

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE SFAX
Faculté de Médecine de Sfax**

Certificat intégré des Maladies infectieuses

**Bactériologie
Virologie
Parasito-Mycologie**

DCEM1

Année universitaire : 2024-2025

SOMMAIRE

BACTERIOLOGIE	
DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE	4
LES ANTIBIOTIQUES:	16
Partie 1: Classification et modes d'action des antibiotiques	17
Partie 2: La résistance bactérienne aux antibiotiques	33
Partie 3: Etude et évaluation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	38
Les STAPHYLOCOQUES	51
Les STREPTOCOQUES - ENTÉROCOQUES	63
LES ENTÉROBACTÉRIES	82
MENINGOCOQUE	108
HAEMOPHILUS INFLUENZAE	113
LISTERIA MONOCYTOGENES	117
PSEUDOMONAS AERUGINOSA (bacille PYOCYANIQUE)	121
ACINETOBACTER	124
PREVENTION DES INFECTIONS ASSOCIEES AUX SOINS	125
BACTERIES ANAÉROBIES STRICTES	126
BACTÉRIES RESPONSABLES DE DIARRHÉE	131
LES MYCOBACTERIES	140
LES BACTÉRIES À DÉVELOPPEMENT INTRACELLULAIRE	156
LES BACTÉRIES RESPONSABLES D'INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES	183
VIROLOGIE	
DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	202
TRAITEMENTS ANTIVIRAUX	213
VIRUS DE L'HÉPATITE	224
HERPES VIRUS HUMAINS	245
Les VIH	277
LES ENTEROVIRUS ET PARECHOVIRUS	286
PAPILLOMAVIRUS	292
VIRUS DES ÉRUPTIONS FÉBRILES	297
VIRUS RESPIRATOIRES	308
PARASITOLOGIE	
ENTOMOLOGIE	330
TOXOPLASMOSE	343
LEISHMANIOSES	368
AMOEBOSE INTESTINALE	384
GIARDOSE	396
NEMATODOSES INTESTINALES	398
PARASITOSE DIGESTIVES DE L'IMMUNODEPRIME	424
BILHARZIOSES	434
CESTODES ADULTES ET CYSTICERCOSE	448
ASPERGILLOSES	464
HISTOPLASMOSE	474
PNEUMOCYSTOSES	476
CANDIDOSES	479
CRYPTOCOCCOSES	489
DERMATOPHYTIES	495

BACTERIOLOGIE

LE DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

1. INTRODUCTION :

L'infection ou l'agression de l'organisme par un microorganisme constitue une cause fréquente de morbidité et de mortalité dans le monde.

Le diagnostic bactériologique apporte la preuve de cette agression. Il est à la base du diagnostic, du traitement et de la prévention des infections.

En effet, il permet de :

- poser le **diagnostic** d'une infection en cours
- **suivre l'évolution** des patients infectés
- suivre l'efficacité d'un traitement anti-infectieux
- permet aussi de **détecter le portage de microorganismes particuliers** soit par leur multi-résistance aux antibiotiques (bactérie multi-résistante/ BMR) soit par la présence d'un pouvoir de virulence soit en raison de l'existence d'un facteur de risque particulier (immunodépression).
- enfin, il contribue au **contrôle des agents infectieux et des épidémies** en collaboration avec les autorités sanitaires.

Comme tous les examens de biologie médicale, un examen bactériologique est une prescription médicale. Il est organisé en trois phases :

- Phase pré-analytique
- Phase analytique
- Phase post analytique

La Phase pré-analytique : elle correspond à l'indication de l'examen microbiologique, au recueil des données démographiques et cliniques, à la réalisation du prélèvement et au transport de l'échantillon dans les conditions requises.

La Phase analytique : c'est la phase du processus technique de l'analyse avec

ses différentes étapes jusqu'au résultat final.

La phase post-analytique : c'est la phase de la validation biologique de l'analyse, de l'interprétation contextuelle et de la communication du résultat au prescripteur le plus rapidement possible.

Classiquement, nous distinguons deux types de diagnostic bactériologique :

- le diagnostic direct
- le diagnostic indirect ou sérodiagnostic.

2. LE DIAGNOSTIC DIRECT

Le diagnostic bactériologique direct est une succession de plusieurs étapes où le dysfonctionnement de l'une influe impérativement sur le résultat final de l'analyse.

Il repose essentiellement sur **l'isolement et l'identification de l'agent pathogène** dans le ou les produits pathologiques examinés et/ou la mise en évidence de ses **antigènes** ou de son **génome**.

C'est la preuve directe tangible de la présence du micro-organisme dans le prélèvement.

La spécificité et la sensibilité du diagnostic direct dépendent du micro-organisme en question, des conditions du prélèvement mais aussi des techniques et moyens utilisés.

2.1. Le prélèvement :

Le prélèvement doit être réalisé par un personnel qualifié et identifié, selon des procédures rédigées et validées conformément aux normes de qualité.

Un bon prélèvement doit être :

- fait **avant toute antibiothérapie**; dans le cas contraire, un arrêt du traitement antibiotique pendant une durée variable selon l'état du patient et selon le site présumé de l'infection (au moins 48h : fenêtre thérapeutique) doit précéder le prélèvement.
- **précoce** dès le début des signes cliniques.

- pratiqué avec une **asepsie rigoureuse** afin d'éviter toute contamination du produit avec des micro-organismes d'origine exogène provenant du milieu extérieur ou endogène à partir de la flore bactérienne du malade et aussi d'éviter que le préleveur ne soit ni contaminant ni contaminé.
- **le plus représentatif possible des tissus infectés** dans lesquels les micro-organismes à identifier sont en général abondants.
- accompagné des **renseignements** démographiques (âge, sexe, origine géographique) et cliniques nécessaires.
- **acheminé dans de bonnes conditions et le plus rapidement possible** au laboratoire. Des milieux de transport spécifiques permettant la survie du microorganisme recherché et préservant les structures nécessaires pour le diagnostic (telles que les antigènes et les acides nucléiques) sont obligatoires.

La qualité du prélèvement conditionne la suite de l'examen bactériologique

On distingue 2 types de prélèvements :

- **prélèvements monomicrobiens**: provenant de sites anatomiques habituellement stériles : sang, LCR, liquides d'épanchements ...
- **prélèvements polymicrobiens** : pratiqués au niveau de sites contenant une flore commensale : intestin, vagin, gorge...

2.2. L'examen direct :

De première importance, cet examen permet d'apprécier la **réaction cellulaire** et de rechercher la **présence de micro-organismes**.

Dans le cas où il est positif, il permet de donner un premier diagnostic présumptif au prescripteur ; pour le biologiste, il oriente le choix de la suite de l'examen bactériologique.

Cet examen direct comprend:

- 2.2.1. Examen macroscopique** : il permet d'apprécier l'aspect, la couleur, la consistance et l'odeur du produit pathologique.

2.2.2. Examen microscopique : il peut être réalisé à partir soit:

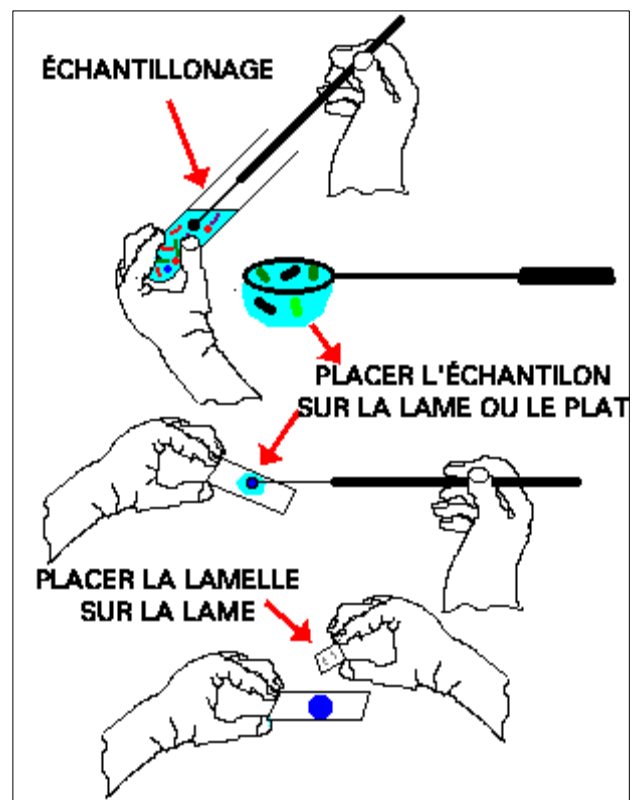
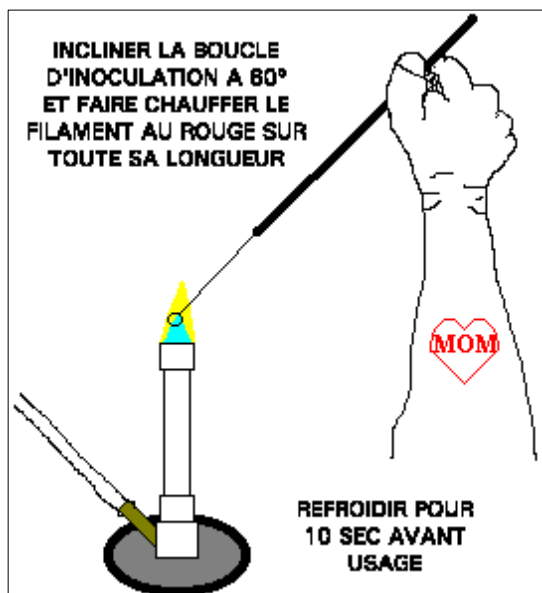
- de produits pathologiques : LCR, pus, urines...
- de cultures en milieux solides ou liquides : qui doivent être jeunes afin de mettre en évidence les caractères morphologiques des bactéries et leur mobilité.

Le seuil de détection des bactéries à l'examen microscopique est de l'ordre de 10^4 à 10^5 bactéries/ml. Une densité inférieure à ce seuil est rencontrée dans de nombreux foyers infectieux ce qui explique que l'examen microscopique peut être négatif.

2.2.2.1. Examen à l'état frais : (entre lame et lamelle, contraste de phase)

L'examen à " l'état frais" permet l'observation des bactéries vivantes en l'absence de toute fixation ou coloration. Cette méthode permet d'observer :

- la morphologie des bactéries
- leur mode de groupement
- et surtout leur mobilité.



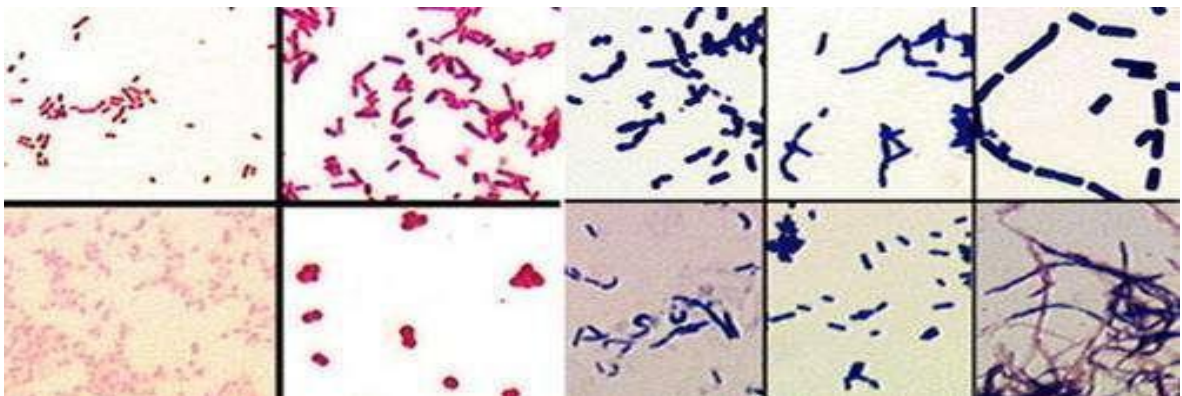
2.2.2.2. Examens après coloration

Les colorations sont indispensables à l'étude précise de la **morphologie**, voire de la **structure** des bactéries. Elles nécessitent la préparation de frottis : qui doit être étalé en couche mince et régulière, séché et fixé.

Coloration simple : Elle consiste à faire agir sur l'étalement un seul colorant qui imprègne uniformément toutes les structures. Elle nous informe sur la *présence de bactéries* mais essentiellement sur la *réaction cellulaire* et la prédominance de polynucléaires neutrophiles ou de lymphocytes Ex. : coloration au bleu de méthylène.



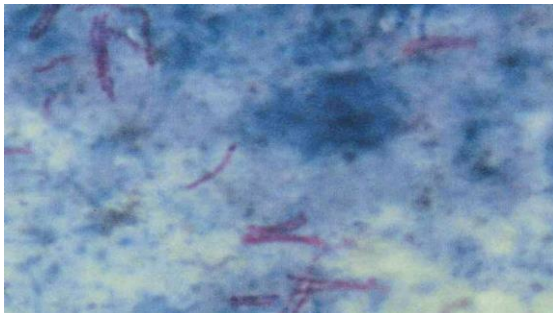
Coloration différentielle : **Coloration de Gram** : C'est un examen fondamental en bactériologie ; il a une *valeur taxonomique et diagnostique*. Il permet de distinguer les bactéries à Gram positif (couleur violacée) des bactéries à Gram négatif (couleur rose) tout en précisant leurs morphologies : cocci (forme ovoïde), bacille (forme en bâtonnet) ou cocco-bacillaire.



Coloration spéciale : Certaines colorations permettent l'étude de certaines bactéries (qui ne se colorent pas au gram) ou de certains détails de la structure

bactérienne : cils, flagelles, spores, corpuscules métachromatiques...

Exemple : Coloration de Ziehl-Neelsen : Etude du *caractère acido-alcool-résistant* (voir chapitre des mycobactéries).



Coloration de Ziehl-Neelsen

Bacilles acido-alcool résistants BAAR de couleur rose sur un fond bleu

2.3. La mise en culture

La mise en culture du produit pathologique est indispensable. Son but est d'aboutir à *l'isolement* de la bactérie qui infecte le malade, c'est à dire à l'obtention de cette bactérie en culture pure afin de procéder à son *identification précise* et à tester sa *sensibilité aux antibiotiques*.

Elle nécessite l'utilisation de milieux de culture répondants aux exigences nutritives des bactéries recherchées, le plus souvent riches tels que la gélose au sang, la gélose "chocolat " et en plus sélectifs, si le prélèvement est polymicrobien.

2.3.1. Les milieux de culture

Les caractéristiques des milieux de culture varient de même que leur composition.



Différents types de gélose
(milieux de culture pour les
bactéries à croissance rapide)

On distingue :

➤ **Selon l'aspect**

- Milieu liquide : bouillon
- Milieu solide : milieu gélosé : il contient de l'agar-agar qui a la particularité de se solidifier à 40°

➤ **Selon l'utilisation**

Milieus d'isolement : milieux utilisés pour isoler les bactéries à partir des produits pathologiques. Ce sont des milieux solides :

→ **Milieus de base** (gélose nutritive) : ne poussent sur ces milieux que les bactéries n'ayant aucune exigence nutritive.

→ **Milieus enrichis** : milieux enrichis de produits biologiques (gélose au sang, gélose ascite) ou de facteurs polyvitaminés (gélose chocolat additionnée d'isovitalex)

→ **Milieus d'orientation** :

Exemple : Le milieu au BCP : milieu additionné d'un sucre (le lactose) et d'un indicateur de pH (le bromocresolpourpre). C'est un milieu d'isolement des entérobactéries qui permet de différencier les espèces fermentant le lactose et celles qui ne le fermentent pas. Cependant, de nombreuses espèces bactériennes n'appartenant pas à cette famille ne sont pas inhibées et peuvent cultiver sur ce milieu.

→ **Milieus électifs** : qui permettent la pousse rapide et abondante de certaines bactéries alors que la plupart des autres espèces s'y développent peu ou lentement.

Exemple : le milieu de Loeffler est un milieu électif pour le *corynebactérium diphtheriae* qui y pousse plus rapidement que les autres bactéries. (12 h)

→ **Milieus sélectifs** : ce sont des milieux qui permettent la croissance d'une bactérie en inhibant le développement des autres espèces.

Les agents sélectifs peuvent être :

- **un antibiotique** :

* Acide nalidixique sélectif pour les streptocoques

*Le mélange VCN (vancomycine-colimycine-nystatine) utilisé comme inhibiteur sélectif dans un milieu proposé pour la culture des gonocoques.

- **une substance organique** : bile, thiosulfate
- quelque fois c'est la **concentration d'une substance** qui donne l'effet inhibiteur : tel est le cas de milieux hypertoniques (NaCl) comme le milieu de Chapman utilisé pour les staphylocoques
- **pH alcalin** : le milieu alcalin est sélectif pour le vibrio cholérique.

Milieux d'enrichissement : Ce sont des milieux liquides. On décrit 2 types de milieux d'enrichissement :

→ soit des milieux liquides suffisamment riches pour permettre la culture d'un maximum d'espèces microbiennes à partir des rares micro-organismes présents dans un prélèvement (bouillon Coeur-Cervelle, bouillon au thioglycolate)

→ soit des milieux liquides contenant des agents sélectifs destinés à enrichir le milieu en micro-organisme recherché tout en limitant la pousse d'autres espèces.

Exemple : le milieu au sélénite et le milieu de Muller-Kauffman utilisés tous deux dans les coprocultures pour enrichir la culture des Salmonelles avec inhibition des autres espèces fécales.

