide qui peut être pratiqué par le praticien avec des valeurs prédictives positives et négatives supérieur à 95%.

C. DIAGNOSTIC DES COMPLICATIONS POST-STREPTOCOCCIQUES

A ce stade de la maladie où le germe n'est plus retrouvé dans la gorge ou sur la peau, le diagnostic indirect met en évidence l'élévation dans le sérum du taux des anticorps élaborés contre les exoprotéines du SGA. Une augmentation franche du taux des ASLO est en faveur d'une infection streptococcique (taux normal < 200UI/ml). Cependant, de faux positifs peuvent être observés en cas d'hyperlipémie ou d'hypercholestérolémie (hyperlipémies essentielles, maladies hépatiques...). Cependant, des faux négatifs peuvent être retrouvés notamment au décours des infections cutanées, d'où l'intérêt de titrer un autre anticorps principalement les ASDOR B avant d'éliminer une infection streptococcique authentique.

2.5 PRÉVENTION

En l'absence de vaccin efficace, le respect des règles d'hygiène est primordial pour empêcher la diffusion de la bactérie. Le traitement des infections streptococciques, le port de masque chirurgical ainsi que la désinfection des mains sont recommandés chez le personnel du bloc opératoire et en salle d'accouchement.

3. STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE (PEUMOCOQUE)

C'est le type même de l'espèce pathogène virulente, bien qu'il existe à l'état de portage sur les muqueuses rhino-pharyngées d'une partie de la population. La virulence de ce germe est liée à la présence d'une capsule qui le rend résistant à la phagocytose.

Outre les infections ORL suppuratives notamment les otites moyennes, ce germe est essentiellement responsable de pneumonies (pneumonie franche lobaire aiguë : PFLA), pleurésies purulentes, méningites, bactériémies ou d'endocardites. La méningite à *Streptococcus pneumoniae* est grave, associée à des séquelles neurologiques et une forte mortalité.

La morbi-mortalité des infections pneumococciques sont plus élevées chez les enfants et les personnes âgées. Le taux de mortalité peut être élevé au cours des septicémies avoisinant les 20% et peut atteindre jusqu'à 50 % pour les méningites dans les pays en développement.

3.1. CARACTÈRES BACTERIOLOGIQUES

A. CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES ET CULTURAUX :

Ce sont des cocci à Gram positif, se présentant sous forme de diplocoques en forme de huit (en flamme de bougie) (Fig6), encapsulés parfois en courtes chaînettes.

Sur gélose au sang, il donne en 24h à 37°C et sous atmosphère enrichie en CO₂ des petites colonies entourées d'une zone d'hémolyse α. Certaines souches de pneumocoques sécrètent une plus grande quantité de capsule, ce qui augmente la taille des colonies et leur donne un aspect muqueux.

B. SUBSTANCES ÉLABORÉES :

b.1. Pneumolysine : c'est une hémolysine intracellulaire apparentée à la streptolysine O du SGA. Elle est libérée lors de l'autolyse du germe. Elle induit une cytolysé des cellules respiratoires et endothéliales permettant l'invasion de l'arbre respiratoire. Elle possède aussi un rôle pro-inflammatoire en se fixant au fragment Fc des IgG.

b.2. Enzymes autolytiques : Elles sont libérées pendant l'autolyse des pneumocoques et contribueraient à leur virulence en assurant la libération de la pneumolysine.

b.3. Protéases : En particulier, l'IgA1 protéase qui clive les immunoglobulines sécrétoires (IgA), compromettant ainsi les défenses de l'hôte au niveau de la muqueuse respiratoire.

b.4. Glycosidases : Les pneumocoques élaborent des glycosidases dont la neuraminidase ; qui jouerait un rôle important dans l'invasion bactérienne notamment au cours des méningites. Elle clive l'acide sialique des glycolipides et des glycoprotéines, composants essentiels de plusieurs tissus et fluides de l'organisme.

b.5. Hyaluronidase et une leucocidine sont également produites par *S. pneumoniae*, mais elles n'ont pas de rôle majeur dans la virulence.

C. STRUCTURES ANTIGÉNIQUES :

c.1. Capsule : Elle représente le facteur de virulence principal de ces germes grâce à ses propriétés anti-opsono-phagocytaires. Elle est antigénique et suscite la formation d'anticorps spécifiques de type permettant de différencier 97 sérotypes. L'étude des sérotypes pneumococciques permet de tracer la distribution des souches comme elle constitue la base de fabrication des vaccins. Toutefois, les anticorps anticapsulaires sont protecteurs mais spécifiques de type.

C.2. Paroi cellulaire :

Elle est composée de substances chimiquement distinctes, superposées de la surface vers l'intérieur, en trois couches séparées :

- Couche protéique qui est spécifique de type et contient les protéines A et B de surface des pneumocoques (PspA et PspB) ; ces protéines jouent un rôle dans l'attachement aux cellules ciliées de l'arbre respiratoire.
- Polyoside C ou substance C, analogue au polyoside des autres streptocoques mais antigéniquement différent. Il diminue l'activité anti-phagocytaire des cellules endothéliales.
- Peptidoglycane.

D. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

S. pneumoniae est naturellement sensible à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif : pénicillines, chloramphénicol, macrolides, lincosamides, synergistines, triméthoprime-sulfamethoxazole. Il présente comme tous les streptocoques une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides.

Actuellement, on voit apparaître de plus en plus de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline, le plus souvent accompagnée d'une multirésistance. Son mécanisme est de type chromosomal et résulte d'un échange entre des fragments de chromosome entre les streptocoques oraux et les pneumocoques présents dans le naso-pharynx. Ce phénomène est responsable de la diminution de l'affinité des PLP. Ce qui entraîne une résistance aux β-lactamines mais qui touche de façon variable les différentes molécules d'où la nécessité dans les infections sévères de déterminer la CMI de la β-lactamine à prescrire pour éviter tout échec thérapeutique. En Tunisie, le taux de PSDP dépasse actuellement les 67%.

3.2. PHYSIOPATHOLOGIE

L'infection pulmonaire commence par une colonisation de la muqueuse bronchique suivie de la multiplication du germe qui rapidement gagne le tissu alvéolaire mal ventilé. Au niveau du foyer infectieux, se produit une réaction inflammatoire intense avec afflux cellulaire et relargage de médiateurs chimiques et de substances chimiotactiques. Le système du complément joue particulièrement un rôle important dans l'immunité naturelle et acquise de l'hôte contre le pneumocoque. *S. pneumoniae* est une bactérie à multiplication extracellulaire. Son pouvoir pathogène est essentiellement lié à sa capsule qui lui confère des propriétés opsonisantes et anti-phagocytaires. Les anticorps de type opsonisant recouvrent la bactérie facilitant son adhésion à la membrane cytoplasmique des macrophages. Ces derniers vont détruire les pneumocoques et le processus de guérison est amorcé.

Les méningites à pneumocoque sont souvent secondaires à une infection ORL ou pulmonaire. Les bactéries vont essaimer par voie sanguine avec envahissement des cellules endothéliales des capillaires cérébraux. Elles franchissent les plexus choroïdes et gagnent l'espace sous-arachnoïdien. Plus rarement, l'infection méningée est secondaire à une effraction des méninges à la suite d'un traumatisme crânien. La multiplication du pneumocoque au niveau de l'espace sous-arachnoïdien entraîne une réaction inflammatoire très intense, formée de très nombreux polynucléaires, de nombreuses protéines de l'inflammation dont le fibrinogène. L'intensité de cette réaction inflammatoire est à l'origine de cloisonnement précoce de l'espace sous-arachnoïdien qui constitue un obstacle à l'écoulement du liquide céphalorachidien à l'origine de séquelles importantes à type d'hydrocéphalie.

3.3. IMMUNITE

A. IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE

En plus des moyens physico-chimiques, notamment le revêtement épithéial cilié, les sécrétions glandulaires et l'inflammation, la rate est capable de phagocytter les pneumocoques en l'absence d'anticorps préexistants. La C-réactive protéine (CRP) est une protéine sérique qui intervient dans la défense anti-pneumococcique en se liant au polyoside C.

B. IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE

L'immunité spécifique au cours des infections pneumococciques est de type humoral ; elle est basée sur la sécrétion d'anticorps spécifiques, de type opsonines qui permettent la phagocytose de ces germes et leur destruction par les enzymes lysosomiales. Ces anticorps, antipolyoside capsulaire, apparaissent 5 à 6 jours après le début de la maladie et persistent plusieurs mois. Ils sont protecteurs mais spécifiques de type.

3. 4. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

A. PRÉLÈVEMENTS : Les prélèvements peuvent être divers selon le site de l'infection (LCR, autres liquides de ponction, hémocultures, crachats, prélèvements distaux protégés, lavages broncho-alvéolaires...). Etant donnée la fragilité du pneumocoque, tous les prélèvements doivent être très rapidement acheminés et ensemencés sur des milieux enrichis.

B. EXAMEN DIRECT ET CULTURE : L'examen microscopique est très évocateur lorsque le germe est retrouvé dans un liquide de ponction normalement stérile comme le LCR. L'examen d'un LCR montre la présence de très nombreux leucocytes ($>1000/\text{mm}^3$) à prédominance de polynucléaires (90%) souvent altérés et les bactéries apparaissent sous forme de diplo-coques Gram positif capsulés et extracellulaires. L'examen chimique montre une hyperprotéinorachie souvent importante associée à une hypoglucorachie.

Après culture sur gélose au sang, le pneumocoque est identifié sur la base de ses caractères culturaux notamment sa sensibilité à l'optochine à la différence des autres streptocoques α hémolytiques.

C. RECHERCHE DE POLYSACCHARIDE C PAR TECHNIQUE IMMUNOCHROMATOGRAPHIE : Dans les cas des pneumonies chez l'adulte, la recherche de polysaccharide C dans les urines ou dans le liquide pleural (si pleuropneumopathie) est recommandée notamment dans les atteintes sévères.

La recherche de polysaccharide C dans le LCR est également recommandée en cas de forte suspicion de méningite pneumococcique avec un examen direct négatif.

D. ANTIBIOPGRAMME : La détection des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) se fait par un disque d'oxacilline : si la souche est sensible à l'oxacilline, elle est sensible à toutes les β-lactamines. Par contre si elle est résistante à l'oxacilline, c'est un PSDP nécessitant alors un recours à la détermination des CMI de la β-lactamine à utiliser en thérapeutique.

3.5. VACCINS ANTIPNEUMOCOCCIQUES

Il existe 97 sérotypes connus de *S. pneumoniae*. La prévalence de ces sérotypes varie selon le pays ou la région du monde, et également selon le groupe d'âge.

Le vaccin antipneumococcique polysaccharidique (Pneumo 23®), constitué d'extraits polyosidiques purifiés des 23 sérotypes capsulaires les plus fréquemment isolés, est non immunogène chez l'enfant du fait de l'immaturité du système immunitaire chez l'enfant de moins de deux ans. Néanmoins, ce vaccin est efficace et continue à être utilisé chez les adultes notamment chez les sujets aspléniques et les enfants de plus de deux ans.

Le vaccin antipneumococcique conjugué à 10 (Synflorix®) ou 13 (Prevnar®) valences peut stimuler de manière efficace le système immunitaire des nourrissons et créer une mémoire immunitaire. En Tunisie, ce vaccin est devenu obligatoire depuis 2019 et doit être administré à 2, 4 et 11 mois.

4. AUTRES GROUPES DE STREPTOCOQUES :

4.1. STREPTOCOCCUS AGALACTIAE OU STREPTOCOQUE DU GROUPE B

Les Streptocoques du groupe B (SGB), bactérie commensale digestive retrouvée chez l'Homme et l'animal sont capsulés et peuvent être responsables chez l'Homme d'infections aigues, comme les infections urinaires, les arthrites septiques, les septicémies notamment chez les immunodéprimés et les infections néonatales. En effet, ce sont des commensaux occasionnels des voies génitales de la femme ; ils peuvent être transmis aux nouveau-nés lors de l'accouchement. Ils peuvent également être transmis par voie ascendante lors d'une rupture prématurée des membranes et sont alors responsables de septicémies et de méningites néonatales tardives et habituellement mortelles en l'absence d'un traitement antibiotique précoce. Une contamination nosocomiale est également possible.

S. agalactiae est reconnu par la morphologie de ses colonies qui sont de taille moyenne, parfois muqueuses ou pigmentées, masquant une zone étroite d'hémolyse de type Ρ. La présence de l'antigène du groupe B reste un caractère constant qui permet la reconnaissance de l'espèce en pratique courante.

Etant donné le risque élevé de transmission au cours de l'accouchement et d'infection néonatale grave, un dépistage systématique chez la femme enceinte est recommandé. Il se fait à partir de la 34ème semaine d'aménorrhée par culture d'un prélèvement vaginal plus au moins associé à un prélèvement rectal. Le dépistage peut également être réalisé par PCR lors de l'accouchement. Un dépistage positif impose une antibioprophylaxie à base d'ampicilline au cours de l'accouchement. En cas d'allergie aux β-lactamines, l'antibioprophylaxie repose sur l'administration de lincosamides en intraveineux.

4.2. STREPTOCOQUES DU GROUPE D

Ils constituent un ensemble hétérogène, appelé complexe «*S. bovis* / *S. equinus* ». Ce sont des espèces commensales de

l'intestin de l'Homme et des animaux qui peuvent aussi être pathogènes. Elles peuvent être responsables d'infections diverses ; à type de septicémies néonatales, d'endocardites, de méningites, d'arthrites, d'ostéomyélite vertébrale et de péritonites. Elles joueraient également un rôle dans la transformation maligne des polypes coliques.

Les streptocoques du groupe D donnent de petites colonies, non pigmentées, qui sont α ou non hémolytiques sur gélose au sang.

Ces streptocoques sont généralement sensibles à la pénicilline G, à l'amoxicilline et aux glycopeptides.

4.3. STREPTOCOQUES ORAUX ET STREPTOCOQUES NON GROUPABLES

Ils représentent un grand nombre d'espèces commensales de la cavité buccale et des muqueuses respiratoires, intestinales et génito-urinaires. Ils sont responsables d'endocardites et de caries dentaires comme ils peuvent occasionner des pneumopathies, des suppurations ou des septicémies en particulier chez les malades neutropéniques.

Ils sont généralement α ou non hémolytiques et ne possèdent pas d'antigène de groupe. Les streptocoques oraux sont généralement sensibles à la pénicilline G et à l'amoxicilline. Des souches de sensibilité diminuée aux pénicillines sont de plus en plus isolées. Par ailleurs, ils présentent un bas niveau de résistance aux aminosides.

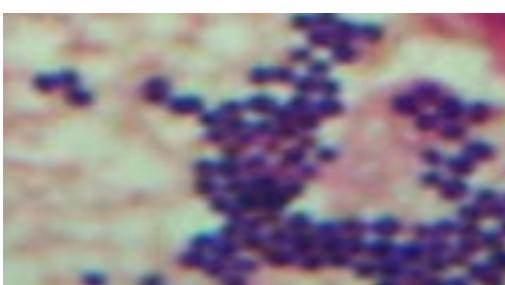
LE GENRE ENTEROCOCCUS

Les entérocoques font partie de la flore normale de l'intestin de l'Homme et de nombreux animaux. Ils peuvent coloniser la bouche, les voies respiratoires supérieures, le vagin ou la région périnéale. Ils sont halophiles et poussent sur milieu contenant 6,5% de NaCl. Ils sont également capables de résister à 30 minutes de chauffage à 60°C. Ce genre comporte actuellement une vingtaine d'espèces, les plus fréquemment isolées en pathologie humaine étant E. faecalis et E. faecium.

Les entérocoques occupent actuellement une place importante en pathologie humaine. Ils sont responsables de nombreuses infections en particulier nosocomiales (infections urinaires, septicémies, endocardites). Ils posent souvent un problème thérapeutique du fait de leur résistance naturelle à la plupart des β -lactamines (oxacilline et céphalosporines), de l'acquisition de haut niveau de résistance aux aminosides. Ils sont généralement sensibles aux glycopeptides. Cependant, des souches résistantes à la vancomycine notamment chez E. faecium sont de plus en plus rapportées dans les infections associées aux soins. L'émergence des entérocoques résistants aux glycopeptides est due à leur utilisation aussi bien en thérapeutique humaine que vétérinaire.

La prévention des infections à ces bactéries est basée sur le respect des règles d'hygiène en milieu hospitalier et le dépistage de leur portage fécal chez les malades fragilisés notamment en réanimation et en onco-hématologie. La résistance naturelle aux céphalosporines chez les entérocoques favorise aussi leur sélection au niveau du tube digestif ce qui impose une rationalisation de l'utilisation de ces antibiotiques pour lutter contre l'émergence de ces bactéries.

ANNEXES



*Fig1: Amas de Staphylococcus après coloration de Gram
(<http://www.microbes-edu.org/>)*



*Fig2 : Colonies de S. aureus sur gélose ordinaire
(<http://www.microbes-edu.org/>)*

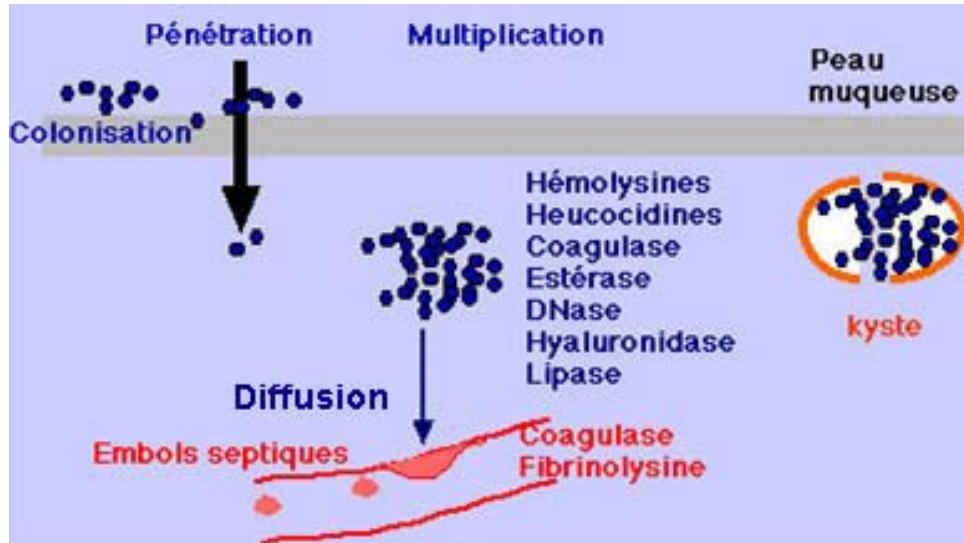


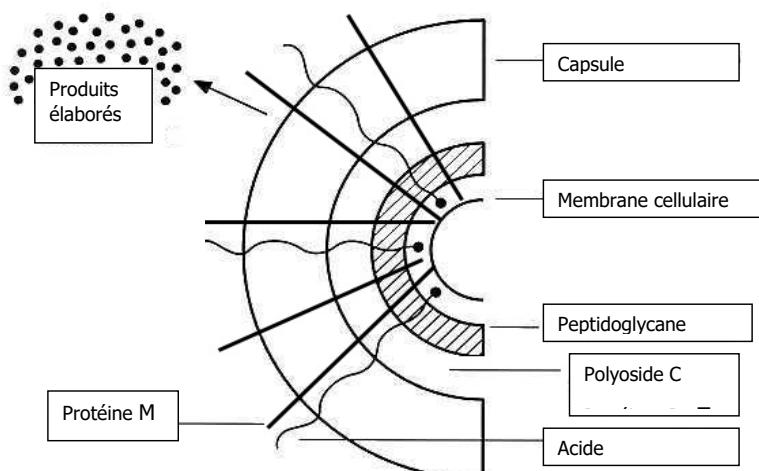
Fig3 : Schéma physiopathologique des infections à *S. aureus*
[\(http://www.microbes-edu.org/\)](http://www.microbes-edu.org/)

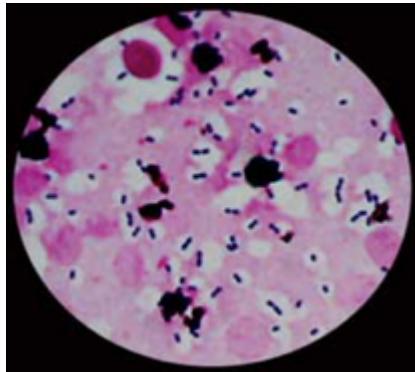
Tableau 1. Classification des streptocoques

Ensemble	Sous-ensemble	espèces	Groupe de Lancefield
Streptocoques pyogènes	Py1	<i>S. pyogenes</i>	
	Py2	<i>S. agalactiae</i>	A
	Py3	<i>S. dysgalactiae...</i>	B
	Py4	<i>S. porcinus...</i>	C ou L
	Py5	<i>S. iniae ...</i>	
Streptocoques oraux	Or1	<i>S. mitis, S. oralis,...</i>	K, O ou NG
	Or3	<i>S. pneumoniae</i>	Nu
	Or4	<i>S. constellatus, anginosus</i>	Variable
	Or5	<i>S. mutans,...</i>	E ou NG
	Or6		
Streptocoques du groupe D		<i>S. bovis,...</i>	D
Autres		<i>S. acidominimus,...</i>	NG



Fig4 : Chaînette de *Streptococcus* après coloration de Gram
[\(http://www.microbes-edu.org/\)](http://www.microbes-edu.org/)





**Fig 6 : Diplocoques de
S. pneumoniae
après coloration de Gram**

LECTURES RECOMMANDÉES

1. https://www.hcsp.fr/docspdf/cshpf/a_mt_181105_streptococcus.pdf
2. https://www.hcsp.fr/docspdf/cshpf/r_mt_0611_streptococcus.pdf
3. J Tierry et al. *Streptococcus pneumoniae*. In J Freney - *Précis de bactériologie clinique*. ESKA2000. pp 835-900.
4. *Streptococcaceae et autres genres apparentés*. In J Freney - *Précis de bactériologie clinique*. ESKA2007. pp 835-90.
5. <http://www.microbes-edu.org/etudiant/etudiants.html>

EVALUATION FORMATIVE

1- La classification des streptocoques en plusieurs groupes est basée sur la spécificité antigénique:

- A- du polyoside C B- de la protéine M
C- de la protéine R D- de la protéine T
E- de la streptolysine O

2- Devant un tableau clinique de RAA, l'étiologie streptococcique de cette complication est recherchée :

- A- isolement du streptocoque au niveau de la gorge B- sérogroupage des streptocoques
C- recherche des anticorps anti-streptococciques D- isolement de la bactérie dans les articulations
E- hémoculture

3- *Streptococcus pneumoniae* est

- A- un cocci Gram positif B- possédant une catalase
C- anaérobiose strict D- souvent en grappes de raisin
E- commensal des voies aériennes supérieures

4- *E. faecalis* est

- A- uncocci gram positif B- possédant une catalase
C- halophile D- sensible à l'optochine
E- souvent résistant à la vancomycine

Réponses :
Question n° 1 : A
Question n° 2 : C
Question n° 3 : A
Question n° 4 : A-C

LES ANTIBIOTIQUES

MECANISMES D'ACTION - MECANISMES DE RESISTANCE - ROLE DU LABORATOIRE DANS LA CONDUITE ET LA SURVEILLANCE D'UN TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Définir un antibiotique et son spectre d'activité.
- 2- Préciser la différence entre la bactéricidie et la bactériostase et leurs conséquences thérapeutiques.
- 3- Citer les mécanismes d'action des différentes familles d'antibiotiques.
- 4- Distinguer les antibiotiques à activité bactériostatique de ceux à activité bactéricide
- 5- Décrire le déterminisme génétique et l'impact clinique de la résistance naturelle et de la résistance acquise.
- 6- Citer les principaux mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.
- 7- Décrire les principes de l'étude *in vitro* de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques.
- 8- Réaliser une lecture critique du résultat de l'antibiogramme pour pouvoir orienter le choix antibiotique.
- 9- Préciser l'apport de l'étude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques à l'échelle du malade et de la collectivité.
- 10- Décrire la conduite pratique pour contrôler l'efficacité d'une antibiothérapie.

Connaissances préalables requises

1. La cellule bactérienne
2. La génétique bactérienne

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Depuis la découverte de la pénicilline G en 1928 par Fleming, des sulfamides en 1935 par Domagk et de la streptomycine en 1944 par Waksman, des centaines de molécules ont été découvertes et mises sur le marché. Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries ont développé de très nombreux mécanismes de résistance associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser. Le caractère évolutif de la résistance acquise rend son étude indispensable et ce pour un meilleur usage des antibiotiques.

Jusqu'aux années 1990, de nouveaux antibiotiques étaient développés pour remplacer les plus anciens qui devenaient inefficaces. Cependant, l'innovation de l'Homme ne peut plus devancer les l'émergence et la diffusion des bactéries résistantes voire multirésistantes. Il y a actuellement une pénurie de nouveaux antibiotiques car de moins en moins de laboratoires pharmaceutiques se lancent dans le développement de ces molécules. Les derniers antibiotiques développés sont soit des dérivés d'anciennes molécules (telle que la tigécycline) ou des associations d'antibiotiques (telle que ceftazidime – avibactam).

L'OMS, alarmée par la crise de la résistance aux antibiotiques, a adopté en 2015, un plan d'action mondial pour combattre cette résistance. Ce plan, basé sur le principe « un mode, une santé » (*one health*), implique une coordination de nombreux secteurs, parmi lesquels la médecine humaine et vétérinaire, l'agriculture, l'environnement et des consommateurs bien informés. En Tunisie, un plan d'action national a été validé et approuvé en 2019. Sa mise en application est d'une extrême urgence pour lutter contre l'émergence et la diffusion des bactéries multirésistantes (BMR).

1. DÉFINITION D'UN ANTIBIOTIQUE

Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse ou semi-synthèse, dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux des **bactéries**.

Pour agir un antibiotique doit pénétrer la paroi bactérienne, résister aux éventuelles enzymes bactériennes, trouver sa cible d'action et persister à concentration suffisante au contact de cette dernière.

Les antibiotiques qui inhibent la croissance bactérienne sont dits **bactériostatiques** ; ceux qui détruisent la bactérie sont **bactéricides**. Au cours des infections graves et chez les malades immunodéprimés les antibiotiques prescrits doivent avoir un effet bactéricide rapide. Chez les malades immunocompétents et lorsque l'infection n'est pas grave, des antibiotiques bactériostatiques peuvent être prescrits.

2. SPECTRE D'ACTIVITÉ D'UN ANTIBIOTIQUE

C'est l'ensemble des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique est susceptible d'agir. Certains antibiotiques agissent sur la majorité des espèces pathogènes Gram+ ou Gram- : ils sont dits « **à large spectre** », d'autres ont une action plus limitée soit sur les Gram+, soit sur les Gram-, ils sont dits « **à spectre étroit** », voire sur une espèce bactérienne (antibiotiques anti-staphylococciques, antibiotiques anti-pyocyaniques...) ; ils sont dits « **à spectre spécifique** ».

3. CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES

La classification des antibiotiques en familles est basée sur leur structure chimique de base d'où découle un mécanisme d'action commun. Cette classification permet d'individualiser une vingtaine de familles distinctes : les β-lactamines, les glycopeptides, la fosfomycine, les antituberculeux, les aminosides, les tétracyclines, les phénicolés, les macrolides, les kétolides, les lincosamides, les synergistines, les oxazolidinones, l'acide fucidique, les polymyxines, les lipopolypeptides cycliques, les quinolones, les rifamycines, les sulfamides, les nitro-imidazoles et les nitrofuranes.

4. MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

Schématiquement l'action des antibiotiques sur les bactéries se fait selon 4 mécanismes principaux :

- L'inhibition de la synthèse des constituants de la paroi
- L'inhibition de la synthèse des protéines
- L'inhibition de la synthèse des acides nucléiques (et inhibition de la synthèse des folates)
- L'altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique

4.1. ANTIBIOTIQUES INHIBANT LA SYNTHÈSE DES CONSTITUANTS DE LA PAROI

Ils regroupent 3 familles d'antibiotiques (β-lactamines, glycopeptides et fosfomycine), tous bactéricides.

a. Les β-lactamines

Cette famille comprend un nombre très important de molécules qui sur le plan structural sont toutes caractérisées par la présence d'un cycle β-lactame. Selon la nature des radicaux liés à leur structure de base ont distingué 3 sous groupes :

1- Les dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique

- a- Pénicillines (Pénicilline G, Pénicilline M, Amino, Carboxy, Uréido et Amidino-pénicillines)
- b- Carbapénèmes
- c- Clavames : inhibiteurs des b-lactamases / acide clavulanique

2- Les dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique : les Céphalosporines qui selon leur spectre d'activité sont réparties en 5 générations.

3- Les monobactames (Aztreoname)

La plupart des β-lactamines sont actifs aussi bien sur les bactéries Gram+ que Gram-. Certaines ont un spectre limité aux cocci Gram+ (pénicilline G) ou même à un genre bactérien (pénicillines anti-staphylococciques) (Tableau 1).

Les β-lactamines agissent en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, constituant essentiel de la paroi. Ils se fixent de façon covalente sur des protéines insérées sur la face externe de la membrane cytoplasmique : les PLP (protéines liant la pénicilline) ou PBP (Penicillin Binding Proteins).

B. LES GLYCOPEPTIDES (VANCOMYCINE, TEICOPLANINE)

Les glycopeptides sont actifs uniquement sur les bactéries Gram+ (staphylocoques, streptocoques). Ils inhibent la synthèse du peptidoglycane.

C. LA FOSFOMYCINE

La fosfomycine inhibe l'une des premières étapes de la synthèse du peptidoglycane. Elle agit sur un grand nombre d'espèces bactériennes Gram+ et Gram-.

4.2. ANTIBIOTIQUES INHIBANT LA SYNTHÈSE DES ACIDES MYCOLOGIQUES

Les acides mycoliques sont des constituants caractéristiques des mycobactéries. L'isoniazide, l'éthionamide et le pyrazinamide inhibent la synthèse des acides mycoliques. Ils agissent exclusivement sur les mycobactéries et sont des antibiotiques bactéricides. L'éthambutol n'inhibe pas la synthèse des acides mycoliques mais empêche leur transfert à travers la membrane cytoplasmique vers la paroi, son action est bactériostatique.

4.3. ANTIBIOTIQUES INHIBANT LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE

Les inhibiteurs de la synthèse protéique agissent au niveau des ribosomes et doivent donc pénétrer à l'intérieur de la cellule bactérienne.

a. Les aminosides (Gentamicine, Kanamycine, Tobramycine, Amikacine)

Ce sont des antibiotiques bactéricides à large spectre, actifs sur de nombreuses bactéries (Gram+ et Gram-). Le franchissement de la membrane cytoplasmique est un phénomène de transport actif faisant intervenir la chaîne de transporteurs d'électrons. Ainsi, les bactéries anaérobies, les streptocoques et les entérocoques ayant une chaîne de transporteurs d'électrons incomplète sont naturellement résistants aux aminosides ; il s'agit d'une résistance naturelle de bas niveau. Dans ce cas, l'association à un aminoside d'un antibiotique agissant au niveau de la paroi bactérienne est synergique et bactéricide. Pour les souches appartenant aux genres bactériens suscités ayant acquis une résistance de haut niveau aux aminosides, l'association devient inactive et donc inutile.

B. LES MACROLIDES, KÉTOLIDES – LINCOSAMIDES – STREPTOGRAMINES

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (dits MLS) bien que de structure chimique différente sont apparentés par leur spectre d'activité et leur mécanisme d'action proches. L'érythromycine est le chef de file des macrolides, la clindamycine celle des lincosamides. Les MLS ont un spectre limité comprenant les bactéries *Gram+*, *les cocci Gram-*, *Legionella*, *Campylobacter*, *Chlamydiae*, *mycoplasmes*, *Bacteroïdes*, *Fusobacterium*. La résistance de la plupart des bactéries Gram+ est due à une imperméabilité membranaire. Ils sont bactériostatiques.

Les streptogramines ou synergistines utilisées en thérapeutique (telle que la pristinamycine) sont formées de deux composants A et B. Elles agissent en synergie et sont bactéricides.

Les kétolides constituent une classe de composés antibiotiques dérivés semi-synthétiques de l'érythromycine. Le seul kétolide, disponible sur le marché actuellement est la téthromycine.

Il a une meilleure pharmacocinétique et est actif sur les souches ayant acquis une résistance de phénotype MLS_B (Cf page 10).

C. LES TÉTRACYCLINES: Ce sont des antibiotiques bactériostatiques actifs sur les bactéries Gram- et Gram+ ainsi que sur les Chlamydiae, mycoplasmes et rickettsies. Ils ont la particularité de se concentrer en intracellulaire ; D'où leur efficacité dans le traitement des infections à bactéries à multiplication intracellulaire.

D. LE CHLORAMPHÉNICAL ET SES DÉRIVÉS: Antibiotiques bactériostatiques actifs sur la plupart des bactéries Gram+ et Gram-. Ils sont délaissés pour leur hémato-toxicité.

E. L'ACIDE FUSIDIQUE: Antibiotique bactériostatique, actif uniquement sur les staphylocoques.

F. LES OXAZOLIDINONES

Ils constituent une nouvelle classe d'agents antibactériens bactériostatiques qui agissent sur les bactéries Gram+. Le linézolid est le premier dérivé à avoir été développé pour la clinique.

4.4. ANTIBIOTIQUES INHIBANT LA SYNTHÈSE DES ACIDES NUCLÉIQUES :

A. LES RIFAMYCINES

Ce sont des antibiotiques bactéricides. Ils pénètrent bien dans les cellules et agissent donc sur les bactéries à multiplication intracellulaire. Deux produits sont utilisés en thérapeutique:

- La rifamycine active sur les bactéries Gram+ et les cocci à Gram-.
- La rifampicine a un spectre plus large, étendu à certains bacilles Gram-: quelques entérobactéries, mais surtout Brucella, Legionella, Bacteroides. Elle est active sur S. aureus à de très faibles concentrations. Il s'agit d'un antituberculeux majeur qui a une activité remarquable sur les mycobactéries, en particulier M. tuberculosis. En Tunisie, pays où la tuberculose sévit selon un mode endémique, la rifampicine est préservée pour le traitement anti-tuberculeux.

B. LES QUINOLONES ET FLUOROQUINOLONES

Cette famille d'antibiotiques connaît actuellement un développement important. Ce sont des antibiotiques bactéricides.

Deux groupes peuvent être distingués:

- Les produits les plus anciens dont le chef de file est l'acide nalidixique ne sont actifs que sur les bacilles Gram-, en particulier les entérobactéries.
- Les produits les plus récents ou fluoroquinolones (Ofloxacin, ciprofloxacine, lévofloxacine...) caractérisés par la présence d'un ou de plusieurs atomes de fluor ont une activité plus importante et un spectre plus large qui comprend outre les entérobactéries, Pseudomonas, Acinetobacter, les cocci Gram- (Neisseria), les cocci Gram+ en particulier S. aureus. Certains de ces produits sont actifs sur les mycobactéries, les mycoplasmes, les chlamydias.

C. LES NITROIMIDAZOLES

Outre leur activité antiparasitaire, ils possèdent une activité antibactérienne bactéricide limitée aux bactéries anaérobies essentiellement les espèces à Gram négatif (*Bacteroides*, *Fusobacterium*).

D. LES NITROFURANES

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques actifs sur un grand nombre d'espèces bactériennes à l'exception des Pseudomonas et Acinetobacter.

En raison de leur pharmacocinétique (élimination rapide par voie urinaire pour certains et non absorption par voie digestive pour d'autres), les nitrofuranes ne sont utilisés que pour traiter des infections urinaires simples ou les infections intestinales.

E. LES SULFAMIDES

Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre d'activité. Ils inhibent la synthèse des folates. Certains sont absorbés par voie digestive et éliminés principalement dans les urines, d'autres ne sont pas absorbés par tractus digestif.

F. LE TRIMÉTHOPRIME

C'est un antibiotique bactériostatique dont le spectre d'activité est limité aux cocci Gram+ et à certains BGN. Il inhibe également la synthèse des folates.

Les sulfamides et le triméthoprime sont souvent prescrits en association. L'effet de cette dernière est synergique et bactéricide.

4.5. ANTIBIOTIQUES AGISSANT SUR LES ENVELOPPES MEMBRANAIRES

A. LES POLYMYXINES

Ce sont des antibiotiques bactéricides. Deux produits sont utilisés en thérapeutique : la polymyxine B et la polymyxine E ou colistine. Ils sont actifs uniquement sur les BGN, exception faite des *Proteae* et de *Serratia*.

B. LES LIPOPEPTIDES CYCLIQUES

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques, actifs sur de nombreux germes Gram positif. Ils trouvent tout leur intérêt chez les bactéries multirésistantes telles que les entérocoques résistants à la vancomycine ou les staphylocoques résistants à la méticilline. Une seule molécule est utilisée en thérapeutique : la daptomycine.

5. MÉCANISMES DE RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

5.1. GÉNÉRALITÉS

La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être naturelles ou acquises. La **résistance naturelle** est un caractère présent chez toutes les bactéries appartenant à la même espèce. De déterminisme chromosomique, elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques. La **résistance acquise** par contre n'intéresse que quelques souches d'une espèce donnée. Elle s'est développée avec l'utilisation large des antibiotiques qui crée une pression de sélection et favorise l'émergence des souches résistantes. Elle touche presque toutes les espèces pathogènes pour l'Homme. Cette résistance acquise est sous la dépendance de facteurs génétiques. La connaissance des mécanismes biochimiques et du support génétique de la résistance permet :

- Sur le plan médical, de guider les choix thérapeutiques et la politique d'usage des antibiotiques.
- Sur le plan de l'industrie pharmaceutique, la synthèse de nouvelles molécules réfractaires à certains types de résistance.

La sélection des mécanismes de résistance se produit parfois directement chez les bactéries pathogènes au sein des foyers infectieux. Toutefois, la sélection des mécanismes de résistance a plus souvent lieu au sein des nombreuses populations bactériennes commensales qui composent les écosystèmes des sujets traités et qui transfèrent ensuite leur résistance *in vivo* aux bactéries pathogènes. Ce mécanisme en deux temps, véritable effet secondaire de l'antibiothérapie, est particulièrement inquiétant car il se produit lors de chaque administration d'antibiotique, quelle qu'en soit la raison. Il retentit, à court, moyen et probablement long terme sur la composition des écosystèmes, justifiant pleinement son appellation « d'impact écologique » dont il faudra tenir compte dans la définition et la mise en œuvre des stratégies antibiotiques.

5.2. DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA RÉSISTANCE

La résistance bactérienne acquise résulte soit d'une mutation chromosomique, soit de l'acquisition d'éléments génétiques mobiles (plasmides, intégrons ou transposons).

A. RÉSISTANCE PAR MUTATION CHROMOSOMIQUE

Elle présente tous les caractères des mutations: spontanéité, rareté, transmission à la descendance, spécificité et indépendance.

Les mutations chromosomiques affectent essentiellement la structure de la paroi bactérienne et entraînent une imperméabilité de la paroi avec pour conséquence une co-résistance à plusieurs antibiotiques. Ceci impose de toujours prescrire les antibiotiques concernés en association avec d'autres antibiotiques pour éviter la sélection de mutants résistants en cours de traitement.

B. RÉSISTANCE PAR ACQUISITION DE GÈNES

Elle concerne la majorité des cas de résistance observés en clinique et la quasi totalité des antibiotiques à l'exception des furanes, de l'acide fusidique, de la fosfomycine et des rifampicines.

5.3. MÉCANISMES DE RÉSISTANCE AUX PRINCIPALES FAMILLES D'ANTIBIOTIQUES

La résistance bactérienne aux antibiotiques peut être la conséquence de 4 mécanismes: une inactivation enzymatique de l'antibiotique, une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique, une modification ou une hyperproduction de la cible de l'antibiotique ou une substitution de la cible.

A. INACTIVATION ENZYMATIQUE DE L'ANTIBIOTIQUE

Les bactéries peuvent produire des enzymes qui hydrolysent l'antibiotique avant qu'il n'atteigne sa cible. C'est le mécanisme de résistance le plus fréquent vis-à-vis des β-lactamines et des aminosides.

a.1. β-lactamases

Les β-lactamases sont des enzymes bactériennes qui hydrolysent le cycle β-lactame entraînant une inactivation des β-lactamines. Ces β-lactamases sont codées par des gènes chromosomiques ou par des éléments génétiques mobiles. Les gènes chromosomiques sont non transférables et spécifiques. Par contre, les gènes plasmidiques ou liés à un transposon peuvent être transférés entre souches de même espèce ou d'espèces différentes.

Schématiquement les β-lactamases peuvent être individualisées en pénicillinasées, céphalosporinases et carbapénémases.

- Les **pénicillinasées** retrouvées chez les bactéries Gram+ et Gram- ont pour substrats: les pénicillines G, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines et sont inhibées par les inhibiteurs de β-lactamases (tels que l'acide clavulanique et le tazobactam). Certaines pénicillinasées, les β-lactamases à spectre étendu (**BLSE**) peuvent hydrolyser toutes les β-lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes. La détection en routine des BLSE est indispensable pour des objectifs thérapeutiques et épidémiologiques (mesure d'hygiène et d'isolement).

- Les **céphalosporinases** sont retrouvées uniquement chez les BGN. Elles sont naturellement produites par certaines entérobactéries (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*...) et certains BGN non fermentants (*P. aeruginosa*). A leur plus bas niveau, elles hydrolysent les C1G et certaines C2G mais aussi les pénicillines G et les amino-pénicillines, et sont insensibles à l'action des inhibiteurs de β -lactamases. Lorsqu'elles sont hyper-produites, suite à des mutations chromosomiques, elles hydrolysent également les C3G, mais pas les C4G. D'où l'importance de ne pas prescrire une C3G en monothérapie pour le traitement des infections à BGN producteurs d'une céphalosporinase naturelle car il y a un risque de sélection de mutants résistants. Elles peuvent par ailleurs, être acquises via des éléments génétiques mobiles et sont dans ce cas souvent hyperproduites.

- Les **carbapénémases** retrouvées uniquement chez les BGN ; elles peuvent hydrolyser toutes les β -lactamines causant de véritables problèmes thérapeutiques.

a-2- Aminosides

L'inactivation enzymatique peut concerner un ou de plusieurs aminosides à la fois.

B. DIMINUTION DE LA CONCENTRATION INTRACELLULAIRE DE L'ANTIBIOTIQUE

Elle peut être due soit à une diminution de la perméabilité membranaire, spécifique des bactéries à Gram négatif et liée à des mutations chromosomiques, soit à une activation des pompes à efflux membranaires qui éjectent l'antibiotique avant qu'il n'atteigne sa cible. Ces mécanismes peuvent entraîner des résistances croisées à plusieurs familles d'antibiotiques.

C. MODIFICATION OU HYPERPRODUCTION DE LA CIBLE

c-1-Pour les β -lamines, il peut s'agir d'une modification de structure d'une PLP essentielle entraînant une réduction de son activité [exemple : pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP)] ou de l'augmentation importante de la synthèse d'une PLP essentielle de façon qu'elle ne peut être saturée que par une quantité plus importante d'antibiotique [exemple : *E. faecium* résistants aux aminopénicillines].

c-2- Les entérocoques, essentiellement *E. faecium*, peuvent acquérir une résistance aux glycopeptides par modification de la cible. En Tunisie, la résistance acquise à la vancomycine est rare et n'est pas obligatoirement croisée avec la teicoplanine.

c-3- Pour les MLS (Macrolides – Lincosamides – Streptogramines), le mécanisme de résistance acquise le plus fréquent consiste en une modification de la cible ayant pour conséquence une réduction de l'affinité des MLS pour le ribosome. Ce type de résistance est croisé pour les macrolides, les lincosamides, les streptogramines B (MLSb). Cependant, l'association streptogramine A et B reste synergique et bactéricide chez les streptocoques alors qu'elle devient seulement bactériostatique chez les staphylocoques.

c-4- Il s'agit également du mécanisme de résistance acquise le plus fréquent, pour l'acide fusidique, les rifamycines, les quinolones et les fluoroquinolones.

D- SUBSTITUTION DE LA CIBLE

d-1- Pour les β -lactamines, une nouvelle cible se substitue à une ou plusieurs PLP essentielles et dont l'affinité pour l'antibiotique est faible, voire nulle [exemple : résistance à la méticilline chez *S. aureus*].

d-2- Il s'agit également du mécanisme de résistance acquise le plus fréquent, pour les sulfamides et le triméthoprime.

E- TOLÉRANCE

Elle se définit comme l'aptitude d'une bactérie à résister à l'action bactéricide d'antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne alors que l'action bactériostatique reste inchangée. Elle est observée essentiellement chez les bactéries Gram+ (*S. aureus*, streptocoques) vis à vis des antibiotiques qui interfèrent avec la biosynthèse de la paroi : β -lactamines, vancomycine, fosfomycine.

6. ÉTUDE AU LABORATOIRE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES ANTIBIOTIQUES

6.1. GÉNÉRALITÉS

En raison des phénomènes de résistance acquise, le choix d'un traitement antibiotique ne peut être fait en se basant uniquement sur le spectre d'activité des antibiotiques. L'étude *in vitro* de la sensibilité de la souche responsable de l'infection nécessite que la souche soit isolée. Ceci conduit à souligner l'importance des prélèvements bactériologiques qui doivent être effectués avant tout traitement antibiotique et dans des conditions rigoureuses d'asepsie.

A l'échelle individuelle, l'étude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques servira à évaluer, voire ajuster l'antibiothérapie prescrite. L'analyse des données globales sur la sensibilité bactérienne aux antibiotiques permettra d'identifier l'écologie bactérienne locale afin de mieux guider l'antibiothérapie de première intention.

6.2. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

A. CONCENTRATION MINIMALE INHIBitrICE (CMI)

a.1. Définition

C'est la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber dans un milieu de culture en 18 à 24h la multiplication des bactéries. La détermination de la CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes.

Une souche est dite « sensible » à un antibiotique lorsque la CMI de celui-ci est nettement inférieur à la concentration sanguine obtenue après l'administration de l'antibiotique à une dose habituellement utilisable en thérapeutique. Elle est dite « résistante » lorsque la CMI est trop élevée pour être atteinte in vitro sans utiliser des doses toxiques.

Si la CMI se situe entre les deux extrêmes la souche est dite « intermédiaire » c'est à dire que sa multiplication ne peut être inhibée in vivo qu'avec des doses élevées de l'antibiotique ; sans atteindre les doses toxiques ou si l'antibiotique se concentre au siège de l'infection.

a.2. Détermination de la CMI

Elle peut être réalisée par une méthode de dilution ou par une méthode de diffusion. Quelle que soit la méthode utilisée, elle doit être effectuée dans des conditions standardisées (milieu de culture Mueller Hinton, inoculum bactérien égal à 106 germes/ml...) en suivant les recommandations internationales. En Tunisie, les normes suivies sont celles de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), régulièrement mises à jour (<http://www.eucast.org/>).

La **Méthode de dilution en milieu liquide** est la méthode de référence. A des dilutions croissantes d'un antibiotique distribué sous un volume constant, on ajoute le même volume d'une culture de la bactérie à tester. Après une incubation à 37°C pendant 18 à 24h, la plus faible concentration de l'antibiotique qui inhibe toute croissance visible du germe correspond à la CMI.

B- MÉTHODE DE DIFFUSION EN MILIEU GÉLOSÉ: L'ANTIBIOGRAMME :

La détermination des CMI en milieu liquide est très laborieuse et ne peut être utilisée en « routine » pour la détermination de l'activité d'un grand nombre d'antibiotiques sur toutes les souches isolées au laboratoire. Ainsi, une méthode plus rapide de diffusion en gélose appelée antibiogramme est utilisée ; elle permet de déterminer, de façon approximative la CMI.

A la surface d'une gélose Mueller Hinton coulée en boîte de pétri, onensemence uniformément une suspension d'une culture de la bactérie à tester, puis on dépose des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie des différents antibiotiques. A partir du disque, l'antibiotique diffuse en rayon dans la gélose. Après incubation 18h à 37°C, les disques apparaissent entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet d'estimer la CMI: en effet, la multiplication du germe s'arrête lorsqu'il rencontre dans la gélose une concentration d'antibiotique égale à la CMI.

Pour chaque antibiotique, il existe une relation entre la valeur du diamètre d'inhibition et celle de la CMI. Cette relation est établie sur des courbes de concordance tracées après des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des espèces bactériennes différentes.

C-LECTURE INTERPRÉTATIVE DE L'ANTIBIOGRAMME :

La lecture brute des diamètres d'inhibition est parfois insuffisante pour une catégorisation des souches bactériennes en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). Une lecture interprétative, se basant sur la connaissance approfondie des mécanismes de résistance acquise et des procédés techniques utilisés pour les détecter, est nécessaire afin de corriger certains résultats S en lecture brute en I ou R et d'éviter un risque d'échec thérapeutique.

NB : Pour certains couples bactéries / antibiotiques, l'antibiogramme ne donne pas de résultats fiables ; il devient impératif de déterminer la CMI par la méthode de référence (Exemples : Staphylocoques et glycopeptides, pneumocoque et bêta-lactamines).

c-1-Production de pénicillinase chez S. aureus : La méthode de diffusion en milieu gélosé, utilisant un disque de pénicilline G, est plus fiable que la détermination de la CMI pour la détection de souches productrices de pénicillinase. Cette dernière confère une résistance aux pénicillines et est restituée par l'action des inhibiteurs de bêta-lactamases (tel que l'acide clavulanique).

c-2-Détection de S. aureus résistant à la méticilline (SARM) : Elle se fait par un disque de céfoxidine. Si la souche est sensible à la céfoxidine, elle est sensible à la méticilline. Par contre, lorsqu'elle est résistante à la céfoxidine, il s'agit d'un SARM résistant à toutes les bêta-lactamines, sauf les C5G (ceftaroline).

c-3- Détection de la résistance aux glycopeptides chez les staphylocoques : La méthode de référence pour la détermi-

tion des CMI des glycopeptides est la microdilution en milieu liquide. La détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit pas être réalisée par diffusion en milieu gélosé.

c-4- Production de pénicillinase chez les BGN : Naturelle chez certaines entérobactéries (*Klebsiella* sp.), la production de pénicillinasées chez les BGN est souvent acquise, de support plasmidique. Elle confère une résistance aux amino-uréido et carboxy-pénicillines et est restituée par l'action des inhibiteurs de bêta-lactamases (tel que l'acide clavulanique).

c-5- Détection de BLSE : Elle est systématique en routine. Elle se fait sur l'antibiogramme standard par le test de double synergie entre deux disques ; une céphalosporine / céfotaxime, ceftazidime, céfèpime et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex. amoxicilline-acide clavulanique). La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne » (Figure 1). Ce résultat est à communiquer au médecin traitant pour des objectifs autres que thérapeutiques (épidémiologie, mesure d'hygiène et d'isolement), à cause du risque de diffusion par manuportage de ces bactéries multirésistantes.

Certains isolats bactériens qui produisent des BLSE sont catégorisés «sensibles» aux C3G et aux C4G et doivent être rapportés comme tels ; la présence d'une BLSE n'interfère pas sur la catégorisation de l'isolat clinique.

Aussi, les entérobactéries productrices de BLSE peuvent être catégorisées «sensibles» aux pénicillines associées aux inhibiteurs de β-lactamases tel que l'acide clavulanique ou le tazobactam. Si l'utilisation d'une de ces associations est retenue pour le traitement, la confirmation de cette sensibilité doit être faite par la détermination de la CMI de l'association retenue, si l'infection à traiter est autre qu'une infection du tractus urinaire. Lorsque ces souches sont catégorisées S pour une C3G ou une C4G, la confirmation de cette sensibilité doit être faite par la détermination de la CMI quelque soit le type d'infection.

c-6- Détection de carbapénémases chez les entérobactéries : Il faut considérer comme suspecte toute souche de sensibilité diminuée (I/R) à au moins l'une des carbapénèmes. L'ertapénème est la carbapénème qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des carbapénémases.

c-7- Pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP): Seul un disque d'oxacilline est testé pour le dépistage des PSDP. Devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-1 < 20 mm), en cas d'infection sévère ou d'échec clinique, il y a lieu de déterminer la CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime).

c-8- Recherche de la sensibilité aux fluoroquinolones chez le pneumocoque : Elle se fait à l'aide d'un disque de norfloxacine. Si le diamètre autour du disque de norfloxacine est ≥10 mm, la souche est caractérisée sensible à la lévofloxacine et à la moxifloxacine. Si le diamètre autour du disque de norfloxacine est <10 mm, la lévofloxacine et à la moxifloxacine sont interprétées de sensibilité diminuée avec la remarque « il existe un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique ».

D. CONCENTRATION MINIMALE BACTÉRICIDE (CMB)

d.1. Définition

C'est la plus faible concentration d'antibiotique détruisant après 18h de contact à 37°C 99,99% d'une population bactérienne.

d.2. Détermination

La détermination de la CMB s'effectue par la méthode de dilution en milieu liquide, analogue à celle employée pour la détermination de la CMI, mais elle nécessite un dénombrement des bactéries avant et après contact avec l'antibiotique.

Pour un antibiotique donné, si la CMB pour une souche bactérienne est proche de la CMI (CMB/CMI = 1 ou 2) et donc peut être facilement atteinte dans le sang par un traitement aux doses habituelles, l'antibiotique est dit bactéricide. Par contre, si la CMB est loin de la CMI (CMB/CMI = 4 à 16) et donc difficilement atteinte par une antibiothérapie aux doses usuelles, l'antibiotique est dit bactériostatique.

E. MODALITÉS PRATIQUES DE SURVEILLANCE DE L'EFFICACITÉ D'UN ANTIBIOTIQUE

La surveillance de l'efficacité d'un traitement antibiotique nécessite une réévaluation régulière, précoce (surtout dans les formes graves) et systématique. Dans la majorité des cas, à 48-72H, sur le plan clinique (régression de la fièvre et des signes liés à l'infection) et parfois microbiologique (contrôle des prélèvements initiaux positifs), biologique (régression du syndrome inflammatoire) et radiologique (disparition, décalée dans le temps, des éventuelles anomalies en rapport avec l'infection).

En cas d'efficacité, il est souhaitable, si possible, de modifier le traitement initial pour passer :

- à un antibiotique également efficace, mais à spectre plus étroit, moins coûteux et dont la tolérance est au moins identique,
- de la bithérapie à la monothérapie,
- de la voie injectable à la voie orale.

En cas d'inefficacité, il faut envisager les causes d'échec suivantes :

- Echec microbiologique :
 - o présence d'une bactérie autre que celle anticipée
 - o présence d'une bactérie présentant une résistance non anticipée
 - survenant généralement plus tardivement que 48-72h.
 - favorisée si inoculum important ou présence de corps étranger.
 - plus fréquente avec certaines bactéries (Staphylococcus sp, Pseudomonas sp,...) et surtout avec certains antibiotiques (rifampicine, fosfomycine, acide fusidique ou fluoroquinolones) lorsqu'ils sont prescrits en monothérapie.
 - o nature non bactérienne, voire non infectieuse, de l'affection.
- Echec pharmacologique (posologie insuffisante, défaut d'observance ou d'absorption, interaction chimique ou médicamenteuse, diffusion insuffisante au site de l'infection).
- Echec stratégique par défaut d'attitude chirurgicale (abcès, collection non drainée, corps étranger).

LECTURES RECOMMANDÉES

1. <http://www.microbes-edu.org/etudiant/etudiants.html>

EVALUATION FORMATIVE

1- Questions à choix de réponse type association

- | | |
|------------------------|---|
| A- β -lactamines | 1- agissent sur la synthèse des protéines |
| B- Aminosides | 2- agissent sur la synthèse des acides nucléiques |
| C- Rifamycines | 3- agissent sur la membrane cytoplasmique |
| D- Polymyxines | 4- agissent sur la synthèse de la paroi |
| E- Tétracyclines | |
| F- Macrolides | |
| G- Quinolones | |

2- La résistance de S. aureus à la méticilline :

- A- est due à la sécrétion d'une pénicillinase
- B- est acquise par mutation chromosomique
- C- est restituée par l'action de l'acide clavulanique
- D- est croisée à toutes les pénicillines et céphalosporines
- E- est détectée par un disque de céfotaxime

3- Citer 3 mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.

4- Devant un malade atteint d'une méningite à pneumocoque, citer les examens bactériologiques à demander au laboratoire pour prescrire une antibiothérapie adaptée et efficace.

5- Définir la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique pour un germe donné.

6- Lire attentivement l'antibiogramme ci-joint d'une souche de *S. aureus* isolée à partir d'une hémoculture d'un patient souffrant d'une bactériémie. Associer à chaque antibiotique la famille à laquelle il appartient et interpréter la sensibilité de cette souche aux antibiotiques.

ANTIBIOPGRAMME (STAPHYLOCOCCUS AUREUS)

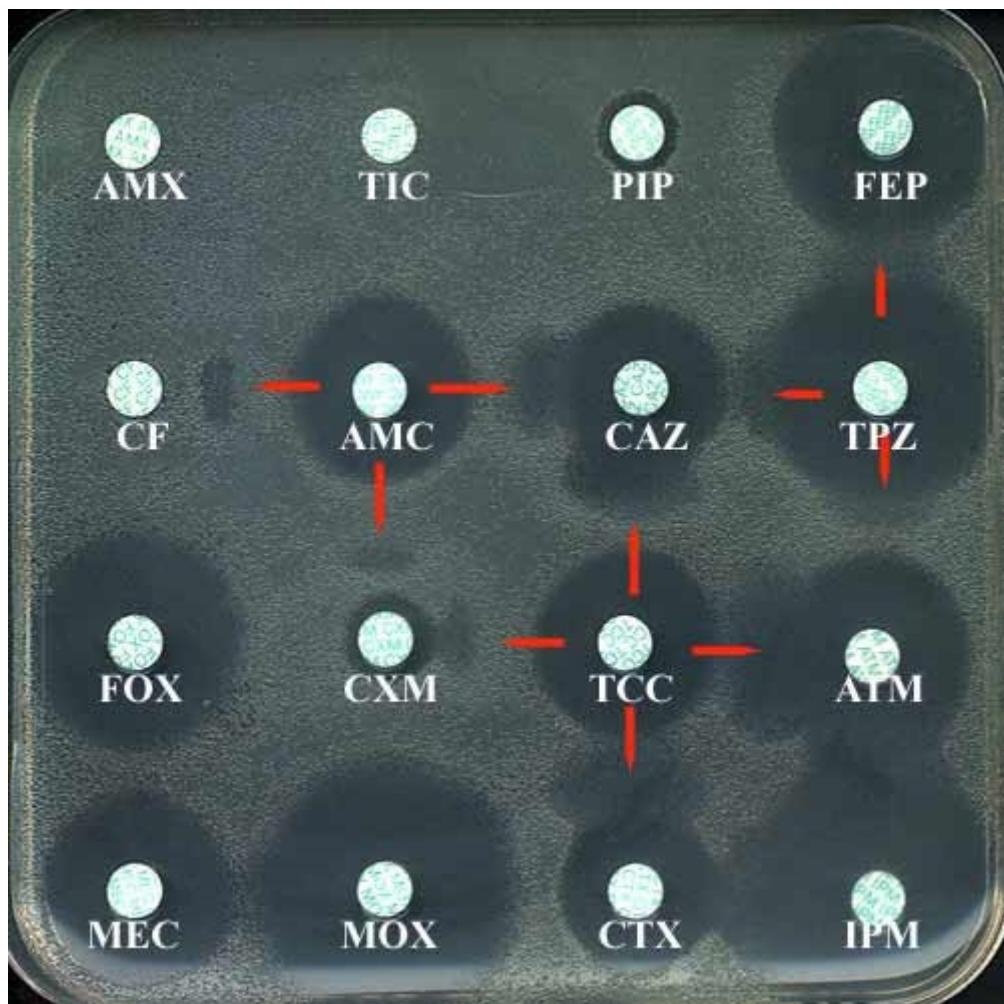
Antibiotique	Famille d'antibiotique	Diamètre Critique (mm)	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation
PENICILLINE G		≥26	06	
CEFOXITINE		≥22	06	
CEFTAZIDIME		-	-	
IMIPENEME		-	-	
GENTAMICINE		≥18	08	
AMIKACINE		≥18	06	
TOBRAMYCINE		≥18	06	
OFLOXACINE		≥20	25	
TRIMETHOPRIME +SULFAMETHOXAZOLE		14-17	23	
ERYTHROMYCINE		18-21	06	
CLINDAMYCINE		19-22	06	
PRISTINAMYCINE		18-21	25	

Tableau 1 : Classification et spectre d'activité des bêta-lactamines

Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique	
Pénicilline G	Bactéries à Gram + et cocci à Gram négatif Elle est inactivée par les pénicillinasées
Pénicillines M / oxacilline	Même spectre + staphylocoques producteurs de pénicillinasées
Aminopénicillines / Ampicilline	Actives sur certains bacilles à Gram négatif (BGN)
Carboxy pénicillines / Ticarcilline	Actives sur <i>P. aeruginosa</i> et les entérobactéries productrices de céphalosporinases naturelles
Uréido pénicillines / Pipéracilline	
Amidinopénicillines / Mécollinam	Actifs sur entérobactéries
Carbapénèmes / Imipénème, méropénème, ertapénème	Spectre large, grande stabilité vis-à-vis des diverses b-lactamases (sauf carbapénémases) <i>P. aeruginosa</i> est naturellement résistant à l'ertapénème
Oxapénèmes / Acide clavulanique:	Activité antibactérienne très faible, inhibiteurs de b-lactamases++
Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique / Céphalosporines	
Céphalosporines de 1ère génération (C1G) / Céfaloquine	Actives sur les bactéries Gram + et certains BGN, relativement résistantes aux pénicillinasées, détruites par céphalosporinases (inactives sur <i>P. aeruginosa</i>)

Céphalosporines de 2ème génération (C2G) / Céfoxitine et céfuroxime	Relative résistance à certaines céphalosporinases (inactives sur <i>P. aeruginosa</i>)
Céphalosporines de 3ème génération (C3G) / Céftazidime, céfotaxime, céftriaxone	Résistance à l'inactivation par certaines céphalosporinases Sur <i>P. aeruginosa</i> , seule la ceftazidime est active
Céphalosporines de 4ème génération (C4G) / Céfèpime	Résistance accrue à l'inactivation par les céphalosporinases
Céphalosporines de 5ème génération (C5G) / Ceftaroline	Active sur <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)
Monobactames	
Aztréonam	BGN aérobies

Figure 1 : Antibiogramme d'une souche de *E. coli* productrice d'une BLSE



Légende :

AMX : Amoxicilline ; TIC : Ticarcilline ; PIP : Pipéracilline ; FEP : Céfèpime ; CF : Céfaloïne ; AMC : Amoxicilline –acide Clavulanique ; CAZ : Céftazidime ; TPZ : Pipéracilline-tazobactam ; FOX : Céfoxitine ; CXM : Céfuroxime ; TCC : Ticarcilline – acide clavulanique ; ATM : Aztréonam ; MEC : Méillinam ; MOX : Latamoxef ; CTX : Céfotaxime ; IPM : Imipénème.

--- : Image en bouchon de champagne

Réponse: Voir tableau ci-dessous

Question n°6:

germe.

Réponse: La plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber la multiplication du

Question n°5:

Réponse:

3- CMI des bêta-lactamines

2- antibiogramme

1- Examen cytobactériologique du liquide cérebrospinal

Question n°4:

Réponse:

3- Modification de pénétration de l'antibiotique

2- Production d'enzyme inactivatrice

1- Modification du site d'action de l'antibiotique

Question n°3:

Réponse: D

Question n°2:

Réponse : A4, B1, C2, D3, E1, F1, G2

Question n°1:

Réponses :

ANTIBIOTIQUE (STAPHYLOCOCCUS AUREUS)

Antibiotique	Famille d'antibiotique	Diamètre Critique (mm)	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation
PENICILLINE G	Bêta-lactamine	≥26	06	Résistante
CEFOXITINE	Bêta-lactamine	≥22	06	Résistante
CEFTAZIDIME	Bêta-lactamine	-	-	Résistante
IMIPENEME	Bêta-lactamine	-	-	Résistante
GENTAMICINE	Aminoside	≥18	08	Résistante
AMIKACINE	Aminoside	≥18	06	Résistante
TOBRAMYCINE	Aminoside	≥18	06	Résistante
OFLOXACINE	Fluoroquinolone	≥20	25	Sensible
TRIMETHOPRIME +SULFAMETHOXAZOLE	Inhibiteurs des folates	14-17	23	Sensible
ERYTHROMYCINE	Macrolide	18-21	06	Résistante
CLINDAMYCINE	Lincosamide	19-22	06	Résistante
PRISTINAMYCINE	Streptogramines A + B	18-21	25	Sensible

INFECTIONS NOSOCOMIALES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1 – Définir une infection associée aux soins (IAS)
- 2 – Définir une infection nosocomiale (IN).
- 3 – Préciser la relation entre la flore bactérienne incriminée et les modalités de propagation d'une IN.
- 4 – Préciser les différents facteurs favorisant l'IN.
- 5 – Citer les principales IN et préciser les facteurs qui les favorisent.
- 6 – Savoir indiquer et interpréter les différents examens bactériologiques permettant le diagnostic des IN.
- 7 – Citer les principales bactéries multirésistantes responsables d'IN et préciser la stratégie de leur contrôle.
- 8 – Définir une BMR, une bactérie hautement résistante (BHR), une bactérie toto-résistante (BTR) et donner des exemples.
- 9 – - Préciser les modalités préventives des IN.

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Les infections contractées pendant la prestation de soins de santé – plus précisément appelées infections associées aux soins (IAS)- représentent un important problème de santé publique dans le monde. Elles sont souvent dues à des bactéries, mais il peut s'agir de virus (Virus des hépatites B, C, HIV...), de parasites ou de champignons. Les infections associées aux soins (IAS) ont une définition large, et comprennent les infections contractées dans les établissements de soins ou infections nosocomiales (IN) qui sont traitées dans ce chapitre.

Les IAS touchent un grand nombre de patients et d'agents de santé chaque année et souvent, amplifient les épidémies. Elles peuvent entraîner une prolongation de l'hospitalisation, une incapacité à long terme, une résistance accrue des microorganismes aux antimicrobiens, une charge financière supplémentaire importante pour les systèmes de santé, un coût élevé pour les patients et leur famille et des décès évitables. L'émergence croissante de la résistance aux antimicrobiens prouve qu'en l'absence de bonnes pratiques de lutte contre les infections, les établissements de soins peuvent constituer des réservoirs permanents de résistance ou amplifier la transmission de bactéries résistantes dans les établissements et la population. En Tunisie, une approche nationale harmonisée, globale et uniforme abordant la question de l'étendue de la lutte contre les infections a été établie par le Ministère de la Santé depuis 2015.

1. DÉFINITION

1.1 INFECTIONS ASSOCIÉES AUX SOINS (IAS)

Les infections qui apparaissent au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, si l'infection n'était ni présente ni en incubation au début de la prise en charge.

1.2 INFECTIONS NOSOCOMIALES (IN)

Les infections acquises en établissement de santé : en pratique, une infection est souvent considérée comme nosocomiale si elle apparaît plus de 48 heures après l'admission, mais il faut adapter ce délai à la durée d'incubation de la maladie. Certaines IN autorisent des délais plus longs : 30 jours après l'intervention pour une infection du site opératoire et 1 an en cas de mise en place d'un matériel étranger. Toute infection nosocomiale doit être signalée au CLIN (Comité de Lutte contre les infections nosocomiales) de l'établissement de santé.

1.3 UNE BACTÉRIE MULTIRÉSISTANTE (BMR): bactérie résistante à au moins un agent de 03 familles ou plus d'antibiotiques (Entérobactérie productrice de BLSE)

1.4 UNE BACTÉRIE HAUTEMENT RÉSISTANTE (BHR) : bactérie résistante à l'ensemble des antibiotiques sauf une ou deux. (*Acinetobacter baumannii* sensible uniquement à la colistine)

1.5 UNE BACTÉRIE TOTO-RÉSISTANTE (BTR) : bactérie résistante à l'ensemble des antibiotiques testés (*Klebsiella pneumoniae* résistante à tous les antibiotiques)

2. ÉPIDÉMIOLOGIE

2.1. BACTÉRIES RESPONSABLES

Les germes responsables d'infections nosocomiales sont très variés et leur profil dépend de la localisation de l'infection et du niveau des soins dans une institution. Toutes les espèces bactériennes peuvent être impliquées, mais ceux qui viennent en première position dans notre pays sont les bacilles à Gram négatif (BGN), suivis par les cocci Gram positif. Les BGN sont représentés essentiellement par les entérobactéries: *E. coli*, *K. pneumoniae* et deux principaux BGN non fermentaires considérés comme germes hospitaliers : *A. baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces germes sont souvent des BMR, parfois des BHR ou encore des BTR.

Les principales BMR rencontrées dans nos hôpitaux sont :

A. ACINETOBACTER BAUMANNII hautement résistant sensible uniquement à la colistine. Ils posent de véritables problème thérapeutiques, notamment dans les unités de soins intensifs où ils sévissent selon un mode endémique avec parfois des poussées épidémiques.

B. ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE BÊTA-LACTAMASES à spectre étendue (**EBLSE**) et entérobactéries productrices de carbapénèmes(EPC).

- Les EBLSE sont résistantes à toutes les bêta-lactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes. *Klebsiella pneumoniae* BLSE a été isolée depuis 1983 dans nos hôpitaux. Actuellement, plus de 50% des *K. pneumoniae* isolées dans les hôpitaux tunisiens sont productrices de BLSE.

L'utilisation à large échelle, parfois abusive, des carbapénèmes a été suivie par l'émergence des **EPC**, qui sont résistantes à toutes les bêta-lactamines y compris les carbapénèmes ce qui complique encore plus la prise en charge.

C. STAPHYLOCOCCUS AUREUS RÉSISTANT À LA MÉTICILLINE (SARM)

- Les **SARM** sont des bactéries résistantes à toutes les bêta-lactamines, sauf les céphalosporines de 5ème génération.

D. PSEUDOMONAS AERUGINOSA RÉSISTANT À L'IMIPENÈME

- Il s'agit de bactéries de l'environnement hydrique hospitalier.

E. ENTÉROCOQUES RÉSISTANTS À VANCOMYCINE (ERV)

-*E. faecium* est l'espèce la plus concernée. Ces bactéries résident essentiellement dans le tube digestif de l'Homme.

2.2 RESERVOIR :

Il existe deux types d'infections liées aux différents réservoirs:

A- LES INFECTIONS D'ORIGINE ENDOGÈNE

Le malade s'infecte par sa propre flore parfois facilitée par l'acte opératoire, endoscopie, exploration hémodynamique, une suture non étanche, les soins...

B- LES INFECTIONS D'ORIGINE EXOGÈNE

A partir de l'environnement du malade :

- Infection croisée souvent manuportée par le personnel
- Flore extra-hospitalière importée par les malades, les visiteurs et le personnel
- Germes importés par accident (eau polluée, stérilisation défectueuse, filtre à air fracturé, climatisation,...)
- Alimentation (toxi-infection alimentaire collective ou TIAC).

2.3. MODES DE TRANSMISSION

La transmission peut être directe ou indirecte.

A- DIRECTE+++ : la transmission peut être aéroportée (salive, gouttelettes, aérosols), manuportée (péril fécal, mains sales) ou par contact direct (manuportage, accouchement)

B- INDIRECTE : par l'intermédiaire d'un vecteur : un matériel contaminé (endoscope, sonde d'intubation), une solution antiseptique colonisée....

Les IN surviennent essentiellement après un contact direct et peuvent être à l'origine d'épidémies. Il s'agit d'IN évitables grâce à une prévention de leur transmission.

3. FACTEURS FAVORISANTS

La survenue d'une infection nosocomiale est favorisée par un certain nombre de facteurs :

- *L'environnement :*

- La concentration importante des germes en milieu hospitalier
- Le nombre de personnes, soignantes ou non, qui gravitent autour des malades (transmissions croisées)

- *Le patient :*

- Les âges extrêmes : nouveau né et sujet âgé car avec l'âge les défenses immunitaires diminuent
- la gravité des pathologies motivant l'hospitalisation (milieu de réanimation : pathologies diverses, défaillances multi-viscérales, poly traumatismes, plaies opératoires ...) et l'atteinte du système nerveux central avec abolition de certains réflexes (toux....).
- Les patients immunodéprimés qui sont plus sensibles à l'infection

- *Les procédures invasives diagnostiques ou thérapeutiques.*

En effet, on considère que près de la moitié des infections nosocomiales surviennent chez les patients subissant un acte invasif ou porteurs de dispositifs invasifs (cathéter, intubation...)

• *Le défaut d'application des règles d'hygiène et d'asepsie* (manque de formation, problème de matériel, conception architecturale des services...).

4. PRINCIPALES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont : les infections urinaires, les pneumopathies, les infections du site opératoire et les infections liées aux dispositifs intravasculaires.

4.1. INFECTIONS URINAIRES

Les infections urinaires nosocomiales sont essentiellement en relation avec le sondage vésical et elles sont fréquentes dans les unités de soins intensifs.

A. FACTEURS DE RISQUE

Les facteurs liés au terrain sont :

Les facteurs liés au terrain sont : le sexe féminin, l'âge >50 ans, le diabète, une antibiothérapie préalable, une anomalie ou malformation de l'arbre urinaire.

Les facteurs extrinsèques:

Le sondage vésical est impliqué dans la majorité des cas d'infections urinaires nosocomiales. Le risque infectieux augmente avec la durée d'hospitalisation avant le sondage et la durée du sondage.

Les manœuvres instrumentales peuvent être aussi impliquées.

B. DIAGNOSTIC

L'infection urinaire nosocomiale est souvent asymptomatique, le diagnostic se fait par l'examen cytobactériologique des urines (ECBU) avec une interprétation qui doit tenir compte du contexte (voir cours sur les infections urinaires /rôle du laboratoire dans le diagnostic bactériologique).

4.2. PNEUMOPATHIES NOSOCOMIALES

C'est la principale infection nosocomiale en réanimation et représente une cause majeure de mortalité.

A. FACTEURS DE RISQUE: Les principaux facteurs de risque sont l'assistance respiratoire++, le polytraumatisme et notamment le traumatisme thoracique, les troubles de la conscience et de la déglutition, l'âge > 70 ans, l'insuffisance respiratoire chronique sous jacente.

La plupart des pneumopathies nosocomiales sont liées à un mécanisme endogène. En effet une colonisation anormale de l'oropharynx survient rapidement chez le malade hospitalisé en réanimation, en particulier sous ventilation artificielle.

B. DIAGNOSTIC: Les prélèvements effectués pour examens bactériologiques sont : trachéal, trachéal protégé et lavage broncho-alvéolaire (LBA) (cf cours : Rôle du laboratoire).

4.3. INFECTIONS DU SITE OPÉRATOIRE

A. FACTEURS DE RISQUE : ils sont essentiellement liés au type de chirurgie (propre ou contaminée) et à sa durée.

B. DIAGNOSTIC : Il est basé sur l'examen cytobactériologique du pus

4.4. INFECTIONS LIÉES AUX DISPOSITIFS INTRAVASCULAIRES : INFECTION SUR CATHÉTER

A. DÉFINITION

Les infections sur cathéter vont de l'infection locale du cathéter à la bactériémie liée au cathéter. La contamination du cathéter se fait essentiellement par deux voies :

Voie exoluminale : les bactéries migrent le long de la surface externe du cathéter jusqu'à son extrémité distale à partir du point d'insertion cutanée.

Voie endoluminale : par transmission manuportée à partir des raccords de tubulures (les bactéries pénètrent dans le cathéter lui-même). Ce type de contamination peut être exceptionnellement dû aux solutés des perfusions.

Voie hématogène : très rare, la contamination se fait à partir d'un foyer infectieux à distance

B. FACTEURS DE RISQUE

- Liés à l'hôte : infection à distance, lésion cutanée à proximité du cathéter.
- Liés au cathéter : la voie fémorale, la durée prolongée, les mauvaises conditions de pose (urgence ++), les voies multiples.
- Liés à l'environnement : mauvaise application des conditions d'hygiènes, fréquence de manipulation des lignes de perfusion.

C. DIAGNOSTIC

Avant le retrait du cathéter

Réaliser des hémocultures sur flacons pour automate en périphérie et sur cathéter. Les deux hémocultures doivent être prélevées au même moment et contenir la même quantité de sang. Il faut les placer rapidement dans l'automate. Si l'hémoculture prélevée sur cathéter se positive plus rapidement que l'hémoculture périphérique (une différence de 2 heures est considérée comme significative), le dispositif intra vasculaire sera considéré comme infecté.

Après le retrait du cathéter

Culture quantitative du cathéter par la méthode de Brun-Buisson. Elle est positive à partir de 10^3 UFC/ml.

4.4. AUTRES INFECTIONS NOSOCOMIALES

- Diarrhées nosocomiales:

*par transmission de germes entériques (samonelles, shigelles....) à partir de sujets porteurs ou présentant une diarrhée

* la colite à *Clostridium difficile* par sélection des souches productrices de toxine dans le tube digestif suite à une antibiothérapie à large spectre.

- Méningites d'inoculation acquise lors de la pratique d'une ponction lombaire faite sans respecter une aseptie rigoureuse

- Pneumopathies à *Legionella*

- Arthrites, péritonite, médiastinite ...

5 – LA PRÉVENTION

La lutte contre l'IN nécessite : Une hygiène générale bien effectuée avec une désinfection suffisante en qualité et en fré-

quence ; une bonne organisation des circuits propre et sale ; d'éviter l'encombrement des services ; l'isolement des malades infectés et l'exécution des soins et des actes de diagnostic dans de bonnes conditions.

La prévention des IN est la réunion des efforts de tous les acteurs de soins qui permettra d'aboutir à leur diminution. Cette prévention repose quelle que soit la spécialité médicale ou chirurgicale concernée sur 4 grands types de mesures : mesures d'hygiène de base ; mesures d'hygiènes spécifiques en fonction du type d'infection ; prévention de la sélection des BMR par une politique rationnelle d'utilisation des antibiotiques, aussi bien en empirique qu'en curatif et prévention de la diffusion des BMR le plus souvent impliquées dans les IN.

5.1. LES MESURES PREVENTIVES DE BASE

Elles sont essentielles et faciles à réaliser, cependant leur observance sur le terrain est très difficile à obtenir. Parmi elles, **deux sont primordiales**:

- **Le lavage des mains++** : Il vient en 1^{ière} position car la très grande majorité des agents infectieux nosocomiaux sont transmis par voie manuportée.

Trois types de lavages des mains : i) chirurgical pour les chirurgiens, ii) antiseptique avant et après tout acte invasif et lors du soin iii) simple dans tous les autres cas. L'utilisation d'une désinfection des mains par friction avec une solution hydro-alcoolique est aujourd'hui une alternative intéressante. Le port des gants associé ou non au lavage des mains suivant les circonstances mais les gants doivent être impérativement retirés dès la fin de l'acte.

NB : Les ongles doivent être courts et sans vernis. Le port de bijoux est strictement interdit.

Les équipements de protection individuelle: Sont très variés dont l'objectif est de protéger toute zone cutanéo-muqueuse pouvant être contact avec un agent pathogène. On a besoin alors de blouses, de sur-blouses, de gants, de masques faciaux, parfois de su chaussures et de calottes. Le choix de l'équipement se fait en fonction de l'acte de soin et la zone de travail stérile ou non stérile.

5.2. MESURES PREVENTIVES SPÉCIFIQUES

A. INFECTION URINAIRE :

- Eviter au maximum l'utilisation des sondes urinaires et réduire la durée du sondage
- Respecter l'asepsie lors de la pose de la sonde et lors des manipulations.
- Maintenir le sondage urinaire clos.

B. PNEUMOPATHIES

- Avant chaque aspiration : lavage des mains, port de gants stériles, utiliser une sonde d'aspiration à usage unique
- Matériel et soluté utilisés doivent être stériles,
- Un filtre bactérien doit être placé sur le circuit du respirateur,
- Prévenir l'inhalation du liquide gastrique et la colonisation des voies aériennes inférieures par la position demi assise, sédatrice la moins profonde possible afin de préserver le reflexe de la toux, aspiration bronchique en cas d'encombrement.

C. INFECTION DU SITE OPÉRATOIRE

• En préopératoire

- Préparation cutanée, des protocoles existent dans les différents services de chirurgies (douche, épilation ; le rasage est proscrit)
- Eradiquer les foyers infectieux

• Au bloc opératoire

- Préparation du malade : antisepsie large de la zone opératoire,
- Lavage chirurgical des mains des opérateurs,
- Entretien contrôlé de la salle et du matériel opératoire.
- Contrôler de la qualité de l'air au bloc opératoire
- Antibioprophylaxie à réaliser au moment de l'induction de l'anesthésie.

• En post opératoire

- Asepsie rigoureuse lors de la manipulation des drains et lors de la réalisation du pansement.

D. INFECTION SUR CATHÉTER

- Les indications de la pose de cathéters et de perfusions doivent être bien précises.

- La mise en place d'un cathéter doit être faite par un opérateur entraîné et dans des conditions d'asepsie.

- L'entretien de la ligne veineuse est rigoureusement aseptique. Il faut réduire au maximum les manipulations et de ce fait il faut regrouper les injections de médicaments, les perfusions et les gestes techniques.

- La meilleure mesure préventive est d'enlever tout cathéter non indispensable.

5.3. LA MAITRISE DE L'EMERGENCE ET DE LA DIFFUSION DES BMR

La prévalence des IN à BMR est préoccupante dans les établissements de soins. Leur surveillance et leur contrôle est une priorité afin d'éviter leur diffusion. Leur fréquence dans un service hospitalier peut être considérée comme un marqueur de qualité dans l'organisation des soins.

- **La prévention de la transmission croisée des BMR entre patients :** elle doit être assurée par un dépistage des porteurs sains de BMR et l'isolement à la fois géographique et technique soit des porteurs soit des sujets infectés et surtout le respect des mesures de préventions générales et spécifiques.

- **Le bon usage des antibiotiques :** il permet une diminution de la circulation des BMR dans nos hôpitaux. En effet, pour chaque hôpital, il est important d'avoir un comité d'antibiothérapie, des protocoles d'antibiothérapie régulièrement actualisés et adaptés à leur propre écologie bactérienne, des formations pour tous les médecins y compris les résidents et les internes en matière d'antibiothérapie

- Surveillance épidémiologique des IN et des BMR :

Le laboratoire de Microbiologie est un observatoire privilégié pour la surveillance des infections nosocomiales. Son rôle est important dans :

*La surveillance de l'écologie bactérienne et de l'antibio-résistance. Ces connaissances vont permettre de mieux guider l'antibiothérapie probabiliste en fonction des spécialités.

*La lutte contre les BMR par le dépistage actif.

*Lancer une alerte en cas de suspicion d'épidémie.

*Participer aux enquêtes épidémiologiques (si d'épidémie) par la réalisation de différents prélèvements à la recherche du ou des réservoir(s)(porteurs sains et dans l'environnement)

*Le typage moléculaire des bactéries isolées afin de confirmer la source de contamination

Chaque établissement de soins doit nommer un comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN). Il joue un rôle primordial dans la maîtrise de diffusion des IN, parmi ses principaux rôles, on peut citer :

a- Prévention des IN et du risque infectieux lié aux soins, notamment par l'élaboration et la mise en œuvre de recommandations de bonnes pratiques d'hygiène

b- Surveillance des IN et de leur signalement

c- Définition d'actions d'information et de formation de l'ensemble des professionnels de l'établissement en matière d'hygiène hospitalière

d- Bon usage des antibiotiques.

LECTURE RECOMMANDÉE

<https://www.inserm.fr/dossier/infections-nosocomiales>

Bactéries multi-et hautement résistantes aux antibiotiques ; stratégies et enjeux. EMC-Biologie médicale.2014 ; 9(1)

EVALUATION FORMATIVE

1. Citer les 2 principales bactéries responsables de pneumopathies nosocomiales

2. Citer 3 facteurs de risque spécifiques des infections urinaires nosocomiales

3. Expliquer le rôle d'un laboratoire de microbiologie dans la lutte contre la diffusion des BMR

Question n°1:

Acinetobacter baumannii et Klebsiella pneumoniae sont deux bactéries résistantes aux antibiotiques qui peuvent causer des infections nosocomiales graves.

Question n°2:

Sondage vésical, acte chirurgical sur les voies urinaires, anomalie ou malformation des voies urinaires peuvent entraîner une infection urinaire.

Question n°3:

Le rôle du laboratoire de microbiologie dans la lutte contre la diffusion des BMR est essentiel pour identifier les bactéries responsables d'une infection et pour aider à choisir le traitement approprié.

GERMES RESPONSABLES DE MENINGITES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1 – Définir une méningite
- 2 – Préciser la répartition des germes responsables de méningites bactériennes selon l'âge afin de pouvoir orienter le traitement de première intention
- 3 – Préciser les particularités épidémiologiques des méningites bactériennes et virales
- 4 – Décrire les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les méningites bactériennes et virales
- 5 – Savoir indiquer les examens bactériologiques à demander en cas de suspicion de méningite
- 6 – Préciser les différentes étapes de l'examen cytobactériologique du LCS et savoir interpréter les résultats
- 7 – Indiquer les différents moyens de prévention des méningites purulentes et leur intérêt

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Les méningites sont des urgences diagnostiques et thérapeutiques. Il s'agit de pathologies à déclaration obligatoire. Les étiologies sont variables, elles peuvent être bactériennes, virales ou même fungique. Les méningites virales sont les plus fréquentes et sont souvent bénignes d'évolution spontanément favorable sauf les méningites herpétiques qui nécessitent un traitement antiviral spécifique. Les méningites bactériennes ou purulentes (MP) sont les plus graves, elles peuvent mettre en jeu le pronostic vital et nécessitent une antibiothérapie adaptée et en urgence. Les particularités sémiologiques, épidémiologiques et évolutives dépendent de l'âge, du germe en cause et du terrain. L'incidence des MP est variable selon l'âge, elle est la plus élevée chez l'enfant jeune âgé de moins de cinq ans. Les principales bactéries impliquées dans les MP, en dehors de la période néonatale, sont le *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae b* (*Hib*). Une forme clinique très grave est le purpura fulminans, due à *N. meningitidis*. La MP est dans la majorité des cas une infection sporadique, cependant des bouffées d'épidémies particulièrement dans le cas des méningites à méningocoque surviennent de temps à autre particulièrement en Afrique sub-saharienne (ceinture de la méningite). Ceci souligne le grand intérêt de la prévention basée d'une part sur la vaccination et d'autre part sur la chimioprophylaxie. En effet, l'utilisation à grande échelle du vaccin anti *Hib* dans de nombreux pays a entraîné une quasi disparition des cas de méningite à *Hib*.