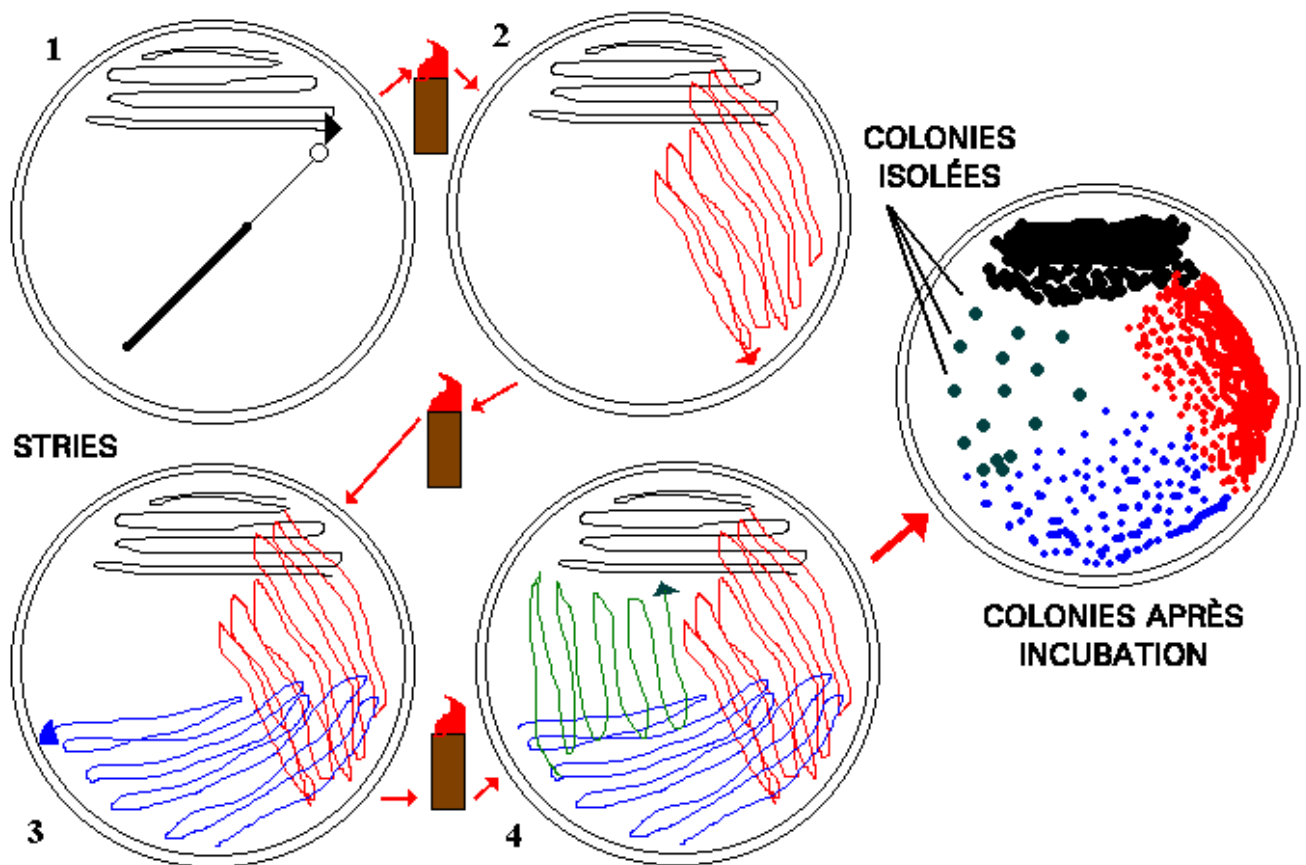
Milieux d'identification : utilisés pour l'étude du métabolisme bactérien

2.3.2. Techniques d'ensemencement

L'ensemencement est une opération qui consiste à déposer des bactéries sur ou dans un milieu de culture. Il doit être pratiqué dans des conditions d'asepsie parfaite et sur des milieux favorables aux études envisagées.

L'ensemencement permet d'obtenir des colonies séparées (une colonie est un amas de bactéries toutes identiques issues d'une seule cellule parentale) à partir desquelles se fera l'identification de la bactérie. Cette séparation ne peut se faire que sur milieux solides.

Une fois ensemencés, les milieux de culture doivent être placés dans des conditions favorables à la croissance des bactéries : température d'incubation, atmosphère incubation et durée d'incubation.



Ensemencement par épuisement de l'inoculum

2.4. Identification bactérienne

L'identification des bactéries repose sur l'étude de plusieurs caractères, morphologiques, culturels, métaboliques et antigéniques.



Galerie d'identification métabolique (API système)

2.5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'examen bactériologique ne se limite pas à l'isolement et l'identification d'une bactérie. Il doit permettre au clinicien une meilleure thérapeutique pour son patient. Ceci est possible grâce à l'antibiogramme qui teste in vitro la sensibilité de la bactérie aux différents antibiotiques. (Voir chapitre - Etude de l'activité antibiotique in vitro).



Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé

2.6. Détection d'antigènes bactériens solubles dans les liquides biologiques

Certaines bactéries libèrent dans les liquides biologiques tels que le liquide céphalo-rachidien, le sérum ou les urines, des antigènes solubles, le plus souvent de nature polysaccharidique (capsulaires). Ces antigènes sont beaucoup plus résistants que les bactéries ; ils persistent très longtemps dans le LCR, quelques jours dans le sérum.

La recherche des antigènes bactériens est une technique rapide permettant un diagnostic précoce d'infections souvent graves. Elle apporte la preuve de l'infection dans le cas d'une culture difficile de la bactérie. Elle permet de poser le diagnostic d'infections bactériologiquement négatives, soit par défaut technique soit par antibiothérapie préalable (infections décapitées).

Il est actuellement possible grâce à cette technique de confirmer l'étiologie d'une infection provoquée par :

- * le pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*)
- * l'*Haemophilus influenzae* sérotype b
- * les méningocoques (*Neisseria meningitidis*)

De ce fait, la recherche des antigènes solubles trouve son indication dans :

- les méningites et particulièrement les méningites décapitées
- les septicémies
- les pneumopathies

La recherche des antigènes solubles ne doit en aucun cas se substituer au diagnostic bactériologique classique basé sur l'isolement, l'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques.

Techniques:

- agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques (voir diagnostic virologique)
- contre immunoélectrophorèse

2.7. Méthodes moléculaires

Elles reposent sur la détection de l'acide nucléique bactérien (ADN ou ARN) à l'aide de méthodes d'hybridation et/ou d'amplification génique.

Ces méthodes, de plus en plus utilisées, permettent la détection directe des bactéries à partir d'un produit pathologique ou d'une culture pure mais peuvent être utilisées pour l'identification moléculaire rapide, la recherche de certains gènes de résistance et le typage épidémiologique.

L'identification moléculaire rapide est utilisée pour les bactéries à croissance lente (mycobactéries ...) ou d'identification difficile (streptocoques...).

Le typage moléculaire permet de comparer les séquences génomiques de bactéries isolées de plusieurs patients afin de déterminer si l'infection de ces

patients a une source commune de contamination. Il s'agit d'un marqueur épidémiologique utilisé dans les enquêtes épidémiques.

3. DIAGNOSTIC INDIRECT ou SERODIAGNOSTIC

Il est basé sur la réponse immune (essentiellement sérologique) de l'organisme agressé par un microorganisme particulier. C'est donc la recherche d'anticorps spécifiques dirigés contre ce microorganisme. Les anticorps recherchés sont de la classe des **IgG et IgM**. Cette recherche peut être **qualitative** (pour les IgG ou les IgM) ou **quantitative** (pour les IgG).

Il consiste à mettre en évidence la réponse immunologique humorale à un agent infectieux. Cette réponse nécessite un temps variable (5 -15j) et persiste longtemps (quelques semaines à quelques années).

Les IgM apparaissent et disparaissent souvent plus précocement. A noter que certaines infections récentes peuvent ne pas s'accompagner de sécrétion d'IgM et que celles-ci, par ailleurs, peuvent persister des années.

Pour suivre la cinétique des anticorps et pour affirmer le caractère récent de l'infection, une séquence de prélèvements espacés de quelques jours est nécessaire. Cette répétition des prélèvements va permettre d'objectiver une séroconversion (1^{er} sérum négatif, 2^{ème} sérum positif), ou une augmentation significative (x 4) du titre des anticorps. Les prélèvements uniques permettront rarement un diagnostic.

Le sérodiagnostic est fondamental au cours de plusieurs situations :

- lorsque la bactérie est difficile ou lente à cultiver telle que les Brucella : Sérodiagnostic de Wright, Epreuve à l'antigène tamponné.
- lorsque la bactérie est impossible à cultiver sur les milieux bactériologiques classiques : *Treponema pallidum* (TPHA, VDRL), *Chlamydia*, *Mycoplasma*.
- lorsque le malade est vu tardivement par rapport au début de la maladie au cours de la fièvre typhoïde et paratyphoïde : sérodiagnostic de Widal et Félix.
- lors des complications post-streptococciques : dosage des ASLO, ASDOR.

LES ANTIBIOTIQUES

Objectifs spécifiques :

Définir un antibiotique et préciser ses propriétés d'action

Définir le spectre d'activité d'un antibiotique

Classer les principales familles d'antibiotiques, identifier leurs mécanismes d'action sur les bactéries et préciser leurs spectres d'activité.

Reconnaître les principaux mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques

Définir le support génétique et le déterminisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Définir la résistance naturelle, la résistance acquise des bactéries aux antibiotiques et reconnaître les facteurs d'évolution de la résistance

Expliquer la bactériostase, la bactéricidie et la tolérance.

Définir la CMI et la CMB d'un antibiotique

Définir les catégories « sensible » « intermédiaire » « résistante » d'une bactérie à un antibiotique.

Identifier le rôle du laboratoire et les moyens utilisés dans la mise en place et la surveillance d'un traitement antibiotique.

Classer les antibiotiques selon leur effet bactériostatique ou bactéricide

Classer les antibiotiques selon leur effet concentration dépendant ou temps dépendant tout en expliquant les implications cliniques de cette classification.

Préciser les critères rationnels du choix d'un antibiotique

Partie 1 : CLASSIFICATION ET MODES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

I. GENERALITES - DEFINITIONS

- **Antibiotique** : Toute substance chimique naturelle (produite par un micro-organisme, champignons ou bactéries) ou synthétique qui agit **spécifiquement** sur une **étape essentielle** du métabolisme des bactéries (agents antibactériens) ou des champignons (agents antifongiques) ayant les propriétés suivantes :

- Toxicité sélective pour les bactéries (n'affectent pas les cellules eucaryotes)
- Action à concentration très faible ($\mu\text{g/ml}$)
- Effet anti-bactérien lent : temps de contact (Bactérie - antibiotique)
- Spectre d'activité : liste des espèces bactériennes sur lesquelles il est susceptible d'être actif

- **Antiseptique et désinfectants**: agents antibactériens chimiques qui à la différence des antibiotiques ont une toxicité brutale, peu sélective (tuer plusieurs catégories de bactéries et peut être toxique pour l'organisme) et s'exerce à des concentrations relativement élevées.

- **antiseptiques** : substances chimiques bactériostatiques ou bactéricides capables de diminuer fortement le nombre de bactéries présentes sur une surface vivante(peau ou muqueuses..). usage externe in vivo
- **désinfectants** : produits utilisés pour la désinfection du matériel et des matières inertes à l'exclusion de tout emploi in vivo.

- **Spectre d'activité d'un antibiotique** :

Les antibiotiques ne sont pas actifs sur toutes les espèces bactériennes.

Spectre d'un antibiotique : liste des espèces bactériennes sur lesquelles il est susceptible d'être actif. Les espèces qui ne sont pas comprises dans le spectre d'un antibiotique sont dites naturellement résistantes à cet antibiotique.

Le spectre peut être :

- **large** : antibiotique actif sur la majorité des espèces Gram(+) ou Gram(-)
- **Etroit** : limité à des bactéries Gram(+) ou des bactéries Gram(-)
- **Spécifique** : antipyocyanique ou antistaphylococcique.

II. CLASSIFICATION ET MODES D'ACTION

Critères de classification des antibiotiques:

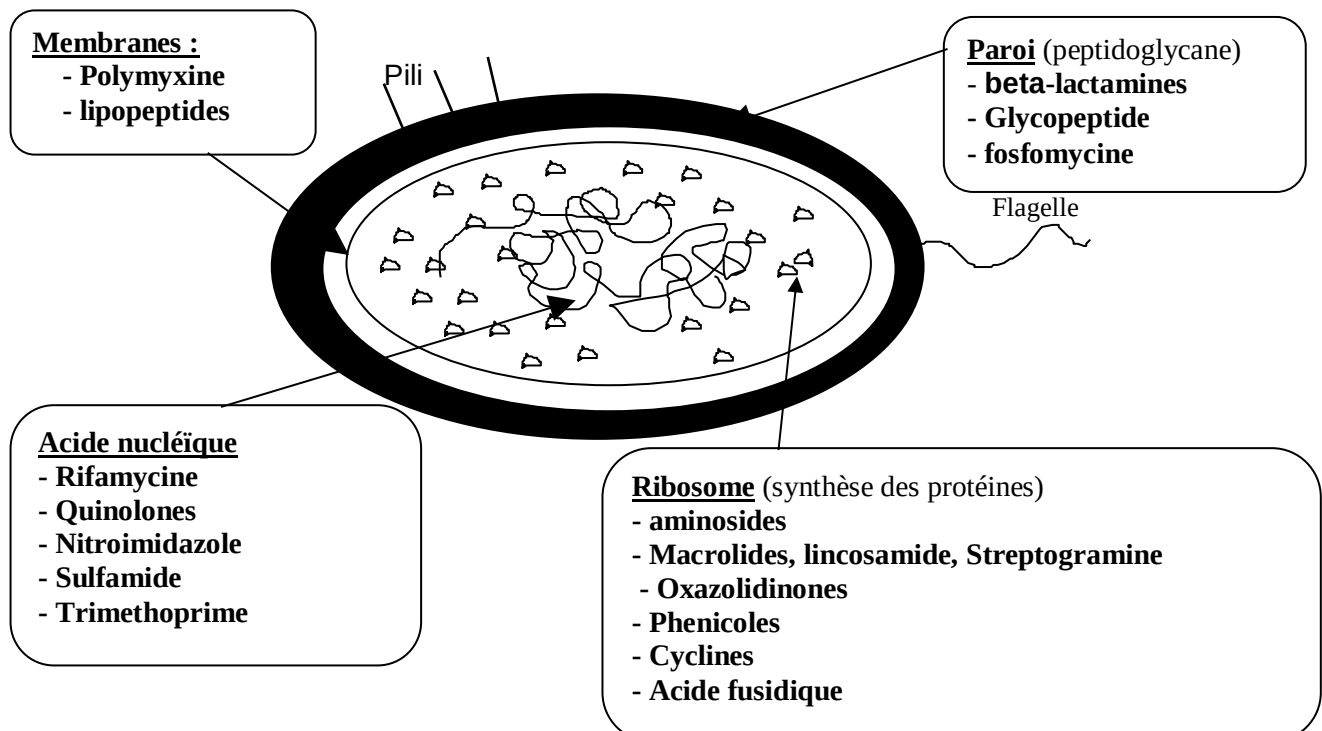
- 1- **Origine** : élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse
- 2- **Nature chimique**
- 3- **Modes d'action**
- 4- **Modalités d'action** : bactériostase (arrêt de la croissance bactérienne)
bactéricidie (mort de la bactérie)
- 5- **Spectre d'activité** : large, étroit ou spécifique

Les antibiotiques ayant une **structure chimique de base identique** (d'où un même mécanisme d'action) sont classés dans une **même famille** (mais peuvent se différencier par leur spectre) avec parfois un sous classement par génération ou spectre.

Classification selon le site d'action des antibiotiques

On distingue 4 grands groupes d'antibiotiques en fonction de leurs modes ou site d'action :

- Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne
- Inhibiteurs du fonctionnement des membranes
- Inhibiteurs de synthèse ou de fonction des acides nucléiques
- Inhibiteurs de la synthèse protéique



1. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi

Rappel : SYNTHÈSE DU PEPTIDOGLYCANE : 3 étapes :

Etape intra-cytoplasmique

formation de l'UDP-N-acétyl glucosamine

l'UDP-N acétyl muramyl pentapeptide

Etape membranaire

formation d'un disaccharide pentapeptide

Etape pariétale

allongement du peptidoglycane par les PLP (Protéines liant la pénicilline) =

Transglycosylases et Transpeptidases

1.1. Les β -lactamines

1.1.1. Structure; Classification :

Les β -lactamines possèdent en commun un **cycle β -lactame** dans leur structure chimique (Figure1). En fonction de l'hétérocycle associé au cycle β -lactame, on distingue 4 groupes : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames.

De plus, en fonction des chaînes latérales R1 et/ou R2 (Figure 1), il existe plusieurs types de pénicillines : la pénicilline G, la pénicilline V, les pénicillines M, les carboxypénicillines, les acyluréidopénicillines (Tableau 1), et plusieurs types de céphalosporines : les céphalosporines de première (C1G), de seconde (C2G) et de troisième générations (C3G) (Tableau 1).

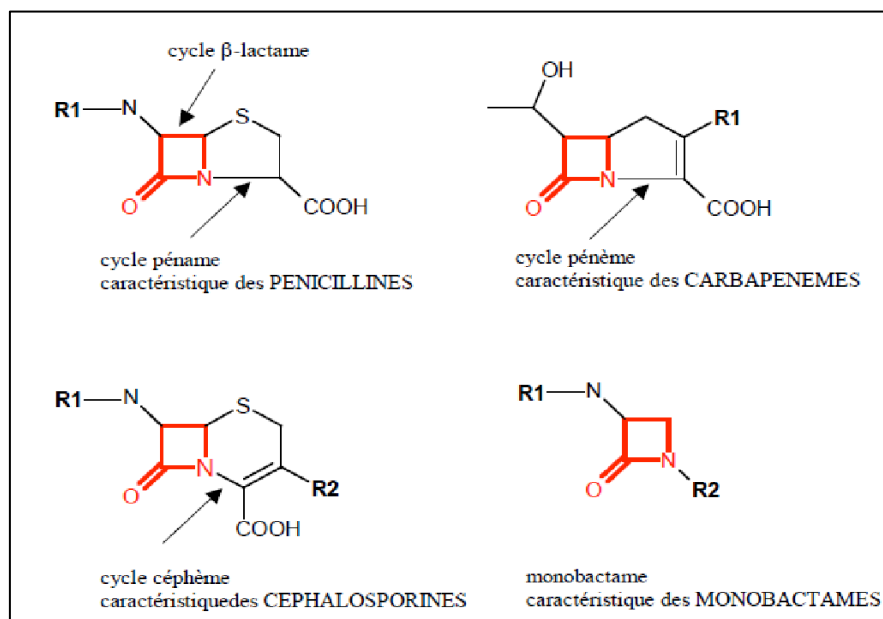


Figure 1 : Structure simplifiée des β -lactamines

1.1.2. Mécanisme d'action

Les β -lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane. Par analogie structurale avec le dipeptide D-alanine-D-alanine, les β -lactamines inhibent les PLP (protéines liant la pénicilline) qui se trouvent sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Les β -lactamines entraînent donc l'inhibition de la transpeptidation □ inhibition de la polymérisation du peptidoglycane (inhibition de la formation des ponts interpeptidiques) □ Arrêt de croissance : Activité bactériostatique. L'activité **bactéricide** des β -lactamines est liée à l'action d'enzymes lytiques bactériennes telle que la **mureine hydrolase**.