I - DÉFINITION :

La méningite est un processus inflammatoire, d'origine généralement infectieuse, atteignant les méninges. On désigne habituellement par le terme de méningite l'infection de l'espace sous-arachnoïdien compris entre l'arachnoïde et la pie-mère et dans lequel circule le liquide cébrospinal (LCS). Les méningites se caractérisent par la présence d'un syndrome infectieux associé à des anomalies du LCS (réaction inflammatoire +/- intense). La présence d'un syndrome méningé clinique est fréquente mais non indispensable au diagnostic, en particulier chez le nourrisson et la personne âgée.

II – EPIDEMIOLOGIE

II – 1 – MÉNINGITE BACTÉRIENNE

Les méningites d'origine bactérienne sont plus rares mais beaucoup plus graves que celles virales car leur évolution spontanée est toujours défavorable voire mortelle.

Les espèces bactériennes responsables sont variables selon l'âge et le terrain :

- En dehors de la période néonatale, plus de 90% des méningites bactériennes sont dues à trois espèces bactériennes :

Neisseriameningitidis, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae b*.

- Au cours de la période néonatale, les trois espèces prédominantes sont E. coli, streptocoque du groupe B et Listeria monocytogenes. Pour E. coli il s'agit dans la majorité des cas du type K1 (*E. coli K1*).

Cependant l'épidémiologie des méningites bactériennes a été modifiée ces dernières années avec l'utilisation chez l'enfant de divers vaccins conjugués comme celui anti Hib et anti-pneumococcique.

II – 1 – 1 – AGENTS ÉTIOLOGIQUES

a - *Neisseriameningitidis* (Nm): c'est une bactérie strictement humaine. La paroi postérieure du rhinopharynx représente l'habitat préférentiel de ce germe. La transmission interhumaine de ce germe est directe par voie aérienne au contact étroit ou par l'intermédiaire de gouttelettes de mucus naso-pharyngé. Nm est l'agent de la méningite cérébrospinale. La méningite à Nm est endémique dans le monde, cependant elle peut causer des épidémies. Nm est un diplocoque Gram négatif en grain de café capsulé. La diversité de cette capsule définit 12 sérogroupes. Les souches de sérogroupes A, B, C, Y et W sont à l'origine de 99% des cas de méningites cérébro-spinales. Le séro groupe A était à l'origine d'épidémies touchant des centaines de milliers de personnes dans «la ceinture africaine de la méningite» allant de l'Ethiopie jusqu'au Sénégal avant la généralisation du vaccin conjugué anti NmA.

b – *S. pneumoniae* (Sp) ou pneumocoque : c'est un cocci à Gram positif regroupé en diplocoques capsulés. La diversité de la capsule polysaccharidique définit les sérotypes. On connaît jusqu'à ce jour 97 sérotypes différents chez Sp. Cette bactérie fait partie de la flore commensale des voies aériennes supérieures de l'homme. Ce portage est variable selon l'âge, le principal réservoir de Sp est constitué par les nourrissons et les jeunes enfants. Le portage rhinopharyngé varie dans la population générale, il atteint son maximum chez l'enfant âgé de moins de 5 ans et en collectivité. La transmission est interhumaine par les aérosols provenant des sécrétions nasopharyngées. La méningite à pneumocoque reste l'une des formes les plus graves des méningites purulentes (MP) dont elle représente 20 à 30 % des cas. Leur taux de létalité est élevé. L'utilisation du vaccin antipneumococcique conjugué a entraîné une baisse de l'incidence des méningites causées par les sérotypes inclus dans le vaccin.

c- *Haemophilus influenzae* : Il appartient à la flore commensale de l'oropharynx de l'enfant et de l'adulte. C'est un bacille à Gram négatif capsulé dont la capsule polysaccharidique définit six sérotypes: a, b, c, d, e et f. Le plus virulent étant le sérotype b, il est responsable de la quasi-totalité des infections invasives. L'utilisation à grande échelle de ce vaccin a entraîné une quasi disparition des méningites à Hib.

II – 1 – 2 – EPIDÉMIOLOGIE

- Dans le monde : Les méningites bactériennes représentent une pathologie infectieuse majeure notamment chez l'enfant du fait du taux élevé de morbidité et de mortalité, en dépit des progrès de leur prise en charge et de l'antibiothérapie. En dehors des épidémies, selon l'OMS au moins 1,2 millions de cas de méningites bactériennes se produisent chaque année, dont 135 000 mortelles. Environ 500 000 de ces cas et 50 000 de ces décès sont imputables au méningocoque. Parmi eux, 30% sont due au purpura fulminans. L'incidence des méningites bactériennes dans les pays industrialisés est entre 2,5 et 10 pour 100 000 habitants, alors qu'elle est dix fois plus élevée dans les pays en voie de développement.

- En Tunisie : Les méningites bactériennes sont des maladies à déclaration obligatoire. Cependant, leur incidence n'est pas connue avec précision. Les données disponibles sont les publications ou les rapports d'activité des laboratoires de microbiologie, des services de pédiatrie et d'infectiologie.

Au cours de la période néonatale, les deux espèces prédominantes sont E. coli K1 et streptocoque B, Listeria monocytogenes est exceptionnellement isolée.

Entre 3 mois à 3 ans, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis* occupent respectivement la 1ère et la 2ème position respectivement dans les étiologies des MP en Tunisie. Les méningites à *Haemophilus influenzae* b (Hib) sont devenues exceptionnelles. Elles sont l'apanage des enfants non vaccinés ou à terrain débilité.

En effet, le vaccin conjugué anti Hib a été introduit dans le calendrier vaccinal en Tunisie en avril 2011 et le vaccin conjugué antipneumococcique en avril 2019.

Au delà de 3 ans : *N. meningitidis* et *S. pneumoniae* prédominent. *Listeria monocytogenes* est isolée exceptionnellement chez le sujet âgé.

En Tunisie, le séro groupe prédominant pour *N. meningitidis* est le B (~70%) suivi du C et du A.

II – 2-MÉNINGITE VIRALE :

II – 2 – 1-EPIDÉMIOLOGIE

Bien qu'on ne dispose pas de statistiques précises, la méningite virale est plus fréquente que celle bactérienne. Elle se rencontre généralement l'été et au début de l'automne. Elle touche tous les groupes d'âge, mais plus souvent les enfants de moins de 10 ans.

La méningite virale est causée par différents virus, mais plus souvent c'est les entérovirus, les paréchovirus et les arbovirus qui en sont responsables. La méningite virale peut aussi être causée par le virus herpès simplex (HSV1, HSV2), certains virus respiratoires dont l'influenza, et les virus des oreillons, de la rougeole, de la varicelle et de la mononucléose. L'agent causal reste inconnu dans près de la moitié des cas.

II – 2 – 2 – PARTICULARITÉS SELON L'AGENT ÉTIOLOGIQUE

- Les entérovirus sont responsables de la majorité des méningites virales qui évoluent selon un mode sporadique avec des épidémies estivales.
- La méningite ourlienne survient par épidémies, surtout au printemps. Dans les pays où la vaccination contre les oreillons n'a pas été instaurée, le virus des oreillons représente un agent important de méningite chez l'enfant ou le jeune adulte.
- Les arbovirus neurotropes sont dominés par le virus West-Nile. C'est un flavivirus transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique (le culex) infecté suite à un repas sanguin sur un oiseau porteur du virus. Elle évolue par poussée épidémique suite à une saison chaude et pluvieuse.
- Quand la méningite est associée à des signes d'encéphalite (altération de l'état de conscience, troubles de comportement, crises convulsives), il s'agit d'une méningo-encéphalite. La méningo-encéphalite d'origine virale à suspecter et à traiter en priorité c'est la méningo-encéphalite herpétique parce que c'est la seule encéphalite virale qui bénéficie d'un traitement spécifique

III- PHYSIOPATHOLOGIE

III – 1 – MÉNINGITE BACTÉRIENNE

Très peu d'agents pathogènes peuvent être responsables de méningites, sans doute en raison du caractère peu accessible des méninges qui se trouvent protégées par la barrière hémato-encéphalique, une des barrières cellulaires les plus imperméables de l'organisme.

III – 1 – 1 - PÉNÉTRATION DE L'AGENT PATHOGÈNE DANS LE LIQUIDE CÉRÉBROSPINAL :

Trois voies de pénétration des agents pathogènes dans l'espace sous arachnoïdien sont connues :

- Dans la majorité des cas le franchissement de la barrière hémato-méningée est secondaire à une bactériémie. Les pathogènes responsables de la majorité des méningites purulentes communautaires sont saprophytes du rhinopharynx. L'installation de l'infection est précédée par une étape de colonisation et d'implantation au niveau de la muqueuse respiratoire grâce aux adhésines bactériennes. Les bactéries envahissent par la suite le chorion et passent dans le sang où leur capsule polysaccharidique leur permet une résistance à la phagocytose ce qui induit une bactériémie intense et prolongée. Les bactéries responsables possèdent aussi la propriété d'adhérer étroitement aux cellules endothéliales des capillaires neuro-méningés et elles sont capables de franchir de façon sélective la barrière hémato-méningée. Le passage d'une bactérie pathogène du sang vers le LCS se fait au niveau des plexus choroïdes.
- Dans de rares cas, il peut s'agir d'une contamination directe à partir d'un foyer infectieux de voisinage ; elle se fait alors par l'intermédiaire d'un transport veineux avec thrombophlébite *in situ*. Ceci pourrait être le cas au cours des méningites à pneumocoque où une otite peut représenter la porte d'entrée.
- L'inoculation directe des méninges est rare, elle peut se voir dans les suites d'une intervention neurochirurgicale, au décours d'explorations à visée neurologique ou neurochirurgicale, lors d'une rachianesthésie et plus rarement au cours d'une ponction lombaire pour diagnostic d'une méningite. Il s'agit là de méningites dites d'inoculation ou iatrogènes dues souvent à des germes hospitaliers, résistants aux antibiotiques habituels.

III – 1 – 2 - INFLAMMATION DE L'ESPACE SOUS-ARACHNOÏDIEN

Dans le LCS, la bactérie rencontre peu d'obstacles à son développement et à sa multiplication. En effet, les éléments responsables de la bactéricidie comme le complément et les immunoglobulines font défaut dans le LCS. Ce déficit local en anticorps et en complément contribue au faible pouvoir bactéricide du LCS et favorise une multiplication rapide des bactéries au niveau de l'espace sous arachnoïdien qui déclenche une réaction inflammatoire intense.

L'inflammation des méninges est due à la présence des constituants bactériens tels que le lipopolysaccharide (LPS), le peptidoglycane et l'acide teichoïque libérés au cours de la multiplication bactérienne. Ces antigènes bactériens stimulent la production locale des cytokines. Cette production de cytokine est secondairement responsable de l'activation de l'endothélium qui est nécessaire à la diapédèse leucocytaire. Dans les premières heures qui suivent l'introduction des bactéries, il y a exsudation protéique avec présence dans le LCS des protéines inflammatoires (protéine C-réactive (CRP), fibrine.....) et augmentation de la migration des polynucléaires. L'afflux de polynucléaires associé à l'altération de la barrière hémato-méningée sont responsables de la constitution progressive d'un œdème cérébral. La conséquence de celui-ci est l'hypertension intracrânienne qui rend compte d'une bonne partie de la symptomatologie des méningites. Celle-ci perturbe le fonctionnement cérébral dans son ensemble et expose aux accidents mécaniques d'engagement.

Le pronostic des méningites purulentes est donc conditionné par l'ampleur des lésions entraînées par la réaction inflammatoire siégeant dans l'espace sous-arachnoïdien clos, donc sans possibilité de drainage naturel de pus.

De même l'inflammation méningée peut aboutir à de profondes altérations des vaisseaux méningés. Cette vascularité s'accompagne de thrombose, qui avec l'hypertension intracrânienne participent à l'anoxie cérébrale et à de profondes altérations du débit du sang cérébral.

III – 2 – MÉNINGITE VIRALE

L'infection virale des muqueuses respiratoires ou intestinales est suivie d'une multiplication virale dans les amygdales ou le tissu lymphatique intestinal. La dissémination vers le système nerveux central se fait par voie hématogène, voire neurogène.

La méningite due au virus herpès simplex type 2 (HSV-2) ou au virus varicelle-zona peut également résulter de la réactivation d'une infection latente.

V – DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

Les deux principaux prélèvements à effectuer sont le liquide cérebrospinal et l'hémoculture. Dans tous les cas, ces prélèvements doivent être faits avant toute antibiothérapie, sauf circonstance particulière (exple : purpura fulminans), et avec une asepsie rigoureuse.

V - 1 - LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN (LCR) :

L'examen du LCS au laboratoire est une **urgence**. Il doit être traité sans délai. Une réponse peut être apportée au clinicien dans la demie heure qui suit le prélèvement et peut le guider dans son choix thérapeutique. L'examen direct, les antigènes solubles et l'amplification génique par PCR contribuent au diagnostic rapide des méningites purulentes.

V - 1 - 1 - PRÉLÈVEMENT

Le prélèvement de LCS se fait par ponction lombaire (PL) qui doit être réalisée dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Le LCS est recueilli en quantité suffisante (0,5 à 1 ml par tube) et successivement dans 3 tubes stériles : un tube pour la chimie (dosage du glucose, de l'albumine et éventuellement du chlore); le 2ème tube pour l'examen cytobactériologique et le 3ème tube pour des recherches supplémentaires comme la PCR pour recherche de bactéries ou de virus ou la recherche de bacille de Koch en cas de suspicion de tuberculose.

Du fait de l'importance du diagnostic, de la fragilité des bactéries à tout écart de température, et en raison de la lyse rapide des polynucléaires, le LCS aussitôt prélevé, devra être acheminé au laboratoire à l'abri du froid pour analyse. Si on envisage une recherche de virus dans le LCS, le tube correspondant doit être acheminé à + 4°C.

Un maximum de renseignements cliniques, en particulier l'âge, la présomption diagnostique, les traitements antibiotiques antérieurement reçus par le malade, l'état de sa vaccination, doit être transmis au laboratoire.

V - 1 - 2 - EXAMENS BIOCHIMIQUES :

On détermine certains paramètres biochimiques dans le LCS :

- La glycorachie : doit être interprétée en fonction de la glycémie, elle correspond au 2/3 de la glycémie.
- La protéinorachie : normalement comprise entre 0,20 et 0,40g/l et peut atteindre 1,50 g/l chez le nouveau-né.
- Le chlorurorachie : la valeur usuelle des chlorures est de 120 à 130 mmol/l.

V - 1 - 3 - EXAMEN CYTOBACTÉRIOLOGIQUE

a - Examens macroscopiques :

C'est la première étape permettant d'orienter le diagnostic. Le LCS normal est clair, limpide dit « eau de roche ».

Différents aspects pathologiques peuvent être observés :

- LCS trouble « eau de riz »
- LCS purulent
- LCS Xanthochromique
- LCS hémorragique...

Cependant un aspect clair ne doit pas éliminer une méningite d'origine bactérienne.

b – Examen microscopique :

- Cytologie quantitative : elle permet de préciser le nombre d'éléments blancs et d'hématies par mm³. Le LCS normal a une cellularité comprise entre 3 et 5 éléments blancs/mm³. La numération s'élève chez le nouveau-né jusqu'à 10 à 30 EB/mm³.

- Cytologie qualitative : elle permet d'établir la formule leucocytaire dans les cas où le nombre d'éléments nucléés est supérieur à 10 EB/mm³. Il s'agit d'établir le pourcentage de polynucléaires et de lymphocytes.

- La recherche des bactéries à l'examen direct est utile dans le diagnostic des méningites, elle est réalisée sur un frottis coloré au Gram :

*la présence de cocciaGram positif en diplocoque en flamme de bougie oriente vers *S. pneumoniae*

*la présence de cocciaGram négatif en diplocoque en grain de café oriente vers *N. meningitidis*

*la présence de bacille à Gram négatif (BGN) polymorphe oriente vers *H. influenzae*

*la présence de BGN chez un nouveau-né oriente vers *E. coli*

*la présence de cocciaGram positif en chaînette chez un nouveau-né oriente vers le streptocoque du groupe B

*la présence de bacille Gram positif oriente vers le *L. monocytogenes*

c – Recherche d'antigènes solubles :

Cette recherche permet de mettre en évidence dans le LCS les antigènes bactériens même après lyse cellulaire suite à l'administration d'antibiotiques. Il existe deux techniques :

- La technique d'agglutination : elle est la moins sensible et la moins spécifique. Les bactéries recherchées sont : *H. influenzae* b, *N. meningitidis* de sérogroupes A, B, C, Y et W, *S. pneumoniae*, *E. coli* et Streptocoque du groupe B.

- La technique immunochromatographique qui est très sensible et très spécifique et ne détecte que *S. pneumoniae*.

Cette recherche présente un certain nombre d'avantages. En effet, un résultat positif permet de conforter un examen direct positif, de porter rapidement le diagnostic lorsque la coloration de Gram ne révèle aucune bactérie et sera capital en cas de méningite décapitée par une antibiothérapie.

→ Les résultats des examens biochimiques ainsi que l'examen microscopique et les recherches des antigènes solubles sont généralement disponibles dans les 30 à 60 min qui suivent l'arrivée du LCS au laboratoire. Tout résultat positif doit être immédiatement communiqué au médecin traitant.

d – Culture :

C'est la première étape de l'examen du LCS au laboratoire. Le LCS est systématiquement ensemencé sur des **milieux appropriés et préchauffés** à 37°C (gélose au sang, gélose au sang cuit enrichie en polyvitex) et un milieu d'enrichissement liquide.

e – Identification bactérienne et antibiogramme :

Pour toute culture positive, l'identification bactérienne ainsi que l'antibiogramme sont systématiques.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques doit être effectuée pour toute souche isolée de LCS afin d'ajuster le traitement antibiotique initial et permettre de suivre l'évolution de la résistance.

Les antibiotiques les plus fréquemment utilisés de première intention dans la méningite bactérienne sont les bêta lactamines. Le choix de la molécule dépend de l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques et de la bonne diffusion méningée (annexe 1). Les antibiotiques qui ont une diffusion médiocre ou nulle dans le LCS sont les aminosides et les macrolides.

Il est à noter que toutes les espèces bactériennes incriminées dans la MP se caractérisent par une augmentation progressive de la résistance aux antibiotiques utilisés dans le traitement des méningites, notamment les β -lactamines (<https://www.infectiologie.org.tn/resistance.php>).

- *Haemophilus influenzae* b

En Tunisie, environ 30% des souches isolées de sites normalement stériles sont résistantes à l'amoxicilline, cette résistance est due à la production d'une pénicillinase plasmidique dans la majorité des cas. De rares souches de sensibilité diminuée aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) comme le céfotaxime et la ceftriaxone et isolées de prélèvements respiratoires ont été décrites en Tunisie. La détermination des CMI des bêta-lactamines est obligatoire pour toute souche de Hi isolées de LCS.

- *Neisseria meningitidis*

Pour la pénicilline G et l'amoxicilline la sensibilité diminuée est fréquente, il s'agit d'une mutation au niveau des PLP (protéine liant la pénicilline). La détermination des CMI des bêta-lactamines est obligatoire. Les C3G demeurent uniformément actifs.

- *S. pneumoniae*

Environ 70% des souches de *S. pneumoniae* isolées de LCS en Tunisie présentent une sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP). La résistance aux aminopénicillines et aux céphalosporines de 3ème génération est moins fréquente. Dans tous les cas, devant un pneumocoque de SDP détecté à l'antibiogramme, les CMI vis-à-vis de la pénicilline G, amoxicilline et céfotaxime doivent être effectuées. Le mécanisme de cette résistance d'origine chromosomique est dû à une modification des PLP.

- *Streptocoque B*

Il demeure sensible aux β lactamines, particulièrement l'amoxicilline qui constitue le traitement de choix d'une infection à streptocoque B.

- *E. coli K1*

La résistance aux aminopénicillines est fréquente chez *E. coli*. Les céphalosporines de 3ème génération représentent le traitement de première intention en cas de méningite à *E. coli*.

- *Listeria monocytogenes*

Cette espèce présente une résistance naturelle au céfotaxime. Elle est sensible à l'amoxicilline qui demeure l'antibiotique de choix pour le traitement des infections à *L. monocytogenes*.

V - 2 - HÉMOCULTURE :

Elle doit être pratiquée en cas de bactériémie associée pour augmenter les chances d'isoler la bactérie responsable.

V - 3 - AUTRES EXAMENS

-Détection des bactéries par amplification génique : La recherche de gènes spécifiques de certaines bactéries (*N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*) peut être réalisée à l'aide de techniques d'amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Cette technique contribue au diagnostic rapide de la MP. La PCR peut être réalisée sur le LCS ou à défaut sur sang total prélevé stérilement sur un tube EDTA.

La culture et/ou la PCR peuvent aussi être pratiquées sur un prélèvement de lésions cutanées purpuriques prélevées à l'aide d'un vaccinostyle.

-Détection de virus : en cas de suspicion de méningite virale, le diagnostic étiologique sera effectué par :

- amplification génique par PCR sur LCS ou des génotypes des virus suspectés.

- mise en évidence de la synthèse intrathécale d'immunoglobulines spécifiques d'un agent pathogène (virus ou bactéries intra-cellulaires) dans le LCS

- détection du virus dans sa porte d'entrée dans un contexte clinique de méningite : les selles, les sécrétions naso-pharyngées, le prélèvement de gorge, le sang....

- PCR multiplexe basée sur l'approche syndromique : elle permet de détecter simultanément plusieurs pathogènes (bactéries, virus et levures) dans une même réaction tout en fournissant un résultat rapide en moins de deux heures.

-Bilan inflammatoire : Augmentation des différents marqueurs de l'inflammation en particulier la protéine C-réactive (CRP) et la procalcitonine. Ce dernier est plus spécifique des infections bactériennes à bactéries extra-cellulaires.

IV – 8 – INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS (ANNEXE 2)

-Au cours des MP, le nombre d'éléments blancs (EB) est habituellement important supérieur à 500 EB/mm³ avec prédominance des polynucléaires neutrophiles (90%) et présence de germes d'aspect caractéristique à l'examen direct dans près de 80% des cas. Un traitement antibiotique préalable négatif souvent l'examen direct. Cependant dans certains cas, le nombre d'éléments blancs peut être bas (10 – 20 EB/mm³) avec présence de germes à l'examen direct et/ou à la culture ; une prédominance lymphocytaire se voit au cours des méningites à *L. monocytogenes* ou toute autre bactérie intracellulaire. La recherche des antigènes solubles bactériens dans le LCS permet éventuellement de confirmer un examen direct positif. L'analyse biochimique retrouve une hypoglycorachie, une hyperprotéinorachie et des chlorures qui sont normales.

- Au cours des méningites virales, le liquide cérébrospinal est clair avec hypercytose à prédominance lymphocytaire. L'hyperprotéinorachie peut être présente mais modérée. La glycorachie est normale.

VI - TRAITEMENT PRÉVENTIF

Les mesures prophylactiques s'adressent aux sujets contacts ; elles sont d'autant plus efficaces qu'elles sont instituées rapidement. Elles ne présentent plus qu'un intérêt limité si elles sont prises plus de huit jours après le diagnostic.

VI – 1–LA DÉCLARATION OBLIGATOIRE

La méningite infectieuse est une maladie à déclaration obligatoire en Tunisie. Ceci se fait en remplissant une fiche de maladie à déclaration obligatoire (MDO) et en l'envoyant à la Direction de Soins de Santé de Base (DSSB) et aux directions régionales de santé.

Suite à cette déclaration et dans le cas de méningite à méningocoque, des enquêtes épidémiologiques seront déclenchées très rapidement afin d'identifier les contacts proches qui sont sujet à la chimioprophylaxie.

VI – 2 –LA CHIMIOPROPHYLAXIE

C'est une urgence qui doit débuter dans les 24 à 48H (incubation 7 jours en moyenne). Elle est d'autant plus efficace qu'elle est instituée rapidement. Elle concerne les cas de méningite à méningocoque qui peut avoir un potentiel épidémique important.

La chimioprophylaxie s'adresse à tous les membres de la famille vivant sous le même toit que le cas index et les personnes qui étaient en contact avec ses sécrétions oro-pharyngées dans les 10 jours ayant précédés le début de la maladie (contact direct face à face proche de moins d'un mètre et pendant plus qu'une heure d'affiliée).

L'antibiotique de choix est la rifampicine. Elle réduit le portage de 75 à 98 %, avec un traitement court de 48 h mais on décrit dans certains pays l'émergence de souches résistantes à la rifampicine dans 0,15 à 10 % des cas.

En cas de contre-indication, d'autres alternatives thérapeutiques existent : Ceftriaxone (voie parentérale) ou ciprofloxacine (voie orale) en dose unique.

VI – 3–LA VACCINATION

Actuellement des vaccins sont disponibles et visent les trois principaux germes responsables de méningites purulentes.

a. *Haemophilus influenzae b (Hib)*

Le vaccin vise le sérotype b qui correspond au sérotype le plus virulent. Le vaccin utilisé est composé de polyosides capsulaires desérotype b conjugué à une protéine, il est immunogène dès l'âge de 2 mois. Ce vaccin a fait preuve de son efficacité dans les pays où il a été largement utilisé. Il est administré avec les autres vaccins (3 injections à un mois d'intervalle à partir de l'âge de 3 mois) un rappel après un an est recommandé. Le vaccin actuellement préconisé est le pentavalent comportant les vaccins de la diphtérie, le tétonos, la coqueluche, l'hépatite B et le Hib. Ce vaccin fait partie du calendrier vaccinal tunisien.

b. *S. pneumoniae*

Le vaccin antipneumococcique conjugué est immunogène chez l'enfant à partir de l'âge de deux mois. Il existe actuellement deux vaccins commercialisés en Tunisie, le vaccin 10 valences (Synflorix) et celui 13 valences (Prevenar13). Ces vaccins contiennent les polyosides capsulaires de 10 et 13 sérotypes de *S. pneumoniae* respectivement conjugués à une protéine porteuse. Le vaccin à 10 valences fait aussi partie du calendrier vaccinal tunisien.

Le vaccin antipneumococcique polysaccharidique à 23 valences n'est efficace qu'à partir de l'âge de 2 ans. Il est commercialisé en Tunisie et indiqué aux personnes âgées de plus de 2 ans présentant des pathologies responsables d'anomalies de la phagocytose comme les aspléniques.

c. *N. meningitidis*

Le vaccin antiméningococcique est constitué de polyosides purifiés extraits de la capsule. Il existe des vaccins bivalents A et C, et des vaccins tétravalents A, C, Y et W. ces vaccins sont soit sous forme polysaccharidique soit sous forme conjugué à une protéine.

Certains vaccins conjugués anti-Nm font partie des calendriers vaccinaux de certains pays comme le vaccin conjugué contre *N. meningitidis* sérogroupe C en Grande Bretagne et en France et celui contre le Nm A dans les pays de la ceinture de la méningite. Ces vaccins peuvent être administrés chez l'enfant à partir de l'âge de 2 mois. Le vaccin tétravalent conjugué (A+C+Y+W) est commercialisé dans plusieurs pays dont la Tunisie. Ce vaccin est obligatoire pour les pèlerins de la Mecque. En Tunisie, il est destiné aux pèlerins et aux personnes se rendant dans des pays endémiques.

Il n'existe pas de vaccin polyosidique pour le méningocoque groupe B. Cependant, deux vaccins protéiques à plusieurs constituants sont actuellement commercialisés en Europe et en Amérique.

Une vaccination préventive des sujets contacts peut être proposée si il s'agit d'un Nm desérogroupe A, C, Y ou W.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau I : Interprétation des résultats cytochimiques du LCR

	LCR normal	Méningite purulente	Méningite tuberculeuse	Méningite virale
Aspect	Eau de roche	Trouble	Clair	Clair
EB/mm ³	0 à 10	200 à 5000	30 à 300	100 à 1000
Types cellulaires prédominant	Mononucléés	Polynucléaires	Lymphocytes	Lymphocytes
Examen direct	Négatif	Positif*	Coloration Ziehl (+/-)**	Négatif
Glucose	½ glycémie	Diminué	Diminué	Normal
Protéines	0,2 à 0,4	Augmentées	Augmentées	Normal
Chlorures	120 à 130	Normale	Diminuée	Normale

*l'examen direct peut être négatif dans d'authentiques méningites bactériennes

**coloration spécifique du bacille de Koch qui apparaît comme un bacille acidi-alcoolo-résistant (BAAR)

ANNEXE 2

Tableau II : De la dose à la diffusion méningée

Classe	antibiotique	Conc. dans le LCR (mg/L)	% pénétration	points critiques (mg/L) (S. p. comme exemple) **
β -lactames	pénicilline G	0.8-10	8	≤ 0.06
	ampicilline	0.3-38	4-65	≤ 0.06
	céfotaxime	1-83	4-55	0.5-2
	cetazidime	2-30	14-45	
	ceftriaxone	2-7	1.5-7	0.5-2
	méropénème	1-32	11	≤ 2
fluoroquinolones	moxifloxacine	3-4		0.5
glycopeptides	vancomycine	0.1-5	0-22	4
oxazolidinones	linézolide	6	80	2-4
phénicolés	chloramphénicol	2-23	20-66	8
rifamycines	rifampicine	0.3-5	4-21	0.06-0.5

BACTERIES ANAEROBIES STRICTES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Citer les principales caractéristiques des bactéries anaérobies permettant de comprendre leur pouvoir pathogène et conditionnant leur diagnostic bactériologique et leur résistance aux antibiotiques.
2. Décrire la pathogénicité des anaérobies permettant d'identifier les personnes à risque et de comprendre les signes cliniques de ces infections.
3. Décrire le diagnostic bactériologique des infections à bactéries anaérobies.
4. Décrire les caractères bactériologiques, la physiopathologie et les particularités du diagnostic bactériologique des principales bactéries anaérobies (*C. perfringens*, *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. difficile* et *Bacteroides*).

Connaissances préalables requises

1. Cellule bactérienne.
2. Croissance et nutrition bactérienne.
3. Diagnostic au laboratoire des infections bactériennes.
4. Antibiotiques.

Mise à jour Juin 2013

INTRODUCTION

Les bactéries anaérobies sont responsables d'une grande variété d'infections localisées ou généralisées. Dans la majorité des cas, il s'agit d'infections mixtes, associant bactéries aérobies ou aéroanaérobies et anaérobies strictes. La plupart de ces bactéries se développent lentement. Leur isolement et leur identification demandent un certain délai. Leur mise en évidence reste toujours délicate.

Cliniciens et bactériologistes disposent de certains indices pour suspecter une infection à anaérobies, mais ils doivent, tant pour le prélèvement que pour l'analyse, mettre en œuvre des techniques particulières pour en faire la preuve biologique. Aussi, l'infection par ces germes nécessite une thérapeutique spécifique.

1. GÉNÉRALITÉS

Les bactéries anaérobies strictes regroupent un grand nombre d'espèces différentes formé de bacilles et de cocci, à Gram positif et négatif. Ces bactéries ont comme principales caractéristiques :

- Leur incapacité d'utiliser l'oxygène comme accepteur final d'électrons et donc leur incapacité de se multiplier en présence d'oxygène. Les bactéries anaérobies sont dépourvues de catalase et de peroxydase, enzymes inactivant les dérivés toxiques de l'oxygène, d'où la toxicité de l'oxygène pour ces bactéries.
- Leur multiplication dans les tissus nécrosés où le potentiel d'oxydoréduction est bas.
- Leur pouvoir très gazogène, à l'origine de crépitations dans les tissus.
- Leur résistance naturelle aux aminosides.

2. HABITAT

On distingue :

2.1. LES ANAÉROBIES DE LA FLORE EXOGÈNE :

bacilles à Gram positif sporulés telluriques toxinogènes. Ce sont des hôtes du tube digestif des hommes et des animaux. La spore permet à ces bactéries de survivre en milieu hostile dans l'environnement. Elles peuvent pénétrer chez l'homme avec la terre par effraction (plaie, escarre) ou être à l'origine d'intoxications alimentaires (*C. botulinum*) ou de toxi-infections (*C. tetani*).

2.2. LES ANAÉROBIES DE LA FLORE ENDOGÈNE (FLORE DE VEILLON) :

germes commensaux des cavités naturelles de l'homme (bouche, vagin, tube digestif...). Ils sont dominants au sein de la flore digestive, en particulier colique. Leur rôle est important dans le cadre de l'effet de barrière. Ces germes sont des pathogènes opportunistes lors de la fragilisation des défenses immunitaires de l'hôte (*Bacteroides fragilis*). La composition de cette flore est importante à considérer, car de sa connaissance dépend la nature des espèces isolées dans son voisinage (tableau I, annexe).

3. POUVOIR PATHOGÈNE :

On sépare habituellement les infections à anaérobies en :

3.1. INFECTIONS A CLOSTRIDIUM SÉCRÉTEUR DE TOXINES :

A. TOXI-INFECTIONS (*C. TETANI*, *C. PERFRINGENS*, *C. DIFFICILE*) :

Le germe se développe localement et sécrète sa toxine qui provoque la maladie.

B. INTOXINATIONS (*C. BOTULINUM*) :

C'est l'ingestion de la toxine préformée qui est responsable de la maladie.

- INFECTIONS MIXTES (80 % des infections à anaérobies) :

Elles se développent au voisinage des muqueuses et peuvent se compliquer de métastases infectieuses à distance. Les anaérobies stricts sont associés à d'autres bactéries.

4. PATHOGENICITE DES ANAÉROBIES:

Les muqueuses et la peau hébergent un grand nombre de bactéries anaérobies. Ces microorganismes n'ont aucun pouvoir invasif, mais tout déplacement de ces bactéries vers les tissus voisins peut entraîner une infection locale. À partir de ce foyer primitif, les bactéries anaérobies se développent et diffusent dans les tissus du voisinage. Elles se comportent alors comme des bactéries opportunistes. Il en est de même pour les infections exogènes, les *Clostridiums* telluriques pénètrent à l'occasion de blessures et se développent en profitant de circonstances favorables.

4.1. FACTEURS LIÉS À LA BACTÉRIE :

On peut citer :

- a. **l'adhésion** (fimbriae et pili de *Bacteroides fragilis* et *Porphyromonas gingivalis*)
- b. **la capsule polysaccharidique** (*Bacteroides fragilis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella* et *Peptostreptococcus*)
- c. **les enzymes** (protéases détruisant les immunoglobulines, collagénases des *Prevotella*, bétalactamases, DNases, neuraminidases, héparinases)
- d. **les toxines** (neurotoxines et toxines nécrosantes des *Clostridiums*, leucotoxine de *Fusobacterium necrophorum*, entérotoxines de *Bacteroides fragilis* et des *Clostridiums*. D'autres facteurs peuvent également intervenir dans cette pathogénicité :
 - a. **la synergie bactérienne** : elle joue un rôle important. Un pus anaérobie contient souvent six à huit microorganismes, visibles à l'examen direct, mais pas toujours retrouvés en culture; les aérobies et anaérobies abaissent le potentiel d'oxydoréduction au site infectieux et favorisent le développement des anaérobies.
 - b. **la production d'acides** : en particulier l'acide succinique inhibera l'activité fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles.
 - c. **La production de gaz** : certaines bactéries anaérobies produisent de grandes quantités de gaz (acides gras volatils) clivant et comprimant les tissus (à l'origine du phénomène de crépitation) et favorisant la diffusion de l'infection.

4.2. FACTEURS LIES A L'HÔTE :

- a. Toute déficience immunitaire est favorable à la survenue d'une infection anaérobie (diabète, cancers, leucoses).
- b. L'inhalation du contenu stomacal crée des lésions œsophagiennes ou bronchiques et permet l'installation de bactéries anaérobies provenant de la flore buccodentaire.
- c. Toute ischémie favorise la survenue d'infections par abaissement de la pression partielle en oxygène. Le traitement est souvent compliqué par la mauvaise diffusion des antibiotiques.

L'ensemble de ces facteurs explique la rapidité de l'évolution de certaines gangrènes gazeuses ; la quasi-totalité de la masse musculaire d'une cuisse peut être modifiée en quelques dizaines d'heures.

4.3. MODÈNE TYPIQUE D'UNE INFECTION A ANAÉROBIES :

Il existe des conditions qui prédisposent le patient à l'infection : traumatisme, accident, extraction dentaire, rupture de l'appendice, chirurgie orale, gynécologique ou abdominale. Ces événements sont responsables de la destruction tissulaire initiale. Une infection primaire se développe ; elle n'est pas forcément due aux micro-aérophiles ou aux anaérobies. Les aéroanaérobies facultatifs réduisent localement le potentiel d'oxydoréduction et créent les conditions favorables au développement des anaérobies commensaux présents au site de l'infection. Les bactéries peuvent gagner la circulation sanguine puis disséminer dans tout l'organisme. À distance, là où une mauvaise vascularisation crée des conditions d'anaérobiose, des microcaillots se multiplient dans les capillaires étroits, créant ainsi un ou plusieurs thrombus septiques. Un abcès se forme et des bactéries peuvent alors disséminer par voie hématogène vers d'autres sites. Les complications apparaissent : hémolyse intravasculaire, nécrose tissulaire, choc, coagulation intravasculaire, collapsus cardiovasculaire et éventuellement mort du patient.

5. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DES BACTERIES ANAEROBIES :

La recherche des anaérobies n'est pas systématique. Elle est conditionnée par des arguments cliniques et microbiologiques. Elle ne se pratique ni pour les intoxications ni pour les toxi-infections d'origine exogène. Pour ces infections, le diagnostic est essentiellement clinique.

Les bactéries anaérobies strictes ne peuvent se cultiver qu'en l'absence de l'air ambiant ou de l'oxygène ce qui va nécessiter des techniques bactériologiques inhabituelles, en l'absence d'oxygène (du prélèvement à l'antibiogramme). Ces contraintes techniques peuvent expliquer leur faible fréquence d'isolement dans de nombreux laboratoires.

5.1. PRÉLÈVEMENTS :

Les prélèvements à la seringue (purgée d'air) ou à la pipette sont meilleurs que sur écouvillon. Ils permettent de prélever le pus au niveau du foyer infecté, en évitant la contamination par les flores du voisinage, la rétention de bactéries dans l'écouvillon et leur exposition à l'oxygène.

Les bactéries anaérobies sont recherchées :

- Dans toutes les hémocultures de façon systématique.
- Dans les suppurations profondes, surtout si elles sont accompagnées d'une odeur fétide.
- Dans les prélèvements de tissus nécrotiques et gangrènes.
- Dans les infections proches des muqueuses buccales, anales ou génitales.
- Dans les cas de morsures d'origine animale.
- Dans les interventions chirurgicales.
- Dans les pus ayant des grains jaunes (suspicion d'Actinomyces).
- Pour les patients en réanimation quand il y a des prélèvements bronchiques.
- Dans les recherches de la cause d'une infection chez un malade traité aux aminosides.
- Et surtout, quand l'examen direct du produit pathologique est évocateur (morphologie d'anaérobies, polymicrobisme ou échec des cultures en aérobiose malgré la présence de bactéries à l'examen direct).

Les anaérobies ne doivent pas être recherchés dans les prélèvements provenant de sites normalement colonisés par ces bactéries. La recherche de *C. difficile* dans les selles se fait dans un contexte particulier.

5.2. TRANSPORT :

Le transport du prélèvement au laboratoire doit être rapide. Si l'envoi est différé, il est nécessaire d'utiliser un milieu de transport.

5.3. ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE :

A. ASPECT MACROSCOPIQUE :

L'aspect macroscopique du pus à anaérobie est souvent évocateur : quantité importante, odeur fétide, présence de gaz.

B. EXAMEN MICROSCOPIQUE :

L'examen microscopique du frottis après coloration de Gram peut être évocateur : dissociation cytobactériologique de Prévot (peu de polynucléaires et beaucoup de bactéries), morphologie des bactéries.

C. MISE EN CULTURE :

La culture est, en général, difficile et lente (plusieurs jours). Elle nécessite des milieux de culture désoxygénés avant leur utilisation et des géloses conservées en anaérobiose. Il est recommandé d'ensemencer un milieu liquide (thioglycolate) et un milieu solide sélectif (à base de néomycine) et non sélectif. Elle est réalisée dans des jarres ou des sacs en plastique fermés hermétiquement. Il existe actuellement des sachets permettant de faire l'anaérobiose en moins d'une demi-heure sans catalyseur.

D. IDENTIFICATION BACTÉRIENNE :

L'identification s'effectue en deux temps :

- orientation présumptive : elle utilise des méthodes simples accessibles à tous les laboratoires tels que coloration de Gram, caractères culturaux, recherche d'oxydase et de catalase, croissance en présence d'antibiotiques (kanamycine, colistine, vancomycine) ou d'inhibiteurs (bile, vert brillant), fermentation de sucres, production d'indole et de gélatinase et étude de caractères enzymatiques grâce à une galerie d'identification rapide. Cette orientation présumptive permet la détermination du genre bactérien de la majorité des anaérobies (ce qui est souvent suffisant).
- identification définitive : l'identification précise de certaines espèces est plus délicate et nécessite des examens complémentaires : chromatographie en phase gazeuse, biologie moléculaire.

E. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

Les infections à anaérobies sont souvent polymicrobiennes. La culture et l'identification des souches sont lentes et l'antibiogramme tardivement disponible. Pour ces raisons, on doit souvent recourir à une antibiothérapie « de 1^{ère} intention ».

Les anaérobies sont caractérisés par une sensibilité spécifique aux imidazolés (métronidazole) et une résistance naturelle aux aminoglycosides. Leur sensibilité aux antibiotiques est variable en fonction de l'espèce. Ainsi, les pénicillines sont actives sur *Clostridium* (sauf difficile), *Peptostreptococcus* et les bactéries à Gram positif en général, mais pas sur *Bacteroides* et les bactéries à Gram négatif. L'activité des pénicillines sur *B. fragilis* est restaurée par les inhibiteurs de bêta-lactamases. Les imidazolés sont très actifs sur *Bacteroides* et les bactéries à Gram négatif. Les céphamycines, le chloramphénicol et l'imipénème sont actifs. Les céphalosporines sont inconstamment efficaces (inefficaces contre *C. difficile*).

6. ANAÉROBIES TELLURIQUES :

Les principales bactéries sont *C. perfringens*, *C. botulinum*, *C. tetani* et *C. difficile*.

6.1. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS :

A. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES :

Bacille à Gram positif, épais à bouts carrés, immobile, capsulé.

Après 24h d'incubation en anaérobiose sur gélose au sang, les colonies apparaissent rondes, lisses à bords réguliers entourées d'un halot clair d'hémolyse complète.

Il produit une phospholipase C, hydrolyse la gélantine, fermente les sucres avec production de gaz et d'acide.

B. PHYSIOPATHOLOGIE :

C. perfringens ou sa spore, provenant soit du tube digestif ou de l'environnement, introduit dans la plaie, se multiplie si les conditions sont favorables (anaérobiose, ischémie, pH acide). La production d'enzymes (procollagénase, protéase, hyaluronidase, désoxyribonucléase, hémolysine...) et de toxines entraîne la destruction tissulaire et la production de gaz. La toxine alpha est le principal facteur de virulence. C'est une toxine très puissante de type lécithinase qui est nécrosante et hémolytique. Elle est produite par toutes les souches de *C. perfringens* et particulièrement celles responsables de gangrènes gazeuses et de septicémies du post-abortum. Dans la gangrène gazeuse, elle est responsable de la nécrose musculaire et dans la septicémie du post-abortum, elle est responsable de l'hémolyse intravasculaire aiguë.

L'ingestion d'aliments riches en protéines (viande) cuits et conservés à température ambiante est à l'origine des toxi-infections alimentaires. L'entérotoxine, produite par certaines souches pendant la sporulation, est responsable de ces toxi-infections.

C. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE :

C. perfringens est recherché à partir de pus, d'hémocultures ou d'aliments suspects si toxi-infection alimentaire.

6.2. CLOSTRIDIUM BOTULINUM :

C. botulinum est responsable du botulisme, neuroparalysie rare à déclaration obligatoire. Il existe 3 formes de botulisme : le botulisme alimentaire ou intoxication botulinique (ingestion de toxine préformée dans l'aliment), le botulisme infantile ou toxi-infection (ingestion de bactéries ou de spores) et le botulisme d'inoculation (contamination d'une plaie par bactéries ou des spores de *C. botulinum* avec production in vivo de toxine).

A. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES :

Bacille à Gram positif sporulé, anaérobiose strict élaborant une toxine protéique très puissante (le poison le plus puissant qui existe).

B. PHYSIOPATHOLOGIE :

La toxine botulinique agit sur la jonction neuromusculaire en bloquant la libération d'acétylcholine au niveau présynaptique. Elle paralyse le muscle et n'affecte que la motricité. Il existe un effet rémanent, car la toxine ne peut pas être détruite dans les terminaisons nerveuses, la synapse n'étant plus fonctionnelle. Il existe 7 variétés antigéniques de toxine botulinique avec puissance et rémanence variables. Chacune est neutralisable par un sérum spécifique. La toxine botulinique est transformable en anatoxine par la chaleur.

C. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE :

La mise en évidence de la toxine est l'élément essentiel du diagnostic. Elle est recherchée dans l'aliment incriminé si plusieurs cas sont suspectés. La recherche de *C. botulinum* peut être réalisée à partir des selles et des aliments.

La sensibilité aux antibiotiques n'est pas étudiée. Le traitement étant basé sur la sérothérapie, l'anatoxine et l'anti-cholinesthérasique.

6.3. CLOSTRIDIUM TETANI :

C. tetani est l'agent du tétanos, toxi-infection qui persiste de nos jours malgré la vaccination efficace. La vaccination correctement conduite évite l'apparition de cette maladie grave.

A. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES :

C. tetani est un bacille fin, droit, Gram positif mobile grâce à une ciliature péritrichie, non capsulé et sporulé. La spore est terminale et donne au bacille un aspect en épingle.

La culture en anaérobiose sur milieu gélosé donne un film à la surface de la gélose du fait de la mobilité importante du germe.

B. PHYSIOPATHOLOGIE :

C. tetani se multiplie à la porte d'entrée et produit la toxine téstanique qui diffuse dans l'organisme par toxémie et par endocytose par les terminaisons nerveuses du site de l'infection. Elle se lie à la jonction présynaptique de l'interneurone et empêche la libération d'acide aminobutyrique qui a un effet inhibiteur sur le motoneurone alpha. Il en résulte une activité continue incontrôlée du motoneurone alpha qui produit la paralysie spastique. Les immunoglobulines humaines antitétaniques administrées précocement, neutralisent la toxine circulante avant sa fixation sur les cellules nerveuses. La toxine téstanique peut être transformée en anatoxine par l'action du formol et de la chaleur, elle constitue le vaccin antitétanique. Elle confère une immunité bonne et durable.

C. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE :

Il a peu d'intérêt, car la recherche de *C. tetani* au niveau de la plaie est souvent négative, le bacille téstanique ayant été supplanté par une autre flore. Cependant, on peut être amené à rechercher les spores de *C. tetani* à partir de matériel à usage médical ou chirurgical pour établir leur contamination.

6.4. CLOSTRIDIUM DIFFICILE :

C. difficile est considéré comme un entéropathogène majeur responsable de colites ou de diarrhées post-antibiotiques. Il représente la principale cause de diarrhées nosocomiales chez l'adulte. Les spores de *C. difficile* sont résistantes aux désinfectants utilisés couramment en milieu hospitalier (solutions hydroalcooliques) et constituent une source de contamination à long terme.

A. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES :

C. difficile est une bactérie à Gram positif anaérobiose sporulée (spore subterminale peu déformante). Après 48 heures d'incubation en anaérobiose à 37 °C, les colonies sont facilement identifiables (3-5 mm de diamètre, circulaires à bords irréguliers, non hémolytiques). Elles ont aspect de verre dépoli (à la loupe binoculaire). *C. difficile* ne produit pas de lécithinase.

nase, d'indole, ni d'uréase (à la différence d'autres espèces). Il possède une résistance naturelle aux céphalosporines, aux aminosides, aux quinolones et aux fluoroquinolones.

B. PHYSIOPATHOLOGIE :

La prescription depuis plusieurs jours d'antibiotiques (en particulier ceux à large spectre) entraîne au sein de la flore digestive, l'émergence et la sélection de *C. difficile* (d'origine endogène ou exogène).

Les deux principaux facteurs de virulence impliqués sont les toxines A et B. La toxine A est une entérotoxine qui possède également une activité cytotoxique. La toxine B ou cytotoxine est mille fois plus puissante que la toxine A. Ces toxines inactivent des protéines régulatrices du cytosquelette d'actine entraînant une altération des jonctions intercellulaires. Elles induisent une réaction inflammatoire intense, avec recrutement de polynucléaires au niveau de la *lamina propria*. Les souches non toxinogènes sont considérées comme non virulentes.

C. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE :

Le diagnostic repose soit sur l'isolement d'une souche toxinogène dans les selles soit sur la mise en évidence directe des toxines.

• **Recherche de *C. difficile*** : elle se fait à partir des selles ou des biopsies digestives. L'écouvillonnage rectal est à éviter. La coloration de Gram d'un frottis de selles peut révéler une flore déséquilibrée composée majoritairement de bacilles à Gram positif sporulés et retrouver des leucocytes témoins d'une réaction inflammatoire colique. La culture s'effectue sur des milieux sélectifs (à base de cyclosépine et de céfoxidine). La réalisation de l'antibiogramme n'a pas d'intérêt en routine, car les souches sont habituellement sensibles aux antibiotiques utilisés en thérapeutique (métronidazole ou vancomycine).

• **Détection de toxines** : elle peut s'effectuer qu'à partir des selles ou de liquide intestinal prélevé au cours d'examen endoscopique. La culture cellulaire est la méthode de référence. Elle recherche l'effet cytopathogène de la toxine B (balloïnisation des cellules) et nécessite une lourde infrastructure et un délai de plusieurs jours. Les tests immunoenzymatiques (ELISA ou unitaires), détectent les toxines A et B par des anticorps monoclonaux ou polyclonaux. Les tests unitaires permettent de rendre un résultat en moins de 30 mn.

7. ANAÉROBIES NON SPORULÉS OU ENDOGÈNES :

7.1. BACTÉROÏDES :

Le genre *Bacteroides* regroupe un grand nombre d'espèces, les plus fréquemment responsables d'infections chez l'homme appartiennent au groupe fragilis.

A. CARACTÈRES BACTÉRIOLOGIQUES :

Petits bacilles à Gram négatif polymorphes. La culture en anaérobiose sur milieu gélosé nécessite 48h d'incubation. Les espèces du genre *Bacteroides* poussent en présence de 20 % de bile.

B. PHYSIOPATHOLOGIE :

Le genre *Bacteroides* produit divers enzymes, collagénase, hyaluronidase, chondroïtine sulfate qui jouent un rôle dans la pathogénie de l'infection (dénaturation des constituants tissulaires, invasion tissulaire).

C. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Le diagnostic repose sur l'isolement du germe de divers prélèvements (hémocultures, ponction péritonéale, abcès profond, abcès cutanés ou muqueux...).

7.2. AUTRES ANAÉROBIES ENDOGÈNES

Plusieurs autres espèces bactériennes anaérobies de la flore de Veillon peuvent être à l'origine de tableaux cliniques variables. *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas* sont les bacilles à Gram négatif anaérobies les plus impliqués dans les infections ORL et gynécologiques.

ANNEXE

Tableau 1 : Les anaérobies de la flore endogène (d'après SM Finegold)

<p>Peau</p> <p><i>Propionibacterium acnes</i> +++ <i>Peptostreptococcus</i> spp</p>	<p>Flore buccale</p> <p><i>Prevotella</i> pigmentées <i>Porphyromonas</i> spp <i>Prevotella</i> groupe <i>oralis</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Peptostreptococcus</i> spp <i>Eubacterium</i> spp <i>Actinomyces</i> spp</p>
<p>Flore vaginale</p> <p><i>Lactobacillus</i> : +++ <i>Prevotella bivia</i>, <i>P. distens</i> <i>Prevotella</i> pigmentées <i>Peptostreptococcus</i> spp</p>	<p>Flore colique</p> <p><i>Bacteroides</i> groupe <i>fragilis</i> +++ <i>Bilophila wadsworthia</i> <i>Peptostreptococcus</i> spp <i>Clostridium</i> spp <i>Bifidobacterium</i> spp <i>Eubacterium</i> spp</p>
<p>+++ : germe dominant</p>	

EVALUATION FORMATIVE

1. Citer les 2 meilleures manières pour prélever un pus à la recherche de bactéries anaérobies.

2. Citer 3 facteurs liés à l'hôte prédisposant aux infections à bactéries anaérobies.

3. Citer la famille d'antibiotiques ayant une action spécifique sur les bactéries anaérobies.

Question n° 3 : imidazoles (metronidazole).
Question n° 2 : Déficience immunitaire, inhalation du contenu stomaclal, ischémie.
Question n° 1 : Prélevements à la seringue (purge d'air) ou à la pipette.

Réponses :

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Enumérer les modes de contamination de l'homme par *Brucella* et identifier les personnes à risque.
2. Décrire les bases physiopathologiques permettant de comprendre les signes cliniques et conditionnant le diagnostic bactériologique et le traitement de la brucellose.
3. Poser l'indication des différents tests de diagnostic en fonction du stade de la brucellose et interpréter leurs résultats.
4. Citer les antibiotiques les plus actifs sur *Brucella*.

Connaissances préalables requises

5. Cellule bactérienne.
6. Croissance et nutrition bactérienne.
7. Immunité anti-infectieuse.
8. Diagnostic au laboratoire des infections bactériennes.
9. Antibiotiques.

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Brucella est une bactérie intracellulaire facultative, à réservoir animal, responsable de la brucellose. La maladie humaine se présente sous trois formes cliniques : aiguë, subaiguë ou focalisée et chronique. C'est une anthroponose, endémique en Tunisie, qui touche surtout le monde rural et pose un double problème sanitaire et économique. C'est aussi une maladie professionnelle à déclaration obligatoire.

1. TAXONOMIE :

Le genre *Brucella* est divisé en dix espèces, elles-mêmes séparées en biovars. La distinction entre espèces a un intérêt épidémiologique, car il existe des réservoirs animaux de prédilection et un niveau de pathogénicité assez spécifique selon l'espèce ou le biovar (tableau I, annexe). *B. melitensis*, agent causal de la brucellose ovine et caprine, mais aussi bovine, est hautement répandu en Afrique du Nord.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE :

2.1. CHAÎNE ÉPIDÉMIOLOGIQUE :

La chaîne épidémiologique comprend 3 maillons : une bactérie transmissible, un sujet réceptif et un mode de transmission.

A- BACTÉRIE :

Brucella a un réservoir animal constitué surtout des animaux d'élevage. Les animaux infectés essaient les bactéries dans l'environnement par les fèces, le lait ou les produits d'avortement.

Brucella résiste plusieurs mois (en moyenne 3 mois) dans les conditions naturelles de conservation (lait, fromages, fèces, sol, eau, mur des étables ou bergerie...). Elle est sensible à la chaleur en milieu liquide, d'où l'efficacité de la pasteurisation du lait ou d'une ébullition de courte durée.

B- SUJET RÉCEPTIF

L'homme est un hôte accidentel. Il constitue une impasse épidémiologique pour *Brucella*. L'exposition professionnelle constitue un facteur de risque important et fait de la brucellose une maladie professionnelle à déclaration obligatoire. Les éleveurs, les fermiers, les vétérinaires, les travailleurs des abattoirs et le personnel du laboratoire de bactériologie sont professionnellement exposés à la maladie.

C- MODE DE TRANSMISSION CHEZ L'HOMME :

L'homme se contamine directement au contact d'animaux infectés, par voie cutanée ou muqueuse (conjonctivale ou aérienne). Accidentellement, le personnel de laboratoire peut se contaminer lors de la manipulation de cultures; ou les vétérinaires et les éleveurs lors de la manipulation des vaccins animaux par inoculation transcutanée (piqûre accidentelle) ou conjonctivale.

L'homme se contamine aussi indirectement par voie alimentaire, après ingestion de lait ou de produits laitiers crus et de légumes frais contaminés.

2.2. MODE ÉPIDÉMIOLOGIQUE :

La brucellose humaine n'existe qu'en fonction de la brucellose animale. Cette dernière a une répartition mondiale dont la prévalence peut varier considérablement d'un pays à l'autre et d'un réservoir animal à l'autre. Sa survenue chez l'homme dépend en grande partie du réservoir animal (bovins, moutons et chèvres).

B. melitensis, agent causal de la brucellose ovine et caprine, mais aussi bovine, est endémique dans la majorité des pays du pourtour méditerranéen.

La maladie humaine est devenue rare dans les pays ayant instauré une politique d'éradication de la maladie chez les bovidés, notamment par la vaccination. Elle demeure endémique dans certains pays du bassin méditerranéen, y compris en Tunisie où des épidémies sont parfois observées. Dans les pays nord-africains, les différents programmes de contrôle, basés sur la vaccination et/ou l'abattage des animaux infectés, restent insuffisants en l'absence d'approche régionale d'actualisation. La coordination du contrôle et de la surveillance étant essentielles pour lutter efficacement contre cette maladie animale transfrontalière.

3. PHYSIOPATHOLOGIE :

3.1. FACTEURS DE VIRULENCE :

La caractéristique majeure de l'infection est que la bactérie se multiplie dans les cellules phagocytaires ou épithéliales. Il s'agit donc d'un pathogène intracellulaire facultatif. *Brucella* perturbe le fonctionnement cellulaire, de façon à rester à l'abri de la réponse de l'hôte. Elle produit un inhibiteur du tumor necrosis factor alpha, qui diminue la réponse immunitaire, et un inhibiteur de l'apoptose, lui permettant de se maintenir dans la cellule où elle se multiplie.

3.2. MÉCANISMES DE L'INFECTION :

La brucellose est une bactériémie d'origine lymphatique. Les germes pénètrent par voie cutanéo-muqueuse ou digestive puis gagnent, par voie lymphatique, le premier relais ganglionnaire.

Selon l'inoculum bactérien, la virulence de la souche et les capacités de défense de l'hôte, les brucelles sont très souvent éliminées par les macrophages ganglionnaires et la maladie est inapparente, ou résistent, se multiplient et disséminent dans tout l'organisme par voie lymphatique et sanguine. Ces germes sont phagocytés plus ou moins rapidement par les macrophages résidents des tissus (moelle osseuse, rate) et les cellules de Kuppfer du foie. Leur destruction avec libération d'antigènes et d'endotoxines est responsable de phénomènes toxiques et immunitaires. Leur multiplication dans les vacuoles jusqu'à destruction cellulaire est à l'origine de localisations secondaires.

Ainsi, après une période d'incubation variable, de l'ordre d'une dizaine de jours, la brucellose se caractérise classiquement dans sa phase aiguë par une fièvre ondulante, correspondant aux décharges bactériémiques.

La maladie peut évoluer ensuite vers une phase subaiguë (brucellose localisée ou secondaire), avec possibilité de localisations secondaires (neuro-méningées, cardiaques, hépatospléniques, génitales...).

La phase chronique est une forme inflammatoire, en réponse à la persistance de *Brucella* dans certains sites de l'organisme.

4. IMMUNITÉ :

4.1. IMMUNITÉ HUMORALE :

L'immunité humorale n'a pas de rôle dans la protection de la primo-infection. Elle permet le sérodiagnostic de la maladie.

Les IgM apparaissent dès le 10^{ème} jour de la maladie, suivent une cinétique passant par un optimum, puis il y a décroissance jusqu'au 5-8^e mois d'évolution. Les IgG apparaissent à la 2^{ème} ou 3^{ème} semaine, puis leur titre diminue jusqu'à disparition en cas de guérison, mais reste à un niveau élevé en cas d'infection persistante. Les IgA ont une cinétique semblable à celle des IgG.

4.2. IMMUNITÉ CELLULAIRE :

L'immunité cellulaire est essentielle pour la défense de l'organisme contre l'infection et la protection contre les réinfections. Les lymphocytes T renforcent l'activité bactéricide des macrophages et recrutent les monocytes qui détruisent les *Brucella* au sein d'un granulome spécifique caractéristique d'une bactérie intracellulaire (cellules épithélioïdes, cellules T, cellules géantes). Leur persistance intramacrophagique entretient un état d'hypersensibilité retardée participant aux effets de la brucellose chronique. L'échappement à l'immunité spécifique explique la fréquence des rechutes.

5. CARACTÈRES BACTERIOLOGIQUES :

5.1. CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES :

Les *Brucella* sont de petits coccobacilles, à Gram négatif, immobiles, non capsulés, non sporulés.

5.2. CARACTÈRES CULTURAUX :

Les *Brucella* sont des bactéries exigeantes. Leur croissance nécessite l'utilisation de milieux enrichis au sang. Certaines souches se développent mieux en atmosphère contenant 5 à 10 % de CO₂. Leur température de croissance optimale est 37 °C.

Elles ont une croissance lente. Leur isolement en primoculture nécessite classiquement des temps d'incubation prolongés, de deux à trois semaines en moyenne et parfois plus. L'utilisation de systèmes automatisés pour les hémocultures permet de réduire ce temps à moins de 5 jours dans 95 % des cas.

Les colonies sont translucides, rondes à bords réguliers. La culture en milieu liquide présente un trouble léger.

5.3. CARACTÈRES METABOLIQUES :

Les *Brucella* sont des bactéries aérobies strictes, catalase positive, oxydase habituellement positive et nitrate réductase positive. La plupart des souches isolées en pathologie humaine produisent une uréase d'action rapide et intense. L'ensemble des autres caractères métaboliques est négatif.

5.4. CARACTÈRES ANTIGENIQUES :

A. ANTIGÈNES DE SURFACE :

Le LPS est l'antigène majeur et immunodominant des suspensions utilisées pour le sérodiagnostic de la brucellose. Il est caractérisé par une variation de phase, à l'origine des phénotypes lisse (S-LPS) et rugueux (R-LPS). Le S-LPS est retrouvé à l'état sauvage chez la plupart des espèces et biovars. Les chaînes latérales polysaccharidiques (antigène « O ») du S-LPS sont le support essentiel des réactions croisées entre *Brucella spp.* et *Yersinia enterocolitica* O : 9, ou plus accessoirement *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* O : 1, *Escherichia hermanii*, *Escherichia coli* O : 157, et *Salmonella* O : 30.

B. ANTIGÈNES DE PAROI :

Le peptidoglycane contient une fraction immunisante (phénol-insoluble) associée à la protection, induisant une réaction d'hypersensibilité retardée. Cette fraction a été utilisée pour la fabrication de vaccins.

C. ANTIGÈNES INTERNES :

Le cytoplasme contient un constituant protéique (mélitine ou brucelline) utilisé dans le passé dans les tests cutanés pour l'étude de l'hypersensibilité retardée.

5.5. SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

Les *Brucella* sont des bactéries sensibles à de très nombreux antibiotiques, mais certains sont inutilisables du fait de la localisation intracellulaire de ces germes. Les résistances acquises sont exceptionnelles.

Les antibiotiques les plus actifs sont les aminosides, les tétracyclines, la rifampicine, et les fluoroquinolones. Seuls les aminosides, les tétracyclines et la rifampicine possèdent une activité bactéricide in vitro.

6. DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE :

Seul l'isolement de la souche apporte la certitude diagnostique.

Le diagnostic sérologique est plus fréquent en raison de l'isolement irrégulier du germe. Il permet aussi de suivre l'évolution. Il nécessite l'utilisation de plusieurs techniques détectant différents types d'anticorps, et pose le problème essentiel de son manque de spécificité (tableau II, annexe).

Les techniques de biologie moléculaire offrent de nouvelles perspectives, mais ont une sensibilité faible et sont limitées à des laboratoires spécialisés.

6.1. DIAGNOSTIC DIRECT :

Il permet le diagnostic de la brucellose aiguë ou subaiguë.

A. PRÉLÈVEMENTS :

Brucella est le plus souvent isolée à partir d'hémocultures, plus rarement à partir d'autres prélèvements en fonction du contexte clinique (liquide céphalo-rachidien, pus, liquide articulaire, biopsie ganglionnaire, biopsie osseuse...).

B. EXAMEN DIRECT :

Il est peu utile du fait de la très petite taille et de la faible coloration au Gram de la bactérie.

C. EXAMEN CYTOLOGIQUE DES ÉPANCHEMENTS :

L'examen cytologique du liquide synovial au cours des arthrites brucellienes montre habituellement un taux élevé de leucocytes ($>10000/mm^3$), avec prédominance de polynucléaires neutrophiles. Celle du liquide céphalo-rachidien montre le plus souvent, en cas de méningite, un liquide clair avec une prédominance de lymphocytes.

D. CULTURE :

Toute suspicion de brucellose doit être signalée au laboratoire réalisant la mise en culture des prélèvements biologiques, du fait de la croissance lente des bactéries et du risque élevé de contamination du personnel de laboratoire.

Le sang et les liquides d'épanchement sont inoculés dans des flacons d'automates d'hémocultures permettant une détection précoce de la croissance bactérienne, avec une incubation à 37 °C et sous CO₂, pendant 21 jours. La sensibilité des hémocultures est supérieure à 80 % en phase aiguë de la maladie, mais inférieure à 50 % en phase subaiguë ou chronique, ou si une antibiothérapie a été administrée avant prélèvement.

Les biopsies et les pus sont ensemencés sur gélose trypticase soja additionnée de 5 % de sang de mouton, avec une incubation à 37 °C et sous CO₂, pendant 3 j.

E. IDENTIFICATION BACTÉRIENNE :

Le genre *Brucella* peut être suspecté sur des caractères culturaux et biochimiques (croissance lente en milieu enrichi, colonies non hémolytiques, coccobacilles à Gram négatif, catalase et oxydase positives, uréase rapide). L'identification biochimique par les méthodes phénotypiques usuelles est difficile (faible réactivité biochimique) et peut conduire à de fausses identifications. Elle doit être confirmée par l'utilisation de sérums anti-*Brucella* polyvalents ou par les méthodes génotypiques (séquençage de l'ARN ribosomal 16S ou PCR en temps réel).

L'identification d'espèce et de biovar, réservée à des laboratoires spécialisés, a un intérêt épidémiologique. La brucellose humaine étant un signal d'alarme d'une épizootie.

F. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

La réalisation de l'antibiogramme n'est pas recommandée en raison du risque de contamination, surtout que les résistances sont exceptionnelles.

6.2. DIAGNOSTIC INDIRECT :

La détection des anticorps spécifiques se fait en moyenne 2 à 3 semaines après une infection par *Brucella*. Toutefois, la persistance prolongée des anticorps après infection ne permet pas d'interpréter de façon fiable un titre sérologique unique. On recherche donc une séroconversion ou une multiplication d'au moins 4 des titres sérologiques entre deux sérums, l'un prélevé en phase aiguë et l'autre en phase de convalescence.

La plupart de ces tests sérologiques utilisent comme antigène des suspensions inactivées de *B. abortus*, et détectent principalement les anticorps anti-LPS, d'où la fréquence des réactions croisées entre *Brucella spp.* et d'autres espèces bactériennes.

A. TECHNIQUE D'AGGLUTINATION EN TUBE OU SÉROAGGLUTINATION DE WRIGHT :

C'est la première technique sérologique décrite. Elle demeure la référence préconisée par l'OMS du fait de sa standardisation. Elle détecte surtout les IgM, mais aussi les IgG et les IgA. L'intérêt de cette technique se situe au stade de la brucellose aiguë et subaiguë. Un titre positif correspond à une agglutination complète au 1/80.

De faux négatifs sont observés par phénomène de zone en excès d'anticorps (3 % des sujets), ou du fait de la présence d'anticorps bloquants. L'évaluation de différentes dilutions du sérum test permet de détecter un phénomène de zone. L'absence d'agglutination après mélange d'un sérum positif contrôle au sérum test permet de révéler la présence d'anticorps bloquants.

B. ÉPREUVE À L'ANTIGÈNE TAMPONNÉ OU TEST AU ROSE BENGALE :

C'est une réaction d'agglutination rapide sur lame utilisant un antigène coloré par le rose Bengale. Elle met en évidence les IgG. Elle se positive plus tardivement que la séroagglutination de Wright, mais reste plus longtemps positive, parfois même dans la brucellose chronique. Il s'agit d'un test rapide de dépistage, bien adapté aux enquêtes épidémiologiques.

C. LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE :

Elle est mieux adaptée au titrage spécifique des IgG et des IgM anti-*Brucella*. Son seuil est > 160. Elle est classiquement plus tardive que la séroagglutination de Wright ou l'épreuve à l'antigène tamponné, mais demeure positive au cours de la brucellose chronique, alors que les autres techniques peuvent être négatives à ce stade.

7. ÉLÉMENTS DE TRAITEMENT :

7.1. TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE CURATIF :

Il prend en considération le caractère intracellulaire facultatif des bactéries et du stade de la maladie. Il est toujours objet de discussions. Il est prolongé, utilise en général une bithérapie et se base essentiellement sur les cyclines, la rifampicine et les aminosides.

7.2. TRAITEMENT PRÉVENTIF :

Il repose sur des :

a. **mesures individuelles** de protection chez les personnes exposées professionnellement (port de gants, lavage des mains). Il n'existe pas à ce jour de vaccin efficace et bien toléré chez l'homme.

b. **mesures collectives** se basant sur le :

- contrôle médical (vaccination) et sanitaire (dépistage et abattage des animaux infectés) de l'infection chez les animaux d'élevage (principalement bovins, ovins et caprins)
- contrôle des infections d'origine alimentaire, et notamment la pasteurisation du lait.

ANNEXES

Tableau I : Caractéristiques épidémiologiques et pouvoir pathogène chez l'homme des principaux biovars et espèces de *Brucella*

Espèce	Biovars	Répartition géographique principale	Hôte animal habituel	Pathogénicité chez l'homme
<i>B. abortus</i>	1-6, 9	Ubiquitaire	Bovins, ongulés sauvages	Modérée
<i>B. melitensis</i>	1-3	Bassin méditerranéen, Moyen-Orient	Ovins, caprins, ongulés sauvages	Forte
<i>B. suis</i>	1-3	Amérique, Asie, Océanie	Suidés	Forte
	2	Europe centrale et occidentale	Suidés et lièvres	Faible
	4	Amérique du nord, Russie	Rennes	Modérée
	5	Russie	Rongeurs sauvages	Forte
<i>B. canis</i>		Ubiquitaire (Amérique du sud+++)	Chiens	Faible
<i>B. ovis</i>		Bassin méditerranéen	Ovins	nulle

Tableau II : Utilisation pratique des différentes méthodes de diagnostic bactériologique en fonction de l'évolution de la brucellose

	Hémoculture	Culture de foyers infectieux	Épreuve à l'antigène tamponné	Sérodiagnostic de Wright	Immuno-fluorescence indirecte
Brucellose aiguë	++	-	+++	+++	+++
Brucellose subaigue ou focalisée	+	+++	+	+	+++
Brucellose chronique	-	-	-	-	+
Dépistage systématique	-	-	+++	-	-

EVALUATION FORMATIVE

Question n° 1 : Citer le test le plus utilisé pour le sérodiagnostic d'une brucellose aiguë en précisant son seuil de positivité et le type d'anticorps détectés.

Question n° 2 : Citer le test sérologique le plus adapté aux enquêtes épidémiologiques pour le dépistage de la brucellose en précisant le type d'anticorps détectés.

Question n° 3 : Citer le test le plus adapté au diagnostic bactériologique d'une brucellose chronique en précisant son seuil de positivité.

Question n° 4 : Citer le prélèvement à faire pour l'isolement de *Brucella* en cas de suspicion de brucellose aiguë.

tamponnée, IgG.

Question n° 2 : Test au rose Bengal ou épreuve à l'antigène **Question n° 4 :** Hémocultures

Question n° 1 : Sérodiagnostic de Wright, IgM, IgG et IgA. **Question n° 3 :** Immuno-fluorescence indirecte, >160.

Réponses :

RICKETTSIA-ORIENTIA

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

- Enumérer les modes de contamination de l'homme par les Rickettsiaeae
- Décrire les bases physiopathologiques permettant de comprendre les signes cliniques et conditionnant le diagnostic bactériologique et le traitement des Rickettioses
- Poser le diagnostic des Rickettioses de en se basant sur des arguments épidémiologiques, cliniques et paracliniques
- Prescrire le traitement curatif des Rickettioses
- Citer les mesures de prophylaxie contre les Rickettioses

Connaissance préalables requises

1. Cellule bactérienne.
2. Croissance et nutrition bactérienne.
3. Immunité anti-infectieuse.
4. Diagnostic au laboratoire des infections bactériennes.
5. Antibiotiques.
6. Fièvre.

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Les Rickettioses sont des maladies infectieuses réémergentes, polymorphes, potentiellement graves et mondialement répandues. Ce sont des anthropozoonoses transmises par la morsure d'un arthropode vecteur et dues à des bactéries à multiplication intracellulaires obligatoires, de culture difficile. On en distingue trois grands groupes de Rickettioses :

- Typhus, comprenant le typhus exanthématique (typhus épidémique à poux), autrefois à l'origine de pandémies dévastatrices, et le typhus murin (typhus endémique).
- Fièvres boutonneuses, très nombreuses.
- Typhus des broussailles (scrub typhus).

1. ETIOLOGIE :

Les Rickettioses sont dues à des bactéries du genre *Rickettsia* ou *Orientia*, de la tribu des Rickettsiaeae. Le Genre *Rickettsia* sp est divisé en deux groupes : Groupe des fièvres boutonneuses (GFB) (*R. Conorii*, *R. rickettsii*, ...) et groupe Typhus (GT) (*R. prowaseki*, *R. typhi*). Le Genre *Orientia* sp est représenté par *O. tsutsugamushi*.

Les rickettsies sont des bactéries intra-cellulaires strictes. Leur culture in vitro est impossible en l'absence de cellules vivantes. Ce sont des bacilles dont la structure est celle des bactéries à Gram négatif. Cependant elles ne sont pas colorées par la coloration de GRAM mais par la coloration de Gimenez ou par la coloration de Giemsa.

Les rickettsies sont sensibles aux tétracyclines, chloramphénicol, fluoroquinolones et à quelques macrolides (josamycine, roxithromycine et pristinamycine). Aucune résistance acquise à ces antibiotiques n'a été caractérisée à ce jour. Elles sont résistantes aux β-lactamines, aux aminosides et au cotrimoxazole.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE :

Les Rickettioses sont associées aux arthropodes, principalement aux tiques (ex : *R. Conorii*), aux poux (ex : *R. prowaseki*), puces (ex : *R. typhi*) ou acariens (ex : *O. tsutsugamushi*) (annexe : Tableau I).

Ces hôtes peuvent être le réservoir et/ou le vecteur des Rickettsiae. Ils interviennent dans leur cycle infectieux en assurant la transmission inter-humaine, inter-animale ou de l'animal à l'homme de ces bactéries. Il n'y a pas de transmission inter-humaine directe.

De nombreux animaux constituent le réservoir naturel de ces bactéries. L'homme ne représente qu'un hôte accidentel, à l'exception de *R. prowazekii* (agent du typhus exanthématique) qui est une espèce de réservoir essentiellement humain.

L'écologie de chaque espèce est directement liée à l'épidémiologie des pathologies associées. Ainsi, la bio-écologie détermine la distribution géographique des pathologies, l'incidence de la maladie, ainsi que les variations saisonnières (annexe : Tableau I).

• GROUPE DES FIÈVRES BOUTONNEUSES (GFB) :

La plupart des rickettsioses du GFB sont transmises par l'intermédiaire d'une ou plusieurs espèces de tiques, qui présentent une spécificité d'espèce relative: la tique du chien est responsable de la transmission de *R. conorii* dans le pourtour méditerranéen. C'est une maladie **épidémique en Tunisie**. Elle est de prédominance estivo-automnale.

• GROUPE TYPHUS :

o *R. prowazekii* est une espèce de réservoir essentiellement humain. La transmission de la maladie est inter-humaine indirecte, par l'intermédiaire du pou du corps.

o *R. typhi* possède un réservoir animal étendu, représenté essentiellement par de petits rongeurs. Les rats sont habituellement à l'origine des contaminations humaines, par l'intermédiaire de la puce du rat. Cette maladie est de répartition mondiale, bien que rare dans les pays occidentaux. Elle est détectée principalement dans les zones portuaires.

• TYPHUS DES BROUSSAILLES :

Le typhus des broussailles est endémique dans l'Est du continent asiatique et dans l'Ouest du Pacifique. La transmission à l'homme se fait par piqûre de larves d'acariens qui vivent habituellement en zones broussailleuses (scrub) d'où le nom donné à cette rickettsiose.

3. PHYSIOPATHOLOGIE :

La séquence d'évènement dans l'infection à Rickettsia a été bien établie.

Les rickettsies du GFB, transmises par les tiques sont inoculées à la peau à partir de la salive de l'arthropode durant son repas sanguin. Les rickettsies du GT sont éliminées dans les fèces des puces et des poux puis vont pénétrer par auto-inoculation à travers les lésions de grattage au niveau du site de la piqûre de la puce ou du pou.

Toutes les cellules nucléées du derme (fibroblastes, macrophages, cellules dendritiques et cellules endothéliales) peuvent constituer une cible des rickettsies au niveau du site d'inoculation.

Les bactéries vont passer ensuite dans les vaisseaux lymphatiques pour atteindre les ganglions régionaux puis peuvent regagner la circulation sanguine. Ainsi, tous les organes peuvent être atteints mais les cibles préférentielles sont le poumon et le cerveau. Les bactéries échappent à la fusion phagolysosomale par destruction rapide de la membrane phagolysosomale.

Au cours des infections à Rickettsia, une inflammation vasculaire est observée. La vasodilatation, premier phénomène qui apparaît, est responsable du rash cutané. L'augmentation de la perméabilité vasculaire, la blessure endothéliale et la réponse lympho-histiocytaire sont responsables de la vascularite. Un infiltrat lympho-histiocytaire périvasculaire est observé dans le cerveau, les poumons, le cœur, les reins, la peau, le tube digestif, le pancréas, les muscles, les testicules,...

L'atteinte neurologique au cours des rickettsioses serait due à une hypoxémie, une ischémie et un œdème cérébral associé à l'inflammation.

4. IMMUNITE :

L'infection à rickettsies entraîne une immunité forte et durable.

L'immunité cellulaire semble jouer un rôle important dans la guérison. Cette immunité peut s'accompagner de la persistance de *R. prowazekii* dans l'organisme à l'origine des récidives ou maladie de Brill-Zinsser correspondant en général à un tableau de typhus atténué.

L'immunité humorale est d'un grand intérêt diagnostique.

5. CLINIQUE : FIEVRE BOUTONNEUSE MEDITERRANEEENNE

Elle se caractérise par une éruption cutanée généralisée, touchant souvent les paumes et les plantes. Il s'agit d'une éruption boutonneuse, érythémateuse, associée parfois à des éléments purpuriques. L'éruption apparaît entre le 2ème et le

7ème jour de la maladie et disparaît sans laisser de séquelles. A l'éruption cutanée peuvent s'associer une fièvre, une conjonctivite, un énanthème de l'oropharynx, un chancre d'inoculation (tâche noire) et une adénopathie satellite du chancre d'inoculation.

Des manifestations extra-cutanées sont associées dans 5 à 6 % des cas :

- Hépato-splénomégalie, en particulier chez l'enfant
- Encéphalitique : stupeur ou syndrome confusionnel, convulsions (nourrisson, formes graves), encéphalite, ...
- Méningée : méningite à liquide clair
- Cardiovasculaire : collapsus initial, bradycardie (formes graves), modifications électrocardiographiques, myocardite, coronarite
- Pulmonaire : pneumopathie avec images réticulo-nodulaires hilifuges, voire un œdème en aile de papillons (formes graves) avec hypoxémie-hypercapnie
- Rénale : insuffisance rénale aiguë fonctionnelle, nécrose tubulaire aiguë, glomérulonéphrite extra capillaire (mécanismes physiopathologiques différents)
- Oculaire : Rétinite
- Paralysie nerveuse périphérique : paralysie faciale
- Polyradiculonévrite
- Arthrite réactionnelle

6. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

6.1. DIAGNOSTIC NON SPECIFIQUE :

Les examens biologiques à demander en cas de FBM sont : hémogramme, urée, CRP, créatinine, transaminases, bilirubine, phosphatases alcalines, Enzymes musculaires. Certains paramètres peuvent être perturbés au cours des rickettsioses éruptives et peuvent être utiles au diagnostic. On peut observer notamment une leucopénie, une thrombopénie, et/ou une élévation des transaminases.

6.2. DIAGNOSTIQUE SPECIFIQUE :

Le diagnostic bactériologique repose surtout sur le sérodiagnostic, les rickettsies étant difficiles à cultiver, leur isolement nécessite des laboratoires spécialisés.

6.2.1. *Diagnostic bactériologique direct :*

- Prélèvements : Le sang (avec anticoagulant), les biopsies (peau, foie, os) et les prélèvements tissulaires (valves natives, prothèses valvulaires,...) sont recueillis dans un flacon stérile. Les échantillons sont congelés à (-) 80°C et transportés en carboglace.
- Examen direct : L'immuno-détection de Rickettsia sp ou Orientia sp est possible sur prélèvement tissulaire frais ou fixé dans le formol et inclus en paraffine (biopsie cutanée,...).
- Culture : L'isolement sur culture cellulaire, de sensibilité médiocre, est réalisé dans des laboratoires de référence et de haut niveau de sécurité biologique.
- Identification de l'espèce : Des anticorps monoclonaux sont disponibles pour l'identification des souches de Rickettsia GFB et GT et Orientia. En pratique, ce sont les outils de biologie moléculaire qui apportent l'identification de certitude, fondée sur l'amplification génique (PCR) suivie d'une analyse par séquençage.
- Méthodes de diagnostic rapide : L'amplification génique de l'ARN 16S par PCR permet la détection de l'ADN des rickettsies au niveau d'une biopsie d'escarre cutanée. La PCR suivie de séquencage des gènes rOmpA et rOmpB permettent l'identification d'espèce.

6.2.2. *Diagnostic bactériologique indirect :*

Les anticorps apparaissent sept à 10 jours après le début de la maladie.

- Immunofluorescence indirecte : C'est le test sérologique de référence. Il permet de détecter les IgM et IgG dirigés contre un grand nombre d'antigènes. Il utilise des suspensions de rickettsies tuées. Il est nécessaire de tester un antigène pour chacun des 3 groupes et de tenir compte des données épidémiologiques. Le taux significatif d'anticorps est > 1/32. L'IFI est insuffisante pour identifier l'espèce en cause.
- Western blot : Permet un diagnostic plus précoce (5 jours), mais son intérêt réside essentiellement dans la précision de l'espèce de rickettsie en cause en utilisant les antigènes lipopolysaccharidiques et les protéines de haut poids moléculaire. Cette technique, longue et coûteuse, est disponible uniquement dans les centres de référence.

- Sérodiagnostic de Weil-Felix : Basé sur l'existence d'antigènes communs entre rickettsies et certains sérotypes de *P. vulgaris*. Ce sérodiagnostic non spécifique est très peu utilisé actuellement.

7. TRAITEMENT CURATIF :

Il se base sur des antibiotiques à pénétration intracellulaire : doxycycline, macrolides (clarithromycine – azithromycine), fluoroquinolones (ciprofloxacin – Ofloxacin) et rifampicine (Annexe, Tableau II).

Le traitement de la fièvre boutonneuse méditerranéenne dépend de la forme clinique :

- **Forme cutanée :**

- Adulte : Doxycycline (2,2mg/kg/12h) : 200 mg/jour – 7 à 10 jours
- Enfant de plus de 8 ans : Doxycycline 5 mg/kg/12h à poursuivre pendant au moins 3 jours après l'apnée
- Enfants moins de 8 ans : Clarithromycine 15 mg/kg/j (Azithromycine, Rifampicine)
- Femme enceinte : Clarithromycine, Rifampicine, Azithromycine

- **Pneumopathie** : Doxycycline pendant 14 jours

- **Autres formes compliquées (Méningo-encéphalite, Myocardite, coronarite et rétinite) :**

- Traitement IV (doxycycline, fluoroquinolones, rifampicine, clarithromycine), de longue durée (2 semaines à 1 mois), en milieu hospitalier, assistance cardiaque, réanimation
- Doxycycline, IV 200 mg/j puis per os, pendant 10 jours

8. PROPHYLAXIE :

Il n'y aucun vaccin disponible. La meilleure prévention contre les rickettsioses consiste à éviter les piqûres d'arthropodes et passe par :

- Le traitement des chiens pour éradiquer les tiques
- L'utilisation de répulsifs à base de DEET (N,N-Diéthyl-m-toluamide, 15% à 30%) sur la peau exposée.
- Le traitement des vêtements par des acaricides de contact à base de perméthrine.
- Le port de pantalons longs rentrés dans les bottes et l'examen quotidien de la peau lors de passages en zone infestée.
- Toute tique trouvée attachée peut être retirée avec une pince suivie d'une désinfection superficielle à l'alcool. En absence de signes cliniques, il n'y a pas d'indication à débuter une antibiothérapie préventive.

Concernant les poux du corps, l'éradication est la seule stratégie de lutte :

- Changement complet de vêtements OU saupoudrage des vêtements par de la poudre de DDT à 10%, de malathion à 1% ou de perméthrine à 1%.

EVALUATION FORMATIVE

Question n°1 : Citer l'espèce bactérienne responsable de la fièvre boutonneuse méditerranéenne en précisant son vecteur.

Question n°2 : Citer l'espèce responsable du typhus murin en précisant son vecteur.

Réponse n°1 : *R. typhi*, puce du rat.

Réponse n°2 : *R. conorii*, tique du chien.

Réponses :

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

- Enumérer les modes de contamination de l'homme par *Coxiella burnetii*
- Décrire les bases physiopathologiques permettant de comprendre les signes cliniques et conditionnant le diagnostic bactériologique et le traitement de la fièvre Q
- Poser le diagnostic de la fièvre Q en se basant sur des arguments épidémiologiques, cliniques et paracliniques
- Prescrire le traitement curatif de la fièvre Q
- Citer les mesures de prophylaxie contre la fièvre Q

Connaissances préalables requises

1. Cellule bactérienne.
2. Croissance et nutrition bactérienne.
3. Immunité anti-infectieuse.
4. Diagnostic au laboratoire des infections bactériennes.
5. Antibiotiques.
6. Fièvre.

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Coxiella burnetii, bactérie intracellulaire obligatoire, est l'agent de la fièvre Q (query fever). Cette maladie est une anthroponose ubiquitaire qui atteint principalement les personnes en contact avec les animaux. La contamination se fait le plus souvent par inhalation d'aérosols. La fièvre Q est classiquement divisée en infection aiguë et infection chronique.

1. ETIOLOGIE :

C. burnetii est une petite bactérie à multiplication intracellulaire obligatoire, Gram-négative, colorable par la méthode de Gimenez. Elle survit dans le milieu extérieur en formant des pseudospores extrêmement résistantes (agents chimiques, désinfectants, dessiccation, variations de pH, de température et de pression osmotique). Ainsi, elle peut survivre 40 mois dans du lait conservé à température ambiante, deux ans à (-) 20°C et huit mois dans de la laine conservée à (+) 20°C. La culture in vitro est impossible en l'absence de cellules vivantes. *C. burnetii* présente une **variation antigénique** liée à des modifications du lipopolysaccharide de surface (LPS) qui détermine des modifications de virulence :

- La **phase I**, extrêmement virulente, phase naturelle, retrouvée chez l'homme, l'animal ou l'arthropode infecté. La manipulation de la bactérie en phase I doit se faire dans un laboratoire de haute sécurité.
- La **phase II**, nettement moins virulente, n'est obtenue qu'au laboratoire, après passages en cultures cellulaires ou sur œufs embryonnés.

Les β-lactamines et les aminoglycosides sont inactifs sur ces bactéries. Seuls les antibiotiques à bonne activité intracellulaire sont actifs : tétracyclines, fluoroquinolones, rifampicine et cotrimoxazole. L'activité des macrolides est variable d'une souche à l'autre. Aucune résistance acquise à ces antibiotiques n'a été caractérisée à ce jour en situation clinique.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE :

C. burnetii est une bactérie ubiquiste cosmopolite. Son réservoir est constitué par différentes espèces de mammifères sauvages et domestiques (en particulier les ovins, les bovins et les caprins) ainsi que de nombreux arthropodes, les tiques étant les plus fréquemment infectées.

Il suffit d'une bactérie pour infecter un être humain.

L'inhalation d'aérosols infectés par *Coxiella burnetii* constitue le principal mode de contamination de l'homme. D'autres modes d'infection, tels que la consommation d'eau, d'aliments contaminés et surtout de lait cru ou de produits laitiers au lait cru, sont possibles même si leur importance, souvent qualifiée de faible, est en fait mal connue.

Les patients porteurs d'une valvulopathie, d'une prothèse valvulaire ou vasculaire, les femmes enceintes et les patients atteints de néoplasie peuvent développer une forme chronique à type d'endocardite, d'infection de prothèse vasculaire ou d'ostéite.

Chez l'homme, la prévalence de l'infection est mal connue car la maladie est souvent bénigne voire asymptomatique et ne peut être diagnostiquée que par des examens biologiques réalisés dans des laboratoires spécialisés.

3. PHYSIOPATHOLOGIE ET IMMUNITÉ :

C. burnetii a une infectiosité majeure puisqu'une seule bactérie est suffisante pour provoquer une infection. Après pénétration dans l'organisme, *C. burnetii* entre dans la cellule (monocytes et macrophages) de façon passive par phagocytose et se multiplie dans le phagolysosome en environnement acide (pH à 4,5).

L'infection aiguë conduit à la formation de granulomes, témoins d'une réponse immunitaire locale efficace, c'est pourquoi *C. burnetii* est indétectable par PCR ou immunohistochimie dans ces lésions. Des anticorps dirigés contre l'antigène de phase II sont produits 7 à 14 jours après l'apparition des symptômes cliniques. Les titres sérologiques atteignent leur niveau maximum 4 à 8 semaines puis diminuent progressivement au cours des 12 mois suivants.

Dans la fièvre Q chronique, la réponse immunitaire étant inefficace, voire délétère, *C. burnetii* se multiplie dans les macrophages et est à l'origine d'une bactériémie prolongée malgré la forte concentration des trois classes d'anticorps (IgG, IgM et IgA, de phase I et de phase II). À ce stade, les biopsies de foie, de valve cardiaque ou d'anévrisme ne présentent pas de granulome mais une grande vacuole contenant *C. burnetii*.

L'immunodépression est corrélée avec la gravité de l'infection au cours de la fièvre Q aiguë. Elle favorise la fièvre Q chronique.

Le contrôle immunitaire de *C. burnetii* dépend des lymphocytes T mais ne permet pas toujours l'éradication définitive de la bactérie.

L'immunité humorale est à la base du diagnostic indirect de la maladie.

4. CLINIQUE :

La fièvre Q est une maladie infectieuse qui peut se présenter sous deux formes : aigue ou chronique.

A. INFECTION AIGUË :

Une infection aiguë doit être évoquée devant :

- Un syndrome pseudo grippal : fièvre, myalgies, ...
- Une pneumopathie atypique
- Une méningite à liquide clair ou une méningo-encéphalite
- Une polyradiculonévrite
- Une hépatite
- Une éruption cutanée : exanthème maculopapuleux, érythème noueux
- Une myocardite ou une péricardite

B. INFECTION CHRONIQUE:

L'infection chronique peut engendrer:

- Une endocardite à hémocultures négatives, le plus souvent chez des patients valvulaires opérés
- Une infection des anévrismes et des prothèses artérielles
- Une hépatopathie chronique
- Une ostéomyélite

C. INFECTIONS SUR UN TERRAIN PARTICULIER :

- Infection de la femme enceinte : mort-né, prématurité
- Infection de l'immunodéprimé : grave

5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Le diagnostic bactériologique de la fièvre Q repose surtout sur le sérodiagnostic, *C. burnetii* étant difficile à cultiver, son isolement nécessite des laboratoires spécialisés.

5.1. DIAGNOSTIC DIRECT :

A. PRÉLÈVEMENTS : Les échantillons de sang (avec anticoagulant) et les prélèvements tissulaires (valves natives, prothèses valvulaires ou vasculaires, placenta, ...) sont recueillis dans un flacon stérile. Les échantillons sont transportés en carboglace et congelés à (-) 80°C.

B. EXAMEN DIRECT : L'immuno-détection de *C. burnetii* est possible sur prélèvement tissulaire frais ou fixé et inclus

C. CULTURE : L'isolement en culture de cellules d'eucaryotes est effectué en laboratoire de référence de haute sécurité microbiologique, essentiellement pour établir une collection de souches. Sa sensibilité très faible limite grandement son intérêt diagnostique.

D. IDENTIFICATION : Des anticorps monoclonaux sont disponibles pour l'identification des souches. En pratique, l'amplification génique (PCR) suivie d'une analyse par séquençage permet l'identification des isolats.

E. MÉTHODES DE DIAGNOSTIC RAPIDE : Les techniques d'amplification génique (PCR) appliquées directement aux prélevements biologiques peuvent être utiles occasionnellement. Elles permettent par exemple de confirmer un diagnostic d'endocardite à hémodéculture négative en montrant la présence d'ADN de cette espèce au niveau des valves cardiaques (exérèse chirurgicale).

5.2. DIAGNOSTIC INDIRECT :

La sérologie par immunofluorescence indirecte est la méthode de référence pour le sérodiagnostic de la fièvre Q. Elle est pratiquée vis-à-vis des antigènes de la phase I et de la phase II. Des titres d'IgG > 200 et d'IgM > 50 contre les antigènes de phase II suffisent au diagnostic d'infection récente. Cependant, c'est la séroconversion ou la multiplication du titre par quatre qui font le diagnostic d'une fièvre Q aigue. La présence d'anticorps antiphase I témoigne en règle générale d'un passage à la chronicité, un titre d'IgG > 800 contre les antigènes de phase I traduit une infection chronique.

6. TRAITEMENT :

• Formes aiguës :

- o Doxycycline: 200 mg/jour pendant 3 semaines

• Endocardites :

o Traitement de référence : doxycycline associée à l'Hydroxychloroquine pendant 18 mois OU doxycycline associée à une fluoroquinolone ou à la rifampicine pendant 3 ans

• Enfant et femme enceinte : cotrimoxazole ou rifampicine

7. PROPHYLAXIE :

• Vaccination : Il existe un vaccin humain (Q-vax) commercialisé uniquement en Australie.

• Prévention de la transmission :

• Chez l'homme:

- o Port systématique de masques pour le nettoyage des cages d'animaux et le changement de la litière.

o Sérodiagnostic systématique chez l'ensemble du personnel lors de survenue de fièvre Q chez un employé d'un élevage ou d'une entreprise exerçant des activités à risque.

o Manipulations des prélèvements contenant des souches de *C. burnetii* uniquement dans des laboratoires de type P3.

o Les femmes enceintes et les individus susceptibles de développer des formes chroniques ne doivent pas consommer de lait cru ou des produits laitiers au lait cru et éviter les contacts avec les animaux.

• Chez les animaux:

o Dépistage sérologique systématique des animaux nouvellement introduits dans un élevage.

o Pratique des mises bas en boxes séparés, désinfection des boxes dans les élevages contaminés.

o Chimioprophylaxie par oxytétracycline des animaux gestants non vaccinés.

TESTS D'AUTOEVALUATION

Question n°1 :

Citer le principal mode de contamination de l'homme par *Coxiella burnetii*.

Question n°2 :

Préciser le nombre de bactéries de *Coxiella burnetii* suffisant pour provoquer une infection chez l'homme.

Une seule bactérie

Réponse n°2 :

Inhalation d'aérosols infectés par *Coxiella burnetii*

Réponse n°1 :

Réponses :

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

- Décrire le diagnostic bactériologique des infections à Bartonella sp et à Ehrlichia sp
- Citer les formes cliniques des infections à Bartonella sp et à Ehrlichia sp
- Prescrire le traitement curatif des infections Bartonella sp et à Ehrlichia sp

1. BARTONELLA :

Les bartonelles sont responsables de zoonoses avec un spectre varié de maladies chez l'homme. Elles sont réparties en plus de 20 espèces. Chaque espèce a un réservoir mammifère spécifique (par exemple, l'homme pour *B. quintana* et le chat pour *B. henselae*).

Les bactéries sont transmises à l'homme par griffure ou morsure de chat (par exemple, *B. henselae*) ou par différents vecteurs (par exemple, poux de corps pour *B. quintana*).

Les bactéries du genre *Bartonella* sp sont intracellulaires facultatives à tropisme intra-érythrocytaire. Ce sont des bacilles à Gram-négatif, légèrement incurvés, exigeants, de croissance lente et fastidieuse. La sensibilité *in vitro* des bactéries est mal corrélée avec une efficacité clinique mal démontrée.

1.1. CLINIQUE :

B. henselae est responsable de la maladie des griffes du chat, de l'angiomatose bacillaire, de la péliose hépatique, de bactériémies chroniques et d'endocardites. *B. quintana* cause la fièvre des tranchées, l'angiomatose bacillaire, des bactériémies chroniques et des endocardites. *B. bacilliformis* est à l'origine de la maladie de Carrion. D'autres formes sont décrites : syndrome oculo-glandulaire de Parinaud (conjonctivite au site d'inoculation + adénopathie prétragienne), atteintes poly viscérales, neurologiques, osseuses, cutanées, ..., fièvre au long cours, fatigue chronique, bactériémies chez l'immunodéprimé, ...

1.2. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

La sérologie (détection d'anticorps IgG) et l'amplification des acides nucléiques (PCR) sont les tests de référence. La culture du sang (hémocultures), de pus ganglionnaire, de tissus de biopsies (ganglionnaire, hépatique, splénique cutanée, ...) ou de valves cardiaques est peu sensible.

1.3. TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE :

Le traitement antibiotique dépend de la forme clinique :

- **Maladie des griffes du chat** : cyclines, azithromycine
- **Angiomatose bacillaire** : érythromycine, azithromycine
- **Bactériémies ou endocardites** : doxycycline+gentamicine OU ceftriaxone+gentamicine OU amoxicilline+gentamicine

2. EHRLICHIA :

Les bactéries du genre *Ehrlichia* sp sont intracellulaires obligatoires, responsables des Ehrlichioses, majoritairement animales. La contamination humaine a lieu à partir d'un réservoir animal, par l'intermédiaire d'un vecteur (le plus souvent une tique). La répartition géographique et saisonnière (prédominance au printemps et en été) est étroitement dépendante de la répartition et de l'activité du vecteur intervenant dans le cycle infectieux. En Tunisie, les enquêtes sérologiques suggèrent l'existence possible de l'ehrlichiose.

Ehrlichia sp a une multiplication intracellulaire obligatoire, avec une cellule cible variable en fonction de l'espèce considérée (monocytes/macrophages, polynucléaires neutrophiles). Les bactéries du genre *Ehrlichia* sp sont des bacilles mal ou non colorées par la coloration de GRAM. Elles sont sensibles aux tétracyclines et à la rifampicine.

2.1. CLINIQUE :

La Symptomatologie humaine de l'infection à *Ehrlichia* sp est très hétérogène. Il peut s'agir d'un syndrome pseudo grippal, d'une éruption cutanée fébrile, d'une méningo-encéphalite, d'une polyadénopathie ou d'une splénomégalie. Le diagnostic clinique est donc difficile.

2.2. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

La mise en évidence directe de *Ehrlichia* sp sur frottis sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa est difficile et aléatoire mais assez évocatrice du diagnostic. Le diagnostic sérologique par immunofluorescence indirecte, assez tardif (IgM puis IgG apparaissant à partir de la deuxième semaine suivant l'infection) est habituellement utilisée. Il permet la recherche de séroconversion (augmentation du titre des anticorps d'un facteur au moins 4, entre la phase aiguë et la convalescence). Les techniques d'amplification génique, sur sang, spécifiques et assez sensibles, permettent de détecter les acides nucléiques parfois plusieurs semaines après infection. L'isolement en culture cellulaire, méthode de référence, très peu sensible, est réservée aux laboratoires de référence.

2.3. TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE :

La molécule de choix est la Doxycycline, 100 mg, 2 fois par jour chez l'adulte pendant une à deux semaines. C'est aussi le traitement de choix chez l'enfant, compte tenu d'un traitement court et de la résistance au chloramphénicol. Les enfants pesant moins de 45 kg reçoivent 4 mg/kg/j en deux prises sans dépasser 100 mg/j.

Le traitement chez la femme enceinte repose sur la rifampicine.

Les formes graves sont traitées par la doxycycline IV.

3. AUTRES BACTERIES A MULTIPLICATION INTRACELLULAIRE POUVANT INFECTER L'HOMME

Plusieurs bactéries à multiplication intracellulaire peuvent infecter l'homme (Annexe, Tableau III).

ANNEXE

Tableau I : Principales espèces de la famille des Rickettsiaceae

Espèce	Maladie	Vecteur	Répartition géographique	Mode épidémique
Groupe des fièvres boutonneuses				
<i>R. Conorii</i>	Fièvre boutonnière méditerranéenne	tique du chien	Pourtour méditerranéen, Géorgie, Inde	Endémique Eté +++
<i>R. rickettsii</i>	Fièvre pourprée <i>des montagnes rocheuses</i>	tiques	Amérique	Endémique Avril -Septembre
Groupe typhus				
<i>R. prowaseki</i>	Typhus épidémique	pou du corps	Amérique, Afrique, Asie	Endémo-épidémique
<i>R. typhi</i>	Typhus murin (endémique)	puce du rat	Europe du sud, Amérique du nord, Afrique, Asie, Israël	Endémique Eté-automne
Genre <i>Orientia</i>				
<i>O. tsutsugamushi</i>	Typhus des broussailles	acariens (rongeurs sauvages, lapin, porcs)	Asie du sud-est	Endémique

Tableau II : Traitement des Rickettsioses

		Traitement de première intention	Alternative
Rickettsioses du groupe Boutonneux	Adulte	Doxycycline 200mg/jour, en 1 ou 2 prise(s), jusqu'à 48h après l'apyrexie (dose unique possible)	Ciprofloxacine 750 mg x 2/j
	Enfants < 45kg	Doxycycline en dose unique (5 mg/kg)	Clarithromycine (15mg/kg/j) OU Azithromycine (10mg/kg/j) x 3 semaines
Forme sévère		Doxycycline IV	

Tableau III : Autres infections à bactéries intracellulaire (Tuberculose et Brucellose exclues)

Pathologie	Agent pathogène	Diagnostic	Antibiothérapie
<i>Chlamydioses</i>	<i>C. pneumoniae</i> <i>C. trachomatis</i>	PCR	Doxycycline- Azithromycine- Fluoroquinolones
<i>Infections à mycoplasmes</i>	<i>M. pneumoniae</i> <i>M. Hominis</i> <i>Ureaplasma</i>	PCR	Doxycycline – Azithromycine- Fluoroquinolones
<i>Légionnelloses</i>	<i>L. pneumophila</i>	Culture PCR Antigénurie	Erythromycine- Rifampicine - Fluoroquinolones
<i>Maladie de Whipple</i>	<i>T. whipplei</i>	PCR Ex. anatomo-pathologique	Doxycycline- Hydroxychloroquine
<i>Maladie de Lyme</i>	<i>B. burgdorferi</i>	Sérologie PCR	Dépend du stade de la maladie (Amoxicilline, Ceftriaxone, Cyclines, ...)

DIARRHEES AIGUES INFECTIEUSES D'ORIGINE BACTERIENNE ET VIRALE: AGENTS ETIOLOGIQUES, PATHOGENIE ET DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Définir une diarrhée aigue d'origine infectieuse non parasitaire selon l'OMS.
2. Identifier les étiologies bactériennes et virales responsables de diarrhées aigües.
3. Préciser les caractéristiques épidémiologiques des différents agents bactériens et viraux responsables de diarrhées aigües.
4. Expliquer les manifestations cliniques des diarrhées bactériennes et virales en se basant sur les différents mécanismes physiopathologiques.
5. Décrire les modalités de prélèvement et de transport des selles réalisé dans le cadre d'une diarrhée aigue d'origine infectieuse non parasitaire.
6. Poser l'indication de la recherche de bactéries ou de virus dans les selles en fonction des différentes situations clinico-épidémiologiques.
7. Interpréter le résultat d'un examen cytobactériologique des selles.
8. Préciser les mesures prophylactiques permettant d'éviter la survenue de diarrhées d'origine infectieuse non parasitaire.

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Les diarrhées résultent d'un trouble de l'absorption ou de la sécrétion intestinale. Elles représentent, par leur fréquence et leur gravité potentielle, un problème de santé publique majeur dans les pays en voie de développement. Ainsi, elles constituent, avec les pneumonies les premières causes de mortalité infantile dans le monde (2 millions de décès par an). Leur gravité est liée surtout au risque de déshydratation en particulier chez les enfants en bas âge et les personnes malnutries ou immunodéprimées. Les diarrhées sont dans la majorité des cas d'origine virale. La gravité des diarrhées bactériennes est liée au risque de septicémie à point de départ digestif.

En Tunisie, la mise en action des programmes nationaux de prévention contre la diarrhée a permis de réduire les complications de déshydratation chez les enfants.

1. DÉFINITION :

L'Organisation Mondiale de la Santé définit la diarrhée aigue par l'émission fréquente de selles molles ou liquides, au moins trois selles par jour, ou à une fréquence anormale pour l'individu, depuis moins de 14 jours. Il en résulte une perte plus ou moins importante de liquides et de sels minéraux par l'organisme. Elle est en général le symptôme d'une infection intestinale, pouvant être causée par divers micro-organismes, bactéries, virus ou parasites.

2. PHYSIOPATHOLOGIE

Les syndromes diarrhéiques d'origine infectieuse résultent d'un passage d'eau et d'électrolytes du compartiment vasculaire vers la lumière du tube digestif à travers la muqueuse digestive. Ce passage est secondaire soit à une intoxication, soit à une vraie infection.

2. 1. INTOXICATION :

Dans ce cas, la diarrhée résulte de l'ingestion d'une toxine bactérienne préformée dans l'aliment. C'est le cas de Staphy-

lococcus aureus producteur d'entérotoxines (A, B, C, D et E), *Clostridium perfringens* et *Bacillus cereus*. Il s'agit d'une diarrhée non fébrile de survenue précoce après ingestion de l'aliment contaminé (1 à 4 heures dans la majorité des cas). La diarrhée est aqueuse sans leucocytes ni hématuries. Les signes cliniques sont spontanément résolutifs en quelques heures.

2. 2. INFECTION:

Après contamination par voie orale, les micro-organismes qui résistent à l'acidité gastrique arrivent au niveau de la partie distale de l'intestin grêle. Elles adhèrent et colonisent la muqueuse intestinale. La diarrhée apparaît selon différents mécanismes : invasif, sécrétoire ou mixte.

2.2.1. Mécanisme entéro-invasif

Au cours de ce mécanisme, se produit une invasion par l'agent pathogène des entérocytes ou sa diffusion lymphatique sous muqueuse ou l'action cytotoxique des toxines sur la muqueuse avec destruction des structures vasculaires. Ce mécanisme englobe deux tableaux physiopathologiques :

a. Tableau de syndrome dysentérique

Les bactéries responsables adhèrent à l'épithélium intestinal, puis l'envahissent. Elles se multiplient à l'intérieur des cellules épithéliales entraînant leur destruction et l'effraction de l'axe conjonctivo-vasculaire (hémorragie) d'où ulcérations de la muqueuse intestinale et afflux de polynucléaires et une réaction inflammatoire (figure 1). La réaction inflammatoire locorégionale est intense avec des douleurs abdominales et des selles glaïo-sanglantes parfois même afécales, associée généralement à de la fièvre, définissant ainsi le syndrome dysentérique. Les lésions siègent au niveau du colon.

Les bactéries responsables de ce tableau sont essentiellement *Shigella* spp, *E. coli* entéroinvasif (ECEI) et *E. coli* entérohémorragiques (ECEH).

b. Tableau de syndrome gastroentéritique

Les bactéries traversent les entérocytes et la muqueuse sans les détruire, et pénètrent dans le tissu lymphoïde sous muqueux et mésentérique où elles se multiplient au sein des macrophages en donnant une réaction inflammatoire. L'atteinte siège en général au niveau de l'intestin grêle. La fièvre est fréquente. Il existe un risque bactériémique notamment chez l'immunodéprimé, le drépanocytaire ou au cours des salmonelloses majeures.

Les bactéries responsables de ce tableau sont essentiellement *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, *Yersinia* spp et *E. coli* entéropathogène (ECEP). Au cours de ce syndrome dysentérique, la diarrhée peut être associée à des vomissements et à la fièvre.

2.2.2. Mécanisme sécrétoire

Les micro-organismes responsables de diarrhée sécrétoire peuvent être des virus ou des bactéries (*Vibrio cholerae* et *E. coli* entérotoxinogène ETEC).

Après pénétration par voie orale, les micro-organismes traversent l'estomac grâce à leur résistance à l'acidité gastrique et adhèrent à la muqueuse intestinale.

- Les bactéries se multiplient sans pénétrer dans les entérocytes et produisent des entérotoxines responsables de la diarrhée. L'entérotoxine stimule la sécrétion accrue d'eau et d'électrolytes qui seront éliminés dans les selles. On parle alors de diarrhée entérotoxinogène.

Cas particulier du VibrioCholerae : La majorité des bactéries sont détruites par l'acidité gastrique. Certains arrivent à franchir cette barrière dans le cas d'une déplétion de l'acidité gastrique (sujets dénutris, gastrectomies, traités par des pansements gastriques...) ou si l'inoculum bactérien est très fort. Au niveau du duodénum et du jéjunum, elles trouvent un milieu favorable à leur multiplication et vont tapisser les cryptes villoses. La production de protéase, de mucinase, de neuraminidase, ainsi que la mobilité, leur permettent de pénétrer la couche de mucus et d'adhérer à la bordure en brosse des entérocytes sans envahir la muqueuse ; ce qui explique que les hémodcultures sont toujours négatives au cours du choléra (Figure 3).

- Les virus pénètrent dans la cellule par endocytose et s'y multiplient ; la multiplication virale est responsable d'une malabsorption au niveau des villosités avec fuite hydrosodée entraînant la diarrhée aqueuse. Les particules virales néo-synthétisées seront libérées par lyse de la cellule hôte. Dans le cas d'une infection à Rotavirus en plus de ces mécanismes, la protéine virale NSP4 peut jouer à elle seule le rôle « d'entérotoxine virale » et serait capable d'induire une diarrhée.

Sur le plan clinique, au cours des diarrhées sécrétoires l'infection reste localisée au niveau du tube digestif avec émission de selles aquueuses sans destruction cellulaire ni afflux de leucocytes ou présence d'hématuries.

2.2.3. Diarrhée post-antibiothérapie

Des cas de diarrhées ont été décrits, au cours des traitements antibiotiques (30% des cas). Dans la majorité des cas, elles sont bénignes, mais dans certaines circonstances, les perturbations de la flore intestinale induites par l'antibiothérapie peuvent entraîner une diarrhée.

plus rarement d'une chimiothérapie anti-tumorale permettent l'émergence d'agents infectieux pathogènes dont le plus important est *Clostridium difficile* producteur de toxine. La forme la plus grave étant la colite pseudomembraneuse. Les porteurs asymptomatiques (adultes ou nourrissons) de *C. difficile* hébergent des souches habituellement non toxinogènes. Par ailleurs suite à la perturbation de la flore intestinale, *C. difficile* présent dans l'intestin entrent en cycle végétatif et le colonisent rapidement. Les antibiotiques incriminés dans ce type de diarrhées sont surtout les lincosamides (clindamycine++) qui sont les inducteurs les plus puissants de colites pseudomembraneuses et de diarrhées post antibiothérapie. *C. difficile* exerce son rôle pathogène par la sécrétion de deux toxines (entérotoxine ou toxine A, cytotoxine ou toxine B). La toxine A induit une altération importante de la muqueuse et des pertes liquidiennes. La toxine B puissante cytotoxine, elle agit après la toxine A.

3. EPIDÉMIOLOGIE

3.1 DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES GÉNÉRALES

-En 2017, L'OMS estime que chaque année 525 000 enfants de moins de 5 ans meurent par diarrhée ; et déclare que la plupart des décès d'enfants imputables à la diarrhée et à la pneumonie surviennent dans les pays pauvres, dont près de 90% en Afrique subsaharienne et en Asie du sud.

- Les gastroentérites sont dans la majorité des cas d'origine virale. Les virus les plus fréquents sont le rotavirus du groupe A, les calicivirus humains, les adénovirus entériques et les astrovirus humains. Les diarrhées virales sont souvent épidémiques, bénignes et spontanément résolutives chez l'adulte, mais peuvent être graves voir même mortelles chez les enfants du fait de la déshydratation. Dans les pays en développement, c'est une cause importante de décès chez les nourrissons, par ailleurs, ceux-ci sont protégés quand ils bénéficient de l'allaitement maternel.

Au cours des diarrhées virales, la transmission se fait par voie oro-fécale directe par l'intermédiaire des mains contaminées ou indirecte par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés. Cette transmission indirecte est favorisée par la résistance des virus non enveloppés dans le milieu extérieur. Pour certains virus, notamment l'agent de Norwalk (calicivirus), une transmission par voie aérienne a été évoquée expliquant la rapidité d'extension des épidémies.

- Les diarrhées bactériennes peuvent être grevées de complications graves telles que le choc septique. Le réservoir des bactéries peut être l'Homme seul (*Salmonella Typhi*, *S. Paratyphi A, B et C*, *Shigella* et *Vibrio cholerae*), ou bien un réservoir mixte Homme et animaux (*salmonelles mineures*, *E. coli*, *Campylobacter* et *Yersinia*).

*Dans les pays à faible niveau d'hygiène, la transmission est directe par l'intermédiaire des mains sales ou indirecte par l'ingestion d'eau polluée (contaminée par des bactéries entéropathogènes).

*Dans les pays développés où l'équipement sanitaire est satisfaisant, la transmission directe des germes entériques est exceptionnelle. Les toxi-infections alimentaires liées à la restauration collective, les nouvelles méthodes de production, de transformation et de conservation des aliments, sont les causes majeures de gastroentérites aiguës (transmission indirecte).

3.2 AGENTS ÉTIOLOGIQUES ET LEURS CARACTÉRISTIQUES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les mécanismes physiopathologiques dépendent des micro-organismes en cause. Les caractéristiques épidémiocliniques des différentes causes bactériennes et virales des diarrhées aigües positif sont résumés dans le Tableau I.

3.2.1 ÉTOLOGIES BACTERIENNES

Les diarrhées bactériennes surviennent surtout au cours de la saison estivale. Plusieurs bactéries sont réputées entéropathogènes spécifiques comme *Shigella* sp, *Salmonelles*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Vibrio cholerae*. Pour *Escherichia coli*, plusieurs pathovars peuvent être responsables de différents mécanismes de diarrhées.

Leurs caractéristiques épidémiologiques sont détaillées dans le tableau I.

3.2.2 ÉTOLOGIES VIRALES (tableau I)

Les virus incriminés dans les diarrhées présentent des particularités communes notamment :

- la transmission oro-fécale,
- la résistance dans le milieu extérieur
- la difficulté de culture in vitro.

Dans les pays tempérés, les gastroentérites virales sont responsables chaque année de 18 à 20 millions de cas de diarrhées sévères.

3.2.3. Toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)

La diarrhée survient après absorption d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines. Le diagnostic de TIAC

est retenu si au moins deux personnes, ayant une diarrhée, ont mangé le même repas, au même endroit, au même temps. C'est une maladie à déclaration obligatoire.

Exemples de bactéries responsables:

TIAC d'incubation courte (1 à 4h) : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*

TIAC d'incubation longue (12 à 76h) : *Salmonelles* mineures, *Clostridium perfringens* ou *C. botulinum*.

3.2.4. Diarrhée des sujets vivants avec le VIH

Ce type de diarrhée concerne entre 50 et 80% des patients vivants avec le VIH. Elle est révélatrice dans un tiers des cas ou secondaire à l'entéropathie due au VIH lui-même.

Il s'agit de diarrhée hydrique parfois sanguine, sévère et résistante au traitement symptomatique. Parmi celles d'origine infectieuse, certains virus (CMV, herpès) et bactéries (*salmonelles*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *shigelles*, *mycobactéries*) sont impliqués.

3.2.5. Diarrhées du voyageur

La diarrhée du voyageur, également appelée **Tourista** est l'une des maladies les plus fréquentes chez les voyageurs des pays dont le niveau hygiénique est bas (60 à 80% des voyageurs).

La turista est le plus souvent d'origine bactérienne et sa transmission est oro-fécale. *Escherichia coli* entérotoxinogène (ECET) figure au premier rang des bactéries responsables, suivi par les *Campylobacter*, *Salmonella* et *Shigella*. L'infection est due parfois à des virus, notamment les rotavirus.

4. DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE

Devant une diarrhée aigüe d'origine bactérienne, les examens bactériologiques à but étiologique sont essentiellement la coproculture et les hémocultures. Dans le cas des diarrhées virales, un prélèvement des selles à la recherche d'excrétion virale permet de poser le diagnostic.

4.1 DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

4.1.1. La coproculture :

Cet examen permet d'isoler au sein d'une flore digestive diversifiée, les bactéries réputées pathogènes responsables de diarrhées.

a. Indications de la coproculture

La coproculture est indiquée en cas de:

- Diarrhées fébrile et persistante >3 jours
- Syndrome dysentérique

- Situations particulières : VIH, retour de pays étrangers, TIAC, en cours ou après une antibiothérapie, à visée épidémiologique (détection d'un portage asymptomatique chez le personnel de la restauration).

b. Prélèvement et transport

Le prélèvement nécessite un recueil de selles fraîches dans un flacon stérile et transmis sans délai au laboratoire. Avant le début de l'antibiothérapie, la prescription d'une seule coproculture est suffisante.

Un écouvillonnage rectal peut se révéler utile chez le nourrisson et le petit enfant et en particulier dans le cadre d'un syndrome hémolytique et urémique post diarrhée. Les biopsies de muqueuse rectale ou colique peuvent être réalisées.

Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire, accompagné de la fiche de renseignements cliniques. En cas de prise en charge différée, les selles sont conservées au maximum 12h à +4°C avant l'envoi.

c. Étude bactériologique

La coproculture nécessite quatre principales étapes :

- Examen macroscopique

Les selles glaïro-sanglantes sont associées au syndrome dysentérique (mécanisme entéroinvasif).

Les selles liquidiennes incolores ou eau de riz sont évocatrices de syndrome cholériforme (mécanisme entérotoxinogène).

- Examen microscopique

- A l'état frais : La mise en évidence de leucocytes et d'hématies dans les selles est le synonyme d'un processus invasif. Il peut aussi mettre en évidence des pathogènes très mobiles tels que *Vibrio cholerae*.
- La coloration de Gram réalisée sur frottis à partir des selles permet de mettre en évidence les leucocytes, un dysmicrobisme ou des bactéries à morphologie particulière comme *Campylobacter* (en S inversé), *Vibrio* (en virgule).

-Culture et identification

La recherche standard en cas de diarrhée d'origine bactérienne doit identifier : *Salmonella*, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp et *Yersinia*. Chez le nourrisson (âge < 2 ans), une recherche supplémentaire de ECEP doit être réalisée. Des milieux de culture sélectifs sont utilisés. Ces derniers permettront la culture des bactéries pathogènes au dépend de la flore commensale.

D'autres recherches bactériennes peuvent être ajoutées selon les données cliniques (diarrhée liquidienne évoquant le choléra et ECET) et épidémiologiques (âge, voyage dans un pays endémique (*V. cholerae*)).

Recherche de *Salmonella* et de *Shigella

Après identification de l'espèce (*Salmonella* spp ou *Shigella*), les sérotypes sont identifiés sur la base de leurs caractères antigéniques (typage antigénique) en utilisant des techniques d'agglutination. Le sérotypage des souches est réalisé dans les laboratoires de référence.

Recherche de *Campylobacter

L'identification du genre *Campylobacter* est orientée par l'examen direct après coloration de Gram réalisé sur frottis à partir des selles visualisant des bacilles Gram négatif incurvés.

***Recherche de *E. coli* entéropathogène**

La recherche des pathovars réputés entéropathogènes est habituellement effectuée dans des laboratoires sous demande spécifique. Ceci fait appel au sérotypage des souches ou à la recherche des gènes codants pour des toxines par PCR.

Recherche de *Vibrio cholerae

Il s'agit d'une recherche spécifique. Sa présence est suspectée à l'état frais des selles (bacilles très mobiles) et après coloration de Gram (forme en virgule). La culture est réalisée sur des milieux de culture spécifiques. L'agglutination sur lame avec les sérum anti-O1 ou anti-O139 confirme l'identification et la souche sera par la suite transmise au centre de référence.

***Recherche de *C. difficile* : (voir cours des bactéries anaérobies strictes).**

La recherche des toxines bactériennes aboutit au diagnostic positif. Cette recherche peut se faire par des techniques immunoenzymatiques rapides ou par PCR.

d-Étude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) : l'antibiogramme doit être systématiquement réalisé.

4.1.2. Hémocultures : Des hémocultures doivent être pratiquées en cas de diarrhée fébrile ou en présence de signes de sepsis, pour rechercher une éventuelle phase septique grave avec localisation secondaire (arthrite...).

4.2. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

-Indication de la recherche des virus entériques

Une recherche des virus entériques est réalisée en cas de formes compliquées, surtout chez l'enfant en bas âge, le sujet âgé et l'immunodéprimé et en cas d'épidémie.

-Prélèvement et transport

Le diagnostic virologique nécessite un prélèvement de selles (2 à 3 ml) effectué à la phase aiguë de la maladie. Le prélèvement est transmis au laboratoire dans un flacon stérile à température ambiante si le temps d'acheminement n'excède pas 1 à 2 heures. Le transport au laboratoire doit être rapide afin d'éviter la pullulation microbienne qui peut fausser le résultat de l'analyse virologique. Le prélèvement peut être conservé à 4°C pendant 24 à 48 heures avant l'examen virologique.

-Méthodes de diagnostic des virus des diarrhées

Les virus responsables de diarrhées sont de culture difficile in vitro. Le diagnostic est direct et basé sur la mise en évidence d'antigènes viraux par des tests immuno-enzymatiques (ELISA), techniques d'agglutination de particules de latex sensibilisées ou par immunochromatographie. Une mise en évidence du génome viral par PCR peut également être réalisée.

La microscopie électronique permet de visualiser les virus et d'étudier leurs morphologies permettant ainsi un diagnostic de famille (elle ne constitue pas une méthode de routine).

4.3. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

La complexité et la diversité de l'examen des selles (différentes étapes de l'examen bactériologiques et les différents moyens de l'étude virologique) rendent cet examen peu efficient pour identifier un agent infectieux.

L'utilisation du diagnostic syndromique des gastro entérites par des techniques d'amplification génique (PCR multiplexe) directement à partir des échantillons de selles permet la détection de la majorité des agents infectieux et des principales toxines associées aux syndromes diarrhéiques dans un seul test. Cette technique permet un **diagnostic rapide** en moins de deux heures afin de lutter contre la transmission des agents étiologiques et d'assurer une meilleure prise en charge des patients.

5. PROPHYLAXIE

La prophylaxie repose sur des mesures d'hygiène générale et sur la vaccination.

5. 1. MESURES GÉNÉRALES D'HYGIÈNE

La prévention repose sur l'application des règles strictes d'hygiène hydrique et alimentaire et la propreté des mains particulièrement dans les collectivités et en cas d'épidémie, sur l'isolement des malades et la désinfection des déjections.

-Le traitement des eaux usées, la pasteurisation du lait et de produits laitiers et le dépistage des porteurs sains de salmonelles majeures représentent les principaux volets de lutte contre les salmonelloses.

-Les mesures de prévention contre les diarrhées virales doivent être prises à l'échelle individuelle et collective ; elles consistent en une hygiène alimentaire par lavage soigneux des légumes, stockage des aliments dans le réfrigérateur et consommation d'eau potable et une propreté corporelle.

5. 2. VACCINATION

- La vaccination contre la **fièvre typhoïde** est utilisée pour les militaires et les sujets exposés professionnellement.

-Vaccination contre **V. cholerae** : il existe actuellement 3 vaccins anticholériques oraux (VCO) pré-qualifiés par l'OMS : Du-koral (autorisé dès l'âge de 2 ans), Shanchol, et Euvichol. Ces vaccins doivent être utilisés dans les zones d'épidémie.

Le vaccin est préparé à partir d'une suspension de bactéries tuées ou d'extraits purifiés de paroi ou de l'anatoxine. Pour les 3 vaccins, 2 doses sont nécessaires pour conférer une protection complète. Une 3ème dose est nécessaire chez l'enfant de 2 à 5 ans.

Il confère une immunité de courte durée (2 ans à 3 ans). La vaccination n'empêche pas le portage de bactéries et donc la dissémination de la maladie aux sujets réceptifs.

-Vaccination contre les **rotavirus** : Elle est basée sur un vaccin tétravalent atténué incluant les 4 sérotypes humains les plus fréquemment incriminés. Il est recommandé chez les nourrissons de moins de 2 ans.

LECTURES RECOMMANDÉES

- 1- Internat-Médecine, Maladies Infectieuses, C. Pulcini. Editions Vernazobres-Grego, 2ème édition 2005, p :103-118.
- 2- Manuel de Bactériologie Clinique- Volume 2., J. Freny, F. Renaud, W. Hansen, C. Bollet. Elsevier, 2007.
- 3- Chapitres 50 : Gastro-entérites virales dans Virologie Médicale – pages 628 à 634. A. Mammette. Editions Presses Universitaires de Lyon, 2002.
- 4- Diarrhées infectieuses de l'enfant et de l'adulte, E Pilly 2020 Maladies infectieuses et tropicales. 6ème édition. 2020. Pages 259-66.

EVALUATION FORMATIVE

- 1-Préciser les différentes étapes de la coproculture.
- 2-Citer deux espèces bactériennes responsables d'une TIAC d'incubation courte.
- 3-Citer deux conditions durant lesquelles les salmonelles peuvent atteindre la circulation sanguine.
- 4- Citer 4 pathovars d'*E. coli* responsables de diarrhées?
- 5-Par quel(s) mécanisme(s) agit *Shigella* au cours de la dysenterie bacillaire.
- 6- Citer deux indications à la réalisation d'une coproculture.
- 7- Citer le réservoir naturel des salmonelles mineures responsables d'entérites.
- 8- Préciser les sérotypes responsables du choléra et le mode de contamination par vibriocholerae.
- 9- Choisir, parmi les propositions suivantes, les deux virus les plus fréquemment incriminés dans les diarrhées chez l'enfant de moins de 4ans
- Astrovirus
 - Picobirnavirus
 - Adénovirus
 - Virus Norwalk
 - Rotavirus
10. Choisir, parmi les propositions suivantes, les techniques utilisées au laboratoire pour le diagnostic d'une diarrhée à rotavirus
- Détection des anticorps spécifiques par ELISA
 - Détection de l'antigène viral par Immunofluorescence
 - Détection de l'antigène viral par réaction d'agglutination au latex
 - Isolement viral sur cellules
 - Détection de l'antigène viral par Immunochromatographie (Test rapide).
11. Citer trois caractères communs aux virus des diarrhées
12. Choisir, parmi les propositions suivantes, la ou les réponses justes.
- Les diarrhées à rotavirus se voient essentiellement chez les enfants âgés de plus de 5ans
 - Le diagnostic des infections à rotavirus est essentiellement direct.
 - Les infections à rotavirus prédominent essentiellement en été
 - La transmission des rotavirus est essentiellement par voie orale
 - La vaccination contre les rotavirus est recommandée pour les nourrissons de moins de 2 ans.

Réponses : Diarrhée fébrile et persistante >3 jours ; syndrome dysentérique.	Question n° 1 : <i>Antibiotiques</i>	<i>Identification bactérienne, antigénique et sensibilité aux Examens macroscopique, Examens direct, Culture,</i>	<i>Responses : Staphylococcus aureus, Bacillus cereus</i>	Question n° 3 :	<i>Responses : Typhi, S. Paratyphi A, S. Paratyphi B, Salmoneles majeures; S. suis imunoépimie ; Salmonelle majores; S. enteropathogenes, E. coli entérohémorragique, E. coli entérotoxique, E. coli adhésoe diffuse.</i>	Question n° 4 :	<i>Responses : c est elles d'autres malades.</i>	Question n° 10 :	<i>Responses : c est difficile de culturer in vitro.</i>	Question n° 11 :	<i>Responses : c est difficile de culturer in vitro.</i>	Question n° 5 :	<i>Responses : E. coli enteropathogènes, E. coli entéroinvasives, E. coli adhésoe diffuse.</i>	Question n° 6 :	<i>Responses : Mécanisme entéroinvasif, shiga-like toxine.</i>
---	---	---	---	------------------------	---	------------------------	--	-------------------------	--	-------------------------	--	------------------------	--	------------------------	--

ANNEXES

Annexe 1

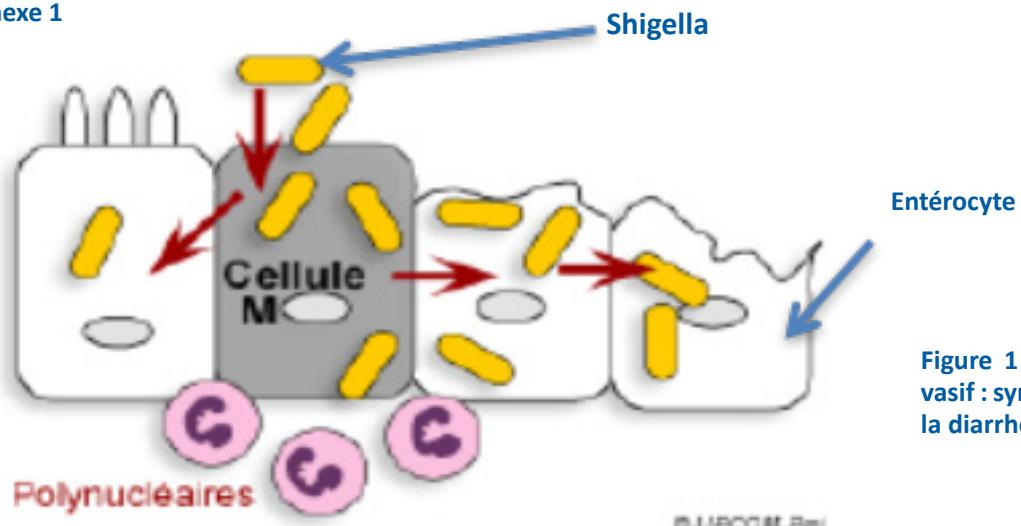


Figure 1 : Mécanisme entéroinvasif : syndrome dysentérique de la diarrhée (exemple *Shigella*)

Salmonella enteritidis

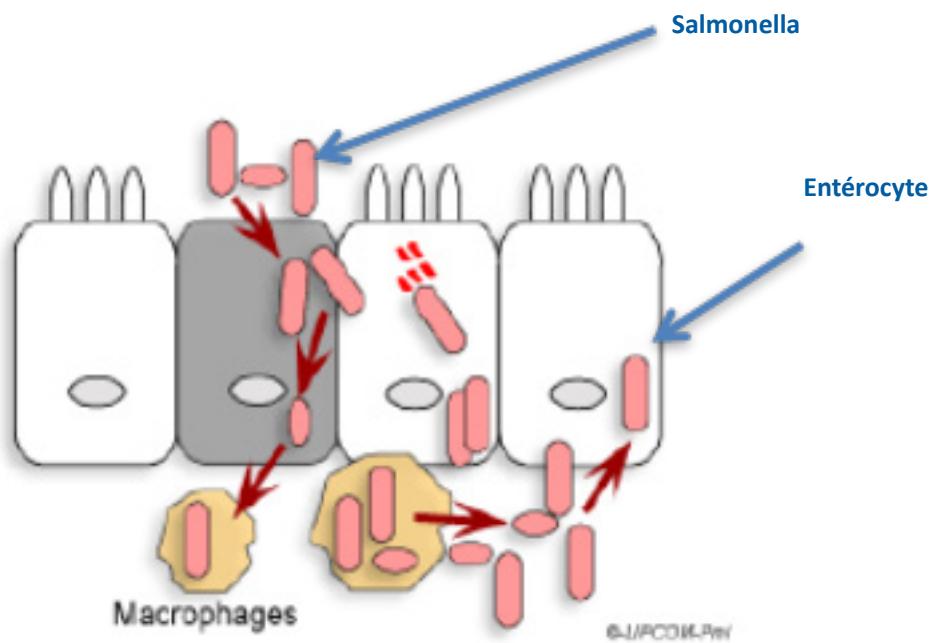


Figure 2 : Mécanisme entéroinvasif : syndrome gastro-entéritique de la diarrhée à salmonelle mineure(exemple *Salmonella Enteritidis*)

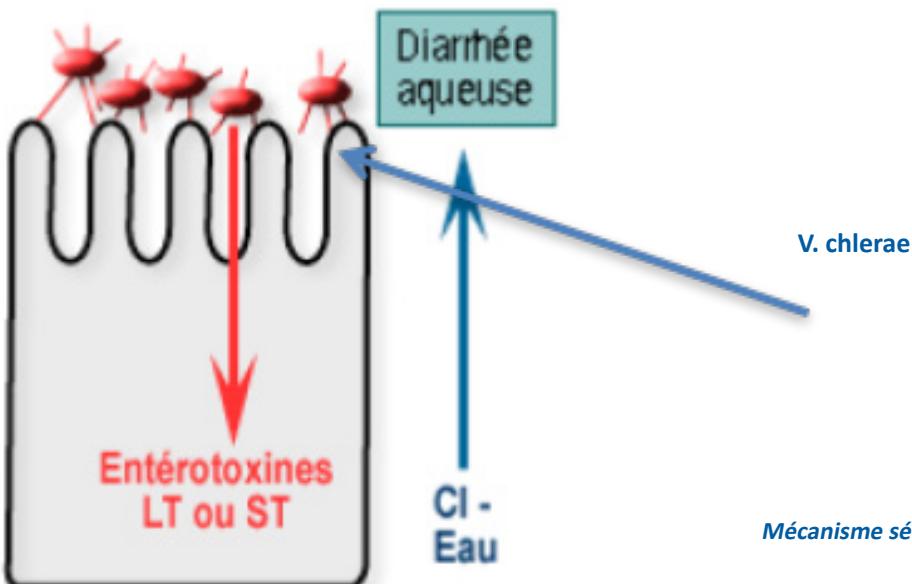


Figure 3 :
Mécanisme sécrétoire de la diarrhée à *V. cholerae*

Figure 1 : Mécanisme entéroinvasif de la diarrhée (exemple *Shigella*) Tableau 1 .Caractéristiques cliniques et épidémiologiques et méthodes de diagnostic des diarrhées bactériennes et virales.

Mécanisme de la diarrhée	Micro-organismes	Epidémiologie	Particularité
	Shigella : 4 espèces (<i>S. dysenteriae, flexneri, boydii et sonnei</i>)	-Réservoir : strictement humain Endémico-épidémique dans les pays à bas niveau d'hygiène - Sporadique en Tunisie (<i>S. flexnerii++</i>)	Dose infectante faible
Syndrome dysentérique	Escherichia coli entérohémorragique (sérotype O157 : H7 essentiellement)	Touche essentiellement le jeune enfant	-Contamination par consommation de Steak haché mal cuit -Grave : responsable du syndrome hémolytique et urémique par production de toxine shiga-like
	Escherichia coli entéro-invasif	Amérique du sud et Asie	- Cause principale des TIAC - Septicémies sur terrains débilités ou âges extrêmes
	Salmonella non typhoidiques (mineures)	-Réservoir : intestin de l'homme et des animaux -En Tunisie, deux sérotypes essentiellement <i>S. Enteritidis</i> et <i>S. typhimurium</i>	Forme septicémique grave
Syndrome gastro-entéritique	Salmonella Typhi et Paratyphi A, B et C	Réservoir strictement humain	- Contamination par consommation de viandes de volailles mal cuite
	Campylobacter spp.	-Commensale du tube digestif de nombreux animaux	-Responsable de TIAC après consommation de produits de boucherie - Tableau de pseudo-appendicite : douleur de la fosse iliaque droite
	Yersinia	-dans les pays tempérés et froids	
	Escherichia coli entéropathogène	-Enfants < 2 ans dans les régions défavorisées	
	Vibrio cholerae sérogroupe O1 et O139 : agents du Choléra	-Strictement humain à tropisme digestif -Epidémie/Pandémie - pendant les mois chauds de l'année	-Détection dans les selles ou produits de vomissements - Contamination par les aliments ou eaux souillés par les selles d'autres malades - Les sérogroupes non O1 et non O139 et les autres espèces du genre Vibrio : constituent des Vibrio non cholérique
	Escherichia coli	Diarrhées du voyageur : pays tropicaux : Tourista	Syndrome cholériforme
Mécanisme sécrétoire	Rotavirus	-1 ^{ère} cause de diarrhées aqueuses de l'enfant de moins de 5 ans (pic= 6 mois-2 ans) -Epidémie pendant les mois les plus froids (novembre à Avril)	Transmission par voie orale
	Adénovirus	-2 ^{ème} cause de diarrhées virales de l'enfant de < 4 ans -Endémique	
	Astrovirus	3 ^{ème} cause de diarrhées virales	Immunodéprimé et sujets âgés/ Moins fréquent chez l'enfant
	Calicivirus (Virus Norwalk)	- Adulte +++ - Epidémies communautaires	Transmission aérienne possible
	Coronavirus	- Epidémie chez l'adulte immunocompétent (rarement des enfants)	

VIRUS DE LA GRIPPE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Préciser le rôle des différentes composantes structurales du virus dans la pathogénie de la grippe
- 2- Décrire les variations antigéniques du virus grippal et leurs conséquences sur l'épidémiologie et la vaccination
- 3- Citer les différentes méthodes utilisées pour le diagnostic virologique de la grippe en précisant leurs indications
- 4- Préciser les étapes du diagnostic virologique de la grippe
- 5- Décrire les bases thérapeutiques de la grippe
- 6- Indiquer les moyens et les mesures de la prévention antigrippale

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

La grippe a été décrite depuis le XVème siècle avec plus de 30 pandémies observées entre 1510 et 1930. Il s'agit d'une infection respiratoire aiguë généralement bénigne pouvant être grave chez le sujet âgé ou en présence de tares sous-jacentes.

La grippe pose un problème majeur de santé publique du fait de sa fréquence élevée responsable d'une forte morbidité et d'un absentéisme élevé, de sa forte contagiosité et du risque de mortalité élevée surtout en cas de pandémie

Les virus responsables ou virus Influenza, sont des virus à ARN segmenté, doués d'une grande variabilité génétique avec risque important de franchissement de barrière inter-espèce et d'apparition de nouveaux variants viraux à l'origine de pandémie.

La grippe nécessite une surveillance régulière afin de détecter à temps l'épidémie ou encore les pandémies et de développer un vaccin efficace. Dans ce cadre, un réseau de surveillance international a été instauré par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) depuis 1947

1. STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS ANTIGENIQUES

Les virus de la grippe font partie de la famille des Orthomyxoviridae Trois genres ont été identifiés ; ils sont distincts par l'antigène interne porté par la nucléoprotéine : **Influenza A, B et C**. Le genre Influenza A comporte plusieurs sous-types vitaux identifiés grâce aux antigènes externes (H et N) du virus. Il existe au total, 15 sous-types H et 9 sous-types N; ils ont été tous isolés chez les oiseaux. Seulement H1, H2 et H3, N1 et N2 ont été isolés chez l'homme

Les virus Influenza sont classés selon une nomenclature internationale consensuelle :

A/ Hôte / ville / N° souche / année isolement (sous-type : H N)

Exemple de souche équine: A/Equi/Miami/1/63 (H3N8).

Exemples de souche humaine :

A/Hong Kong/1/68(H3N2) : A(H3N2)

A / California / 4 / 2009 (H1N1) v (on met v pour variant) (ou A/H1N1 pdm)

Les virus Influenza sont des virus enveloppés donc fragiles d'où l'importance des contacts étroits pour la transmission. Deux types de protéines virales (H et N) portant les antigènes externes tapissent la surface du virus :

- La protéine H (hémagglutinine) responsable de la fixation du virus à son récepteur à la surface de la cellule cible (cellule ciliée de l'épithélium respiratoire) et fusion et possédant des propriétés hémagglutinantes utilisées pour le diagnostic

- La protéine N (neuraminidase) responsable de la libération des nouveaux virions et diffusion de l'infection et cible de certains antiviraux

Deux autres protéines virales se trouvent au niveau de l'enveloppe :

- La protéine M2 qui joue le rôle de canal à ion et qui est la cible de certains antiviraux
- La protéine de la matrice virale M1 qui est responsable de l'interaction nucléocapside et enveloppe

A l'intérieur de l'enveloppe, se trouve la nucléocapside constituée du génome viral associé à un complexe de transcription (PA – PB1 – PB2) et entouré d'une capsid hélicoïdale formée par plusieurs sous-unités de la protéine NP.

Le génome viral est à ARN segmenté monocaténaire linéaire de polarité négative ; Les segments sont au nombre de 7 pour le type C et de 8 pour les virus A et B.

1.1 LE GENOME :

Ce sont des virus à ARN monocaténaire constitué de 7 à 8 segments, cette fragmentation favorise considérablement les réassortiments génétiques responsables de l'apparition de nouveaux variants viraux et de pandémies.

Les ARN sont recouverts de molécules de nucléoprotéines (NP); l'ensemble constitue la nucléocapside de symétrie hélicoïdale

1.2 L'ENVELOPPE :

Une enveloppe d'origine cellulaire est acquise par bourgeonnement du virus lors de sa sortie de la cellule infectée. La présence de cette enveloppe rend le virus fragile nécessitant un contact direct pour qu'il y ait transmission.

À la surface de cette enveloppe on retrouve des spicules formés par des glycoprotéines virales membranaires. Ces projections sont de 2 types, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) (figure 1) qui jouent un rôle très important dans le pouvoir pathogène du virus.

1.2.1. L'HÉMAGGLUTININE a un aspect de bâtonnet triangulaire. Elle peut se fixer sur un récepteur à la surface de diverses cellules en particulier les cellules ciliées mucogènes de l'arbre respiratoire, et certains types de globules rouges (poulet, pigeon, cobaye) d'où son nom. On la met en évidence par la réaction d'hémagglutination (agglutination de globules rouges en plaques) ou d'hémadsorption (agglutination de globules rouges sur les cellules qui portent cet antigène). On peut ainsi déterminer son sous-type épidémiologique (H1, H2 ou H3 pour l'homme, H4 à H16 pour l'animal) et étudier ses variations par la biologie moléculaire (séquençage).

1.2.2. LA NEURAMINIDASE a un aspect de champignon. Elle joue un rôle lors de la sortie du virus de la cellule infectée en facilitant son détachement. On la met en évidence par des techniques de neutralisation utilisant des anticorps hautement purifiés préparés chez des animaux sensibles ou par biologie moléculaire (N1 et N2 pour l'Homme, N3 à N9 pour l'animal).

1.3. LA PROTEINE DE MATRICE M1 :

Elle couvre la face interne de l'enveloppe virale. Elle interagit avec les domaines cytoplasmiques des glycoprotéines virales d'une part, et avec les NP d'autre part (figure 1).

1.4. VARIATIONS ANTIGENIQUES:

Les variations antigeniques sont dues à une grande variabilité génétique des virus expliquée par deux mécanismes : les mutations ponctuelles (variations mineures) et les réassortiments (variations majeures). Le type viral le plus touché est le type A.

1.4.1. Variations mineures :

Elles concernent les virus grippaux A et B. Elles sont dues aux erreurs de lecture engendrées par l'ARN polymérase ARN dépendante et non corrigées du fait de l'absence d'activité correctrice chez l'enzyme. Seules les mutations ponctuelles qui confèrent un avantage aux virus seront sélectionnées. Elles vont toucher les sites antigeniques du virus principalement ceux de l'hémagglutinine. Elles résultent en l'apparition de variants légèrement différents et de diffusion limitée se traduisant par des petites épidémies saisonnières. Ces glissements antigeniques requièrent une surveillance régulière afin d'identifier le sous-type circulant et produire un vaccin le plus efficace sur cette souche circulante.

1.4.2. Variations majeures ou réassortiments :

Elles ne se voient que pour les virus de type A. Elles résultent d'un phénomène de réassortiment génétique (échange génétique entre deux virus différents de répliquant dans une même cellule) avec apparition de nouveau variant ayant les gènes d'adaptation à l'Homme et des gènes externes nouveaux responsables de l'échappement à la vaccination. Ce processus évolutif est brutal ; il a pour conséquence une diffusion très importante du virus dans la population mondiale avec apparition d'une pandémie. Les virus des grippes animales, surtout oiseaux et porcs participent à ces échanges de gènes.

2 . CYCLE VIRAL

Les cellules sensibles sont celles possédant le récepteur, **acide sialique**, site d'attachement de la HA.

- Pour le virus influenza de type A :

Homme, porc, cheval : Epithélium respiratoire :

Oiseaux, espèces aviaires : Epithélium respiratoire et digestif

- Pour le virus influenza de type B, C : Epithélium respiratoire de l'homme.

Après fixation de l'hémagglutinine sur le récepteur cellulaire, le virus pénètre dans une vacuole d'endocytose. Les enzymes lysosomiales vont entraîner la baisse du pH au niveau de la vacuole. S'en suivent une modification de la conformation de la protéine H et l'activation de la protéine M2 aboutissant à la fusion de la membrane de la vacuole à l'enveloppe virale et libération de la nucléocapside. Cette dernière va migrer vers le noyau où va se faire la multiplication virale (transcription des protéines virales et réplication du génome viral). Les constituants nouvellement synthétisés vont s'assembler pour former de nouvelles nucléocapsides virales qui vont bourgeonner à travers la membrane cytoplasmique. La libération des nouvelles particules virales à partir de la cellule hôte va se faire grâce à l'action de la neuraminidase qui joue le rôle d'une paire de ciseaux permettant la libération du virus et le début d'un nouveau cycle (figure 3).

3. EPIDEMIOLOGIE

3.1. MODES DE TRANSMISSION

Chez l'Homme, la transmission des virus Influenza se fait par voie respiratoire par inhalation de gouttelettes en suspension dans l'air. La présence du virus en grandes quantités dans les sécrétions naso-pharyngées et l'incubation courte de l'infection sont responsables d'une forte contagiosité et de l'aspect explosif des épidémies. De plus, la transmission du virus est amplifiée par les lieux clos et confinés.

Chez les oiseaux, la transmission virale se fait par voie fécale

3.2. SITUATION ÉPIDÉMIOLOGIQUE DANS LE MONDE

La grippe peut évoluer sous 3 formes différentes:

- **Pandémies** : sont dues à des réassortants viraux de type A ; elles se voient tous les 10 – 30 ans. L'infection est caractérisée par une apparition brutale, explosive et rapidement extensive dans les collectivités humaines. Quatre grandes pandémies ont été observées : 1918 A(H1N1), 1947 A(H2N2), et 1968 A(H3N2) et en 2009-2010 A(H1N1)v.
- **Epidémies surtout en hiver** (entre novembre et avril) (tous les 2-3ans pour A et 3 à 6 ans pour B)
- **Cas sporadiques surtout pour virus influenza C** (été ou automne)

3.3. SYSTÈME MONDIAL DE SURVEILLANCE

Depuis 1947, l'OMS a mis en place un système mondial de surveillance de la grippe dans lequel est impliqué une centaine de laboratoires de référence. Son rôle est de détecter rapidement les épidémies, caractériser la souche circulante et mettre au point périodiquement la composition du vaccin. Cette surveillance est saisonnière ; elle se fait durant la période de haute transmission du virus. Le Laboratoire de microbiologie du CHU Charles Nicolle à Tunis fait partie de ce réseau, il est désigné en tant que centre de référence national.

4. PHYSIOPATHOLOGIE

Le virus pénètre par le nez et la gorge ; il est présent dans le nasopharynx 1 à 2 jours avant l'apparition des signes cliniques jusqu'à 7 jours après. Après pénétration, le virus infecte les cellules de l'épithélium respiratoire cilié où il va se multiplier entraînant une nécrose cellulaire suivie d'une régénération mais en respectant la couche basale et une hypersécrétion bronchique. **Cette multiplication virale localisée à la porte d'entrée du virus dans l'organisme explique la brièveté de l'incubation (1 à 2 jours).** La diffusion du virus se fait par contiguïté grâce à l'action de la Neuraminidase.

L'infection reste localisée au niveau de l'appareil broncho-pulmonaire. L'inflammation du tractus respiratoire supérieure est habituelle. La pneumonie est rare ; elle est plus souvent liée à la surinfection bactérienne.

5. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

5.1. INDICATIONS :

Le diagnostic virologique de la grippe **n'est pas systématique**.

Il est en général pratiqué :

- dans les formes graves ou chez les patients à risque
- devant un tableau atypique (ex convulsions hyperthermiques)
- dans le cadre des réseaux de surveillance (intérêt épidémiologique)

5.2. DIAGNOSTIC DIRECT :

Le diagnostic de la grippe est essentiellement direct ; il doit être rapide afin de mettre en œuvre un traitement si nécessaire.

5.2.1. PRÉLÈVEMENTS:

Ils doivent être effectués **dans les 3 jours suivant l'apparition des signes cliniques**. Il peut s'agir s'agir d'aspirations naso-pharyngées, de liquide bronchiolo-alvéolaire, d'expectorations, de sécrétions nasales et d'écouvillonnage de gorge. La sensibilité du diagnostic est beaucoup plus élevée quand elle est faite à partir des 2 premiers types de prélèvements.

Le virus étant très fragile, ce prélèvement doit être envoyé au laboratoire dans un milieu de transport (milieu liquide fourni par le laboratoire de référence sur demande)

5.2.2. TECHNIQUES UTILISÉES

- **Détection de l'antigène viral+++ par IF ou ELISA (Anti-NP)** : elle permet un diagnostic rapide avec identification du type A ou B. L'inconvénient de cette technique est lié au type de prélèvement, l'âge du patient et les modalités de transport.
- **Détection du génome viral** : technique rapide et sensible ; elle permet la détection et l'identification du type et des variants épidémiques
- **Isolement viral sur cellules sensibles ou sur œuf de poule embryonné** : C'est la technique de référence mais elle est utilisée uniquement dans les laboratoires de référence. Elle permet d'isoler la souche circulante afin de la caractériser sur le plan génétique. Elle est également utilisée pour la production de vaccin.

5.3. DIAGNOSTIC INDIRECT

Il nécessite deux prélèvements à 15jours et permet un diagnostic tardif. Les anticorps apparaissent entre J7 et J21 avec un pic entre la 2ème et la 4ème semaine.

6. PRÉVENTION ET TRAITEMENT :

6.1. PRÉVENTION

Elle repose sur la vaccination qui est faite en automne ; le vaccin est un vaccin trivalent ou quadrivalent de type inactivé. Il est constitué par un mélange de 2 souches A H1N1 et H3N2 et d'une ou 2 souches de type B. Le choix des souches utilisées pour le vaccin est revu annuellement ; il s'agit des souches les plus fréquentes et les plus épidémiogènes. Les indications sont du vaccin sont : les sujets âgés, les sujets atteints de pathologies chroniques et les immunodéprimés. Le vaccin est administré en une ou 2 injections par voie intramusculaire ou sous cutanée. vaccination permet l'apparition d'anticorps anti-H et anti-N dès J4 mais la protection ne se fait qu'à partir de J10 – J15 et persiste pendant 8 – 9 mois.

En plus de la vaccination, la prévention repose sur la limitation de la transmission en cas d'épidémies (rôle du traitement préventif et des mesures d'hygiène) et en cas de grippe aviaire par abattage des animaux malades afin de restreindre l'épidémie et d'éviter la transmission à l'homme (efficacité démontrée durant les dernières épidémies de grippe aviaire)

6.2. TRAITEMENT

Le traitement de la grippe commune est symptomatique. Le traitement antiviral n'est indiqué que dans les formes graves ou en cas de grippe chez un sujet à risque. Il est très important de traiter les surinfections bactériennes par antibiotiques, dans les formes particulièrement graves il peut y avoir recours à la réanimation. Le traitement antiviral doit être administré assez tôt après l'exposition à l'infection (24 à 48h). Ce traitement ne permet pas toujours d'éviter la grippe mais permet de réduire la sévérité de la maladie.

Deux classes de molécules antivirales peuvent être utilisées:

- Inhibiteurs de la Neuraminidase++ : OSELTAMIVIR (TamifluR)–ZANAMAVIR (RelenzaR): ils agissent en inhibant le détachement des virus de la cellule hôte. Ils sont efficaces sur les types A et B; ils diminuent la sévérité et la durée des symptômes. Les résistances sont rares. Leur utilisation est intéressante chez les sujets non vaccinés et à risque de formes graves, ou dans le cas de l'apparition d'un variant pandémique non reconnu par les vaccins.
- Molécules agissant sur la protéine M2 : AMANTADINE (MantadixR) – RIMANTADINE : elles empêchent la décap-

sidation virale. Elles sont de plus en plus abandonnées car elles agissent uniquement sur les virus de type A, présentent plusieurs effets indésirables et surtout présentent d'importants taux de résistance (jusqu'à 95%)

7. PREVENTION :

7.1. MESURES COLLECTIVES ET D'HYGIENE : isolement des patients malades, lavages des mains.....

7.2. VACCINATION : en général au début de l'hiver

Par vaccin tué (OMS). Le virus est purifié puis inactivé par le formol. Le vaccin est donné en une ou deux injections IM ou S/C (1 mois d'intervalle). La protection apparaît en général 10 jours après la première injection et persiste au moins 6 mois.

La composition du vaccin est définie par l'OMS, sur la base des souches les plus fréquentes ayant circulé dans le monde. En général, il s'agit d'un mélange de 3 souches : 2 souches A (H3N2 et H1N1) et une souche B. En cas de pandémie, comme celle de 2009, le vaccin est monovalent incluant uniquement la souche responsable (exemple du vaccin disponible pour les sujets à risque en Tunisie dès le 15 novembre 2009).

Le vaccin est indiqué pour les :

- sujets âgés > 60 ans qui résistent mal à la grippe
- sujets présentant des affections chroniques.

7.3. SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE :

Il existe un système de surveillance virologique et épidémiologique de la grippe. En 1945, l'OMS a instauré un Réseau Mondial de Surveillance de la grippe. Ce réseau comprend 4 centres internationaux (Londres, Atlanta, Melbourne, Tokyo), 135 centres nationaux dans 105 pays. Le Laboratoire de microbiologie du CHU Charles Nicolle à Tunis fait partie de ce réseau, il est désigné en tant que centre de référence national.

LECTURES RECOMMANDÉES

1 –Traité de virologie médicale.J. M Huraux, H Agut, J C Nicolas et H P Lafeuille. Editions ESTEM 2003

2- Sites internet à consulter :

- www.who.int/influenza
- www.grippeaentunisie.com

TESTS D'AUTO EVALUATION

1/ Les virus de la grippe :

- A- Existents sous forme de deux types de virus influenza A et B
 - B- Sont des virus fragiles
 - C- Sont des virus à ADN
 - D- Possèdent des spicules à la surface de leur enveloppe
 - E- Ont un génome hautement variable
-

2/ La neuraminidase :

- A- possède un rôle dans l'attachement sur la cellule hôte
 - B- Est de nature glycoproteique
 - C- Participe à la définition du sous-type viral
 - D- Est à la base de fabrication des vaccins
 - E- Elle joue un rôle lors de la sortie du virus de la cellule infectée
-

3 / Quel type de prélèvement doit on réaliser pour savoir si une patiente est infectée par le virus Influenza?

- A- Un prélèvement nasal
 - B- Une aspiration nasopharyngée
 - C- Un écouvillonnage pharyngé
 - D- Une biopsie de la muqueuse nasale
 - E- Un écouvillonnage de la gorge
-

4/ Le vaccin antigrippal :

- A- Est composé de virus vivants atténués
 - B- Nécessite obligatoirement une réactualisation fréquente
 - C- Est recommandé chez la femme enceinte
 - D- Est administré en 3 prises
 - E- Confère une protection vis-à-vis de l'ensemble des sous-types et variants de virus grippaux
-

5/ Lors d'une pandémie, quelles mesures seraient efficaces pour ralentir la progression de l'épidémie ?

- A- Le port de masques chirurgicaux dans la vie quotidienne
 - B- Un diagnostic virologique par RT-PCR chez tous les suspects de grippe
 - C- Vacciner toute la population contre la grippe saisonnière pour éviter les surinfections à d'autres virus grippaux
 - D- Se laver fréquemment les mains à l'eau et au savon
 - E- Isoler les cas graves dans des services spécialisés
-

Responses :
Question n°1 : Réponse : BD
Question n°2 : Réponse : BE
Question n°3 : Réponse : C
Question n°4 : Réponse : BC
Question n°5 : Réponse : DE

ANNEXES

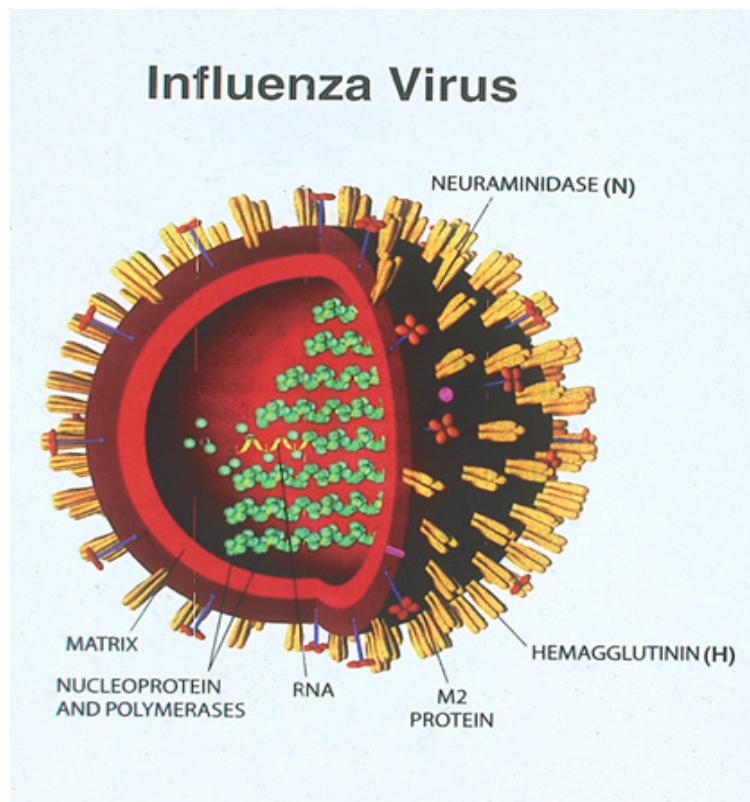


Figure 1 : Structure du virus grippal

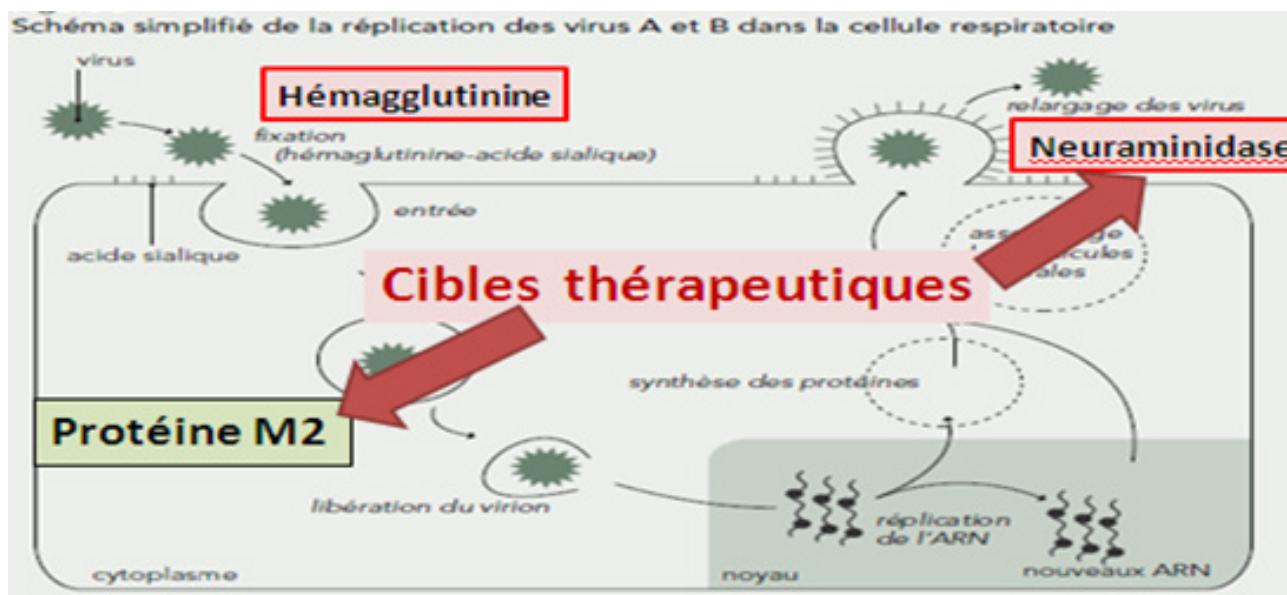
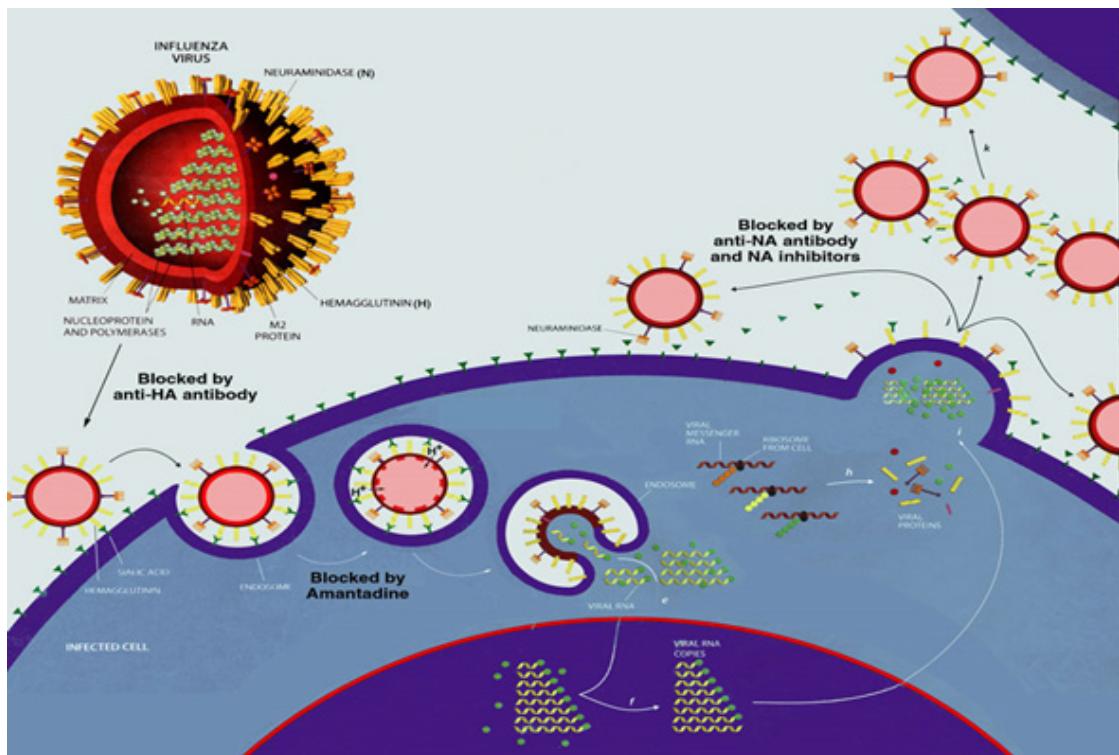


Figure 2: Cycle de multiplication virale des virus grippaux

LES VIRUS D'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Expliquer le rôle des composantes structurales du virus dans le diagnostic virologique de l'infection aux VIH.
- 2- Expliquer la variabilité génétique des VIH et ses conséquences
- 3- Expliquer les modes de transmission des VIH par les caractéristiques du virus.
- 4- Expliquer les manifestations cliniques de l'infection par les VIH en se basant sur le mécanisme physiopathologique
- 5- Planifier le dépistage d'une infection par les VIH
- 6- Décrire la démarche au laboratoire pour le diagnostic et le suivi d'une infection par les VIH
- 7- Expliquer les bases virologiques du traitement de l'infection par les VIH en se basant sur le cycle viral.
- 8- Décrire les moyens de prévention contre l'infection par les VIH.

Connaissances préalables requises

Généralités sur les virus, l'infection virale, Méthodes de diagnostic virologique (Aggression biologiques, thème VII, PCEM1)

Mise à jour Juin 2022

INTRODUCTION

Les virus d'immunodéficience humaine (VIH) ont été isolés pour la première fois à l'institut Pasteur de Paris en 1983. Depuis, plusieurs travaux de recherche ont été lancés pour bien comprendre et maîtriser l'infection par ces virus. Ce sont des virus **lymphotropes et lytiques**; ils détruisent le système immunitaire. Ils sont responsables du **SIDA** (**Syndrome d'Immuno Déficience Acquise**). Ce déficit immunitaire grave favorise la survenue d'infections, de cancers opportunistes et de troubles neurologiques. L'évolution de l'infection vers le stade de SIDA est lente et silencieuse facilitant la transmission à bas bruit de ces virus.

Les VIH constituent un réel problème de Santé publique ; ils sont responsables d'une **pandémie extensive préoccupante**. L'infection à VIH est considérée comme étant la 4ème cause de décès dans le monde ; elle est très fréquente surtout dans les pays d'Afrique subsaharienne.

Les VIH sont **des virus très variables** ce qui leur permet d'échapper à la réponse immunitaire et au traitement et rend difficile l'élaboration de vaccin. Ils

1. CARACTÉRISTIQUES VIROLOGIQUES :

1.1. TAXONOMIE :

Les VIH sont des virus à ARN appartenant à la famille des **Retroviridae** et au genre lentivirus avec deux types : le VIH-1 et le VIH-2. Les rétrovirus ont en commun la capacité de transcrire l'ARN en ADN grâce à la transcriptase réverse ou rétrotranscriptase (RT).

1.2. STRUCTURE DE LA PARTICULE VIRALE :

La morphologie et la structure des VIH-1 et 2 sont sensiblement identiques. Il s'agit de virus de forme sphérique, à génome segmenté et possédant une enveloppe responsable de la fragilité virale.

La particule virale du VIH-1 est constituée de (figure 1):

- **Une enveloppe** sur laquelle sont ancrées les glycoprotéines de surface : la gp120 (sous-unité de surface) et la gp41 (la sous-unité transmembranaire)

- **Une matrice** (p17) qui tapisse la face interne de l'enveloppe.
- **Une capsidé** qui est formée par l'assemblage de la **protéine majeure p24**.
- **Trois principales enzymes** qui sont la rétrotranscriptase (RT), la protéase (P) et l'intégrase (I)
- **Un Génome viral** qui est constitué de deux molécules d'ARN linéaire, monocaténaires identiques de polarité positive. Le génome code pour les protéines virales.
 - * **le gène gag**: code pour une polyprotéine qui sera clivée, par la protéase virale, en protéines de capsidé et de matrice.
 - * **le gène pol**: code pour les trois enzymes : la RT, la P et l'I.
 - * **le gène env**: code pour une protéine précurseur (la gp160) qui sera clivée en gp41 et gp120
 - * Six gènes de régulation codant pour des protéines importants pour la régulation de la multiplication virale

1.3. CYCLE DE MULTIPLICATION VIRALE :

- **Les cellules-cibles du virus** : Ce sont essentiellement celles qui expriment le récepteur du virus (la molécule CD4): les lymphocytes T CD4+, les monocytes-macrophages, les cellules dendritiques des ganglions, de la rate et de l'épiderme (les cellules de Langerhans) et les cellules microgliales du système nerveux central
- Le cycle viral comporte plusieurs étapes
- **Attachement et pénétration**: L'attachement du VIH sur la cellule cible passe par l'interaction de la gp120 avec la molécule CD4. Une fois fixée, gp120 subit un changement conformationnel démasquant la gp41. Cette dernière se fixe à un co-récepteur à la surface de la membrane cytoplasmique de la cellule cible. De nombreux corécepteurs ont été identifiés mais les plus connus sont: le **CCR5** (prédominant sur les monocytes et les macrophages) et le **CXCR4 (prédominant sur les LT CD4)**. L'interaction entre gp41 et le co-récepteur permet la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane de la cellule hôte et la libération de la nucléocapside virale dans le cytoplasme (figure 2).
- **Décapsidation** : la nucléocapside virale libérée dans le cytoplasme subit une décapsidation avec libération du génome viral.
- **Rétro-transcription du génome viral**: l'ARN viral monocaténaire est rétro-transcrit par la RT en ADN complémentaire double brin (figure 3).
- **Migration nucléaire et intégration** : L'ADN proviral migre vers le noyau cellulaire sous forme de complexe nucléoprotéique, puis s'intègre dans l'ADN cellulaire grâce à l'intégrase (I) virale (figure 3).
- **Transcription (en ARNm), réplication (en ARN génomique)** : L'ADN proviral intégré est transcrit par l'ARN polymérase cellulaire en ARNm et en ARN génomique (futur génome du VIH).
- **Traduction des ARNm** : Les ARNm sont transportés dans le cytoplasme et traduits en polyprotéines qui subissent un clivage par les protéases cellulaire et virale.
- **Assemblage, bourgeonnement et maturation**: L'ARN génomique se recouvre des protéines virales puis les nouveaux virions bourgeonnent. La maturation des précurseurs s'achève grâce à l'activité de la protéase virale (figure 4).

1.4. VARIABILITÉ GENETIQUE :

L'analyse génétique des VIH a démontré que ces virus sont doués d'une variabilité génétique considérable. Cette variabilité génétique est due essentiellement :

- Aux erreurs commises par la RT qui est dépourvue de mécanisme de correction, (~1 erreur/10 000 bases).
 - A la forte réplication du VIH (1 à 10 milliards de particules virales sont produits tous les jours par l'organisme infecté)
 - A la pression de sélection de mutants par le système immunitaire et sous l'action des antirétroviraux.
- ⇒ Il en résulte une distribution en « **quasi-espèces** » des souches virales chez un même patient (population variée de différents virus mutants issus d'un même ancêtre). Cette variabilité génétique est à l'origine de l'échappement au système immunitaire, de la persistance du virus dans l'organisme infecté et de la résistance aux antiviraux. Elle présente également un obstacle à l'élaboration de vaccin.

1.5. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES :

Comme tout virus enveloppé, les VIH sont sensibles aux solvants, aux détergents et aux désinfectants. Ils sont inactivés en 5 minutes par l'hypochlorite de sodium à 0,2% (eau de javel), l'éthanol à 70%, le glutaraldéhyde à 0,2 % et par le chauffage à 56° C pendant 30 min.

2. EPIDEMIOLOGIE :

2.1. MODE DE TRANSMISSION :

Les VIH peuvent être isolés dans la plupart des liquides biologiques : sang, sperme, sécrétions vaginales, lait maternel, salive, larmes, LCR, urine. Le risque de transmission est lié à la charge virale (CV) dans le liquide biologique infecté. Cette charge virale n'est élevée que dans le sang et les sécrétions génitales. De plus, les VIH sont des virus enveloppés, et par conséquent fragiles, qui ne peuvent se transmettre que suite à des contacts interhumains étroits.

Ainsi, les voies de transmission des virus sont :

- **Sexuelle** : mode de contamination le plus fréquent, facilité par la multiplicité des partenaires sexuels (homo et hétérosexuel) et par la présence d'une autre infection sexuellement transmissible (lésions génitales érosives)
- **Sanguine** : Toxicomanie par voie intra-veineuse, don de sang ou d'organes (d'où l'importance du dépistage systématique), accidents d'exposition au sang (le risque de contamination à la suite d'une piqûre accidentelle est évalué à 0,3 %), piercing, tatouage
- **Mère-enfant**: La transmission se produit surtout lors de l'accouchement, plus rarement au cours de la grossesse ou de l'allaitement.