1.1.3. Spectre

Le spectre antibactérien des β -lactamines est variable. Il dépend de :

- l'affinité pour les PLP,
- la capacité à traverser la membrane externe pour atteindre les PLP localisées dans l'espace périplasmique (espace délimité par la membrane externe et la membrane cytoplasmique),
- des β -lactamases (enzymes hydrolysant les β -lactamines) naturellement produites par certaines espèces bactériennes (Tableau 1) : les pénicillinases hydrolysent les pénicillines et les céphalosporines hydrolysent les C1G et C3G.

Le spectre des β -lactamines est large englobant les bactéries à Gram (+) et (-) à part les pénicillines G et M (spectre étroit) qui ne peuvent pas traverser la membrane externe des bacilles à Gram négatif aérobies non exigeants (entérobactéries, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*....).

1.1.4. Les Inhibiteurs de β -lactamases :

Inhibiteurs de β -lactamases sont des substrats suicides qui se fixent de façon permanente sur les β -lactamases et les inactivent comme l'acide clavulanique, le tazobactam, l'avibactam, le varobactam.....

Ces inhibiteurs peuvent être associés :

- aux pénicillines, ex :

Amoxicilline (pénicilline A) + acide clavulanique (inhibiteur)

Ticarcilline (carboxypénicilline) + acide clavulanique (inhibiteur)

Pipéracilline (acyluréidopénicilline) + tazobactam (inhibiteur)

→ Les associations des pénicillines à ces inhibiteurs permettent d'élargir le spectre antibactérien des pénicillines vers les bactéries produisant des pénicillinases:

staphylocoques Mécicilline sensible

entérobactéries

Haemophilus influenzae....

- aux céphalosporines de 3^{ème} génération, ex :

Ceftazidime + avibactam

Ceftolozane + tazobactam

• Les associations des céphalosporines de 3^{ème} génération à ces inhibiteurs permettent d'élargir le spectre antibactérien des céphalosporines de 3^{ème} génération vers les bactéries produisant des β -lactamases à spectre élargi (BLSE) et certains types de carbapénèmases

- aux carbapénèmes, ex :

Méropénème + varobactam (non encore disponible en Tunisie)

Imipénème + relebactam (non encore disponible en Tunisie)

• Les associations des carbapénèmes à ces inhibiteurs permettent d'élargir le spectre antibactérien des carbapénèmes vers les bactéries produisant certains types de carbapénèmases.

**Tableau 1 : Spectre des principales β -lactamines vis-à-vis des principales bactéries
(de phénotype sauvage) rencontrées en pathologie humaine**

Antibiotiques	Molécules	Résistance aux β -lactamases	Spectre antibactérien
Les pénicillines (Pénames)			
Pénicilline G	Benzyl benzathyl Pénicilline	Aucune	Cocci à Gram positif (Streptocoques, Staphylocoques), <i>Neisseria</i> spp., BGP ^a Spirochètes, anaérobies (à l'exception de ceux produisant des β -lactamases ex : <i>Bacteroides fragilis</i>).
Pénicilline M	Isoxazolyl pénicillines : - Méticilline - Oxacilline	Résistance à l'hydrolyse par les pénicillinases des staphylocoques	Staphylocoques méti-S
Pénicilline A	Aminopénicillines: amoxicilline ampicilline	Aucune	Idem Pénicilline G + <i>Haemophilus</i> spp. Entérobactéries du groupe 1 ^b
Carboxypénicillines	Ticarcilline	Résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases produites à bas niveau	Idem Pénicilline G + <i>Haemophilus</i> spp. Entérobactéries du groupe 1+3 ^b <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Uréidopénicillines	Pipéracilline	Résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases produites à bas niveau	Idem Pénicilline G + <i>Haemophilus</i> spp. Entérobactéries du groupe 1+3 ^b <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Les céphalosporines (Céphèmes)			
Céphalosporines de 1^{ère} génération	Céfalotine Céfazoline	Résistance aux pénicillinases produites à bas niveau	Idem Pénicilline G + <i>Haemophilus</i> spp. Entérobactéries du groupe 1+2 ^b
Céphalosporines de 2^{ème} génération	Céfuroxime	Résistance aux pénicillinases de bas et haut niveaux	Idem Pénicilline G + <i>Haemophilus</i> spp. Entérobactéries du groupe 1+2 ^b
Céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G)	Céfotaxime Ceftriaxone Ceftazidime Cefepime	Résistance aux pénicillinases de bas et haut niveau et aux céphalosporinases produites à bas niveau	Idem Pénicilline G + <i>Haemophilus</i> spp. Entérobactéries du groupe 1+2+3+4 ^b <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ceftazidime), <i>Acinetobacter baumannii</i> .
Monobactames			
Monobactame	Aztréonam	Idem C3G	Bacilles à Gram négatif
Carbapénèmes (pénèmes)			
Carbapénèmes	Imipénème Méropénème Ertapénème	Résistance aux pénicillinases de bas et haut niveau et aux céphalosporinases produites à bas et à haut niveau et aux BLSE	Spectre le plus large : Idem les C3G + Entérobactéries productrices de BLSE et de céphalosporinases de haut niveau

a : BGP : bacilles à Gram positif aérobies = *Corynebacterium*, *Listeria* ; b : voir cours les entérobactéries

1.2. Les glycopeptides

Les glycopeptides (vancomycine et téicoplanine) sont des molécules de grande taille (Figure 2) qui ne peuvent pas traverser la membrane externe des bactéries à Gram négatif.

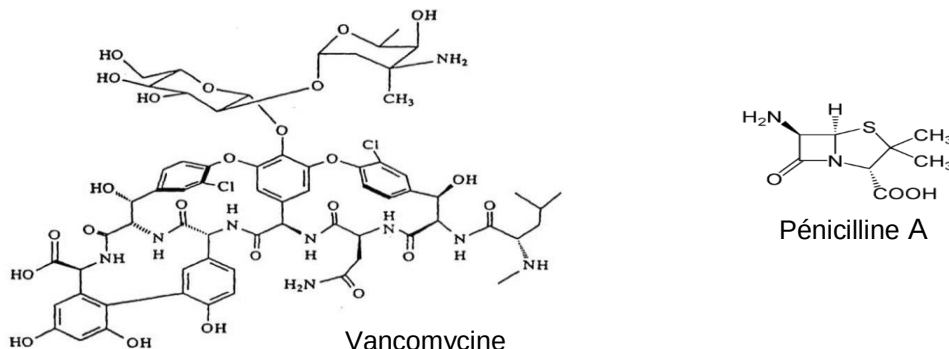


Figure 2 : Comparaison de la structure des glycopeptides et des bêta lactamines

1.2.1. Mécanisme d'action

Les glycopeptides inhibent la synthèse du peptidoglycane au cours de sa phase pariétale. Ils agissent sur les bactéries à Gram positif en se fixant sur les précurseurs du peptidoglycane comportant le dipeptide D-alanyl-D-alanine. Les glycopeptides forment un complexe avec les dipeptides D-alanyl-D-alanine présents dans la paroi en formation. Du fait de l'encombrement stérique, les décarboxylases, transglycosylases et des transpeptidases impliquées dans la synthèse de la paroi sont inhibées.

Les glycopeptides sont des antibiotiques **bactéricides**.

1.2.2. Spectre antibactérien : étroit

Le spectre antibactérien de ces molécules est limité aux bactéries à **Gram (+)** (aérobies ou anaérobies).

1.3. Fosfomycine

1.3.1. Mécanisme d'action

Cet antibiotique agit en phase précoce intra-cytoplasmique de la synthèse du peptidoglycane. Il inhibe la formation du N-Acétyl muramique (précurseurs du peptidoglycane). Après pénétration dans le cytoplasme de la bactérie, la fosfomycine inhibe la conversion de l'UDP-N-acétylglucosamine en acide UDP-N-acétylmuramique en se liant par une liaison covalente à un résidu cystéine de la pyruvyltransférase.

Son action est **bactéricide**.

1.3.2. Spectre antibactérien

- La fosfomycine est active sur les staphylocoques (à l'exception de *Staphylococcus saprophyticus*), et sur les bacilles à Gram négatif aérobies comme les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*.
- Espèces résistantes (ou présentant une sensibilité réduite à cet antibiotique) : les bactéries anaérobies, les entérocoques, les corynébactéries, les légionelles, les germes intracellulaires (Chlamydiae, Rickettsies), les mycoplasmes, les mycobactéries.

2. Antibiotiques actifs sur la membrane

2.1. Les polymyxines ou polypeptides

Par leur extrémité hydrophobe (acide gras), les polymyxines pénètrent à l'intérieur de la membrane et s'incorporent à la couche lipidique alors que l'extrémité hydrophile (peptide cyclique) reste orientée vers l'extérieur entraînant une désorganisation de la structure membranaire et la mort de la cellule. Ces molécules agissent sur la membrane externe des bactéries à Gram(-) puis sur leur membrane cytoplasmique.

2.1.1. Spectre

Le spectre antibactérien des polymyxines est limité aux bactéries à Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, Entérobactéries à l'exception des *Proteus*, *Providencia* et *Serratia*.

Les polymyxines sont des antibiotiques **bactéricides**.

2.2. Les lipopeptides

Les lipopeptides constituent une nouvelle classe d'antibiotiques. Une seule molécule commercialisée : la daptomycine.

2.2.1. Mécanisme d'action

La daptomycine, qui ne pénètre pas la membrane externe des bactéries à Gram négatif, agit en se fixant sur la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif entraînant une formation de canaux ioniques, fuite de potassium et une dépolarisation membranaire. La daptomycine est **bactéricide**.

2.2.2. Spectre antibactérien et indications

Ses indications sont actuellement limitées au traitement des infections sévères des tissus

mous dues à des bactéries à Gram positif multirésistantes.

3. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

3.1. Aminosides ou aminoglycosides

Les aminosides (gentamicine, tobramycine, kanamycine, netilmicine, amikacine, streptomycine, spectinomycine....) sont majoritairement produits par des bactéries de la famille des actinomycètes.

3.1.1. Mécanisme d'action

Pour pénétrer à l'intérieur de la bactérie, les aminosides franchissent la membrane externe à travers les porines. Le franchissement de la membrane cytoplasmique est un phénomène de transport actif faisant intervenir les enzymes de la respiration de l'oxygène situées dans la membrane cytoplasmique des bactéries aérobies (catalase, oxydase, cytochromes). Les aminosides se fixent ensuite sur leur cible qui est constituée par **la sous-unité 30S des ribosomes**. Cette fixation provoque une altération de la structure du ribosome et la survenue d'erreurs durant la traduction et un arrêt de la synthèse des protéines.

3.1.2. Le spectre

Ce sont des antibiotiques à **large spectre** et **bactéricides**. Les bactéries anaérobies strictes ou anaérobies aérotolérantes tel que les streptocoques, dépourvues d'enzymes de la respiration de l'oxygène sont résistantes naturellement aux aminosides (**Résistance de bas niveau**).

3.2. Cyclines

3.2.1. Tétracyclines

La tétracycline est le chef de file de cette classe thérapeutique. Les autres cyclines actuellement commercialisées (doxycycline, minocycline) se distinguent de la tétracycline par des substitutions chimiques. Les cyclines se fixent sur la **sous-unité 30S** du ribosome et bloquent la phase d'**élongation** de la synthèse protéique.

Leur action est **bactériostatique** et leur spectre est **large** : Bactéries à Gram (+), bactéries à Gram (-) et bactéries intracellulaires (*Chlamydia* et *Rickettsia*), mycoplasmes et spirochètes.

3.2.2. Glycylcyclines

La **tigécycline** est le seul représentant commercialisé appartenant à cette classe d'antibiotiques. Cette molécule est un dérivé de la minocycline résistant à certains mécanismes d'efflux qui inactivent les tétracyclines.

Le spectre d'action de la tigécycline est élargi par rapport à celui des tétracyclines, notamment vers certaines bactéries multirésistantes qui ont acquis des mécanismes de résistance (efflux) contre les tétracyclines.

3.3. Macrolides, Lincosamides, Streptogranines et Kétolides

3.3.1. Structure

Ces 4 groupes d'antibiotiques ont une structure chimique différente. Mais ils sont classiquement groupés car ils ont un spectre antibactérien et un mécanisme d'action similaires.

Macrolides : classés en fonction de la taille de leur macrocycle :

- 14 atomes de C: érythromycine, roxithromycine, clarithromycine.
 - 15 atomes de C: azithromycine
 - 16 atomes de C: spiramycine
- } bactériostatiques

Lincosamides : Lincomycine, Clindamycine

Streptogranines ou synergistines : streptogranines A + Streptogranines B = pristinamycine : bactéricide

Kétolides : télithromycine : bactériostatique

3.3.2. Mécanisme d'action :

Inhibition de la synthèse protéique en se fixant sur la **sous-unité 50S du ribosome**.

3.3.3. Spectre :

Etroit:

- **bactéries à Gram (+)** essentiellement
- quelques bactéries intracellulaires (*Chlamydia spp.* et *Rickettsia spp.*)
- certains bacilles à Gram négatif de culture difficile (*Legionella spp.*, *Bordetella pertussis*, *Campylobacter spp.*)
- **clindamycine** : très bonne activité sur les bactéries **anaérobies strictes**
 - **Résistance naturelle** : BGN non exigeants (entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) et *Haemophilus* due à leur imperméabilité.

3.4. Les oxazolidinones

Le **linézolide** est le seul représentant de cette classe thérapeutique.

3.4.1. Mode d'action

Le linézolide se fixe sur un site du **ribosome 50S**, dans la phase initiale de la traduction protéique, empêchant l'assemblage ultérieur avec la sous unité 30S. Ce mécanisme d'action étant unique, il n'existe pas de résistance croisée avec d'autres familles d'antibiotiques.

3.4.2. Spectre : étroit :

Bactéries à Gram (+) essentiellement

3.5. Phénicolés

Le chloramphénicol et le thiamphénicol sont les deux seuls représentants de cette classe thérapeutique.

Les phénicolés se fixent préférentiellement sur le site A au niveau de la **sous-unité 50S** (site proche mais différent de celui des macrolides).

L'action est bactériostatique et leur spectre est large.

3.6. Acide fusidique

3.6.1. Mode d'action

Bloquer la phase d'élongation de la synthèse protéique en stabilisant le complexe ribosome-facteur d'élongation.

3.6.2. Spectre: étroit

En raison de son caractère hydrophobe, l'acide fusidique ne traverse pas la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Cet antibiotique n'est actif que sur les germes à **Gram (+)** essentiellement les staphylocoques.

Antibiotique **bactériostatique**

4. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

4.1. Inhibiteurs de la réplication

4.1.1. Quinolones

L'acide nalidixique est le chef de file des quinolones de première génération (Fig 3).

Des modifications structurales ont permis d'améliorer le spectre antibactérien et les propriétés pharmacocinétiques. La principale modification repose sur la substitution d'un atome de fluor en position 6 sur le noyau quinoléine. Les molécules obtenues, les

fluoroquinolones, ont une meilleure pénétration au travers de la paroi bactérienne ce qui permet d'élargir leur spectre vers les bactéries à Gram positif.

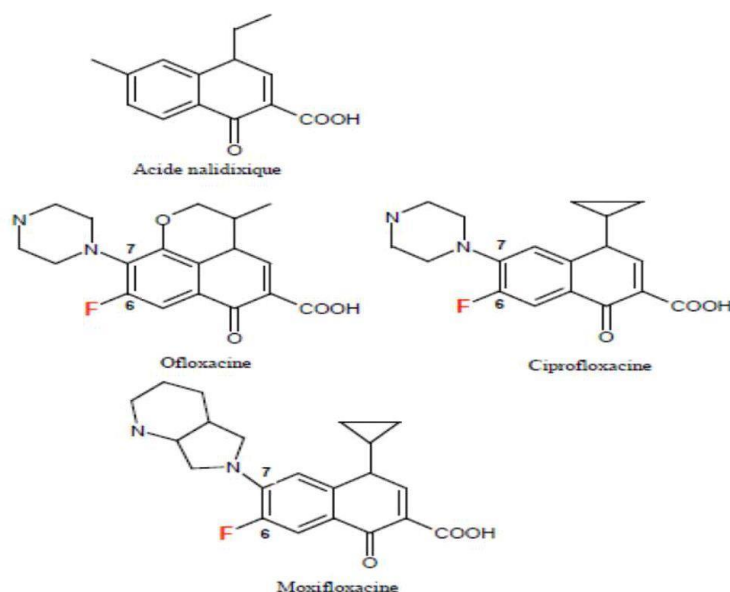


Figure 3 : structure chimique des quinolones

4.1.1.1. Mécanisme d'action : (Figure 4)

Les fluoroquinolones agissent par Inhibition rapide de la synthèse de l'ADN par inhibition des topoisomérases II et IV, enzymes impliquées dans la régulation du surenroulement de l'ADN, essentielles au compactage de l'ADN et au bon déroulement de la réplication de l'ADN.

Les fluoroquinolones sont des antibiotiques **bactéricides**.

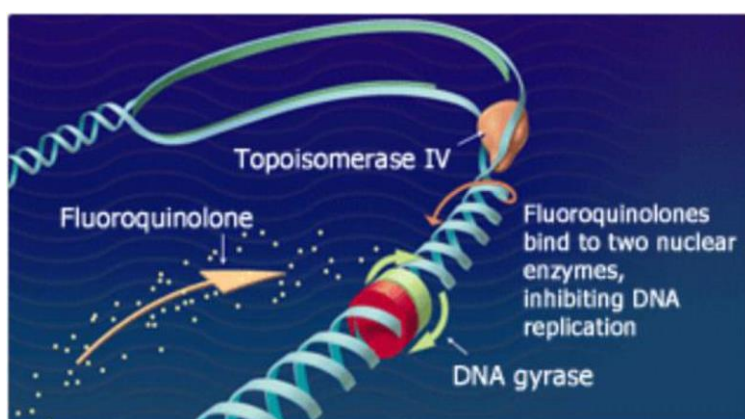


Figure 4 : Mécanisme d'action des quinolones

4.1.1.2. Spectre:

- **Anciennes quinolones: 1^{ère} génération** exp : Acide nalidixique
Spectre étroit : BGN et bactériostatique
- **Nouvelles quinolones : fluoroquinolones** (bactéricides)
 - **2^{ème} génération** : Spectre large mais peu actif sur les streptocoques :
exp : Ofloxacin Ciprofloxacine
 - **3^{ème} génération**: spectre élargi vers les streptocoques
exp : Lévofloxacine

4.1.2. Nitroimidazolés

Ils se fixent sur l'ADN entraînant des coupures des brins d'ADN

Antibiotiques **bactéricides**

Spectre : initialement antiparasitaires, ils sont actifs seulement sur les bactéries **anaérobies strictes**

Les imidazolés sont des molécules dont l'action nécessite une réduction de leur groupement NO₂ que seules les bactéries anaérobies sont capables de réaliser.

Exp : Métronidazole

4.1.2. Nitrofuranes

- **Mécanisme** : proche des nitroimidazolés : Il entraîne des lésions de l'ADN
- **Spectre** large mais, vu leur pharmacocinétique élimination rapide par voie urinaire avec des concentrations sériques faibles ou pour certains non absorption par voie digestive, leurs indications sont infections urinaires (nitrofurantoïne) ou infections intestinales (furazolidine...)

4.2. Inhibiteurs de la transcription /Rifamycine

- **Mécanisme** : se fixe sur la sous-unité β de l'ARN polymérase des bactéries et empêchent l'initiation de la synthèse des ARNm.

Antibiotique **bactéricide**

- **Spectre** : bactéries à Gram(+) et cocci à Gram(-)

Certains bacilles à Gram négatif (*Brucella*, *Legionella*, *Acinetobacter*)

Action sur *Mycobacterium tuberculosis*

4.3. Inhibiteurs de la synthèse des folates/Sulfamides et triméthoprimes

Les folates, en particulier l'Acide tétrahydrofolique (THF) sont nécessaires à la synthèse des acides nucléiques (bases puriques et des pyrimidiques). Les bactéries, à l'exception d'*Enterococcus faecalis* sont incapables d'utiliser les folates exogènes. Elles doivent donc les synthétiser. Les sulfamides et la triméthoprine sont deux antibiotiques qui inhibent les enzymes intervenant dans les réactions de synthèse des folates (Figure 5). L'association des deux est synergique et **bactéricide**.

Spectre et indications : larges

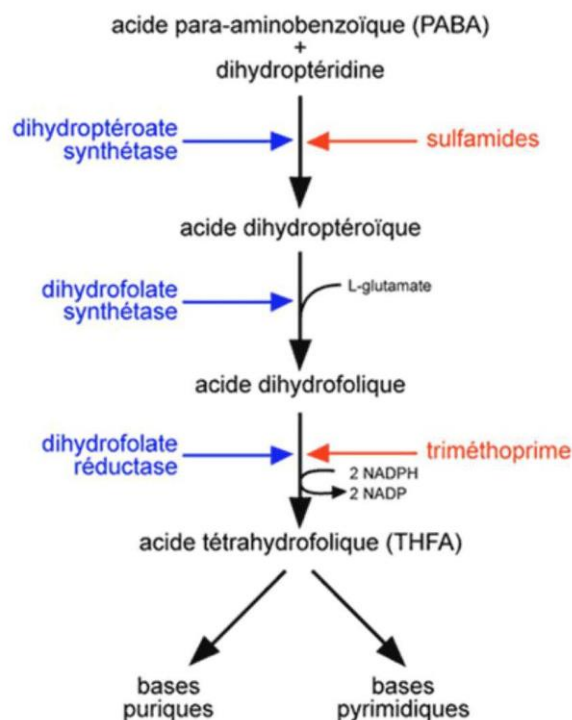


Figure 5 : Mécanisme d'action des sulfamides et de la triméthoprine

- **Antibiotiques agissant que sur les Gram (+) :**
 - Pénicilline G
 - Mécicilline (Oxacilline)
 - Glycopeptides
 - Lipopeptides
 - Oxazolidinones (Linézolide)
 - Ac fusidique
 - Macrolides et Rifampicine (sauf qq BGN de culture difficile)
- **Antibiotiques agissant que sur les Gram (-) :**
 - Mononbactam (Aztreonam)
 - Polymyxines (Colistine)
 - anciennes quinolones (Acide nalidixique)
- **Antibiotiques à spectre large [Gram (+) et (-)] :**
 - β -lactamines
 - aminosides
 - fluoro-quinolones

} les plus utilisés

 - cotrimoxazole (résistance acquise ↑↑)
 - cyclines (résistance acquise ↑↑)
 - phénicolés (toxicité ↑↑)
 - Nitrofuranes (élimination urinaire rapide)

} peu utilisés
- **Antibiotiques anti-Staphylococciques :**
 - Mécicilline (Oxacilline)
 - Fosfomycine
 - Acide fusidique
 - Rifampicine
- **Antibiotiques anti-anaérobies :**
 - Nitro-imidazolés (Métronidazole)
 - Clindamycine

Antibiotique	Cible	Mode d'action	Type d'action	Spectre
Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi				
β-Lactamines (pénicillines, céphalosporines, monobactam, carbapénèmes)	Inhibition de la synthèse de la paroi	Fixation et inhibition des PLP	Bactéricide	Variable, large voir tableau 1
Glycopeptides (vancomycine, téicoplanine)	Inhibition de la synthèse de la paroi	Fixation sur les 2 derniers AA (D-alanine) du précurseur du peptidoglycane => encombrement stérique.	Bactéricide	Bactéries à Gram positif
Fosfomycine	Inhibition de la synthèse de la paroi	Inhibition de la pyruvyltransférase	Bactéricide	Staphylocoques , BGN aérobies
Antibiotiques actifs sur les membranes				
Polypeptides ou Polymyxines (ex : Colistine)	Altération de la mb externe	Désorganisation mb externe	Bactéricide	Bactéries à Gram négatif
Lipopeptides (Daptomycine)	Altération de la mb cytoplasmique	Désorganisation mb cytoplasmique	Bactéricide	Bactéries à Gram positif
Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques				
Fluoroquinolones (FQ)	Inhibition de la réplication de l'ADN	Inhibition des topoisomérases II et IV	Bactéricide	Anciennes FQ : BGN Nouvelles FQ : 2ème G : Large (sauf streptocoques) 3ème G : élargi vers les streptocoques
Imidazolés ex: métronidazole	Coupage des brins d'ADN		Bactéricide	Anaérobies strictes
Nitrofuranes	Coupage des brins d'ADN			Large
Rifampicine	Inhibition de la transcription	Inhibition de l'ARN polymérase	Bactéricide	Staphylocoques Mycobactéries, qq BGN
Cotrimoxazole =(sulfamides+ triméthoprime)	Inhibition de la synthèse de l'ADN	Les sulfamides inhibent les enzymes de synthèse des folates	association bactéricide	Large
Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique				
Aminosides	Inhibition de la synthèse protéique	Fixation sur la sous-unité 30S du ribosome	Bactéricides	Large (germes aérobies) (Inactifs sur Anaérobies et streptocoques)
Cyclines Tétracyclines Glycylcycline (tigécycline)	Inhibition de la synthèse protéique	Fixation sur la sous-unité 30S	Bactériostatiques	Large Tétracyclines (germes intracellulaires) Tigécycline (Germes multirésistants)
Macrolides et apparentés	Inhibition de la synthèse protéique	Fixation sur la sous-unité 50S	Bactériostatiques sauf la Pristinamycine	Bactéries à Gram positif germes intracellulaires

Oxazolidinones (Linézolide)	Inhibition de la synthèse protéique	Inhibition de l'assemblage des sous-unités 30S et 50S	Bactéricide sur les streptocoques, Bactériostatique sur staphylocoques et entérocoques	Bactéries à Gram positif
Phénicolés	Inhibition de la synthèse protéique	Fixation sur la sous-unité 50S	Bactériostatique	Large spectre (peu utilisés, toxicité++)
Acide Fusidique	Inhibition de la synthèse protéique	Stabilisation du complexe Ribosome/facteur d'élongation	Bactériostatique à faible dose, bactéricide à forte dose	Staphylocoques

Partie II :

LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

1. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Définition de la résistance aux antibiotiques

☞ Pour qu'un antibiotique soit actif sur une cellule bactérienne, il faut qu'il :

- 1- pénétre dans la cellule bactérienne
- 2- ne soit pas inactivé par des enzymes bactériennes
- 3- trouve une cible sensible
- 4- persiste à une concentration suffisante au contact de la cible

☞ La résistance à un antibiotique peut être due donc à :

- 1- une imperméabilité de la cellule bactérienne : c'est le cas essentiellement des bactéries à Gram négatif
- 2- une inactivation enzymatique : ex : β -lactamase
- 3- une modification de la cible : ex : modification des PLP (résistance croisée à toutes les β -lactamines
- 4- efflux actif

☞ Cette résistance peut être :

- soit **NATURELLE**
- soit **ACQUISE**

2. Support génétique de la résistance bactérienne aux antibiotiques

2.1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou **intrinsèque** est exprimée par toutes les souches d'une même espèce, d'un même genre ou d'une même famille. Elle est liée à l'information génétique primitive de la bactérie et a pour support génétique le **chromosome bactérien**. Elle est donc stable et transmise à la descendance. La résistance naturelle **est caractéristique d'une espèce bactérienne**. Elle délimite le **spectre naturel** de l'antibiotique et constitue une **aide à l'identification**.

Les principales résistances naturelles des bactéries d'intérêt médical sont les suivantes :

➤ **Bacilles à Gram négatif non exigeants (Ex : Entérobactéries, Vibrio, Pseudomonas) :**

Pénicilline G, oxacilline, glycopeptides, macrolides, kétolides, lincosamides, streptogramines (MLS), oxazolidinones, acide fusidique, lipopeptides : par imperméabilité membranaire.

- Résistance naturelle des bactéries du genre *Klebsiella* (famille des entérobactéries) aux Pénicillines par production de β -lactamase de type pénicillinase
- Résistance naturelle des bactéries du genre *Enterobacter* (famille des entérobactéries) aux céphalosporines de 1^{ère} génération et Aminopénicillines par production de β -lactamase de type céphalosporinase
- Résistance naturelle des bactéries des genres *Proteus* et *Serratia* (famille des entérobactéries) à la colimycine

➤ **Coques à Gram positif :**

Aztréonam, Mécillina, quinolones, colistine.

- *Streptococcus* (dont *Streptococcus pneumoniae*) : aminoglycosides (bas niveau par défaut de pénétration à travers la membrane cytoplasmique),
- *Enterococcus* : oxacilline, céphalosporines, ertapénème, aminosides (bas niveau), fosfomycine (bas niveau), sulfamides.
- *Enterococcus faecalis*: lincosamides, streptogramines A.
- *Staphylococcus saprophyticus* : fosfomycine

➤ **Bacilles à Gram positif :**

Aztréonam, Mécillinam, colistine, polymyxine B, quinolones.

- *Listeria monocytogenes* : oxacilline, céphalosporines, lincosamides, fosfomycine, fluoroquinolones (bas niveau).

➤ **Coques à Gram négatif :**

- *Neisseria meningitidis* - *Neisseria gonorrhoeae* - *Branhamella catarrhalis*: Glycopeptides, lincosamides, colistine, triméthoprim,

➤ **Bactéries anaérobies strictes**

Aminosides, quinolones, aztréonam, triméthoprim.

2.2. Résistance acquise :

La résistance acquise est la résistance qui ne concerne que **quelques souches d'une même espèce originellement sensible** à l'antibiotique donné.

La résistance acquise est moins stable (variable dans le temps), mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une **modification du capital génétique** de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. Elle est due soit à une :

- Mutation chromosomique : Résistance endogène
- Acquisition de gènes (plasmides ou éléments transposables): Résistance exogène

2.2.1. Résistance acquise par mutation chromosomique

La résistance par mutation chromosomique un phénomène rare, du au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène **indépendant** : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible. **Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques.** Elle est **transmissible par un mode vertical** de bactérie-mère à bactéries-filles.

La résistance par mutation chromosomique un phénomène rare. Il y a toujours une proportion de mutants résistants à un antibiotique au sein d'une espèce bactérienne. Généralement cette proportion est faible pour la majorité des couples antibiotiques-bactéries $< 10^{-8}$ sauf pour certains couples antibiotiques-bactéries où cette proportion est plus importante de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-5} . Pour ces couples antibiotiques-bactéries, il est nécessaire d'utiliser des associations d'antibiotiques pour limiter l'émergence de bactéries mutantes résistantes au cours du traitement.

Les principaux couples antibiotiques-bactéries pour lesquels la probabilité de mutation est élevée (10^{-6} à 10^{-5}) et l'utilisation d'association d'antibiotiques est requise:

M. tuberculosis : tous les antituberculeux

Staphylococcus aureus : rifampicine ; fluoroquinolones ; fosfomycine ; acide fusidique,

Pneumocoque : fluoroquinolones (Lévofoxacine)

Entérobactéries du groupe 3 (*Enterobacter*, *Serratia*...) : céphalosporines de troisième génération (C3G)

Pseudomonas et *Acinetobacter* : fluoroquinolones ; β -lactamines

L'incidence clinique de la résistance acquise par mutation est faible : $\approx 10\%$ des résistances observées.

Exemples de mécanismes biochimiques de résistance acquise chromosomique:

□ **Modification de la cible +++** ex. : β -lactamines et PLP (ex. : *Streptococcus pneumoniae* ; les bêta-lactamines ont du mal à se fixer aux PLP qui restent disponibles pour la synthèse du peptidoglycane) ; **quinolones et ADN gyrases et topoisomérases** (principal mécanisme de résistance aux quinolones)

□ Modification de la perméabilité (bactérie à Gram négatif) ex. : Porines $\Rightarrow$ mutants d'imperméabilité $\Rightarrow$ R croisée entre plusieurs familles d'antibiotiques différents

□ Mutation au niveau d'un gène de régulation ex. : céphalosporinase dérégulée ou hyperproduite

2.2.2. Résistance acquise par acquisition de gènes

La résistance est le plus souvent acquise par transfert de gène entre bactéries par l'intermédiaire de plasmides ou d'éléments transposables. La résistance plasmidique a une grande importance clinique vu sa fréquence et sa grande contagiosité. De nombreux plasmides de résistance sont **conjugatifs** ce qui permet un **transfert horizontal** ; ces

transferts sont à l'origine d'une **dissémination très importante de la résistance** au sein des populations bactériennes et de bactéries phylogéniquement éloignées : **épidémique**. D'autre part, les plasmides portent généralement plusieurs gènes de résistance et contribuent alors à la multi-résistance, et l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multirésistantes.

L'incidence clinique de la résistance acquise par acquisition de gènes est élevée : $\approx 90\%$ des résistances observées. Elle touche quasiment tous les antibiotiques et toutes les bactéries exceptés les mycobactéries.

Exemples de mécanismes biochimiques de résistance par acquisition de gènes :

□ **Inactivation de l'antibiotique +++ :** production d'enzymes inactivatrices de l'antibiotique telles que les **bêta-lactamases** qui sont le principal mécanisme de résistance aux bêta-lactamines particulièrement chez les Gram négatif. Le nombre de bêta-lactamases plasmidiques est très élevé et peuvent être des pénicillinases, des céphalosporinases, des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE), des carbapénémases.

L'inactivation des aminosides par les transférases plasmidiques est aussi le principal mécanisme de résistance aux aminosides.

□ **Modification de la cible :** ex synthèse d'une ou de plusieurs nouvelles PLP insensibles aux bêta-lactamines (ex. : *Staphylococcus aureus* : l'acquisition et l'intégration dans le chromosome d'un gène (*mecA*), induit la synthèse d'une nouvelle PLP, la PLP 2a qui est capable d'assurer à elle seule l'assemblage du peptidoglycane et elle confère une résistance à toutes les bêta-lactamines et on l'appelle *S. aureus* résistant à la Méricilline ou SARM)

3. Sélection et diffusion des bactéries résistantes

Les antibiotiques n'induisent pas la résistance mais, grâce à leur pression de sélection, ils permettent l'émergence des souches résistantes qui, au sein d'un microbiote (ex flore commensale), seront favorisées par rapport aux souches sensibles et colonisant le microbiote. Lorsque la pression de sélection diminue, par arrêt d'utilisation de l'antibiotique, la souche mutée est contre-sélectionnée et le microbiote sera à nouveau colonisé par des souches sauvages sensibles. Toute antibiothérapie, quel que soit son succès, sélectionne des souches résistantes. Plus l'utilisation des antibiotiques est importante (ou anarchique), plus la fréquence d'apparition des bactéries résistantes est grande.

4. La "multi résistance" aux antibiotiques

Il s'agit d'une terminologie très couramment utilisée même si elle ne répond pas à une définition univoque. Il est d'usage de parler de multirésistance face à "une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique" ou face à **"une bactérie sensible à moins de 3 familles d'antibiotiques"**. Au total, ce terme s'emploie généralement pour une bactérie qui pose en général un problème de ressource thérapeutique. Ex de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques : *S. aureus* résistant à la Méthicilline (SARM), Entérobactéries productrices de BLSE ou carbapénèmase.... (voir cours *Pseudomonas* et *Acinetobacter*).