2.2. SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DANS LE MONDE ET EN TUNISIE :

En 2020, selon l'organisme mondial de la santé (OMS) le nombre de **patients vivant avec le VIH (PVVIH)** a atteint 37,7 millions de personnes dont 1,5 million de nouvelles infections. C'est le VIH de type 1 qui est responsable de la pandémie. La séroprévalence et l'incidence de l'infection sont variables selon les régions du monde. Les régions les plus touchées sont l'Afrique subsaharienne, l'Asie et l'Europe orientale. Le VIH-2 est retrouvé essentiellement en Afrique de l'Ouest. Il présente un potentiel épidémique moindre que le VIH-1 et évolue plus lentement vers le stade SIDA.

En Tunisie, le premier cas d'infection par le VIH a été notifié en 1985. L'infection par ce virus est une maladie à déclaration obligatoire. Selon les estimations de l'ONU SIDA 2019, le nombre de PVVIH en Tunisie serait de 4500 personnes. La prévalence est inférieure à 0,1%. Tout nouveau cas doit être confirmé au Centre National de Référence (laboratoire de microbiologie du CHU Charles Nicolle).

3. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION PAR LES VIH

Elle évolue en 3 phases

- **Primo-infection** : Lors de cette phase, le virus infecte les cellules CD4+. Une partie des virus vont entraîner, après multiplication, une lyse des lymphocytes responsable d'une **lymphopénie**, avec présence dans le sang d'une charge virale importante (**virémie**) et d'antigènes vitaux notamment de la p24 (antigénémie p24). Toutefois, une grande partie des particules virales transmises lors de la primo-infection persiste dans les cellules cibles sans entraîner de lyse cellulaire. Ces cellules infectées constituent donc un réservoir pour le virus, mais aussi un véhicule pour infecter précocement divers compartiments de l'organisme, et en particulier le système nerveux central occasionnant une méningite lymphocytaire, une encéphalite. Le tropisme multiple du virus explique les signes cliniques éventuels lors de la primo-infection. Vers le 20ème jour après la contamination, apparaissent les anticorps dirigés contre le VIH : c'est la séroconversion.

Stade d'infection chronique (latence) : Le VIH engendre une infection chronique: une balance s'installe, entre la production continue de particules virales infectant de nouvelles cellules CD4, et la réponse immunitaire cellulaire de type CD8 qui détruit les cellules infectées et la production de nouvelles cellules CD4+. Cette balance va aboutir à une **stabilisation de la virémie** et celle du **taux des CD4** ; ce qui correspond au contrôle de l'infection par le système immunitaire de l'hôte.

Le stade de SIDA : Au bout de plusieurs années, les variations génétiques incessantes du VIH finissent par épuiser le système immunitaire (les cellules CD4 lysées ne peuvent plus être remplacées). Il s'en suit une réplication incontrôlée du virus et une disparition quasi-complète des LT CD4. A ce stade la virémie et l'antigénémie p24 sont très élevées. La destruction de LT CD4 diminue progressivement l'efficacité de la réponse immunitaire vis-à-vis d'agents infectieux (bactéries, virus et parasites), ce qui explique l'apparition d'infections opportunistes (toxoplasmose, mycobactériose...) et de cancers (sarcome de Kaposi lié à HHV8, lymphomes à EBV...). La mort survient suite aux infections opportunistes et aux cancers.

4. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

Le diagnostic virologique d'une infection par le VIH est demandé après l'accord du patient, en respectant la confidentialité des résultats.

Il peut se faire dans le cadre de :

- **Dépistage** : bilan prénuptial ou prénatal, visite d'embauche, donneurs de sang/d'organes, population à risque, Nouveau-né de mère séropositive, dépistage volontaire anonyme et gratuit.

- Contexte évocateur

- Suivi de la maladie ou du traitement

4.1. DIAGNOSTIC INDIRECT :

Il se base sur la détection des anticorps anti-VIH sur un prélèvement sanguin

- **Tests de dépistages** : Dans le cadre d'un dépistage, il est important d'utiliser une technique **sensible** afin d'éviter des résultats faussement négatifs.

* Tests ELISA : Ce sont des tests immuno-enzymatiques permettant de détecter les anticorps anti-VIH (figure 5). Les tests mixtes sont capables de détecter simultanément les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2. Les tests combinés recherchent simultanément les anticorps anti-VIH et l'antigène p24, ce qui permet de raccourcir la fenêtre sérologique. Les tests ELISA sont de réalisation facile dans un laboratoire de routine. Ils présentent une excellente sensibilité. Ils génèrent toutefois de nombreux faux positifs, nécessitant le recours à des tests de confirmation en cas de réaction douteuse ou positive. Une sérologie négative par technique ELISA élimine une infection à VIH en l'absence de facteurs de risques. Si la recherche est positive, on passe à la confirmation.

* Tests rapides : Ce sont des tests unitaires (immuno-chromatographie sur membrane) (figure 6). Ils présentent certains avantages ; ils sont réalisables en quelques minutes, ne nécessitent pas d'équipement et peuvent être utilisés dans le cadre de dépistage de masse ou en situation d'urgence (bilan pré-greffe, accident professionnel). Les inconvénients : sont la lecture subjective (à l'œil nu), et une sensibilité inférieure aux tests ELISA. L'utilisation de ces tests seuls n'est pas recommandée pour le diagnostic d'une infection à VIH.

- **Tests de confirmation** : Ils doivent se baser sur des techniques spécifiques. Tout dépistage positif, douteux ou discordant doit être confirmé. Il est recommandé d'effectuer le test de confirmation sur un prélèvement différent de celui du test de dépistage. Cette confirmation se fait au niveau du laboratoire de référence (CHU Charles Nicolle Tunis).

Le test de confirmation correspond au **Western-blot** (ou immunoblot) : Ce test permet une étude qualitative des anticorps présents dans le sérum du malade selon les antigènes contre lesquels ils sont dirigés. Ce test utilise des bandelettes de nitrocellulose sur lesquelles sont fixées les protéines dénaturées de VIH-1 ou VIH-2 et qui ont été préalablement séparées par électrophorèse en fonction de leurs poids moléculaires. La présence dans le sérum d'anticorps dirigé contre l'une ou plusieurs de ces protéines est révélée par une réaction immuno-enzymatique, sous la forme d'une bande colorée (figure 7).

Critères d'interprétation du Western Blot (WB) définis par l'OMS (figure 8)

- Positif : Au moins deux bandes correspondant aux produits du gène env,

- Négatif : en l'absence de toute réactivité contre les antigènes du VIH.

- Indéterminé : pour tous les profils intermédiaires entre un résultat positif et un résultat négatif. Celui-ci peut être du à une réaction non spécifique, une infection débutante ou une infection par le VIH-2.

- Il est à noter qu'en cas de séroconversion très précoce détectée par ELISA, le test WB peut être complètement négatif.

4.2. DIAGNOSTIC DIRECT :

- La détection du génome viral +++

On peut rechercher et doser **l'ARN viral plasmatique** ou **l'ADN proviral cellulaire**.

Il s'agit de technique sensible et spécifique (surtout avec les techniques de PCR en temps réel). Elle se fait sur des prélèvements de sang sur tube EDTA. On peut ainsi réaliser :

o **Détection qualitative** : devant une sérologie douteuse, une atteinte neurologique (LCR), chez le nouveau-né de mère infectée

o **Détection quantitative** : permettant de déterminer la charge virale pour le suivi du patient sous traitement.

o **Analyse du génome viral** : par séquençage afin de détecter les mutants viraux résistants au traitement : tests génotypiques

- **Détection de l'antigène p24** : L'antigène p24, protéine de la capsid virale, est détecté par méthode ELISA. Il est présent dans le sérum sous forme libre et sous forme associée aux virions. En l'absence d'anticorps anti-VIH associés, la présence d'antigène p24 doit être confirmée par un test de neutralisation.

- **L'isolement viral en culture cellulaire** : C'est une technique longue et difficile, qui n'est plus utilisée en routine. Elle doit être réalisée dans un laboratoire de haut niveau de sécurité.

4.3. CINETIQUE DE MARQUEURS BIOLOGIQUES DE L'INFECTION AU VIH : (FIGURE 9)

Après la contamination (J0), le VIH se multiplie silencieusement dans l'organisme pendant une dizaine de jours. C'est la **fenêtre virologique** durant laquelle aucun examen ne peut détecter l'infection.

- Le premier marqueur à apparaître : L'ARN viral (à J10 post infection), puis l'Ag p24 (vers le 15^{ème} jour)
- L'apparition des anticorps ne se fait qu'après 20 jours de la contamination
- Le western blot se complète vers le 28^{ème} jour.
- Un certain temps s'écoule donc entre la contamination par le virus et l'apparition des anticorps : c'est la fenêtre sérologique. Pendant cette période, le sujet est contagieux même si sa sérologie est négative.

4.4. DEMARCHE DIAGNOSTIQUE :

- Dépistage de l'infection à VIH chez l'adulte :

Il repose sur la réalisation d'un test ELISA confirmé en cas de réactivité douteuse ou positive par un test Western blot sur un 2^{ème} prélèvement.

- Diagnostic d'une primo-infection : Vue l'apparition retardée des anticorps par rapport au contage, le diagnostic direct sera préféré dans ce contexte. Il repose sur la détection de l'ADN proviral intégré ou de l'ARN plasmatique, qui se positive dès le 10-12^{ème} jour. L'antigénémie p24 peut aussi être utilisée, tout en sachant qu'il s'agit d'un marqueur inconstant et fugace. En effet l'antigénémie p24 n'est présente que dans 40% des cas de primo-infection, du 15^{ème} au 30^{ème} jour après le contage.

- Diagnostic de l'infection à VIH chez l'enfant né de mère séropositive : Le diagnostic utilise des techniques directes de détection du virus, puisque la présence d'anticorps maternels transmis passivement in utero empêche toute étude sérologique jusqu'à l'âge de 18 mois. Il repose sur la détection du génome proviral ou de l'ARN plasmatique. L'antigénémie p24 présente peu d'intérêt dans ce contexte du fait d'une très faible sensibilité (12%) car les antigènes viraux sont fortement complexés par les anticorps maternels circulants. Au-delà de l'âge de 18 mois, la démarche diagnostique chez l'enfant né de mère séropositive est la même que celle chez l'adulte.

o Pour poser un diagnostic positif dans ce cadre, il est important d'avoir 2 résultats positifs obtenus sur 2 prélèvements différents et n'ayant pas été traités dans la même manipulation afin d'éviter tout risque de contamination.

o L'absence de contamination du nouveau-né est en plus difficile à certifier, les prélèvements précoces pouvant être négatifs et se positiver par la suite. Il faut au moins 3 prélèvements différents négatifs pour exclure une infection du nouveau-né avec confirmation par une sérologie négative à l'âge de 18 mois. En cas de traitement antirétroviral, les prélèvements seront réalisés à 48h (au maximum la première semaine), à 15 jours de l'arrêt thérapeutique et à 3 mois. En l'absence de traitement, les prélèvements seront réalisés à 48h (au maximum la première semaine), à 1 mois et à 3 mois.

- Diagnostic de l'infection à la suite d'une exposition sexuelle ou d'un accident d'exposition au sang (AES) : Idéalement, le patient source bénéficiera avec son consentement d'une sérologie VIH. Chez la personne exposée à un patient source séropositif, les tests réalisés diffèrent selon l'instauration éventuelle d'une prophylaxie antirétrovirale. Cette prophylaxie doit être instaurée dans les 4 heures suivant l'exposition avant que le virus n'atteint sa cible. En cas d'absence de prophylaxie chez la personne exposée, le suivi virologique repose sur la recherche de l'Ag p24 de l'ARN VIH plasmatique entre J12 et J26. Le dépistage des anticorps se fait par ELISA à J0, M1, M3 et M6.

- Suivi des patients infectés : Chez les patients non traités, la mesure de la charge virale associée à la détermination du taux de CD4 tous les 6 mois permettent de situer le stade évolutif de l'infection et d'apprécier la nécessité d'instaurer un traitement. Lors de l'initiation d'un traitement antirétroviral, une mesure de la charge virale sera réalisée à 1 mois et à 3 mois puis tous les 3 mois. L'objectif du traitement est d'obtenir une charge virale indétectable (inférieure au seuil minimal de détection). En cas de non réponse (absence de variation de la CV plasmatique), ou d'échappement (rebond après une diminution transitoire), l'observance thérapeutique doit être évaluée. Les dosages pharmacologiques et les tests de résistance aux antirétroviraux permettent de guider le choix des traitements alternatifs.

5. GENERALITES SUR LES MOLECULES ANTIRETROVIRALES : (FIGURE 10)

La chimiothérapie antirétrovirale a fait d'énormes progrès au cours des dernières années. Les molécules actuellement disponibles sont rassemblées en six familles (les trois premières familles sont les plus utilisées) :

- les inhibiteurs nucléosidiques de la reverse transcriptase (INRT)
- les inhibiteurs non-nucléosidiques de la reverse transcriptase (INNRT)

- les inhibiteurs de la protéase (IP)

- Inhibiteurs de fusion (Inhibition de la fusion du VIH-1) : T20
- Inhibiteurs d'intégrase
- Anti-CCR5: Inhibition de la fixation au co-récepteur CCR5

L'objectif du traitement est de réduire, au maximum et le plus durablement possible, la réPLICATION virale. L'association de plusieurs molécules antirétrovirales (**trithérapie**) est la seule façon d'atteindre cet objectif et d'empêcher ainsi l'émergence de résistance du VIH. La persistance d'une réPLICATION virale résiduelle sous traitement sub-optimal est à l'origine de la sélection de virus résistants entraînant un échappement thérapeutique.

L'échec thérapeutique est suspecté devant une charge virale restant détectable sous traitement ; il peut être causé par :

- La sélection de souches virales résistantes
- Une mauvaise observance thérapeutique
- Des problèmes pharmacocinétiques, fréquents avec les inhibiteurs de la protéase

La gestion de ce problème nécessite une action multidisciplinaire concertée entre le clinicien, le virologue et le pharmacologue, en particulier dans l'indication et l'interprétation des tests de résistance aux antirétroviraux et des dosages plasmatiques de molécules antirétrovirales.

6. PREVENTION :

Il n'existe à l'heure actuelle **aucun vaccin** contre l'infection par le VIH. Les problèmes majeurs qui se posent au développement d'un vaccin anti-VIH sont la très grande diversité génétique et antigénique du virus et l'absence d'anticorps protecteurs.

- Prévention de la transmission sanguine:

- * Dépistage systématique de l'infection par le VIH lors du don de sang, d'organe et de cellules
- * Inactivation virale des poches du sang et dérivés (don de sang)
- * Utilisation de matériel médical à usage unique, stérilisation du matériel chirurgical, désinfection avec des produits virucides du matériel non stérilisable (sondes d'endoscope)
- * Prévention de la transmission par la toxicomanie intraveineuse par l'information, l'utilisation de matériel à usage unique et la lutte contre la toxicomanie.

* Prévention de la transmission en milieu professionnel par l'information, l'usage de matériel à usage unique et de protection du personnel, ainsi que par la mise en place de protocoles de prophylaxie antirétrovirale en cas d'accidents d'exposition au sang.

- **Prévention de la transmission sexuelle :** par promotion de l'utilisation des préservatifs, l'éducation et l'information. Une journée mondiale de lutte contre le SIDA est programmée tous les ans le 1er Décembre de chaque année afin de sensibiliser la population générale sur les mesures de prévention. Récemment, une stratégie basée sur un traitement antirétroviral est proposée pour les partenaires de personnes vivant avec le VIH. Cette stratégie serait efficace pour prévenir la transmission sexuelle.

- **Prévention de la transmission mère enfant :** Dépistage, prise en charge spécialisée et traitement antirétroviral des femmes enceintes séropositives (le taux de transmission au nouveau-né est abaissé de 25-40% à moins de 1%).

EVALUATION FORMATIVE

Question 1 :

Mme A. infirmière, a été victime d'un accident d'exposition au sang par piqûre lors d'un prélèvement sanguin qu'elle a effectué chez un patient. Cet accident remonte à 11 jours et il n'a pas été déclaré.

- a- Quel examen biologique aurait du être fait dans les heures qui ont suivi l'accident chez la victime et le patient source pour rechercher une infection au virus d'immunodéficience humaine (VIH)?
 - b- L'exploration du patient source révèle une infection au virus d'immunodéficience humaine de type-1 (VIH-1).Quel examen virologique choisissez-vous pour rechercher une infection au VIH chez la victime ? Justifiez votre réponse.
 - c- Cet examen est revenu positif. Citez 2 paramètres biologiques à demander qui permettent au médecin traitant de surveiller l'infirmière.
-
-
-
-

Question 2 :

Afin de déterminer le statut VIH d'un nouveau-né d'une femme séropositive, vous adressez un échantillon de sang du cordon au laboratoire pour :

- A- Une sérologie VIH1/2
 - B- Une mise en culture cellulaire
 - C- Un test western blot VIH1
 - D- La recherche de l'ARN VIH1
 - E- La recherche de l'antigène p24
-

Question n° 1 :	Responses :
- Fenêtre sérologique	a- Test rapide
- Charge virale du VIH, Taux de CD4	b-- Techniques de biologie moléculaire (RT-PCR, ADN proviral)
Question n° 2 :	Responses : D

ANNEXES

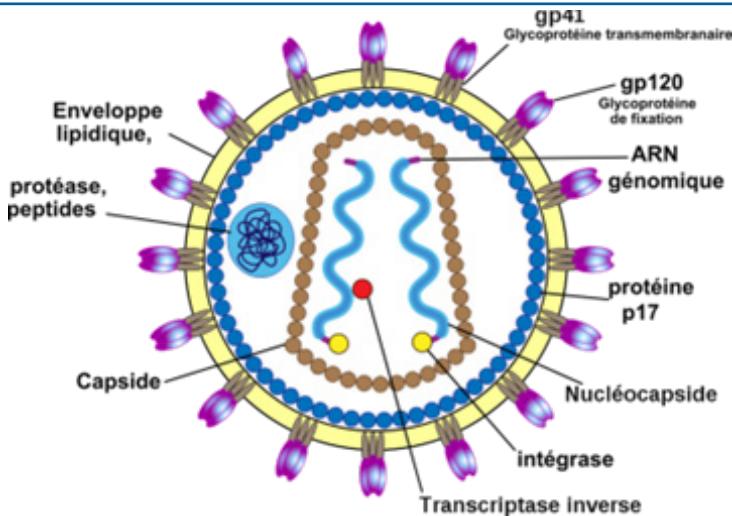


Figure 1 : Représentation schématique du VIH-1

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d4/HIV_Virion-fr.svg

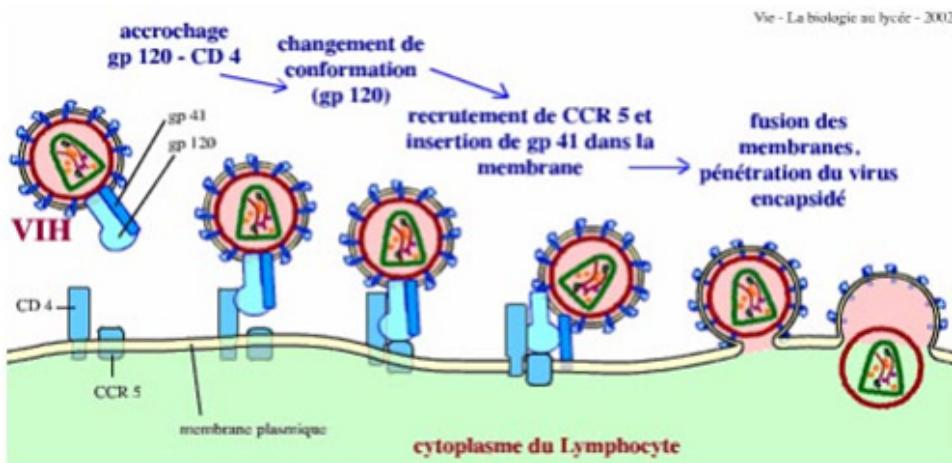


Figure 2 : Mécanisme d'entrée du VIH-1 dans les cellules

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/SIDA/4entree.htm>

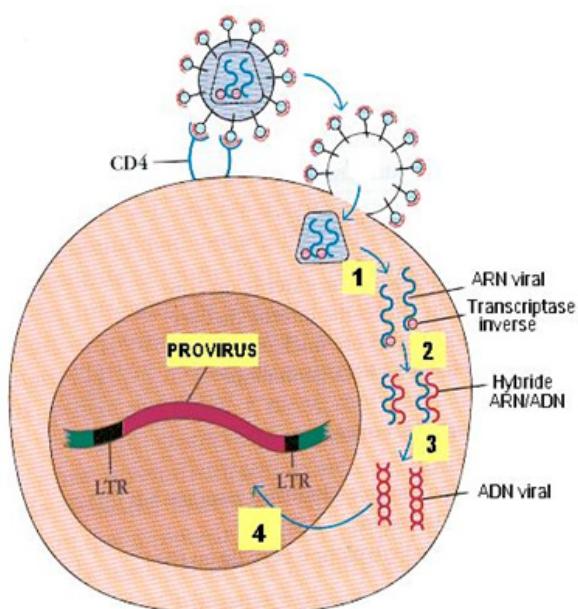


Figure 3 : rétro transcription, migration et intégration du génome (Nathalie Noris, ACCES)

<http://acces.ens-lyon.fr/biot>

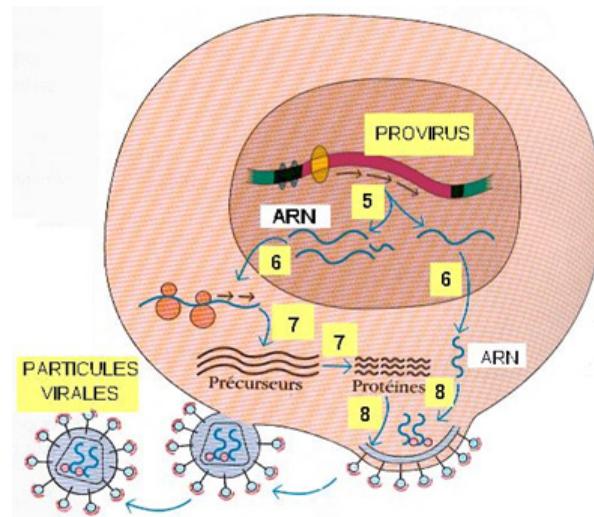


Figure 4 : RéPLICATION, ASSEMBLAGE ET BOURGEONNEMENT (Nathalie Noris, ACCES)

<http://acces.ens-lyon.fr/biot>

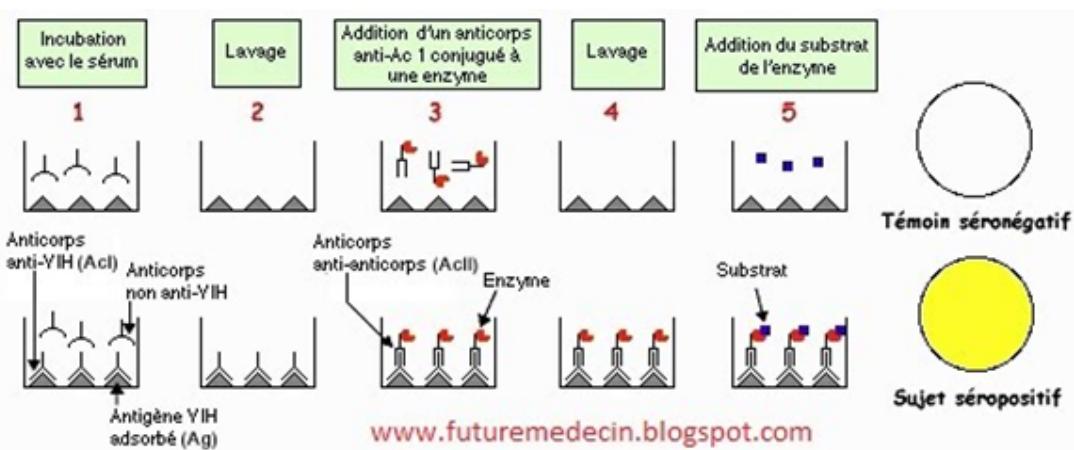


Figure 5 : Principe de la détection des anticorps anti-VIH par la méthode ELISA

http://quickraccesmad.activeweb.fr/QuickPlace/accesmad/PageLibrary85256EA100360389.nsf/h_Index/DA4FBEB16523DEE8C12572FA00520706/



Figure 6 : Différents tests de diagnostic rapides

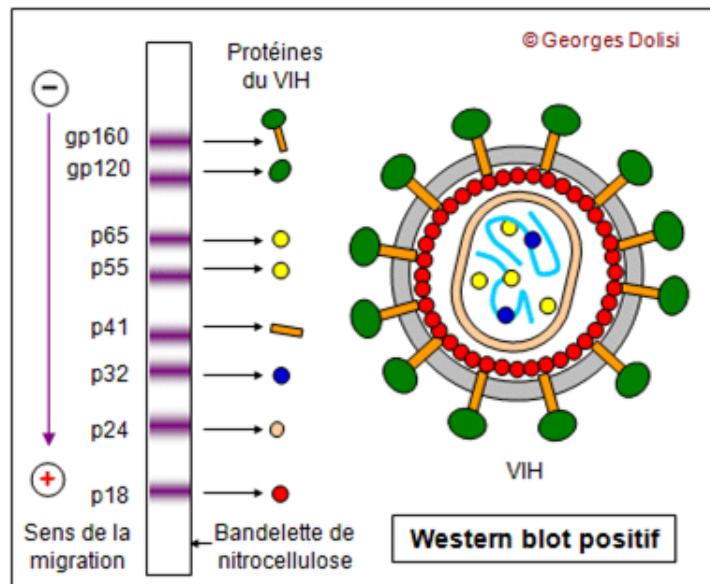


Figure 7 : Présentation schématique du test Western Blot

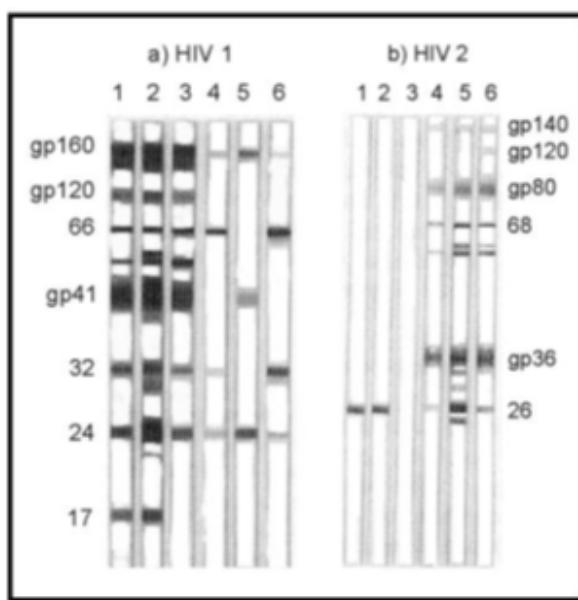


Figure 8: image représentative de Western Blot

(a)VIH-1 et (b)VIH-2 ; Les échantillons 1 à 3 sont anti VIH-1 positifs. Les échantillons 4 à 6 sont anti-VIH-2 positifs

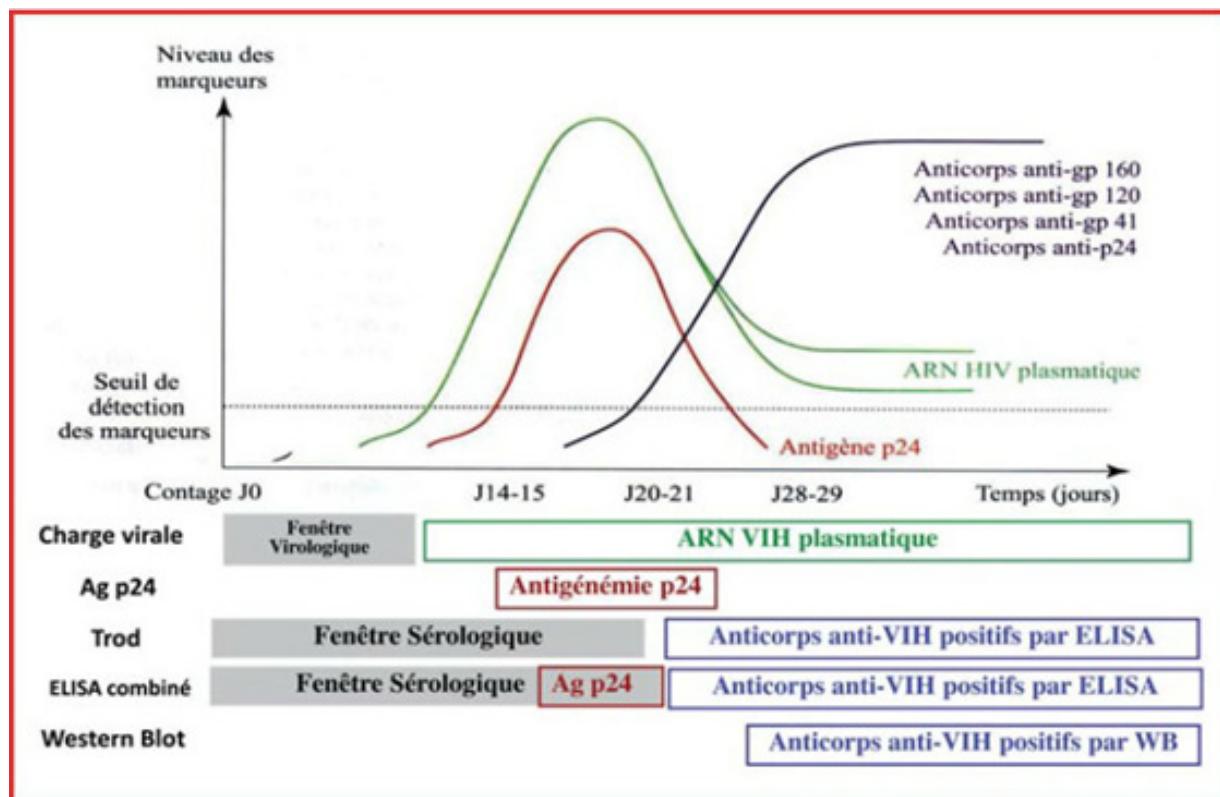
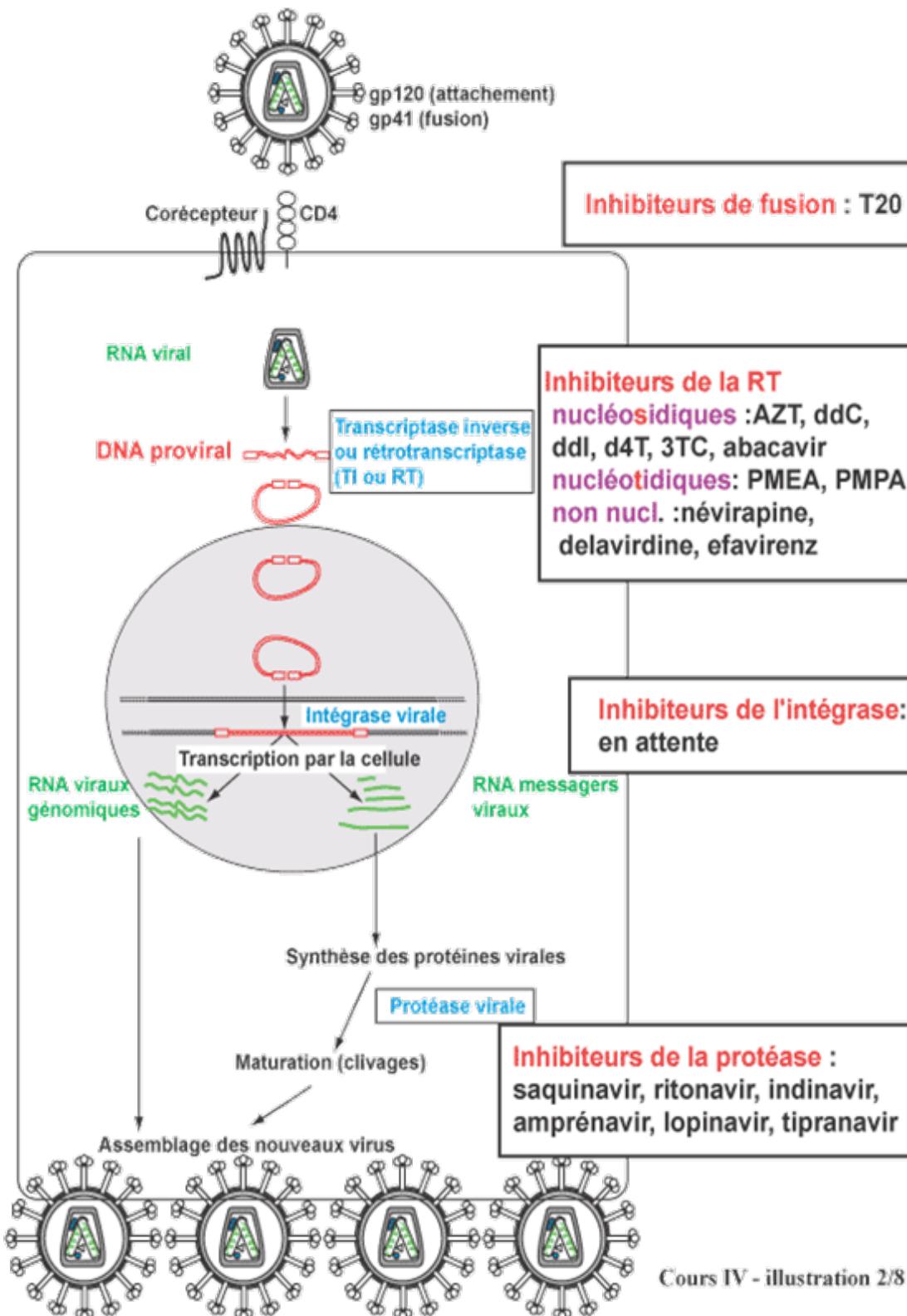


Figure 9 : Cinétique des différents marqueurs biologiques de l'infection au VIH.

<http://www.lecrips-idf.net/rubrique246.html>



Cours IV - illustration 2/8

Figure 10 : réPLICATION du VIH et antirétroviraux

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/viro/poly/POLY.Chp.4.2.html>

HERPETOVIRIDAE – INFECTIONS À HERPES VIRUS

Les objectifs éducationnels

Au terme de cet enseignement, l'étudiant doit être capable :

- 1- Décrire la physiopathologie des infections à *Herpetoviridae* selon le type viral (HSV1, HSV2, CMV, EBV et VZV)
- 2- Préciser les principaux modes de transmission de chacun des *Herpetoviridae*
- 3- Identifier les manifestations cliniques de la primo-infection herpétique
- 4- Préciser les complications de l'infection herpétique
- 5- Décrire les différents signes cliniques de l'infection à CMV
- 6- Décrire les manifestations cliniques de l'infection à EBV
- 7- Préciser les indications du diagnostic au laboratoire d'une infection à *Herpetoviridae* (EBV, CMV, VZV et HSV)
- 8- Préciser la démarche diagnostique à suivre afin de confirmer une infection à CMV, HSV ou à EBV
- 9- Citer les mécanismes d'action des antiviraux utilisés dans le traitement d'une infection à *Herpetoviridae*
- 10- Traiter une poussée d'herpes cutanéo-muqueux
- 11- Diagnostiquer et traiter un zona dans ses différentes localisations
- 12- Diagnostiquer et traiter une varicelle selon ses différentes formes cliniques
- 13- Connaitre les complications d'une varicelle
- 14- Citer les moyens de prévention des infections à *Herpetoviridae*

Connaissances préalables requises

- Généralités sur les virus, l'infection virale, méthodes de diagnostic virologique (Agressions biologiques, Thème VV, PCEM1)
- REMIC (Référentiel en microbiologie médicale) 2015 ; Tome 5.2
E.PILLY 2004, 19^e édition

Mise à jour Juin 2022

1. INTRODUCTION

Les *Herpetoviridae* sont des virus ubiquitaires largement répandus. Plus de 120 types différents ont été décrits ; huit uniquement infectent l'Homme. L'infection à *Herpetoviridae* est très fréquente et généralement bénigne ; elle évolue en trois phases : primo-infection, latence et réactivations plus ou moins fréquentes selon l'état immunitaire de l'hôte infecté. Elle est souvent méconnue car elle évolue très souvent sous forme asymptomatique. Toutefois, des formes graves mettant en jeu le pronostic vital ont été décrites chez l'immunodéprimé suite à la réactivation d'un virus latent d'où l'importance d'un suivi biologique régulier afin de détecter précocement une éventuelle réactivation et prendre en charge rapidement le patient. Certains de ces virus peuvent également être graves en cas de primo-infection chez la femme enceinte du fait du risque tératogène (Cytomégalovirus ou CMV++) dont ils sont responsables et des infections néonatales graves (Herpes Simplex virus ou HSV et virus de la varicelle-zona ou VZV). De même, certains *Herpetoviridae* ont été fréquemment associés à certains cancers ; c'est le cas du virus de l'Epstein Barr (EBV) et de l'Herpesvirus humain de type 8 (HHV8).

2. CLASSIFICATION :

Les huit herpesvirus humains sont subdivisés en trois sous familles différentes :

- Sous-famille des α herpesvirinae : Les virus appartenant à cette sous-famille sont caractérisés par un tropisme neurologique et cutanéo-muqueux. Ils sont essentiellement responsables de manifestations cutanées, muqueuses et/ou neurologiques.

giques. Ces virus sont caractérisés également par un cycle de multiplication rapide aboutissant à une lyse des cellules en moins de 24heures.

- HVH1 : Herpes simplex virus type 1 (HSV1)
- HVH2 : Herpes simplex virus type 2 (HSV2)
- HVH3 : Virus de la varicelle – zona (VZV)

- Sous-famille des β herpesvirinae : Ces virus sont caractérisés par un tropisme multiple d'où la diversité des formes cliniques associées et la multiplicité des sites de latence. Ces virus ont un cycle de multiplication long, expliquant le diagnostic tardif en cas d'utilisation de la technique d'isolement viral sur cellules.

- HVH5: Cytomegalovirus (CMV)
- HVH6 : Herpes virus humain type 6 (HHV6)
- HVH7 : Herpes virus humain type 7 (HHV7)

- Sous famille des γ herpesvirinae : Elle est constituée de virus dits oncogènes, associés à des cancers. Ces virus présentent un tropisme pour les lymphocytes B qu'ils peuvent immortaliser.

- HVH4 : Epstein Barr Virus (EBV)
- HVH8 : Herpes virus humain type 8 (HHV8)

3. PROPRIETES COMMUNES DES HERPETOVIRIDAE

Tous ces virus ont trois propriétés essentielles:

- La structure de la particule virale
- Le cycle de multiplication virale avec synthèse séquentielle des protéines virales
- La physiopathologie de l'infection avec 3 phases différentes ; primo-infection, latence et réactivations.

3.1. MORPHOLOGIE – STRUCTURE (FIGURE 1) : Les Herpetoviridæ sont des virus enveloppés. Ils sont de ce fait fragiles nécessitant un contact étroit pour leur transmission. La particule virale est constituée de l'extérieur vers l'intérieur :

- d'une enveloppe dérivant de la membrane nucléaire de la cellule hôte : Elle est constituée d'une double couche lipidique avec à sa surface des protéines d'origine virale permettant la fixation du virus à son récepteur.
- d'un tégument qui est une structure protéique située entre la capsid et l'enveloppe virale. Elle est constituée de protéines ayant un rôle essentiel dans le cycle répliquatif viral. Certaines de ces protéines sont ciblées par le diagnostic d'une infection à Herpetoviridae (cas de l'Ag pp65 du CMV)
- d'une capsid de structure icosaédrique à symétrie cubique
- d'un génome à ADN bicaténaire et linéaire.

3.2. MULTIPLICATION : La 1ère étape du cycle viral est la fixation du virus à la cellule cible grâce à l'interaction entre les protéines de l'enveloppe et des récepteurs spécifiques. Cette spécificité de liaison du virus à la cellule est le premier facteur déterminant le tropisme cellulaire de l'infection virale. Après fusion des deux membranes (cellulaire et virale), la nucléocapsid est libérée dans le cytoplasme et transportée vers le noyau. Elle est par la suite dégradée par les enzymes cellulaires libérant ainsi le génome viral. La multiplication virale se fait en 4 étapes ; elle a lieu au niveau du noyau. Elle débute par une première transcription très précoce permettant la synthèse de protéines régulatrices, suivie d'une 2ème transcription précoce qui aboutit à la synthèse d'enzymes nécessaires à la réplication virale. La 3ème transcription tardive se fait juste après la réplication virale ; elle aboutit à la synthèse des protéines de structure. Les protéines de la capsid s'assemblent dans le noyau et l'ADN nouvellement synthétisé est encapsidé. Les virions bourgeonnent en se procurant leur enveloppe à partir des membranes nucléaire et cytoplasmique, dans lesquelles sont insérées les glycoprotéines. La recherche, au niveau du laboratoire, des enzymes virales, des protéines de structure ou du génome viral au niveau des prélèvements permet de poser le diagnostic d'une infection active à Herpesvirus.

3.3. PHYSIOPATHOLOGIE :

La transmission des Herpetoviridae se fait par contact étroit entre un sujet infecté et une personne susceptible. Elle peut se faire selon différentes voies, selon le virus en cause : cutanéo-muqueuse, respiratoire, sexuelle, transplacentaire ou parentérale. Après transmission, l'infection se fait en trois étapes : primo-infection, latence et réactivations.

La primo-infection ou 1er contact avec le virus : la multiplication virale est active au niveau des cellules sensibles. Elle est suivie par une excrétion virale importante plus ou moins longue.

La phase de latence : Suite à la réponse immunitaire mise en jeu, le virus arrête de se multiplier et va gagner différents sites où il va rester à l'état quiescent : c'est la phase de **latence**. Elle se fait dans les ganglions nerveux pour les virus neurotropes (HSV1, HSV2 et VZV) et dans les leucocytes pour les virus leucotropes (CMV et EBV). Cette infection latente permet au virus d'échapper au système immunitaire et aux antiviraux.

La phase de réactivation : Sous l'influence de certains facteurs (stress, immunodépression, rayonnement UV), des réactivations virales peuvent se voir avec production et excrétion virales. Ces réactivations sont souvent asymptomatiques, assurant la transmission virale et l'infection de nouveaux hôtes.

3.4 BASES THERAPEUTIQUES ET PREVENTION DES INFECTIONS A HERPETOVIRIDAE :

Le traitement des infections à Herpetoviridae repose sur l'utilisation d'analogues nucléosidiques ayant une action sélective sur l'ADN polymérase virale qu'ils inhibent. Ils empêchent ainsi la réplication virale. Ces molécules antivirales n'ont aucune action sur le virus latent. Parmi ces molécules, on peut citer **l'aciclovir** qui est un analogue de la guanosine. Pour être actif, ces molécules doivent subir une triple phosphorylation. La première est faite par une enzyme virale et les deux autres par des enzymes cellulaires. Le virus peut acquérir une résistance à cet antiviral par mutation au niveau du gène codant pour l'enzyme virale. Afin d'éviter cette résistance, de nouvelles molécules monophosphorylées (**cidofovir**) court-circuitant ainsi la première étape de phosphorylation par l'enzyme virale ont été développées. D'autres molécules directement actives (pyrophosphates comme le **foscarnet**) sont également disponibles.

La prévention des infections à Herpetoviridae peut reposer sur différents moyens :

- Le recours à l'accouchement par voie haute (Césarienne) afin d'éviter la contamination du nouveau-né lors de son passage par la filière génitale en cas d'infection herpétique chez la femme enceinte.
- L'injection d'immunoglobulines spécifiques en cas de contagion varicelleux. Un vaccin vivant atténué est également disponible contre la varicelle. Il est administré aux sujets immunodéprimés, en période d'immunodépression modérée (exemple : avant greffe d'organe ou en cas de rémission chez les sujets atteints d'hémopathie maligne).
- Un vaccin contre le VZV est disponible ; il est recommandé surtout chez les sujets immunodéprimés. Il n'est pas vendu en Tunisie.
- L'utilisation de sang déleucocyté pour éviter la transmission du CMV par transfusion. Chez les greffés, la greffe d'organe à partir de donneur séronégatif est souhaitable et en post greffe, un traitement prophylactique par un antiviral est utilisé.

4. INFECTIONS PAR LES HERPES VIRUS SIMPLEX :

Deux sérotypes d'HSV existent : HSV1 et HSV2. Ils sont caractérisés par leur tropisme pour la peau (éruption vésiculeuse) et les muqueuses (gingivostomatite, herpès génital), l'oeil (conjonctive et kératite) et le système nerveux central (méningite, méningo-encéphalite) et leur cycle de multiplication court.

4.1. EPIDEMIOLOGIE :

Classiquement, HSV1 infecte plutôt la partie supérieure du corps. HSV2 est responsable de l'herpès génital et de l'herpès du nouveau-né contaminé au passage de la filière génitale. Cette distinction n'est pas absolue car on peut isoler HSV1 de lésions génitales et HSV2 de lésions labiales.

Ce sont des virus largement répandus responsables d'infections très fréquentes partout dans le monde. La primo-infection par HSV1 survient en général vers l'âge d'un an après perte des anticorps maternels ; plus de 90% de la population est séropositive à HSV1 à l'âge adulte. Pour l'HSV2, la primo-infection est plus tardive, elle se fait lors des premiers contacts sexuels ; ainsi, l'herpès génital constitue une infection sexuellement transmissible (IST). Son incidence augmente avec le nombre de partenaires. HSV1 se transmet essentiellement par la muqueuse oro-pharyngée ou oculaire et HSV2 par voie sexuelle. En cas d'infection génitale chez la femme enceinte, le virus peut être transmis au nouveau-né au moment de l'accouchement. L'herpès congénital est redoutable ; la transmission du virus peut se faire en cas d'excrétion symptomatique ou asymptomatique dans les sécrétions cervico-vaginales.

4.2. SITES DE LATENCE ET EXCRETION VIRALE :

4.2.1. Infection à HSV1 :

En cas de primo-infection, le virus est excrété dans la salive pendant une dizaine de jours. La latence se fait au niveau du ganglion de Gasser. Les réactivations ou récurrences virales sont possibles suite à des stimuli divers (fièvre, infections bactériennes ou virales, menstruations chez la femme, exposition au soleil, conflits affectifs, infections bactériennes, stress). Elles s'observent dans le même territoire que la primo-infection. Elles sont plus limitées et moins graves avec une excréition virale plus courte ne durant que 4 jours.

4.2.2 Infection à HSV2 : La primo-infection est caractérisée par une réplication virale très élevée et une excrétion virale pendant environ 3 semaines. La primo-infection génitale survient en moyenne une semaine après le contact infectant

; la latence se fait au niveau des ganglions sacrés. Les récurrences sont caractérisées par une excréption virale d'en moyenne 4 jours.

L'herpès néonatal est dû à HSV2 dans environ 2/3 des cas.

Le nouveau-né se contamine essentiellement lors de l'accouchement, par contact direct avec les sécrétions cervico-vaginales infectées. Ce risque augmente en cas de rupture prématurée des membranes et en cas de primo-infection maternelle 1 mois précédent l'accouchement. Les facteurs favorisants sont : la prématurité, une rupture prolongée des membranes >6h, la blessure du scalp, d'importantes lésions cervico-vaginales.

4.3. DIAGNOSTIC CLINIQUE :

4.3.1. Infection à HSV1 :

a. Primo-infection herpétique :

Les formes inapparentes sont les plus fréquentes.

- Gingivo-stomatite herpétique aigue :

Elle survient le plus souvent à l'âge de 1 an.

Après une incubation de 2 à 12 jours, elle se caractérise par une sensation de brûlure buccale, une dysphagie avec des ulcérasions polycycliques douloureuses couvertes d'un enduit blanchâtre atteignant les muqueuses jugales, gingivales, amygdaliennes et pouvant déborder sur les lèvres et le menton. Elle s'accompagne d'une fièvre à 39°C, d'adénopathies sous mandibulaires. La guérison spontanée est de règle en 10 à 15 jours.

- Kéратite herpétique :

Il s'agit d'une kérato-conjonctivite unilatérale aigue, avec des vésicules sur les paupières oedématées. La kéратite est souvent superficielle associée à une adénopathie prétragienne. Le plus souvent la kératite herpétique est une récurrence, parfois c'est la manifestation d'une primo-infection. Le risque de retentissement à long terme sur la vision est possible.

- Encéphalite herpétique :

Elle est due à HSV1 dans 95% des cas ou à HSV2 dans 5% des cas. Elle réalise chez l'adulte jeune une encéphalite aigue nécrosante et hémorragique affectant de manière bilatérale et asymétrique les lobes temporaux. C'est une urgence thérapeutique. L'évolution spontanée est gravissime : 80% de mortalité et des séquelles graves chez les survivants.

- Autres manifestations :

- Panaris herpétique : aspect vésiculeux, le plus souvent au niveau de l'index de la main.
- Angine herpétique isolée ou associée à une stomatite.
- rhinite aigue : une obstruction nasale, des vésicules péri-narinaires et des adénopathies cervicales.

4.3.2. Infection à HSV2 :

a. Primo-infection génitale : elle est surtout due à HSV2 mais la responsabilité de HSV1 est en augmentation. L'incubation est de 2 à 7 jours. Elle se traduit par une vulvo-vaginite aigue douloureuse chez la femme. Les vésicules sur fond érythémateux s'ulcèrent rapidement aboutissant à des ulcérasions douloureuses à contours polycycliques recouvertes d'un exsudat crémeux s'étendant vers l'anus. Chez l'homme, elle se localise sur le gland et le corps du pénis. Par contre, elle est plus intense, localisée sur la vulve, le périnée, les fesses, le col de l'utérus et le vagin. Les signes associés sont : fièvre, adénopathies inguinales sensibles, la dysurie et la rétention d'urine en cas d'atteinte urétrale, la constipation et névralgie en cas de radiculo-myélite sacrée. La cicatrisation spontanée des lésions peut prendre 2 à 3 semaines. Les patients sont exposés au risque de récurrence.

b. Herpes anal et péri-anal : Une atteinte anale isolée ou une ano-rectite érosive aigue sont possibles dans les 2 sexes. Il se traduit par de la fièvre, des malaises, des frissons associés à des douleurs anales et des ténèses.

A l'examen, présence de vésicules et/ou des ulcérasions cryptiques confluentes péri-anales, associées à un écoulement anal et des adénopathies inguinales. La guérison se fait en 1 à 3 semaines.

c. Herpes néonatal : C'est une infection grave chez le nouveau-né.

Elle se présente sous 3 formes cliniques :

- Forme disséminée : c'est une défaillance multi-viscérale avec une hépatite nécrosante, une hémorragie cutanéo-muqueuse diffuse, une pneumopathie interstitielle grave, une encéphalite et une éruption vésiculeuse et nécrotique diffuse. La mortalité est élevée à 80%.
- Forme localisée : méningoencéphalite survenue tardivement vers la 3ème semaine de vie.
- Forme occulo-cutanée : elle associe une kérato-conjonctivite sévère associée à une éruption vésiculo-érosive.

4.3.3. Herpès récurrent :

Au moins 80% de la population adulte héberge l'HSV à l'état latent et seuls 20% présentent des récurrences. Des prodromes à type de sensation de cuisson, de prurit, de picotement précédent l'apparition de vésicules. Elles se rompent laissant une érosion couverte d'une croûte. Les signes associés sont minimes (fibracule, petites adénopathies). La guérison spontanée se fait en 1 à 2 semaines. Le siège de l'herpès récurrent est déterminé par celui de la primo-infection. Les récurrences sont moins sévères, plus localisées, plus courtes et elles diminuent avec l'âge.

4.3.4 Herpès chez les sujets immunodéprimés :

Les atteintes cutanéo-muqueuses peuvent être diffuses avec ulcérations digestives notamment œsophagiennes et/ou péri-anales, et s'associer à une pneumopathie interstitielle, une hépatite... Les localisations les plus fréquentes sont péri-anales, génitales et oro-faciales. Il s'agit souvent d'ulcérations larges douloureuses, d'extension progressive, sans tendance à la cicatrisation spontanée.

4.4. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DES INFECTIONS A HSV :

Le diagnostic des infections à HSV est essentiellement direct. Il repose sur la mise en évidence de la particule virale, de son antigène ou de son génome au niveau des sites de multiplication ou d'excrétion virale.

4.4.1. Indications :

Les indications du diagnostic virologique d'une infection à HSV1 ou HSV2 sont les suivantes :

- Herpès génital et surtout en cas de projet de grossesse
- Prévention de l'herpès néonatal en cas d'antécédents connus chez la mère
- Toutes les formes graves
- Dépistage sérologique chez les donneurs et receveurs d'organes

4.4.2. Prélèvements :

Pour la recherche du virus, des protéines ou du génome viraux, les prélèvements doivent être riches en cellules infectées. Ils doivent être réalisés le plus tôt possible après l'apparition des signes cliniques et acheminés le plus rapidement au laboratoire et à froid (à cause de la fragilité du virus).

Le choix des prélèvements est fait en fonction des signes cliniques. Il peut s'agir de liquide cérébro-spinal, de liquide de vésicules cutanées, d'une biopsie d'organe, d'un frottis cervico-vaginal ou d'un prélèvement conjonctival.

En cas de vésicules cutanées, le liquide vésiculaire est prélevé par seringue après désinfection cutanée.

En cas d'ulcération, l'écouvillonnage doit être vigoureux et réalisé au fond de la cavité.

4.4.3. Principales techniques utilisées :

- La détection de l'antigène viral par immunofluorescence (IF) : Elle permet un diagnostic rapide mais nécessite un prélèvement bien conservé et riche en cellules intactes. C'est pour cela, le frottis sur lame est préparé dès prélèvement et envoyé rapidement au laboratoire. La présence d'antigène viral est mise en évidence par une fluorescence spécifique observée au microscope à IF dans les cellules infectées.

- La détection du génome viral par PCR : Du fait de sa sensibilité, cette technique est actuellement la plus utilisée surtout pour poser le diagnostic d'une encéphalite ou d'une kératite. Elle est également très utilisée pour la mise en évidence d'une excréption virale asymptomatique au niveau génital.

- L'isolement viral sur cellules qui constitue la technique de référence, est actuellement rarement réalisé. Cette technique est caractérisée par l'apparition en 24-72h d'un effet cytopathogène (ECP) commun à HSV1 et HSV2 ; un typage viral est alors nécessaire et est réalisé par immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques de type.

- La sérologie : Elle repose sur la recherche d'IgM et IgG anti-HSV1 et/ou HSV2 par technique ELISA ou IF. Elle est utilisée uniquement pour évaluer le statut sérologique d'un patient en pré-greffe et du donneur.

4.5. TRAITEMENT :

Les antiviraux anti-herpès ont apporté un progrès dans le traitement des formes graves de l'herpès, mais ceux-ci n'empêchent pas l'infection latente et la survenue de récurrences.

4.5.1 Les anti-viraux :

a. Aciclovir (Zovirax®) : c'est un agent actif sur HSV1 et HSV2.

b. Valaciclovir (Zélitrex®) : c'est une prodrogue de l'aciclovir. Il a l'avantage d'avoir une meilleure absorption orale.

c. Foscarnet (Foscavir®) : il est utilisé en cas de résistance à l'aciclovir (secondaire essentiellement à des mutations au niveau de la thymidine kinase virale).

4.5.2. Les indications :

a.Traitement curatif :

-Gingivostomatite aigue :

Elle nécessite une réhydratation par voie orale, bains de bouche avec aspirine et eau bicarbonatée, ainsi que des aliments semi liquides. Le traitement antiviral par aciclovir (200mg X5 /j ou 5 mg/kg x3/j) ou valaciclovir 500 mg x 2/j pendant 7 à 10 jours peut être prescrit en cas de gène importante lors de l'alimentation avec le risque de déshydratation. Rarement, l'hospitalisation pour réhydratation par voie IV est nécessaire.

- Herpès génital :

- en cas de primo-infection : Aciclovir per os (200mg x 5 fois/j pour 10 jour) ou Valaciclovir per os(500mg x 2 fois/j pour 10 jours).
- en cas de récurrence : Aciclovir ou valaciclovir pour une durée de 5 jours

- Méningo-encéphalite herpétique : c'est une **urgence thérapeutique**.

Aciclovir : 10 à 15 mg/kg toutes les 8h pendant 21 jours.

- Herpès néonatal : le traitement par aciclovir parentéral chez le nouveau-né est proposé devant :

- Formes neurologiques ou disséminées : Aciclovir 60mg/kg/j pour 21 jours.
- Formes focalisées : Aciclovir pour 14 jours.

- Herpès de la femme enceinte :

- en cas de primo-infection 1 mois avant l'accouchement : Aciclovir per os 200mg x 5 fois/j jusqu'à l'accouchement
- si avant le dernier mois : Aciclovir per os 200mg x 5 fois/j pour 10 jours.
- la césarienne est indiquée en cas de lésions génitales.

b.Traitement préventif :

il peut être proposé en cas de plus de 6 récurrences par an d'herpès génital ou cutanéo-muqueux : Aciclovir 400mg x2/ j ou valaciclovir 500 mg/j pendant 6 à 12 mois.

5. LES INFECTIONS PAR LE VIRUS DE LA VARICELLE-ZONA :

Le VZV est un Herpetoviridae ayant un tropisme dermo-neurotrope. La varicelle représente la primo-infection par ce virus et le zona sa réactivation. La varicelle est une maladie infantile en général bénigne. Elle est particulièrement grave chez la femme enceinte si elle survient en fin de grossesse (5 jours avant l'accouchement et 2 jours après la naissance). Elle présente un risque élevé de transmission du virus vers le nouveau-né, qui va présenter une varicelle néonatale grave. La varicelle peut être aussi grave chez l'immunodéprimé (varicelle progressive) mais aussi en cas de primo-infection tardive chez l'adulte (pneumonie nodulaire diffuse).

5.1. EPIDEMIOLOGIE :

5.1.1 La varicelle est une virose infantile à prédominance hivernale. Elle est extrêmement contagieuse survenant habituellement en début de scolarité. La contamination se fait par contact direct avec les lésions cutanées ou par inhalation des gouttelettes respiratoires projetées par le sujet atteint de varicelle. Un sujet infecté est contagieux 2 à 3 jours avant et jusqu'à 5 jours après l'apparition de l'éruption. En cas de déficit du système immunitaire, le VZV peut être responsable de formes graves atteignant poumons, foie et système nerveux central.

La varicelle est immunisante, mais malgré la persistance des anticorps pendant plusieurs années, le VZV reste à l'état latent dans les ganglions sensitifs des nerfs crâniens et rachidiens.

5.1.2 Le zona est due à des modifications de la pathogénicité du virus et/ou de l'immunité cellulaire. Le « vieillissement » du système immunitaire explique la plus grande fréquence du zona chez les sujets âgés (fréquent surtout après 50 ans). En plus de l'âge avancé, le zona est également favorisée par l'immunodépression (infection par le VIH, hémopathie maligne, traitement immunosuppresseur). Il s'agit d'une récurrence localisée au niveau du dermatome innervé par le ganglion de latence. En effet, le VZV latent présent dans les ganglions sensitifs, reprend sa réPLICATION et migre jusqu'à la peau à travers les fibres nerveuses sensitives. En général, le zona ne survient qu'une fois dans la vie. Un zona peut être contaminant et donner une varicelle chez un sujet contact non immunisé. Une varicelle ne donne pas de zona chez un sujet contact.

5.2.CLINIQUE :

5.2.1. Varicelle :

a. Forme typique : L'incubation inapparente est de 14 jours en moyenne. La phase d'état est caractérisée par une éruption localisée sur la face, le cuir chevelu et le thorax, évoluant par plusieurs phases successives. Elle se présente sous forme de

macules rosées puis de papules, très prurigineuses avec apparition en 24h d'une vésicule transparente, entourée d'un fin liseré érythémateux. Elles se dessèchent en 48h, le contenu vésiculaire se trouble. Une croûte brunâtre apparaît au 4ème jour et tombe au 10ème jour. Il existe fréquemment un énanthème au niveau de la bouche avec de petites lésions érosives. La fièvre est modérée (38°C) et une micro-poly-adénopathies cervicales sont souvent associées. La guérison est spontanée en 10 à 15 jours.

b. Formes cliniques :

- Complications à type de:
- Surinfections cutanées qui sont fréquentes.
- Complications neurologiques : ataxie cérébelleuse, convulsions et plus rarement encéphalite, polyradiculonévrite, myélite.
- Purpura thrombopénique.
- pneumopathie interstitielle, en particulier au cours de la grossesse.

Formes de l'immunodéprimé : il s'agit de formes graves marquées par un état infectieux sévère, une éruption nécrotico-hémorragique et des localisations viscérales (surtout pulmonaires, hépatique, neurologiques et CIVD).

Varicelle néonatale : Elle survient lorsque la mère contracte la varicelle peu avant l'accouchement. Elle est grave avec une mortalité de 30%.

5.2.2. Zona :

a. **Zona thoracique** : Il est marqué par une phase de prodromes faite de brûlures, prurit sur le terrain atteint. L'éruption est unilatérale en hémiceinture, le long d'une racine nerveuse avec des éléments érythémateux rose vif puis recouverts de vésicules groupées en bouquet. Elles se troublent puis forment des croûtes tombant au 10ème jour. L'éruption est douloreuse, avec paresthésies et troubles objectifs de la sensibilité. L'état général est conservé et une adénopathie satellite souvent retrouvée. L'évolution est favorable en 2 à 3 semaines.

b. **Zona ophtalmique** : il expose au risque d'atteinte ophtalmique mettant en jeu le pronostic visuel.

c. Complications :

Douleurs post-zostériennes : sont les principales complications neurologiques, surtout chez le sujet âgé et lors des localisations céphaliques. Ce sont des douleurs persistantes au-delà de la cicatrisation ou au-delà d'un mois après la survenu de zona. Elles disparaissent habituellement dans un délai de 6 mois mais peuvent être définitives.

Autres : paralysies oculomotrices (zona ophtalmique), myélite, encéphalite.

5.3. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DES INFECTIONS A VZV :

Le diagnostic de la varicelle et du zona est clinique. Toutefois, un recours au diagnostic virologique est possible. Ses indications sont :

- Les formes graves de varicelle ou de zona,
- Les formes atypiques,
- Les études à visée épidémiologique, pronostique ou thérapeutique
- La détermination de l'immunité chez une personne jeune avant mise sous traitement immunosuppresseur ou chez une femme enceinte en cas de notion de contagion.

Deux approches diagnostiques sont alors possibles :

5.3.1 Le diagnostic direct : La détection du génome viral, dans les lésions cutanées, du LCR ou sur liquide amniotique, par PCR est la plus sensible.

5.3.2 Le diagnostic indirect repose sur la détection des anticorps spécifiques dans le sérum ; ces derniers apparaissent au 5ème jour et sont à leur maximum au 20ème jour. Le diagnostic sérologique est surtout intéressant dans le cas de primo-infection. L'examen décèle dans ce cas une séroconversion ou une élévation significative des anticorps sur deux prélèvements faits à 15 jours d'intervalle. Pour le zona, le sérodiagnostic a moins d'intérêt car l'élévation du titre des anticorps est moins constante.

5.4. TRAITEMENT :

5.4.1. Varicelle :

a. Traitement symptomatique :

- Paracétamol ou ibuprofène utilisés pour la fièvre. L'aspirine est contre-indiquée.
- Les anti-histaminiques sédatifs : hydroxyzine, dexchlorphéniramine sont indiqués.
- Bains et douches quotidiens, à éviter les produits antiseptiques.

b. Traitement antiviral :

Il est réservé aux formes graves (surtout chez l'adulte), aux formes de l'immunodéprimé et chez la femme enceinte.

Aciclovir en IV : 10mg/kg toutes les 8h pendant 10 jours.

Valaciclovir : 1g x3 /jour durant 7 à 10 jours

c. Traitement préventif :

- Eviction scolaire jusqu'à disparition des croûtes.

- Vaccination par le vaccin vivant atténué, chez les enfants exposés aux risques des formes graves de la maladie

5.4.2. Zona :

a. Traitement symptomatique :

- Douches et bains quotidiens et soins locaux

- Traitement antalgique par du paracétamol-codéine ou paracétamol-dextropropoxifène.

b. Traitement antiviral : son but est de réduire la fréquence et l'intensité des algies post-zostériennes.

- Zona ophtalmique : l'antiviral doit être administré précocement avant la 72h de la phase éruptive. Aciclovir oral (800 mg x5/j pendant 7jours) ou valaciclovir(1g x3/j pendant 7jours) chez l'immunocompétent.

- Autres localisations : le traitement est indiqué chez le sujet agé de plus de 50 ans et si le traitement peut être entrepris dans les 72h après l'éruption.

- Chez l'immunodéprimé : tout zona sur ce terrain doit être traité par aciclovirIV (10mg/kg toutes les 8h pendant 7-10jours).

6. LES INFECTIONS PAR LE VIRUS D'EPSTEIN BARR (EBV) :

6.1. EPIDEMIOLOGIE :

L'EBV est le principal agent causal de la mononucléose infectieuse (MNI) qui survient en général chez l'adolescent ou l'adulte, entre 15 et 25 ans. Sa transmission se fait essentiellement par la salive (« Maladie du Baiser »), par transfusion ou encore après greffe d'organe. Contrairement aux autres virus du groupe herpès, il n'y a pas de récurrence symptomatique chez les sujets sains. La principale cellule cible du virus est le lymphocyte B qu'il va immortaliser. L'infection par EBV pose un problème de santé surtout chez l'immunodéprimé par le risque élevé de lympho-proliférations malignes dont il est responsable.

6.2. PHYSIOPATHOLOGIE :

L'EBV pénètre au niveau de l'oropharynx et s'attache spécifiquement à certaines cellules épithéliales ; il s'y multiplie et détruit les cellules infectées. Ce site initial de réPLICATION du virus explique la richesse de la salive en virions. Le passage des lymphocytes B à travers les tissus épithélio-lymphoïdes de l'oropharynx est à l'origine de l'infection et de l'immortalisation d'une partie de ces cellules. La lymphoprolifération B généralisée qui s'en suit est remarquablement contrôlée chez le sujet immunocompétent notamment par la réponse immune de type cellulaire (lymphocytes T reconnaissant certains antigènes viraux de latence). Ainsi, chez le sujet immunocompétent, il s'établit un équilibre entre le virus et les défenses immunitaires éliminant les cellules infectées. Cette primo-infection induit toujours une réponse humorale dirigée contre les protéines du virion au début puis contre les protéines de latence. L'EBV persiste par la suite à l'état latent dans le lymphocyte B. Des réactivations inapparentes peuvent survenir tous les deux à trois mois. Elles sont caractérisées par une réPLICATION virale et une excrétion des virions dans la salive. Elles sont très vite maîtrisées par l'immunité humorale spécifique. Cette alternance de périodes de réactivations et de retour à la phase de latence est généralement observée chez le sujet immunocompétent. Il arrive parfois que ce contrôle immunitaire fasse défaut. Chez le sujet immunodéprimé, cette réactivation est quantitativement amplifiée et on assiste alors à une prolifération maligne des cellules infectées même après des années de persistance virale comme dans le cas du lymphome de Burkitt, du cancer du nasopharynx. Ces infections malignes sont en général multifactorielles faisant intervenir l'infection à EBV ainsi que des facteurs génétiques et environnementaux.

6.3. CLINIQUE :

6.3.1. Forme type : Mononucléose Infectieuse

Elle débute par une asthénie profonde, une fièvre modérée à 38°C, puis apparaît une angine souvent érythémato-pultacée bilatérale avec un œdème de la luette, un purpura pétéchial du voile du palais, une voix nasonnée et un œdème palpébral.

A l'examen, on retrouve des adénopathies cervicales, occipitales parfois diffuses à tous les aires ganglionnaires avec une splénomégalie dans 50% des cas. Il existe un exanthème morbilliforme spontané du tronc, de la racine des membres dans 5-10% des cas. Cette éruption peut être déclenchée par la prise d'aminopénicilline. Il ne s'agit pas d'une allergie vraie aux bêta-lactamines. L'évolution se fait vers la guérison spontanée en 3 à 4 semaines mais avec une phase de convalescence qui peut être prolongée.

6.3.2. Autres formes cliniques :

a. Formes symptomatiques :

- L'angine peut être pseudo-membraneuse.
- Une hépatite biologique parfois ictérique est fréquente.
- Une atteinte hématologique est fréquente : anémie hémolytique à Coombs positif, purpura thrombopénique, cryoglobulinémie.

b. Formes compliquées :

- Atteinte neurologique : encéphalite, polyradiculonévrite, syndrome cérébelleux, méningite lymphocytaire, paralysie faciale.
- Myocardite, pleurésie
- La rupture de rate est rare.
- Chez l'immunodéprimé, une infection par l'EBV est souvent associée à une lympho-prolifération comme chez les transplantés d'organe et les sujets infectés par le VIH.

6.4. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DE L'INFECTION PAR L'EBV :

Sur le plan biologique, la MNI est caractérisée par une hyperlymphocytose associée à des lymphocytes atypiques correspondant en majorité à des lymphocytes T activés (témoin de la mise en jeu d'une réponse immunitaire de type cellulaire).

6.4.1 Diagnostic indirect : Il est essentiel dans la MNI. Il repose sur la mise en évidence des anticorps spécifiques dans le sérum du malade. Les anticorps dirigés contre les différents antigènes EBV apparaissent selon une cinétique bien établie (Figure 2) : les 1ers à apparaître sont les anticorps dirigés contre les protéines de capsid ou VCA et les protéines précoces ou EA suivis par ceux dirigés contre les protéines de latence ou EBNA. L'absence d'anti-EBNA associée à la présence d'IgM anti-VCA signe la primo-infection à EBV.

Ces marqueurs présentent une variation en cours de l'infection permettant de définir les différentes étapes de cette infection (Tableau I).

Tableau I : Profils sérologiques de l'infection à EBV

Sérologie EBV au cours de la vie	Anti-VCA		Anti-EA	Anti-EBNA
	IgM (IgA)	IgG		
Nouveau-nés et nourrissons de moins d'un an (anticorps maternels)	-	+	-	+
Sujet séronégatif (non infecté)	-	-	-	-
Primo-infection récente (MNI)	+	+/-	+/-	-
Infection latente	-	+	-	+
Réactivation	-	++	+/-	+

VCA = Anticorps dirigés contre l'antigène de la capsid virale)

EA= Anticorps dirigés contre les antigènes précoces, synthétisés lors de la 2ème transcription

EBNA = Anticorps tardifs dirigés contre les protéines de latence intranucléaires

6.4.2 Diagnostic direct : Il est essentiellement utilisé chez l'immunodéprimé ou dans le cas de lymphoproliférations pouvant être associées à l'EBV. Il repose essentiellement sur la détection et la quantification du génome viral par PCR.

6.5. TRAITEMENT :

Il est essentiellement symptomatique. La corticothérapie (1mg/kg/j pendant 10jours) en cas de gêne respiratoire ou d'anémie hémolytique.

7. LES INFECTIONS A CYTOMEGALOVIRUS :

Le CMV est un virus leucotrope. Il pose un problème majeur chez les immunodéprimés et les nouveau-nés. En effet, les infections à CMV acquièrent une gravité particulière chez les sujets infectés par le VIH, les greffés d'organe et de moelle osseuse. De même, le CMV joue un rôle tératogène avec risque de malformations congénitales. Cette atteinte fœtale est observée dans 30% des cas de primo-infection à CMV chez une femme enceinte, pendant les trois premiers mois de la grossesse. Elle peut se traduire soit par un avortement, quand les malformations sont très importantes, soit par une fœtopathie (hépato-splénomégalie, ictère, purpura, encéphalite, microcéphalie). La réinfection de la femme enceinte peut donner, dans 10% des cas, une surdité congénitale.

7.1 EPIDEMIOLOGIE:

7.1.1 Modes de transmission : Le virus est présent dans les leucocytes circulants et peut être excrété dans la salive, les urines, les larmes, les sécrétions cervico-vaginales, le sperme et le lait. Il peut être de ce fait transmis par différentes voies notamment respiratoire, salivaire, sexuelle, parentérale (par transfusions massives de sang frais), par greffe d'organes et materno-fœtale (essentiellement transplacentaire).

7.1.2. Situation épidémiologique : L'infection à CMV est universelle. Le virus infecte 50% de la population dans les pays à haut niveau socio-économique et plus de 90% dans les pays à niveau socio-économique très bas.

7.2 PHYSIOPATHOLOGIE:

Au moment de la primo-infection, le virus dissémine par voie sanguine, associé à la fraction leucocytaire et atteint les organes cibles. Chez le sujet immunocompétent, la réponse immune cellulaire finit par éliminer les cellules infectées productrices de virions. Le virus reste latent dans différents sites notamment dans les monocytes du sang circulants. Les réactivations virales sont possibles mais généralement sans traduction clinique chez le sujet sain. En cas de déficit immunitaire, ces réactivations sont plus fréquentes et graves. Elles sont caractérisées par une dissémination sanguine qui précède la diffusion vers les organes cibles avec apparition de la maladie à CMV.

7.3. CLINIQUE :

7.3.1. Chez le sujet immunocompétent : la primo-infection est le plus souvent asymptomatique. Elle peut revêtir plusieurs aspects cliniques :

- La fièvre isolée de l'adulte jeune : elle est en plateau entre 38° et 40°C, avec ou sans frissons, elle se prolonge pendant 2 à 3 semaines.
- Les signes associés sont : asthénie, pharyngite, toux sèche, splénomégalie, hépatomégalie et des adénopathies cervicales. Rarement, on peut rencontrer une myocardite, un syndrome de Guillain barré, une colite ulcéreuse, une péricardite, une pneumopathie interstitielle et une méningite.
- Sur le plan biologique, la primo-infection est caractérisée par un syndrome mononucléosique avec neutropénie et thrombopénie, une augmentation modérée des transaminases est habituelle et une hyper-gammaglobulinémie est observée.

7.3.2. Chez le sujet immunodéprimé :

Les infections viscérales à CMV surviennent lors d'une immunodépression de type cellulaire.

- Chez les greffés d'organes : c'est l'infection opportuniste la plus fréquente (30 à 50%) et la plus grave. Elle est à l'origine de pneumopathie interstitielle, leuco-neutropénie et thrombopénie, de glomérulopathie. Son diagnostic doit être précoce afin de démarrer un traitement spécifique urgent.

- Au cours de l'infection par le VIH : l'infection à CMV est indicatrice du SIDA lorsque le taux de CD4 <50/mm3. les rétinites représentent la localisation la plus fréquente suivis de l'atteinte digestive (colite, cholangeite), plus rarement de pneumopathie interstitielle et d'atteinte neurologique.

7.4. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DE L'INFECTION A CMV :

7.4.1 Indications : Le recours au diagnostic biologique se fait dans des situations particulières :

- Infections chez l'immunodéprimé,
- Suspicion d'infection materno-fœtale
- Confirmation d'un diagnostic prénatal chez un nouveau-né présentant des signes évocateurs comme un retard de croissance intra-utérin.

7.4.2. Diagnostic direct: Le CMV ou ses antigènes peuvent être mis en évidence directement si le prélèvement contient des cellules: liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), urines, biopsie tissulaire, sang.

a. Antigénémie pp65 : Cette technique repose sur la détection, par IF, d'une protéine du tégument (pp65) dans les leucocytes circulants. Sa présence est en faveur d'une dissémination sanguine du virus. Le résultat est rendu par nombre de cellules infectées/2.105 cellules. Cette technique est actuellement moins utilisée car elle est laborieuse nécessitant la manipulation du prélèvement le jour même. De plus, elle n'est pas adaptée en cas de neutropénie.

b. Détection des antigènes viraux : Elle peut se faire également à partir de prélèvements. Ces antigènes sont mis en évidence à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques, couplés à l'immunoperoxydase ou à la fluorescéine.

c. Détection du génome viral : Elle peut se faire à partir de différents types de prélèvements : plasma, sérum, LCR, urines ou lavage broncho-alvéolaire. Deux types de techniques peuvent être utilisés, l'hybridation par sondes spécifiques ou PCR, cette dernière étant la plus sensible.

En cas de greffe, une réactivation virale peut être mise en évidence par une détection et une quantification de l'ADN viral sur prélèvement sanguin ou par antigenémie pp65. Cette dissémination sanguine précède en général la maladie à CMV et permet de débuter un traitement pré-emptif spécifique sur uniquement des signes biologiques.

d. Isolement viral sur cellules : reste du ressort du laboratoire spécialisé. Cette technique est caractérisée par un ECP spécifique mais tardif

7.4.3. Diagnostic indirect : La sérologie est utilisée essentiellement pour le diagnostic d'une primo-infection chez le sujet immunocompétent ou pour vérifier le statut immunitaire surtout en pré-greffe. Elle peut être également réalisée en cas de suspicion d'une primo-infection à CMV chez la femme enceinte au cours du 1er trimestre. Elle repose sur la détection des IgM qui persistent 16 à 20 semaines après primo-infection, et des IgG qui s'élèvent après primo-infection avec de nouveaux pics qui réapparaissent en cas de réactivations.

7.4.4. Diagnostic histologique : l'examen microscopique d'un prélèvement tissulaire recherche des signes inflammatoires non spécifiques et surtout l'effet cytopathogène du virus par la présence de cellules à grosses inclusions intranucléaires. Le diagnostic est confirmé par immunohistochimie ou par hybridation ADN in situ.

7.5. TRAITEMENT :

Il n'y a pas de traitement curatif de l'infection chez le sujet immunocompétent. Le traitement antiviral est indiqué chez le sujet immunodéprimé.

7.5.1. Traitement curatif : chez l'immunodéprimé, le ganciclovir est indiquée à la dose de 5 mg/kg / 12 h, durant 21 jours. Le Foscarnet (Foscavir) est utilisé dans les infections à CMV chez les sujets infectés par le VIH à la dose de 180 mg/kg/j en 2 à 3 perfusions.

7.5.2. Traitement préventif : La prévention repose sur l'utilisation d'un greffon de donneur CMV séronégatif chez un receveur CMV séronégatif en cas de transplantation. En post-greffe, un traitement prophylactique par les antiviraux est indiqué. L'utilisation de sang déleucocyté est recommandée chez les sujets négatifs vis-à-vis du CMV.

8. L'INFECTION PAR HHV6 – HHV7 – HHV8

8.1. HHV6 : Virus lymphotrope de découverte récente et largement répandu dans le monde. La primo-infection survient le plus précocement dans la vie, le plus souvent avant l'âge de 4 ans. Elle peut être inapparente ou se manifester par l'exanthème subit du nourrisson (6ème maladie). Après une incubation de 5 à 15 jours, une fièvre à 40°C survient, puis elle disparaît au 5ème jour et apparaît une éruption maculo-papuleuse sur le cou, le tronc et les cuisses et elle disparaît spontanément. On peut noter une pharyngite, des adénopathies cervicales.

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des IgM spécifiques dans le sang en cas d'éruption fébrile. Il est essentiellement direct reposant sur la détection de l'ADN viral par PCR chez les immunodéprimés. Il n'y a pas de traitement curatif, ni préventif.

8.2. HHV7 : Ce virus a été isolé à partir de la salive et des cellules mononucléées sanguines. La prévalence de l'infection à HHV7 dans la population adulte est très grande. A part quelques cas d'exanthème subit, HHV7 semble être jusqu'à présent un virus sans pouvoir pathogène démontré chez l'Homme.

8.3. HHV8 : Ce virus a été retrouvé dans près de 100% des lésions du sarcome de Kaposi associé au Sida. Il a été également associé à la maladie de Castleman (lymphoprolifération bénigne localisée ou généralisée) et le lymphome diffus des séreuses. Le diagnostic est essentiellement direct reposant sur les techniques de biologie moléculaire.

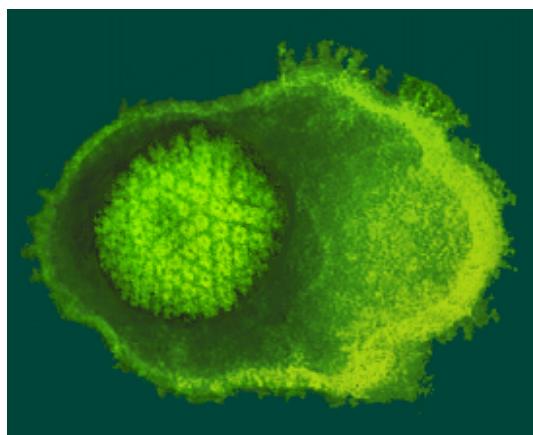


Figure 1a : Aspect des Herpesvirus en Microscopie électronique

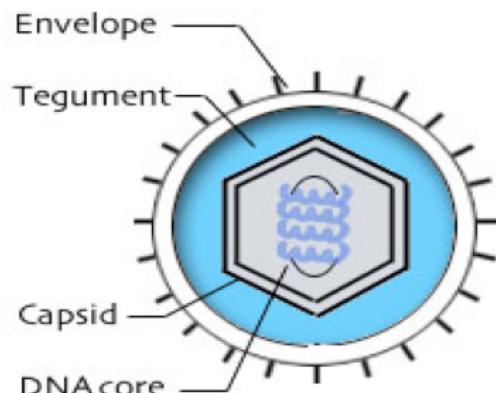


Figure 1 b : Structure des Herpesvirus

Cinétique des anticorps au cours de la Mononucléose Infectieuse

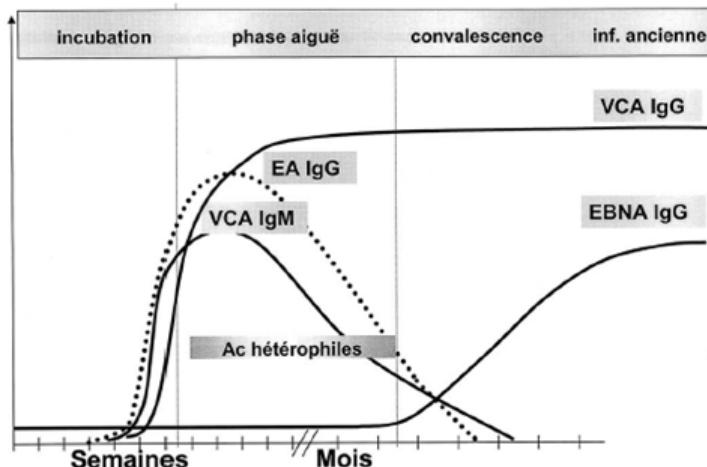


Figure 2 : Cinétique des anticorps spécifiques lors d'une primo-infection à EBV

EVALUATION FORMATIVE

1- Choisir, parmi les propositions suivantes, les réponses justes.

- a- Les herpétoviridae sont des virus enveloppés
- b- Les herpétoviridae sont caractérisés par la présence d'un tégument riche en phosphoprotéines
- c- Le génome des herpétoviridae est à ARN monocaténaire
- d- Les herpétoviridae présentent tous un même site de latence
- e- Tous les herpétoviridae présentent un cycle de multiplication court

2- Choisir, parmi les propositions suivantes, celles qui sont justes

- a- Le diagnostic d'une infection à HSV1 est essentiellement sérologique
- b- Le site de latence de HSV2 est le ganglion de Gasser
- c- L'aciclovir est un antiviral agissant sur HSV1 latent
- d- Les souches d'HSV résistantes à l'aciclovir possèdent des mutations au niveau du gène codant pour la thymidine kinase

3- Choisir, parmi les propositions suivantes, celles qui sont justes

- a- Le CMV se transmet uniquement par voie parentérale
- b- Le diagnostic d'une infection à CMV chez l'immunodéprimé est essentiellement sérologique
- c- Le CMV est un virus leucotrope
- d- Le CMV est un virus tératogène

Question n° 4 : Réponse : c

Question n° 3 : Réponse : c et d

Question n° 2 : Réponse : d

Question n° 1 : Réponse : a et b

Réponses :

LE VIRUS DE LA RAGE

Les objectifs éducationnels

Au terme de son apprentissage, l'étudiant devra être capable de :

- 1- Citer les réservoirs du virus de la rage et en préciser ses différents modes de transmission
- 2- Décrire la physiopathologie de l'infection par le virus rabique et son implication dans la clinique et la prévention
- 3- Préciser les indications du diagnostic virologique de la rage
- 4- Décrire la démarche utilisée au laboratoire pour le diagnostic de la rage
- 5- Expliquer l'indication des moyens de prévention en post-exposition en se basant sur la structure du virus et la physiopathologie de l'infection
- 6- Décrire, en fonction de la gravité des lésions, la conduite à tenir après exposition au virus rabique

Connaissances préalables requises

- 1- Thème VII (Agressions biologiques) – PCEM1 :

- Généralités sur les virus,
- Méthodes de diagnostic virologique

Mise à jour Juin 2020

INTRODUCTION

La rage est une **anthropozoonose** due à un virus neurotrophe identifié par Louis Pasteur en 1880. Elle est transmise accidentellement à l'Homme suite à une morsure ou à une griffure par un animal enragé. Elle se manifeste par **un tableau d'encéphalomyélite aigüe d'évolution toujours mortelle** d'où l'importance de la prévention qui doit être mise en œuvre rapidement en post-exposition.

En Tunisie, la rage est une maladie à déclaration obligatoire. Un programme national de lutte contre la rage a été instauré depuis 1982. Malgré cela, l'infection reste toujours un problème majeur de santé publique du fait de la fréquence de la forme animale et de la persistance d'au moins 3 à 6 cas de rage humaine par an suite à une prise en charge tardive.

1. ASPECTS VIROLOGIQUES

1.1. CLASSIFICATION :

Le virus de la rage appartient à l'ordre des Mononegavirales, famille des Rhabdoviridae et genre Lyssavirus.

1.2. STRUCTURE – MORPHOLOGIE DE LA PARTICULE VIRALE :

Le virus de la rage se présente, en microscopie électronique, sous forme d'un obus avec une extrémité plate et une autre arrondie. Il s'agit d'un virus enveloppé donc fragile nécessitant des contacts étroits pour sa transmission. Il est facilement détruit par les détergents d'où l'importance de la désinfection de la plaie en cas de morsure ou griffure animale.