Les deux déterminants de l'émergence et de la diffusion de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont **l'exposition de la population aux antibiotiques** et **la transmission inter-individuelle des souches résistantes**. Il convient donc d'agir sur ces 2 aspects : **bon usage des antibiotiques** et **lutte contre la transmission croisée des bactéries (hygiène)**.

Partie III :

ETUDE ET EVALUATION de la SENSIBILITE DES BACTERIES aux ANTIBIOTIQUES

1. Les effets des antibiotiques sur la croissance bactérienne

En mettant des bactéries en culture pure (10^5 à 10^6 bact/ml) en milieu liquide, en présence d'un antibiotique on observe des perturbations de leur croissance et des modifications (Figure 6) variant selon :

- * l'antibiotique et sa concentration
- * la bactérie étudiée et son état physiologique
- * l'environnement in vitro (normalisé/ standardisé)
(milieu de culture : Mueller-Hinton, PH = 7,2, T° = 35 à 37°)

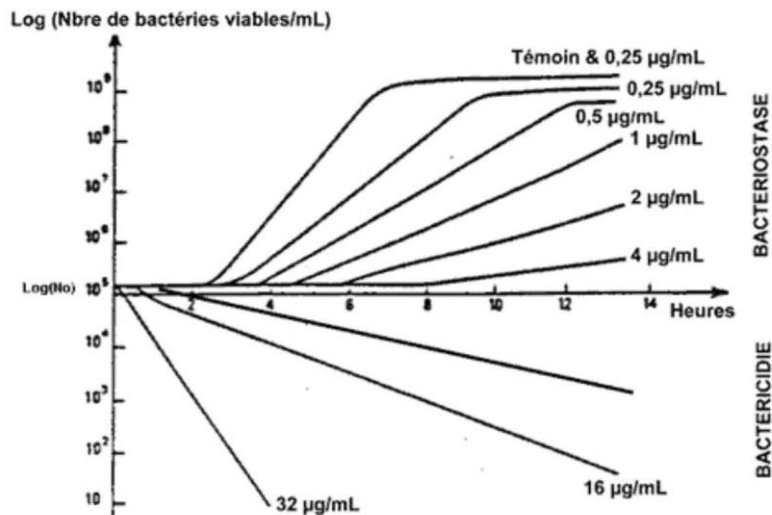


Figure 6 : Effet des antibiotiques sur la croissance bactérienne

1.1. La bactériostase

La bactériostase est le ralentissement de la croissance bactérienne pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance bactérienne. Elle est évaluée par la CMI.

Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) = la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber toute croissance visible de la bactérie.

La CMI représente le paramètre à déterminer pour étudier la sensibilité bactérienne aux antibiotiques qui permet de catégoriser les bactéries en Sensibles, Intermédiaires ou Résistantes à un antibiotique donné. Elle s'évalue par l'antibiogramme (mesure de sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique).

1.2. La bactéricidie

La bactéricidie est la mortalité bactérienne. Elle est évaluée par la CMB,

Concentration Minimale Bactéricide (CMB) = la plus faible concentration d'antibiotique qui ne laisse survivre après un contact de 18 à 24 h qu'un nombre de bactérie $\leq 0,01$ % de l'inoculum de départ.

C'est le paramètre de puissance antibiotique, la CMB s'évalue aussi de manière dynamique au moyen des courbes de bactéricidie qui décrivent la décroissance de l'inoculum dans le temps en fonction de différentes concentrations de l'antibiotique.

En pratique, un antibiotique est catégorisé :

- bactéricide si **CMB/CMI est ≤ 4** (ex : β -lactamines, aminodiolés, polymyxine)
- bactériostatique si **CMB/CMI >4** (ex : macrolides, cycline)

1.3. La tolérance :

C'est un état acquis par une partie de la population bactérienne dans laquelle un antibiotique réputé bactéricide reste bactériostatique mais perd son effet bactéricide.

C'est la dissociation entre les valeurs des CMI et CMB □ **CMB / CMI > 32**

2. La notion de sensibilité

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

1.1. Souches sensibles :

Les souches catégorisées **S** sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement antibiotique par voie générale ou orale à doses usuelles : **CMI $\leq$ à la concentration critique basse (c).**

1.2. Souches résistantes :

Les souches catégorisées **R** sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée (doses maximales) : **CMI $>$ à la concentration critique haute (C).**

1.3. Souches intermédiaires :

Les souches catégorisées **I** sont celles pour lesquelles la CMI mesurée est supérieure à la concentration critique basse et inférieure ou égale à la concentration critique haute. La probabilité de succès thérapeutique est forte uniquement dans le cas d'un traitement par voie systémique avec une posologie forte, ou lorsque l'antibiotique se concentre au site de l'infection : **concentration critique basse $<$ CMI $<$ concentration critique haute.**

3. Etude in vitro de l'activité antibiotique

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est à la fois l'étape ultime de l'examen bactériologique et l'étape la plus importante pour le clinicien dont il guide le

choix thérapeutique. Face à l'évolution de l'antibiothérapie, il est hasardeux aujourd'hui de connaître à priori les antibiotiques auxquels une espèce sera systématiquement sensible. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a aussi un but **épidémiologique** pour établir les protocoles thérapeutiques de première intention basés sur les niveaux de résistances acquises des bactéries isolées.

L'**antibiogramme** ne désigne pas une technique mais tous les moyens utilisables pour étudier l'activité in vitro d'un antibiotique. Il vise à **mesurer la sensibilité** d'une souche bactérienne à un antibiotique c.à.d. à **déterminer la CMI** de l'antibiotique pour catégoriser la souche bactérienne en S, I ou R.

3.1. Principales méthodes d'étude in vitro de l'activité antibiotique

3.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

3.1.1.1. Méthode par dilution en milieu liquide

De réalisation simple, la dilution en milieu liquide consiste à distribuer des concentrations croissantes de l'antibiotique choisi dans une série de tubes contenant un bouillon de culture ensemencé à raison de 10^5 à 10^6 bact/ml. (Figure N° 7)

Un tube dépourvu d'antibiotique sert de témoin de croissance.

Après incubation à 37° pendant 18h, on observe attentivement les tubes :

- dans le tube témoin ainsi que dans les tubes contenant les concentrations les plus faibles, on observe un trouble nettement visible du milieu de culture témoignant de l'existence d'une croissance bactérienne
- A partir d'une certaine concentration de l'antibiotique, le milieu demeure limpide. Le premier tube où il n'y a plus de croissance visible correspond à la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique utilisé.

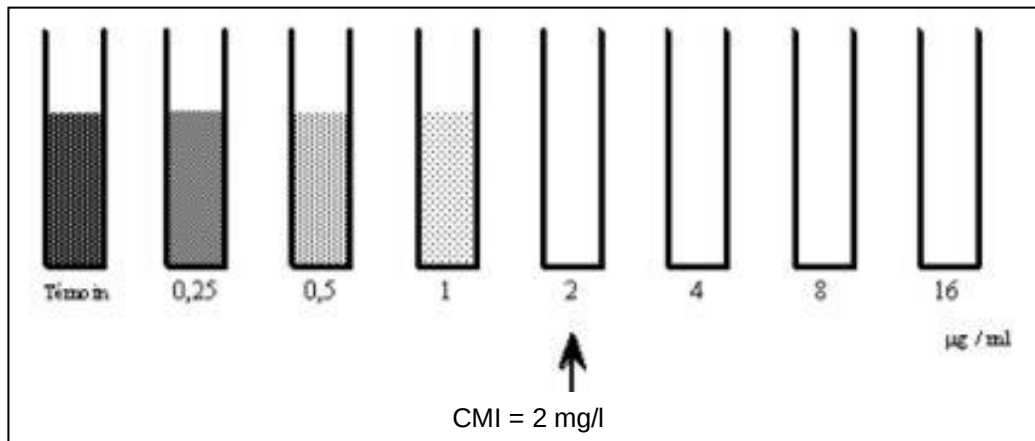


Figure N° 7 : Détermination des CMI par dilution en milieu liquide

3.1.1.2. Méthode par dilution en milieu solide

Le principe de l'antibiogramme par dilution en milieu solide est le même que précédemment. Les solutions d'antibiotiques sont introduites dans un milieu gélosé maintenu à 45° puis coulé en boîte de Pétri. Une même souche bactérienne est alors inoculée en surface sur les milieux gélosés contenant chacun des concentrations différentes et croissantes de l'antibiotique étudié. La CMI est déterminée après 18h d'incubation à 37° et correspond à la plus petite quantité d'antibiotiques capable d'inhiber totalement le développement de la culture. Par cette méthode, plusieurs souches peuvent être testées simultanément dans la même boîte. (Figure N° 8)

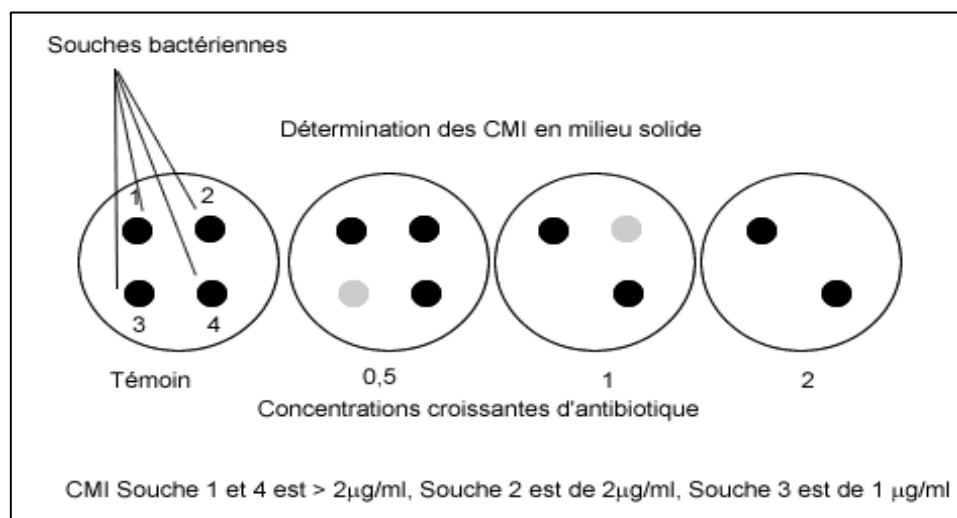


Figure N° 8 : Détermination des CMI par dilution en milieu solide

Les méthodes de détermination des CMI par dilution sont les méthodes de référence mais elles sont impossibles à utiliser en routine clinique c'est pourquoi on utilise souvent la méthode de diffusion des disques ou plus récemment des méthodes automatisées de dilution (machines automatisées).

3.1.1.3. Méthode par diffusion en milieu solide ou **Antibiogramme par diffusion** ou méthode des disques : méthode la plus utilisée en routine.

La technique consiste à étaler uniformément sur le milieu un inoculum de 10^5 à 10^6 bact/ml de telle sorte que, après 18 à 24 heures d'incubation, elles forment des colonies contigües mais non confluentes. Aussitôt après l'ensemencement, les disques d'antibiotiques choisis sont déposés à équidistance à la surface du milieu (les disques sont constitués de papier buvard imprégné de quantités connues d'antibiotiques).

La boîte est incubée à 37°C durant 18 à 24h. Il se produit à partir de la source, une diffusion radiale de chaque antibiotique dans la gélose, créant un gradient de concentration inversement proportionnel à la distance du disque.

Une bactérie ensemencée sur cette même surface entrera au contact de concentrations variables de l'antibiotique. Pour une concentration égale à la CMI, la croissance de la bactérie est stoppée.

L'inhibition se traduira donc par une zone circulaire stérile dont le diamètre sera fonction de la sensibilité de la souche. La mesure de ce diamètre d'inhibition reflète donc la valeur de la CMI de l'antibiotique en se référant à des courbes de concordance exprimant la relation entre ces deux valeurs (Figure N° 9).

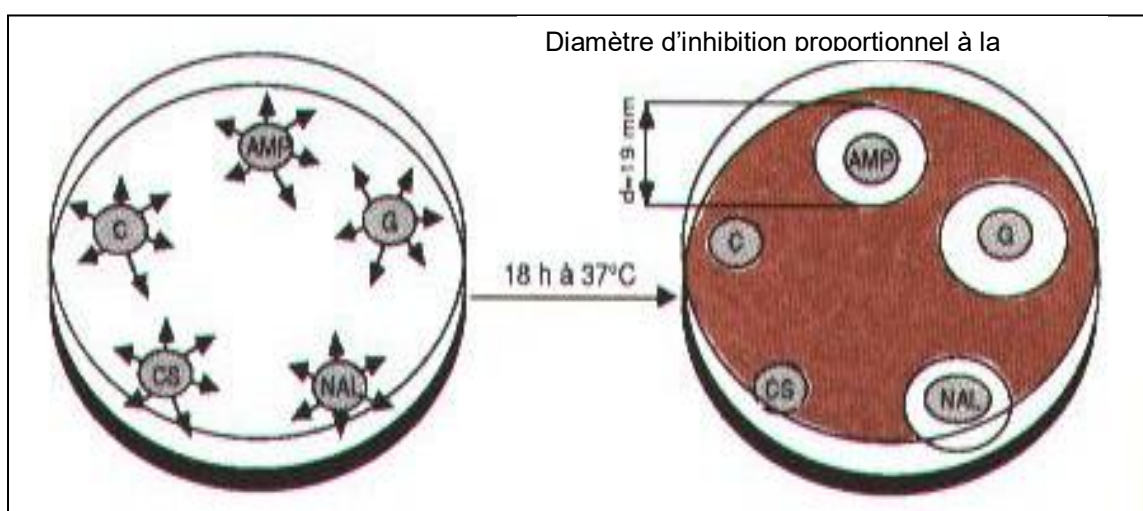


Figure N°9 : principe de détermination des CMI par la diffusion des disques

3.1.1.4. Méthode E-test

C'est une technique de diffusion en gélose qui permet une mesure directe de la CMI d'un antibiotique. Le E-test associe les caractéristiques des méthodes de diffusion et de dilution en milieu solide. Elle utilise des bandelettes de plastique. L'une des 2 faces est imprégnée d'un gradient de concentration croissant de l'antibiotique. L'autre face est graduée avec différentes valeurs de concentrations de l'antibiotique. Les bandelettes sont déposées sur la gélose préalablementensemencée. Après incubation à 37° pendant 24H $\Rightarrow$ formation d'une ellipse d'inhibition autour de la bandelette. La CMI est lue à l'intersection entre l'ellipse et la bandelette (Figure 10).

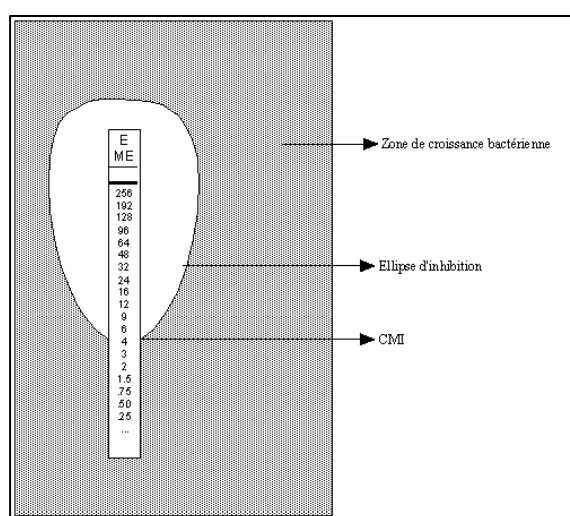


Figure N°10 : détermination des CMI par E-test

3.1.1.5. Interprétation clinique de la CMI :

Le laboratoire ne donne pas la valeur de la CMI ou du diamètre d'inhibition mais doit répondre en catégories cliniques : Sensible Intermédiaire Résistant.

Ces catégories sont définies par 2 concentrations critiques basses (c) et hautes (C) (traduites en diamètres critiques grâce aux courbes de concordance). Ces valeurs critiques sont établies par des comités nationaux ou internationaux (Ex comité français, européen ou américain) en se basant sur des critères bactériologiques, pharmacocinétiques et cliniques.

Une bactérie est S	si $CMI \leq c$	$\phi \geq D$
Une bactérie est R	si $CMI > C$	$\phi < d$
Une bactérie est I	si $c < CMI \leq C$	$d \leq \phi < D$

3.1.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la plus faible concentration d'antibiotique laissant subsister après 18 h d'incubation à 37°C 0.01 % de bactéries survivantes (1 bactérie survivante pour 10 000 bactéries ensemencées).

➤ La détermination de la CMB s'effectue conjointement à celle de la CMI en repiquant en milieu solide dépourvu d'antibiotique tous les tubes déjà ensemencés pour détermination de la CMI en milieu liquide et qui ne montrent pas de culture visible. Après une nouvelle incubation à 37°C pendant 18h, on dénombre les survivants.

➤ Intérêt clinique de la CMB :

- Certains antibiotiques ont une CMB proche de leur CMI et sont donc dits "Bactéricides" : ce sont les Bêta-lactamines, les aminosides et les polymyxines
- D'autres antibiotiques ont, au contraire, une CMB très supérieure à leur CMI. Ces antibiotiques sont dits "bactériostatiques".

En clinique, l'effet bactériostatique combiné aux défenses naturelles de l'organisme suffit. Par contre, dans les infections sévères, essentiellement les septicémies et notamment les endocardites et les infections chroniques chez des sujets fragilisés, l'effet bactériostatique ne suffit plus ; il est alors important d'utiliser un traitement antibiotique d'effet bactéricide puissant.

3.1.3. Etude du pouvoir bactériostatique et bactéricide des associations d'antibiotiques

3.1.3.1. Types d'interactions

Une association d'antibiotiques n'est pas toujours bénéfique.

On distingue 4 types d'interactions :

- **Synergie** : l'effet est significativement supérieur à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration
- **Addition** : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolé à la même concentration que dans l'association
- **Indifférence** : l'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre
- **Antagonisme** : l'association diminue l'activité de l'un ou l'autre des antibiotiques. Son activité est inférieure à la somme des effets de chaque antibiotique pris indépendamment.

3.1.3.2. Méthodes d'étude

➤ Mesure de l'effet bactériostatique des associations :

- Méthode qualitative : méthodes de diffusion sur gélose avec utilisation de disques d'antibiotiques : on constate l'étirement (synergie ou addition) ou l'aplatissement (antagonisme) de l'une des deux zones d'inhibition voisines ou utilisation à la place des disques de deux bandes de papier perpendiculaires et imprégnées chacune d'un antibiotique différent (figure N°11)
- Méthodes quantitatives : Technique de l'échiquier : permet de quantifier l'inhibition de deux antibiotiques A et B.

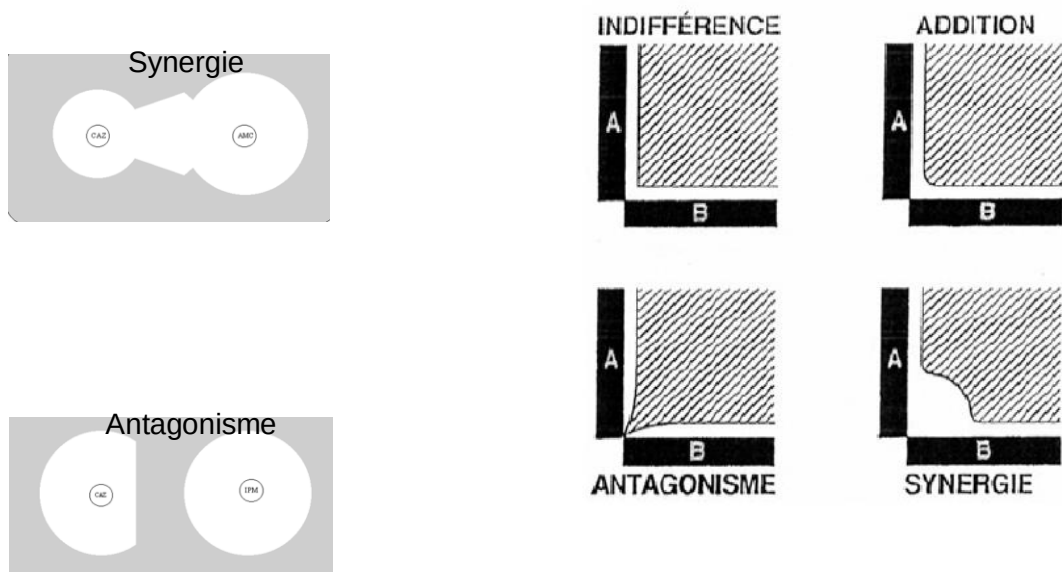


Figure N°11: Mesure de l'effet bactériostatique des associations

➤ Mesure de l'effet bactéricide des associations

Dans les infections sévères exigeant une antibiothérapie bactéricide prolongée, le laboratoire de bactériologie est amené à contrôler les effets de cette thérapeutique afin de vérifier son efficacité et de prévenir les effets toxiques de certains antibiotiques utilisés

3.2. Surveillance d'un traitement antibiotique

Dans les infections sévères exigeant une antibiothérapie bactéricide prolongée, le laboratoire de bactériologie est amené à contrôler les effets de cette thérapeutique afin de vérifier son efficacité et de prévenir les effets toxiques de certains antibiotiques utilisés.

3.2.1. Mesure du pouvoir bactériostatique et bactéricide du sérum et des autres liquides biologiques : test de Heilman

Elle permet de vérifier que le traitement administré au malade confère à l'un de ces liquides organiques un effet bactériostatique et bactéricide suffisant sur la bactérie responsable de l'infection.

La méthode utilise le même principe que celle servant à déterminer la CMI et la CMB à la différence que la solution d'antibiotique est remplacée par le sérum, le LCR ou les urines.

Le pouvoir bactériostatique du sérum (ou de tout autre liquide biologique) correspond à la dilution maximale du sérum capable d'inhiber la croissance d'une bactérie après 18h d'incubation à 37°C.

Dans un deuxième temps, on énumère les survivants dans les tubes où aucune culture n'est visible : c'est le pouvoir bactéricide du sérum.

Interprétation : Au moment du pic sérique de l'antibiotique : on estime que le pouvoir bactériostatique du sérum doit être au moins égal à 1/16 et le pouvoir bactéricide au moins égal à 1/8 pour espérer un succès thérapeutique dans les endocardites ou septicémies survenant chez des sujets non granulopéniques.

3.2.2. Dosage d'un antibiotique

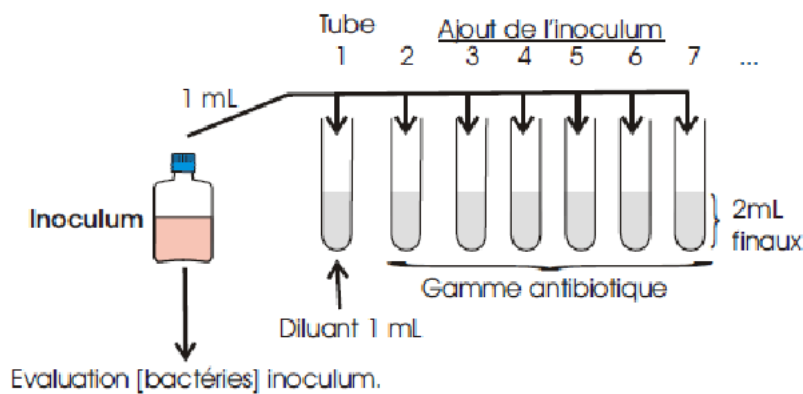
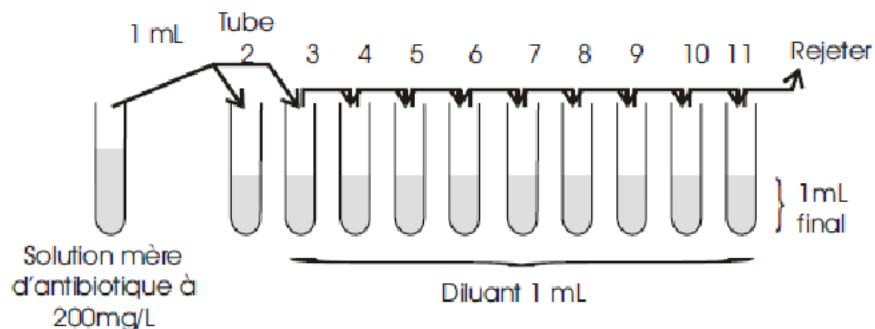
C'est la détermination du taux sérique ou humoral d'un antibiotique afin d'évaluer son efficacité et surtout les risques de toxicité engendrée par ce produit.

- Les aminosides en raison de leur toxicité cochléo-vestibulaire et rénale amenant à les doser systématiquement chez l'insuffisant rénal afin d'adapter et d'espacer les doses administrées
- La vancomycine pouvant être responsable d'ototoxicité chez l'insuffisant rénal
- Le chloramphénicol : responsable de toxicité médullaire

Les dosages antibiotiques peuvent être effectués par des techniques microbiologiques et autres non microbiologiques : immunoenzymologiques et chromatographiques.

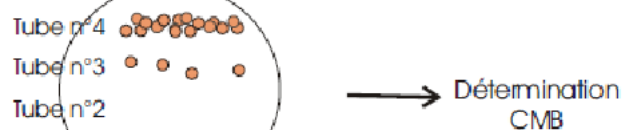
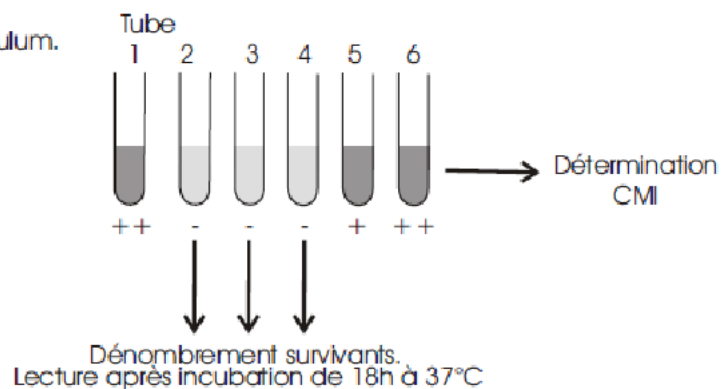
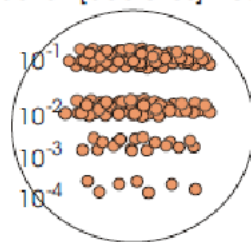
Antibiogramme par macrométhode en tube détermination de la CMI et de la CMB

Dilution de l'Antibiotique



Lecture après incubation de 18h à 37°C

Evaluation [bactéries] inoculum.



Rémi Moreda - Lycée Docteur Lacroix - Narbonne

Evaluation formative

1. Les antibiotiques sont des molécules :
 - A. souvent d'origine synthétique
 - B. actives sur toutes les espèces bactériennes
 - C. agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme bactérien
 - D. agissant à concentration très faible
 - E. dont l'action nécessite un temps de contact avec les bactéries
2. Parmi les antibiotiques suivants, indiquer ceux qui agissent par inhibition de la synthèse du peptidoglycane :
 - A. Gentamicine
 - B. Erythromycine
 - C. Amoxicilline
 - D. Vancomycine
 - E. Ofloxacine
3. Parmi les antibiotiques suivants, quels sont ceux qui possèdent un large spectre :
 - A. Pénicilline G.
 - B. Gentamicine
 - C. Erythromycine
 - D. Chloramphénicol
 - E. Acide nalidixique
4. La résistance bactérienne par mutation chromosomique :
 - A. représente 80 % des résistances observées en clinique
 - B. est un phénomène stable
 - C. peut être évitée par l'association de deux antibiotiques de familles différentes
 - D. est transférable et épidémique
 - E. est une résistance endogène
5. Les antibiotiques qui agissent que sur les bactéries à Gram NEGATIF sont :
 - A. Céphalosporines
 - B. Aztreonam (Monobactam)
 - C. Acide fusidique
 - D. Acide nalidixique
 - E. Colistine
6. Parmi les classes d'antibiotiques suivantes Quelles sont celles qui ont toujours une action bactéricide ?
 - A. aminosides
 - B. tétracyclines
 - C. macrolides
 - D. céphalosporines
 - E. sulfamides

7. Les antibiotiques suivants nécessitent un ajustement de la dose en cas d'insuffisance rénale:
- A. aminosides
 - B. vancomycine
 - C. macrolides
 - D. métronidazole
 - E. rifampicine
8. Citer 3 antibiotiques qui agissent uniquement sur les bactéries à Gram POSITIF.
.....
.....
.....
9. Citer un antibiotique qui agit uniquement sur les bactéries anaérobies strictes
.....
10. Quelle est la méthode utilisée pour la détermination de la CMI :
- de référence :
- en routine :
11. Définir une bactérie multi-résistante aux antibiotiques :
.....
.....
.....
12. Citer les indications de l'étude de l'effet des associations d'antibiotiques :
.....
.....
.....
.....

LES STAPHYLOCOQUES

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- Préciser l'habitat et le mode de transmission de *S. aureus*
- Décrire les caractères bactériologiques de *S. aureus*.
- Expliquer le rôle des facteurs de pathogénicité dans le pouvoir pathogène du germe.
- Connaitre les principales pathologies provoquées par les Staphylocoques.
- Décrire les étapes du diagnostic bactériologique des infections à *S. aureus*.
- Décrire les phénotypes de résistance aux antibiotiques du *S. aureus*
- Préciser les mécanismes de résistance aux β - lactamines de *S. aureus*.
- Décrire les moyens de prévention des infections nosocomiales à *S. aureus*.
- Préciser les facteurs favorisant les infections à Staphylocoques à coagulase négative.

Pré-test :

Monsieur A, âgé de 42 ans, diabétique, consulte pour une tuméfaction rouge, douloureuse avec du pus au niveau du majeur de la main droite. Cette tuméfaction est apparue 10 jours après enfoncement d'un clou, en bricolant, dans le majeur de la main droite.



A l'examen :

Température=38,5°C

Doigt chaud, rouge, gonflé avec une phlyctène purulente située au niveau du bord de l'ongle.

La mobilisation est normale.

- 1- Quel est le diagnostic le plus probable ?
- 2- Quelle bactérie suspectez-vous en premier lieu ?
- 3- Quel est le mécanisme physiopathologique de cette infection ?
- 4- Quels sont examens bactériologiques à demander ?
- 5- Quel est la conduite à tenir au laboratoire ?
- 6- Quel antibiotique pouvez-vous prescrire ?

Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif groupés typiquement en amas, de culture facile sur milieux usuels. Ce sont des bactéries **très ubiquitaires** car résistantes aux conditions hostiles de l'environnement. Elles sont **saprophytes** ou **commensales** de la peau et des muqueuses de l'homme et de nombreux animaux.

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae*. Ce genre reconnaît plus de 40 espèces. Seules 20 espèces sont retrouvées chez l'homme. *Staphylococcus aureus* (Staphylocoque doré) doté d'une coagulase est l'espèce type. C'est l'espèce la plus pathogène. Elle est responsable d'infections variées et souvent graves, communautaires et nosocomiales. Les autres espèces dites Staphylocoques à coagulase négative (SCN) peuvent être responsables d'infections dans certaines situations particulières (en milieu hospitalier).

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

1- HABITAT

Le réservoir naturel de *S. aureus* est la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud. Chez l'homme, l'habitat préférentiel est représenté par les **fosses nasales et les zones humides** (aisselles, périnée). Environ 30 % des sujets hébergent *S. aureus* au niveau du nez (portage naturel). Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries, très résistantes, sont fréquemment retrouvées dans l'environnement.

2- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

2-1- Caractères morphologiques

S. aureus est un **cocci à Gram positif**, isolés ou en diplocoques, mais classiquement groupés en **amas** (grappe de raisin). Ils sont immobiles, asporulés, parfois capsulés.

2-2- Caractères culturels

S. aureus est une bactérie **aérobie-anaérobie facultative, non exigeante**.

Elle pousse facilement, en 18 à 24 heures sur milieu usuel (gélose nutritive). La

plupart des souches produit un pigment jaune doré, non diffusible dans le milieu. Sur gélose au sang, les colonies sont souvent entourées d'une hémolyse β .

Le milieu de **Chapman** est un milieu de culture sélectif pour l'isolement du Staphylocoque à partir de produits pathologiques polymicrobiens. C'est un milieu gélosé hyper salé contenant du mannitol, destiné à identifier *S. aureus* par la présence de colonies jaunes (hydrolyse du mannitol).

2-3- Caractères biochimiques :

S. aureus possède une **catalase**, mais pas d'oxydase.

2-4-Substances élaborées et facteurs de virulence

S. aureus exprime de nombreux facteurs de virulence : des facteurs d'adhésion et de colonisation des tissus de l'hôte (adhésines) et des facteurs de dissémination (toxines et enzymes).

2-4-1- Facteurs d'adhésion et de colonisation

L'adhésion aux cellules, aux composants de la matrice extracellulaire et aux biomatériaux (corps étrangers) est une étape déterminante dans le développement ultérieur de l'infection. Plusieurs adhésines ont été identifiées chez *S. aureus* :

- **La protéine A** : elle est **spécifique de l'espèce**. C'est une protéine pariétale liée au peptidoglycane. Elle se lie au facteur de Von Willebrand (endothélium lésé) et au fragment Fc des IgG, ce qui permet d'inhiber l'opsonisation et donc protège la bactérie de la phagocytose. La protéine A fixe également le fragment Fab des Immunoglobulines entraînant une activation polyclonale des lymphocytes B (activité super antigénique).
- **La protéine de liaison au collagène** : joue un rôle dans les infections ostéo-articulaires.
- **La protéine de liaison à la fibronectine** : permet l'adhésion du *S. aureus* aux caillots plasmatiques.

- **Le clumping factor (CLFA, CLFB)** : c'est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma : **coagulase liée**.
- **Les acides lipoteichoïques**
 - **Les exopolysaccharides capsulaires** protègent la bactérie de la phagocytose.
⇒ Les adhésines permettent à *Staphylococcus aureus* de fixer :
 - les molécules plasmatiques (fibrinogène, fibronectine)
 - les molécules tissulaires (collagène)
 - Rôle primordial dans la colonisation des tissus

2-4-2- Facteurs de dissémination

Diffusion locale : toxines et enzymes :

- **Hémolysines ou staphylolysines** : ce sont des toxines à action cytolytique (cellules endothéliales, les monocytes, thrombocytes...).
- **Leucocidines** /Leucocidine de Panton Valentine (PVL) : la PVL est produite par des souches de *S. aureus* lysogénisées par des phages. Elle est leucotoxique et dermonécrotique. C'est un facteur de virulence important dans les infections surtout communautaires nécrosantes, cutanées, ostéoarticulaires et pulmonaires.
- **Autres** : * Désoxyribonucléase (Dnase) : elle hydrolyse l'ADN. Elle est utilisée au laboratoire pour le diagnostic de l'espèce.
* Protéases, élastase, hyaluronidase : favorisent l'extension du foyer infectieux.

Diffusion hématogène :

- **Coagulase libre** : c'est une protéine extracellulaire provoquant la coagulation du plasma humain ou de lapin. Elle se lie à la prothrombine et forme un complexe « **Staphylothrombine** ». Ce complexe entraîne la polymérisation du fibrinogène en fibrine, d'où la formation de thrombus : **thrombophlébite suppurée**. Le germe est ainsi protégé contre la phagocytose par une gangue de fibrine.

La coagulase libre est un marqueur classique de l'identification de l'espèce *S. aureus* : test de coagulase en tube.

- **Staphylokinase (fibrinolysine)** : c'est un activateur du plasminogène en plasmine. Elle entraîne la **fragmentation du thrombus** et la dissémination du germe par envoi de micro embolus suppurés créant des métastases septiques.