Il est constitué de l'extérieur vers l'intérieur de (Figure 1) :

- une enveloppe d'origine cellulaire comportant à sa surface la glycoprotéine G sous forme de spicules. La glycoprotéine G a un rôle très important pour la fixation du virus au niveau de son récepteur à la surface de la cellule cible. Elle est également antigénique suscitant la formation d'anticorps neutralisants qui protègent de l'infection après vaccination. La glycoprotéine G est la cible des immunoglobulines injectées en cas de séroprophylaxie.
- une matrice tapissant la face interne de l'enveloppe ; elle est constituée de l'assemblage de plusieurs sous-unités de la protéine M qui a un rôle très important dans la libération de la particule virale à partir de la cellule infectée.
- une nucléocapside centrale constituée d'une capsid hélicoïdale formée par l'assemblage de plusieurs sous unités protéiques (protéine N) et d'un génome à ARN monocaténaire, linéaire, non segmenté et de polarité négative. Le génome viral est associé à deux enzymes virales jouant un rôle très important dans la réPLICATION : la polymérase L et la phosphoprotéine P.

1.3. CYCLE DE MULTIPLICATION (FIGURE 2):

Les cellules cibles du virus de la rage sont essentiellement les neurones. Le virus peut également infecter les cellules musculaires striées. Le cycle viral débute par la fixation du virus à la surface de la cellule hôte. Cette étape fait intervenir la glycoprotéine G et un récepteur cellulaire spécifique qui est le récepteur pour l'acétylcholine. Après attachement, le virus pénètre dans la cellule par endocytose. Il se retrouve au niveau du cytoplasme où va se faire la multiplication virale. Après dégradation des membranes de la vacuole d'endocytose et de l'enveloppe virale par des lysosomes cellulaires, l'ARN est libéré. Il est tout d'abord transcrit avec production de 5 types d'ARN messagers codant pour les différentes protéines virales. La réplication ne débute qu'après synthèse de ces protéines. Les nouveaux génomes viraux sont, par la suite, encapsidés dans le cytoplasme donnant naissance aux inclusions cytoplasmiques appelées « **corps de Négri** ». Ces inclusions sont visibles dans les cellules infectées après coloration histologique. Le virus quitte, ensuite, la cellule par bourgeonnement à travers la membrane cytoplasmique.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE

2.1. RESERVOIR ET MODES DE TRANSMISSION :

Le virus de la rage est extrêmement fragile ; il ne peut pas survivre dans le milieu extérieur. Tous les mammifères à sang chaud sont réceptifs à la rage ; ils excretent le virus dans la salive. Selon le réservoir, trois types de rage ont été décrits : **la rage canine** en cas d'atteinte d'animaux domestiques notamment chiens, chats, bovins, ovins, **la rage selvifique** chez les animaux sauvages tels que le renard et le loup et la **rage des chiroptères** en cas d'atteinte de la chauve souris.

Le virus de la rage ne peut pas franchir la peau saine mais peut franchir les muqueuses. La transmission se fait essentiellement par voie cutanée suite à une morsure ou griffure par un animal excréteur du virus dans la salive ou par léchage sur peau lésée ; elle peut se faire également suite à la manipulation d'un animal enragé. Une transmission par voie muqueuse est également possible ; elle se fait soit par léchage ou par projection de gouttelettes de salive virulente sur les muqueuses. Une transmission après greffe de cornée d'un donneur en incubation de rage a été également décrite mais rare.

2.2. SITUATION ÉPIDÉMIOLOGIQUE :

La situation épidémiologique de la rage dans le monde est très variable selon les régions. La rage humaine est observée essentiellement en Asie et en Afrique où sont répertoriés plus de 95% des cas déclarés dans le monde, plus de 60.000 cas décès sont déclarés par an par l'OMS dans ces régions. Cette proportion élevée est liée à l'absence de lutte efficace contre la rage dans ces pays.

En Tunisie, la rage sévit essentiellement sous forme de rage canine. Le programme national de lutte contre la rage repose sur deux composantes : la lutte contre les chiens errants et la vaccination des animaux domestiques. Suite à ce programme, l'incidence de la rage animale et humaine a beaucoup baissé. Toutefois, la rage canine reste encore fréquente. Chaque année, 3 à 6 cas de rage humaine sont observés suite à une mauvaise prise en charge de l'individu après exposition.

3. PHYSIOPATHOLOGIE

Le virus pénètre dans l'organisme après effraction de la barrière cutanée (morsure, griffure) ou par les muqueuses (léchage, aérosols). Une 1ère multiplication virale est faite au niveau des cellules musculaires de la porte d'entrée sans qu'il y ait d'effet cytopathogène nécessaire pour présenter les antigènes viraux au système immunitaire. Ainsi, le virus échappe à la surveillance immunitaire de l'hôte ; il gagne le système nerveux central (SNC) en empruntant les terminaisons nerveuses. Ce trajet correspond à l'incubation de la rage, mise à profit pour la sérovaccination (il est important d'aller plus vite que le virus). La durée de l'incubation, de six semaines en moyenne, est raccourcie en cas de morsures profondes ou multiples au niveau de la face ou de zones riches en terminaisons nerveuses. Ensuite, le virus colonise les différentes zones cérébrales et se multiplie surtout au niveau de l'hippocampe entraînant une destruction cellulaire responsable de l'hyper-agressivité observée chez l'Homme et chez l'animal. De là, le virus diffuse, par voie nerveuse centrifuge pour infecter certains tissus extra-neuraux préférentiels tels que les glandes salivaires, l'œil, les muqueuses buccale et nasale, qui assurent la transmission de la maladie. Le virus est présent en grande quantité dans la salive, en général 48 heures avant le début des signes cliniques. Ce qui fait que, la morsure par un animal domestique apparemment sain n'écarte pas la possibilité d'une contamination d'où la nécessité de mettre en observation tout animal mordeur pendant 14 jours.

4. DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

Le diagnostic clinique de la rage (humaine et animale) n'est jamais un diagnostic de certitude ; la confirmation ne peut se faire que par la biologie. Ce diagnostic biologiquement se fait exclusivement dans le laboratoire de référence, le laboratoire de la rage de l'Institut Pasteur de Tunis, qui possède les conditions de sécurité obligatoires pour la manipulation de ce virus hautement infectieux.

4.1. INDICATION DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

En général, le diagnostic de la rage chez l'Homme n'a pas de place ; la prise en charge en cas d'exposition doit être rapide afin d'éviter l'arrivée du virus au niveau du SNC. Les indications du diagnostic biologique restent limitées :

- à l'animal mordeur en post-mortem afin de confirmer le diagnostic de la rage
- en cas d'encéphalite chez un sujet (anté et post-mortem) ayant eu une notion de contact suspect dans les semaines qui précèdent l'installation du tableau clinique et qui malheureusement n'a pas bénéficié d'une prise en charge rapide en post-exposition.

4.2. PRELEVEMENTS :

- Chez l'animal : les prélèvements sont essentiellement des biopsies à partir du cortex, de l'hippocampe et du bulbe rachidien.

- Chez l'homme : les mêmes prélèvements que chez l'animal peuvent être utilisés en post-mortem. En anté-mortem, il s'agit plutôt de prélèvements salivaires (au minimum 3 échantillons vue l'intermittence de l'excrétion du virus dans la salive), sérum, liquide céphalo-rachidien, calques de cornée et des biopsies cutanées choisies au niveau d'une zone innervée (exemple la nuque).

Le virus de la rage, étant un virus enveloppé et fragile, les prélèvements doivent être envoyés au laboratoire de référence, le plus rapidement possible et à +4°C. Ils sont placés dans un triple emballage afin d'éviter une éventuelle contamination.

4.3. METHODES DE DIAGNOSTIC:

Le diagnostic est essentiellement direct par mise en évidence de la particule virale ou l'un de ses composants. En pratique courante, deux techniques de diagnostic direct sont réalisées en parallèle afin d'assurer la rapidité et la sensibilité du diagnostic. Il s'agit en général de la détection de l'antigène viral par immunofluorescence directe (IFD, rapidité du diagnostic) et l'isolement viral sur support biologique (sensibilité du diagnostic).

a. Détection de l'antigène viral par IFD : Elle est simple, rapide et hautement sensible. Grâce à des anticorps spécifiques marqués à la fluorescéine, cette technique met en évidence les antigènes rabiques accumulés au niveau des cellules infectées. Ces antigènes vont apparaître sous forme d'inclusions fluorescentes de couleur verte ou jaune-verte, brillantes de forme le plus souvent arrondies mais de taille variable.

b. Isolement viral sur support biologique : Il s'agit soit de cellules sensibles (neuroblastomes murins) ou de l'inoculation à l'animal (en intra-cérébrale chez les souriceaux nouveau-nés). Ce sont des techniques très sensibles mais qui nécessitent la présence de virus vivant dans les prélèvements. L'inoculation à l'animal est de moins en moins utilisée actuellement. Quarante huit après inoculation, la présence du virus est recherchée par IFD.

c. Autres techniques de diagnostic direct : - La détection du génome viral par RT-PCR est réalisable sur le LCR, les biopsies cutanées, et la salive.

- La mise en évidence de l'antigène viral par test ELISA ou
- Les techniques histologiques, considérées en tant que techniques de référence, sont moins en moins utilisées. Elles reposent sur la mise en évidence des corps de Négri sous forme de structures arrondies éosinophiles présentes dans le cytoplasme des neurones infectés. Ces inclusions ne sont présentes que dans 60-70% des cas.

d. La Sérologie : Ce diagnostic n'est pas utile pour le diagnostic de l'infection chez l'Homme ou l'animal. Il est indiqué seulement pour vérifier la protection assurée après vaccination en pré-exposition chez le personnel à risque (vétérinaire, personnel de laboratoire).

5. TRAITEMENT ET PRÉVENTION

La rage est toujours mortelle ; il n'existe pas de substance antivirale spécifique. Le traitement repose uniquement sur la prévention qui doit se faire rapidement après exposition. Cette dernière se base, selon les situations, sur l'utilisation du vaccin et de la sérothérapie.

5.1. PRÉVENTION DE LA RAGE HUMAINE

a. Après exposition : Elle varie selon la nature du contact avec l'animal suspect (Tableau 1)

a.1. Nettoyage des plaies : par des lavages soigneux à l'eau et au savon, rinçage et application d'un antiseptique. Cette mesure permet de détruire un grand nombre de particules virales déposées lors de la morsure ou de la griffure. Il ne faut jamais suturer les plaies par morsure en 1ère intention.

a.2. Vaccination : Plusieurs types de vaccins ont été produits dont certains préparés sur cerveau d'animaux ou d'autres sur culture de cellules. Le vaccin actuellement utilisé est un vaccin tué préparé sur culture de cellules et administré par

voie intramusculaire ou intradermique. Cette vaccination stimule la réponse immunitaire entraînant la formation d'anticorps neutralisants. Deux protocoles peuvent être utilisés :

- celui de l'OMS (**Protocole Essen**) comportant 5 doses de vaccins administrées à J0, J3, J7, J14 et J21 ;
- le protocole réduit de Pasteur (**Protocole Zagreb**) avec uniquement 4 doses dont deux, administrées à J0 dans deux régions différentes, une à J7 et une autre à J21.

Ces deux protocoles ont la même efficacité ; ils entraînent dans plus de 90% des cas, la production d'anticorps spécifiques 7 à 10 jours après la 1ère injection. Ces anticorps persistent pendant 2 à 3 ans environ. La vaccination est efficace en post-exposition du fait de la réponse immunitaire rapide par rapport à la longue période d'incubation de la maladie, de 3 à 8 semaines. Ainsi, les anticorps produits pourront neutraliser les particules virales avant leur arrivée au niveau du SNC.

a.3. Sérothérapie : elle consiste en l'injection d'immunoglobulines spécifiques d'origine équine ou humaine, dans un délai maximal de 3 jours après la contamination. La totalité de la dose, calculée selon le poids de la personne, est administrée autour des plaies. La sérothérapie associée à une vaccination complète est généralement administrée en cas de morsures profondes, multiples ou siégeant au niveau de la tête ou dans des régions richement innervées comme les organes génitaux externes ou encore en cas d'atteinte au niveau des muqueuses.

a.4. Surveillance vétérinaire de l'animal mordeur pendant 14j avec examen clinique à J0, J7 et J14.

a.5. Diagnostic de la rage chez l'animal en cas de décès.

b- Avant exposition : Vaccination des personnes exposées (vétérinaires, personnel de laboratoire...) avec contrôle de la réponse immunitaire post vaccinale. Un sujet vacciné est considéré comme immunisé si le titre d'anticorps est > 0.5UI/ml.

5.2. PREVENTION DE LA RAGE ANIMALE :

Elle repose sur:

- la réduction au maximum des populations de chiens errants
- la vaccination des animaux domestiques
- L'utilisation d'appâts contenant le vaccin pour la vaccination des animaux sauvages

LECTURES RECOMMANDÉES

Chapitre 27 : *Rhabdoviridae* : le Virus de la rage ; page 369 – 382. Virologie Médicale - A. Mammette – Edition Presses universitaires de Lyon, 2002.

TESTS D'AUTOEVALUATION

1- Mr X âgé de 20ans se présente aux urgences ; il a été attaqué par un chien qu'il ne connaît pas et qui l'a mordu à la main droite. Le chien s'est ensuite enfui.

a- quelle est l'attitude à prendre concernant la plaie de Mr X ?

b- Mr X est accompagné de son copain qui voudrait également se protéger contre la rage, étant donné sa profession à risque. Que lui conseillez-vous ?

2- Choisir, parmi les propositions suivantes, la ou les réponses justes

- | | |
|---|---|
| a- Le virus de la rage est un virus non enveloppé | b- Le virus de la rage est un virus fragile |
| c- Le virus de la rage est un virus à ARN segmenté | |
| d- Le diagnostic de la rage se fait uniquement par inoculation des prélèvements suspects sur cellules de neuroblastome humain | |
| e- La sérothérapie spécifique est obligatoire chez l'homme quelque soit le type de morsure | |

3- Choisir, parmi les propositions suivantes, les techniques utilisées au laboratoire pour le diagnostic d'une rage chez l'animal

- | | |
|---|--|
| a- Détection des anticorps spécifiques par ELISA | |
| b- Détection de l'antigène viral par IF | |
| c- Inoculation du prélèvement suspect à l'oeuf de poule embryonné | |
| d- Inoculation du prélèvement suspect en intracérébrale au souriceau nouveau-né | |
| e- Détection du génome viral par RT-PCR | |

Réponses : Question n°1 : Réponse : b, d et e

Débuter la vaccination antirabique

Ne pas stuter la plaie

Réponses : Question n°2 : Réponse : b

multiple

Désinfection de la plaie

Réponses : Question n°3 : Réponse : b

clulaire) en cas de morsure profonde ou

l'eau et au savon

Réponses : Question n°4 : Réponse : b, d et e

controlle de l'immunité post-vaccinale

Repasser : lavage abondant de la plaie à

Réponses : Question n°5 : Réponse : b

niveau de la plaie et le reste en intramus-

Ne pas stuter la plaie

Réponses : Question n°6 : Réponse : b

bulles spécifiques (motif de la dose au

Désinfection de la plaie

ANNEXES

Figure 1 : Représentation schématique de la structure du virus rabique

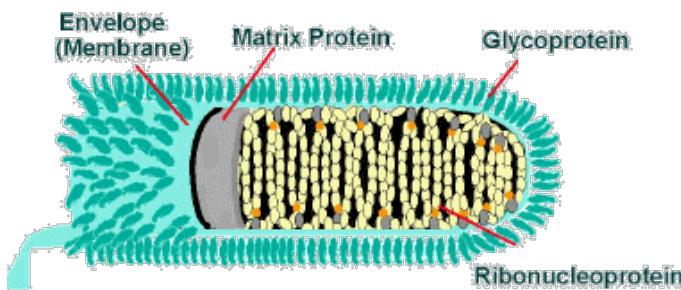


Figure 2 : Cycle de multiplication du virus rabique

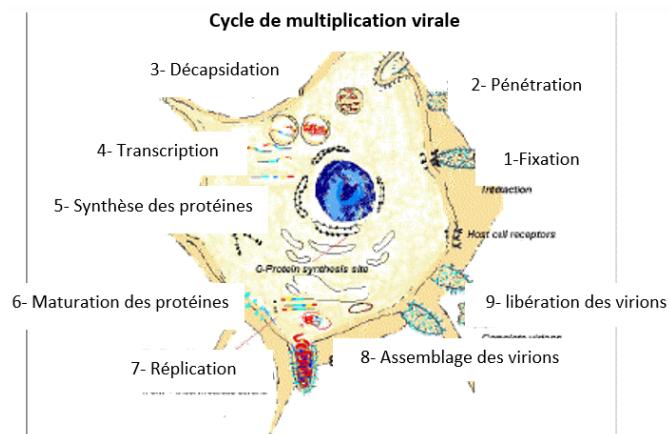


Tableau 1 : Prise en charge du patient en post-exposition selon la nature du contact avec l'animal mordeur

Catégorie	Nature du contact avec l'animal	Conduite à tenir
I	<ul style="list-style-type: none"> - Contact ou alimentation de l'animal - Léchage sur peau intacte 	Rien
II	<ul style="list-style-type: none"> - Peau découverte mordillée - Griffures bénignes - Excoriation sans saignement - Léchage sur peau érodée 	Vaccination immédiate Arrêt du traitement si animal en bonne santé à J14 ou élimination du diagnostic
III	<ul style="list-style-type: none"> -- Morsures ou griffures ayant traversé la peau - Contamination des muqueuses par la salive 	Immunoglobulines + vaccination immédiates

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MÉDICALES

Connaissances préalables requises

- PCEM1 : Thème VII : Module «Agressions biologiques». Sous module «Agressions parasitaires»: Le parasitisme, les parasites et leur classification, cycle biologique et relations hôte-parasite, cycles épidémiologiques et prophylaxie, diagnostic en parasitologie médicale.
- PCEM2 Thème XI : Immunologie : Les techniques immunologiques.

Mise à jour Juin 2023

INTRODUCTION

La parasitologie et la mycologie médicales étudient :

- Les parasites et champignons microscopiques incriminés en pathologie humaine
- Le parasitisme et la relation hôte-parasite
- La maladie parasitaire ou fongique

Le parasite est défini comme un organisme vivant pendant une partie ou la totalité de son existence aux dépens d'un autre être vivant appelé hôte.

Les parasites sont des Eucaryotes. Ils comprennent

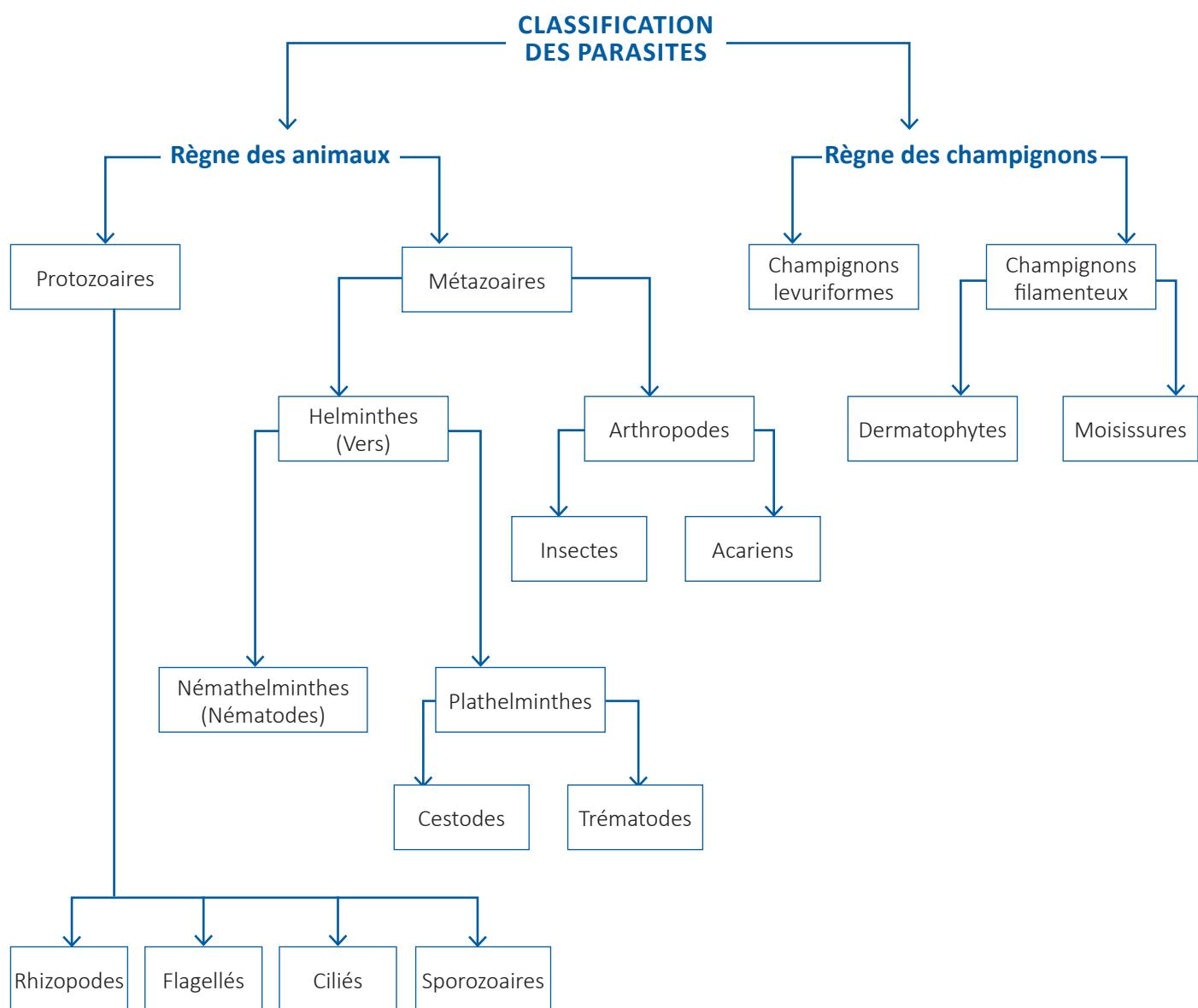
1-Les protozoaires : micro-organismes unicellulaires, parasites sanguicoles (*Plasmodium*), du système des phagocytes mono-nucléés (*Toxoplasma, Leishmania*), des muqueuses en particulier digestives (amibes, flagellés, coccidies).

2-Les Métazoaires : organismes multicellulaires avec des tissus différenciés. ils comprennent :

- Les helminthes ou vers et sont subdivisés en :
 - nématodes ou vers cylindriques (ascaris,trichocéphale, oxyure, filaires),
 - trématodes ou vers plats non segmentés (douves, schistosomes)
 - cestodes ou vers plats segmentés (ténia),
- Les arthropodes subdivisés en :
 - insectes (anophèle, phlébotome, puce, punaise, poux)
 - acariens (sarcopte, tique).

3-Les champignons sont classés en :

- Champignons levuriformes ou levures, champignons microscopiques à l'état unicellulaire,
- Champignons filamentueux, comportant les dermatophytes et les moisissures.



ENTOMOLOGIE MÉDICALE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire les sarcoptes, poux, morpions, puces, punaises, tiques, anophèles, phlébotomes
2. Connaître leur rôle en pathologie et les moyens de leur diagnostic biologique
3. Identifier les facteurs de risque et les modalités de contamination par les ectoparasites
4. Savoir relier le cycle biologique des ectoparasites à la pathologie qu'ils induisent
5. Distinguer les biologies des arthropods vecteurs
6. Définir la myiase et la tungose.

INTRODUCTION

L'entomologie médicale étudie les arthropodes d'intérêt médical.

Les arthropodes représentent 85 % des espèces animales ; ils ont un corps segmenté avec des appendices articulés recouvert d'un tégument rigide (exosquelette) qui les constraint à se développer par mues accompagnées de métamorphose. Les sexes sont séparés. La plupart sont ovipares, quelques-uns sont vivipares. Trois classes zoologiques présentent un intérêt médical : les Insectes, les Arachnides et les Crustacés.

La classe des insectes et l'ordre des acariens composent l'essentiel des arthropodes d'intérêt en parasitologie humaine. Les arthropodes interviennent en tant qu'ectoparasites ou de vecteurs. Ils peuvent impacter la santé de l'homme en tant qu'agents venimeux, vésicants ou urticants (scorpions, araignées, scolopendres, etc.). Ils peuvent également être allergisants (les acariens allergogènes des poussières). Les insectes « domestiques » tels les mouches et les blattes, en plus des nuisances qu'ils engendrent peuvent véhiculer avec leur pattes des parasites, bactéries, virus, acariens microscopiques, etc.

1. LES ECTOPARASITES :

Ils peuvent être :

- permanents tels que le sarcopte, agent de la gale, le pou (*Pediculus humanus*) et le morpion (*Phtirus pubis*), ou
- temporaires comme la puce chique (*Tunga penetrans*) et les asticots, agents de myiases (maladies causées par des larves de mouches).

1.1. SARCOPTES SCABIEI

C'est l'agent de la gale.

A. PARASITE :

Les sarcoptes sont des acariens microscopiques. Ils ont un corps globuleux avec 4 paires de pattes « moignons » ; les 2 premières portent des ventouses ce qui leur permet de s'accrocher à la surface de la peau ; ils se nourrissent de kératinocytes et de lymphé par histosiphon. La femelle (350 µm) fécondée creuse un tunnel, le « sillon », dans la couche supérieure de la peau dans lequel elle avance à raison de 2 à 3 mm/jour et y pond 3 à 5 œufs/jour. Le sillon est une ligne sinuée, légèrement surélevée, mesurant au plus 20 mm. 3 à 7 jours plus tard, les **larves hexapodes** (100 µm) éclosent, remontent à la surface de la peau pour creuser une logette dans la couche cornée ou se blottissent dans les follicules pileux où elles se métamorphosent en **nymphes** puis en **adultes** mâles et femelles.

Le cycle dure 9 à 11 jours (de l'embryon à la femelle). Les femelles vivent environ 1 à 2 mois.

L'incubation silencieuse est de 2 à 3 semaines avant que ne s'installe un prurit intense généralisé à recrudescence nocturne ; c'est le signe majeur de la gale sarcoptique appelée gale commune. Ce prurit est induit par les déjections et la salive du parasite, source de sensibilisation et de réaction immunoallergique (élévation des IgE et hyperéosinophilie).

B. CONTAMINATION :

La transmission s'effectue d'homme à homme par le contact des peaux ; un seul contact suffit. La durée de vie de l'acarien, n'excède pas 48 h en dehors de son hôte, ce qui rend la probabilité d'une contamination indirecte (linge infecté, literie)

exceptionnelle. La contamination **directe** (rapport intime) inter humain est possible à tous les stades de développement, alors que la contamination **indirecte** n'est possible qu'avec les femelles fécondées. En raison de sa transmission lors de contacts intimes dans les couples la gale est classée également parmi les **infections sexuellement transmissibles (IST)**.

C. DIAGNOSTIC :

- **Les signes cliniques** de la **gale commune** sont évocateurs et suffisent souvent au diagnostic : le prurit, la topographie des lésions, les sillons, le caractère familial... Les lésions spécifiques, **sillon** et **vésicule perlée** (souvent masquées par les stries de grattages), doivent être recherchées d'abord au niveau des espaces interdigitaux, doigts, faces des poignets, coudes et organes génitaux puis bords antérieurs des aisselles, pli fessier, ombilic, mamelon chez les femmes. Le 3ème signe, les **nodules scabieux**, peuvent être observés sur la verge et le scrotum.

La gale hyperkératosique est une atteinte de tout le corps; elle est observée chez les sujets immunodéprimés (VIH...). La contagiosité est majeure en raison d'une prolifération parasitaire intense. Le prurit est le plus souvent discret, voire absent.

La gale des gens propres est trompeuse, car paucilésionnelle. Il faut y penser devant tout prurit diffus et persistant. Le diagnostic repose sur l'anamnèse qui retrouve la source de contamination et la recherche de lésions spécifiques.

- **L'examen parasitologique** consiste à extraire l'acarien, en entier ou en partie, et/ou ses œufs du sillon scabieux (qui peut être visualisé par le test à l'encre de Chine) et l'observer au microscope. La recherche d'acariens peut se faire par grattage au scalpel dans les sillons et étalement sur lame. L'examen parasitologique direct manque de sensibilité (46 %) en raison du nombre peu élevé de sarcoptes. La spécificité est excellente. La dermoscopie, faite par les dermatologues, est une technique complémentaire de meilleure sensibilité.

D. TRAITEMENT :

Il repose sur un traitement local : Benzoate de benzyle . Des topiques acaricides ou un traitement per os d'ivermectine peuvent être utilisés (Europe). Le traitement doit intéresser, également et de façon concomitante, les vêtements du malade, ses chaussures, son linge de toilette, sa literie (draps et couvertures), ainsi que les membres de sa famille.

1.2. PEDICULUS HUMANUS ET PHTIRUS PUBIS

Ce sont les agents de, respectivement, la pédiculose et la phthirose

A. PARASITES :

Ces 2 poux sont spécifiques de l'homme. Ce sont des insectes hématophages (3 à 5 repas sanguins/jour qu'ils digèrent rapidement) dans les deux sexes et à tous les stades; ils sont aptères, de 1 à 4 mm, clairs à noirs selon la carnation de l'individu, rouges lorsqu'ils sont gorgés de sang. Leur corps, aplati, est muni de pattes fortes qui se terminent par des griffes repliées sur les tarses, véritables « pinces » adaptées au support de ponte (cheveu, fibres tissus, poil). Les œufs pondus, operculés, sont collés par un cément; ce sont les **lentes**. Les larves, transparentes, naissent après 6-9 jours et muent 3 fois avant de devenir adultes 18 jours après la ponte. Les adultes vivent un à deux mois. La température, l'hygrométrie et le jeûne sont des facteurs essentiels pour leur survie. En effet, ils ne résistent que 1 à 4 jours en dehors de l'hôte. La salive des poux contient des substances responsables d'une irritation locale entraînant un prurit aboutissant à des lésions de grattage.

- **Pediculus humanus (le pou)**

On distingue deux variétés colonisant deux niches écologiques différentes :

- *P. humanus corporis* : qui vit dans les vêtements et qui vient au contact du corps un court instant pour se nourrir et
- *P. humanus capitis* : qui parasite le cuir chevelu et qui ne vient jamais sur les vêtements.

Le pou de corps et le pou de tête ne diffèrent que par la taille (la longueur moyenne des tibias de la 2^{ème} paire de pattes est supérieure chez *P. h. corporis*).

Les poux ont un thorax étroit, un abdomen long et 3 paires de pattes de puissance égale. Selon la localisation, les lentes sont pondues à 1 mm de la racine du cheveu (à 5 mm de la racine, elles sont vides ou mortes le cheveu poussant 0,4 mm/jour) ou collées au niveau des coutures des sous-vêtements, tricots et pantalons, où elles ne survivent pas au-delà d'un mois.

Le pou de corps peut transmettre *Rickettsia prowazeckii*, agent du typhus exanthématique, *Borrelia recurrentis* (agent de la fièvre récurrente) et *Bartonella quintana* (agent de la fièvre des tranchées et d'endocardites)

- **Phtirus pubis (le pou pubien ou morpion)**

Le pou pubien ou morpion (mesurant 2 mm) a un corps trapu et sa 1^{ère} paire de pattes est moins forte; il parasite les parties poilues de la peau (région pubienne, péri anale, parfois les cuisses, les cils, sourcils, moustache, barbe, aisselles, poitrine voire cuir chevelu même chez les nourrissons). Il est moins prolifique (30 œufs/femelle).

Il ne transmet pas de maladies.

B. CONTAMINATION :

La contamination de l'homme par les morpions se fait par contact sexuel +++, la literie et le linge de corps. La phtiriase chez l'enfant fait rechercher la notion d'abus sexuel.

La promiscuité et la précarité caractérisent la pédiculose corporelle; le pou de tête se transmet par contact direct et par l'intermédiaire des objets de toilette (brosse, peigne).

C. DIAGNOSTIC :

Il consiste à rechercher le parasite et ses œufs dans la zone rétroauriculaire du cuir chevelu pour le pou de tête, au niveau des vêtements pour le pou de corps et généralement dans la région pubienne et périnéale pour les morpions.

Cependant, ces parasites ont été observés au niveau de la moustache, de la barbe, des aisselles (chez les prépubères), des sourcils et des cils (chez les enfants).

F. TRAITEMENT :

Il est principalement topique local. Il existe des traitements à base d'insecticides chimiques et d'autres sans insecticides agissant par effet mécanique.

Lorsque l'emploi d'insecticides s'avère impossible, l'utilisation quotidienne du peigne à pou et de la diméticone (dérivé silicone) à 4 %, qui les tue par déshydratation, peut être une alternative.

L'ivermectine per os est utilisée dans les cas de multirésistances en Europe.

1.3. CIMEX LECTULARIUS

C'est la punaise de lit. Elle est cosmopolite, nocturne, et peuple les sommiers, matelas, plinthes...

Aptère et hématophage, dans les 2 sexes et à tous les stades, *Cimex lectularius* a un corps plat (mesurant 3-5mm) de forme lenticulaire de couleur jaune à brun.

Elle se nourrit 2 à 3 fois par semaine et supporte le jeûne pendant plusieurs mois.

Elle se dissémine de façon passive et sa piqûre est indolore chez l'individu non sensibilisé.

1.4. PUICES ET TUNGA PENETRANS

A. PUICES :

Les puces sont des insectes de quelques mm de long, aptères, au corps aplati latéralement, à la 3^{ème} paire de pattes développée. Ce sont des ectoparasites hématophages, cosmopolites qui ne sont pas strictement inféodées à un hôte spécifique. Les espèces les plus importantes sont *Pulex irritans* (puce de l'homme), les espèces du genre *Ctenocephalides* (puces du chat et du chien), *Xenopsylla cheopis* (puce orientale du rat) et *Tunga penetrans* (puce chique). Les puces vivent de 6 mois à 2 ans et leur émergence est liée à la proximité d'un hôte (CO_2 , chaleur, vibration). Elles peuvent même résister au jeûne et quittent leurs hôtes morts. La reproduction et le développement larvaire se font loin de l'hôte sur le sol, les fissures, dans les terriers et nids des animaux, etc. Leur piqûre cause un prurit local cutané. Elles transmettent la peste, le typhus murin (*Rickettsia typhi*) et hébergent des cestodes (*Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Dipylidium caninum*).

B. TUNGA PENETRANS :

Appelée aussi puce chique, c'est l'agent de tungose.

La tungose est endémique en Amérique latine, en Afrique subsaharienne et dans le sous-continent Indien. Elle est causée par la plus petite puce (1 mm) non douée pour le saut. La puce chique colonise les sols sableux et pique les oiseaux et les mammifères domestiques. La femelle fertilisée pénètre par la tête la couche cornée de la peau au niveau de la plante des pieds, des espaces interdigitaux, au-dessous des ongles et toute partie du corps en contact avec le sol. Son abdomen se distend et contient environ 200 œufs (en 10 jours elle mesure 1 cm de diamètre). La partie terminale de son abdomen émerge de la peau pour évacuer les excréta et les œufs. Après la ponte elle meurt. Trois à quatre jours plus tard, les larves émergent et deviennent des nymphes une semaine plus tard. Le cycle dure 2-3 semaines.

1.5. LARVES DE MOUCHES

Elles sont responsables de myiases.

Les myiases sont des maladies causées par des larves de mouches (diptères *Muscinae*) qui envahissent la peau, les tissus vivants ou nécrotiques et les cavités naturelles de l'homme et des animaux donnant lieu à différents syndromes cliniques (myiasse des plaies, myiasse ophtalmique, auriculaire, etc.). On distingue :

- les myiases **spécifiques ou obligatoires** où les larves vivent exclusivement en parasites obligatoires sur des tissus vivants

- les myiases **semi-spécifiques** où les larves vivent normalement dans des matières organiques en décomposition, mais peuvent coloniser à l'occasion les plaies de vertébrés
- les myiases **accidentelles** lorsque les larves sont introduites accidentellement dans l'organisme.

La diagnose des larves se fait par la morphologie de leurs stigmates respiratoires.

Le traitement est l'extraction.

L'étude des larves de mouches fait partie de l'entomologie médico-légale (datation des cadavres) et le carnivorisme de certains asticots est utilisé pour traiter la nécrose des plaies.

2. LES PRINCIPAUX VECTEURS :

2.1. TIQUES

Ce sont «les géants» du groupe des Acariens; leur corps est ovalaire et plat, sans trace de segmentation; il devient globuleux quand ils sont gorgés de sang qui est leur seule nourriture, à tous les stades et dans les 2 sexes. Elles ont 4 paires de pattes au stade adulte et nymphal et 3 paires de pattes au stade larvaire. Elles sont également munies d'un appareil piqueur : **le rostre**. Il y a 2 familles :

- Les Tiques dites «molles» (*Argasidae*) nocturnes et qui ne restent pas fixées sur leur hôte
- Les Tiques dites «dures» (*Ixodidae*), car elles portent un écusson dorsal très chitinisé (plus petits chez les femelles dont le repas sanguin est très important) et sont diurnes, s'attachent durant plusieurs jours (repas sanguin) et ne se laissent tomber à terre que pour muer et pondre.

Les acariens ont des cycles de vie se déroulant sur des hôtes différents à chaque stade pouvant appartenir à différents groupes d'animaux amplifiant ainsi leur rôle vectoriel; *Rhipicephalus sanguineus*, la tique du chien, transmet *Rickettsia conori* responsable de la fièvre boutonneuse méditerranéenne maladie endémique en Tunisie alors qu'*Ixodes ricinus* transmet *Borrelia burgdorferi* agent de la maladie de Lyme.

2.2. TRIATOMES

Ce sont des insectes hémiptères de grande taille (2-3 cm) dont la tête, bien dégagée du thorax, est pourvue d'un rostre replié. Ils ont 2 paires d'ailes dont la première est partiellement chitinisée. Les Triatomites sont des Réduves principalement américaines; nocturnes elles vivent dans les terriers des animaux et dans les fissures des habitations en torchis. Leur piqûre est peu douloureuse, et dure plusieurs minutes. Ils sont **hématophages** à tous les stades et dans les 2 sexes. Plusieurs espèces transmettent la maladie de Chagas (trypanosomiase américaine à *Trypanosoma cruzi*).

2.3. INSECTES DIPTERES BRACHYCERES

A. TABANIDAE OU TAONS : Les *Tabanidae*, ou taons, sont les plus grands diptères piqueurs (6 à 25 mm de long). Ce sont des mouches cosmopolites. Leur tête est large avec des yeux volumineux irisés. Chez les *Tabanidae* seule la femelle est hématophage se nourrissant sur les animaux et éventuellement sur l'homme. Sa piqûre est profonde (même à travers des vêtements) et douloureuse. Actifs pendant la journée (en plein soleil), ils vivent dans les bois et les pâturages. Leur biologie est terrestre. Certaines espèces du genre *Chrysops* («yeux dorés») transmettent à l'homme la loase (filariose africaine à *Loa loa*).

B. GLOSSINES : Les glossines, ou mouches tsé-tsé, sont des mouches hématophages, du genre *Glossina*, mesurant de 0,5 à 1,5 cm de long vivant exclusivement en Afrique tropicale. Elles sont diurnes et se distinguent des autres mouches piqueuses par le positionnement croisé de leurs ailes au repos. La femelle, **vivipare**, pond une **larve** mature qui s'enterre immédiatement et se transforme rapidement en pupe d'où s'échappera l'adulte plus tard. Les glossines ne pondent qu'une dizaine de larves dans leur vie qui est de 3 mois environ. Mâles et femelles préfèrent piquer les animaux et s'attaquent accidentellement à l'homme en lui transmettant la maladie du sommeil (trypanosomiase africaine à *Trypanosoma brucei*).

2.4. INSECTES DIPTERES NEMATOCERES

Ils comprennent 4 familles, dont les *Culicidae* et les *Psychodidae*, où seules les femelles sont hématophages.

A. CULICIDAE OU MOUSTIQUES : Les moustiques sont subdivisés en deux sous familles : *Anophelinae* et *Culicinae* et 112 genres. Seul le genre *Anopheles* est le vecteur du paludisme.

Les adultes mesurent de 5 à 20 mm, ont un corps grêle et des pattes longues, sont munis de pièces buccales en forme d'aiguilles permettant aux femelles de se nourrir directement dans le vaisseau sanguin. Les mâles de culicidés présentent une pilosité importante sur les antennes (plumeuses). Les adultes du genre *Anopheles* sont les seuls moustiques à se tenir obliquement par rapport à un support. Les palpes maxillaires longs dans les 2 sexes représentent un autre caractère morphologique discriminatoire du genre *Anopheles*.

Leur cycle débute par une **phase aquatique** (œuf, larve, nymphe) suivie d'une **phase aérienne** imaginaire. Toute eau stagnante, permanente ou temporaire, avec ou sans végétation aquatique (verticale ou horizontale), douce, saumâtre à salée, peut constituer un gîte de moustique. Ces lieux de reproduction sont soit naturels (oueds, lacs, mares, étangs, sebkhas), soit causés directement ou indirectement par l'homme (drain, segua, puits, caniveau, regards de vannes, bassin, pneu, etc.). **Les larves** sont des éléments vermiformes possédant en bout d'abdomen un dispositif respiratoire leur permettant de respirer à la surface de l'eau. Les larves d'anophèles se tiennent parallèlement à la surface de l'eau alors que les larves des autres moustiques s'y tiennent obliquement. **Les nymphes** sont en forme de virgule. La présence de mâles à l'intérieur des habitations est un indicateur de proximité de gîte de reproduction.

En Tunisie, 43 espèces de culicidés sont rapportées sur plus de 3500 signalées dans le monde. Elles sont actives pendant la saison chaude. Anopheles labranchiae, le vecteur principal du paludisme au Maghreb, est toujours présent même si dans notre pays son aire de répartition ainsi que sa densité ont considérablement baissé après la campagne de lutte anti-paludique. La prolifération des autres moustiques (Culex et Aedes) outre les nuisances qu'elles entraînent, peut intervenir pour certaines de leurs espèces dans la transmission de certains arbovirus responsables de méningo-encéphalites. Le Chikungunya (maladie du dos courbé) arbovirose tropicale transmise par le moustique tigre Aedes albopictus (milliers de cas en 2006 dans l'île de la Réunion dans l'océan indien) a atteint des pays du nord de la méditerranée (Italie, Suisse, midi France) avec l'importation du vecteur « exotique » désormais présent en Tunisie depuis 2019. Culex pipiens espèce la plus abondante en Tunisie transmet le virus West Nile responsable d'épidémies pouvant être associées à des taux de mortalité importants.

B. PHLEBOTOMINAE OU PHLÉBOTOMES : Il s'agit d'une sous-famille comprenant plusieurs centaines d'espèces répandues dans les zones tropicales et tempérées du globe.

Les adultes sont petits (1-4 mm) de couleur pâle (jaune-grisâtre) fortement velus et d'aspect bossu. Leurs ailes, velues et lancéolées, sont dressées en V au repos. Les pattes sont longues et grêles et l'abdomen est effilé. Le mâle se distingue de la femelle par la présence d'une armature génitale importante en bout d'abdomen. La piqûre des femelles est comparable à une morsure.

Leur cycle débute par une **phase terrestre** (œuf, larve, nymphe) suivie d'une **phase aérienne**; il ne comporte pas de phases aquatiques. Les gîtes larvaires, abrités des courants d'air, sont humides, sombres, riches en matières organiques (terriers de rongeurs, fissures, crevasses, etc.). Dans les pays tempérés, il y a arrêt de développement durant l'hiver (diapause).

L'activité des adultes est généralement crépusculaire ou nocturne, en l'absence de vent; leur vol, caractéristique, silencieux, consiste en des séries de « sauts » courts et répétés. On les rencontre dans une grande variété de biotopes naturels dont les grottes, les terriers, les fissures de murs, les creux d'arbres ainsi que dans les étables et les maisons.

Les phlébotomes femelles infectés régurgitent les promastigotes de Leishmania au début du repas sanguin assurant ainsi la transmission à l'hôte.

Phlebotomus papatasii, vecteur de Leishmania major agent de la leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie, transmet en outre une arbovirose la fièvre des 3 jours ou « fièvre à papatasii » et ses piqûres répétées peuvent provoquer une dermatite (harara) au Moyen- Orient.

GLOSSAIRE

Aptère :	sans aile.
Arbovirus :	(arthropod-borne-viruses) virus transmis par des arthropodes hématophages
Asticot :	larve de mouche.
Chitine :	substance glycoprotéique composant le tégument des arthropodes et des nématodes.
Ecusson :	partie dorsale dure de l'anatomie de certaines tiques d'où leur nom, tiques dures.
Gîte :	lieu où s'accomplit le cycle biologique
Hexapode :	6 pattes.
Histosiphon:	injection de salive et digestion externe de tissus.
Hygrométrie :	caractérise l'humidité de l'air
Inféodées :	qui dépend d'une seule espèce pour son alimentation
Nodule scabieux	: ou chancre scabieux grosses papules infiltrées et excoriées.
Patte d'insecte :	composée d'une coxa, d'un fémur, d'un tibia et d'un tarse.
Phase aérienne imaginaire	: période du cycle correspondant à l'insecte « parfait » c'est-à-dire l'adulte ; « imago » (à son image)
Rostre :	constitue les pièces buccales piqueuses de certains arthropodes (tiques, Triatomes).
Saumâtre :	légèrement à moyenement salée
Scolopendre :	carnassier brun rouge allongé plat dont chaque segment porte une paire de pattes.
Topiques :	médicaments utilisés en application locale
Ventouse :	organe adhésif situé sur les pattes antérieures de sarcoptes

EVALUATION FORMATIVE

QCM 1 : Parmi ces caractères attribués aux poux humains, lequel (lesquels) est exact(s) ?

- A- ils appartiennent à 2 genres : Pediculus et Pthirus
- B- les œufs appelés lentes sont fixés dès la ponte à plus de 2 cm de la racine du cheveu ou du poil
- C- les adultes sont visibles à l'œil nu
- D- le développement complet de l'œuf à l'adulte est de 2 mois
- E- seuls les adultes femelles sont hématophages

QCM 2 : Le pou de tête, *Pediculus capitis* est :

- A- strictement lié à l'espèce humaine
- B- parasite du cuir chevelu
- C- présent seulement chez les enfants
- D- cosmopolite
- E- peut survivre une semaine hors de son hôte

QCM 3 : L'agent de la gale humaine, *Sarcoptes scabiei* :

- A- est un acarien
- B- possède 4 paires de pattes
- C- est parasite uniquement à l'état adulte
- D- contamine uniquement les espaces interdigitaux des mains
- E- peut entraîner la gale hyperkératosique

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes sur la gale, quelles sont celles qui sont exactes ?

- A- Le sillon visible sur la peau correspond au tunnel creusé par la femelle
- B- la transmission interhumaine est le plus souvent directe
- C- les acariens adultes peuvent survivre plus de 10 jours dans le milieu extérieur
- D- le prurit a des localisations particulières en fonction de l'âge et du sexe
- E- la gale des gens propres est non prurigineuse

QCM 5 : Les anophèles

- A- les 2 sexes transmettent le paludisme
- B- sont éradiqués de Tunisie
- C- ont un cycle biologique terrestre
- D- se différencient des autres culicidés par la position oblique des adultes au repos
- E- se différencient des autres culicidés par leur position horizontale au stade larvaire

Réponses :

QCM 3 : Réponse : A, B, E

QCM 4 : Réponse : A, B

QCM 5 : Réponse : D, E

QCM 2 : Réponse : ABD

QCM 1 : Réponse : AC

LE PALUDISME

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Préciser la répartition géographique pour chaque espèce plasmodiale.
2. Décrire, pour chaque espèce plasmodiale, les étapes du cycle biologique et les particularités cliniques qui en découlent.
3. Préciser les données anamnestiques, cliniques et biologiques permettant de retenir le diagnostic de paludisme.
4. Préciser les techniques biologiques permettant de retenir le diagnostic de paludisme.
5. Préciser les modalités préventives pour un sujet à risque voyageant en zone d'endémie.

INTRODUCTION

Le paludisme ou malaria est la **maladie parasitaire la plus répandue et la plus grave dans le monde**. Elle est causée par des sporozoaires appartenant au genre *Plasmodium* et est transmise par un moustique du genre *Anopheles*.

Le paludisme est fréquent dans les pays tropicaux et intertropicaux, touchant plus de 3 milliards d'individus et tuant annuellement 1,5 à 2,5 millions de personnes, plus particulièrement des enfants. Malgré les efforts consentis dans de nombreux pays, sous l'égide de l'OMS, la maladie sévit encore dans de nombreux pays, sous une forme endémique.

En **Tunisie**, cette parasitose **a été éliminée**, le dernier cas autochtone ayant été rapporté en 1979, mais une vigilance doit se maintenir de façon permanente afin d'éviter sa réintroduction. On note actuellement 60 à 70 cas/an de paludisme d'importation.

1. AGENTS PATHOGÈNES :

Les parasites agents du paludisme sont des protozoaires appartenant à la classe des sporozoaires et au genre *Plasmodium* (*P.*).

Cinq espèces plasmodiales parasitent l'homme :

- *P. falciparum* : est l'espèce la plus répandue en zones intertropicales et subtropicales. C'est l'espèce responsable des formes cliniques mortelles et celle qui développe le plus de résistance aux antipaludéens.
- *P. vivax* : a une répartition plus limitée géographiquement, bien que très répandue. Cette espèce ne se rencontre pas en Afrique centrale et de l'ouest où elle est remplacée par *P. ovale*.
- *P. malariae* : a une répartition géographique clairsemée.
- *P. knowlesi* : est une espèce connue parasite des singes macaques; elle est rapportée chez l'homme depuis 2005 dans l'Asie du Sud-est.

2. VECTEUR :

L'anophèle passe par 4 stades de développement : œuf, larve, nymphe et adulte ou imago. Les 3 premiers stades sont aquatiques et se développent dans des collections d'eau douce et non polluée. Les adultes mènent une vie aérienne et ont besoin d'une chaleur > 18 °C et d'humidité pour être actifs. Seules les femelles sont hématophages, elles piquent au crépuscule et la nuit.

3. CYCLE BIOLOGIQUE :

Le parasite évolue chez 2 hôtes successifs :

- l'homme est le réservoir du parasite
- l'anophèle est l'hôte vecteur. Seules les anophèles femelles sont hématophages et donc incriminées dans la transmission.

3.1. CYCLE CHEZ L'HOMME

A. INOCULATION DES SPOROZOÏTES :

Plusieurs centaines de parasites sont inoculés à l'homme lors de la piqûre d'un anophèle femelle qui effectue son repas sanguin. Les formes infectantes sont des sporozoïtes, qui sont localisées dans les glandes salivaires de l'insecte et qui sont injectées en même temps que la salive lors de la piqûre. Ces formes circulent, sans se multiplier dans le courant sanguin pour gagner le foie en moins d'une heure.

B. PHASE HÉPATIQUE :

Les sporozoïtes pénètrent dans les cellules hépatiques et subissent une multiplication asexuée aboutissant à la formation des schizontes. L'éclatement de ces derniers libère des merozoïtes qui seront libérés dans le sang après éclatement des cellules hépatiques.

Dans les infections par *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intrahépatiques restent à l'état quiescent (hypnozoïtes) pendant plusieurs mois voire années et sont à l'origine de rechutes.

Cette schizogonie hépatique est **asymptomatique** et de durée variable en fonction de l'espèce (en moyenne 6 jours pour *P. falciparum*, 9 jours pour *P. vivax* et *P. ovale*, 10 jours pour *P. knowlesi* et 15 jours pour *P. malariae*).

C. PHASE ÉRYTHROCYTAIRE :

- Schizogonie :

Les merozoïtes libérés dans le sang pénètrent dans les hématies. Le merozoïte s'arrondit, devient un trophozoïte qui se nourrit d'hémoglobine et prend un aspect en anneau dû au développement d'une vacuole nutritive.

L'hémoglobine digérée donne un résidu noir : l'hémozoïne.

Le trophozoïte se transforme en schizonte (forme multi-nucléée) qui subit une meroconie intraérythrocytaire donnant selon les espèces, de 8 à 32 merozoïtes (forme uni-nucléée). L'éclatement synchrone des hématies libère les merozoïtes, mais aussi l'hémozoïne; substance pyrogène, déclenchant un accès de fièvre. Les merozoïtes libérés dans le sang vont entrer dans d'autres hématies et subir une meroconie. Ainsi se succèdent les phases meroconiques, chacune durant 72 heures pour *P. malariae*, 48 h pour *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* et 24h pour *P. knowlesi*.

Pour *P. falciparum*, la multiplication schizogonique se produit préférentiellement dans les capillaires des organes profonds. De plus, les globules rouges parasités émettent des «knobs» ce qui favorise leur adhérence aux cellules épithéliales. Ces 2 phénomènes expliquent en partie la gravité de cette espèce.

- Gamogonie :

Après un certain nombre de schizogonies, certains merozoïtes entrés dans les hématies s'y transforment en gamontes (ou gamétocytes) mâles et femelles. À partir de ce moment, l'homme devient infectant pour l'anophèle.

3.2. CYCLE CHEZ L'ANOPHÈLE

- Gamogonie :

Lorsqu'un anophèle femelle pique l'homme parasité, il ingère des hématies contenant des gamétocytes mâles et femelles. Les gamontes sont libérés dans son tube digestif; le gamonte femelle devient gamète femelle; le gamonte mâle donne après division 8 gamètes mâles flagellés. La fécondation a lieu dans l'intestin; l'œuf mobile traverse la paroi intestinale et se fixe dans la membrane basale donnant l'oocyste.

- Sporogonie :

L'éclatement des oocystes mûrs libère des sporozoïtes mobiles qui gagnent les glandes salivaires de l'anophèle, où ils s'accumulent et seront injectés avec la salive lors d'une nouvelle piqûre. La durée du cycle chez le moustique est d'une quinzaine de jours à température optimale.

4. MODALITÉS DE TRANSMISSION :

Le paludisme est transmis par la piqûre de l'anophèle femelle. La phase sanguine du cycle rend possibles d'autres modes de contamination : transmission congénitale, transfusionnelle, par greffe d'organe ou accidentelle. Ces transmissions sont exceptionnelles.

5. RÔLE DE L'IMMUNITÉ :

5.1. IMMUNITÉ NATURELLE

Des facteurs génétiques conféreraient à certains sujets une immunité naturelle, au moins partielle : hémoglobine S chez le drépanocytaire limite les accès graves à *P. falciparum*, le groupe sanguin Duffy négatif confère une résistance naturelle à l'infection par *P. vivax*...

5.2. IMMUNITÉ ACQUISE

Elle s'acquiert progressivement et lentement en s'exposant de façon continue à l'infection. Cette immunité ne protège pas contre l'infection. Cependant, elle empêche la survenue de formes graves. Il s'agit plutôt d'une prémunition qui n'est jamais totale ni définitive et disparaît en quittant la zone d'endémie.

En zones d'endémie, le nouveau-né est protégé par les anticorps maternels et l'hémoglobine F; puis à partir de l'âge de 4 à 6 mois, et jusqu'à 4 à 6 ans, temps nécessaire à l'acquisition de la prémunition, les jeunes enfants sont exposés à la maladie et en meurent. Progressivement, les individus peuvent tolérer une parasitémie faible tout en étant asymptomatique.

6. CLINIQUE :

Le paludisme est une urgence diagnostique et thérapeutique.

6.1. CIRCONSTANCES DE DIAGNOSTIC

En Tunisie, le diagnostic de paludisme doit être évoqué chez toute personne originaire ou ayant séjourné dans un pays impaludé, ou après transfusion sanguine ou chez toute personne exposée à un paludisme d'aéroport ou de port.

6.2. ACCES DE PRIMO-INVASION

L'incubation est totalement asymptomatique. Sa durée est variable en fonction de l'espèce. Exceptionnellement, le paludisme à *P. falciparum* peut se déclarer jusqu'à un an après le retour.

L'accès de primo-invasion peut se manifester par :

- une fièvre +++
- un malaise général, avec myalgies et céphalées
- des douleurs abdominales, nausées, vomissements et parfois une diarrhée...

En absence du traitement, l'évolution sera marquée par la persistance d'une fièvre irrégulière pendant 8 à 15 jours, qui peut devenir intermittente par la suite. Pour *P. falciparum*, le risque de passage à l'accès grave est à craindre. Pour les autres espèces, la guérison spontanée est possible, avec d'éventuels accès de reviviscence ultérieurs. Les rechutes sont possibles en fonction de l'espèce, 2 à 4 ans pour *P. vivax*, 5 à 7 ans pour *P. ovale* et plusieurs dizaines d'années pour *P. malariae*. Pour cette dernière espèce, les rechutes sont dues à une parasitémie infraclinique.

6.3. ACCES PALUSTRES A FIEVRE PERIODIQUE : ACCES INTERMITTENTS

Ils font suite à un accès de primo-invasion non traité, mais peuvent aussi survenir longtemps après l'épisode fébrile initial.

Ils sont composés de la triade :

- 1- **frissons** : de durée d'environ 1 heure, avec hypertrophie splénique, élévation de la température à 39 °C et chute de la tension artérielle.
- 2- **fièvre** : de durée 3 à 4 heures, avec hyperthermie à 40 °-41 °C et diminution de la splénomégalie.
- 3- **sueurs** : de durée 3 à 4 heures, avec sueurs abondantes, hypothermie, normalisation de la tension artérielle et urines foncées. La fin de la crise est accompagnée d'un stade d'euphorie.

Ces accès surviennent selon une périodicité caractéristique. On distingue :

- La fièvre tierce bénigne régulière pour *P. vivax* et *P. ovale*
- La fièvre tierce maligne souvent irrégulière pour *P. falciparum*
- La fièvre quarte pour *P. malariae*
- La fièvre est quotidienne pour *P. knowlesi*.

6.4. ACCES GRAVE A *P. FALCIPARUM*

Le paludisme à *P. falciparum* du sujet non immun (jeune enfant en zone d'endémie, femme enceinte, expatrié, voyageur)

est potentiellement mortel. Il est donc fondamental de connaître les critères de gravité du paludisme à *P. falciparum* pour identifier les patients qui nécessitent une hospitalisation en urgence dans une unité de soins intensifs.

Un paludisme grave peut donc prendre différentes formes cliniques dont la plus importante est l'atteinte cérébrale. On regroupe sous le terme de neuropaludisme (*cerebral malaria* chez les Anglo-saxons) toutes les manifestations neurologiques conséquence de l'atteinte cérébrale au cours de l'accès palustre : troubles de la conscience, prostration et convulsions...

Critères de gravité définis par l'OMS (voir tableau ci-dessous)

L'OMS a défini des critères de gravité du paludisme. La présence d'un seul de ces critères, cliniques ou biologiques, associé à la présence de *P. falciparum* dans le sang, fait porter le diagnostic d'accès palustre grave.

D'après: WHO 2000, Severe falciparum malaria.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 94, supplement 1

Troubles de la conscience	Score de Glasgow modifié ≤ 9 chez l'adulte et enfant de plus de 5 ans Score de Blantyre ≤ 2 chez le petit enfant
Convulsions répétées	≥ 2 / 24 heures (malgré la correction de l'hyperthermie)
Prostration	Extrême faiblesse ou chez l'enfant : « Impossibilité, de tenir assis pour un enfant en âge de le faire, ou de boire pour un enfant trop jeune pour tenir assis »
Détresse respiratoire	Définition clinique
Ictère	Clinique ou biologique (bilirubine > 50 µmol/L)
Hémoglobinurie macroscopique	Uries rouges foncées ou noires Hémoglobinurie ou myoglobinurie à la bandelette Absence d'hématurie microscopique
Collapsus circulatoire	TAS < 80 mmHg chez l'adulte TAS < 50 mmHg chez l'enfant
Œdème pulmonaire	Définition radiologique
Saignement anormal	
Anémie grave	Adulte : Hb < 7 g/dL ou Hte < 20 % Enfant : Hb < 5 g/dL ou Hte < 15%
Hypoglycémie	Glycémie < 2,2 mmol/L
Acidose métabolique	pH < 7,35 ou bicarbonates < 15 mmol/L
Hyperlactatémie	Lactates plasmatiques > 5 mmol/L
Hyperparasitémie	> 4% / sujet non immun
Insuffisance rénale	Créatininémie > 265 µmol/L après réhydratation ou diurèse < 400 mL/24h chez l'adulte (< 12mL/kg/24h chez l'enfant)

7. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

C'est un diagnostic **d'urgence** qui repose sur la mise en évidence des Plasmodium sur un prélèvement de sang périphérique.

Le résultat doit être obtenu dans un délai maximal de 2 heures.

7.1. PRÉLÈVEMENT SANGUIN :

- par piqûre au doigt, chez l'adulte, et au lobe de l'oreille ou au talon, chez l'enfant
- ou par ponction veineuse sur anticoagulant (EDTA)

7.2. GOUTTE ÉPAISSE ET FROTTIS SANGUIN

La goutte épaisse et le frottis sanguin sont les techniques de référence du diagnostic du paludisme. Il faut déposer sur une lame porte-objet de microscope une goutte du sang prélevé et confectionner immédiatement les étalements.

A. GOUTTE ÉPAISSE : Elle consiste à examiner quelques μl de sang après hémolyse des globules rouges et coloration au Giemsa. C'est une technique de concentration très sensible, mais ne permet pas le diagnostic de l'espèce plasmodiale.

B. FROTTIS MINCE :

Il s'agit d'un frottis mince monocellulaire étalé sur une lame. Après coloration au May-Grünwald-Giemsa, les parasites retrouvés à l'intérieur des globules rouges sont colorés en rouge (noyau) et bleu (cytoplasme) (pas d'hémolyse dans cette technique).

Le frottis sanguin permet :

- d'identifier l'espèce plasmodiale en cause, l'identification se basant sur :
 - Les aspects morphologiques des stades parasitaires observés (trophozoïtes, schizontes et gamétocytes)
 - La taille et la forme des hématies parasitées
- de calculer la parasitémie (pourcentage des globules rouges parasitées) particulièrement en cas d'infestation à *P.falciparum*. Elle permet l'évaluation de la sévérité de l'infection et le suivi post-thérapeutique ultérieur.

7. 3. TESTS RAPIDES

Les tests rapides par immunochromatographie sur bandelette ont l'avantage d'être simples et rapides. Cependant, ils ne permettent pas le calcul de la parasitémie et peuvent présenter des faux négatifs liés au manque de sensibilité.

7.4. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Les techniques de biologie moléculaire permettent le diagnostic d'espèces, le suivi post-thérapeutique et la recherche de gènes de résistance, mais leur temps de réalisation et leur coût ne permettent pas de les utiliser en urgence et en routine.

7.5. SÉROLOGIE

L'intérêt de la sérologie est limité vu l'apparition tardive des anticorps spécifiques et leurs persistances plusieurs mois après la guérison. La sérologie est indiquée pour le dépistage des donneurs de sang et les enquêtes épidémiologiques.

8. TRAITEMENT :

Cf cours Pathologie infectieuse

9. PROPHYLAXIE :

9.1. PROPHYLAXIE INDIVIDUELLE

En Tunisie, la prophylaxie s'adresse essentiellement aux sujets qui doivent se rendre dans des zones impaludées.

Les mesures prophylactiques doivent intervenir à 2 niveaux :

A. ÉVITER LES PIQÛRES DE MOUSTIQUES

- Résider dans des habitations munies de moustiquaires imprégnées de substances insecticides (Deltaméthrine) ou de climatiseurs
- Utiliser des pommades répulsives à base de DEET (N Diéthyl m toluamide)
- Porter des chemises à manches longues et des pantalons longs et larges le soir.

B. PRENDRE UNE CHIMIOPROPHYLAXIE (TABLEAU DANS ANNEXES)

La chimioprophylaxie n'empêche pas la piqûre de l'anophèle ni la survenue d'accès palustre. Elle permet de limiter la multiplication du parasite et donc les accès graves.

La chimioprophylaxie est conseillée pour des séjours inférieurs à 3 mois.

Elle dépendra de la zone géographique visitée. On distingue trois groupes en fonction de la chloroquinorésistance :

- groupe 1 où le *Plasmodium* est sensible à la chloroquine : Amérique Centrale, Proche Orient,
- groupe 2 où il existe une chloroquino-résistance : Inde, Sri Lanka, Madagascar,
- groupe 3 où il existe une multirésistance : Asie du Sud-Est, Afrique subsaharienne.

La chimioprophylaxie doit être :

- débutée le jour du départ (sauf pour la Méfloquine qui est débutée 10 jours avant le départ),
- prise durant tout le séjour en zone impaludée
- poursuivie après le retour en zone indemne :
 - Méfloquine : 3 semaines après le retour
 - Malarone : 1 semaine
 - autres antipaludiques : 4 semaines

9.2. PROPHYLAXIE COLLECTIVE

Le paludisme a été éliminé en Tunisie, mais le risque de réintroduction existe, car l'anophèle est présent et les cas de paludisme d'importation sont de plus en plus fréquents.

Actuellement, le programme national de lutte contre le paludisme se base essentiellement sur le dépistage et le traitement précoce de tout cas de paludisme importé. La lutte contre les anophèles par les insecticides se heurte de plus en plus aux résistances.

ANNEXES

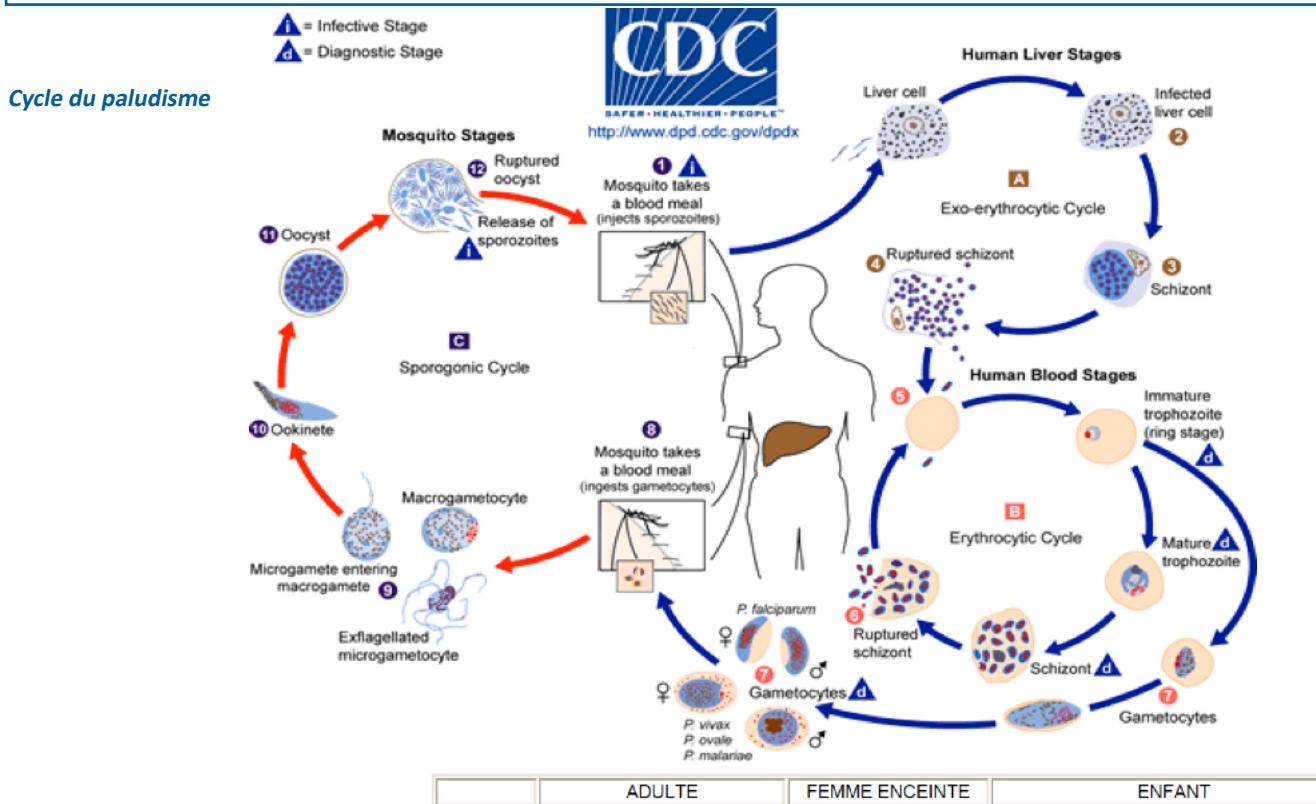


Tableau : Chimioprophylaxie antipaludique selon les groupes de résistance

	ADULTE	FEMME ENCEINTE	ENFANT
GROUPE 1	CHLOROQUINE 100 mg/j (Nivaquine® : 1 cp/j) séjour + 4 sem. après	CHLOROQUINE 1,5 mg/kg/j (Nivaquine® susp buvable) séjour + 4 sem. après	
GROUPE 2	CHLOROQUINE 100 mg/j + PROGUANIL 200 mg/j (Nivaquine® 1 cp/j + Paludrine® 2 cp/j) ou (Savarine® 1 cp/j) séjour + 4 sem. après	ATOVAQUONE 250 mg + PROGUANIL 100 mg Envisageable si nécessaire mais peu de recul sur ce médicament	<ul style="list-style-type: none"> • 11 kg : idem si dessus • 11 kg et < 40 kg : ATOVAQUONE 62,5 mg + PROGUANIL 25 mg (Malarone® enfant : 1 cp/10kg/j) Séjour + 1 sem. après
GROUPE 3	ATOVAQUONE 250 mg + PROGUANIL 100 mg (Malarone®) 1 cp/j Séjour + 1 sem. après	MEFLOQUINE 250 mg (Lariam®) 1 cp/semaine 10 j avant + séjour + 3 sem.après	Si > 15 kg : MEFLOQUINE 250 mg (Lariam®) 5 mg/kg/sem (cp sécables) 10 j avant + séjour + 3 sem.après
	DOXYCYCLINE 100 mg (Monohydrate de Doxycycline) Séjour + 4 sem. après	1°T : Déconseillée 3°T : Contre-indiquée	Si > 8 ans : DOXYCYCLINE 100 mg (Monohydrate de Doxycycline 50 mg/j si < 40 kg Séjour 4 sem. après

EVALUATION FORMATIVE

QCM 1. Concernant le paludisme à *Plasmodium falciparum* :

- A. Peut se déclarer les 4 premiers jours du séjour en zone d'endémie.
- B. Peut se déclarer des années après le retour de zone impaludée.
- C. Peut présenter des résistances aux antipaludiques
- D. Peut se manifester par une fièvre tierce maligne.
- E. Peut être mortel.

QCM 2. L'accès de primo-infection palustre :

- A. Est caractéristique par sa présentation clinique faisant succéder frissons puis chaleur puis sueurs
- B. Peut être confondu avec une gastroentérite fébrile
- C. Peut être confondu avec un syndrome grippal
- D. Ne nécessite pas de surveillance particulière
- E. Doit être diagnostiqué par une sérologie à la recherche d'anticorps anti-*Plasmodium*.

QCM 3. Parmi les signes cliniques suivants, lesquels vous font penser à un accès grave de paludisme ?

- A. Une détresse respiratoire.
- B. Une altération de la conscience.
- C. Une crise convulsive (épilepsie).
- D. Des vomissements.
- E. Des céphalées.

QCM 4. Un homme de 25 ans demande des conseils concernant la prévention du paludisme pour un séjour au Sénégal de 2 semaines qui sera programmé le mois prochain. Il va séjourner dans un hôtel-club tout confort.

Quelles sont vos recommandations ?

- A. La prévention contre le paludisme est inutile vu le séjour en hôtel climatisé
- B. Se protéger contre les piqûres de moustique au cours de la journée (vêtements longs et clairs, répulsifs sur la peau découverte).
- C. Se soumettre à une prévention médicamenteuse (chimioprophylaxie) utilisant la chloroquine (NIVAQUINE®) à démarrer le jour du départ et à poursuivre jusqu'à un mois après le retour du Sénégal.
- D. Pendant le séjour et jusqu'à une année après le retour du Sénégal, consulter en urgence pour toute fièvre afin que son origine palustre puisse être affirmée ou rejetée.
- E. Se protéger des piqûres de moustique du coucher au lever du soleil (vêtements larges; répulsifs sur la peau découverte; dormir sous une moustiquaire imprégnée d'insecticide) et se soumettre à une chimioprophylaxie adaptée.

Réponses :	QCM n°1 : CDE.	QCM n°2 : BC.	QCM n°3 : A, B et C.	QCM n°4 : D et E.
qui est indiquée en zone 3 (mais soit la méthode, soit l'assocation avadaquine + proguanil soit la doxycycline). La réponse	est juste : bien que ce soit peu fréquent (3 % des cas), le	paludisme à <i>P. falciparum</i> peut se déclarer entre 2 mois et 1 an après le retour. Pour les autres espèces, le paludisme peut se manifester plus tard.	est faux : il peut se faire piiquer ailleurs que dans une pièce climatisée. B est faux, car l'anophèle ne picote pas le jour. C est faux, car, il faut en effet lui prescrire une chimioprophylaxie	(début de la proposition correcte), ce n'est pas la chloroquine

LES LEISHMANIOSES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant doit être capable de :

1. Décrire le cycle biologique des Leishmanies, en déduire les modalités de contamination de l'homme
2. Décrire les cycles éco-épidémiologiques des 3 espèces de Leishmania présentes en Tunisie
3. Suspecter le diagnostic de la leishmaniose viscérale et des leishmanioses cutanées en se basant sur des arguments anamnestiques, cliniques et biologiques
4. Poser le diagnostic positif de la leishmaniose viscérale et des leishmanioses cutanées en se basant sur des arguments parasitologiques.
5. Planifier le traitement des leishmanioses
6. Proposer les mesures prophylactiques individuelles et collectives contre les leishmanioses.

INTRODUCTION

Les leishmanioses sont des parasitoses causées par des protozoaires flagellés du genre Leishmania et transmises par la piqûre d'un insecte le phlébotome. Elles sévissent à l'état endémique dans plus de 98 pays.

En Tunisie, 3 espèces de leishmanies coexistent déterminant chez l'homme 2 formes cliniques différentes : la leishmaniose viscérale (LV) et la leishmaniose cutanée (LC).

1. AGENT PATHOGÈNE :

Les leishmanies se présentent chez leurs hôtes successifs sous deux formes morphologiques :

1.1. LA FORME AMASTIGOTE

C'est une forme **intracellulaire** qui se développe dans les cellules du **système des phagocytes mononucléés** des hôtes vertébrés (mammifères). Elle a une forme arrondie ou ovaire, de 2 à 6µm de diamètre. Après coloration au Giemsa, le cytoplasme apparaît bleu alors que le noyau et le **kinétoplaste** sont colorés en rouge violacé.

1.2. LA FORME PROMASTIGOTE

Elle s'observe dans le tube digestif du phlébotome et dans les milieux de culture. Il s'agit d'une forme allongée, **extracellulaire** mesurant 15 à 25µm et mobile grâce à un **flagelle** antérieur.

2. LE CYCLE BIOLOGIQUE :

Chez l'hôte vertébré, le parasite se multiplie sous la forme amastigote par simple division binaire, à l'intérieur des cellules du système des phagocytes mononucléés. La cellule parasitée finit par éclater libérant de nombreuses formes **amastigotes** qui pénètrent de nouvelles cellules.

Le phlébotome femelle s'infeste à la faveur d'un repas sanguin. Les formes amastigotes ingérées se transforment, dans l'intestin du phlébotome, en formes promastigotes qui se multiplient et seront inoculées ultérieurement à des hôtes **vertébrés**, à l'occasion d'un nouveau repas sanguin (Annexe).

3. LE VECTEUR :

Les phlébotomes sont de petits insectes, de 2 à 3 mm de long (pouvant traverser les moustiquaires). Ils sont velus, de **couleur** jaunâtre et présentent la particularité de maintenir leurs ailes dressées en V au repos. Les adultes ont une activité dès la tombée du jour et lorsque la température extérieure est supérieure à 20 °C (Avril à Octobre). Seules les femelles sont **hématophages** et seules certaines espèces sont vectrices des leishmanioses. Elles appartiennent dans l'Ancien Monde au genre *Phlebotomus*. Le cycle de développement des phlébotomes est **terrestre** et passe par les stades : œuf, larve, nymphe, adulte.

4. LES RÉSERVOIRS :

Le réservoir des leishmanies est variable en fonction de l'espèce. Il peut être zoonotique (animaux domestiques ou **sauvages** en Tunisie) ou anthroponotique (en Inde).

En Tunisie, 3 espèces de leishmanies sont transmises. Leurs réservoirs sont différents.

- *Leishmania (L.) infantum* : a pour réservoir le **chien**.
- *L. major* : a pour réservoir des **rongeurs sauvages** du genre *Psammomys* et *Meriones*.
- *L. tropica* MON-8 (Synonyme *L. killicki*) : l'hôte réservoir n'est pas encore totalement élucidé même s'il est fortement suspecté d'être zoonotique : le goundi *Ctenodactylus gundi*.

5. LES LEISHMANIOSES VISCÉRALES : (داء الليشمانيات الحشوي)

5.1. ÉPIDÉMIOLOGIE

Deux espèces de leishmanies peuvent entraîner des LV dans le monde :

- *Leishmania donovani* qui est l'agent de la LV anthroponotique. Cette espèce n'existe pas en Tunisie.
- *Leishmania infantum* est l'agent de la **LV zoonotique** qui sévit dans le pourtour de la Méditerranée, en Amérique du Sud et en Chine. La LV causée par *L. infantum* touche essentiellement **les enfants en bas âge** (moins de 5 ans). Son réservoir est le chien et son vecteur en Tunisie serait *Phlebotomus perniciosus*.

L. infantum est considéré actuellement comme un parasite **opportuniste** qui n'exprime sa pathogénie que chez des sujets particuliers : tels que les enfants en bas age particulièrement ceux qui sont malnutris, des sujets infectés par le VIH ou sous traitements immunosupresseurs.

Le 1^{er} cas de la LV méditerranéenne a été rapporté en Tunisie chez un enfant de la Goulette en 1904. L'incidence annuelle est estimée à 50-100 cas annuels principalement dans le **nord et le centre du pays**. Le gouvernorat de **Kairouan** étant le plus touché avec plus du 1/3 des cas. La LV continue à poser des problèmes de santé publique en Tunisie à cause de sa **mortalité** qui reste élevée, entre 3 et 5 % et son coût de prise en charge très lourd.

5.2. CLINIQUE

L'incubation varie de quelques jours à quelques mois. L'invasion est insidieuse, avec asthénie, troubles digestifs et fébricule.

À la phase d'état, le tableau classique associe une triade fortement évocatrice :

- Une **fièvre** constante anarchique (2 à 3 pics par jour) appelée « fièvre folle ».
- Une **splénomégalie** palpable, indolore, ferme, lisse et mobile, pouvant atteindre l'ombilic ou dépassant même la ligne médiane.
- Une **pâleur** témoignant de l'anémie.

D'autres manifestations peuvent être associées :

- Une hépatomégalie modérée.
- Un amaigrissement, affectant surtout les membres et le thorax, créant un contraste avec l'augmentation du volume de l'abdomen.
- Des adénopathies, inconstantes.
- Des signes de pneumopathie ou de gastroentérite en rapport avec des surinfections bactériennes.

Les examens biologiques révèlent :

- Une **anémie**, associée à une **leucopénie** avec **neutropénie**. La thrombopénie est tardive.
- Une **hypergammaglobulinémie**.
- Un **syndrome inflammatoire** : La VS et la CRP sont élevées

En l'absence de traitement, le malade devient cachectique et meurt d'hémorragies ou d'infections intercurrentes.

Chez l'adulte, le tableau clinique est souvent incomplet se traduisant surtout par une fièvre au long cours.

5.3. DIAGNOSTIC

A. MISE EN ÉVIDENCE DU PARASITE OU DE SON ADN :

- Prélèvements :

Le parasite est classiquement recherché au niveau de la **moelle osseuse**. Le prélèvement se fait par ponction sternale ou iliaque (chez les enfants). La ponction splénique est à éviter, vu le risque hémorragique, et la ponction-biopsie du foie n'est jamais faite pour ce but. Le diagnostic peut être fait exceptionnellement sur une ponction ganglionnaire d'une adénopathie. Initialement décrite chez le patient infecté par le VIH, étendu par la suite à l'enfant, la recherche de leishmanies peut être faite sur le sang périphérique prélevé sur anticoagulant (citrate). Chez le sidéen, les leishmanies peuvent également être recherchées sur d'autres prélèvements, en fonction du tableau clinique (LBA, biopsies intestinales...).

- Techniques :

Les leishmanies sont mises en évidence par :

- **L'examen direct** microscopique des frottis de moelle osseuse colorés au May-Grünwald qui met en évidence les formes **amastigotes** des leishmanies.
- **La mise en culture** des prélèvements sur des milieux spéciaux (tel que le milieu Novy-Mac Neal-Nicolle ou NNN) qui permet d'**obtenir** les formes **promastigotes** des leishmanies.
- **La PCR** qui met en évidence l'**ADN parasitaire**. La PCR présente l'avantage de détecter le parasite dans le sang (couche leucocytaire) évitant aux patients le traumatisme de la ponction de moelle osseuse. Elle a également l'avantage, par sa variante en temps réel, de quantifier la charge parasitaire et de suivre ainsi l'évolution des patients sous traitement.

Le typage iso-enzymatique des souches isolées sur culture NNN n'est pas obligatoire pour confirmer le diagnostic. Il permet cependant d'identifier l'espèce et le variant enzymatique. Dans le cas de la LV infantile, il s'agit généralement de *L. infantum* MON-1.

B. SÉROLOGIE :

Les techniques sérologiques les plus utilisées pour mettre en évidence les anticorps spécifiques sont : **l'immunofluorescence** indirecte et l'**ELISA**. Actuellement, des tests de diagnostic rapide à la recherche des anticorps anti-leishmaniens sont commercialisés et utilisés en première intention pour le screening de l'infection.

5.4. TRAITEMENT :

Non traitée, la LV a une évolution fatale. Le traitement de première intention est l'amphotéricine B liposomale® à la dose de 3-5 mg/kg/j en perfusion lente pendant 3-6 jours.

Le traitement était longtemps basé sur l'antimoniate de N-methyl glucamine (Glucantime®). Il est administré à la dose 70 mg/kg/jour (20mg/kg/j d'antimoine) en IM, pendant 28 jours selon les dernières recommandations de l'OMS. Le Glucantime® est un dérivé de l'antimoine, il faut l'utiliser avec prudence, à cause de sa toxicité. Des bilans cardiaques, hépatiques, rénaux et hématologiques sont à réaliser avant tout traitement. Des signes d'intolérance peuvent apparaître dès les premières injections tels que : fièvre élevée, toux, vomissement, pâleur, frissons, myalgies, éruption cutanée.

L'amphotéricine B conventionnelle peut être utilisée en cas de résistance au Glucantime® et non disponibilité de l'Ambisome®.

6. CUTANEOUS LEISHMANIASIS (داء الليشمانيات الجلدي) :

6.1. ÉPIDÉMIOLOGIE

La leishmaniose cutanée représente en Tunisie un problème majeur de santé publique principalement la **LC zoonotique**, causée par *L. major* dont l'incidence annuelle dépasse pendant les poussées épidémiques (1982-1986, 2003-2005) les 5000 cas. Cette forme est **endémo-épidémique** principalement dans le **centre et le sud du pays**. Les gouvernorats les plus touchés sont ceux de Kairouan, Gafsa et Sidi-Bouzid (des milliers de cas par saison estivo-automnale). *L. major* est transmis par *Phlebotomus papatasii*. Les animaux réservoirs sont des rongeurs sauvages : *Psammomys obesus* et *Meriones shawi*.

À côté de *L. major*, deux autres espèces sont responsables de la LC en Tunisie :

- *Leishmania infantum* (particulièrement son variant MON-24) qui sévit au nord du pays. Elle est responsable de la **LC sporadique du Nord**. Son incidence annuelle varie de 50 à 100 cas.
- *Leishmania killicki* a toujours été considérée comme limitée à la région de Tataouine, elle a été identifiée ces dernières années à Métlaoui, Meknassi et la délégation de Oueslatia (Kairouan). Elle est responsable de la **LC chronique**. Son **incidence** annuelle est de 10 à 15 cas par an.

6.2. CLINIQUE

La lésion typique est un « bouton » qui apparaît quelques jours à quelques mois après la piqûre de l'insecte, généralement aux parties découvertes du corps (visage, membres). La lésion est une papule qui s'étend progressivement en surface, s'ulcère en profondeur puis se recouvre d'une croûte épaisse pour réaliser l'aspect classique de nodule ulcéro-croûteux. La lésion est infiltrée, non inflammatoire, indolore, non prurigineuse, sans adénopathies satellites et le patient est généralement en bon état général. L'évolution de la lésion est chronique.

En Tunisie et en fonction de l'espèce en cause on distingue 3 formes cliniques :

A. LA LC SPORADIQUE DU NORD : se manifeste le plus souvent par un bouton unique de la face, de petite taille qui peut évoluer durant plus d'une année.

B. LA LC ZOONOTIQUE : se manifeste le plus souvent par des lésions multiples, plutôt de grandes tailles, humides et souvent surinfectées. Elles cicatrisent en moins d'un an et touchent plus fréquemment les membres.

C. LA LC CHRONIQUE : se manifeste généralement par des lésions sèches de la face ou des membres, caractérisées par leur chronicité.

Les lésions de LC ne sont pas toujours typiques. Elles peuvent être lupoïdes, végétantes, psoriasiformes, pseudo-tumorales...

6.3. DIAGNOSTIC

A. PRÉLÈVEMENTS :

Les prélèvements de suc dermique sont effectués à l'aide d'un vaccinostyle, à la périphérie des lésions.

B. TECHNIQUES :

Les leishmanies sont mises en évidence par :

- **L'examen direct** des frottis dermiques colorés au Giemsa qui met en évidence les formes amastigotes des Leishmanies.
- **La culture** sur milieu NNN qui permet l'obtention des formes promastigotes des Leishmanies.
- **La PCR** qui met en évidence l'ADN parasitaire.

Le diagnostic de l'espèce en cause peut être suspecté sur des critères épidémiologiques et cliniques. La confirmation est obtenue après typage iso-enzymatique des souches cultivées ou par PCR directement sur le prélèvement lésionnel.