2-4-3-Toxines responsables de syndromes spécifiques

Ce sont des toxines qui agissent à distance du foyer infectieux. Elles sont caractérisées par une **activité super antigénique** : activation polyclonale des lymphocytes T et libération massive de cytokines (interleukine 1-6, $TNF\alpha$ et β , interféron γ) responsables en partie de la symptomatologie clinique du choc staphylococcique (fièvre, hypotension, hémorragie).

-La toxine du choc toxique staphylococcique (TSST1) :

-Les Entérotoxines : ce sont des protéines thermostables résistantes aux protéases intestinales. Elles sont responsables d'intoxications alimentaires.

-Les Exfoliatines (épidermolysines) : ce sont des toxines à tropisme cutané. Elles entraînent un décollement intra-épidermique entre le stratum granulosum et le stratum spinosum provoquant des lésions bulleuses.

3- POUVOIR PATHOGENE

Les infections à *S. aureus* sont caractérisées par des lésions suppuratives et nécrotiques (**germe pyogène**). Toutefois, cette bactérie peut être également à l'origine d'infections toxiques (liées à la production de toxines particulières). Les infections nosocomiales sont fréquentes.

3-1-Infections suppuratives superficielles et profondes

S. aureus est le type même de la bactérie pyogène.

3-1-1- Infections superficielles cutanées, sous cutanées et muqueuses :

- Furoncles, folliculites, anthrax, panaris, impétigo, abcès, cellulites, lymphangites.
- Sinusites, otites, abcès amygdaliens, mastoïdites.
- Surinfections de plaies traumatiques ou chirurgicales, brûlures.

Le diabète, l'immunodépression sont des facteurs favorisants. Ces infections cutanéomuqueuses sont parfois le point de départ de suppurations profondes ou de septicémies.

3-1-2- Infections profondes :

Des localisations à point de départ thrombo-embolique ou par extension locorégionale sont variées : pleuro-pulmonaires, ostéo-articulaires, cardiaques, génito-urinaires, cérébro-méningées. Ces infections sont le plus souvent secondaires à des septicémies, redoutables et caractérisées par de nombreuses **métastases suppurées**. En milieu hospitalier, la porte d'entrée de la septicémie est souvent un cathéter vasculaire.

3-2- Infections non suppuratives d'origine toxique :

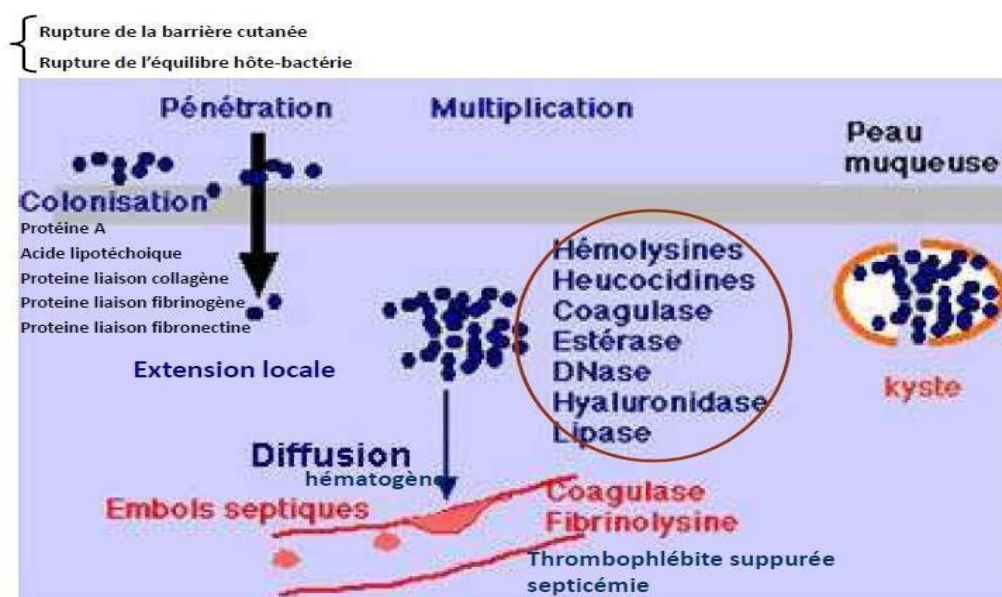
Toxémies staphylococciques

- **Syndromes cutanés staphylococciques** : le syndrome de la peau ébouillantée chez l'enfant (Ritter chez les nouveau-nés) est caractérisé par une érythrodermie bulleuse avec fièvre évoquant une brûlure de second degré. Il est occasionné par *S. aureus* producteur **d'exfoliatine** (la bactérie n'est pas retrouvée dans les lésions).
- **Choc toxique staphylococcique** : (TSST1 / entérotoxine). Il associe une fièvre, hypotension artérielle et érythrodermie desquamative diffuse ou limitée.
- **Intoxications alimentaires** : l'incubation est courte (1 à 6 h). Elles sont dues à l'ingestion **d'entérotoxine** préalablement développées dans l'aliment (lait,

viande). Elles sont caractérisées par des douleurs abdominales, diarrhées, vomissements et absence de fièvre. L'évolution est généralement favorable.

4- PHYSIOPATHOLOGIE

- L'apparition d'une infection à *S. aureus* résulte souvent d'un déséquilibre entre l'hôte et la bactérie : lésion même minime du revêtement cutané (blessure, brûlure,...), antibiothérapie à large spectre, état immunitaire affaibli, diabète. Après rupture de la barrière cutanéo-muqueuse, *S. aureus* se fixe sur les cellules par l'intermédiaire de **protéines de surface** : adhésines. La prolifération bactérienne s'accompagne d'une intense réaction inflammatoire avec afflux de nombreux PNN. Sous l'influence de **toxines et enzymes** bactériennes, une destruction cellulaire et envahissement local expliquent l'extension de l'infection vers les vaisseaux de voisinage et formation d'un foyer de thrombophlébite locale (coagulase). Si l'infection est maîtrisée, elle reste localisée, sinon il y a possibilité d'une dissémination bactérienne par voie hématogène d'où septicémie et métastases infectieuses (fibrinolysine).
- Les infections toxiques sont des syndromes cliniques caractérisés par la production de toxines particulières qui ont un tropisme particulier et parfois une activité super antigénique.



5- EPIDEMIOLOGIE

La transmission de la bactérie est surtout **directe** interhumaine, essentiellement par contact direct à partir de lésions staphylococciques ou contamination par sa propre flore (endogène). **Le portage manuel est la base de cette transmission.**

La transmission peut être indirecte par objets ou matériels contaminés : vêtements, literie, matériel médical, ...

S. aureus est responsable **d'infections acquises à l'hôpital**. Les souches sont introduites ou transmises dans les hôpitaux par les patients colonisés ou le personnel hospitalier. Elles sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques pouvant entraîner des épidémies nosocomiales.

La prophylaxie des infections nosocomiales à *S. aureus* repose sur :

- **Lavage des mains** +++
- L'application des mesures d'antisepsie et d'hygiène individuelle (traitement des infections contaminantes) et collective (lutte contre les infections dans les hôpitaux, surveillance des cuisines).
- Isolement des patients porteurs de SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline).
- Education sanitaire du personnel
- Bon usage des antibiotiques

6- LE DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

Le diagnostic bactériologique des infections à *S. aureus* est un diagnostic **direct** basé sur la mise en évidence du germe dans les produits pathologiques par culture.

6-1-Prélèvements

Les prélèvements doivent être pratiqués avec une **asepsie** rigoureuse pour éviter la contamination du produit pathologique par les souches de staphylocoques présentes au niveau de la peau et l'environnement. Différents prélèvements

peuvent être pratiqués selon le site de l'infection (hémoculture, pus cutanéomuqueux, collections suppurées,...)

6-2-Examen direct

L'observation microscopique après coloration de Gram note la présence de **cocci à Gram positif** disposés en amas associés à une réaction inflammatoire à PNN plus ou moins altérés.

6-3-Mise en culture

La mise en culture est effectuée sur des milieux ordinaires (gélose nutritive), ou milieux enrichis (gélose au sang) pour les prélèvements monomicrobiens, et milieu sélectif (milieu de de Chapman) pour les prélèvements polymicrobiens.

6-4-Identification

L'identification du genre *Staphylococcus* est basée sur la morphologie (cocci à Gram positif en amas), l'aspect de la colonie (pigment jaune doré) et le test de l'acatalase positive. L'identification de l'espèce *S. aureus* est basée sur la production de Désoxyribonucléase, la production de coagulase libre ou la présence de la protéine A.

6-5-Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Les staphylocoques sont naturellement sensibles à divers antibiotiques. L'émergence et la diffusion de souches résistantes aux antibiotiques a fait que ces infections posent parfois des problèmes thérapeutiques d'où la nécessité de réaliser une étude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) de la souche isolée.

6-5-1- β -lactamines :

Le phénotype sauvage (naturel) du *S. aureus* est sensible à toutes les β -lactamines. Mais, les résistances acquises sont apparues rapidement suite à l'utilisation des antibiotiques :

➤ Résistance par production de pénicillinase :

Plus que 90 % des souches produisent une pénicillinase qui inactive la pénicilline

G, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les ureidopénicillines. La pénicillinase produite est inactivée par les inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactam). Ces souches restent sensibles aux pénicillines M (oxacilline et méthicilline), les céphalosporines et les pénèmes.

➤ **Résistance par modification de la cible :**

Ce mécanisme confère une résistance aux pénicillines M et à toutes les β -lactamines par production de PLP de faible affinité aux β -lactamines (**souches Meti-R ou SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline**). Le taux de SARM est variable dans le temps et l'espace. En Tunisie, il est présent chez 20 à 30 % des souches. Elles sont surtout isolées en milieu hospitalier. Mais depuis 2000, des souches de SARM ont été décrites en milieu communautaire. Ces souches sont responsables essentiellement d'infections de la peau et des tissus mous, d'infections ostéo-articulaires et de pneumopathies nécrosantes où la leucocidine de panton valentine joue un rôle important.

6-5-2- Aminosides

La résistance aux aminosides concerne surtout les souches Meti-R. La gentamicine est la molécule la plus active.

6-5-3- Macrolides - lincosamides et Streptogramines

Des résistances associées aux macrolides et lincosamides sont fréquemment observées chez les souches Meti-R. Les streptogramines (pristinamycine) constituent d'excellents antistaphylococciques.

6-5-4- Glycopeptide (vancomycine ou teicoplanine) :

Ce sont les antibiotiques les plus actifs. Cependant, des souches de sensibilité intermédiaire ou résistante aux glycopeptides ont été décrites.

6-5-5- Autres anti staphylocoques :

La rifampicine, la fosfomycine, les fluoroquinolones et l'acide fusidique sont utilisés en association pour éviter la sélection de mutants résistants.

STAPHYLOCOQUES A COAGULASE NEGATIVE

La majorité des Staphylocoques à coagulase négative sont des bactéries **pathogènes opportunistes** essentiellement responsables **d'infections nosocomiales**. Deux principaux facteurs favorisent ces infections : l'immunodépression et la présence de corps étranger (prothèse, valve de dérivation du LCR, cathéter, ...).

Staphylococcus epidermidis est l'espèce la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier. Elle est responsable d'infections chez les sujets porteurs de matériel étranger. En effet, la production d'exopolysaccharide (Slime) augmente sa capacité d'adhésion aux biomatériaux et empêche la pénétration des antibiotiques rendant leur éradication difficile. *S. epidermidis* est responsable également de septicémie notamment dans les services d'oncologie et d'endocardites. Ces souches sont souvent multirésistantes aux antibiotiques.

Staphylococcus saprophyticus est responsable **d'infection urinaire** chez la jeune femme. Cette espèce est **naturellement résistante à la fosfomycine**.

Interprétation : les staphylocoques et en particulier les staphylocoques à coagulase négative font partie de la flore normale de l'organisme. L'isolement de ces bactéries dans les prélèvements correspond souvent à des souillures ou à des colonisations. Ainsi, l'interprétation devra toujours tenir compte du site d'isolement de la bactérie, des signes cliniques et cytologiques d'infection (présence de polynucléaires).

Il sera généralement nécessaire de répéter les prélèvements ; l'isolement répété de la même souche étant un argument en faveur d'une infection.

POST-TEST

1- Quelle est l'enzyme staphylococcique ayant un intérêt pour l'identification de l'espèce *S. aureus* ?

- a- Oxydase
- b- Catalase
- c- Coagulase
- d- Hyaluronidase
- e- Staphylolysine

2- *S. aureus* est une bactérie :

- a- Pathogène spécifique
- b- Strictement humaine
- c- Exigeante en culture
- d- Responsable d'infection hospitalière
- e- Nécrotique et suppurative

3- Quel(s) est (sont) le(s) antibiotique(s) susceptibles d'être actif(s) sur les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline :

- a- Pénicilline G
- b- Amoxicilline
- c- Amoxicilline+acide clavulanique
- d- Imipénème
- e- Vancomycine

4- *Staphylococcus saprophyticus*:

- a- Ne produit pas de coagulase
- b- Responsable de cystite chez la femme jeune
- c- Responsable d'endocardite infectieuse
- d- Sensible à la fosfomycine
- e- Résistant à la vancomycine

5- Les Staphylocoques à coagulase négative sont :

- a- De culture difficile
- b- Bactéries commensales du tube digestif
- c- Responsables d'infections nosocomiales
- f- *Staphylococcus epidermidis* est l'espèce la plus fréquente
- g- Naturellement résistants aux glycopeptides

6- Lors d'une septicémie à *Staphylococcus aureus*

- a- Citer la porte d'entrée la plus fréquente
- b- Citer les deux facteurs de virulence responsables de métastases septiques

STREPTOCOQUES - ENTEROCOQUES

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

Préciser les caractères généraux, communs aux streptocoques-entérocoques.

Décrire l'habitat et les modes de transmission des streptocoques-entérocoques.

Préciser les caractères bactériologiques qui permettent l'identification des *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus pneumoniae*.

Expliquer le rôle des substances élaborées et des structures antigéniques de *Streptococcus pyogenes* dans la pathogénie des infections.

Connaître les facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae*.

Décrire les moyens permettant de poser le diagnostic bactériologique des infections streptococciques.

Décrire les phénotypes de résistance aux antibiotiques des principales espèces des genres

Streptococcus et *Enterococcus*.

Expliquer la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux β -lactamines (méthode d'étude, mécanisme de résistance et conséquences sur l'activité des β -lactamines).

1- CARACTERES GENERAUX

L'ensemble des cocci à Gram positif dépourvus de catalase et oxydase correspond à la famille des *Streptococcaceae* qui comprend plusieurs genres. Les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont les plus souvent impliqués en pathologie humaine.

Les streptocoques et les entérocoques sont des bactéries très répandues, commensales des muqueuses oropharyngées, digestives et génitales de l'homme et des animaux.

Certaines espèces sont très virulentes, comme *Streptococcus pyogenes* ou *Streptococcus pneumoniae*. Ce sont des pathogènes "obligatoires".

D'autres espèces sont habituellement commensales mais deviennent des pathogènes "opportunistes" dans certaines circonstances. C'est le cas des streptocoques oraux.

Ils regroupent des cocci à Gram positif qui sont :

- Groupés en diplocoques ou en chaînettes plus ou moins longues, parfois capsulés.
- Anaérobies préférentiels, aéro-tolérantes.
- Catalase négative (à la différence des Staphylocoques, qui sont des cocci à Gram positif groupés en amas et catalase positive).
- Bactéries fragiles, exigeantes en culture (nécessitent des milieux de culture enrichis/gélose au sang frais) à l'exception des entérocoques.
- Naturellement résistants de bas niveau aux aminosides

2- CLASSIFICATION

Les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*.

Les différentes espèces de streptocoques-entérocoques peuvent être classées et identifiées au laboratoire selon les caractères suivants :

L'hémolyse entourant les colonies obtenues sur gélose au sang :

- β (Complète) : hémolyse à bords nets et détruisant totalement les GR incorporés dans la gélose (halo clair transparent)
- α (Partielle) : halo plus petit verdâtre
- γ (Absence)

➤ **La présence ou non d'un antigène lié à un polysaccharide de paroi et spécifique de groupe (polyoside C).** La classification de Lancefield permet de détecter ces antigènes.

Parmi les groupes antigéniques désignés par Lancefield par des lettres (de A à H, et de K à V), les groupes A, B, C ou G caractérisent les espèces de streptocoques β -hémolytiques les plus pathogènes.

Les streptocoques α -hémolytiques ou non hémolytiques appartiennent à d'autres groupes ou sont non-groupables (absence de polyoside C), et sont habituellement commensaux.

➤ **Un ensemble de caractères biochimiques.**

STREPTOCOQUE DU GROUPE A :

Streptococcus pyogenes

Pré-test :

Un enfant âgé de 9 ans présente une fièvre à 39°C, refus alimentaire et angine érythémato-pultacée.

- 1- Quels sont les micro-organismes le plus souvent en cause ?
- 2- Quelle serait votre démarche diagnostique ?
- 3- Quelles sont les complications à redouter ?
- 4- Comment les diagnostiquer ?

Streptococcus pyogenes est l'espèce type du genre *Streptococcus*. C'est une bactérie singulière du fait du polymorphisme des infections et des complications post streptococciques non suppuratives.

1- HABITAT :

C'est une bactérie **strictement humaine**. L'habitat naturel est le nasopharynx (amygdales++), mais également les muqueuses et la peau.

Le streptocoque du groupe A peut être présent au niveau de la gorge chez 5 à 10 % des individus, surtout les enfants : ce sont les porteurs asymptomatiques qui constituent un réservoir de transmission de germe.

Le Streptocoque du groupe A est une bactérie fragile, non retrouvée dans le milieu extérieur.

2- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES :

2-1- Morphologie :

Cocci à Gram positif groupés en chainettes, parfois capsulés.