6.4. TRAITEMENT

La LC évolue spontanément vers la guérison, laissant une cicatrice indélébile. Le Glucantime® est prescrit en intra-lésionnel quand les lésions sont inférieures à 5, de diamètre inférieur à 4 cm et siègent en dehors des cartilages ou des articulations : ½ ampoule par injection, 1 injection par semaine ou toutes les 2 semaines pour un total de 5 à 6 injections. En dehors de ces indications, **l'administration** se fait par voie intramusculaire à la dose de 60 mg/kg/j pendant 10 à 15 j.

7. LES LEISHMANIOSES CUTANÉO-MUQUEUSES :

Elles sont essentiellement dues à l'espèce *L. braziliensis*, largement répandue en Amérique du Sud. Elles sont caractérisées par des atteintes muqueuses secondaires (sphère ORL) qui font suite aux lésions cutanées. Ces formes n'existent pas en Méditerranée.

8. PROPHYLAXIE ET LUTTE :

8.1. MESURES DE LUTTE INDIVIDUELLES

Port de vêtements couvrants et utilisation de produits répulsifs ou de moustiquaires à mailles fines imprégnés d'insecticides.

8.2. MESURES DE LUTTE COLLECTIVES

A. LUTTE ANTI-VECTORIELLE PAR LES INSECTICIDES.

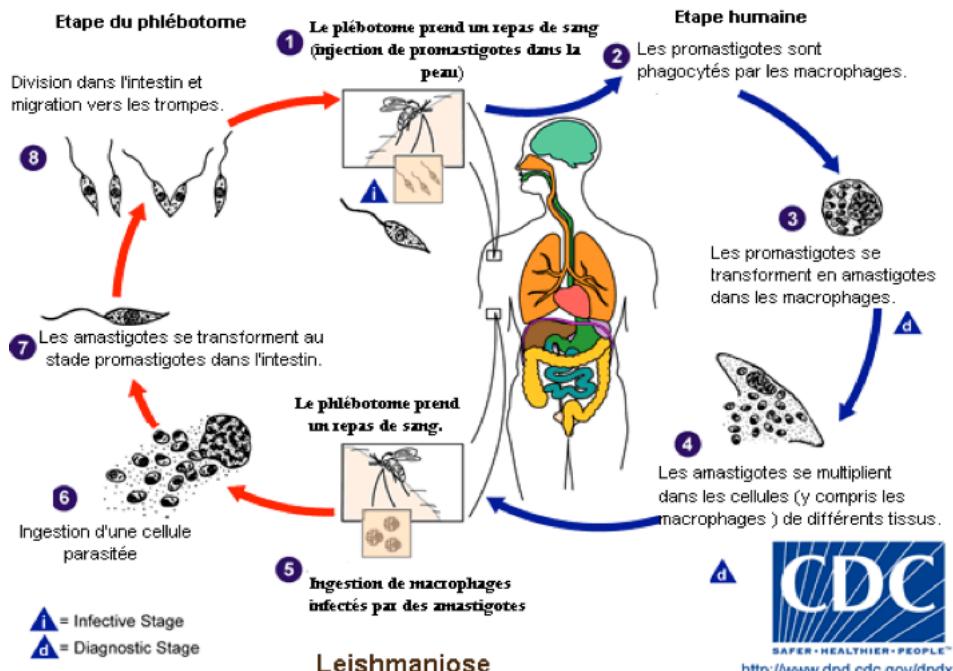
B. LUTTE CONTRE LES RÉSERVOIRS :

- Élimination ou traitement et prophylaxie par le port de colliers imprégnés d'insecticides pour les chiens.

- Destruction des terriers par labourage des terres et élimination des plantes chénopodiées pour les *Psammomys* et utilisation d'appâts empoisonnés pour les mérions. Cette lutte est difficile et peu efficace.
- Dépistage et traitement des cas humains pour les formes anthroponotiques.

Aucun vaccin humain n'est encore disponible malgré les nombreux essais

ANNEXES



Cycle des leishmanies

QCM :

- La leishmaniose cutanée sporadique du Nord :
- Est transmise au nord de la Tunisie
 - Se traduit par des lésions multiples des membres
 - Guérit spontanément

- Est due à *Leishmania major*
- Donne une lésion prurigineuse

Cas clinique : Une petite fille âgée de 2 ans originaire de la délégation de Boussalem (gouvernorat de Jendouba) est admise à l'hôpital d'enfant pour fièvre évoluant depuis 2 semaines et résistante aux antibiotiques, accompagnée d'une splénomégalie et d'un amaigrissement.

Le diagnostic de leishmaniose viscérale est évoqué.

Question n° 1 : Citer 3 anomalies de la numération formule sanguine pouvant orienter davantage vers ce diagnostic

Question n° 2 : Citer 3 techniques biologiques permettant de confirmer le diagnostic de leishmaniose

<p>QCM : A-E</p> <p>Réponses :</p> <p>QCM n° 1 : anémie, leucopénie, thrombopénie</p> <p>QCM n° 2 : examen direct des frottils de moelle osseuse, culture de la moelle osseuse (ou du sang), sérologie, PCR sur des prélevements de moelle osseuse ou de sang</p> <p>Cas clinique :</p> <p>QCM n° 1 : anémie, leucopénie, thrombopénie</p> <p>QCM n° 2 : examen direct des frottils de moelle osseuse, culture de la moelle osseuse (ou du sang), sérologie, PCR sur des prélevements de moelle osseuse ou de sang</p>

LES NÉMATODOSES

INTRODUCTION

Elles sont dues à la présence, dans l'organisme humain, de vers cylindriques à section ronde : les nématodes.

Les nématodes sont tous à sexes séparés : adultes mâles et femelles. Les mâles sont plus petits que les femelles et leur extrémité postérieure est enroulée en crosse à l'exception des ankylostomes qui présentent un évasement de la partie caudale.

Les nématodes n'ont pas d'organes de fixation et ont un tube digestif complet comprenant une bouche suivie d'un œsophage et d'un cæcum qui s'ouvre à l'extérieur par un anus.

On distingue :

- Les nématodoses intestinales, dues à la présence de nématodes dans le tube digestif de l'homme.
- Le syndrome de *Larva migrans* viscéral, dû à la migration dans l'organisme humain, de larves de nématodes évoluant normalement chez le chien ou le chat.
- Les filariose, parasitoses très répandues dans les régions tropicales, dues à des nématodes appelés filaires.

LES NÉMATODOSES INTESTINALES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Identifier les adultes, les larves et les œufs des différents nématodes selon leurs critères morphologiques.
2. Décrire le cycle biologique de chaque nématode et en déduire les modalités de contamination de l'homme ainsi que la forme infestante.
3. Poser le diagnostic de chaque nématodose intestinale en se basant sur des données épidémiologiques, cliniques et biologiques .
4. Demander les examens biologiques confirmant le diagnostic de chaque nématodose intestinale.
5. Proposer une conduite thérapeutique pour chaque nématodose intestinale.
6. Etablir une prophylaxie pour chaque nématodose intestinale.

INTRODUCTION

Cinq nématodes peuvent parasiter le tube digestif de l'homme :

- Trois sont à transmission orale : *Enterobius vermicularis* (Oxyure), *Trichiurus trichiura* (Trichocéphale), *Ascaris lumbricoides* (Ascaris).
- Deux sont à transmission transcutanée : *Ancylostoma duodenale/Necator americanus* (Ankylostomes) et *Strongyloides stercoralis* (Anguillule).

L'homme représente le seul réservoir des nématodoses intestinales.

L'OXYUROSE (OXYUROSIS)

L'oxyurose est causée par un nématode à transmission orale : ***Enterobius vermicularis***. Il s'agit d'une parasitose cosmopolite très fréquente surtout dans les collectivités d'enfants : jardins d'enfants, écoles, familles nombreuses...

1. AGENT PATHOGÈNE :

1.1. Vers adultes

Enterobius vermicularis ou oxyure est un petit ver de couleur blanc nacré.

- Le mâle mesure 3 à 5 mm de long pour 100 à 200 µm de diamètre, son extrémité postérieure est recourbée en crosse.
- La femelle est plus grande mesurant environ 1 cm de long pour 500 µm de diamètre, son extrémité postérieure est rectiligne et effilée.

Dans les deux sexes, l'orifice buccal est muni de trois lèvres rétractiles et la cuticule externe s'orne d'épines latérales bien caractéristiques des oxyures sur les coupes anatomopathologiques.

1.2. Œufs

Les œufs, de forme ovalaire, mesurent environ 60 µm de long sur 30 µm de large. Leur coque est lisse et présente une asymétrie caractéristique : bombée d'un côté et plate de l'autre. À l'intérieur des œufs se trouvent les embryons repliés. Les œufs d'oxyure sont de couleur transparente.

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

Les adultes mâles et femelles vivent dans la région cæco-appendiculaire. L'extrémité antérieure des vers est fixée sur la muqueuse. Après l'accouplement, le male est expulsé tandis que la femelle gravide migre vers l'anus, essentiellement la nuit. Elle franchit le sphincter anal, se fixe à la marge anale et pond des milliers d'œufs en une vingtaine de minutes puis meurt. À l'émission, les œufs contiennent des embryons gyriniformes qui deviennent très rapidement vermiformes sous l'action de l'oxygène. Ils sont alors directement infestants.

Ces œufs sont disséminés dans l'environnement avec le linge, la literie, les jouets... mais également transportés sous les ongles ou collés au bout des doigts.

La contamination humaine est orale : elle se fait par l'ingestion accidentelle d'œufs et exceptionnellement par inhalation. Une fois ingéré, l'œuf éclot dans l'estomac, la larve libérée migre vers le cæcum pour devenir un ver adulte mâle ou femelle. La durée moyenne du cycle est de 2 à 4 semaines. L'auto-infestation est très fréquente (Annexe).

3. CLINIQUE :

L'oxyurose est une parasitose bénigne souvent asymptomatique chez l'adulte et qui atteint préférentiellement les enfants. Les troubles sont essentiellement digestifs, mais aussi généraux :

- Le signe majeur est le **prurit anal** : il constitue souvent la seule manifestation clinique. C'est un prurit d'intensité variable, préférentiellement nocturne. Il peut être quotidien lors des infestations intenses, ou survenir de façon périodique, selon le rythme des pontes et des réinfestations. Il est responsable de lésions de grattage qui peuvent s'éczématiser ou se surinfecter.
- Chez la petite fille, les oxyures peuvent être responsables de vulvo-vaginites.
- Des douleurs abdominales peuvent être notées chez les enfants infestés. Elles sont soit diffuses à type de colique soit localisées surtout au niveau de la fosse iliaque droite. D'autres troubles du transit à type de diarrhée ou de constipation sont plus rarement rapportés.
- Des manifestations neuropsychiques : modification du caractère d'un enfant (irritabilité, agitation, inattention à l'école), troubles du sommeil, grincement des dents... sont possibles
- Les oxyures peuvent entraîner des syndromes pseudo appendiculaires.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

4.1. Mise en évidence des vers adultes

Les femelles d'oxyures peuvent être observées occasionnellement à la surface des selles ou lors de l'examen de la région péri-anale.

4.2. Mise en évidence des œufs d'oxyures

Elle constitue l'essentiel du diagnostic. Cependant, les femelles ne pondent pas dans l'intestin et les examens parasitologiques des selles ne sont positifs que dans 5-10 % des cas. Il faut rechercher les œufs au niveau de la marge anale.

La méthode la plus performante et la mieux adaptée pour le diagnostic de l'oxyurose est donc le **scotch-test anal** ou **test à la cellophane adhésive de Graham**. Ce test consiste à appliquer au niveau de la marge anale, un bout de scotch, afin de recueillir les œufs. Il se pratique le matin, avant la défécation et avant la toilette. Il faut écarter les plis de la marge anale et apposer le scotch que l'on retire immédiatement et que l'on pose sur une lame porte-objet microscopique.

5. TRAITEMENT :

Les principaux antiparasitaires efficaces sont :

- Albendazole (Zentel®, Z-Zole®), à raison de 1 cp à 400 mg chez l'adulte et de 5 mL (suspension à 4 %) chez l'enfant. Il s'agit d'un dérivé imidazolé à large spectre d'activité (mode d'action : inhibition irréversible de la capture du glucose par le parasite).
- Mèbendazole (Vermox®): en suspension buvable, à raison d'une dose de 5 ml, à raison de 1 cp à 100 mg chez l'adulte et de 5 ml en suspension buvable chez l'enfant

Ces médicaments sont administrés en prise unique. Cependant, il faut tenir compte de la facilité des réinfestations qui impose une 2^{ème} prise du traitement 1 à 2 semaines plus tard afin de détruire les parasites encore au stade œufs ayant pu résister à une cure.

6. PROPHYLAXIE :

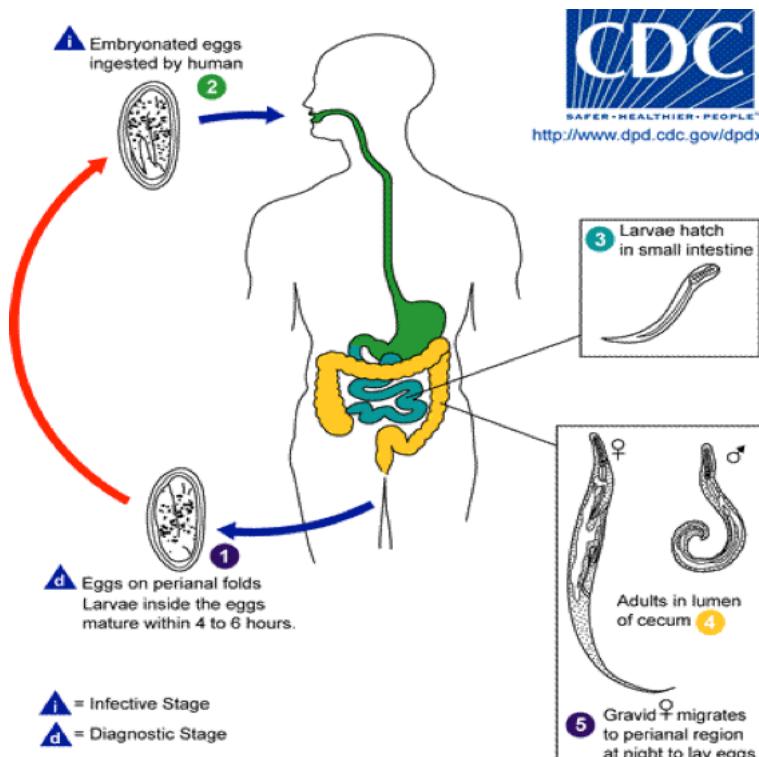
6.1 Contre l'auto-infestation

- Couper les ongles des enfants à ras, leur apprendre à bien se laver les mains avant chaque repas.
- Faire bouillir les sous-vêtements.
- Mettre un pyjama fermé pour éviter le contact direct entre les doigts et l'anus lors du prurit.

6.2 Contre la dissémination

- Traiter toute la famille le même jour.
- Traiter la collectivité (si possible).
- Nettoyer les objets usuels (jouets, crayons...).
- Aérer et exposer au soleil les couvertures, tapis... (les œufs d'oxyures résistent mal à la dessiccation).

ANNEXE



ASCARIDIOSE (ASCARIASIS)

L'ascaridiose est une maladie cosmopolite, répandue et fréquente surtout chez les enfants des pays tropicaux à faible niveau d'hygiène. La morbidité mondiale annuelle est estimée à un milliard. En Tunisie, l'ascaridiose sévissait surtout dans la région du cap bon et dans les oasis de la région de Gabès. Actuellement, l'amélioration du niveau de vie et la lutte contre le péril fécal font que cette parasitose est rarement rapportée en Tunisie.

1. AGENT PATHOGÈNE :

1.1. Vers adultes

Ascaris lumbricoides, agent de l'ascaridiose, est un parasite strictement humain. C'est le plus grand nématode parasitant l'intestin de l'homme. De couleur blanc rosé lorsqu'il est vivant, il devient blanc nacré à sa mort. Sa cuticule, finement striée, lui a valu son nom de « lumbricoides » en référence au lombric ou ver de terre.

Le mâle, dont l'extrémité postérieure est recourbée en crosse, mesure de 15 à 17 cm de long. La femelle, plus grande, peut atteindre 20 à 25 cm ; son extrémité caudale est rectiligne.

1.2 Œufs

Les œufs sont ovoïdes et mesurent 60 µm sur 45 µm. Ils ont une double coque, une externe marmelonnée, de couleur brun jaune, l'autre interne lisse limitant une masse granuleuse.

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

Adultes, mâles et femelles vivent habituellement dans l'intestin grêle. Leur nombre peut atteindre, en cas d'infestation massive plusieurs dizaines de vers, parfois même plus d'une centaine. Après fécondation, la femelle pond des œufs; ces derniers sont éliminés dans la nature avec les fèces. Les œufs ne sont pas embryonnés à la ponte et ne sont pas directement infestants. Pour s'embryonner, l'œuf doit séjourner dans la terre, dans des conditions optimales de température et d'humidité. Ces œufs peuvent résister dans l'environnement de nombreuses semaines, voire plusieurs mois...

L'homme s'infeste par voie digestive, par ingestion des œufs d'*Ascaris lumbricoides* souillant les crudités et l'eau, ou par les mains souillées de terre contaminée.

L'éclosion de l'œuf se produit au niveau de l'estomac. La larve libérée traverse activement la paroi intestinale, gagne le foie dans lequel elle séjourne 3 à 4 jours. Par l'intermédiaire des veines sus-hépatiques, elle atteint le cœur droit, puis l'artère pulmonaire, enfin les capillaires de la paroi alvéolaire.

Cette larve passe dans la lumière alvéolaire. Puis, elle passe dans les bronchioles, les bronches et va muer pour devenir une larve L4 qui, au niveau du carrefour pharyngo-laryngé, va tomber dans l'œsophage et atteindre l'intestin grêle où elle va muer une dernière fois pour devenir un adulte. Ce cycle dure environ 60 jours. Deux à trois mois après le repas infestant, les femelles se mettent à pondre des œufs (Annexe).

3. ÉPIDÉMIOLOGIE :

Le milieu extérieur constitue un excellent réservoir de parasite. Le climat chaud et humide favorise la maturation et la conservation des œufs. Mais les facteurs climatiques ne suffisent pas à rendre compte de l'endémicité de la parasitose, celle-ci s'explique également par :

- Les conditions socio-économiques défavorables
- L'absence d'hygiène fécale
- La médiocrité des mesures générales d'assainissement (absence d'eau potable et des égouts dans de nombreuses régions tropicales)
- L'utilisation d'engrais humains ce qui favorise la dissémination des œufs.

4. CLINIQUE :

La symptomatologie clinique peut être divisée en 2 phases successives : la phase d'invasion qui correspond au stade de migration des larves et la phase d'état contemporaine du stade adulte.

4.1. Phase de migration

Cette phase est essentiellement marquée par le syndrome de Loeffler qui correspond aux manifestations broncho-pulmonaires liées au passage des larves dans cet organe. Ce syndrome survient 3 à 4 jours après la contamination. Le patient présente de la fièvre, une dyspnée asthmatoïde et une toux productive. La radiologie du thorax montre des infiltrats labiles, hilifuges, intéressants les deux champs pulmonaires disparaissant en quelques jours, voire quelques semaines.

4.2. Phase d'état

À ce stade, les vers vivent à l'état adulte dans l'intestin de l'homme. Leur présence entraîne des troubles digestifs (diarrhée d'intensité variable, douleurs abdominales, nausées et vomissements) et de troubles nerveux : « syndrome vermineux » : irritabilité, troubles du sommeil, voire convulsions (due aux substances neurotoxiques sécrétées et excrétées par les vers).

4.3. Complications

Les complications de l'ascaridiose sont en général d'ordre chirurgical. Elles sont liées au pouvoir migratoire des vers adultes dans l'organisme et à leur nombre important.

Lorsque des ascaris migrent vers le canal cholédoque, ils peuvent être à l'origine d'une cholécystite aiguë, vers le canal de Wirsung engendrant une pancréatite, vers l'appendice entraînant une appendicite. Ils sont capables de percer l'intestin et d'entraîner une péritonite.

Lorsque les vers sont très nombreux et forment un bouchon, ils peuvent être responsables d'occlusion intestinale, d'un volvulus de l'anse grêle, d'une invagination, d'un étranglement herniaire.

5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

5.1. Hyperéosinophilie sanguine

L'évolution de l'éosinophilie sanguine au cours du temps suit la courbe de lavier : après un temps de latence d'environ dix jours après l'infestation, le taux des polynucléaires éosinophiles (PNE) réalise une ascension rapide, pour atteindre son maximum vers le 20^{ème} jour (6000 à 10000 PNE/mm³) puis diminue progressivement pour se stabiliser à un taux résiduel vers le 60^{ème} jour. La montée du taux de PNE correspond à la phase de migration; la stabilisation correspond au début de la ponte.

5.2. Examen parasitologique des selles

Il comprend un examen direct et une technique de concentration. Cet examen confirme le diagnostic en mettant en évidence les œufs d'ascaris. La découverte d'un ver adulte dans les selles ou le liquide vomé est exceptionnelle.

5.3. Sérologie

La recherche des anticorps sériques ne se justifie dans un but diagnostique qu'à la phase d'invasion, lorsque le diagnostic parasitologique est impossible. Il existe de nombreuses réactions croisées avec d'autres helminthes, en particulier avec *Toxocara canis*, ascaris du chien.

6. TRAITEMENT :

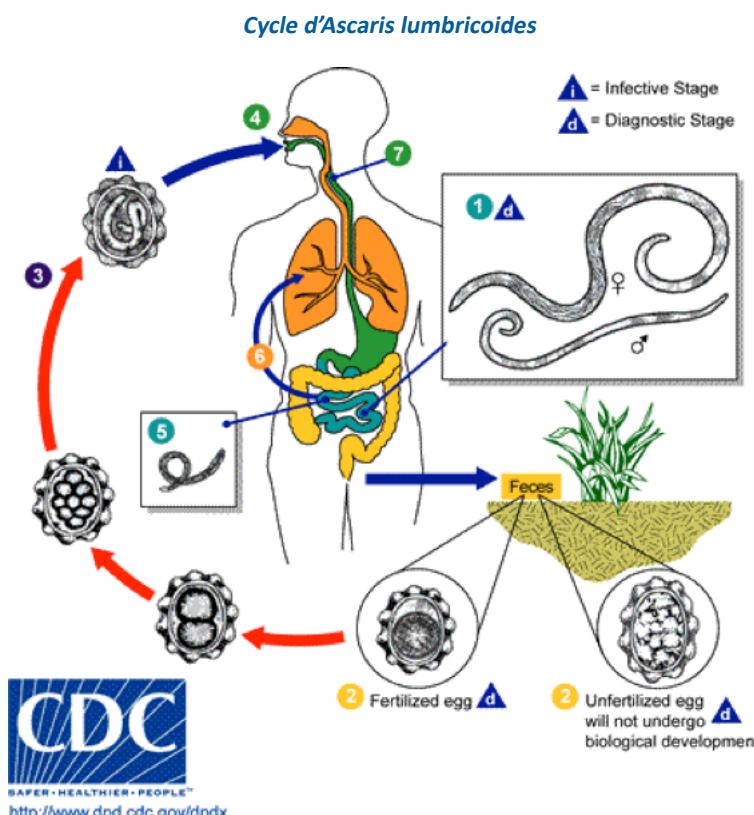
Il repose sur :

- Albendazole (Zentel®, Z-Zole®):
Adulte : 1 cp à 400 mg en cure unique
Enfant <2 ans : 5 mL en suspension buvable
- Mèbendazole (Vermox®) :
Adulte : 1 cp à 100 mg en cure unique
Enfant <2 ans : 5 mL en suspension buvable

7. PROPHYLAXIE :

- Lutte contre le péril fécal
- Installation de latrines et d'égouts
- Traitement des eaux usées
- Interdiction de l'utilisation des engrains humains
- Assainissement des eaux de boisson
- Traitement de masse des populations parasitées
- Éducation sanitaire
- Hygiène individuelle : lavage des crudités, lavage des mains avant les repas...

ANNEXE



TRICHOCÉPHALOSE (TRICHURIASIS)

La trichocéphalose est une maladie cosmopolite, fréquente surtout chez les enfants des pays chauds et humides, à faible niveau d'hygiène. Elle est due à *Trichiurus trichiura* (trichocéphale), parasite strictement humain.

1. L'AGENT PATHOGÈNE :

1.1. Adulte : Les trichocéphales sont des vers ronds, blancs rosés ou rougeâtres, hématophages.

Ils sont composés de **2 parties** :

- Une partie céphalique formant les 3/5 du ver. Elle est filiforme (100 µm de diamètre).
- Une partie caudale plus large (500 µm de diamètre).

Le mâle mesure environ 3 cm de long; son extrémité postérieure est recourbée.

La femelle, plus grande, mesure 5 cm; son extrémité postérieure est rectiligne.

1.2. Œufs : Ils sont ovoïdes et mesurent environ 50 X 25 µm. Ils possèdent une coque épaisse brun jaunâtre et un bouchon muqueux à chacun des deux pôles (en forme de citron); l'intérieur est occupé par un magma cellulaire indifférencié.

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

Adultes mâles et femelles, vivent dans le cæcum et dans la région rectosigmoïdienne, leur extrémité céphalique enchaînée dans la muqueuse. Après fécondation, la femelle pond des œufs; ces derniers sont éliminés dans la nature avec les matières fécales. Les œufs n'étant pas embryonnés à la ponte doivent séjourner pendant plusieurs semaines dans la terre pour devenir infestants.

La contamination humaine se produit par voie digestive. L'homme s'infeste par ingestion accidentelle de ces œufs avec les crudités et l'eau souillée, ou par les mains souillées de terre contaminée. Cette contamination peut aussi se produire par géophagie.

La larve, libérée dans le tube digestif après éclosion de l'œuf, se fixe dans la région cœcale et devient adulte en un mois. La femelle fécondée pond des œufs 2 mois après l'infestation.

3. CLINIQUE :

Dans la majorité des cas, l'infestation peu importante reste asymptomatique et n'est découverte que par l'examen parasitologique des selles.

Dans le cas d'infestation massive (plusieurs centaines ou plusieurs milliers de vers), la trichocéphalose se manifeste par une diarrhée chronique, un syndrome dysentérique, un prolapsus rectal et une anémie.

4. DIAGNOSTIC BILOGIQUE :

Une hyperéosinophilie sanguine modérée (entre 500 et 1500 PNE/mm³) s'observe dès la phase d'invasion, atteint le maximum vers le 50ème jour, puis redévient à un taux subnormal.

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des œufs de *Trichiurus trichiura* à l'examen parasitologique des selles.

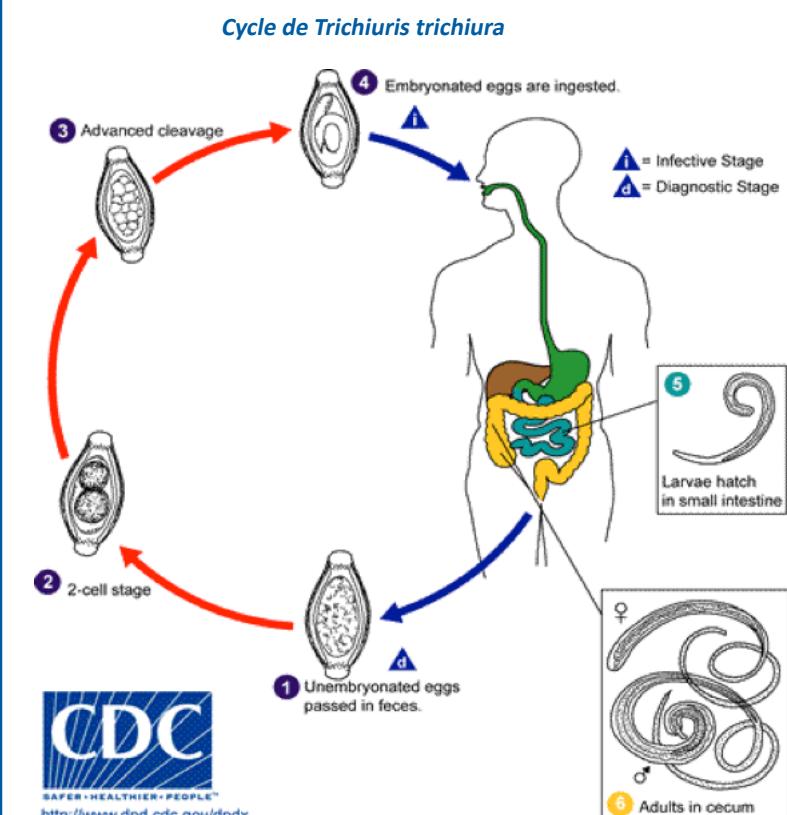
5. TRAITEMENT :

- Albendazole (Zentel®, Z-Zole®):
Adulte : 1 cp à 400 mg en cure unique.
Enfant < 2 ans : 5 mL
- Mébendazole (Vermox® 1cp à 100mg (adulte) ou 5mL en suspension buvable (enfant))

6. PROPHYLAXIE :

La prophylaxie de la trichocéphalose correspond à celle de toutes les maladies parasitaires dues au péril fécal et se base sur les mesures d'hygiène tant individuelles que collectives.

ANNEXE



ANKYLOSTOMOSE (ANCYLOSTOMIASIS)

L'ankylostomose est l'une des parasitoses intestinales les plus répandues, atteignant environ 800 millions de personnes. Elle est provoquée par la présence dans l'intestin de nématodes parasites de l'homme *Ancylostoma (A.) duodenale* et *Necator (N.) americanus*.

En Tunisie, cette parasitose sévissait surtout dans certains foyers du Cap bon et des oasis de Gabes. Actuellement, l'amélioration du niveau de vie et la lutte contre le péril fécal font que cette parasitose est rarement rapportée en Tunisie.

1. AGENT PATHOGÈNE :

1.1. Adulte

Il s'agit de vers **hématophages**. La femelle mesure 9 à 13 mm de long sur 0,5 mm de diamètre; son extrémité postérieure est effilée. Le mâle est plus petit : 5 à 11 mm de long et son extrémité postérieure est élargie en bourse copulatrice.

A.duodenale est un peu plus grand que *N.amERICANUS*; les deux espèces se différencient également d'un point de vue morphologique au niveau de la structure des bourses caudales et surtout au niveau de la cavité buccale : présence de crochets pour *A.duodenale* et de lames tranchantes pour *N.amERICANUS*.

1.2. Œufs

Ils sont ovoïdes et mesurent en moyenne 60 à 70/35 à 40 µm. Ils possèdent une coque lisse, mince et transparente. Au moment de leur émission, ils ne renferment qu'une cellule segmentée en blastomères (4 blastomères pour *A.Duodenale* et 8 blastomères pour *N.amERICANUS*).

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

Chez l'homme, les adultes des ankylostomes; mâles et femelles vivent au niveau du duodénum où ils se fixent à la paroi. Les femelles fécondées pondent des œufs dans la lumière intestinale qui seront éliminés avec les selles.

Dans la terre, dans de bonnes conditions de température (23 ° à 30 °) et d'humidité, l'œuf éclot en 24 heures pour donner une larve rhabditoïde libre. Cette larve mesure 300 µm de long et présente un œsophage à double renflement.

Vers le 3^{ème} jour, la larve rhabditoïde se transforme en larve strongyloïde de 600 µm de long et à œsophage simple.

Au 5^{ème} jour, une nouvelle mue aboutit à la formation d'une larve strongyloïde enkystée. Cette dernière, très résistante ne se nourrit pas, elle peut survivre plusieurs semaines, dans une terre humide et suffisamment chaude. C'est la forme infestante pour l'homme.

Lorsque la larve strongyloïde enkystée entre en contact avec la peau de l'homme (marche pieds nus, travaux agricoles), elle y pénètre de façon active, par **voie transcutanée**.

Puis, elle migre par voie sanguine ou lymphatique, arrive au niveau du cœur droit puis des poumons. Elle franchit la paroi alvéolaire, subit une nouvelle mue, remonte les voies aériennes jusqu'au carrefour aérodigestif et tombe dans l'œsophage pour se transformer en adulte. Quatre à cinq semaines après la contamination, les femelles commencent à pondre.

Les adultes vivent de nombreuses années, 4 à 5 ans pour *A. duodenale* et plus de 10 ans pour *N. americanus*. Les vers s'accrochent grâce à leur capsule buccale à la muqueuse et se nourrissent de débris de la muqueuse intestinale et du sang.

3. ÉPIDÉMIOLOGIE :

N.amERICANUS se rencontre surtout dans les pays tropicaux : chauds et humides. *A.duodenale* se rencontre, plutôt, en zone tempérée.

Du fait de leur transmission transcutanée, ces parasitoses sont favorisées par certains facteurs : professions agricoles, travail dans les mines, marche pieds nus...

4. CLINIQUE :

4.1. Phase aiguë : phase de migration larvaire

a. Signes cutanés « Gourme de mineurs »

Il s'agit de lésions maculo-papuleuses, érythémateuses et prurigineuses passant souvent inaperçues. Elles sont concomitantes de la pénétration transcutanée des larves strongyloïdes. Elles sont signalées au niveau des jambes, des pieds et également au niveau des bras.

b. Signes pulmonaires « Catarrhe des gourmes »

Ils sont concomitants du passage pulmonaire des larves et durent quelques jours à 3 semaines. Ils se manifestent par une toux quinteuse. Les anomalies radiologiques sont rares.

4.2. Phase chronique : phase d'installation digestive des vers

a. Signes digestifs

Ils se manifestent par une duodénite à symptomatologie pseudo-ulcéreuse (épiastralgies postprandiales, faim douloureuse...) accompagnée souvent d'une diarrhée.

b. Anémie

Elle apparaît progressivement, au bout de 1 à 2 ans. Son importance est directement en relation avec le nombre de parasites installés. Elle se manifeste par une pâleur, une décoloration des conjonctives, une dyspnée d'effort, des palpitations, un retard de croissance chez l'enfant...

5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

5.1. Diagnostic de présomption

Les anomalies observées à la NFS sont :

- À la phase aiguë : hyperleucocytose avec hyperéosinophilie en courbe de lavier.
- À la phase chronique : anémie régénérative hypochrome microcytaire

5.2. Diagnostic de certitude

Il se fait à la phase chronique de la maladie par la mise en évidence des œufs dans les selles par un examen direct associé à une technique de concentration. En présence d'œufs renfermant 4 blastomères, il s'agit de l'espèce *A. duodenale*. En présence de plus de 8 blastomères, l'identification d'espèce nécessite obligatoirement une coproculture parasitologique, car elle n'est réalisable que sur le stade des larves strongyloïdes.

6. TRAITEMENT :

- Albendazole (Zentel®, Z-Zole®) : 400 mg en cure unique.
- Mibendazole (Vermox®), 1cp à 100mg (adulte) ou 5mL en suspension buvable (enfant) 2fois/j pendant 3 jours

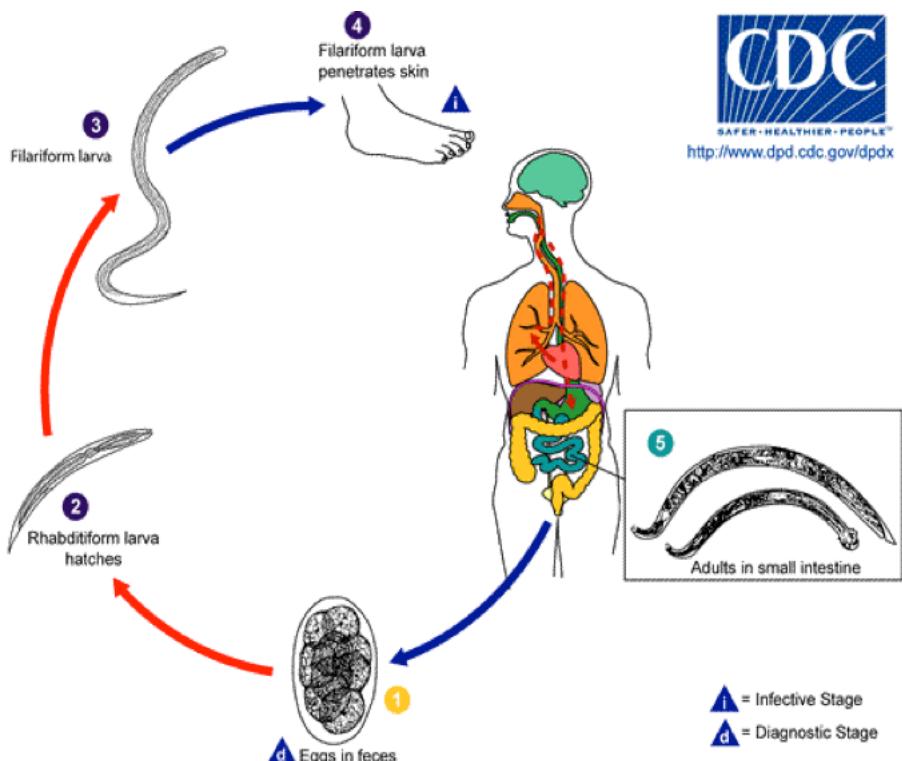
7. PROPHYLAXIE :

Elle se base sur :

- Le port de bottes
- L'installation de latrines
- La lutte contre le péril fécal
- L'éducation sanitaire de la population rurale (lieux de défécation, interdiction de l'utilisation des engrangements humains...)
- Le dépistage et le traitement des porteurs sains (examens d'embauche dans les mines.)
- Le traitement de masse des populations à risque en zones d'endémie.

ANNEXE

Cycle des Ankylostomes



ANGUILLULOSE (ANGUILLULIASIS)

Nématodose intestinale de répartition géographique voisine de l'ankylostomose, l'anguillulose ou strongyoïdose est liée à la présence dans l'intestin de l'homme d'un parasite : *Strongyloides stercoralis*. Habituellement latente et bénigne, cette parasitose peut revêtir chez les immunodéprimés (corticothérapie au long cours +++) un aspect grave parfois mortel : c'est l'anguillulose maligne.

1. AGENT PATHOGÈNE :

1.1. Adulte

- La femelle adulte parthénogénétique mesure en moyenne 2,5 mm de long sur 35 µm de diamètre. Son œsophage est de type strongyoïde. Elle vit encastrée dans la muqueuse intestinale, au niveau du duodénum et du début du jéjunum.
- Les adultes libres stercoraux:
 - Les femelles libres mesurent environ 1 mm de long.
 - Les mâles libres mesurent environ 0,7 mm de long.

1.2. Larves

- Les larves rhabditoïdes ont un œsophage à 2 renflements et mesurent 250 à 300 µm. Elles se trouvent dans les selles.
- Les larves strongyoïdes sont les larves infestantes. Elles sont longues (600 à 700 µm), étroites et à œsophage cylindrique.

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

Le cycle évolutif est complexe, se déroulant chez l'homme et dans le milieu extérieur.

• **Chez l'homme** : La contamination de l'homme se produit par voie transcutanée, à partir des larves strongyoïdes encystées contenues dans la terre. Après migration par voies lymphatique et sanguine et passage par les poumons, les larves remontent l'arbre alvéolo-bronchio-trachéal pour basculer dans l'œsophage et le tube digestif, où elles effectuent les 2 dernières mues et se transforment en femelles parthénogénétiques (voir glossaire). Dans l'intestin, la femelle pond des œufs qui éclosent dans la muqueuse et donnent naissance à des larves rhabditoïdes qui sont évacuées avec les selles.

• **Sur le sol**, le devenir des larves rhabditoïdes dépend des conditions de température et d'humidité :

- Si la température est inférieure à 20 °C et l'humidité est insuffisante, les larves rhabditoïdes se transforment directement au bout de 36 heures en larves strongyoïdes, puis en larves strongyoïdes encystées qui peuvent contaminer l'homme (cycle externe asexué direct dit « court »).
- Si la température est supérieure à 20 °C avec une forte humidité, les larves rhabditoïdes vont se transformer, en 2 à 5 jours, en adultes stercoraux mâles et femelles qui vont s'accoupler. Les femelles fécondées pondent des œufs sur le sol qui éclosent, libérant des larves rhabditoïdes. Ces dernières se transforment en larves strongyoïdes infestantes (cycle externe sexué indirect dit « long »).

• **Cycle direct endogène, d'auto-infestation :**

Directement dans la lumière intestinale ou au niveau de la marge anale, les larves rhabditoïdes se transforment rapidement en larves strongyoïdes infestantes qui pénètrent immédiatement la muqueuse du colon ou la peau de la région péri-anale. Ce cycle interne permet d'expliquer la longévité de cette parasitose, ainsi que la « résistance » thérapeutique.

3. CLINIQUE :

3.1. Phase de pénétration transcutanée

Elle est souvent asymptomatique, parfois le malade rapporte une éruption maculo-papuleuse, peu prurigineuse.

3.2. Phase de migration larvaire

Souvent asymptomatique, elle peut donner des signes pulmonaires à type de :

- Toux sèche rebelle ramenant exceptionnellement des expectorations muqueuses contenant des larves
- Sensation de brûlures ou d'irritation trachéale et pharyngée
- Pseudo-syndrome de Loeffler

3.3. Phase d'état

Elle associe des signes digestifs, des manifestations cutanées allergiques et une hyperéosinophilie sanguine constante et oscillante dans le temps.

a. *Signes digestifs :*

- Douleurs abdominales diffuses ou localisées à type de brûlures pseudo-ulcéreuses.
- Diarrhées évoluant par poussée...

b. Signes cutanés :

Ils sont représentés par des éruptions localisées au niveau de la ceinture, des hanches et des cuisses. Ils correspondent au « *Larva currens* » : migration sous-cutanée de larves entraînant l'apparition d'un sillon sinueux œdémato-érythémateux de quelques cm de long. Ces signes cutanés peuvent avoir l'allure d'un eczéma allergique.

3.4. Languillulose maligne

Elle représente toute la gravité potentielle de cette parasitose et survient sur des terrains immunodéprimés ou débilités : corticothérapie à fortes doses et au long cours.

Elle correspond à une prolifération massive des larves et à leur dissémination à tout l'organisme. Cliniquement, elle se traduit par l'exacerbation des signes digestifs et par l'apparition de complications intestinales, pulmonaires et neurologiques.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

4.1. Élément biologique d'orientation : hyperéosinophilie sanguine

Elle est élevée en début d'infestation (5000 à 20000/mm³), devient un peu plus modérée en cours d'évolution. Elle est tenace évoluant en dents de scie.

4.2. Diagnostic de certitude

Il est basé sur la mise en évidence des larves rhabditoïdes de **Strongyloides stercoralis** dans les selles par :

- l'examen direct
- la technique de concentration de BAERMAN basée sur l'affinité des larves pour l'eau (hydrotropisme) et la chaleur (thermotropisme),
- la coproculture parasitologique

5. TRAITEMENT :

- Ivermectine (Mectizan®, Stromectol®) : 12 mg en une seule prise.

Si languillulose maligne : même dose pendant 2 jours.

- Albendazole (Zentel®, Z-Zole®) : 400 mg/j pendant 3 jours.

6. PROPHYLAXIE :

Les mesures prophylactiques sont identiques à celles préconisées pour l'ankylostomose :

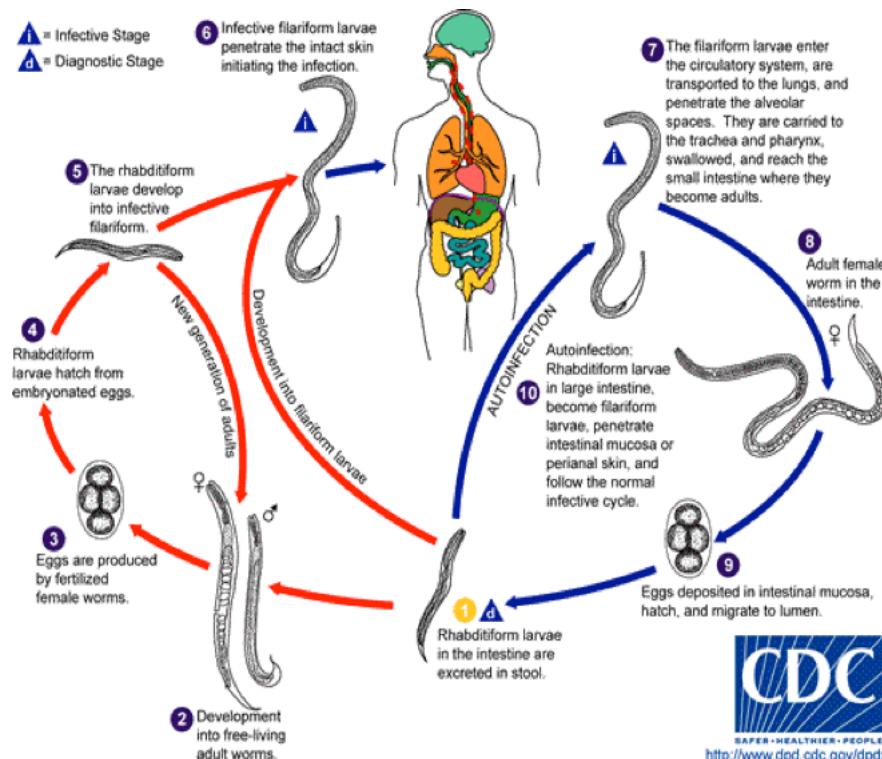
Lutte contre le péril fécal, port de chaussures, traitement des patients parasités...

GLOSSAIRE

Parthénogénèse : Reproduction sans fécondation dans une espèce non vertébrée, sexuée.

ANNEXE

Cycle de *Strongyloides stercoralis*



EVALUATION FORMATIVE

QCM1. L'anguillulose est une parasitose :

- A. Qui sévit en milieu tropical
- B. Dont le diagnostic repose sur un examen parasitologique des selles
- C. Bénigne dans tous les cas
- D. Dont le cycle ne comporte pas de phase de migration tissulaire
- E. Dont la prévention repose essentiellement sur la stérilisation de l'eau de boisson

QCM2. Parmi les signes cliniques suivants, lesquels peuvent être observés dans l'anguillulose :

- A. Une toux sèche
- B. Des diarrhées
- C. Une hématurie
- D. Un prurit
- E. Des épigastralgies

QCM3. Parmi les propositions suivantes une est fausse, laquelle ? Dans l'anguillulose :

- A. Un traitement par corticoïdes est formellement contre indiqué
- B. Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence de larves dans les selles
- C. Le diagnostic peut être évoqué 20 ans après une contamination
- D. L'hyperéosinophilie est toujours très élevée
- E. L'immunodépression est un facteur de gravité

QCM 1 : A et B	QCM 2 : A, B, D et E	QCM 3 : D
A. L'anguillulose doit être traitée avant toute mise en route d'un trajetement corticoïde (ivermectine en cas d'infection unique) pourra être secondairement instaurée en cas d'infection massive à partir de larves présentes dans le sol.	E. La contamination est transcutanée à partir de larves présentes dans le sol.	C. Les cycles d'autoinfestation endogène expliquent la persistance de cette parasitose durant des dizaines d'années et sont tançant de cette parasitose durant des dizaines d'années et sont diagnostiqués tardif.
B. Le cycle comprend une phase de migration tissulaire pulmonaire qui pourra être secondairement instaurée en cas d'infection unique.	F. La migration est transcutanée à partir de larves présentes dans le sol.	D. L'hyperéosinophilie est fluctuante : élevée au cours de la phase de migration pulmonaire des larves et basse au cours de cette parasitose durant des dizaines d'années et sont diagnostiquées tardif.
C. Il n'y a pas d'atteinte des voies urinaires	G. La phase de migration pulmonaire des larves	E. En cas d'immunodépression, une dissémination massive des larves peut entraîner le décès du malade.
D. Le prurit fait partie des manifestations allergiques non spécifiques rencontrées au cours des helminthiasis tissulaires d'état digestif.	H. Les épidémiologies sont dues à la douleur due à la corrélation massive des larves dans les adultes dans le duodénum (phase digestive)	F. Les épidémiologies sont dues à la douleur due à la corrélation massive des larves dans les adultes dans le duodénum (phase digestive)

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Suspecter le syndrome de larva migrans viscérale en se basant sur en fonction des données épidémiologiques , cliniques et biologiques.
2. Demander les examens biologiques confirmant le diagnostic du syndrome de larva migrans viscérale.

INTRODUCTION

Le syndrome de *larva migrans* viscérale ou toxocarose correspond à l'ensemble des symptômes provoqués par la migration et la survie dans l'organisme humain, de larves de nématodes évoluant naturellement chez le chien ou chez le chat, et qui sont en impasse parasitaire.

La toxocarose est une zoonose cosmopolite, fréquente dans les pays développés et les pays tropicaux, surtout en zone rurale. Les cas humains sont plus rares et touchent souvent les enfants.

1. AGENT PATHOGÈNE :

Les nématodes responsables de la toxocarose humaine sont représentés par *Toxocara canis* (parasite du chien) et plus rarement *Toxocara cati* (parasite du chat).

2. CYCLE ÉVOLUTIF :

Le cycle de *Toxocara canis* est influencé par la sécrétion de certaines hormones. La contamination du **chiot** par *Toxocara canis* se fait par voie orale après ingestion d'œufs embryonnés. La migration des larves de ce nématode aboutit à la présence d'adultes dans l'intestin grêle puis à la ponte d'œufs non embryonnés qui seront éliminés dans les déjections. Les œufs deviennent infestants après 3 semaines.

Chez le chien adulte, les larves libérées dans l'intestin entreprennent une migration viscérale et meurent avant d'atteindre le stade adulte. Lorsqu'une chienne est **gravide**, les larves peuvent reprendre leur évolution. Certaines poursuivent leur développement jusqu'au stade adulte et migrent vers l'intestin, d'autres traversent le placenta et infestent les fœtus, et d'autres peuvent contaminer les chiots lors de l'ingestion de lait.

L'homme s'infeste en ingérant des œufs souillant les aliments. L'enfant se contamine en portant à la bouche ses mains salies par le contenu des bacs à sable souillés par des déjections canines. Après éclosion des œufs dans l'intestin, les larves entreprennent une migration tissulaire, mais ne peuvent pas évoluer vers le stade adulte.

3. CLINIQUE :

Les signes cliniques de la toxocarose dépendent de la localisation des larves et du degré d'infestation.

Les manifestations les plus fréquentes sont la fièvre, des symptômes pulmonaires (syndrome de Löeffler), digestifs et oculaires.

On peut également noter des manifestations cardiaques, une hépato-splénomégalie et des manifestations cutanées telles que de l'urticaire.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Le diagnostic de la toxocarose est orienté par une hyperéosinophilie élevée (parfois supérieure à 20000 éosinophiles/mm³).

On peut également noter une hyper gammaglobulinémie.

Le diagnostic de la toxocarose repose sur la sérologie (immunofluorescence indirecte, ELISA, western-blot...)

La mise en évidence de larves tissulaires, permettant de confirmer le diagnostic, est exceptionnelle.

Le parasite est bloqué au stade larvaire et les œufs ne peuvent être recherchés.

5. TRAITEMENT :

Il repose sur :

- l'ivermectine (Stromectol®) à la dose de 200 µg/kg en prise unique
- La diéthylcarbamazine (Notézine®) à la dose de 4 mg/kg/jour (cp100 mg), dose à atteindre progressivement en débutant à ¼ de comprimé par jour.
- L'albendazole (Z-Zole®) à la dose de 10 à 15 mg/kg/jour (cp400 mg) pendant 15 jours.

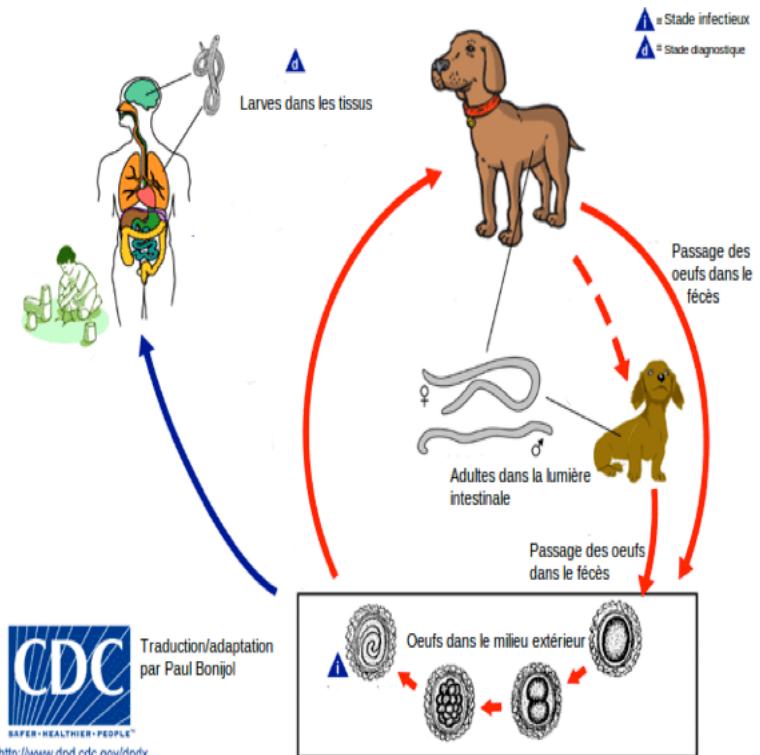
6. PROPHYLAXIE :

Elle repose sur :

- Le lavage des mains avant les repas et après contact avec la terre
- La lutte contre la géophagie
- La vermifugation régulière des chiots, des chiens et des chats.
- L'éviction des chiens des parcs publics et des aires de jeux, et la suppression des bacs à sable publics.

ANNEXE

Cycle de *Toxocara canis*



Traduction/adaptation
par Paul Bonjol

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

LES FILARIOSES

Les filarioSES sont des parasitoses très répandues dans les régions tropicales. Elles sont inexistantes en Tunisie.

Elles sont dues à des nématodes parasites appelés filaires.

On distingue, selon la localisation des vers adultes :

- Les filarioSES lymphatiques dues à :

- *Wuchereria bancrofti* et *W. bancrofti* var. *pacifica*
- *Brugia malayi* et *Brugia timori*

- Les filarioSES sous-cutanées :

- la loase causée par *Loa-loa*
- l'onchocercose due à *Onchocerca volvulus*

Les filaires sont vivipares, elles libèrent des larves appelées microfilaires.

Leur transmission s'effectue par un insecte vecteur hématophage.

LES CESTODOSES

INTRODUCTION

Elles sont dues à la présence, dans l'organisme humain, de vers plats segmentés : les cestodes.

Les cestodes sont des vers à cuticule fragile, dépourvue de chitine.

Ils sont hermaphrodites.

Ils n'ont pas de tube digestif, l'absorption des aliments se fait à travers la cuticule.

Ils sont formés de trois parties :

- Scolex ou tête, organe de fixation, qui comporte 4 ventouses, avec, selon les espèces, des crochets (disposés en 1 ou 2 couronnes),
- Cou,
- Corps ou strobile, formé d'anneaux.

Comme tous les vers, leur évolution comporte un stade **adulte**, un stade œuf et un stade larvaire.

On distingue :

- Les cestodoses adultes, dues au développement du stade adulte de certains cestodes dans l'intestin de l'homme.
- Les cestodoses **larvaires**, telles que le Kyste hydatique, dues au développement du stade larvaire de certains cestodes dans les organes de l'homme.

LES CESTODOSES ADULTES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Identifier les différents stades morphologiques de *Taenia saginata* et de *Taenia solium* et d'*Hymenolepis nana*
- 2- Décrire les cycles biologiques de *Taenia saginata* et *Taenia solium*, *Hymenolepis nana* et en déduire les modalités de contamination de l'homme par ces cestodes
- 3- Poser le diagnostic positif de ces cestodoses en se basant sur les données épidémiologiques, cliniques et biologiques
- 4- Préciser le traitement de ces cestodoses
- 5- Indiquer les principales mesures prophylactiques contre ces cestodoses

INTRODUCTION

Les cestodes sont des plathelminthes (vers plats), segmentés.

Certains cestodes sont parasites de l'homme au stade adulte. Ils se localisent dans l'intestin grêle et provoquent des pathologies appelées cestodoses adultes qui sont souvent bénignes. Les espèces les plus fréquemment rencontrées en Tunisie sont *Taenia (T.) saginata* et *Hymenolepis (H.) nana*.

1. LE PARASITE :

1.1. TAENIA SAGINATA

A. L'ADULTE :

Il a une teinte blanc grisâtre et mesure de 4 à 10 mètres de long. Il s'agit d'un ver hermaphrodite constitué d'une tête ou scolex, d'un cou et d'un corps ou strobile. Le scolex de 1 à 2 mm de diamètre possède 4 ventouses qui lui permettent de se fixer à la muqueuse intestinale de l'homme, il est dépourvu de crochets (ténia inerme). Le cou, de quelques millimètres de long, donne naissance à une chaîne de 1000 à 2000 anneaux ou proglottis qui constituent le corps. Les anneaux jeunes,

proches du cou, sont petits et plus larges que longs. Au fur et à mesure qu'ils s'éloignent du scolex, leur taille augmente et leur appareil génital hermaphrodite se différencie. À maturité, les anneaux dits ovigères sont rectangulaires et mesurent 2 à 4 cm de long sur 1 cm de large et contiennent un utérus très ramifié (plus de 20 branches) rempli d'œufs.

B. L'ŒUF :

Il est sphérique et mesure 60 µm sur 40 µm. Il est muni de 2 coques : une coque externe mince et fragile et une coque interne, épaisse, brunâtre, striée, résistante, limitant un embryon muni de 3 paires de crochets (embryon hexacanthe). Cet embryophore (coque interne + embryon) mesure 30 à 40 µm.

C. LA LARVE :

C'est une larve cysticerque formée d'une vésicule translucide de quelques millimètres de diamètre contenant du liquide et un scolex invaginé (protoscolex).

1.2. TAENIA SOLIUM

A. L'ADULTE :

C'est un ver plat de 2 à 8 m de long. Il diffère par quelques points morphologiques de *T. saginata* : la tête de l'adulte est munie en plus des 4 ventouses d'une double couronne de crochets (ténia armé) et ses ramifications utérines ont moins de 13 branches.

B. LA LARVE :

Elle est identique à celui de *T. saginata*.

C. L'ŒUF :

Il est identique à celle de *T. saginata*.

1.3. HYMENOLEPIS NANA

A. L'ADULTE :

C'est un petit ténia de 10 à 25 mm de long. Son scolex est muni de 4 ventouses et d'une seule couronne de crochets. Son corps est constitué de 100 à 200 anneaux.

B. L'ŒUF :

Il mesure 50 µm de diamètre. Il est muni d'une coque externe mince et transparente. Il renferme un embryon hexacanthe entouré d'une coque interne réfringente de 30 µm qui présente latéralement deux petits mamelons polaires desquels partent des filaments ou chalazes qui s'insinuent entre les deux coques.

C. LA LARVE :

C'est une larve cysticéroïde renfermant un protoscolex.

2. LE CYCLE BIOLOGIQUE :

2.1. TAENIA SAGINATA

Il a un cycle hétéroxène. Son hôte définitif est l'homme et ses hôtes intermédiaires sont les bovidés.

L'homme héberge dans la majorité des cas un seul parasite d'où le nom de ver solitaire donné à *T. saginata*. Les anneaux mûrs se détachent un à un du strobile. Ces anneaux mobiles migrent le long de l'intestin, puis forcent activement le sphincter anal, en dehors des défécations. Ces anneaux laissent échapper les embryophores qu'on trouve dans les plis de la marge anale. Les anneaux ovigères et les embryophores peuvent se retrouver dans la nature, entraînés avec le bol fécal. Les bovidés, hôtes intermédiaires, s'infestent en ingérant l'herbe souillée par des embryophores mûrs. Les embryons hexacanthes, libérés après digestion de la coque protectrice, gagnent à travers la paroi intestinale le système vasculaire puis sont disséminés dans tout l'organisme. Ils se localisent préférentiellement dans le tissu conjonctivo-adipeux interfasciculaire des muscles où ils s'y transforment en larves cysticerques contenant un scolex invaginé.

L'homme se contamine en mangeant les larves cysticerques enchaînées dans la viande de bovidés mal cuite. Dans l'intestin grêle de l'homme, le scolex se dévagine et donne naissance à un adulte en 3 mois.

2.2. TAENIA SOLIUM

Il a un cycle hétéroxène. Son hôte définitif est l'homme et son hôte intermédiaire est le porc.

Les anneaux mûrs se détachent par courtes chaînes de 5 à 10 éléments qui sont éliminées passivement avec les selles. Les embryophores libérés dans la nature par la lyse des anneaux sont ingérés par le porc. L'embryon hexacanthe gagne les tissus conjonctifs des muscles striés et devient une larve cysticerque en 3 ou 4 mois.

- L'homme se contamine par ingestion de viande de porc mal cuite (charcuterie) contenant des larves cysticerques. Dans l'intestin grêle, ces larves donnent un ténia adulte en 3 mois.

- L'homme peut également s'infester par les œufs du parasite, directement par voie orale (contamination exogène) ou après digestion d'anneaux mûrs remontés dans l'estomac par un phénomène d'anti-péristaltisme (contamination endogène). Il présentera alors une cysticercose suite au développement de larves cysticerques dans l'organisme, essentiellement dans les muscles et/ou le cerveau. La larve se développe minimum 60 jours après l'infection.

2.3. HYMENOLEPIS NANA

L'homme est le plus souvent à la fois hôte définitif et hôte intermédiaire.

Les anneaux mûrs se désintègrent dans l'intestin et libèrent les œufs qui sont éliminés dans les selles.

Les œufs sont directement infestants, leur ingestion libère dans l'intestin de l'homme, l'embryon, celui-ci pénètre la muqueuse intestinale où il donne naissance à une larve cysticéroïde (contenant un scolex invaginé) qui va retomber dans la lumière intestinale pour devenir un ver adulte.

La contamination de l'homme est assurée par l'ingestion des œufs embryonnés (mains sales, légumes souillés). *H. nana* est un parasite essentiellement de l'enfant et la fréquence de l'auto-infestation rapproche son épidémiologie de celle de l'oxyurose.

La contamination est aussi possible après ingestion de vers de farine hébergeant des larves cysticéroïdes d'*H. nana*.

3. CLINIQUE :

3.1. LES TENIASIS (TAENIASIS)

Ils sont le plus souvent asymptomatiques. Dans le cas de *T. saginata*, le téniasis n'est révélé que par la découverte d'anneaux dans les sous-vêtements ou la literie.

Ils peuvent se manifester par des manifestations digestives ou extra digestives.

A. MANIFESTATIONS DIGESTIVES :

- Troubles de l'appétit : boulimie ou anorexie, nausées, éructations.
- Douleurs abdominales d'intensité variable pouvant s'accompagner d'alternances de diarrhée et de constipation.
- Vomissements à jeun avec pyrosis.

B. MANIFESTATIONS EXTRADIGESTIVES :

Elles sont polymorphes. On note surtout :

- des signes nerveux : troubles du caractère, troubles du sommeil...
- des signes cutanés de nature allergique : prurit, urticaire...

3.2. L'HYMENOLEPIOSE (HYMENOLEPIASIS)

Chez l'adulte, cette parasitose est généralement asymptomatique. En cas de manifestations cliniques, elles sont alors identiques à celles des téniasis.

Chez l'enfant, en particulier lors des fortes infestations, des signes cliniques apparaissent ; digestifs (diarrhée, douleurs abdominales, nausées, vomissements, anorexie, amaigrissement), neuropsychiques (céphalées, troubles du sommeil) et allergiques (prurit, urticaire). L'hyménolépiose est souvent responsable de troubles de l'absorption avec un retard staturopéndral pouvant être important.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Il repose sur la mise en évidence des anneaux (*T.saginata*, *T.solium*) ou des œufs (*H.nana*) ou des embryophores (*T.saginata*, *T.solium*).

- 1- La découverte d'anneaux dans les sous-vêtements ou sur la literie (*T.saginata*) ou à la surface des selles (*T.saginata*, *T.solium*) : Ces anneaux sont souvent pris par le patient pour des vers.
- 2- Le scotch-test anal : il permet la mise en évidence directe des embryophores de *T. saginata*

- 3-** L'examen parasitologique des selles : il permet d'identifier les œufs d'*H.nana*, les embryophores de *T.solium* et même de *T.saginata*. Il peut mettre en évidence des anneaux de *T.saginata* et de *T.solium*.

Par ailleurs, il faut noter que la NFS peut montrer une éosinophilie élevée (supérieure à 3000 PNE/mm³) à la phase d'invasion (avant le 3^{ème} mois) qui devient modérée (500 PNE/mm³-1500 PNE/mm³) ou normale à la phase d'état.

- Concernant la cysticercose, le diagnostic est sérologique.

5. TRAITEMENT :

Le Praziquantel (Biltricide®) représente actuellement le traitement de référence. Il est prescrit à la dose de 10mg/kg en une prise unique pour *T.saginata* et *T.solium* et à la dose de 15 à 20 mg/kg pour *Hymenolepis nana*.

Le Niclosamide (Trédémine®) se présente sous forme de comprimés à 500 mg. La posologie pour un adulte est de 2 g, elle est réduite de moitié chez l'enfant. Ce médicament doit être pris à jeun, répartis en 2 prises à une heure d'intervalle, l'alimentation n'est permise que 3 heures après la seconde prise; le ver est éliminé les jours suivants par fragments.

La particularité du cycle d'*H.nana* impose un traitement de sept jours (pour couper le cycle direct). : dose habituelle le premier jour, demi-dose les jours suivants.

6. PROPHYLAXIE :

6.1. INDIVIDUELLE

- Couper les ongles des enfants et les habituer à se laver les mains avant de manger pour *H.nana*.
- Bien cuire la viande de bovidés pour *T.saginata* et de porc pour *T.solium*

6.2. COLLECTIVE

- Amélioration des conditions d'hygiène par l'évacuation des excréta dans les égouts.
- Interdiction de l'utilisation des excréta humains comme engrains.
- Contrôle vétérinaire à la recherche des larves cysticerques dans les carcasses surtout des porcs
- Traiter les sujets infectés

EVALUATION FORMATIVE

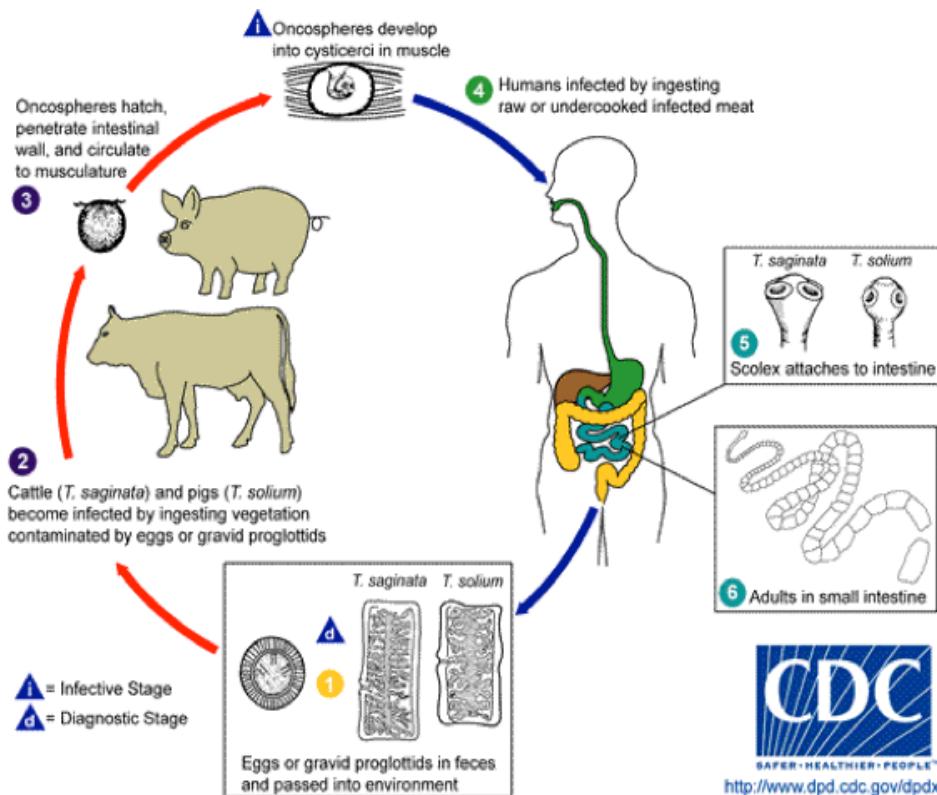
Question

Citez trois différences entre le cycle de *Taenia saginata* et celui de *Taenia solium*.

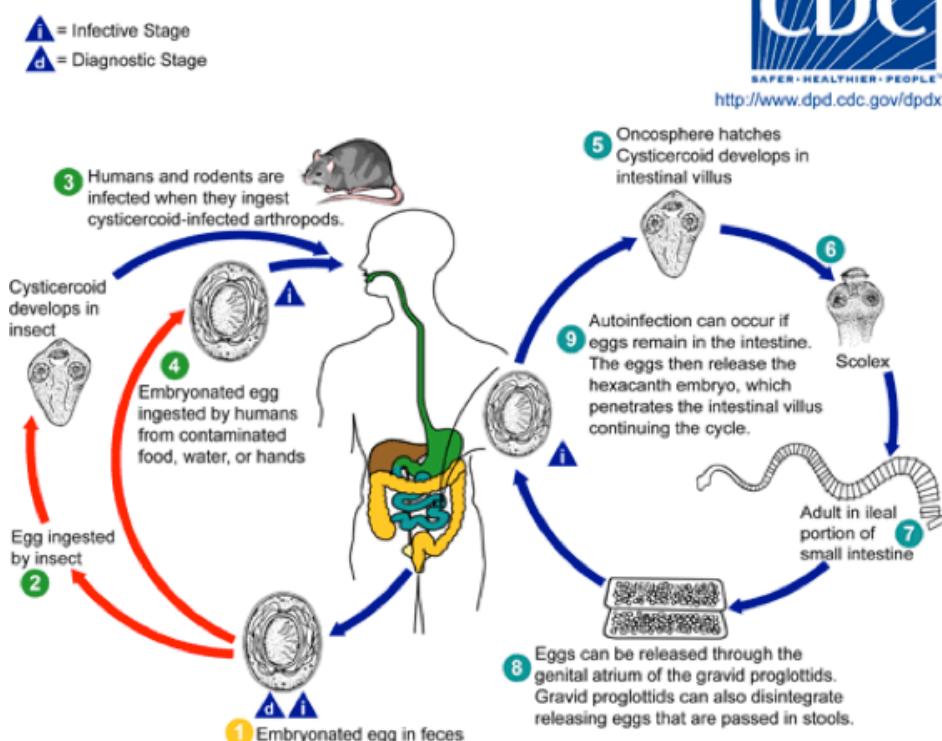
Méde de contamination de l'homme : ingestion de la viande
pour *Taenia solium*.
Hôte intermédiaire : les bovidés pour *Taenia saginata* et le porc *Taenia solium*.
Réponse :
-Élimination des anneaux : active et par annneau pour *Taenia saginata* et passive et par courtes chaînes pour *Taenia solium*.

ANNEXES

Cycle de Taenia saginata et de Taenia solium



Cycle d'Hymenolepis nana



LE KYSTE HYDATIQUE OU ECHINOCOCOSE KYSTIQUE CYSTIC ECHINOCOCCOSIS الكيس المائي أو داء المشوكيات

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire la morphologie des œufs, formes adulte et larvaire d'*Echinococcus granulosus*.
2. Enumérer les principaux hôtes intermédiaires et définitifs d'*Echinococcus granulosus*.
3. Décrire le cycle biologique d'*Echinococcus granulosus*.
4. Citer les modalités de contamination de l'homme par *Echinococcus granulosus*.
5. Préciser la répartition géographique du kyste hydatique dans le monde.
6. Identifier les facteurs d'hyperendémicité du kyste hydatique en Tunisie.
7. Indiquer les localisations possibles des kystes hydatiques chez l'homme.
8. Suspecter un kyste hydatique hépatique ou pulmonaire devant les données de l'anamnèse et de l'examen clinique.
9. Reconnaître les complications des kystes hydatiques du foie.
10. Prescrire les examens complémentaires qui permettent de confirmer le diagnostic du kyste hydatique.
11. Identifier les différentes modalités thérapeutiques du kyste hydatique.
12. Indiquer les mesures prophylactiques individuelles et collectives contre le KH.

INTRODUCTION

L'échinococcosse kystique ou kyste hydatique (KH) est une métacestodose provoquée par le développement chez l'homme et nombreux mammifères sauvages ou domestiques de la forme larvaire d'un ver plat de la famille des Ténidés: *Echinococcus granulosus*. C'est une parasitose cosmopolite fréquente surtout en zones d'élevage. En Tunisie, elle sévit selon un mode hyperendémique et représente un problème majeur de santé publique à cause de sa prévalence élevée, de la gravité de ses complications et des pertes économiques importantes qu'elle engendre. Une connaissance détaillée des modalités de transmission et des principaux facteurs de risque de cette zoonose dans notre pays est une étape indispensable pour la mise en place d'un programme de prophylaxie et de lutte afin de réduire les dommages qu'elle provoque.

1. AGENT PATHOGÈNE :

Echinococcus (E.) granulosus est un plathelminthe qui appartient à la classe des Cestodes. Il se présente sous trois formes évolutives :

1.1. LE VER ADULTE

Il vit dans l'intestin grêle du chien, hôte définitif du parasite. C'est un petit ver plat de la famille des Ténidés de 4 à 7 mm de long. Il est constitué d'une tête, d'un cou et d'un corps. La tête ou scolex représente l'organe de fixation, elle est munie de 4 ventouses, d'un **rostre** saillant et d'une **double couronne de crochets**. Le cou est court. Le corps ou **strobile** comprend 3 ou 4 segments dont le dernier est rempli d'œufs.

1.2. LES ŒUFS

Ils mesurent 30 à 50 µm de diamètre. Ils sont entourés à leur émission d'une coque externe très fragile rapidement détruite laissant place à l'embryophore qui représente la forme infestante pour l'homme, la forme de résistance et de dissémination.

L'embryophore comprend une membrane interne épaisse, striée, kératinisée, entourant l'embryon hexacanthe (muni de trois paires de crochets).

1.3. LA FORME LARVAIRE OU HYDATIDE

C'est une formation sphérique remplie de liquide hydatique, de taille variable (1 à 25 cm de diamètre) et qui se développe

chez les hôtes intermédiaires représentés habituellement par les herbivores, les omnivores et accidentellement l'homme. Elle peut être unique ou multiple. Elle comporte 3 couches, de l'extérieur vers l'intérieur :

a. **La couche adventitielle (anciennement appelée adventice)** : Elle entoure et limite le parasite. Il s'agit, en fait, de tissu réactionnel de l'hôte. Elle constitue une zone de clivage chirurgical et finit à la longue par se calcifier. Son épaisseur varie d'un organe à l'autre : elle est peu développée au niveau du parenchyme pulmonaire et absente au niveau de l'os.

b. **La couche stratifiée (anciennement appelée cuticule)**: Elle est stratifiée, anhiste, de couleur « blanc d'œuf cuit ». Elle permet des échanges entre le parasite et l'hôte par des phénomènes d'osmose.

c. **La couche germinale (anciennement appelée membrane proligère)**: C'est la membrane interne, germinative, syncytiale, riche en noyaux. Elle constitue l'élément noble du parasite qui donne naissance aux structures suivantes :

- **Les capsules proligères** : elles naissent par bourgeonnement de la couche proligère. Le bourgeon se vésicule, et donne à son tour 10 à 30 protoscolex.
- **Le liquide hydatique** : Classiquement limpide dans les KH jeunes et intactes, il remplit la cavité du kyste et met sa paroi sous tension. Il est constitué de produits de l'hôte dialysés à travers la couche stratifiée et de produits du métabolisme du parasite, d'où ses grandes propriétés antigéniques. Il est très allergisant pouvant induire, à l'occasion de fissurations ou de rupture du kyste, des crises d'urticaire voire un choc anaphylactique.

L'ensemble des éléments parasitaires baignant dans le liquide hydatique composent le sable hydatique qui, après décanulation, constitue un culot comportant des capsules proligères détachées, des protoscolex libérés et des crochets libres.

Le sable hydatique peut aussi comporter les capsules filles endogènes issues de la transformation vésiculeuse de protoscolex détachés à l'intérieur du kyste. Elles se voient dans les vieux kystes et reproduisent la structure de l'hydatide mère.

Par ailleurs, il existe des capsule filles exogènes qui se voient dans les vieux kystes. Elles se forment à partir de fragments de couche germinale insinués dans l'épaisseur de la couche stratifiée pour se développer à l'extérieur du kyste initial.

2. CYCLE ÉVOLUTIF :

Le cycle d'*Echinococcus granulosus* est hétéroxène faisant intervenir un hôte définitif représenté par le chien et certains canidés sauvages et un hôte intermédiaire représenté essentiellement par les herbivores (ovins, bovins, caprins, camélidés, herbivores sauvages) et principalement le mouton.

L'homme n'est qu'une impasse parasitaire qui prend accidentellement la place de l'hôte intermédiaire et qui ne permet pas au cycle parasitaire de se continuer, les viscères humains n'étant pas accessibles aux chiens.

Dans la nature, le cycle se déroule comme suit : le dernier segment du ver adulte, arrivé à maturité, est éliminé avec les déjections du chien. Les œufs éparpillés dans les pâturages sont ingérés par les herbivores.

L'homme s'infeste comme les hôtes intermédiaires en ingérant accidentellement les embryophores. L'embryophage ingéré libère dans l'intestin l'embryon hexacanthe qui traverse la paroi intestinale et atteint les vaisseaux lymphatiques ou sanguins du système porte pour aller se fixer dans le foie. Le filtre hépatique est parfois dépassé, l'embryon suit alors les veines sus-hépatiques et le cœur droit pour atteindre le poumon et s'y fixer. On estime que dans 60 à 70 % des cas, la fixation se fait dans le foie et dans 30 à 40 % dans le poumon. Dans 10 % des cas, ces 2 filtres sont dépassés et l'embryon peut atteindre n'importe quel organe : cœur, rate, rein, cerveau, os, muscle. Cette hypothèse de filtres est actuellement de plus en plus controversée et certains auteurs soutiennent que la localisation du parasite dans un organe donné est fonction d'un tropisme préférentiel des souches parasitaires pour cet organe plutôt qu'un autre. Une fois fixée, la vésiculation se fait très rapidement : l'embryon perd ses crochets, s'entoure de mononucléaires, devient une masse pourvue de noyaux, qui se vacuoise et grossit lentement. À un an, il devient fertile contenant des protoscolex. La taille du kyste peut atteindre dans certains cas 25 cm ou plus.

Le chien se contamine en ingérant des viscères d'herbivores contenant des kystes. Chaque protoscolex ingéré donnera naissance, dans l'intestin du chien, à un ver adulte.

L'Échinococcose secondaire est la greffe de protoscolex sur un organe, consécutive à la rupture du kyste primitif au cours d'une intervention chirurgicale, d'une ponction mal indiquée ou d'un traumatisme.

3. ÉPIDÉMIOLOGIE :

3.1. MODALITÉS DE CONTAMINATION DE L'HOMME

La contamination de l'homme se fait par voie orale après ingestion d'embryophores d'*E.granulosus*, elle est donc favorisée par une mauvaise hygiène alimentaire et a lieu généralement dans l'enfance : âge des mains sales, des promenades à 4 pattes, des jeux avec les chiens.

L'origine de cette contamination peut être multiple :

- le contact avec des chiens parasités (caresses, léchage)
- l'ingestion d'aliments souillés par les déjections de chien et insuffisamment lavés (salades)
- l'ingestion d'une eau contaminée par les déjections de chien (puits, fontaines publiques)
- le contact avec un sol souillé par les déjections de chien (agriculteurs, enfants)
- au laboratoire (personnes travaillant sur les intestins ou les déjections de chiens)
- certaines mouches qui peuvent véhiculer les embryophores.

3.2. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE DU KYSTE HYDATIQUE DANS LE MONDE

L'hydatidose est une zoonose cosmopolite, particulièrement fréquente en zones d'élevage ovin de type extensif.

Les grands foyers mondiaux sont :

- le bassin méditerranéen et particulièrement l'Afrique du Nord
- l'Amérique du Sud
- l'Australie et la Nouvelle-Zélande
- certaines régions de l'Afrique de l'Est (Kenya+++)
- l'Asie centrale et la Chine du Nord

3.3. SITUATION ÉPIDÉMIOLOGIQUE EN TUNISIE

A. PRÉVALENCE DE LA MALADIE :

- Chez l'homme :

L'hydatidose sévit en Tunisie sous un mode **hyperendémique**. Son incidence chirurgicale annuelle est d'environ 12,6/100 000 habitants (enquête 2001-2005). La prévalence sérologique et/ou échographique du portage asymptomatique varie selon les études et les régions de 1,5 à 4 %.

Les régions hyperendémiques sont essentiellement Kasserine, Sidi Bouzid, Kairouan, Kef, Siliana.

- Chez les animaux :

Le parasitisme canin par *E. granulosus* varie selon les études de 9,8 % dans la région de Bizerte à 68,4 % dans celle de Kasserine.

L'échinococcose des herbivores varie selon l'âge (les animaux âgés étant les plus parasités) et l'espèce (les ovins sont les plus touchés suivis des bovins et des camélidés). Dans certains abattoirs, l'échinococcose des brebis peut atteindre jusqu'à 70 %.

B. FACTEURS D'HYPERENDÉMICITÉ DU KYSTE HYDATIQUE EN TUNISIE

- Intensité d'élevage en milieu rural tunisien qui reste largement traditionnel malgré la modernisation
- Densité du réservoir canin
- Difficulté de ramassage des carcasses des ruminants décédés
- Abattage non contrôlé surtout en zone rurale
- Climat tempéré de la Tunisie, assez humide dans les zones d'élevage du Nord et du Centre
- Fréquence des boucheries clandestines

4. CLINIQUE :

Les KH demeurent longtemps asymptomatiques et sont souvent découverts lors d'examens systématiques (Radiographies du thorax et échographies abdominales) ou de complications.

4.1. LE KYSTE HYDATIQUE DU FOIE (KHF)

C'est la localisation la plus fréquente, on distingue :

A. LE KHF NON COMPLIQUÉ :

Il se manifeste souvent par un tableau d'hépatomégalie indolore, bien tolérée, palpable si le kyste est antérieur. Parfois, on peut noter des manifestations allergiques de type urticaire.

B. LE KHF COMPLIQUÉ :

NOMBREUSES complications peuvent marquer l'évolution d'un KHF :

- **La fissuration** qui se traduit par l'apparition de douleurs de l'hypocondre droit, de troubles dyspeptiques et de poussées d'urticaire. La migration de débris parasitaires dans les canaux biliaires se manifeste par des coliques hépatiques, un ictere rétentionnel voir une angiocholite.
- **L'infection** est rarement aiguë réalisant un abcès du foie. Souvent subaiguë, elle favorise la rupture en fragilisant le kyste.

- La **compression** des organes de voisinage qui peut engendrer :
 - un ictère, si les voies biliaires extrahépatiques sont comprimées.
 - une hypertension portale par compression du système porte.
 - une hypertension cave, par compression de la veine cave.
 - un syndrome de Budd-Chiari, par compression des veines sus-hépatiques.
- **La rupture** : souvent déclenchée par un traumatisme, elle peut se faire dans la plèvre, les voies biliaires ou la cavité péritonéale. Elle peut occasionner un choc anaphylactique mortel ou être moins bruyante se révélant à distance par une polykystose péritonéale secondaire.

4.2. LE KYSTE HYDATIQUE DES POUMONS (KHP)

Il est plus rapidement symptomatique et touche volontiers les enfants. Il se manifeste par des douleurs thoraciques accompagnées d'une toux et parfois de crises d'urticaires ou d'hémoptysies. La rupture dans les bronches provoque une vomique de liquide clair à saveur salée dans lequel sont retrouvés des débris parasitaires comparables à des peaux de raisin. Le KHP peut également s'infecter.

4.3. LES AUTRES LOCALISATIONS HYDATIQUES

Le KH peut atteindre tous les organes : rate, os, cerveau, cœur, rein, muscle, orbite... Les manifestations cliniques dépendent de l'organe touché.

La localisation osseuse est rare, mais grave. Le KH réalise une infiltration osseuse sans aucune limitation par bourgeonnement multivésiculaire, la localisation la plus fréquente est le rachis.

5. DIAGNOSTIC :

5.1. EXAMENS RADIOLOGIQUES

A. LES RADIOGRAPHIES STANDARDS :

Elles sont parfois évocatrices du diagnostic en montrant :

- **KHP :**
 - opacités homogènes arrondies en « boulet de canon » (kyste sain).
 - opacités surmontées par un croissant clair avec une membrane flottante à la surface du niveau hydroaérique (kyste vomiqué).
- **KHF :**
 - calcifications arciformes se projetant au niveau de l'hypocondre droit.
 - déformation en dôme de l'hémicoupole diaphragmatique droite.

B. L'ÉCHOGRAPHIE ABDOMINALE+++ :

Elle constitue l'examen de première intention. Elle est très utile au diagnostic des kystes hépatiques en montrant une collection d'échostructure liquide. Elle permet aussi de classer les kystes selon leurs stades évolutifs.

La classification la plus utilisée est celle de Gharbi et coll. (actualisée par celle de l'OMS) :

- Type I : kyste univésiculaire avec paroi propre
- Type II : kyste avec décollement de membrane
- Type III : kyste multivésiculaire
- Type IV : kyste pseudotumoral à contenu solide
- Type V : Kyste calcifié

C. LA TOMODENSITOMÉTRIE (SCANNER) :

Elle constitue l'examen fondamental dès qu'une décision chirurgicale est proposée.

D. L'IMAGERIE PAR RÉSONNANCE MAGNÉTIQUE (IRM) :

Elle est rarement utilisée pour le diagnostic du KHF non compliquée.

5.2. EXAMENS BIOLOGIQUES :

A. L'HYPER ÉOSINOPHILIE

Elle est inconstante, modérée et non spécifique. Elle est rencontrée surtout lors des fissurations.

B. LE DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE

Il constitue, quand il est possible de le faire, le diagnostic de certitude. Il est réalisé sur des pièces opératoires, dans le

liquide de vomique ou dans le liquide ramené par une ponction hépatique mal indiquée. On pourra, alors, observer des membranes, des scolex et des crochets.

La ponction exploratrice d'un kyste est formellement contre-indiquée, en raison du risque de dissémination avec apparition de foyers secondaires.

L'étude de la vitalité des kystes, effectuée par des colorations spéciales, permet d'apprécier le risque d'échinococcose secondaire.

C. LE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE :

Il se base sur la détection d'anticorps spécifiques. On associe souvent 2 techniques complémentaires : l'une qualitative et l'autre quantitative.

• Techniques qualitatives (de précipitation) :

- l'immunoélectrophorèse est une technique hautement spécifique permettant de mettre en évidence l'arc 5 caractéristique de l'hydatidose. Cependant, elle est peu sensible (moins de 50 %) et longue à réaliser.
- l'immuno-empreinte ou western blot de meilleure sensibilité et spécificité, est actuellement la technique de confirmation.

• Techniques quantitatives :

- L'Immunofluorescence indirecte se pratique sur des coupes de protoscolex et de membranes, elle est de moins en moins utilisée en pratique courante.
- L'Hémagglutination indirecte et l'ELISA (surtout employée dans les enquêtes de masse) sont sensibles (70 %) et moins spécifiques (10 % de faux positifs). Elles présentent l'avantage de pouvoir suivre d'évolution des titres des anticorps anti-hydatiques après traitement chirurgical.

Il faut cependant noter que les résultats des réactions sérologiques varient en fonction de la localisation et de l'état du kyste. Elles sont plus fréquemment positives lors des KHF que dans les KHP. Elles sont le plus souvent négatives quand les kystes sont calcifiés.

Au cours du suivi, une réascension du taux des anticorps peut être en faveur d'une récidive (échinococcose secondaire) ou de l'existence d'un second kyste méconnu.

6. TRAITEMENT :

Il reste essentiellement chirurgical. Le traitement chirurgical classique garde toute sa place dans les kystes compliqués, volumineux supérieurs à 10 cm ou évolués, de type IV ou V.

Le traitement percutané PAIR (Ponction, Aspiration, Injection, réaspiration) est utilisé pour les kystes non compliqués, de type I, II et quelques kystes de type III.

Le traitement médical à base de dérivés imidazolés (Mébendazole, Albendazole) est proposé pour les patients inopérables, en cas de kystes multiples ou en couverture d'une intervention à haut risque d'essaimage de protoscolex pour prévenir l'échinococcose secondaire.

7. PROPHYLAXIE :

Un programme rigoureux de prophylaxie et de lutte s'impose dans notre pays pour réduire les dommages provoqués par *E. granulosus* au niveau de la santé des individus et de l'économie nationale.

La prophylaxie doit être menée à 3 niveaux :

7.1. HÔTES INTERMÉDIAIRES

- Contrôle vétérinaire des bêtes abattues aux abattoirs et le contrôle de l'abattage clandestin
- Saisie et destruction effective des viscères parasités par incinération
- Favoriser l'abattage des animaux jeunes
- Éviter la contamination du troupeau : un nouveau vaccin (EG95®) a été tenté chez les ovins avec une protection de 95 %

7.2. HÔTE DEFINITIF

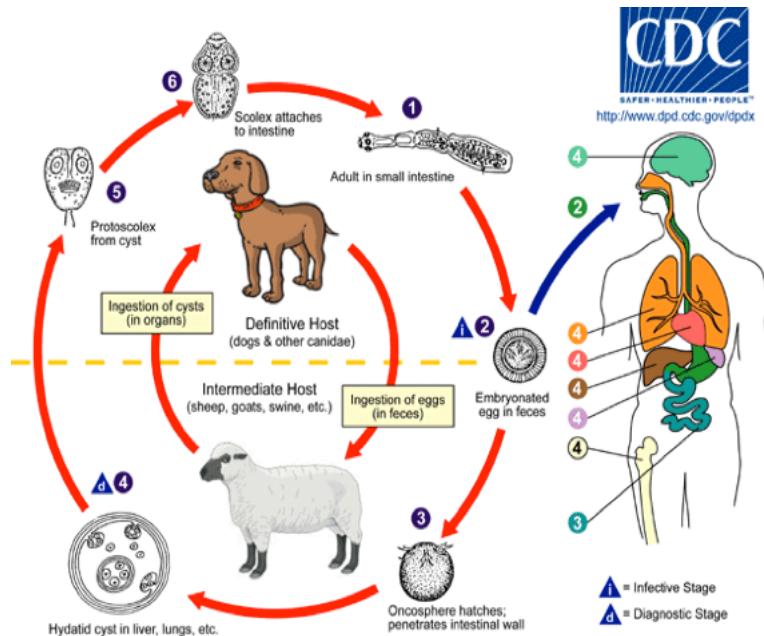
- Supprimer les chiens errants +++
- Dépister et traiter les chiens domestiques par le Praziquantel ou par des ténifuges (en désinfectant les déjections après la cure). Ces cures doivent être renouvelées trois fois par an.
- Empêcher l'accès des abattoirs aux chiens et ne jamais mettre à leur disposition les viscères hydatifères.

7.3. HÔTE ACCIDENTEL

- Application de mesures d'hygiène générale : lavage des mains et des crudités et contrôle de l'eau de boisson.
- Action informative et éducation du public (particulièrement les personnes qui interviennent dans le cycle : éleveurs, bouchers...) par des projections, des affiches, des réunions d'information, afin qu'ils ne contribuent pas à l'entretien du cycle en mettant à la disposition des chiens les organes infestés par le kyste hydatique.
- Brûler ou bouillir pendant au moins 15 min les viscères parasités.
- En zone d'endémie, il est souhaitable de pratiquer parmi les populations à risque (Bergers...) un dépistage sérologique systématique.

ANNEXE

Cycle d'Echinococcus granulosus



EVALUATION FORMATIVE

QCM : Concernant l'échinococcosse kystique hépatique :

- A- elle est fréquente dans le nord-ouest de la Tunisie
- B- l'homme est un hôte intermédiaire accidentel
- C- la contamination de l'homme se fait par ingestion de viande insuffisamment cuite
- D- elle est causée par une larve d'un nématode
- E- elle peut être prévenue par la prise d'une chimiothérapie

Cas clinique :

Un agriculteur originaire de Siliana, âgé de 40 ans, présente une tumeur indolore de l'hypocondre droit, sans fièvre, sans altération de l'état général.

Question n° 1 : Quelle est la parasitose que vous évoquez en premier lieu ?

Question n° 2 : Précisez le parasite responsable et citez deux modes de contamination possibles.

Question n° 3 : Quels sont les examens à demander pour étayer le diagnostic ?

Contamination indirecte par ingestions de crudités souillées par les embryophores ou directe par contact avec le chien (carresse...).

QCM : A-B
Réponse : Hydatidose

QCM : A-B
Réponse : Hydatidose

Réponses :

LES TREMATODES

INTRODUCTION

Elles sont dues à la présence, dans l'organisme humain, de vers plats non segmentés : les trématodes.

Les trématodes, comme les cestodes, sont des vers à cuticule fragile, dépourvus de chitine.

Leurs hôtes intermédiaires sont des mollusques aquatiques

On distingue :

- Les schistosomes ou bilharzies.
- Les distomes tels que *Fasciola hepatica*.

LES BILHARZIOSES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire les différents stades parasitaires des schistosomes.
2. Décrire le cycle évolutif des schistosomes en précisant le mode de contamination de l'homme.
3. Expliquer les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les différentes phases de la maladie.
4. Diagnostiquer une bilharziose en se basant sur des arguments épidémiologiques, cliniques, radiologiques et biologiques.
5. Prescrire les examens permettant de diagnostiquer une bilharziose urinaire ou intestinale.
6. Préciser le traitement des schistosomoses.
7. Préciser les mesures de prophylaxie indiquées pour les bilharzioses.

INTRODUCTION

Les bilharzioses ou schistosomoses réalisent la **deuxième endémie parasitaire** mondiale après le paludisme.

Ce sont des affections parasitaires essentiellement humaines dont l'hôte intermédiaire est représenté par des mollusques d'eau douce. Elles sont dues à des vers plats, les bilharzies ou schistosomes, parasites des plexus veineux viscéraux.

Les bilharzioses sévissent en foyers dans les zones tropicales et subtropicales où elles posent un problème de santé publique.

En Tunisie, seule la bilharziose urinaire existait ; elle touchait principalement l'aire d'oasis limitée par le triangle Gafsa-Tozeur-Kebili. La campagne d'élimination a entraîné une régression de la maladie puis sa disparition en 1981. Dans les foyers concernés, *Bulinus truncatus* était l'hôte intermédiaire. Ce mollusque existe encore dans certains foyers.

1. LE PARASITE :

Les Schistosomes sont des plathelminthes appartenant à la classe des trématodes (vers plats non segmentés). Ils sont à sexes séparés.

Six espèces sont incriminées en pathologie humaine : *Schistosoma (S.) haematobium*, *S. mansoni*, , *S. guineensis*, *S. japonicum* et *S. mekongi*.

1.1. LE VER ADULTE

Les adultes sont des vers blanchâtres mesurant de 10 à 15 mm de long. Le corps du mâle est plat. Il forme par enroulement le canal gynécophore où vient se loger la femelle. La femelle est cylindrique et plus longue que le mâle. Les Schistosomes se nourrissent de sang.

1.2. LES ŒUFS

Les œufs pondus par la femelle sont ovalaires et munis d'un **éperon** qui est terminal pour *S. haematobium* et *S. intercalatum*, latéral pour *S. mansoni*, *S. japonicum* et *S. mekongi*. Les œufs sont embryonnés à la ponte.

1.3. LES LARVES

- Le miracidium: il s'agit du premier stade larvaire après éclosion de l'œuf. C'est une larve ciliée mesurant 100µm.
- la furcocercaire : c'est la forme infestante, elle mesure 500µm et se termine par une queue bifide

2. LE CYCLE PARASITAIRE :

Les Schistosomes adultes sont des vers **sanguicoles** vivant dans la lumière des veinules. Après maturation et accouplement qui se font dans les plexus veineux portes, les vers migrent vers les plexus veineux splanchniques, chaque espèce ayant un territoire préférentiel, mais non exclusif :

- **VÉSICAL** pour *S. haematobium*
- **intestinal** pour *S. mansoni*
- **hémorroïdaire** pour *S. intercalatum*
- **péri-rectal** pour *S. intercalatum* et *S. guineensis*
- variable pour *S. japonicum* et *S. mekongi*.

Les œufs pondus par la femelle doivent sortir des capillaires et traverser la paroi d'un organe creux pour être éliminés dans le milieu extérieur avec les excréta (selles ou urines en fonction de l'espèce de Schistosome).

L'œuf évacué avec les excréta dans l'**eau douce**, éclot et libère un embryon cilié : le **miracidium**. Cet embryon va à la rencontre de son hôte intermédiaire qui est un mollusque spécifique. Chez ce dernier, le parasite se multiplie de façon asexuée, passant par plusieurs stades évolutifs : sporocyste primaire, **sporocyste** secondaire puis furcocercaire. Les furcocercariaires représentent les formes **infestantes** pour l'homme. Les furcocercariaires quittent le mollusque aux heures chaudes de la journée, nagent à la surface de l'eau et sont attirées par les sécrétions cutanées de l'homme.

La contamination de l'homme se fait par **voie transcutanée**. La pénétration du furcocercaire s'accompagne de la perte de sa queue. Le parasite prend alors le nom de **Schistosomule** qui migre par voie sanguine et gagne après une étape pulmonaire, le cœur gauche puis le foie. C'est dans les plexus veineux porte que se fait la maturation.

3. ÉPIDÉMIOLOGIE :

La répartition de l'endémie bilharzienne se fait par foyer et elle est conditionnée par :

- La présence de l'hôte intermédiaire
- La compatibilité génétique avec le parasite
- Le comportement de l'homme (baignades et activités ménagères en eau douce).

L'hôte intermédiaire est un mollusque d'eau douce du genre :

- *Bulinus* pour *S. haematobium* et *S. intercalatum*.
- *Biomphalaria* pour *S. mansoni*, la répartition géographique est représenté dans le tableau en annexe

4. PHYSIOPATHOLOGIE :

4.1 ACTION ANAPHYLACTIQUE

Au cours de la phase d'invasion on observe un métabolisme intense des parasites et une libération en abondance dans le flux circulatoire d'antigènes variees dont certains ont des propriétés allergéniques qui expliquent la plupart des signes cliniques apparaissant à cette phase.

4.2 ACTION MECANIQUE

La forme de l'œuf, notamment la présence d'éperon, est à la base des explications physiopathologiques. En effet, les œufs atteignent les capillaires les plus fins, traversent les épithéliums des parois vasculaires de l'organe de prédilection de l'espèce en cause, provoquant des microsaignements qui expliquent l'hématurie et la présence du sang dans les selles. Certains œufs restent bloqués dans les tissus et sont à l'origine de la formation de granulomes bilharziens qui peuvent évoluer vers la calcification.

5. CLINIQUE :

Quelle que soit l'espèce de Schistosome en cause, les manifestations cliniques se déroulent en trois phases correspondant à l'évolution des différents stades du parasite chez l'homme :

- Une phase d'infestation cercarienne, d'expression cutanée
- Une phase d'invasion correspondant à la migration des parasites, d'expression immunoallergique.
- Une phase de localisation viscérale consécutive à la ponte des œufs et à leur migration

5.1. LA PHASE D'INFESTATION CERCARIENNE

La pénétration transcutanée des furcocercariaires peut entraîner une dermatite allergique caractéristique avec prurit, érythème et apparition de papules.

Cette phase dure 1 à 2 jours pour *S. mansoni*. Elle est souvent inapparente pour *S. haematobium*.

5.2. LA PHASE D'INVASION TOXEMIQUE

Les signes cliniques sont très variables en intensité et en durée :

- une fièvre à plus de 39 °C parfois isolée
- des signes cutanés : prurit, cédèmes fugaces
- des myalgies, des arthralgies
- des signes pulmonaires : toux sèche
- des signes digestifs : douleurs abdominales
- des signes neurologiques : céphalées intenses.

L'évolution est rapidement favorable pour *S. haematobium* et *S. mansoni*.

5.3. LA PHASE DE LOCALISATION VISCIERALE

Plusieurs manifestations peuvent être observées selon la localisation préférentielle des espèces en cause :

a. La Schistosomose urogénitale :

Elle est due à *S. haematobium*. **L'hématurie** est le signe le plus fréquent. C'est une hématurie terminale, associée ou non à des signes de cystite (pollakiurie, brûlures mictionnelles). Parfois une hémosperrmie ou une métrorragie sont révélatrices.

En cystoscopie, les images sont pathognomoniques et différentes selon la phase évolutive.

La radiographie de l'arbre urinaire sans préparation (AUSP) permet d'observer des calcifications vésicales ou urétérales. La vessie peut être entièrement calcifiée donnant l'image classique de la « vessie porcelaine ».

L'uropathie intraveineuse (UVI) est indiquée pour le bilan des lésions et l'évaluation du retentissement rénal en amont.

Sur le plan génital, les atteintes s'expriment chez l'homme par une urétrite, une prostatite avec douleurs périnéales, une orchépididymite... Chez la femme, on peut observer une cervicite, une endométrite ou une annexite.

La dégénérescence de la vessie bilharzienne et la stérilité (masculine et féminine) sont des complications de la schistosomose urogénitale en zone d'endémie.

b. Les schistosomoses intestinales :

Elles sont essentiellement dues à *S. mansoni* et à *S. intercalatum* et sont souvent silencieuses. Quand elles sont symptomatiques, la principale manifestation est la **diarrhée**. Des stries de sang entourant les selles sont parfois observées en cas d'infestation massive. La rectosigmoidoscopie et la colonoscopie permettent d'apprecier le siège et le nombre des lésions : ulcérées voire des polypes saignant facilement au contact.

c. Les schistosomoses hépatospléniques :

Les manifestations hépatospléniques sont communes à toutes les espèces avec des intensités variables. Les œufs se retrouvent dans les espaces portes entourés d'un granulome. Ceci entraîne après sclérose **une hypertension portale par bloc présinusoidal** associant splénomégalie et varices œso-gastriques. La bilharziose est la première cause d'hypertension portale dans le monde.

L'atteinte hépatique est :

- rapide et grave pour *S. japonicum* et *S. mekongi*
- fréquente et sévère pour *S. mansoni*
- fréquente et bénigne pour *S. intercalatum*
- rare et bénigne pour *S. haematobium*.

6. DIAGNOSTIC :

Le diagnostic sera orienté par la notion de bain infectant en zone d'endémie.

6.1 PENDANT LA PHASE DE MIGRATION ET DE MATURATION

a. La numération formule sanguine :

L'hyperéosinophilie a une valeur d'orientation qui doit conduire à la demande d'examens sérologiques. L'hyperéosinophilie est élevée allant de 8000 à 10000 PNE/mm³ atteignant son maximum à la 6ème semaine et devenant modérée à la phase d'état (1000 à 5000 PNE/mm³).

B. La sérologie : permet le diagnostic en phase d'invasion à partir de la 2^{ème} semaine et en phase d'état en cas de négativation du diagnostic parasitologique.

6.2 PENDANT LA PHASE D'ÉTAT

L'élimination des œufs permet un **diagnostic parasitologique direct**, seul moyen de certitude. Cet examen se positive 6 à 8 semaines après la contamination.

- Dans les urines pour *S. haematobium*. L'examen du culot de centrifugation des urines entre lame et lamelle permet de mettre en évidence les œufs de *S. haematobium*. Les urines sont recueillies après un effort physique ou de 24 heures.
- Dans les selles, les six espèces peuvent être mises en évidence.
- La biopsie rectale peut être utile pour la mise en évidence des œufs.

7. TRAITEMENT :

Le praziquantel (Biltricide®) est schistosomicide par téanisation de la musculature des vers adultes. Il a un spectre étendu à toutes les bilharzioses :

- 40 mg/kg en prise unique pour *S. haematobium* et *S. mansoni*.
- 30mg/kg x 2/j pendant un jour, pour les 3 autres espèces.

Le traitement des séquelles reste chirurgical.

8. PROPHYLAXIE :

Il faut distinguer :

8.1 LA PROPHYLAXIE INDIVIDUELLE

Elle s'applique à des séjours temporaires en zone d'endémie en évitant le contact avec les collections d'eau douce.

8.2 LA PROPHYLAXIE COLLECTIVE

Elle est une stratégie de lutte dans les zones d'endémie et se base sur :

- Le dépistage et le traitement des sujets parasités
- L'amélioration de la gestion sanitaire de l'élimination des excréta humains
- L'éducation sanitaire
- La lutte contre les mollusques par l'utilisation des molluscicides (niclosamide).

EVALUATION FORMATIVE

Question n° 1 :

Quels sont les examens demandés les plus utiles pour le diagnostic d'une bilharziose en phase d'invasion ?

- A. Recherche des œufs dans les urines
- B. Recherche des œufs dans les selles
- C. Sérologie bilharzienne
- D. Numération formule sanguine
- E. Radiographie abdominale

Question n° 2 :

Le diagnostic de certitude de la bilharziose urinaire repose sur la recherche des œufs :

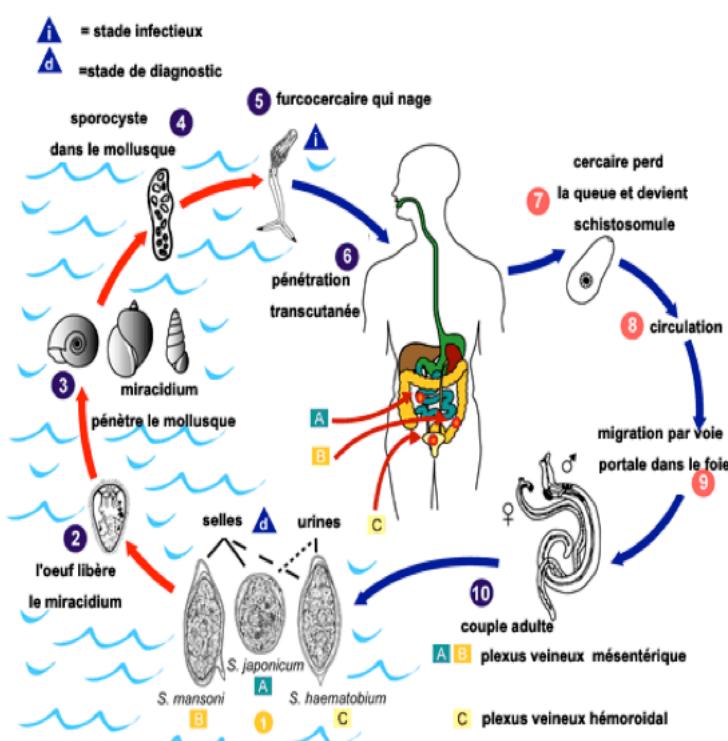
- A. Dans les urines de 24 h
- B. Dans les selles
- C. Sur la biopsie rectale
- D. Sur un frottis du col utérin
- E. Dans les urines recueillies après un effort

Question n° 1 : C-D Question n° 2 : A-C-E

Réponses :

ANNEXE

Cycle de *Schistosoma* sp.



LA DISTOMATOSE HEPATO-BILIAIRE À FASCIOLA HEPATICA

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire les différents stades parasitaires de *Fasciola hepatica*.
2. Décrire les différentes étapes du cycle biologique de *Fasciola hepatica*, en déduire le mode de contamination de l'homme par ce parasite.
3. Diagnostiquer une distomatose à *Fasciola hepatica* en se basant sur des arguments épidémiologiques, cliniques et biologiques.
4. Préciser les indications et les limites des examens complémentaires aux 2 phases de la Fasciolose.
5. Traiter une distomatose à *Fasciola hepatica*.
6. Proposer des mesures prophylactiques contre la distomatose à *Fasciola hepatica*.

INTRODUCTION

Les distomatoses sont des zoonoses dues au développement chez les mammifères et accidentellement l'homme de vers plats non segmentés appartenant à la classe des Trématodes : les Douves.

En fonction de l'organe parasité, on distingue :

- Les distomatoses hépatobiliaires dues à :
 - *Fasciola hepatica*, grande douve du foie
- Les distomatoses intestinales.
- Les distomatoses pulmonaires.

Les hôtes intermédiaires des distomatoses représentés par des mollusques d'eau douce sont d'une grande spécificité, ce qui conditionne leur répartition géographique.

En Tunisie, les distomatoses humaines sont exceptionnelles. Seule la distomatose hépatique à *Fasciola hepatica* est diagnostiquée de façon sporadique, principalement au nord du pays et dans la région de Tozeur.

1. DÉFINITION :

La distomatose hépatique est une zoonose cosmopolite touchant essentiellement les bovins et les ovins; l'homme n'est qu'accidentellement atteint. Elle est provoquée par *Fasciola hepatica* ou grande douve du foie. Elle sévit dans des foyers où sont réunis la collection d'eau douce, le mollusque (la limnée), les végétaux semi-aquatiques et l'élevage de bétail.

2. LE PARASITE :

2.1. LE VER ADULTE

Fasciola hepatica est un ver plat foliacé de 2 à 3 cm de long sur 0,8 à 1,5 cm de large. Il porte une ventouse buccale et une ventouse ventrale située à 3 ou 4 mm de la précédente. C'est un ver hermaphrodite dont la longévité peut aller jusqu'à 10 voire 12 ans. Il vit principalement dans les canaux biliaires et se nourrit de mucus et de sang.

2.2. LES ŒUFS

Les œufs de *Fasciola hepatica* sont ovoïdes de 140 sur 80 µm, operculés, de couleur brunâtre et à paroi lisse. Ils ne sont pas embryonnés à la ponte.

2.3. LES LARVES

- le miracidium : il s'agit du premier stade larvaire après éclosion de l'œuf.
- la cercaire : pourvues d'une queue et est capable de nager dans l'eau
- la métacercaire enkystée : forme larvaire infestante, elle résulte de l'enkytisme de la cercaire à la face inférieure des feuilles des végétaux semi-aquatiques.

3. CYCLE ÉVOLUTIF :

Fasciola hepatica est un parasite des voies biliaires. Les adultes pondent des œufs non embryonnés qui sont éliminés dans les matières fécales des animaux parasités. Ces œufs continuent leur maturation dans l'eau puis libèrent un embryon cilié : le **miracidium**. Ce dernier pénètre dans le mollusque d'eau douce, hôte intermédiaire, la limnée, où il continue son cycle de développement en passant successivement par les stades **sporocystes, rédies et cercaires**.

Les cercaires libérés du mollusque nagent grâce à leur extrémité caudale et vont s'enkyster sur des plantes semi-aquatiques donnant des **métacercaires infestantes**.

Les plantes les plus fréquemment à l'origine de la contamination de l'homme sont représentées par le cresson et le pissenlit sauvages, qui sont consommés volontiers crus en salade.

La métacercaire ingérée par l'hôte définitif (un bovin, un ovin ou l'homme accidentellement) libère dans l'intestin grêle une **distomule**. Celle-ci traverse l'intestin, la cavité péritonéale, la capsule de Glisson puis le parenchyme hépatique pour parvenir, enfin dans les voies biliaires où elle se transforme en douve adulte. Trois mois environ après le repas infestant, les douves pondent des œufs dans les canaux biliaires.

Cette migration explique la possibilité de douves erratiques, entraînées par la circulation sanguine, dans des localisations inhabituelles (œil, poumons, tissu cellulaire sous-cutané...).

4. ÉPIDÉMIOLOGIE :

La distomatose hépatique humaine est une maladie cosmopolite. Elle prend volontiers un caractère épidémique familial survenant classiquement à la fin de l'automne. L'infestation de l'homme est accidentelle et occasionnée par l'ingestion fortuite d'herbes sauvages consommables telles que le cresson et l'oxalis. Elle est en général peu intense. Les ovins et les bovins sont, par contre, plus fréquemment infestés du fait de leur type d'alimentation.

En Tunisie, la maladie humaine est rare, environ 40 cas ont été rapportés depuis 1940, aussi bien dans le Nord, le centre et les Oasis du Sud. Le bétail ne semble pas excessivement infesté, le mouton tunisien l'est dans une proportion de 0,83 à 10 % tandis que les bovins le sont dans une proportion de 8 à 13 %.

5. CLINIQUE :

La distomatose hépatique évolue en 2 phases :

5.1. LA PHASE D'INVASION :

Elle correspond à une phase toxi-allergique, contemporaine des migrations de la douve.

Dans les cas typiques, cette phase peut associer, deux semaines après le repas infestant, les signes suivants :

- une hépatomégalie douloureuse,
- une fièvre,
- des troubles digestifs : nausées, vomissements, diarrhée...,
- des manifestations allergiques : urticaire, prurit, arthralgie...,
- une asthénie, signe constant, dès le début, et persistant tout au long de l'évolution,
- un amaigrissement,
- une pâleur cutanéo-muqueuse, parfois ictere.

À l'abdomen sans préparation (ASP), on peut noter une élévation de la coupole diaphragmatique droite et dans certains cas un épanchement pleural.

Cette phase d'invasion dure 3 mois environ, après laquelle s'installe :

5.2. LA PHASE D'ÉTAT OU CHRONIQUE :

Elle correspond à l'installation des vers adultes dans les canaux biliaires qui commencent à effectuer leurs pontes. Les douves adultes provoquent un certain degré d'obstruction, une réaction inflammatoire des voies biliaires et une fibrose aboutissant à la sclérose.

Cette phase est caractérisée cliniquement par l'atténuation progressive des signes de la phase d'invasion et l'apparition d'une symptomatologie pseudo-lithiasique (colique hépatique et ictere) et l'angiocholite (inflammation des voies biliaires).

L'opacification des voies biliaires peut montrer des images lacunaires à contours dentelés.

Cette phase peut durer 3 à 10 ans.

Les formes inapparentes sont fréquentes et découvertes fortuitement au cours d'interventions chirurgicales ou lors d'enquêtes systématiques.

6. DIAGNOSTIC :

La phase d'invasion est caractérisée par la difficulté du diagnostic du fait du polymorphisme de la symptomatologie et de la négativité des examens coprologiques, les douves n'étant pas encore adultes pour pondre. Seule la sérologie permet le diagnostic à ce stade de la maladie.

6.1. DIAGNOSTIC D'ORIENTATION

Pendant la phase d'invasion, l'hyperéosinophilie sanguine peut atteindre 50-70 % atteignant son maximum au 3^{ème} mois. On note également une hyperleucocytose importante pouvant atteindre 30 000 à 40 000 Gb/mm³.

Pendant la phase d'état, l'hyperéosinophilie tend à devenir subnormale. On peut noter également une anémie.

6.2. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

a. Le diagnostic parasitologique direct :

La mise en évidence des œufs de *F. hepatica* se fait soit dans la bile, prélevée par tubage duodénal, soit dans les selles.

La recherche des œufs dans les selles exige des examens répétés et l'utilisation de méthodes de concentration particulières.

Il faut savoir que :

- L'examen parasitologique des selles reste négatif pendant la phase d'invasion (les 3 premiers mois de l'affection).
- Pendant la phase d'état, l'examen parasitologique des selles peut être aussi négatif, l'homme étant un hôte accidentel auquel les douves ne sont pas bien adaptées et chez qui elles n'atteignent pas souvent leur maturité sexuelle.

b. Le diagnostic sérologique :

- La réaction d'hémagglutination indirecte (HAI) est très sensible et permet de détecter de faibles taux d'anticorps.
- L'immunofluorescence indirecte (IFI) se pratique sur des coupes à la congélation de douves adultes recueillies dans les abattoirs. Elle se positive précocement à partir du 20^{ème} jour.

La sérologie a un intérêt diagnostique et pronostique dans la surveillance post-thérapeutique.

7. TRAITEMENT :

Une thérapeutique précoce avant l'installation des douves dans les voies biliaires reste la condition essentielle du succès.

Le traitement se base sur le Triclabendazole per os à la posologie de 10-12mg/Kg/j pendant un ou deux jours. Le Praziquantel, à la dose de 50 mg/kg/jour, est beaucoup moins utilisé.

L'efficacité du traitement est suivie par des contrôles sérologiques au 1^{er}, 3^{ème} et 6^{ème} mois. On observe dans les 6 à 8 semaines après le traitement, une augmentation transitoire des anticorps spécifiques puis régression progressive et négativation entre 7 et 12 mois. La stabilité des anticorps au 6^{ème} mois est un indice d'échec thérapeutique et impose de nouvelles cures, avec parfois l'obligation de recourir à l'extraction chirurgicale des douves.

8. PROPHYLAXIE :

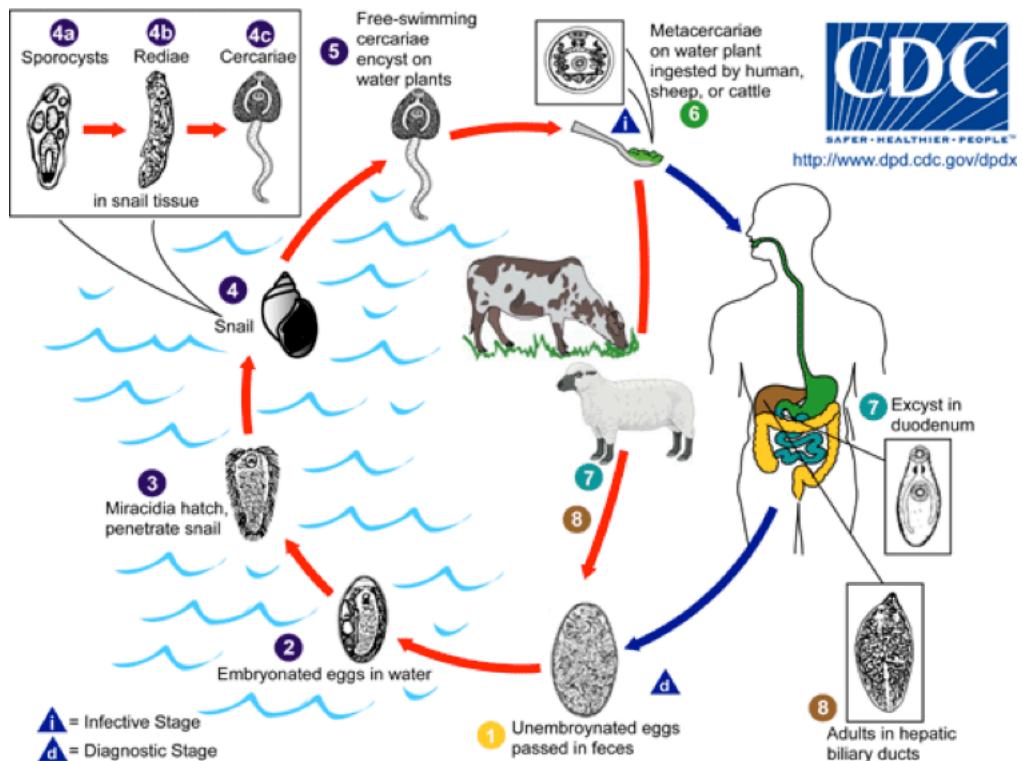
La seule mesure individuelle pour éviter toute contamination par *Fasciola hepatica* est l'interdiction de consommation de crudités sauvages et la consommation exclusive de cresson, pissenlit, oxalis provenant d'exploitation sous contrôle sanitaire.

Les mesures prophylactiques collectives peuvent concerner :

- le dépistage et le traitement des troupeaux infestés
- la lutte biologique, écologique et chimique contre les mollusques hôtes intermédiaires
- la protection des cressonnieres du troupeau et des limnées.

ANNEXE

Cycle de *Fasciola hepatica*



EVALUATION FORMATIVE

Question : *Fasciola hepatica* :

- A. Est un ver hermaphrodite
- B. Mesure 0.5 mm de long
- C. Se transmet à l'homme par consommation de végétaux sauvages
- D. Peut provoquer une obstruction des voies biliaires
- E. Engendre une hyperéosinophilie

Cas clinique :

Une femme de 25 ans consulte pour une fièvre à 39.8 °C, une urticaire et des douleurs de l'hypocondre droit. L'interrogatoire révèle la consommation de plantes sauvages un mois auparavant. Une distomatose hépatique est suspectée.

a- Quel signe pourrait révéler l'hémogramme ?

b- Comment confirmer le diagnostic?

Responses :	Question a : une hyperéosinophilie	Question b : La serologie
Cas clinique :		

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire les différentes formes de l'agent pathogène de l'amœbose.
2. Décrire l'épidémiologie de l'amœbose et sa transmission par voie orale.
3. Décrire la physiopathologie de l'amoëbose et ses conséquences cliniques : amœbose intestinale, hépatique et pleuro-pulmonaire.
4. Demander les examens complémentaires nécessaires selon les formes d'amœbose les examens complémentaires utiles, savoir interpréter l'examen parasitologique des selles (amibes pathogènes; amibes non pathogènes) et le sérodiagnostic.
5. Prescrire le traitement des différentes formes cliniques de l'amoëbose
6. Enumérer les mesures préventives de l'amoëbose

INTRODUCTION

L'amœbose, autrefois nommée amibiase, est, comme l'a défini l'OMS en 1997, l'état dans lequel l'organisme humain héberge *Entamoeba histolytica*, avec ou sans manifestations cliniques.

C'est l'une des trois principales maladies parasitaires responsables de mortalité dans le monde (après le paludisme et la bilharziose).

C'est une maladie liée au péril fécal.

1. AGENT PATHOGÈNE :

Entamoeba (E.) histolytica est un protozoaire digestif de la classe des rhizopodes. Il se présente sous trois formes évolutives :

- Une forme végétative ou trophozoïte de type *minuta*
- Une forme végétative de type *histolytica*
- Une forme kystique

1.1. TROPHOZOÏTES

La forme végétative de type *minuta* est la forme de multiplication du parasite. Elle mesure 10 à 15 µm de diamètre. Elle présente un cytoplasme granuleux et un noyau caractéristique de l'espèce avec une chromatine marginée à la périphérie et un caryosome punctiforme central. Le déplacement du trophozoïte se fait dans une même direction grâce à l'émission de pseudopodes avec une mobilité peu vive.

La forme végétative de type *histolytica* est la forme pathogène du parasite. Elle mesure 12 à 40 µm de diamètre. Elle présente les mêmes caractéristiques nucléaires que la forme *minuta*. Elle émet des pseudopodes qui lui permettent de se déplacer et de phagocytter des bactéries, des particules alimentaires et des hématies. Sa mobilité est vive.

1.2 KYSTE

Le kyste est la forme de résistance et de dissémination du parasite. Il mesure 12 à 14 µm de diamètre. Il est limité par une membrane réfringente et contient 1 à 4 noyaux (1 ou 2 pour les kystes immatures, 4 pour le kyste mûr). La structure nucléaire est identique à celle du noyau du trophozoïte. Le chlore aux doses habituelles de la désinfection de l'eau n'altère pas les kystes.

Les caractères morphologiques des trophozoites et des kystes permettent de les identifier et de les différencier des autres amibes parasites de l'intestin de l'homme, mais non pathogènes telles qu'*Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nanus*, *Pseudolimax butschlii*. Ces amibes non pathogènes, lorsqu'elles sont retrouvées dans les selles, ne doivent pas être considérées comme responsables des troubles, mais **signent une mauvaise hygiène fécale du patient**.

En revanche, les caractères morphologiques observables à l'examen parasitologique des selles ne permettent généralement pas de faire la différence entre *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* ou *Entamoeba moshkovskii*, deux amibes identiques à la première, mais non pathogènes. D'autres examens notamment la biologie moléculaire et l'étude immuno-enzymatique sont alors nécessaires pour faire ce diagnostic différentiel.

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

2.1. CYCLE COMMENSAL

Entamoeba histolytica est un parasite strictement humain à cycle monoxène. Le kyste à 4 noyaux, ingéré par un individu, résiste au suc gastrique. Il perd sa coque dans l'intestin et se transforme en une masse plasmodiale à 4 puis 8 noyaux. Chaque noyau s'entoure de cytoplasme et l'ensemble donne huit amoebules qui se nourrissent de bactéries, de débris alimentaires et se divisent par scissiparité. Ces trophozoites de type *minuta* colonisent le colon et vivent en commensales. Sous l'influence de divers facteurs, les amibes s'enkystent donnant des kystes à 1 puis 4 noyaux. Il s'agit de formes de résistance qui seront éliminées avec les matières fécales. La résistance de ces kystes et la conservation de leur pouvoir infestant dans le milieu externe vont permettre la contamination d'autres individus. Ce cycle est observé chez les porteurs asymptomatiques qui constituent un réservoir en disséminant le parasite.

2.2. CYCLE PATHOGÈNE

Sous l'influence de certains facteurs encore mal connus, la forme végétative de type *minuta* se transforme en une forme virulente : la forme *histolytica*. Cette forme exerce son action nécrotique tout en se multipliant activement. Cette forme n'intervient pas dans la transmission, mais dans la genèse de la maladie.

3. ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES :

L'amœbose est une maladie cosmopolite avec une prédisposition pour les zones chaudes inter-tropicales mais aussi en zones tempérées.

Seul l'homme est réservoir de parasites. Le réservoir est représenté par les sujets porteurs de kystes. La transmission est directement en rapport avec la souillure fécale. Elle peut s'effectuer par les mains sales des porteurs de kystes lors de la manipulation des denrées alimentaires, les crudités contaminées pendant la culture (épandage d'engrais humains), l'eau contaminée, les mouches... Les pratiques sexuelles orales et anales sont un facteur de risque de transmission.

L'amœbose affecte des patients de tous les âges et la prévalence dépend étroitement des conditions socio-économiques et sanitaires.

4. PHYSIOPATHOLOGIE :

L'adhésion à la muqueuse intestinale d'*E. histolytica* forme *histolytica* est due à des adhésines présentes à la surface de l'amibe. La destruction tissulaire qui suit l'adhésion et la lyse des cellules épithéliales du revêtement muqueux est due à des mécanismes multiples (de nombreux enzymes protéolytiques ont été identifiés chez *E. histolytica*). Des ulcérations apparaissent.

De proche en proche, la nécrose gagne la sous-muqueuse entraînant le classique abcès en bouton de chemise. Après lésion des vaisseaux, les amibes sont embolisées dans le courant sanguin portal vers le foie essentiellement.

La poursuite de l'infection et la diffusion éventuelle à d'autres tissus dépendent en partie de la réponse immunitaire locale de l'hôte (rôle aggravant des corticoides).

5. CLINIQUE :

On distingue suivant la localisation :

- L'amœbose intestinale
- L'amœbose hépatique
- L'amœbose pleuropulmonaire.

5.1. AMŒBOSE INTESTINALE

A. AMŒBOSE INTESTINALE AIGUË :

- La forme dysentérique est rare, mais la plus typique. Elle se caractérise par :

- des épreintes; ce sont des douleurs abdominales à type d'épreintes qui débutent dans la région cæcale et qui parcourent le cadre colique jusqu'à l'anus où elles déterminent une envie impérieuse d'aller à la selle,
- des ténesmes, contractures douloureuses du sphincter anal, associées à de faux besoins,
- des exonérations afécales, faites de glaires muco-purulentes et de sang «crachats dysentériques».

En contraste avec les causes bactériennes de dysenterie, la fièvre n'est pas commune et n'est présente que chez 1/3 des patients.

- La forme diarrhéique est la plus fréquente (80-90 % cas). Elle est caractérisée par des douleurs abdominales à type de coliques associées à une diarrhée liquide glaire-sanglante, volontiers impérieuse. Le cadre colique est douloureux à la palpation.

La rectosigmoïdoscopie objective une rectite diffuse. La muqueuse est érythémateuse, parsemée d'un piqueté hémorragique et/ou d'ulcération superficielle soit isolées en tête de furoncle ou en «coups d'ongle», soit confluentes en cartes de géographie.

Le diagnostic différentiel se pose avec :

- la dysenterie bacillaire (shigelles, salmonelles...),
- les maladies inflammatoires du côlon +++.

B. AMŒBOME :

C'est une tumeur inflammatoire du côlon à évolution chronique.

Le lavement baryté et la colonoscopie montrent un rétrécissement concentrique du colon.

Le diagnostic différentiel se pose essentiellement avec le cancer colique.

5.2. AMŒBOSE HÉPATIQUE

La localisation hépatique est toujours secondaire à une contamination colique mais il peut apparaître à distance de l'épisode dysentérique qui peut ne pas être retrouvé à l'anamnèse.

Elle se définit par l'embolisation d'*E. histolytica* dans le foie par voie porte. Ces embolies créent des microlésions disséminées, à partir desquelles va se produire une nécrose focale dont l'extension réalise l'amœbose hépatique collectée : c'est l'abcès amibien du foie.

La forme classique réalise une hépatomégalie douloureuse et fébrile (triade de Fontan).

Les examens biologiques mettent en évidence une accélération de la vitesse de sédimentation supérieure à 50 mm à la 1^{ère} heure et une hyper leucocytose à polynucléaires neutrophiles. Le bilan fonctionnel hépatique n'est pas perturbé.

L'échographie hépatique montre une collection d'échostructure liquide, précise la localisation du point déclive idéal de ponction et assure une surveillance sous traitement.

La ponction diagnostique (ponction écho-guidée) retire un liquide de couleur chocolat, inodore, bactériologiquement stérile, contenant rarement des amibes.

Trois diagnostics différentiels doivent être discutés :

- Les abcès à pyogènes : L'absence de réponse au traitement antiamibien impose à la 72^{ème} heure une ponction avec étude cytobactériologique. Le pus est jaunâtre ou verdâtre contrastant avec le pus chocolat d'un abcès amibien.
- Le carcinome hépatocellulaire (CHC) : Dans sa forme fébrile, le CHC peut simuler un abcès. L'échographie et la cytoponction permettent le diagnostic.
- Le kyste hydatique suppuré : L'immunologie hydatique doit être pratiquée systématiquement avant toute ponction diagnostique.

5.3 AMŒBOSE PLEURO-PULMONAIRE

Elle est presque toujours secondaire à une localisation hépatique. Elle se localise le plus souvent du côté droit. Le passage intrathoracique s'effectue par deux voies, la voie transphrénique et la voie vasculaire.

L'amœbose pleuro-pulmonaire se présente comme une pneumopathie aiguë de la base avec point de côté, toux, expectoration, fièvre et altération de l'état général. Une atteinte pleurale est possible. L'évolution peut se faire vers l'abcédation avec risque de fistule bronchique et évacuation d'une vomique «chocolat» caractéristique.

6. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

6.1. DIAGNOSTIC MICROSCOPIQUE

Seule l'identification microscopique de la forme histolytica hématophage dans les selles confirme la présence d'*E. histolytica* agent de l'amœbose. La présence des formes minuta et kystiques signe la possible infection par le parasite et ne confirme pas la maladie puisque l'examen microscopique ne permet pas dans ce cas de faire la différence avec *Entamoeba dispar* ou *Entamoeba moshkovskii*, deux amibes identiques morphologiquement, mais non pathogènes.

La recherche de la forme hématophage est donc l'élément capital du diagnostic de l'amœbose intestinale aiguë. Elle est

faite dans les mucosités glairo-sanglantes émises au cours de la crise de dysenterie amibienne ou trouvées à la surface des selles molles. Ces amibes sont très fragiles et doivent être recherchées dès l'émission des selles. Nous recommandons de répéter 3 fois l'examen parasitologique des selles ,à 2 ou 3 jours d'intervalle sur une période d'une dizaine de jours, pour augmenter la sensibilité du diagnostic. Les selles doivent être fraîchement émises. Elles peuvent également être observées à l'examen anatomopathologique de biopsie rectale.

Concernant les formes végétatives de type minuta et les formes kystiques d'*E. histolytica*, elles sont aisément différenciées des formes végétatives et kystiques d'autres espèces de protozoaires intestinaux non pathogènes (*Entamoeba coli*, *Endolimax nanus*, *Pseudolimax butschilii*, *Entamoeba hartmanni*....) en se basant sur des critères morphologiques, sauf pour les formes végétatives et kystiques d'*E. dispar* et d'*E. moskovskii*. Ces dernières sont commensales du côlon, et ne peuvent être différencierées que sur des critères moléculaires ou immunologiques (PCR et recherche de copro-anticorps par technique ELISA).

6.2. SÉROLOGIE

La recherche d'anticorps spécifiques est particulièrement intéressante dans le cas des amoebomes et des amoeboses hépatiques et pulmonaires. Dans ces 2 cas, l'examen parasitologique des selles peut être négatif.

7. TRAITEMENT :

7.1. AMŒBOSE INTESTINALE

Il s'effectue en deux phases : utilisation d'un antimicrobien diffusible (amoebicide tissulaire) pour traiter l'épisode, puis d'un antimicrobien « de contact » (amoebicide de contact) pour traiter la colonisation intestinale :

- Le traitement de choix est le métronidazole (FLAGYL®) à la dose de 30 à 50 mg/kg/jour, en 3 prises pendant 7 à 10 jours. Le traitement peut être donné per os ou par voie intraveineuse.
Le tinidazole 200 (FASIGYNE®) peut être proposé comme alternative avec une efficacité comparable à la dose de 30-50mg/kg/j pendant 5 jours.
- Trois jours après la fin du traitement, le tiliquinol (INTETRIX®) doit être utilisé à la dose de 2 gélules matin et soir pendant 10 jours.

La résolution de la crise se fait en 2 à 3 jours, et un traitement symptomatique peut être associé si les signes cliniques sont mal supportés.

Un examen parasitologique des selles, répété trois fois, doit être systématiquement prescrit 3 à 4 semaines après, afin de vérifier l'absence de portage chronique de kystes d'amibes.

7.2. AMŒBOSE HÉPATIQUE

Le traitement de l'abcès amibien du foie repose sur les mêmes produits et le même schéma thérapeutique que pour l'amoebose intestinale aiguë. La douleur disparaît en quelques heures et l'apyréxie est obtenue en 48 à 72 heures.

En cas de faible efficacité de traitement, ou si le volume de l'abcès est important et qu'il existe un risque de fistulisation, une ponction évacuatrice percutanée peut être proposée.

Le suivi est clinique et échographique.

8. PROPHYLAXIE :

8.1. ACTION SUR LE RÉSERVOIR

Dépister et traiter les porteurs asymptomatiques. Un très long portage est un facteur de dissémination à l'entourage et présente pour le sujet lui-même un risque d'évolution vers la pathogénicité. Il justifie le traitement systématique par un amoebicide de contact.

En Tunisie, les manipulateurs de denrées alimentaires sont systématiquement contrôlés.

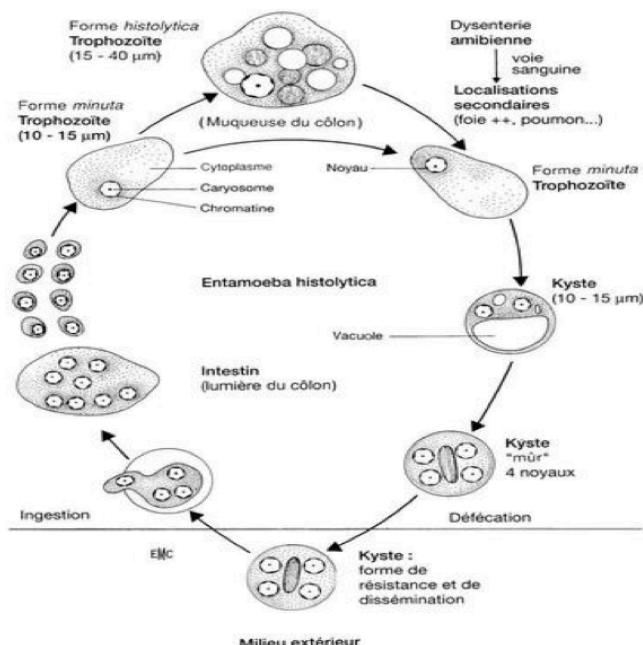
8.2. ACTION SUR LA TRANSMISSION

Il s'agit d'une maladie liée au péril fécal, dont la prévention repose essentiellement sur l'hygiène individuelle par un lavage régulier des mains et en évitant la consommation de denrées crues ou d'eau non contrôlées en zones d'endémie et sur l'hygiène collective par un dépistage des porteurs sains chez les manipulateurs de denrées alimentaires, traitement avec évacuation correcte des eaux usées, approvisionnement eau courante et évitement de l'utilisation des engrangements d'origine humaine.

Un examen parasitologique des selles dans le cadre de la médecine du travail est obligatoire pour les personnes exerçant les métiers de la restauration ou travaillant en collectivité.

ANNEXE

Cycle d'*Entamoeba histolytica* (Maladies infectieuses [8-500 -A-10])



EVALUATION FORMATIVE

1. Le diagnostic d'une amoëbose hépatique à *Entamoeba histolytica* repose sur :
 - A. Un examen parasitologique des selles à la recherche de formes végétatives d'amibes
 - B. Une sérologie amibienne
 - C. Une échographie abdominale
 - D. Une numération formule sanguine
 - E. Une rectosigmoïdoscopie

2. Parmi les propositions suivantes, la ou lesquelles, font partie du tableau clinique d'une amoëbose hépatique à *Entamoeba histolytica* :
 - A. Une hépatomégalie douloureuse
 - B. Une fièvre à 39 °C
 - C. Un ténèsme
 - D. Une altération de l'état général
 - E. Des diarrhées

3. Quels sont les éléments évocateurs d'une dysenterie amibienne à *Entamoeba histolytica* ?
 - A. Un séjour récent en pays tropical
 - B. Des diarrhées muco-sanglantes
 - C. Une fièvre à 39 °C
 - D. Une constipation
 - E. Un ténèsme

<p>QCM 1 : B et C</p> <p>A. La recherche d'amibes (formes végétales et kystes) dans les selles est le plus souvent négative à ce stade.</p> <p>B. La recherche d'anticorps spécifiques anti E histolytica est positive, c'est l'examen clé du diagnostic.</p> <p>C. L'échographie abdominale permet de visualiser une masse liquidienne intra-abdominale qui peut être difficile à visualiser.</p>
<p>QCM 2 : A, B et D</p> <p>hépatite suspecte (amibes ou germes). QCM 2 : A, B et D</p> <p>D. La NFS montrera une hyperleucocytose et E. Diarrhées et ténèses font partie d'un tableau de dysenterie amibienne qui peut être négligé.</p> <p>QCM 3 : A, B et E</p> <p>E. La rectosigmoidoscopie peut être réalisée pour le diagnostic de dysenterie amibienne. C. La fièvre est retrouvée dans l'atteinte hépatique et non une constipation.</p>

داء الجيارديات، GIARDIASIS, LA GIARDIOSE

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire la fréquence de la giardiose, son caractère cosmopolite, et sa transmission par voie orale.
2. Savoir évoquer une giardiose devant des troubles digestifs, et savoir en établir le diagnostic coprologique.
3. Prescrire le traitement d'une giardiose
4. Décrire les principes de prévention de la giardiose

INTRODUCTION

La giardiose est une parasitose intestinale due à *Giardia intestinalis*, le protozoaire le plus commun au cours des infections intestinales humaines.

Elle est cosmopolite, extrêmement répandue dans le monde et est responsable d'une importante morbidité.

1. AGENT PATHOGÈNE :

Giardia (G.) intestinalis existe sous deux formes : végétative et kystique.

La forme végétative ou trophozoïte vit dans la partie supérieure de l'intestin grêle (duodénum et début du jéjunum). Elle n'est éliminée dans les selles qu'au cours d'épisodes de diarrhée profuse. Le trophozoïte mesure 10 à 20 µm de long sur 6 à 10 µm de large. On distingue deux noyaux à l'état frais. Le trophozoïte a quatre paires de flagelles, deux paires en position antérolatérale, une paire en position ventrale et une paire postérieure. Les trophozoites adhèrent de façon temporaire et réversible à la muqueuse intestinale grâce à un disque ventral. La reproduction se fait par division binaire longitudinale.

Giardia intestinalis est éliminé dans le milieu extérieur sous forme kystique, directement infectante et qui peut résister de longues périodes en milieu humide. Les kystes sont ovoïdes mesurent 10 à 13 µm de long sur 8 à 9 µm de large.

La giardiose est une parasitose liée au péri fécal, sa transmission est féco-orale. Après ingestion, la paroi du kyste est lysée dans l'estomac, libérant la forme végétative dans le duodénum.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE :

La giardiose est la protozoose intestinale la plus répandue dans le monde. *G. intestinalis* est un parasite des régions tempérées et tropicales. La prévalence de la giardiose est importante au cours de l'enfance et décroît après l'adolescence. L'infection est rare avant l'âge de 6 mois. Les épidémies de giardiose sont connues dans les crèches et les écoles.

La plupart des infections sont asymptomatiques, mais transmissibles à l'entourage. Le réservoir de parasite est l'homme contaminé. L'hypothèse du réservoir animal domestique reste controversée.

3. PHYSIOPATHOLOGIE :

L'intensité de la contamination détermine l'apparition de la maladie. Il faut ingérer une centaine de kystes pour entraîner des troubles. Les trophozoites se multiplient rapidement et sont mobiles grâce à leur flagelles et se fixent sur les entérocytes du duodénum et du jéjunum.

Ils entraînent une altération des entérocytes, une atrophie villositaire et une destruction de la bordure en brosse. Les trophozoites captent les acides biliaires et favorisent ainsi la malabsorption des graisses et de certaines vitamines liposolubles.

4. CLINIQUE :

Le portage asymptomatique est la forme la plus commune de l'infection, aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte.

Les symptômes d'une giardiose aiguë apparaissent entre 3 et 20 jours après la contamination et durent souvent 2 à 4 semaines. Il s'agit d'une diarrhée qui peut être aqueuse, mais qui se présente le plus souvent sous la forme de selles pâteuses et grasseuses avec stéatorrhée. Les épisodes diarrhéiques sont accompagnés de nausées et de douleurs abdominales.

Lorsqu'elle évolue sur un mode chronique, la giardiose est responsable d'un syndrome de malabsorption.

5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

L'examen parasitologique des selles permet une identification du parasite le plus souvent sa forme kystique, à l'examen direct ou après concentration.

Il faut faire 3 examens à 2 ou 3 jours d'intervalle sur une période d'une dizaine de jours, du fait de l'existence de périodes sans émission de kystes. Les selles doivent être fraîchement émises.

Les trophozoites peuvent être observés dans le liquide duodénal recueilli lors d'un tubage duodénal.

Les caractères morphologiques des trophozoites et des kystes permettent de les identifier et de les différencier d'une part des autres protozoaires flagellés non pathogènes de l'intestin de l'homme (de contamination oro-fécale) telles que *Chilomastix mesnili*, *Trichomonas intestinalis*, *Enteromonas hominis* et *Embadomonas hominis*, et d'autre part de *Dientamoeba fragilis* qui est un protozoaire flagellé pathogène ne possédant qu'une forme végétative (la contamination via les œufs d'oxyure a été évoquée).

6. TRAITEMENT

La giardiose est traitée par les nitro-5-imidazolés parmi lesquels le métronidazole (Flagyl®) est le plus utilisé à la dose de 500 mg, 3 fois par jour pendant 5 à 10 jours.

Le tinidazole (Fasigyne®) peut être administré sous forme de traitement minute : 2 g en dose unique.

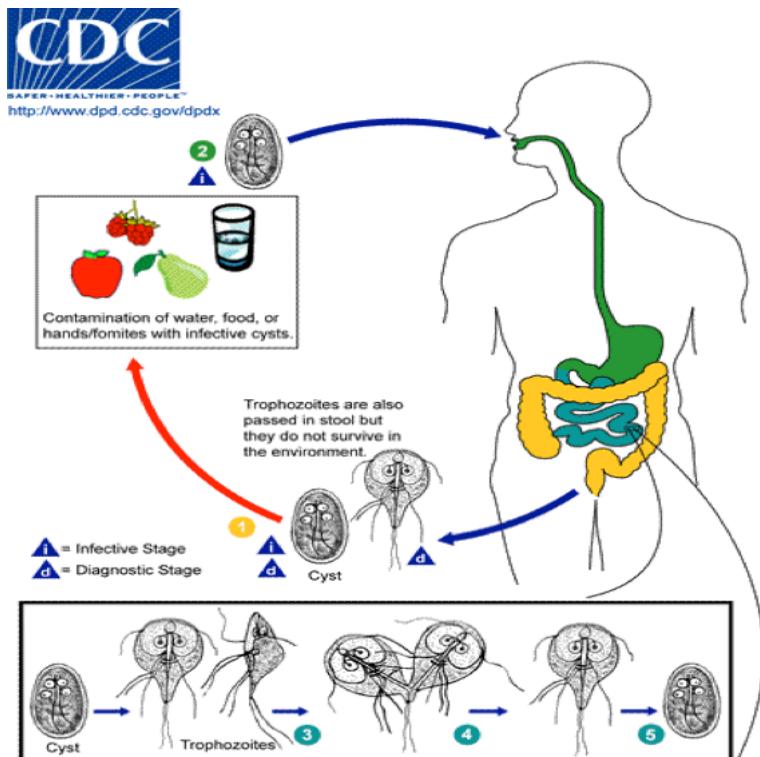
Un contrôle des selles un mois après la fin du traitement est nécessaire.

7. PREVENTION

Il s'agit d'une maladie liée au péril fécal, dont la prévention repose essentiellement sur l'hygiène individuelle et (Cf cours amoebose)

ANNEXE

Cycle de *Giardia intestinalis*



EVALUATION FORMATIVE

1. La giardiose est une parasitose :

- A. Souvent diagnostiquée chez les enfants
- B. Dont le diagnostic repose sur la mise en évidence de kystes dans les selles
- C. Dont la contamination est orale
- D. Dont le diagnostic repose sur la sérologie
- E. Qui se manifeste par un syndrome dysentérique

2. *Giardia intestinalis* est :

- A. Un protozoaire
- B. Un parasite dont le cycle comporte une phase tissulaire
- C. Responsable d'une hyperéosinophilie sanguine élevée
- D. Un parasite dont le diagnostic repose sur une recherche d'œufs dans les selles
- E. Plus fréquent chez les enfants

3. Parmi les signes cliniques suivants, lesquels sont évocateurs d'une giardiose ?

- A. Un syndrome de Loëffler
- B. Un prurit anal à recrudescence nocturne
- C. Des troubles chroniques du transit intestinal
- D. Des arthralgies
- E. Des douleurs abdominales à type de duodénite

4. Vous suspectez une giardiose chez un enfant vous prescrivez en première intention :

- A. Un examen parasitologique des selles
- B. Un scotch test
- C. Un examen sérologique
- D. Un examen microscopique du liquide duodénal
- E. Une numération formule sanguine

Responses :	QCM 1 : A, B et C	QCM 2 : A et E	QCM 3 : C et E	QCM 4 : A
Les selles, Giardinia est un protzoaire, cycle de Giardinia ne comporte pas de pas un helminthe phase de migration tissulaire	D. La sérologie n'est pas informative, G intestaialis n'a pas son cycle de phase de migration tissulaire	B. Le syndrome de Loëffler évoque un pas- en seconde intention après un examen de phase pulmonaire de larves (anguillouse) selles (moins invasif) négatif pour rechercher des formes végétatives. Dans certains cas du liquide duodénal est prélevé lors d'une fibroscopie digestive faite dans le cære d'une suspicion d'ulcère gastroduodenal (lié à une giardiose).	E. Le syndrome dysentérique est évocateur d'une diarrhée, les selles sont molles, pastées et râmeuses. Dans la tumeur d'une amebose intestinale. Dans la grêlisse, la présence de kystes dans la tasse de migration tissulaire	C. Pas d'hyperéosinophilie (cf. réponse B) tube digestif sans migration tissulaire
les selles, Giardinia est un protzoaire, cycle de Giardinia ne comporte pas de pas un helminthe phase de migration tissulaire	D. La sérologie n'est pas informative, G intestaialis n'a pas son cycle de phase de migration tissulaire	B. Le scotch test permet de faire le dia- denal (l'indication n'est pas le diagnostic de diarrhée)	E. La NFS n'est pas indiquée (cf. réponse C)	D. On cherche la présence de kystes dans la sérologie n'est pas informative, le gnostic d'une oxyurose
les selles, Giardinia est un protzoaire, cycle de Giardinia ne comporte pas de pas un helminthe phase de migration tissulaire	D. La sérologie n'est pas informative, G intestaialis n'a pas son cycle de phase de migration tissulaire	B. Le scotch test permet de faire le dia- denal (l'indication n'est pas le diagnostic de diarrhée)	E. La NFS n'est pas indiquée (cf. réponse C)	C. Pas d'hyperéosinophilie (cf. réponse B) tube digestif sans migration tissulaire
les selles, Giardinia est un protzoaire, cycle de Giardinia ne comporte pas de pas un helminthe phase de migration tissulaire	D. La sérologie n'est pas informative, G intestaialis n'a pas son cycle de phase de migration tissulaire	B. Le scotch test permet de faire le dia- denal (l'indication n'est pas le diagnostic de diarrhée)	E. La NFS n'est pas indiquée (cf. réponse C)	D. On cherche la présence de kystes dans la sérologie n'est pas informative, le gnostic d'une oxyurose

LA TRICHOMONOSE URO-GENITALE, TRICHOMONIASIS, داء المشعرات

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Décrire l'épidémiologie de la trichomonose.
2. Savoir évoquer une trichomonose devant une urétrite ou une vulvo-vaginite.
3. Décrire les conditions et le type de prélèvement pour le diagnostic d'une trichomonose.
4. Prescrire le traitement de la trichomonose

INTRODUCTION

La trichomonose urogénitale est une maladie vénérienne, bénigne, cosmopolite et fréquente, due à *Trichomonas vaginalis*, protozoaire flagellé, parasite des voies urogénitales.

1. AGENT PATHOGÈNE :

Trichomonas vaginalis se trouve sur les muqueuses et tissus glandulaires urogénitaux :

- Vagin et urètre chez la femme.
- Urètre, prostate et epididyme chez l'homme

De forme ovale mesurant 10 à 15 µm de long sur 7 µm de large, le trophozoïte, très mobile, possède quatre flagelles antérieurs et une membrane ondulante se terminant au niveau du tiers postérieur du parasite. Il n'a pas de forme kystique.

2. ÉPIDÉMIOLOGIE :

Parasite strictement humain, il n'existe que sous forme végétative et meurt rapidement dans le milieu extérieur. Très sensible à la dessiccation, sa transmission d'un individu à un autre ne peut s'effectuer qu'en milieu humide. Il peut survivre 1 à 2 heures sur une surface humide et 24 heures dans les urines ou le sperme.

C'est une IST (Infection Sexuellement Transmissible), mais on ne peut exclure la possibilité de contamination par du linge de toilette humide et les sièges et eaux des w.c. ou du bain. La trichomonose, IST non virale la plus fréquente dans le monde, est un problème de santé publique par sa fréquence et ses conséquences; en particulier sur la fertilité féminine et de par le fait qu'elle facilite la transmission du VIH.

Il s'agit d'une parasitose cosmopolite fréquente.

3. CLINIQUE :

3.1 CHEZ LA FEMME

La période d'incubation est de 5 à 28 jours.

Elle se manifeste par une vulvo-vaginite aiguë associant :

- des leucorrhées jaunes vertes nauséabondes,
- Un prurit vulvaire avec sensation de brûlure,
- des dyspareunies,
- et parfois une cystite avec dysurie, pollakiurie et brûlures mictionnelles.

À l'examen, on note une inflammation vulvo-vaginale avec un piqueté hémorragique très évocateur. L'introduction du speculum est très douloureuse. Le passage à la chronicité est fréquent avec des périodes asymptomatiques pendant lesquelles le sujet porteur peut disséminer l'infection.

3.2 CHEZ L'HOMME

Le patient peut présenter une urétrite subaiguë avec un écoulement urétral plus ou moins purulent. Il peut aussi exister des signes urinaires (dysurie, pollakiurie). Les complications à type de prostatites sont exceptionnelles.

La plupart du temps le patient est asymptomatique ou paucisymptomatique (qui se traduit seulement par une goutte de sérosité matinale au niveau du méat).

L'absence de signes cliniques favorise la dissémination de la maladie.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Prélèvement :

-Chez la femme :

Un prélèvement vaginal doit être effectué pour récupérer la glaire cervicale. Ce prélèvement doit être fait avant toute toilette intime et tout traitement. La patiente doit éviter toute relation sexuelle 48 heures avant le prélèvement. Il est préférable de ne pas réaliser le prélèvement en période de menstruations.

Pour la réalisation, il faut utiliser avec précaution un spéculum sans lubrifiant. Le prélèvement s'effectue au niveau des culs-de-sac vaginaux et de la glande de Bartholin avec un écouvillon stérile imbibé de sérum physiologique stérile.

-Chez l'homme :

Le prélèvement s'effectue avant toute miction matinale en recueillant la première sérosité matinale au niveau du méat et les urines du premier jet. Le massage de la prostate augmente la sensibilité du prélèvement.

Examen biologique :

L'examen microscopique doit être effectué le plus rapidement possible dans de l'eau physiologique stérile. Cet examen permet de repérer les parasites mobiles, réfringents, et de forme ovale ou arrondie. L'examen direct pour la recherche dans les urines est effectué sur le culot de centrifugation.

5. TRAITEMENT :

Il repose sur la prescription d'imidazolés et dans tous les cas le traitement simultané du ou des partenaires est indispensable.

5.1 TRAITEMENT « MINUTE »

Métronidazole (FLAGYL®) 2 g per os en prise unique

Tinidazole (FASIGYNE 500®) 4 cp en une prise unique

Secnidazole (SECNOL®) 2 g en une prise unique

Ornidazole (TIBERAL®) 1,5 g en une prise unique

Ce traitement doit être répété 15 jours après.

5.2 TRAITEMENT LONG

Le traitement long est préconisé dans les formes avec signes urinaires, en cas de rechute et chez l'homme pour éviter les atteintes prostatiques.

- Métronidazole (FLAGYL® 500) (1 cp matin et soir) pendant 10 jours (20 jours chez l'homme).

- Chez la femme, un traitement local peut être associé : cp gynécologique tous les soirs pendant 10 jours.

L'infection à Trichomonas étant une IST, il est recommandé à cette occasion de proposer un dépistage des autres IST, d'autant que le risque de contamination par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) augmente en cas d'infection concomitante à Trichomonas.

6 .PRÉVENTION

Les rapports sexuels protégés et le traitement simultané du ou des partenaires lors du dépistage d'un cas sont la base de la prévention.

داء الميبيات / LES CANDIDOSES, CANDIDIASIS

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Préciser les conditions favorisant la survenue d'une candidose cutanée, muqueuse ou systémique.
2. Préciser les données cliniques et biologiques permettant le diagnostic d'un onyxis candidosique.
3. Préciser les données cliniques et biologiques permettant le diagnostic d'un intertrigo candidosique.
4. Préciser les données cliniques et biologiques permettant le diagnostic d'une candidose muqueuse (digestive ou génitale).
5. Préciser les données cliniques et biologiques permettant le diagnostic d'une candidose systémique.
6. Prescrire le traitement adapté pour chaque forme clinique de candidose superficielle.

INTRODUCTION

Les candidoses représentent l'ensemble des manifestations cliniques liées à la multiplication et à l'action pathogène de levures du genre *Candida*.

Les candidoses sont des maladies fréquentes, cosmopolites, dont l'incidence et la gravité ne cessent d'augmenter sous l'influence de facteurs multiples, tant infectieux (SIDA) qu'iatrogènes (antibiothérapie, chimiothérapie immunosuppressive...)

1. AGENTS PATHOGÈNES :

Les agents responsables des candidoses sont des champignons levuriformes du genre *Candida*(*C.*). Ce sont des levures opportunistes, vivant à l'état commensal ou saprophyte, et exprimant leur pouvoir pathogène dans des situations bien particulières impliquant des facteurs favorisants et facilité par des facteurs de virulence.

Les espèces les plus fréquentes sont :

- *C. albicans* et *C. glabrata* sont des commensaux des cavités naturelles (tube digestif et tractus urogénital)
- *C. parapsilosis* est un commensal de la peau
- *C. tropicalis* et *C. krusei* sont des saprophytes du milieu extérieur.

2. FACTEURS FAVORISANTS :

L'expression de la pathogénicité de *Candida* est favorisée par divers facteurs :

2.1. FACTEURS INTRINSÈQUES

- **Âge** : les vieillards et les enfants prématurés sont prédisposés à développer des candidoses buccales.
- **Grossesse** : l'incidence des candidoses vaginales augmente au cours de la grossesse.
- **États pathologiques** : le diabète, les troubles thyroïdiens, les hémopathies, les néoplasies, les immunodéficiences... favorisent les candidoses.
- **Facteurs locaux** : l'humidité, l'acidité, la macération, la sudation, l'action mécanique favorisent la multiplication des levures.

2.2. FACTEURS EXTRINSÈQUES ET IATROGÈNES

Ils sont représentés essentiellement par : l'antibiothérapie, la chimiothérapie, les immunosuppresseurs, le traitement hormonal (anticonceptionnel), le port de cathétér, le port de sondes, la chirurgie abdominale, le séjour en service de réanimation, le séjour en service de néonatalogie (infections nosocomiales).

2.3. FACTEURS LIÉS À LA VIRULENCE DE *CANDIDA*

- Filamentation et Switching phénotypique
- Adhérence aux cellules et aux tissus grâce aux adhésines

- Formation de biofilms
- Sécrétion d'enzymes lytiques (protéinases et phospholipases)

3. CLINIQUE :

On distingue les candidoses superficielles et les candidoses profondes.

3.1. LES CANDIDOSES SUPERFICIELLES

A. CANDIDOSES CUTANÉES ET UNGUÉALES :

- **Intertrigo:** C'est un érythème suintant, très prurigineux, à contours mal délimités souvent décollés, recouvert dans son creux d'un enduit blanchâtre crémeux associé à des lésions pustuleuses. Ces lésions siègent au niveau :
 - des grands plis : plis sous-mammaires chez la femme obèse, pli inter fessier, plis inguinaux et plis des aisselles.
 - des petits plis digitopalmaires et digitoplantaire : entre les 3^{ème} et 4^{ème} doigts chez les sujets dont les mains sont fréquemment en contact avec l'eau et l'humidité (professions exposées : coiffeurs, blanchisseurs, cuisiniers...), et entre les orteils, plus particulièrement chez les individus qui transpirent des pieds.
- **Onyx et Périonyxis:** Les doigts sont souvent plus touchés que les orteils.

L'atteinte est d'abord localisée au niveau du repli unguéal en regard de la matrice, réalisant le **périonyxis ou paronychie** qui est un bourrelet inflammatoire péri unguéal, douloureux, laissant sourdre à la pression des sérosités.

L'atteinte de la lame unguéale est secondaire au périonyxis, elle débute au bord latéral ou à la partie proximale de l'ongle. L'ongle est épais, blanc jaunâtre ou verdâtre et à surface irrégulière ondulée. Il devient friable et peut se détacher.

B. CANDIDOSES DIGESTIVES :

- Candidoses bucco-pharyngées :

- **Le muguet** : il se manifeste par le développement au niveau de la langue, de la face interne des joues, du voile du palais, du pharynx, d'un enduit crémeux, blanchâtre, pseudo-membraneux, piqueté, recouvrant une muqueuse rouge vernissée. Ces lésions s'accompagnent d'une sensation de cuisson, de dysphagie et d'une impression gustative amère (goût d'artichaut).

Cette pathologie est fréquente :

- chez les nouveau-nés : surtout chez les prématurés.
- chez les adultes : porteurs d'appareils dentaires, soumis à une antibiothérapie au long cours, ou un traitement antidiépresseur
- chez l'adulte jeune dans un contexte particulier (infection par le VIH). Un muguet d'évolution chronique fait suspecter une infection par le VIH.

- **La perlèche** : C'est une fissuration au niveau des commissures labiales. Elle est bilatérale et gène l'ouverture de la bouche. Elle peut être associée à des lésions internes de la cavité buccale de nature candidosique.

- **Candidoses œsophagiennes** : Elles se manifestent habituellement par une dysphagie douloureuse, un pyrosis et une sensation de brûlure au passage des aliments. L'association à un muguet buccal est inconstante, mais évoque le diagnostic. Cette atteinte est fréquente chez les sujets vivant avec le VIH.

- **Candidoses intestinales** : Elles peuvent se manifester par des diarrhées.

- **Candidoses périanales** : Elles sont souvent secondaires à une candidose intestinale, par irritation de la muqueuse et envahissement local. La muqueuse anale est congestive, présentant un liseré érythémateux et des papules. Ces lésions entraînent une sensation de brûlure au passage des selles avec un prurit anal.

C. CANDIDOSES GÉNITALES :

- **Vulvo-vaginites candidosiques** : Les variations hormonales, un diabète, le port de vêtements serrés, les toilettes trop fréquentes, les traitements antibiotiques à large spectre.... sont autant de facteurs favorisant cette mycose. Elles se manifestent par des leucorrhées abondantes, grumeleuses, blanchâtres, accompagnées d'un prurit vulvaire intense. Au speculum, la muqueuse est rouge vernissée, piquetée d'enduit blanc.

- **Balano-posthite** : Elles se localisent au niveau du sillon balano-préputial. Le sillon est recouvert d'un enduit blanchâtre plus ou moins caséux. La lésion, non ulcérée de type érythémateux, est prurigineuse.

D. CANDIDURIES :

Elles résultent pour la plupart d'une infection ascendante ; la contamination se fait à partir de la flore vaginale ou digestive. Les facteurs de risque sont essentiellement le diabète et la sonde vésicale à demeure. Elles peuvent être responsables de cystites ou de pyélonéphrites, mais le plus souvent elles sont asymptomatiques.

Plus rarement, les candiduries peuvent être secondaires à une candidémie.

3.2. CANDIDOSES PROFONDES

Ce terme regroupe les candidoses systémiques avec hémocultures positives et/ou les candidoses viscérales pour lesquelles l'infection s'est produite par voie hématogène.

Les candidoses systémiques représentent actuellement une infection nosocomiale fréquente dans les unités de soins intensifs de réanimation chirurgicale et cardiovasculaire, de brûlés et de réanimation médicale, dans les unités de greffe d'organes, dans les services d'oncohématologie et dans les services de néonatalogie. Dans ces unités, les progrès médico-chirurgicaux autorisent la survie prolongée des patients dans un état de grande précarité associé à de multiples facteurs favorisant les levuroses (Antibiothérapie prolongée à large spectre, altération de la barrière digestive consécutive à un acte chirurgical, la présence d'un cathéter, d'une prothèse synthétique, neutropénie prolongée induite par le traitement immuno-supresseur, faible poids de naissance...)

Les candidoses systémiques se présentent habituellement comme une fièvre résistante aux antibiotiques à large spectre.

Des localisations viscérales (cutanées, ophtalmologiques, musculaires, cardiaques, neuroméningées, pulmonaires, urinaires....) peuvent être observées. La candidose hépatosplénique ou candidose chronique disséminée est une entité particulière qui survient chez les patients neutropéniques soumis à une antibiothérapie à large spectre.

3.3. MANIFESTATIONS ALLERGIQUES DUES A CANDIDA :

Il s'agit d'un ensemble de manifestations cutanées et extra cutanées en rapport avec un foyer candidosique situé à distance.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

4.1. EXAMEN MYCOLOGIQUE

A. LES PRÉLÈVEMENTS : ils sont réalisés **avant tout traitement spécifique**. Si le patient est sous traitement antifongique, il faudra respecter une fenêtre de 7-15 jours pour les antifongiques topiques et de 1 mois pour les antifongiques systémiques.

- Les lésions superficielles : les lésions sèches sont grattées avec une curette ou un vaccinostyle; les ongles malades sont coupés avec des pinces pour recueillir les fragments, les lésions muqueuses ou suintantes sont prélevées à l'aide d'écouvillons.
- Les hémocultures sont faites dans des flacons contenant du milieu de Sabouraud liquide ou sur milieu Mycosis.
- Les autres produits biologiques (LBA, LCR, urines, selles) et les prélèvements réalisés aux portes d'entrée (cathéter, sondes...) sont recueillis dans des récipients stériles.
- Les biopsies d'organes sont recueillies dans des récipients stériles sans fixateurs.
- D'autres prélèvements peuvent être réalisés au niveau de plusieurs sites dans le cadre de la surveillance de la survenue d'une candidose profonde chez les malades à haut risque. Ces prélèvements, lorsqu'ils sont positifs, permettent de calculer l'Index de Colonisation de Pittet, fortement corrélé à la survenue d'une candidose systémique (voir paragraphe prophylaxie).

B. L'EXAMEN DIRECT : À l'état frais, après éclaircissement ou après coloration, il permet de mettre en évidence des levures bourgeonnantes. La présence de pseudofilaments associés représente un signe de pathogénicité.

C. LES CULTURES : Elles sont réalisées sur milieu de Sabouraud chloramphénicol, avec et sans actidione®. L'incubation est faite à 25 °C pour les prélèvements superficiels et à 37 °C pour les prélèvements profonds. Les cultures poussent au bout de 24 à 48 heures. Les colonies sont blanchâtres, crèmeuses et luisantes. L'hémoculture qui est un examen clé dans le diagnostic des candidoses systémiques reste de sensibilité faible (40 à 60 %). Une hémoculture négative n'élimine pas le diagnostic, mais une seule hémoculture positive le confirme.

D. L'IDENTIFICATION : Elle s'effectue à l'aide de critères phénotypiques ou biochimiques.

Pour *Candida albicans*, l'identification peut se faire par la production de tubes germinatifs en doigt de gant en utilisant le test de filamentation sur sérum ou par la production de chlamydospores en utilisant le test de chlamydosporulation sur milieux pauvres PCB ou RAT.

Pour les autres espèces du genre *Candida*, l'identification peut se faire à l'aide de galeries commercialisées utilisant l'assimilation et/ou la fermentation de certains sucres.

E. L'ANTIFONGIGRAMME : Il est réalisé pour les candidoses systémiques et les candidoses vaginales ou bucco-pharyngées récidivantes. Il permet de tester l'efficacité des antifongiques.

4.2. DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

La recherche d'Anticorps anti-mannanes et d'Antigènes mannanes circulants est réalisée dans les cas de candidoses systémiques et surtout de suivi des sujets à risque. La recherche de l'antigène **β1-3-D Glucane**, marqueur panfongique, est d'un grand apport dans le diagnostic des candidoses invasives chez les malades à risque.

5. TRAITEMENT :

5.1. CANDIDOSES SUPERFICIELLES

Elles sont traitées par des topiques :

- Dérivés Imidazolés : Econazole (Pévaryl®, Ecorex®), Miconazole (Daktarin®),
- Ciclopiroxolamine (Mycoster®)
- Nystatine (Mycostatine®)
- Amphotéricine B (Fungizone®)

Pour la candidose buccale, un traitement local (nystatine, amphotéricine B, miconazole) de 10 à 15 jours est prescrit, associé à une bonne hygiène dentaire ainsi que le traitement de la cause.

Le traitement des candidoses vulvo-vaginales repose sur un traitement local par des azolés (ovule, capsule, crème ou gel vaginal). La dose est généralement d'un ovule ou capsule le soir au fond du vagin pendant 3 jours. Le traitement systémique, contre-indiqué chez la femme enceinte, est prescrit en cas de candidose récidivante : fluconazole 150 mg (1 dose) ou itraconazole 200 mg (3j) ou 400 mg (1j).

Pour les candidoses cutanées, un traitement par topique antifongique (imidazolés, polyènes, cyclopiroxolamine) pendant 2 à 4 semaines est prescrit. Quand les lésions sont nombreuses et diffuses, un traitement systémique s'impose par le fluconazole (Diflucan®, Funzol®, Difluzol®) à raison de 150 mg/sem x 4 à 6 semaines.

Le traitement d'une candidose unguéale consiste en l'application de vernis/Amorolfine (Loceryl®) ou Ciclopiroxolamine (Mycoster® solution filmogène) sur l'ongle et son pourtour pendant 3 à 6 mois. En cas d'échec thérapeutique (2 mois) ou d'atteinte de plusieurs ongles avec périonyxis important, un traitement par voie orale est associé : fluconazole à raison de 150 mg/sem x 4 à 6 mois.

5.2. CANDIDOSES SYSTÉMIQUES

Elles sont traitées par :

- Amphotéricine B (Fungizone®)
- Caspofungine (Cancidas®)
- Amphotéricine B liposomale (AmBisome®)
- Dérivés azolés : Fluconazole (Triflucan®) Voriconazole (Vfend ®)...

6. PROPHYLAXIE :

Le pronostic des candidoses systémiques est sombre. On préconise actuellement la surveillance des sujets à risque en surveillant leur colonisation par des prélèvements réguliers au niveau de plusieurs sites (index de colonisation de Pittet).

La détermination de cet index nécessite des prélèvements réguliers d'au moins 5 sites par patient et cela deux fois par semaine (écouvillonnage anal ou selles, écouvillonnage endobuccal, sécrétions trachéales, tout liquide de drainage, urines). L'index de colonisation de Pittet est le rapport entre le nombre de sites positifs et le nombre total de sites prélevés. Si l'index de colonisation atteint ou dépasse 0,5, un traitement antifongique est alors prescrit.

GLOSSAIRE

Chlamydospore : forme de résistance caractérisée par une cellule à double membrane

Milieu PCB : Milieu pauvre à base de Pomme de terre, de Carotte et de Bile

Milieu RAT : Milieu pauvre à base de Riz, d'Agar et de Tween

EVALUATION FORMATIVE

1. *Candida albicans* :

- | | |
|--|--|
| A. Est une levure encapsulée | B. Peut entraîner une teigne du cuir chevelu |
| C. Est une levure commensale du tube digestif | D. Peut provoquer une atteinte systémique |
| E. Peut être diagnostiquée par le test de filamentation en sérum | |

2. Une femme de 28 ans consulte pour des leucorrhées blanchâtres avec prurit vulvaire intense. Une mycose a été suspectée.

- | | |
|--|--------------------------------------|
| a- Quel est le champignon le plus fréquemment en cause ? | b- Comment confirmer le diagnostic ? |
|--|--------------------------------------|

Réponses :
1. C, D, E
2. a- *Candida albicans*
b- par l'examen direct et la culture sur milieu de sabouraud

LES MALASSEZIOSES, MALASSEZIOSIS, ملاسزيّة

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Préciser les conditions favorisant la survenue des malassezioses.
2. Préciser les données cliniques permettant le diagnostic des différentes formes cliniques des malassezioses.
3. Porter le diagnostic biologique des malassezioses.
4. Prescrire le traitement adapté pour chaque forme clinique des malassezioses.

INTRODUCTION

Les infections à *Malassezia* ou malassezioses sont des mycoses fréquentes sans caractère de gravité, caractérisées par leurs récidives.

1. AGENT PATHOGÈNE :

Les malassezioses sont dues à des levures du genre *Malassezia* (*M.*). On distingue, à ce jour, quatorze espèces impliquées en pathologie humaine, les plus incriminées sont *M. globosa*, suivie de *M. furfur*.

Ce sont des levures **lipophiles** et **kératinophiles**. Au niveau des lésions, elles se présentent sous un double aspect :

- des filaments mycéliens épais, courts (8 à 15 µm), rectilignes ou incurvés.
- des cellules bourgeonnantes, sphéroïdes (3 à 6 µm), regroupées en amas de 10 à 30 éléments, en forme de grappe de raisin.

2. FACTEURS FAVORISANTS :

Les levures du genre *Malassezia* sont des levures commensales de la peau. Elles prolifèrent sous l'influence de différents facteurs :

- Peau grasse (teneur importante en triglycérides et acides gras libres) ou application de corps gras sur la peau (huiles solaires).
- Chaleur, humidité (fréquence du pityriasis versicolor dans les régions tropicales).
- Grossesse.
- Hypercorticisme.
- Immunodépression.

3. ASPECTS CLINIQUES :

3.1. PITYRIASIS VERSICOLOR

C'est une dermatose fréquente qui se manifeste essentiellement en été. Elle siège sur le thorax, le cou, mais peut s'étendre à tout le corps (sauf paumes et plantes).

Il s'agit de macules de couleur chamois, finement squameuses, qui s'étendent de façon centrifuge avec des limites nettes, en carte de géographie: c'est la forme hyperchromique. Le prurit est inconstant. Une forme achromante existe, à différencier du vitiligo ou d'une sclérodermie ainsi qu'une forme érythémateuse à différencier du pityriasis rosé de Gilbert.

3.2. DERMITE SÉBORRHÉIQUE

C'est une dermatose fréquente favorisée par le stress et l'immunodépression. Elle siège sur le visage. Les lésions sont érythémato-squameuses prédominant aux sourcils, aux plis naso-géniens et à la lisière du cuir chevelu. Le prurit est habituel. Chez le nourrisson, elle survient au cours des premiers mois de la vie et se localise sur les fesses où l'érythème prédomine et au cuir chevelu donnant des plaques de taille variable : « croûtes de lait ».

3.3. PITYRIASIS CAPITIS

Il est favorisé par le stress, la séborrhée. C'est l'état pelliculaire du cuir chevelu. Le prurit est fréquent et peut entraîner une chute des cheveux. Il n'y a pas d'atteinte du follicule pileux.

3.4. FOLLICULITE À MALASSEZIA

C'est une dermatose fréquente surtout chez l'homme jeune. Il s'agit de papules ou pustules inflammatoires et prurigineuses. Le siège habituel est le dos avec une association possible de la face antérieure du thorax. Il faut y penser devant des folliculites résistant au traitement antibiotique.

3.5. FONGÉMIES À MALASSEZIA

Elles sont rares et surviennent chez des prématûrés, les dialysés ou les immunodéprimés nourris par les lipides par voie intraveineuse. Dans ces cas, le cathéter doit être retiré.

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

4.1. LUMIÈRE DE WOOD

L'examen en lumière de Wood montre une fluorescence jaunâtre.

4.2. PRÉLÈVEMENT

Pour le pityriasis capitis et la dermite séborrhéique, le grattage des lésions au vaccinostyle ou à la curette ramène des squames qui sont ensuite examinées entre lame et lamelle dans un produit éclaircissant.

Le prélèvement du pityriasis versicolor se fait avec du scotch transparent qui est ensuite collé sur une lame (méthode de cellophane adhésive ou scotch-test cutané).

La folliculite nécessite le prélèvement de duvets en plus des squames.

4.3. EXAMEN DIRECT

Dans le pityriasis versicolor, on observe des grappes de levures rondes à paroi épaisse (2 à 6 µm de diamètre), associées à des filaments courts.

Dans la dermite séborrhéique et le pityriasis capitis, on observe des levures ovales sans filaments.

Dans la folliculite, on observe des manchons de levures rondes, à paroi épaisse autour des duvets (absence de filaments).

4.4. CULTURE

Elle est rarement réalisée en pratique courante.

Elle peut se faire sur milieu de Sabouraud additionné d'huile d'olive, ou sur milieu de Dixon (spécifique des *Malassezia*).

5. TRAITEMENT :

Le pityriasis versicolor se traite par une application de kétocozaole en topique (Kétoderm gel® moussant à 2 %), avec 2^{ème} application recommandée 1 semaine après.

La dermite séborrhéique, la folliculite et le pityriasis capitis sont des affections particulièrement récidivantes et qui répondent bien aux imidazolés en topiques (crème pour la peau, lotion pour les zones pilaires).

Dans les lésions très extensives, un traitement per os de 10 jours par Itraconazole peut être prescrit.

LES DERMATOPHYTIES OU DERMATOPHYTOSES, DERMATOPHYTOSIS, جلدی طفایر

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Préciser, pour les dermatophytes les plus fréquents en Tunisie, leurs réservoirs et leurs modes de transmission à l'homme.
2. Décrire les différences épidémiologiques, cliniques et biologiques qui existent entre les teignes microsporiques, trichophytiques, inflammatoires et faviques
3. Préciser les données cliniques et biologiques permettant le diagnostic d'un intertrigo dermatophytique.
4. Préciser les données cliniques et biologiques permettant le diagnostic d'un onyxis dermatophytique.
5. Prescrire le traitement adapté pour chaque forme clinique de dermatophytoses.

INTRODUCTION

Ce sont des mycoses cosmopolites de la peau et des phanères, dues à des champignons filamenteux **kératinophiles** et **kératinolytiques** : les dermatophytes.

1. AGENTS PATHOGÈNES :

On distingue 3 genres de dermatophytes :

- Le genre *Microsporum* (*M.*) : *M. canis*, *M. audouini*, *M. gypseum*...
- Le genre *Trichophyton* (*T.*) : *T. violaceum*, *T. rubrum*...
- Le genre *Epidermophyton* (*E.*) comporte une seule espèce, *E. floccosum*, rare en Tunisie qui n'atteint que la peau glabre.

L'origine des dermatophytes est triple : tellurique ou géophile, animale et humaine.

- Les dermatophytes géophiles vivent dans la terre, sur le sol et se nourrissent de kératine morte. Exemple : *M. gypseum*. La contamination est d'origine tellurique.
- Les dermatophytes zoophiles vivent aux dépens de la kératine animale, ils sont souvent spécifiques du genre animal, *M. canis* spécifique des chiens et des chats, *T. mentagrophytes* des rongeurs, *T. verrucosum* des bovidés, *T. equinum* des équidés, etc. La contamination de l'homme se fait par le contact direct (caresses...) ou indirect (poils virulents laissés sur un fauteuil par exemple..) avec un animal de compagnie (chien, chat...), d'élevage (chevaux...) ou de rente (bovins...).
- Les dermatophytes anthropophiles sont strictement adaptés à la kératine humaine. La contamination se fait habituellement par contact interhumain ou par l'intermédiaire de sols souillés par des squames issues de la peau parasitée (salle de bains, salles de sport, ou douches collectives, piscines...), mais aussi par des objets divers (peignes, brosses, tondeuses, vêtements, chaussettes...) pouvant véhiculer les squames contenant les spores ou des filaments infectants.

Les espèces les plus fréquemment isolées en Tunisie sont : *T. rubrum*, *M. canis* et *T. violaceum*.

2. PHYSIOPATHOLOGIE :

Le tropisme plus marqué pour les phanères ou pour la peau glabre est fonction de l'espèce de dermatophytes.

- Sur l'épiderme, une spore ou un fragment de mycélium pénètre et se multiplie de façon centrifuge dans la couche cornée. Il s'en suit une lésion arrondie, érythémato-squameuse avec un centre tendant à guérir.
- Au niveau des plis, le dermatophyte détermine un intertrigo, fréquent au niveau du pied (intertrigo interdigito-plantaire).
- Lorsque le mycélium arrive au niveau des poils ou des cheveux, il pénètre par l'ostium folliculaire, progresse de façon descendante jusqu'au niveau du bulbe (là où s'arrête la kératine), est contrecarré par la poussée ascendante de l'élément

pileux. Le mode d'envahissement du cheveu est variable selon le genre de dermatophytes (endothrix, ecto-endothrix, de type favique...).

- Au niveau des ongles, le dermatophyte pénètre par le bord libre et progresse en direction de la matrice entraînant une onychomycose dermatophytique.

3. CIRCONSTANCES FAVORISANTES :

Les dermatophyties à dermatophytes géophiles et zoophiles se rencontrent plus facilement dans certaines professions que dans d'autres : agriculteurs, vétérinaires.

La promiscuité et le manque d'hygiène favorisent la propagation des dermatophyties à dermatophytes anthropophiles.

Toute irritation, tout changement de pH de la peau sert de lit à la pénétration et à la multiplication des spores de champignon : frottement de la face interne des cuisses, irritation provoquée par des sous-vêtements en tissu synthétique, transpiration et macération des pieds dans des chaussures en plastique ou en caoutchouc.

4. CLINIQUE :

4.1. TEIGNES DU CUIR CHEVELU

A. TEIGNES TONDANTES SÈCHES :

Elles sont l'apanage des enfants et disparaissent souvent spontanément à la puberté. On distingue deux types :

- **Teignes tondantes microsporiques** : Elles sont dues à diverses espèces de *Microsporum*. En Tunisie, elles sont généralement causées par *M. canis*. Les plaques alopéciques sont peu nombreuses (1 à 2), de grand diamètre (3 à 4 cm); les cheveux sont coupés à 1 ou 2 mm de leur point d'émergence. Les cheveux sont vert fluorescent en lumière ultra-violette (à la lampe de Wood).

- **Teignes tondantes trichophytiques** : Elles sont toutes d'origine anthropophile et généralement causées en Tunisie par *T. violaceum*. Elles réalisaient, autrefois, la teigne dite « scolaire », hautement contagieuse. Les plaques alopéciques sont très nombreuses, de petit diamètre parfois confluentes; les lésions sont très squameuses. Les cheveux coupés à ras au niveau même de leur point d'émergence restent enclavés dans les squames, ressemblant à des comédon (points noirs). Il n'y a pas de fluorescence avec la lampe de Wood.

Les teignes tondantes sèches sont responsables d'une alopécie « transitoire » non cicatricielle qui guérissent spontanément à la puberté ou même avant ou après traitement bien conduit.

B. FAVUS OU TEIGNE FAVIQUE :

Dermatophytie strictement anthropophile, elle est due à *T. schoenleinii*. Elle touche aussi bien les enfants que les adultes. Elle est actuellement exceptionnelle en Tunisie.

Elle se caractérise par le godet favique. Au niveau de l'orifice folliculaire, à la base du cheveu se forme une dépression de quelques millimètres de diamètre, comblée par un magma blanchâtre, crayeux, d'où émerge un cheveu gracile, grisâtre, terne, qui finit par tomber. Les godets apparaissent au début dans les régions frontopariétales et le vertex. Ils ont tendance à confluir, formant la croûte favique, d'odeur fétide. Les cheveux parasités sont légèrement fluorescents à la lampe de Wood. Les cheveux tombés ne repoussent plus, l'alopecie cicatricielle est définitive.

C. TEIGNES INFLAMMATOIRES :

Ces teignes suppurées, se décrivent aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. Elles sont moins fréquentes que les teignes tondantes sèches.

L'agent causal est un dermatophyte le plus souvent zoophile : *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum*, et parfois tellurique : *M. gypseum*.

Chez l'enfant et la femme adulte, les teignes inflammatoires déterminent des lésions du cuir chevelu appelées **kérios**. Elles débutent par une plaque érythémato-squameuse qui se tuméfie, rougit, suppure rapidement, entraînant la chute des cheveux, réalisant un macaron inflammatoire, parsemé de plusieurs orifices folliculaires laissant sourdre du pus. La chute des cheveux est transitoire. Après cicatrisation, les cheveux repoussent normalement parfois une alopecie cicatricielle peut s'observer dépendant du degré de l'inflammation.

Chez l'homme, elles touchent la barbe et les moustaches, déterminant le **sycosis**.

4.2. DERMATOPHYTIES DE LA PEAU GLABRE

A. ÉPIDERMOPHYTIE CIRCINÉE :

Cette lésion très fréquente se rencontre aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant; chez ce dernier elle est souvent associée

à une teigne. Bien que de nombreux dermatophytes puissent être à l'origine d'épidermophytie circinée, l'espèce la plus souvent identifiée est *M. canis*. Dans sa forme classique, la lésion est de forme arrondie, avec une zone centrale claire, finement squameuse et une évolution centrifuge progressive pour former un pourtour érythémato-squameux, finement vésiculeux à bordure circinée. La lésion est en général prurigineuse.

B. INTERTRIGO DES GRANDS PLIS :

L'atteinte dermatophytique du pli inguinal est la plus fréquente. La lésion siège au niveau de la face supéro-interne de la cuisse. Elle est uni ou bilatérale. L'extension est progressive centrifuge réalisant un grand placard à bordure polycyclique à bords légèrement boursouflés, vésiculeux, très prurigineux pouvant déborder sur le périnée, les fesses et la région sous-ombilicale. Les espèces les plus incriminées sont *T. rubrum* et de moins en moins *E. floccosum*.

C. INTERTRIGOS INTERDIGITO-PALMaires ET INTERDIGITO-PLANTAIRES :

L'atteinte est plus fréquente au niveau des pieds. Elle est habituellement appelée « pied d'athlète ». Les lésions se manifestent au niveau des 4èmes espaces interdigito-plantaire par des desquamations épithéliales plus ou moins macérées et suintantes. Elles sont très prurigineuses et dégagent une odeur fétide. Elles peuvent s'étendre au dos du pied. Elles peuvent être associées à des atteintes candidosiques.

T. rubrum et *T. interdigitale* sont les espèces les plus fréquemment isolées.

4.3. ONYCHOMYCOSE DERMATOPHYTIQUE

Elle atteint surtout les ongles des orteils. Il n'existe pas de périonyxie comme dans les atteintes candidosiques. L'ongle devient épaisse, jaunâtre, s'effrite peu à peu, l'atteinte débutant toujours par la partie distale de l'ongle.

Il faut toujours rechercher une épidermophytie associée : un intertrigo inguinal ou un intertrigo digito-plantaire associé. Les dermatophytes les plus fréquemment retrouvés sont *T. rubrum* et *T. interdigitale*.

5. DIAGNOSTIC :

5.1. PRÉLÈVEMENT

Il est réalisé **avant tout traitement spécifique**. Si le patient est sous traitement antifongique, il faudra respecter une fenêtre de 7-15 jours pour les antifongiques topiques et de 1 mois pour les antifongiques systémiques.

La nature et les modalités de prélèvement varient selon les lésions cliniques :

- à la pince à épiler pour les atteintes de cheveux ou des poils,
- au grattoir, à la curette, au vaccinostyle pour les lésions de la peau glabre ou des ongles.

5.2. EXAMEN DIRECT

- Il est réalisé à l'aide de produits éclaircissant la kératine (potasse à 30%, Lactophénol d'Amman, noir Chlorazole...).
- Au niveau du cheveu, il renseigne sur le mode d'envahissement du cheveu par le champignon en objectivant le type du parasitisme pileux : ectothrix (teigne microsporique), endothrix (teigne trichophytique), ectothrix, microïde ou mégaspore (teigne inflammatoire), favique.
- Au niveau des autres prélèvements (squames de peau et fragments d'ongles), il permet de confirmer la nature fongique en objectivant la présence de filaments mycéliens

5.3. CULTURE

Sur milieu Sabouraud, la pousse s'effectue à 27 °C en 5 à 30 jours. L'aspect macroscopique et microscopique permet d'identifier l'espèce.

6. TRAITEMENT :

Il doit être réalisé après le prélèvement mycologique.

6.1. TRAITEMENT DES TEIGNES

Il associe un traitement local et un traitement par voie générale :

A. PAR VOIE LOCALE :

Application biquotidienne d'un antifongique : dérivé imidazolé (Kétoderm®, Pévaryl®, Ecorex®) pendant 1 mois; il est souvent nécessaire de raser les cheveux autour des lésions.

B. PAR VOIE GÉNÉRALE :

Griséofulvine (Griséfuline®) per os 15 à 20 mg/kg/j, en deux prises, à prendre au cours de repas riches en graisses pour en favoriser l'absorption, pendant 6 à 8 semaines.

Pour les teignes anthropophiles, il faut rechercher un contact infestant dans l'entourage familial ou scolaire, et en cas de teigne zoophile, l'animal contaminateur.

La Griséofulvine est contre-indiquée en cas de grossesse, de porphyrie, de lupus, de prise d'anticoagulant, d'oestrogènes et de barbituriques, il faut surveiller la numération tous les mois, ses effets secondaires assez rares (éruptions, troubles digestifs) sont réversibles.

En cas de teignes inflammatoires et suppurées une antibiothérapie et des corticoïdes peuvent être associés.

6.2. TRAITEMENT DES ÉPIDERMOPHYTIES CIRCINÉES ET DES INTERTRIGOS

A. PAR VOIE LOCALE :

Un topique antifongique : dérivé imidazolé (Kétoderm®, Pévaryl®, Ecorex®), Terbinafine (Tercyd®, Lamisil®) est prescrit 2 fois par jour pendant 2 à 4 semaines.

B. PAR VOIE GÉNÉRALE :

La Griséofulvine (1 g/j) ou la terbinafine (1cp à 250 mg/j) sont indiquées si les lésions sont très étendues.

6.3. TRAITEMENT DES ONYXIS

A. SI LA MATRICE N'EST PAS ATTEINTE :

Le traitement peut rester local, à type de préparation antifongique en solution filmogène (vernis) :

- amorolfine (Loceryl®), une fois par semaine, ou
- Ciclopirox (Mycoster® solution filmogène), tous les jours pendant 3 à 6 mois.

L'avulsion chimique peut être utile avec une préparation à l'urée (Onyster pommade, Xérial 50 crème).

Un traitement concomitant des espaces interdigitoplantaires (ou palmaires) est nécessaire pour éviter toute réinfection.

B. SI LA MATRICE EST ATTEINTE :

Au traitement local précédemment cité, qui peut même être conduit en relais du traitement suivant, il est nécessaire de débuter le traitement par voie générale : terbinafine (Lamisil® 250mg, Tercyd® 250 mg) à raison de 1cp/j chez l'adulte, pendant 2 à 3 mois pour les ongles des mains, et 3 à 6 mois pour les ongles des pieds.

En cas d'intolérance (urticaire, troubles digestifs, perte du goût) et de contre-indications (grossesse, allaitement), le Fluconazole peut être utilisé.

Dans tous les cas, une surveillance hépatique et hématologique s'impose.

7. PRÉVENTION :

La prophylaxie est basée sur la maîtrise de la source de contamination, la reprise rapide du traitement en cas de récidives; toutefois les mesures préventives collectives (surveillance des douches et des piscines) sont difficiles à mettre en œuvre, faute de normes définies pour les dermatophytes à l'inverse des bactéries.

GLOSSAIRE

- **Ectothrix ou ecto-endothrix** : mode de parasitisme ou d'invasion pilaire par un dermatophyte, les spores nées des filaments intrapilaires sont localisés sous forme de gaine autour du cheveu ou d'un poil.
- **Endothrix** : mode de parasitisme ou d'invasion pilaire par un dermatophyte, les spores formées par des filaments intrapilaires restent à l'intérieur du cheveu ou d'un poil.
- **Favique** : mode de parasitisme ou d'invasion pilaire associé au godet du favus, caractérisé par la présence dans le cheveu atteint de filaments habituellement peu nombreux, remplis d'air.
- **Microïde** : mode de parasitisme ou d'invasion pilaire où le champignon en cause, *T. mentagrophytes* le plus souvent, produit à la surface du poil ou du cheveu des chaînettes lâches de spores de petite taille (2 à 3 µm de diamètre).
- **Mégaspore** : mode de parasitisme ou d'invasion pilaire où le champignon en cause, *T. verrucosum* le plus souvent, produit à la surface du poil ou du cheveu des chaînettes lâches de spores de grande taille (4 à 5 µm de diamètre).

EVALUATION FORMATIVE

1- Les dermatophytes :

- A. sont des mycoses cosmopolites
 - B. ont une affinité pour la kératine
 - C. ont des extensions fréquentes vers les tissus profonds
 - D. peuvent se développer sur les ongles
 - E. peuvent se développer dans les cheveux
-

2- L'intertrigo interdigito plantaire :

- A. est aussi appelé « pied d'athlète »
 - B. touche surtout l'enfant avant la puberté
 - C. débute souvent au premier espace interorteil
 - D. débute par une desquamation
 - E. présente souvent un aspect suintant
-

3- Lors d'un prélèvement pour rechercher un dermatophage, les deux gestes à ne pas faire sont :

- A. se servir d'une lampe de Wood
 - B. se servir d'un grattoir
 - C. mélanger deux points de prélèvements
 - D. prélever en périphérie de la lésion
 - E. prélever une lésion traitée préalablement par un topique antifongique
-

4- Quels sont les trois principaux genres des dermatophytes :

- A. *Epidermophyton*
 - B. *Microsporum*
 - C. *Trichosporon*
 - D. *Candida*
 - E. *Trichophyton*
-

Réponses :
- 1. C
- 2. B, C
- 3. C, E
- 4. A, B, E

LES ASPERGILLOSES (ASPERGILLOSIS)

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Identifier les facteurs de risque des différentes formes cliniques des aspergilloses.
2. Suspecter les différentes formes cliniques des aspergilloses en se basant sur les données cliniques, radiologiques et biologiques.
3. Prescrire les examens biologiques permettant de confirmer le diagnostic
4. Etablir les mesures préventives d'une aspergillose pulmonaire invasive.

INTRODUCTION

Ce sont les affections à moisissures les plus fréquentes. Elles sont provoquées par des champignons filamenteux au genre *Aspergillus* (A.). Près de 300 espèces composent ce genre. *A. fumigatus* est l'espèce la plus souvent impliquée en pathologie humaine dans les pays tempérés. *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. terreus* ou d'autres espèces sont moins fréquemment observées.

1. RESERVOIRS ET MODES DE CONTAMINATION:

1.1. RESERVOIR

Les moisissures du genre *Aspergillus* sont saprophytes de notre environnement. L'humidité favorise leur survie et leur développement. Elles sont retrouvées dans l'air, sur le sol et les végétaux en décomposition, dans l'alimentation et parfois dans l'eau sous forme de spores qui sont remises en suspension en cas de travaux et peuvent être véhiculées par les systèmes de ventilation.

1.2. MODE DE CONTAMINATION

La contamination se fait essentiellement par inhalation de spores, d'où l'atteinte préférentielle des poumons et des voies aériennes supérieures comme les bronches et les sinus. La contamination directe par déposition de spores sur des plaies ou brûlures cutanées, ou un site opératoire, peut aboutir à des infections locales à risque de dissémination. Des infections localisées peuvent résulter d'une contamination directe du conduit auditif externe (otomycose) ou la cornée (kératite). Plus rarement, la contamination est d'origine digestive.

2. FACTEURS DE VIRULENCE :

2.1. FACTEURS PHYSIQUES

- La petite taille des spores ou conidies (2 à 3 µm) : permet aux conidies de pénétrer profondément dans les voies respiratoires.
- La thermotolérance : facilite l'implantation du champignon dans l'organisme.
- L'aptitude des spores à filamerter : constitue une entrave à la phagocytose.
- La résistance : à des milieux secs ou faiblement oxygénés.

2.2. MOLECULES D'ADHESION

L'adhérence de ces micro-organismes grâce à des adhésines aux tissus de l'hôte est une étape essentielle dans le développement des infections aspergillaires.

2.3. SECRETIONS D'ENZYMES

2.4. PRODUCTION DE TOXINES

2.5. TROPISME VASCULAIRE

3. MOYENS DE PROTECTION:

3.1. REVETEMENT CUTANE

Le revêtement cutané constitue une barrière efficace contre les spores et les filaments mycéliens d'*Aspergillus*; ainsi toute rupture de la barrière cutanée constitue une porte d'entrée possible à l'infection aspergillaire.

3.2. CONTRE LES SPORES INHALEES

- Clairance mucociliaire : Les mouvements des cils vibratiles et la sécrétion de mucus s'opposent au développement du champignon.
- Réponse inflammatoire : L'organisme oppose à l'infection aspergillaire deux lignes de défense successives :
 - Macrophage alvéolaire : Première ligne de défense qui elle constitue un système efficace pour éliminer les spores inhalées. Elle est sans action sur les tubes germinatifs.
 - Polynucléaire neutrophile : Il constitue la deuxième ligne de défense. Son activité s'exerce vis-à-vis des filaments mycéliens.

4. DIAGNOSTIC CLINIQUE ET RADIOLOGIQUE DES ASPERGILLOSES:

4.1. LES ASPERGILLOSES DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE

• **L'aspergillose**

Il résulte de la colonisation d'une cavité préformée (le plus souvent secondaire à une tuberculose ou une sarcoïdose) communiquant avec les bronches et ayant perdu ses défenses phagocytaires. Ainsi, une boule fongique, ou truffe aspergillaire, envahit toute la cavité en laissant un espace clair au niveau du sommet (signe radiologique du « grelot »). Le signe clinique évocateur est l'hémoptysie. *A. fumigatus* est l'espèce la plus souvent incriminée.

• **L'aspergillose pulmonaire invasive (API)**

Il s'agit de la maladie la plus grave liée à *Aspergillus*. Elle est de très mauvais pronostic, en partie parce qu'elle touche des patients sévèrement immunodéprimés. Le facteur favorisant majeur est la neutropénie profonde et prolongée (PNN inférieurs à < 500 GB/ml pendant plus de 10 jours) des patients d'onco-hématologie, mais aussi la greffe de moelle osseuse allogénique, d'autres immunsuppressions profondes thérapeutiques notamment une corticothérapie prolongée à forte dose (> 0.3 mg/kg/j équivalent prednisone pendant plus de 3 semaines), les immunsupresseurs (TNFα, cyclosporine...) ou encore les déficits immunitaires congénitaux (granulomatose septique chronique).

Le diagnostic doit être évoqué chez tout patient immunodéprimé, notamment présentant un des facteurs de risque suscités, devant un sepsis grave évoluant depuis plus de 48 heures malgré une antibiothérapie à large spectre avec un point d'appel pulmonaire.

- Un scanner thoracique précoce permet l'observation d'un infiltrat pulmonaire associé au «signe du halo» (image qui correspond au liseré hémorragique entourant le foyer rond d'infarctus ; elle reste fugace, visible quelques jours pendant la phase d'aplasie) ou à des nodules pulmonaires, et plus tardivement, le signe du croissant gazeux.

- Les examens mycologiques (cultures et recherche d'antigène spécifiques) permettent le diagnostic.

L'API est caractérisée par une évolution rapidement péjorative, du fait de l'envahissement local avec nécrose, mais aussi de l'invasion des capillaires permettant une diffusion hématogène de l'infection.

L'évolution est gravissime (mortalité entre 70 et 90% des cas), et seuls le diagnostic précoce et la prise en charge thérapeutique adaptée permettent d'améliorer le pronostic. Le bilan d'extension doit faire rechercher des localisations cérébrales, sinusniennes, hépatiques, rénales, cardiaques et cutanées.

En dépit des avancées technologiques, l'aspergillose pulmonaire invasive reste un diagnostic difficile et communément classé comme «possible», «probable» ou «certain» en fonction des arguments épidémiologiques, cliniques, radiologiques et biologiques.

• **Les aspergilloses immuno-allergiques**

Le champignon filamenteux se comporte ici comme tout autre allergène :

L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) survenant sur un terrain propice (asthme, atopie, ou mucoviscidose par exemple), il s'agit d'une réponse immunitaire locale à une colonisation trachéo-bronchique aspergillaire chronique. Le diagnostic, difficile mais plus aisé en phase d'exacerbation, repose sur l'association d'une dyspnée fébrile avec infiltrats pulmonaires et de signes biologiques de réaction d'hypersensibilité immédiate (hyperéosinophilie sanguine, augmentation des IgE totales) et semi-retardée (synthèse d'anticorps précipitants anti-aspergillaires, augmentation des titres des anticorps réaginiques spécifiques (IgE, IgA et IgG)).

- L'asthme aspergillaire se traduit par un asthme qui survient suite à une exposition aux spores aspergillaires. Il est accompagné d'une hyperéosinophilie sanguine et d'une augmentation des IgE spécifiques anti-aspergillaires, mais sans précipitines.

- L'alvéolite allergique extrinsèque est une alvéolite provoquée par l'inhalation massive et répétée de spores fon-

giques chez des sujets non atopiques. Les circonstances d'exposition sont essentiellement liées à des risques professionnels (manipulation de grain ou de foin moisî), et l'affection dite «poumon de fermier» en est l'exemple type. Cette atteinte évolue avec des épisodes de toux, dyspnée, fièvre, et râles crépitants pulmonaires à chaque exposition à l'allergène. La répétition des accès peut conduire à la chronicité avec un tableau d'insuffisance respiratoire chronique par fibrose interstitielle, ou à la bronchite chronique. La détection de précipitines en l'absence de tout terrain atopique contribue au diagnostic.

o La sinusite fongique allergique survient habituellement chez des sujets jeunes et associe sinusite persistante, obstruction nasale, polype nasal et hyperéosinophilie sanguine. Le genre *Aspergillus* est le plus fréquemment incriminé dans les sinusites fongiques mais d'autres moisissures peuvent être en cause.

4.2. LES ASPERGILLOSES EXTRA-RESPIRATOIRES

• Les formes superficielles

- Les otomycoses : fréquemment due à *A. niger*. Elles sont favorisées par des lésions pré-existantes (eczéma, otorrhée chronique, malformation anatomique) et par l'usage des corticoïdes locaux.
- Les aspergilloses oculaires : le plus souvent post-traumatiques (projectiles inertes ou végétaux souillés par *Aspergillus*), il s'agit principalement de kératite ou de choriorétinite.
- Les aspergilloses cutanées : principalement décrites chez les grands brûlés présentant des zones dermoépidermiques nécrosées.
- Lonyxis aspergillaire : rare. Le diagnostic ne sera affirmé que sur la présence répétée de filaments mycéliens à l'examen direct, et d'*Aspergillus* en culture pure à tous les points d'ensemencement.

• Les formes profondes

Elles peuvent être localisées ou disséminées et d'origine exogène (post-chirurgicale) ou endogène, après diffusion hémato-gène au cours d'une API. Les atteintes peuvent être cérébrales, sinusiennes, hépatiques, péritonéales, péricardiques, cardiaques (endocardites), osseuses et cutanées.

5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ASPERGILLOSES :

5.1. LES PRELEVEMENTS

Le prélèvement doit se faire dans des conditions d'asepsie, dans un récipient stérile, et être rapidement acheminé au laboratoire.

L'isolement d'*Aspergillus* de prélèvements produits biologiques issus de sites stériles (biopsies d'organes, liquide céphalo-rachidien, ...) affirme le diagnostic. L'isolement d'*Aspergillus* de sites anatomiques pouvant être colonisés (arbre respiratoire ou sites superficiels) est d'interprétation délicate et doit prendre en compte le contexte clinique et l'ensemble des arguments diagnostiques. Les prélèvements respiratoires protégés (liquide de LBA, prélèvement trachéal protégé) auront une valeur supérieure à l'examen des expectorations.

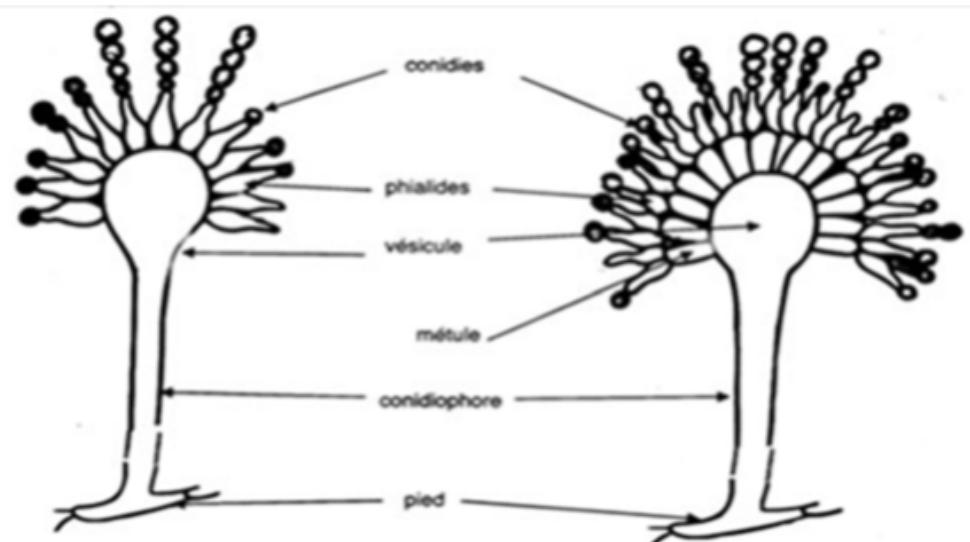
5.2. MISE EN EVIDENCE DIRECTE DU CHAMPIGNON

• Examen mycologique

Il doit être effectué dans un laboratoire spécialisé, et doit associer un examen direct et une culture sur milieu spécifique.

- Examen direct : Il permet la mise en évidence de filaments mycéliens de «type aspergillaire». Ces filaments mesurent de 2 à 4 micromètres de diamètre. Ils sont hyalins, cloisonnés, et ramifiés (dichotomie avec angles aigus à 45°).
- Culture : Elle se fait sur milieu de Sabouraud sans actidione et permet l'identification précise du genre et de l'espèce du champignon. *Aspergillus* pousse à 37°C en 3 à 5 jours. L'aspect macroscopique est ras à poudreux, velouté parfois cotonneux, et de couleur variée en fonction de l'espèce.

L'examen microscopique de la culture met en évidence le conidiophore et la tête aspergillaire, dont les caractéristiques affirmeront l'identification.



Examen microscopique d'*Aspergillus* en culture

• Examen anatomopathologique

Il peut mettre en évidence des filaments mycéliens septés «de type aspergillaire» et peut objectiver un processus d'invasion tissulaire, notamment vasculaire.

• Biologie moléculaire

Cette technique est très sensible. Par conséquent, la distinction entre une colonisation (portage asymptomatique) et une infection réelle est difficile.

5.3. MISE EN EVIDENCE INDIRECTE DU CHAMPIGNON

• Détection d'anticorps circulants :

Elle traduit la réponse immunitaire humorale d'un hôte non-neutropénique au contact du champignon et constitue un argument majeur pour le diagnostic de l'aspergillome et des aspergilloses localisées et immunoallergiques. L'absence de réponse humorale au cours de diverses immunodépressions rend l'interprétation des résultats délicate en cas de suspicion d'aspergillose invasive.

• Détection d'antigènes circulants :

Une recherche positive dans le sang est un argument biologique majeur pour le diagnostic de l'aspergillose invasive, en particulier chez le patient neutropénique. Il s'agit d'un test de grand intérêt diagnostique.

5.4. SIGNES NON SPECIFIQUES

L'hyperéosinophilie sanguine et l'augmentation des IgE totales sont des marqueurs non spécifiques qui doivent être recherchés au cours des aspergilloses immuno-allergiques.

6. TRAITEMENTS:

- Aspergillome : le traitement repose essentiellement sur la chirurgie.
- Aspergilloses localisées : l'objectif du traitement est de supprimer la masse fongique, principalement par chirurgie, curetage ou drainage, en association avec un traitement antifongique par voie orale.
- Aspergilloses invasives : la mise sous traitement efficace est une urgence (voir cours infectieux).
- Aspergilloses immuno-allergiques : leur prise en charge associe un traitement anti-inflammatoire, des soins locaux et une éviction de l'exposition à l'allergène.

7. PROPHYLAXIE PRIMAIRE ET PREVENTION:

7.1. CHIMIOPROPHYLAXIE

La chimioprophylaxie secondaire est essentiellement indiquée chez les patients ayant présenté une aspergillose invasive d'évolution favorable sous traitement, afin de limiter le risque important de rechute en cas de nouvelles cures de chimiothérapie ou de greffe de moelle.

7.2. PREVENTION

Elle consiste essentiellement à préserver le patient à risque d'une source environnementale de spores fongiques. Chez le patient neutropénique ou immunodéprimé, elle comporte :

- La recherche bi-hebdomadaire d'antigènes circulants
- L'isolement protecteur du patient en cas de neutropénie profonde (< 500 GB/ml) et de longue durée (> 1 mois) dans un environnement exempt de spores fongiques. Ce sont des secteurs dits «protégés», avec système de filtration de l'air.
- Le contrôle de l'eau et de l'alimentation.
- La mise en place de règles rigoureuses concernant la circulation des personnes (habillage + masques) et des biens (plantes et fleurs, matériels), les protocoles de bionettoyage utilisant des désinfectants de surface fongicides, les procédures d'isolement de zones de travaux et de prévention de l'environnement.
- La surveillance de la biocontamination fongique environnementale.

EVALUATION FORMATIVE

CAS CLINIQUE :

Monsieur X a bénéficié d'une greffe de moelle osseuse ; il a présenté dans les jours qui ont suivi la greffe une symptomatologie pulmonaire fébrile. Une aspergillose invasive est évoquée.

1- Quel est le facteur favorisant pouvant expliquer la survenue précoce de cette affection opportuniste?

Un prélèvement du liquide broncho-alvéolaire est effectué chez ce patient.

2- Citez deux techniques pouvant être effectuées sur ce prélèvement.

Réponses :
1. La neutropénie et culture
2. Examen direct

دَاءُ الْمُقْوِسَاتِ LA TOXOPLASMOSE, TOXOPLASMOSIS,

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Identifier les différentes formes évolutives de *Toxoplasma gondii* et préciser pour chacune sa localisation.
2. Identifier les modalités de contamination de l'homme par *Toxoplasma gondii*, en se basant sur le cyclebiologique du parasite
3. Poser le diagnostic positif d'une toxoplasmose chez l'immunocompétent en se basant sur les données cliniques et biologiques.
4. Poser le diagnostic positif d'une toxoplasmose au cours de la grossesse en se basant sur les données sérologiques.
5. Evaluer le risque de contamination et la gravité de l'atteinte fœtale, en fonction de la date de la contamination de la mère par *Toxoplasma gondii*.
6. Prendre en charge (diagnostique et thérapeutique) une toxoplasmose congénitale (anténatale, néonatale et postnatale) en se basant sur les données cliniques, radiologiques et biologiques.
7. Poser le diagnostic positif une toxoplasmose chez l'immunodéprimé infecté par le VIH, en se basant sur les données cliniques, radiologiques et biologiques.
8. Poser le diagnostic positif d'une toxoplasmose oculaire en se basant sur les données cliniques et biologiques
9. Prodiguer les mesures prophylactiques envers la toxoplasmose chez une femme enceinte non immunisée.
10. Prodiguer les mesures prophylactiques envers la toxoplasmose chez un sujet infecté par le VIH, en fonction de son statut immunitaire vis-à-vis de la toxoplasmose.

INTRODUCTION

La toxoplasmose est une zoonose cosmopolite habituellement bénigne chez le sujet immunocompétent, mais redoutable chez la femme enceinte, à cause du risque du passage du parasite chez le fœtus, et chez l'immunodéprimé. En Tunisie, la séroprévalence de la toxoplasmose dans la population générale est entre 48 à 63 % selon les enquêtes et les régions.

1. LE PARASITE :

Toxoplasma gondii est un protozoaire qui appartient au phylum des *Apicomplexa* et à la classe des *Sporozoa*. Il se présente sous diverses formes évolutives :

- le **tachyzoïte**, forme de multiplication intracellulaire du parasite. Il a une forme en croissant de 6 à 8 µm de long sur 3 à 4 µm de large.
- le **kyste**, forme de quiescence intratissulaire. Il est sphérique ou ovoïde, mesurant de 50 à 200 µm de diamètre. Il est limité par une membrane et contient de nombreux **bradyzoïtes**, éléments morphologiquement très proches des tachyzoïtes, mais plus petits et au métabolisme très ralenti.
- les **oocystes**, forme de résistance dans le milieu extérieur. Ils sont ovoïdes (14 µm x 9 µm) et contiennent après sporulation 2 **sporocystes** contenant chacun 4 sporozoïtes, éléments morphologiquement proches des bradyzoïtes.

2. CYCLE BIOLOGIQUE :

2.1. CYCLE COMPLET (ANNEXE 1)

Le chat, hôte définitif, s'infecte en ingérant les kystes contenus dans la chair de ses proies. Les bradyzoïtes libérés à partir des kystes pénètrent dans les cellules iléales et subissent une multiplication asexuée schizogonique, suivie d'une gamogénie aboutissant à la formation de **microgamétocytes** mâles et **macrogamétocytes** femelles. La fécondation produit un œuf, l'oocyste. Ce dernier est éliminé avec les fèces du chat dans le milieu extérieur. Les oocystes sporulent en milieu tellurique, lorsque les conditions de température et d'humidité sont favorables.

Les animaux homéothermes (rongeurs, oiseaux, mais également le bétail...), hôtes intermédiaires, se contaminent en ingérant les oocystes présents dans la terre. Les sporozoïtes libérés à partir des oocystes pénètrent dans les cellules macrophagiques intestinales, se multiplient sous forme de tachyzoïtes qui diffusent à tout l'organisme par voie sanguine et lymphatique. Sous l'action du système immunitaire, les tachyzoïtes se transforment en bradyzoïtes au bout d'une dizaine de jours et forment des kystes essentiellement au niveau du muscle squelettique, le cerveau et la rétine.

2.2. CYCLE INCOMPLET (ANNEXE 1)

Ce cycle se déroule entre **hôtes intermédiaires**. Des hôtes intermédiaires **carnivores** se contaminent par l'ingestion de kystes enchaînés dans la chair d'autres hôtes intermédiaires. Après libération des bradyzoïtes, transformation en tachyzoïtes et multiplication intracellulaire, se forment des kystes intra-tissulaires.

3. MODES DE CONTAMINATION POUR L'HOMME :

L'homme se contamine :

- **par ingestion :**
 - d'**oocystes** éliminés dans les fèces du chat et souillant les légumes ou les fruits consommés crus ou la litière du chat.
 - de **kystes** contenus dans la viande consommée mal cuite.
- **par passage transplacentaire :** lorsque la primo-infection toxoplasmique survient au cours de la grossesse, les tachyzoïtes peuvent envahir le placenta et se multiplier ultérieurement chez le fœtus.
- **accidentellement**, lors d'une greffe de moelle, de transplantation d'organes (cœur +++) et exceptionnellement au cours de la transfusion sanguine par une poche de sang contaminée.

4. CLINIQUE :

Trois formes cliniques sont à distinguer :

4.1. LA TOXOPLASMOSE ACQUISE DU SUJET IMMUNOCOMPÉTENT

La toxoplasmose est asymptomatique dans 80 % des cas, découverte lors d'un bilan biologique systématique. Les formes symptomatiques peuvent associer :

- une fébricule persistant pendant quelques semaines,
- des adénopathies, souvent cervicales, volumineuses, non empâtées, légèrement douloureuses avec atteinte possible d'autres aires axillaire, inguinale, médiastinale...
- une asthénie.
- un syndrome mononucléosique sanguin

4.2. LA TOXOPLASMOSE CONGÉNITALE

La toxoplasmose congénitale survient lorsque la mère contracte la maladie en cours de grossesse ou en péri-conceptionnelle.

La fréquence du passage transplacentaire du parasite et la gravité de l'atteinte fœtale sont variables en fonction de la date de la contamination par rapport à l'âge de la grossesse :

- au cours du 1^{er} trimestre de grossesse, le risque de passage du parasite est faible (estimé à 15 %), mais s'il a lieu, les atteintes fœtales sont graves.
- au cours du 3^{ème} trimestre, la probabilité de passage transplacentaire est élevée, mais les atteintes fœtales sont moins graves.

Ainsi, la toxoplasmose peut provoquer des avortements spontanés et si la grossesse évolue jusqu'à terme, des manifestations cliniques sont de gravité variable :

- Des malformations majeures qui associent une hydrocéphalie, des calcifications intra crâniennes et une choriorétinite.

- Ces signes seraient la conséquence d'une contamination précoce au 1^{er} ou au début du 2^{ème} trimestre.
- un syndrome infectieux néonatal sévère avec atteinte multiviscérale (ictère, syndrome hémorragique, hépatomégalie...)
 - Des formes atténues oculaires ou neurologiques limitées à une microptalmie, un strabisme, une choriorétinite, des troubles du tonus, des calcifications intracrâniennes ou des convulsions.
 - Des formes inapparentes ou infracliniques n'ayant qu'une traduction sérologique à la naissance. Leur risque majeur est l'apparition d'une choriorétinite qui peut se manifester même tardivement à l'adolescence ou chez l'adulte. Cette forme clinique serait généralement la conséquence d'une infection tardive au 3 ème trimestre de la grossesse.

4.4. LA TOXOPLASMOSE DU SUJET IMMUNODÉPRIMÉ

Elle est souvent due, chez le sujet immunodéprimé (sujet infecté par le VIH, greffé de moelle osseuse, transplanté d'organes) immunisé vis-à-vis de la toxoplasmose, à une réactivation endogène des kystes toxoplasmiques avec transformation des bradyzoïtes en tachyzoïtes (toxoplasmose cérébrale ou neuro-toxoplasmose).

Les patients immunodéprimés non immunisés vis-à-vis de la toxoplasmose peuvent présenter une primo-infection symptomatique parfois grave (toxoplasmose disséminée avec localisation essentiellement pulmonaire).

Chez le sujet infecté par le VIH, le risque de réactivation endogène est possible quand le taux de lymphocytes T CD4+ devient inférieur à 100/mm³. Il associe généralement une fièvre, des céphalées et un syndrome déficitaire. Le syndrome méningé clinique est rare. La toxoplasmose cérébrale est considérée comme une infection opportuniste majeure au cours de l'infection par le VIH, classant le malade atteint au stade SIDA.

La toxoplasmose extracérébrale est plus rare et survient généralement à un stade plus tardif de l'immunodéficience, les principales localisations rencontrées étant oculaires.

4.5. LA TOXOPLASMOSE OCULAIRE

Il s'agit le plus souvent d'une rétinochorioidite. Les signes cliniques dépendent de la localisation de la lésion : absence de symptômes, flou visuel, scotomes, myodésopsies... Elle est la complication la plus fréquente de la toxoplasmose congénitale et peut être d'apparition parfois tardive, à l'adolescence ou à l'âge adulte. Elle peut aussi compliquer, éventuellement de façon retardée, une infection acquise chez l'immunocompétent (il s'agit de l'apanage d'une contamination par des souches virulentes).. Chez l'immunodéprimé, il s'agit de la deuxième manifestation la plus fréquente en cas de réactivation.

5. MOYENS DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

5.1. LA SÉROLOGIE

- La sérologie doit comporter la recherche simultanée des deux isotypes IgM et IgG.
- Plusieurs techniques sont disponibles de principe différent : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), electrochimiluminescence (ECLIA), Enzyme- Linked Immunofluorescent Assay (ELFA)...

Le suivi sérologique doit être fait par la même technique et dans le même laboratoire.

- D'autres techniques complémentaires peuvent être utilisées en fonction du contexte :
- Le test d'avidité des IgG : permettant de dater la contamination maternelle toxoplasmique par rapport à l'âge de la grossesse. Son principe repose sur l'étude de l'affinité des IgG spécifiques vis-à-vis de l'antigène toxoplasmique :

 - Un indice d'avidité des IgG élevé permet d'exclure une infection récente.

-Un indice d'avidité faible peut être un marqueur d'une toxoplasmose récente, mais insuffisant pour l'affirmer.

- Techniques d'immunoempreinte :

* le Western Blot TOXO II IgG : il s'agit d'une technique sensible et spécifique pour la recherche des Ig G. Ce test permet de confirmer un titre douteux d'IgG obtenu par les techniques classiques. Il permet également la détection des séro-conversions précoces des IgG chez la femme enceinte.

* Le Western Blot (WB) comparatif : pour l'étude des profils sérologiques comparatifs (sérum mère/sérum bébé en IgG et en IgM; sérum/humeur aqueuse ou vitrée en IgG).

- L'ISAGA (Immuno-Sorbent-AGglutination-Assay) : pour la recherche des IgM.

B. CINÉTIQUE DES ANTICORPS :

- Les IgM spécifiques apparaissent précocement dès les premiers jours de l'infection et disparaissent en moyenne au bout d'une année mais ils peuvent persister durant une période plus ou moins longue.
- Les IgG apparaissent 1 à 4 semaines plus tard, leur titre augmente progressivement, atteignant des taux élevés (> 300 UI/mL) à partir du 2^{ème} mois puis se stabilise en plateau durant une année environ et décroît pour se stabiliser à des taux faibles résiduels durant toute la vie.

5.2. LA MISE EN ÉVIDENCE DU PARASITE OU DE SON ADN

Toxoplasma gondii est mis en évidence après coloration au May Grünwald Giemsa (MGG) de frottis de différents prélèvements (placenta, biopsies digestives, pulmonaires...).

L'ADN parasitaire est mis en évidence par les techniques de biologie moléculaire comme la PCR (Polymerase Chain Reaction).

6. DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE :

6.1. LA TOXOPLASMOSE DE L'IMMUNOCOMPÉTENT

Le diagnostic est **sérologique**, basé sur l'ascension du titre des IgG spécifiques à 2 examens successifs effectués à 15 à 21 jours d'intervalle avec présence d'IgM.

6.2. LA TOXOPLASMOSE MATERNO-FOETALE

A. LA TOXOPLASMOSE MATERNELLE :

Le diagnostic se base essentiellement sur la sérologie. En fonction des résultats sérologiques, différents cas de figure sont possibles (Annexe 2) :

– IgG négatifs + IgM négatifs : absence d'immunité :

- mesures hygiéno-diététiques
- surveillance sérologique mensuelle avec un dernier contrôle 15 jours à 1 mois

après l'accouchement afin de détecter les séroconversions tardives du dernier mois de la grossesse.

– IgG négatifs + IgM positifs : Il s'agit d'une infection récente ou des IgM non spécifiques. Il faut pratiquer sur ce prélèvement une technique complémentaire (Western Blot Toxo II IgG) ou refaire la sérologie après 15 jours :

- Si absence d'apparition des IgG au bout de 02 mois après le premier prélèvement, il s'agit d'IgM non spécifiques et il faut considérer la femme comme non immunisée chez qui une surveillance sérologique mensuelle s'impose avec conseils hygiéno-diététiques.
- Si Western blot Toxo II IgG positif ou il y a apparition des IgG, il s'agit d'une séroconversion.

– IgG positifs + IgM négatifs : immunité ancienne probable, il faut faire une deuxième sérologie après 21 jours : si IgG stables donc il s'agit d'une toxoplasmose ancienne.

– IgG positifs + IgM positifs : infection récente probable. Il faut faire un test d'avidité(IA) des IgG :

- Si IA élevé: exclusion d'une infection récente datant de plus de 04 à 05 mois (en fonction du kit utilisé).
- Si IA faible: c'est un marqueur d'une infection récente mais insuffisant pour l'affirmer et par suite ne permet pas d'exclure une infection ancienne donc il faut demander une deuxième sérologie à 21 jours plus tard :
- Si titre des IgG stable : contamination antérieure de plus de 02 à 03 mois à la date du premier prélèvement.
- Si élévation significative du titre des IgG (au moins dédoublement du titre) : toxoplasmose évolutive de moins de 02 mois.

B. LA TOXOPLASMOSE CONGÉNITALE :

- DIAGNOSTIC ANTE-NATAL « IN UTERO » BASÉ SUR :

- L'échographie qui peut montrer des malformations foetales,
- La PCR à la recherche d'ADN toxoplasmique dans le liquide amniotique, sachant que l'amniocentèse ne peut être effectuée qu'à partir de la 18ème semaine d'aménorrhée et 1 mois après la date présumée de l'infection maternelle.

- DIAGNOSTIC POSTNATAL BASÉ SUR :

- L'examen clinique,
- Le fond d'œil à la recherche de choriorétinite,
- L'échographie transfontanellaire (ETF),
- L'IRM cérébrale...,
- Les examens biologiques :
 - La sérologie qui confirme le diagnostic de toxoplasmose congénitale en montrant :
 - La présence d'**IgM** au-delà du **10ème jour de vie**,
 - La présence d'IgG et/ou d'IgM **néosynthétisées** (profils comparés mère/enfant en Western Blot ou en suivi bébé/bébé)

- L'ascension des IgG ou leur persistance au-delà de la première année de vie.
- N.B. : En cas de positivité des IgG anti-toxoplasmiques chez le nouveau-né, le suivi sérologique doit être poursuivi jusqu'à **disparition** des IgG maternelles transmises.

6.3. LA TOXOPLASMOSE OCULAIRE

Le diagnostic de la toxoplasmose oculaire se base sur :

- Le fond d'œil qui met en évidence des lésions évocatrices de choriorétinite toxoplasmique,
- Le calcul de la charge immunitaire qui permet de comparer le titre d'Ac spécifiques synthétisés dans l'humeur aqueuse ou le vitré, à celui existant dans le sérum,
- Le profil comparé sérum/humeur aqueuse ou vitrée en Western Blot qui permet de mettre en évidence des anticorps synthétisés localement,
- La PCR à la recherche d'ADN toxoplasmique au niveau de l'humeur aqueuse ou le vitré.

LA TOXOPLASMOSE DE L'IMMUNODEPRIME

- **La neurotoxoplasmose :** Le diagnostic de toxoplasmose cérébrale se base essentiellement sur des arguments cliniques et radiologiques.

Le scanner cérébral montre un aspect très évocateur à type de lésions focales, généralement multiples, hypo ou isodenses avant injection de produit de contraste. Après injection, la prise de contraste est annulaire associée à une réaction œdémateuse périphérique, donnant la classique image en cocarde.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) peut détecter des microabcès de localisation inaccessible à l'exploration scannographique.

Les arguments radio-cliniques sont généralement suffisants pour la mise en route du traitement. (Traitement d'épreuve).

Par contre, la sérologie est peu contributive.

- **la toxoplasmose disséminée de l'immunodéprimé**

La mise en évidence du parasite ou de son ADN au niveau de différents prélèvements (sang, liquide de lavage broncho alvéolaire, LCR, biopsies cérébrales...) est possible.

7. TRAITEMENT :

7.1. LES MOLÉCULES

Les molécules les plus utilisées dans le traitement de la toxoplasmose se base sur :

- Les macrolides vrais et apparentés/Spiramycine (Rovamycine®)
- Les inhibiteurs de la DéHydroFolate Réductase (DHFR) : pyriméthamine et triméthoprime
- Les sulfamides :
 - d'action rapide : sulfadiazine
 - d'action retardée : sulfadoxine
 - d'action semi-retardée : sulfaméthoxazole
- Les associations synergiques : pyriméthamine-sulfadiazine, pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar®) et triméthoprime-sulfaméthoxazole (Bactrim®)

7.2. LES INDICATIONS

A. LA TOXOPLASMOSE ACQUISE :

La guérison est spontanée. En cas d'asthénie importante, on peut prescrire de la spiramycine à raison de 50-100 mg/kg/j pendant 1 mois.

B. LA TOXOPLASMOSE MATERNO-FŒTALE :

- Dès la séroconversion, on prescrit de la spiramycine, car ce traitement diminue le risque de transmission transplacentaire.
- En cas de diagnostic anténatal positif, afin de limiter la progression de l'infection fœtale, on donne une association, pyriméthamine-sulfadiazine ou pyriméthamine-sulfadoxine (associer l'acide folinique devant les effets indésirables hémato-logiques du traitement).
- En cas de diagnostic anténatal négatif, on maintient la spiramycine jusqu'à l'accouchement.
- Si, à la naissance, le diagnostic de toxoplasmose congénitale est posé, on prescrira un traitement à base de pyriméthamine et de sulfamide associé à l'acide folinique.

C. LA TOXOPLASMOSE DU SUJET INFECTÉ PAR LE VIH :

On donne en traitement d'attaque une association de pyriméthamine et sulfamide et d'acide folinique pendant 6 semaines.

Le traitement d'attaque est relayé par une prophylaxie secondaire (demi-dose du traitement d'attaque) jusqu'à restitution immunitaire, afin d'éviter le risque de rechute.

8. PROPHYLAXIE :

8.1. PRÉVENTION PRIMAIRE DE LA TOXOPLASMOSE MATERNO-FŒTALE

Le dépistage sérologique précoce est obligatoire

A. EN ABSENCE D'IMMUNITÉ TOXOPLASMIQUE :

- Conseils hygiéno-diététiques :

- Consommer les viandes bien cuites
- Laver les légumes et les fruits consommés crus à grande eau
- Éviter la restauration collective portant sur les crudités et les viandes insuffisamment cuites.
- Éviter le contact avec les endroits où peuvent déféquer les chats (litière...)
- Porter des gants lors du jardinage ou du changement de litière des chats

- Contrôles sérologiques mensuels, jusqu'à 15 jours à 1 mois après l'accouchement.

B. EN CAS DE CONTAMINATION ANCIENNE ANTÉRIEURE À LA GROSSESSE (FEMME IMMUNISÉE) :

Il n'y a pas de précautions à prendre puisque ces femmes ne sont pas réceptives à la toxoplasmose.

8.2. PRÉVENTION DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE SUJET INFECTÉ PAR LE VIH

A. EN CAS DE SÉROLOGIE NÉGATIVE :

Le patient doit bénéficier des conseils hygiéno-diététiques afin d'éviter la contamination par le toxoplasme et une surveillance sérologique semestrielle..

B. EN CAS DE SÉROLOGIE POSITIVE :

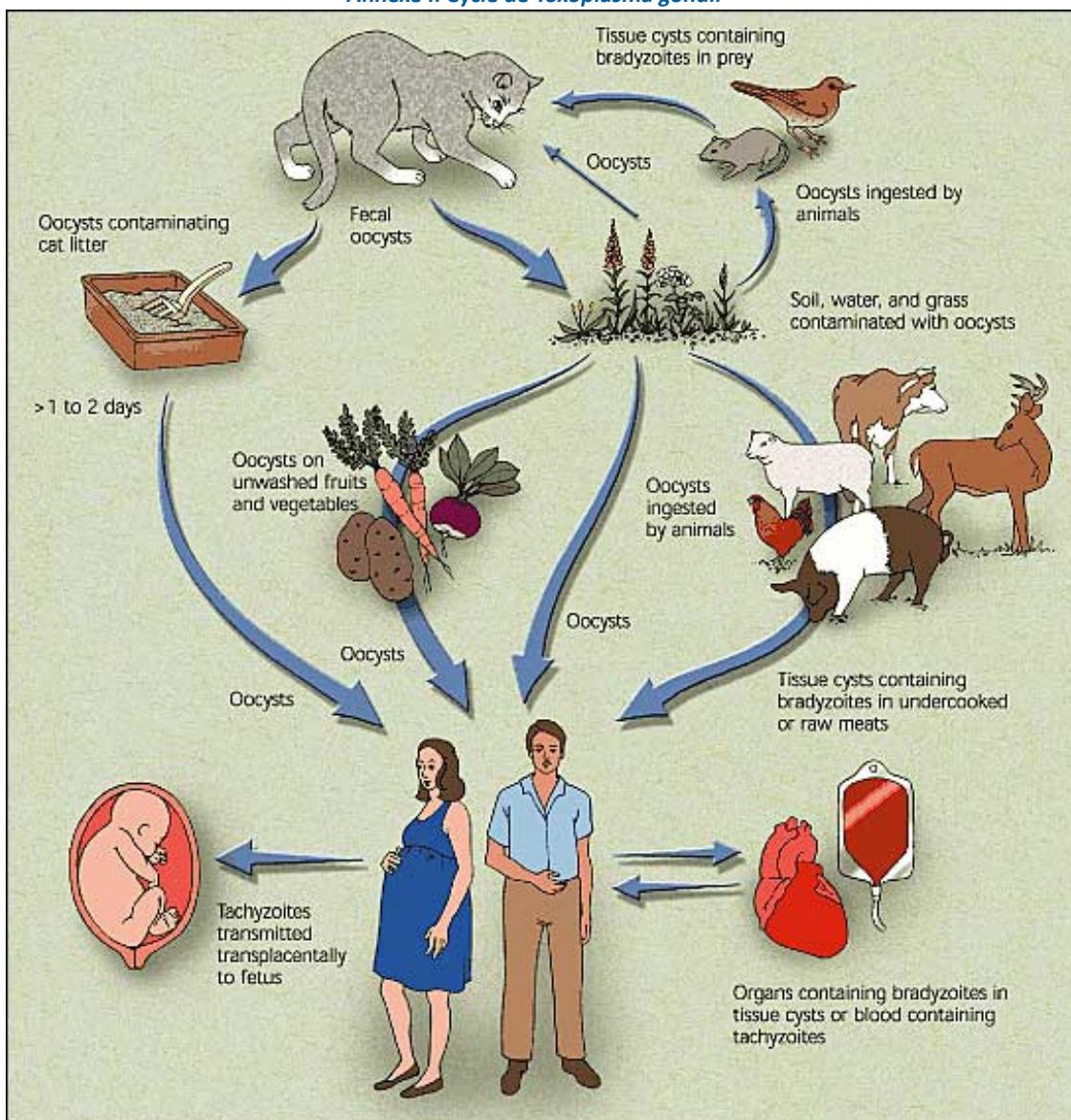
Le risque est la réactivation endogène des kystes. Une prophylaxie primaire basée sur l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (Bactrim®) doit être envisagée en cas d'immunosuppression profonde ($CD4 <200$ éléments /mm³) jusqu'à la restitution de l'immunité.

GLOSSAIRE

Zoonose :	maladie de l'animal, transmissible à l'homme
Schizogonie :	Cycle asexué des parasites de la classe des sporozoaires
Gamogonie :	mode sexué de reproduction
Homéothermes :	organismes à sang chaud
Hydrocéphalie :	anomalie neurologique sévère, définie par l'augmentation du volume des espaces contenant le liquide céphalo-rachidien : ventricules cérébraux et espace sous-arachnoïdien.
Choriorétinite :	inflammation de la choroïde et de la rétine
Microptalmie :	œil plus petit avec troubles de la vue souvent associé si unilatéral
Strabisme :	défaut de parallélisme des axes visuels
Fond d'œil :	examen simple permettant d'examiner le fond de l'œil. Il permet d'observer la rétine et ses vaisseaux, la papille optique (tête du nerf optique) et la macula.
Scotome:	tâche aveugle dans le champ visuel
Myodésopsies:	mouches volantes
Amniocentèse :	ponction du liquide amniotique chez le fœtus.
Infection péri-conceptionnelle:	6 semaines avant et après la conception.

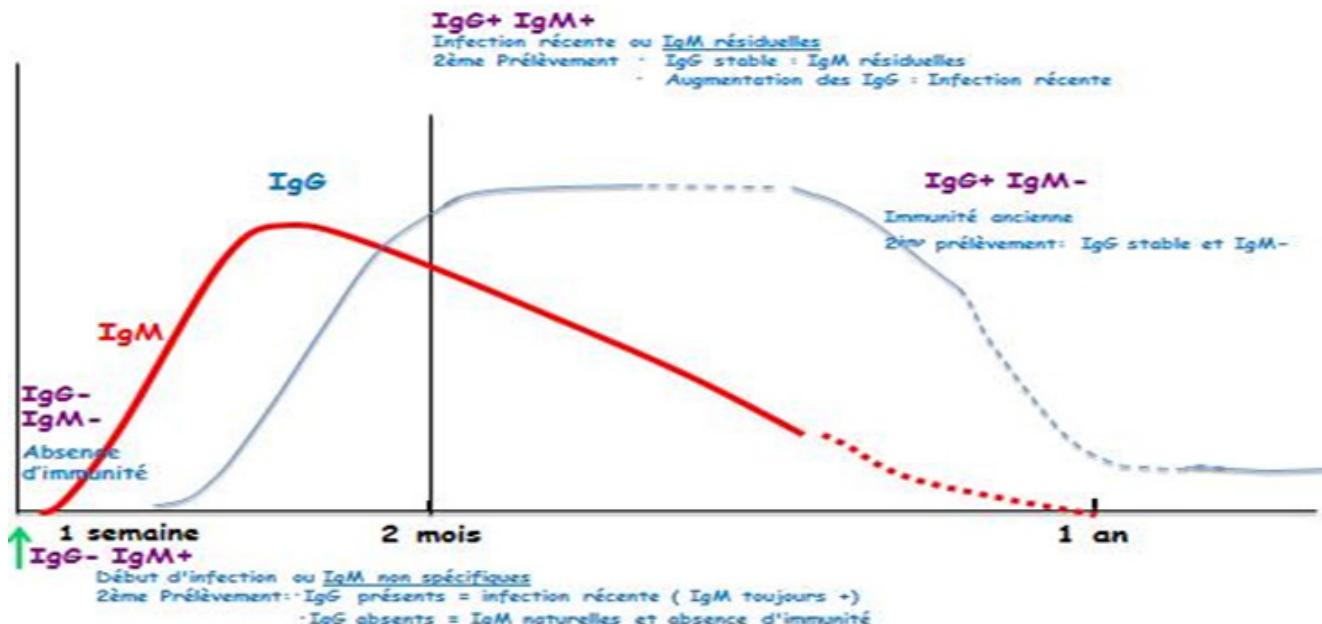
ANNEXE

Annexe I: Cycle de Toxoplasma gondii



© 2003 MARCIA HARTSOCK

Annexe 2: cinétique des anticorps antitoxoplasmiques chez un sujet immunocompétent en cas de primo-infection toxoplasmique



EVALUATION FORMATIVE

QCM :

Les deux localisations de toxoplasmose fréquentes chez les sujets immunodéprimés sont :

- A- Pulmonaires
- B- Oculaires
- C- Cardiaques
- D- Cérébrales
- E- Hépatique

Cas clinique :

La sérologie de la toxoplasmose pratiquée chez une jeune femme au 2^{ème} mois de sa grossesse est négative.

1- Quelles sont les recommandations que vous devez lui prodiguer ?

Au 4^{ème} mois de grossesse, les contrôles sérologiques mensuels, négatifs jusque-là, montrent la présence d'IgG et d'IgM anti-toxoplasmiques.

2- De quoi s'agit-il ?

3- Quelles sont vos prescriptions ?

- Eviter la restauration collective
- Lavage des légumes et fruits

- Consommation de viandes bien cuite

- Des conseils hygiéno-diététiques :

QCM n° 1 : *Des conseils hygiéno-diététiques :

- Consommation de viandes bien cuite

- Eviter la restauration collective

QCM : A-B-D..

Réponses :

- Eviter le contact avec les endroits où peuvent déverser les chats (littere...)
- *Des contrôles sérologiques mensuels jusqu'à 15 à 20 jours après l'accouchement
- QCM n° 2 : Séroconversion toxoplasmique du 2^{ème} trimestre
- QCM n° 3 : Spiromycine, amniocentèse pour la recherche de l'ADN parasitaire sur le liquide amniotique, échographie morphologique à la recherche de malformations

LES PARASITOSES ET MYCOSES OPPORTUNISTES

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

- 1- Préciser l'agent pathogène de chaque parasitose opportuniste
- 2- Etablir le diagnostic de chaque parasitose et mycose opportunistes en se basant sur les données cliniques et biologiques.
- 3- Préciser le traitement de chaque parasitose opportuniste.
- 4- Citer les mesures prophylactiques possibles pour éviter une parasitose ou une mycose opportuniste

INTRODUCTION

Le SIDA, la transplantation d'organe, la corticothérapie à fortes doses et prolongée, la chimiothérapie, les aplasies médullaires, les déficits immunitaires congénitaux, les immaturités immunitaires infantiles, etc., sont tous des facteurs qui perturbent les réponses immunes et favorisent le développement d'infections et plus particulièrement de parasitoses et de mycoses dites opportunistes. Ces infections opportunistes, survenant sur un terrain débilité sont souvent graves engageant le pronostic vital du malade.

LES PARASITOSES OPPORTUNISTES

Les parasitoses opportunistes sont nombreuses. Parmi ces parasitoses, on distingue la toxoplasmose, la leishmaniose viscérale, l'anguillulose maligne (voir cours respectifs) et les parasitoses opportunistes digestives.

Les manifestations digestives principalement la diarrhée sont particulièrement fréquentes au cours de tout état d'immunodépression et notamment du SIDA. Trois parasitoses digestives sont particulièrement incriminées : la cryptosporidiose, la cystoisosporose et la microsporidiose.

1. LA CRYPTOSPORIDIOSE (CRYPTOSPORIDIOSIS)

1.1. ÉPIDÉMIOLOGIE

C'est une zoonose cosmopolite qui touche essentiellement les sujets immunodéprimés particulièrement les sujets infectés par le VIH dont le taux des lymphocytes TCD4+ <200/mm³, mais aussi les voyageurs et les enfants immunocompétents.

Elle est responsable des épidémies hydriques et des épidémies survenant dans les crèches.

En Tunisie, la cryptosporidiose touche 17,24 % des malades infectés par le VIH et 0,32 % à 1,34 % des enfants immunocompétents.

1.2. AGENT PATHOGÈNE

La cryptosporidiose est due à un protozoaire intracellulaire appartenant à la classe des sporozoaires et au genre *Cryptosporidium*. Seize espèces sont incriminées en pathologie humaine dont les principales sont *Cryptosporidium hominis* affectant l'homme et *Cryptosporidium parvum* parasite de l'homme et de plusieurs espèces mammifères (bovins, ovins).

1.3. CYCLE BIOLOGIQUE

L'homme se contamine en ingérant des oocystes sporulés (contenant 4 sporozoïtes) directement infestants dès leur élimination dans les selles de l'homme. La contamination peut être directe ou indirecte par l'intermédiaire de l'eau et des aliments souillés.

Dans le tube digestif de l'homme, ces oocystes se désenkystent libérant les sporozoïtes dans la lumière digestive. Le sporozoïte pénètre dans la cellule entérocytaire dans une vacuole parasitophore devenant trophozoïte intracellulaire et extracytoplasmique ; il subit une schizogonie formant le schizonte qui en éclatant libère les merozoïtes, ces derniers reprennent le cycle schizogonique ou se transforment en gamètes mâles et femelles pour former l'oocyste (gamogonie).

1.4. CLINIQUE

La cryptosporidiose est responsable d'un syndrome diarrhéique grave. Ce syndrome diarrhéique est fait de 10 à 15 litres de selles liquidiennes pouvant aboutir à un état de déshydratation qui peut être mortel. Il est à noter qu'il ya un risque d'extension aux voies biliaires et aux poumons lorsque le taux des lymphocytes TCD4+ est inférieur à 50/mm³.

1.5. LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Il se fait essentiellement sur des frottis de selles colorés par la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen. Les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent colorés en rose fuchsia sur un fond vert ou bleu; ils ont une taille de 5-8 µm.

- La recherche des copro-antigènes (ELISA, Tests de diagnostic rapide immunochromatographique)
- L'identification d'espèces qui a dans ce cas un intérêt épidémiologique ne peut se faire que par les méthodes de biologie moléculaire (PCR).

1.6. TRAITEMENT

Il n'y a pas de traitement totalement efficace. Chez l'immunodéprimé un traitement symptomatique est souvent nécessaire (équilibre hydro-électrolytique) et chez l'immunocompétent, la diarrhée est spontanément résolutive.

Certains médicaments ont une activité partielle sur la cryptosporidiose digestive chez les sujets immunodéprimés comme la Nitazoxanide, prescrite à la dose de 500 mg/j pendant 2 à 4 semaines. La trithérapie antirétrovirale induisant une reconstitution immunitaire permet la résolution de cette parasitose.

2. LA MICROSPORIDIOSE (MICROSPORIDIOSIS) :

2.1. ÉPIDÉMIOLOGIE

C'est une pathologie cosmopolite qui touche essentiellement les sujets immunodéprimés en particulier les sujets infectés par le VIH dont le taux des lymphocytes TCD4+<100/mm³.

En Tunisie, elle touche 20 % des sujets infectés par le VIH et 5 % des sujets immunodéprimés non infectés par le VIH.

2.2. AGENTS PATHOGÈNES

Elles sont causées par des microsporidies classées récemment parmi les champignons. Quatorze espèces sont incriminées en pathologie humaine dont les plus fréquentes sont *Enterocytozoon bieneusi* et *Encephalitozoon intestinalis*.

2.3. CYCLE BIOLOGIQUE

La contamination de l'homme se fait très probablement par voie oro-fécale à la suite de l'ingestion des spores par l'intermédiaire de l'eau et des aliments souillés. Les spores infectent les entérocytes par un mécanisme particulier. Lorsque la spore parvient à la cellule cible, un filament se projette vers l'extérieur pour former un tube dans lequel est refoulé le contenu de la spore (le sporoplasme), il traverse la membrane de la cellule en injectant le sporoplasme dans son cytoplasme.

2.4. CLINIQUE

La symptomatologie clinique est dominée par un syndrome diarrhéique grave.

Pour l'espèce *Encephalitozoon intestinalis*, il y a un risque de dissémination par voie hématogène avec atteinte rénale et pulmonaire.

2.5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Il se fait sur des frottis de selles colorés par la coloration trichromique de Weber. Les spores de microsporidies sont de petite taille 1-2 µm. Elles apparaissent colorées en rose avec une vacuole excentrée, élément constant et caractéristique.

L'identification d'espèces, nécessaire afin d'adapter le traitement, ne peut se faire que par les méthodes de biologie moléculaire (PCR).

2.6. TRAITEMENT

Pour la microsporidiose à *Encephalitozoon intestinalis* : albendazole 400 mg/j x 2 à 4 semaines.

Pour la microsporidiose à *Enterocytozoon bieneusi* : fumagilline 60 mg/j x 14 j.

2.7. PROPHYLAXIE

Elle repose sur des règles hygiéno-diététiques.

3. LA CYSTOISOSPOROSE (CYSTOISOSPIRASIS) :

3.1. ÉPIDÉMIOLOGIE

C'est une parasitose strictement humaine, cosmopolite qui est plus fréquente dans les zones tropicales et subtropicales. Elle touche essentiellement les sujets infectés par le VIH dont le taux des lymphocytes TCD4 <100/mm³ et rarement l'immunocompétent.

3.2. AGENT PATHOGÈNE

Une seule espèce est incriminée : *Cystoisospora belli* (anciennement appelé *Isospora belli*). C'est un protozoaire appartenant à la classe des sporozoaires.

3.3. CYCLE BIOLOGIQUE

L'homme se contamine en ingérant des oocystes sporulés (contenant 2 sporocystes, contenant chacun 4 sporozoïtes).

Dans le tube digestif de l'homme, ces oocystes se désenkystent libérant les sporozoïtes dans la lumière digestive. Le sporozoïte pénètre dans la cellule entérocytaire et subit une schizogonie formant le schizonte qui en éclatant libère les mérozoïtes ; ces derniers reprennent le cycle schizogonique ou se transforment en gamètes mâles et femelles pour former l'oocyste (gamogonie).

L'oocyste est éliminé par les selles de l'homme à l'état immature et ceci 20 jours après la contamination.

Il subit une sporogonie dans le sol chaud et humide pour donner un oocyste mature et infestant.

3.4. CLINIQUE: La cytoisosporose est responsable d'un syndrome diarrhéique grave chez les immunodéprimés. Ce syndrome diarrhéique est fait de selles liquidiennes, parfois associé à une fièvre.

Il est à noter que l'évolution vers la chronicité est fréquente, de même que les rechutes après traitement.

3.5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE: Le diagnostic repose essentiellement sur l'examen parasitologique des selles qui montre les oocystes de *Cystoisospora belli* qui mesurent 25 à 30 µm de long sur 12 à 16 µm de large et sont transparents et contenant une masse granuleuse.

Il est à noter qu'il existe parfois une hyperéosinophilie sanguine modérée.

3.6. TRAITEMENT Le traitement repose sur le Bactrim forte® (Triméthoprime [160mg] + Sulfaméthoxazole [800 mg])

- Chez le sujet immunocompétent à la dose de 2 cp/jour en 2 prises pendant une semaine
- Chez le sujet immunodéprimé à la dose de 4 cp en 4 prises/jour pendant 10 jours suivi d'un traitement préventif à la dose de 1cp 3 fois/semaine jusqu'à la reconstitution immunitaire.

EVALUATION FORMATIVE

Cas clinique

Un patient infecté par le VIH ayant un taux de CD4+<100/mm³ présente une diarrhée évoluant depuis une semaine.

1-Citez trois parasitoses opportunistes pouvant être responsables de cette symptomatologie.

2-Précisez la technique coprologique parasitaire indispensable pour confirmer le diagnostic de chaque parasitose.

QCM

La cryptosporidiose :

- A- Est une zoonose stricte
- B- Est plus fréquente dans les zones tropicales
- C- Peut être responsable des épidémies survenant dans les crèches
- D- Est transmise par l'ingestion de spores
- E- Touche les sujets infectés par le VIH dont le taux de LT CD4 <200/mm³

Réponses :	La cryptosporidiose : Examen parasitologique des selles (Examen direct et concentration)	La microsporidiose : Coloration trichromique de Weil-Nelson modifiée	La microsporidiose : Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée
-------------------	---	---	--

LES MYCOSES OPPORTUNISTES

Les mycoses opportunistes sont nombreuses. Parmi ces mycoses, on distingue, outre les candidoses (voir cours « Les candidoses ») et les aspergilloses invasives (voir cours « Les aspergilloses »), la pneumocystose, la cryptococcose et les mucormycose.

Les objectifs éducationnels

Au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

1. Préciser les facteurs de risque de chaque mycose opportuniste.
2. Diagnostiquer les différentes mycoses opportunistes en se basant sur les données cliniques, radiologiques et biologiques.
3. Préciser le traitement de chaque mycose opportuniste.
4. Citer les mesures prophylactiques possibles pour éviter une mycose opportuniste.

1. LA PNEUMOCYSTOSE (PNEUMOCYSTOSIS):

INTRODUCTION

La pneumocystose est due à un champignon ubiquitaire cosmopolite opportuniste *Pneumocystis (P.) jirovecii* (anciennement appelé *P. carinii*).

LE CHAMPIGNON

P. jirovecii est un microorganisme qui a longtemps été classé parmi les protozoaires, il est actuellement rattaché au règne des Fungi.

Le cycle de *P. jirovecii* est encore incomplètement élucidé. La contamination de l'homme semble cependant se faire par inhalation de asques (anciennement appelés kystes) matures à 8 ascospores (anciennement appelés noyaux). Une fois rompus, ces derniers donnent 8 formes trophiques (anciennement appelés trophozoïtes) qui adhèrent aux cellules épithéliales alvéolaires pour redonner des asques à 1 ascospore évoluant en asques matures à 8 ascospores.

ÉPIDÉMIOLOGIE

En 1981, la mise en évidence de *Pneumocystis* chez un homosexuel a permis la découverte du SIDA ; depuis l'incidence n'avait cessé d'augmenter et la pneumocystose avait été considérée en Amérique du Nord et en Europe comme l'infection opportuniste la plus fréquemment rencontrée au cours du SIDA. L'avènement de la trithérapie, dans la prise en charge des sidéens, a cependant beaucoup fait diminuer le nombre de cas. En Tunisie, comme en Afrique, la maladie a toujours semblé plus rare. Elle se rencontre également dans d'autres situations d'immunodépression notamment les déficits immunitaires, les neutropénies profondes et prolongées...

CLINIQUE

P. jirovecii est responsable de redoutables pneumopathies associant fièvre, dyspnée hypoxémiant et toux souvent productive, mais parfois sèche.

La radiographie du thorax montre des images de pneumopathie interstitielle diffuse.

En absence de traitement, l'infection évolue vers un tableau d'insuffisance respiratoire aiguë.

Des formes extrapulmonaires (hépatique, rénale, digestive...) peuvent être observées au décours de l'atteinte pulmonaire, par diffusion systémique.

DIAGNOSTIC

A. PRÉLÈVEMENT :

Lavage broncho-alvéolaire (LBA) +++, expectoration induite, crachats, biopsies pulmonaires.

B. EXAMEN DIRECT APRÈS COLORATION :

Deux techniques de coloration complémentaires sont indispensables au diagnostic :

- L'imprégnation argentique de Gomori-Grocott qui colore la paroi des asques en brun noir. Ces derniers apparaissent ar-

- rondis mesurant 5 à 8 µm de diamètre, souvent regroupés en amas.
- La coloration MGG (May Grünwald Giemsa) qui colore les formes trophiques de 2 à 3 µm de diamètre et les ascospores. Le noyau est coloré en rouge et le cytoplasme en bleu.
- N.B. *P. jirovecii* est un champignon qui ne pousse pas en milieu de culture.

C. IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE :

Des kits utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques marqués à la fluorescéine permettent de repérer facilement le champignon.

D. BIOLOGIE MOLÉCULAIRE :

La PCR est une technique très sensible, mais elle n'est réalisée que dans des laboratoires spécialisés.

TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

A. TRAITEMENT CURATIF :

Il repose sur le cotrimoxazole (Triméthoprime [TMP] + Sulfaméthoxazole [SMZ]) (Bactrim®) à la dose de 15 à 20mg/kg/j de TMP associé à 75 à 100mg/kg/j de SMZ, en 3 à 4 prises/j pendant 14 à 21 j, mais les rechutes sont possibles.

B. PROPHYLAXIE SECONDAIRE :

Elle est obligatoire tant que l'immunité n'est pas restituée.

Elle repose sur :

- Bactrim® (80 mg TMP+400mg SMZ) 1 cp/jour, ou
- Bactrim Forte® (160 mg TMP+800mg SMZ) 1cp, 3 fois par semaine.

C. PROPHYLAXIE PRIMAIRE :

Elle est indiquée pour les patients infectés par le VIH dont le taux de CD4 est inférieur à 200/mm3. Elle repose sur le Bactrim® 1 cp/jour.

2. LA CRYPTOCOCCOSE (CRYPTOCOCCOSIS) :

INTRODUCTION

La cryptococcose est une mycose cosmopolite due à une levure encapsulée, à tropisme neuro-méningé, *Cryptococcus neoformans*.

Elle atteint surtout les patients infectés par le VIH, mais également les patients atteints d'hémopathies malignes sous poly-chimiothérapie et les transplantés d'organes.

CLINIQUE

Les aspects sont variés dominés par des manifestations méningo-encéphaliques : céphalées, fièvre, vomissements, photophobie...

D'autres localisations peuvent être observées : pulmonaire, cutanée, osseuse...

DIAGNOSTIC

A. PRÉLÈVEMENTS :

Liquide cérébrospinal (LCS) +++, lavage broncho-alvéolaire, urines, pus, biopsie...

B. EXAMEN DIRECT À L'ENCRE DE CHINE du culot de centrifugation :

Il montre des levures encapsulées. La capsule apparaît sous forme d'un halo clair entourant la levure.

C. CULTURES DU CULOT DE CENTRIFUGATION :

Faites sur milieu de Sabouraud chloramphénicol sans Actidione® et incubés à 37 °C, elles donnent en 2 à 5 jours des colonies muqueuses, brillantes, blanchâtres devenant ocres en une semaine.

Étant donné que le délai peut être parfois long pour certaines souches, elles doivent être gardées pendant 6 semaines avant de rendre un résultat négatif.

L'étude in vitro de la sensibilité des isolats aux antifongiques est nécessaire.

D. LA RECHERCHE D'ANTIGÈNES SOLUBLES dans le surnageant ou le serum / plasma:

Par les tests immunochromatographiques ou la réaction d'agglutination au latex.

En cas de positivité, il faut procéder à un titrage pour suivre l'évolution sous traitement.

TRAITEMENT

Il se base sur :

- l'Amphotéricine B (1mg/kg/j) associé à la 5 Fluorocytosine (150 mg/kg/j) pendant 15 jours,
- relayé par un azolé tel que le Fluconazole à la dose quotidienne de 400 mg pendant 8 à 10 semaines

3. LES MUCORMYCOSES (MUCORMYCOSIS):

INTRODUCTION

Ce sont des mycoses provoquées par les Mucorales, champignons filamentueux cosmopolites, saprophytes du sol et de nombreux substrats végétaux ; leur mycélium est non ou peu cloisonné, de diamètre variable très large (5 à 20 µm) avec des ramifications à angle droit. Les champignons incriminés parasitent habituellement l'homme dans un contexte d'immunosuppression sévère. Ce sont avant tout des mycoses opportunistes.

AGENTS PATHOGENES

Une vingtaine d'espèces peuvent être reconnues comme agents de mucormycoses humaines. Les principaux genres incriminés sont les genres *Lichtheimia*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Rhizomucor*.

EPIDEMILOGIE

Toutes les espèces incriminées sont très résistantes dans l'environnement. Elles vivent en saprophytes dans le milieu extérieur. Elles sont très répandues dans la nature. Elles produisent des spores en abondance, véhiculées par le vent. La contamination se fait essentiellement par voie aérienne, mais aussi par voie digestive et cutanée.

Les facteurs favorisants principaux sont le diabète acidocétosique, l'insuffisance rénale avancée avec acidose, les hémapathies malignes (leucémies aiguës, lymphomes,...) avec aplasie, les greffes de moelle ou d'organes, la corticothérapie prolongée, la malnutrition protidocalorique, les brûlures étendues, divers traumatismes avec délabrement cutané,...

ASPECTS CLINIQUES

Quelque soit le genre de Mucorale responsable, l'évolution d'une mucormycose est le plus souvent fatale. La mort est due, d'une part, à la thrombose des vaisseaux (liée au tropisme vasculaire des mucorales) et aux infarctus qui en découlent et d'autre part, à la rapidité d'évolution qui caractérise ces infections.

L'atteinte rhinocérébrale, classiquement liée au diabète en décompensation acidocétosique est la forme clinique la plus fréquente. Elle prend son origine au niveau des muqueuses nasales et sinusiennes et évolue rapidement vers une nécrose tissulaire. Elle gagne par voie veineuse ou lymphatique la face, le palais, les orbites, la base du crâne et le cerveau.

D'autres formes cliniques, plus rares, peuvent se voir telles que l'atteinte pulmonaire primitive qui se complique souvent d'une dissémination avec localisation multiviscérale ou encore les formes cutanées primitives des grands brûlés.

DIAGNOSTIC

A. Prélèvement : Il peut s'agir, selon la localisation de l'infection, d'écouvoillons de la paroi nasale, de produits de grattage, de pus, au mieux de biopsie sinusienne mais aussi de d'expectorations, de LBA, de biopsies de peau ou d'organes.

B. Examen direct : Il met en évidence des filaments mycéliens caractéristiques : filaments courts, irréguliers, très large (5 à 20 µm) avec des ramifications à angle droit. La présence de tels filaments doit être signalée immédiatement au clinicien pour une mise en route d'un traitement le plus précocement possible en raison de la gravité de ces infections.

C. Cultures : Elles sont réalisées sur milieu Sabouraud sans actidione et mises à 37°C.

En 2 à 4 jours, les filaments mycéliens, très aériens, de texture cotonneuse type barbe à papa, envahissent le tube. Les colonies sont blanches, grises ou brunes.

L'examen microscopique permet le diagnostic de genre et d'espèce. Le mycélium est irrégulier, large, non cloisonné.

D. Histopathologie :

L'étude anatomo-pathologique est indispensable pour préciser le comportement parasitaire du champignon.

TRAITEMENT

Le traitement est difficile. La maîtrise de la pathologie sous-jacente et l'institution d'un traitement précoce sont indispensables pour espérer une issue favorable. Le traitement est médical (l'Amphotéricine B est l'antifongique de choix) et chirurgical en faisant l'exérèse du maximum de tissus nécrotiques. L'Oxygénothérapie hyperbare complète souvent le traitement médico-chirurgical.

EVALUATION FORMATIVE

GLOSSAIRE

Spore : cellule de multiplication végétative ou de reproduction. Elle constitue une des étapes du cycle de vie de nombreux champignons.

Filament septé : filament qui comporte des cloisons transversales.

Granulomatose septique chronique : déficit immunitaire de l'immunité non spécifique (fonction bactéricide des macrophages), de transmission récessive liée au sexe.

Saprophyte : capable de se nourrir de matière organique non vivante

Ubiquitaire : relatif aux espèces pouvant s'adapter aux milieux les plus divers

QCM :

1. *Cryptococcus neoformans* :

- A- est une levure encapsulée
- B- est un saprophyte du tube digestif de l'homme
- C- est responsable d'un syndrome diarrhéique grave chez le sujet immunodéprimé
- D- a un tropisme du système nerveux central
- E- est mise en évidence dans les selles par la coloration de l'encre de Chine.

QCM : A-D
Réponses :