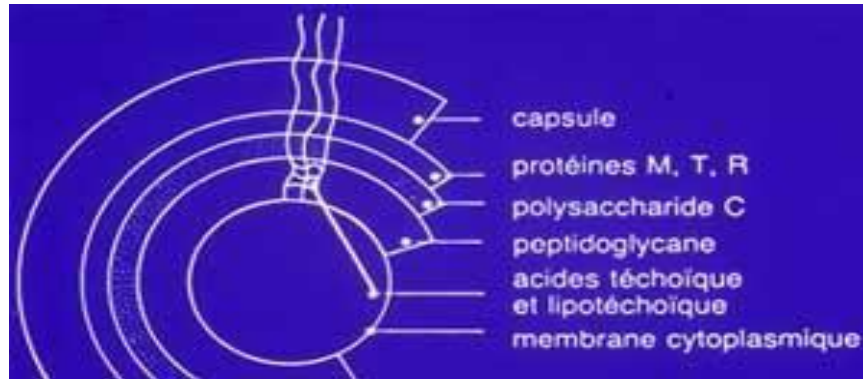
2-2- Culture :

Le streptocoque du groupe A est une bactérie **exigeante** : la culture nécessite l'utilisation de milieux riches type gélose au sang frais. Après 24 à 48 heures d'incubation, les colonies des streptocoques du groupe A sont de petite taille, entourées d'une **Hémolyse β** .

2-3- Facteurs de pathogénicité

2-3-1- Structures externes

On distingue de l'extérieur vers l'intérieur les structures suivantes :



- **La capsule** : est inconstante. Elle est composée d'acide hyaluronique et s'oppose à la phagocytose.
- **La protéine M** : c'est le facteur majeur de **virulence**. Elle permet l'adhésion cellulaire et possède une action anti-phagocytaire. Elle est **antigénique**, il existe > 100 sérotypes M. les anticorps anti M sont protecteurs mais spécifiques de type. Certains types M sont liés à la pathologie.
- **Polysaccharide C** : à la base de la classification de Lancefield
- **Peptidoglycane**
- **Acides téichoïques** : interviennent dans l'adhésion aux cellules épithéliales.

2-3-2- Substances élaborées

➤ Toxines érythrogènes (A, B et C) ou exotoxines pyrogènes streptococciques

Ces toxines sont secrétées par certaines souches de Streptocoque du groupe A lysogénisées par un phage tempéré. Elles sont responsables de l'éruption au cours de la **scarlatine**.

Ces toxines induisent la formation d'anticorps protecteurs et donc confèrent une immunité solide et définitive.

Les toxines A et C ont une activité de super antigène à l'origine du syndrome de choc toxique streptococcique.

➤ **Streptolysines**

Elles sont hémolytiques et cytotoxiques. Il existe 2 types : Streptolysine O (SLO) et Streptolysine S (SLS).

- La SLO est immunogène, elle induit la formation d'anticorps anti streptolysine O : **ASLO** sauf en cas d'infections cutanées (la SLO est inhibée par le cholestérol). La recherche des SLO est utilisée pour le diagnostic rétrospectif de l'infection.
- La SLS est responsable de l'hémolyse observée in vitro sur gélose au sang. Elle ne joue pas de rôle en pathologie et elle n'est pas antigénique.

➤ **DNases (A, B, C, D) : Streptodornases**

Elles entraînent la dégradation des acides nucléiques. Le type B est spécifique du Streptocoque du groupe A. Les anticorps anti streptodornases B : **ASDOR** sont utiles pour confirmer l'origine streptococcique d'une infection antérieure, pharyngée ou cutanée.

➤ **Streptokinase**

C'est une fibrinolysine qui catalyse la transformation du plasminogène en plasmine entraînant la dégradation de la fibrine. Elle est antigénique induisant la formation d'antistreptokinase (ASK).

➤ **Autres/ Hyaluronidase.**

3- POUVOIR PATHOGENE

Le Streptocoque du groupe A est responsable d'infections aiguës suppurées et des complications non suppurées appelées post streptococciques.

3-1- Infections suppurées

- Angines érythémateuses et érythématopultacées
- Infections cutanées/impétigo
- Autres infections ORL (Sinusite, Otite)
- Infection génitale
- Erysipèle : Etiologie streptococcique spécifique (A, C et G)
- Cellulite extensive ou fasciite nécrosante
- Septicémie.

3-2- Syndrome de choc toxique streptococcique

Complication non suppurative précoce d'origine toxique.

3-3- Complications post streptococciques non suppurées

-Rhumatisme articulaire aigu (RAA) 2 à 3 semaines après une angine.

-Glomérulo-néphrite aiguë (GNA) 3 semaines après une angine ou infection cutanée.

4- PHYSIOPATHOLOGIE

-**Infections suppurées** : elles sont dues à la virulence directe du germe : capacités adhésives de la protéine M et de l'acide téichoïque, résistance à la phagocytose (protéine M et capsule), toxines et enzymes.

-**Erysipèle** : Réaction inflammatoire et allergique.

-**Scarlatine et syndrome de choc toxique** : Liée à la sécrétion d'une toxine érythrogène par des souches de streptocoque du groupe A lysogénisées par un bactériophage.

-**Complications post streptococciques non suppurées** : Processus immuno-allergique

*RAA : antigénicité croisée entre Ag streptococciques et des structures de l'endocarde et de la synoviale.

*GNA : dépôt d'immunocomplexes circulants dans les capillaires de la membrane basale glomérulaire.

5-EPIDEMIOLOGIE

La transmission est interhumaine, par voie aérienne ou par contact direct dans l'entourage des enfants ou des adultes atteints de pharyngite ou des lésions cutanées.

Les infections à streptocoque A sont fréquentes au cours de la période automno-hivernale et également dans les collectivités

Le RAA a diminué dans les pays industrialisés mais encore fréquent dans les pays en voie de développement. En Tunisie, il reste une préoccupation de santé publique.

6-DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

6-1-Diagnostic direct des infections aiguës suppurées

6-1-1-Diagnostic bactériologique classique

Il repose sur la mise en évidence du germe au niveau du site de l'infection.

- **Prélèvements** : il peut s'agir de lésions cutanées, d'hémocultures, de prélèvement de gorge, ...
- **Examen direct** : La présence de cocci à Gram positif en chainettes est évocatrice de streptocoque.
- **Culture** : les produits pathologiques sont ensemencés sur milieux de culture enrichis type gélose au sang.
- **Identification** : l'identification est basée sur la présence de petites colonies entourées d'une β -Hémolyse large (diagnostic différentiel avec les streptocoques B, C, G), et la sensibilité à la bacitracine. La confirmation se fait par le groupage antigénique (antigène de groupe A de Lancefield).
- **Sensibilité aux antibiotiques** : Le Streptocoque du groupe A est naturellement résistant de bas niveau aux aminosides, mais l'effet est synergique avec les β -lactamines.

Il est par ailleurs, toujours sensible aux β lactamines (Pénicilline G). Il existe des résistances acquises aux cyclines et aux macrolides.

6-1-2- Techniques de diagnostic rapide (TDR)

Elles sont basées sur la mise en évidence de l'antigène de paroi du Streptocoque du groupe A dans des prélèvements de gorge **en cas d'angine aiguë** chez l'enfant. Ce sont des réactions d'agglutination rapide (10–30 mn).

6-2- Diagnostic indirect :

Il a surtout un intérêt dans le diagnostic des **complications non suppurées**. Les

tests les plus utilisés sont :

6-2-1- Les anti-streptolysines O : ASLO

Leur taux augmente après la première semaine de l'infection et diminue après 6-12 mois. Ils sont décelés après les infections aiguës de voies aériennes supérieures et dans le RAA. Le taux normal est < 200 UI/ ml. En cas de complication post streptococcique, les ASLO augmentent et peuvent dépasser les 800 UI/ml.

Des faux négatifs peuvent se voir en cas de GNA secondaire à un impétigo ou en cas de traitement précoce par la pénicilline G ; et des faux positifs en cas d'infection par streptocoque C ou G ou en cas d'hyperlipémie.

6-2-2- Les anti-streptodornases B : ASDOR

Leur taux augmente après la deuxième semaine de l'infection et restent longtemps élevés. Ils sont décelés après les Infection aiguës cutanées ou muqueuses et dans les complications post-streptococciques d'origine pharyngée ou cutanée. Ils sont spécifiques du Streptocoque du groupe A.

7-PROPHYLAXIE

Elle est basée sur l'hygiène et le traitement systématique des infections pharyngées et cutanées présumées d'origine streptococcique.

STREPTOCOQUE DU GROUPE B :

Streptococcus agalactiae

1- HABITAT

C'est une bactérie commensale du tube digestif et des voies génitales de l'homme et des animaux. ≈ 20 % des femmes sont colonisées au niveau vaginal.

2- POUVOIR PATHOGENE

Le Streptocoque du groupe B provoque :

- Infections néonatales : méningite et septicémie graves de mauvais pronostic. La contamination du nouveau-né est materno-fœtale au moment de l'accouchement ou par voie ascendante en cas de rupture prématurée des membranes. Mais seulement un enfant sur 10 fera une infection.
- Infections de l'adulte : infection urinaire, infection génitale, infections cutanées, septicémie.

3- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le diagnostic est direct basé sur :

- La mise en évidence de la bactérie au niveau du produit pathologique :
 - Prélèvement : LCR, sang, placenta (Nouveau-né) ; urines, prélèvements génitaux, sang, pus (Adulte).
 - Culture : colonies β-hémolytiques sur gélose au sang
 - Identification : mise en évidence de l'antigène du groupe B de Lancefield
 - Sensible aux antibiotiques : sensible à la Pénicilline G.
- La recherche d'antigènes solubles de groupe B dans le LCR permet un diagnostic rapide et intéressant pour le diagnostic des infections néonatales.

4- PROPHYLAXIE

La prévention des infections néonatales par le streptocoque B est basée sur la recherche de portage vaginal chez la femme enceinte en fin de grossesse et antibiothérapie préventive lors de l'accouchement en cas de colonisation

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE :

Pneumocoque

Pré-test :

Monsieur S, âgé de 74 ans est hospitalisé pour fièvre associée à une toux et des douleurs thoraciques. La radiographie thoracique a objectivé une opacité systématisée compatible avec un aspect de pneumonie.



- 1-Quelle est l'espèce bactérienne probablement en cause ?
- 2-Quels sont les facteurs de virulence de cette bactérie ?
- 3-Quel (s) prélèvement(s) bactériologique(s) demandez-vous ?
- 4-Comment confirmer l'espèce bactérienne en cause ?
- 5-Quels sont les antibiotiques actifs sur cette bactérie ?

1- HABITAT

C'est une bactérie **commensale des voies aériennes supérieures de l'homme**.

Le réservoir est représenté essentiellement par le rhinopharynx des porteurs asymptomatiques. La colonisation du rhinopharynx apparaît précocement au cours de la vie. Tous les enfants ont été en contact avant l'âge de 2 ans et 50% des enfants de cet âge sont colonisés. Ce taux décroît ensuite avec l'âge pour atteindre 5 à 10 % chez l'adulte.

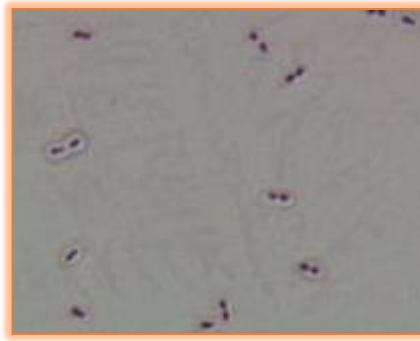
S. pneumoniae est une bactérie fragile, non retrouvée dans le milieu extérieur.

2- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

2-1- Morphologiques

S. pneumoniae se présente sous forme caractéristique : **diplocoques à Gram**

positif, en flamme de bougie, lancéolés, capsulés.



2-2-Culturaux

C'est une bactérie anaérobie -aérotolérante.

La **culture est délicate**. C'est une bactérie **fragile** et **exigeante** (gélose au sang frais, gélose au sang cuit). Sur gélose au sang, les colonies sont **α - hémolytiques** et s'ombiliquent rapidement sous l'action de l'autolysine.

2-3- Biochimiques

Deux caractères biochimiques essentiels différencient le pneumocoque des autres streptocoques α - hémolytiques : **sensibilité à l'optochine**, et la lyse par la bile et les sels biliaires.

2-4- Antigènes

La capsule : elle est composée de polymères polysaccharidiques. Elle constitue le facteur majeur de **virulence** par ses propriétés anti-phagocytaires. Le degré de virulence dépend de la quantité de capsule produite et de sa composition. La capsule est aussi antigénique et immunogène. Les anticorps dirigés contre la capsule sont opsonisants (permettent la phagocytose) et protecteurs mais leur action est **spécifique de type**.

≈ 96 sérotypes différents sont connus. Certains sérotypes sont plus pathogènes que d'autres. Ils sont à la base de la composition des **vaccins anti-pneumococciques**. Il existe deux types de vaccins :

.Vaccin polysaccharidique. il contient les antigènes polysaccharidiques des 23 sérotypes les plus fréquents : 23 valences. Il est non immunogène avant l'âge de 2 ans.

.Vaccins conjugués à une protéine porteuse. Le couplage permet de transformer un antigène thymo-indépendant en antigène thymodépendant capable de stimuler l'immunité de l'enfant de moins de 2 ans. La protection se fait vis-à-vis d'un nombre limité de sérotypes. Ainsi, on distingue les vaccins conjugués à 7 valences (immunise vis-à-vis de 7 sérotypes), à 10 valences, à 13 valences et tout récemment à 20 valences.

La paroi : est formée de couche protéique spécifique de type. Elle contient la protéine A de surface des pneumocoques.

2-5- Substances élaborées :

La pneumolysine : c'est une hémolysine intra cellulaire, libérée lors de l'autolyse de la bactérie. Elle est responsable de l' α -hémolyse. Elle possède une action cytotoxique vis à vis des cellules respiratoires.

L'autolysine : elle provoque la lyse bactérienne et contribue ainsi à la virulence du germe (libération de la pneumolysine).

Autres enzymes/ neuraminidase, hyaluronidase : contribuent au phénomène de colonisation et d'invasion systémique.

3- PHYSIOPATHOLOGIE

Le pneumocoque est une bactérie **VIRULENTE**. Dans tous les processus infectieux, il va agir en 2 étapes : l'adhésion et l'invasion.

Les différentes adhésines sont situées dans la paroi. Le mécanisme principal d'échappement à la phagocytose est la production d'une capsule. Enfin, la lyse bactérienne libère les composantes bactériennes comme la pneumolysine entraînant une réaction inflammatoire parfois intense, qui participe aux lésions tissulaires et à la gravité des pathologies.

Le pneumocoque colonise les voies aériennes supérieures. En présence de facteurs favorisants (diminution des défenses de l'hôte), la bactérie gagne les bronches puis les alvéoles et s'y multiplie. Une réaction inflammatoire intense et une exsudation importante se développent rapidement : accumulation de très

nombreux polynucléaires et de fibrine qui remplissent et obstruent totalement les alvéoles⇒ Infection pulmonaire

Les bactériémies apparaissent soit secondairement à une atteinte pulmonaire soit à partir du nasopharynx. La rate joue un rôle très important dans l'élimination des pneumocoques présents dans le sang

La méningite :

-par voie hématogène (primitive) : ensemencement du LCR après une phase de bactériémie avec franchissement des plexus choroïdes.

- ou le plus souvent par contiguïté à partir d'une infection ORL (foyer sinusien ou otite) ou post traumatique à partir d'une brèche ostéoméningée.

4- POUVOIR PATHOGENE

Les infections à pneumocoque posent toujours un problème de santé publique du fait de leurs fréquence et gravité surtout s'il existe des anomalies du système immunitaire.

4-1- Infections respiratoires basses

-Pneumopathies communautaires. La forme type classique est la pneumonie franche lobaire aiguë).

-Bronchite, pleurésie.

4-2- Infection ORL

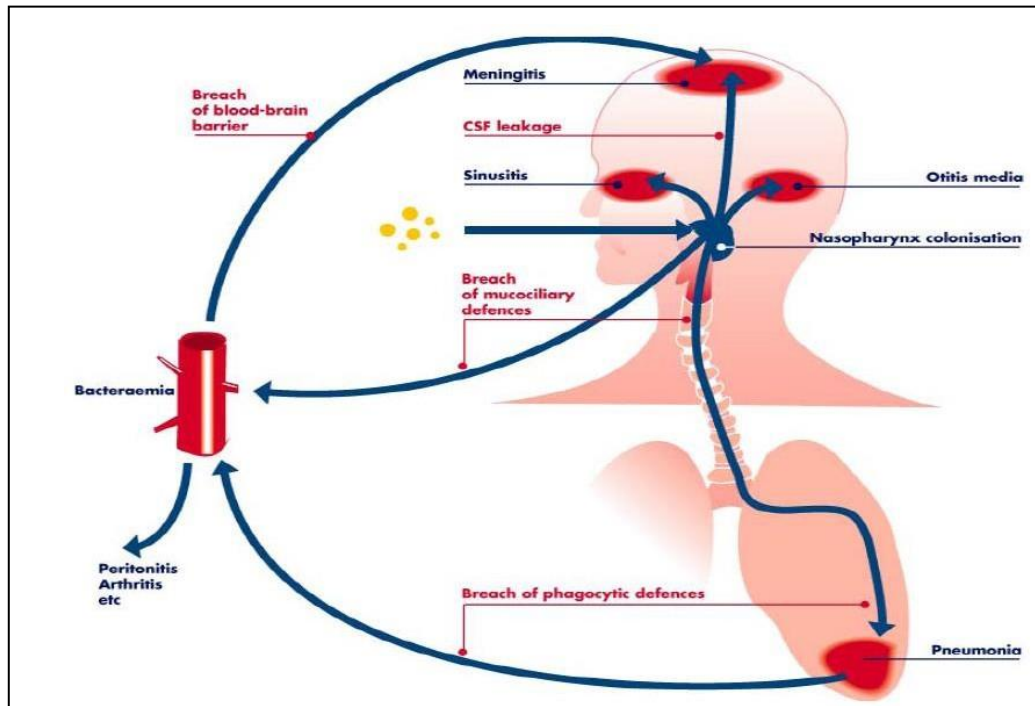
-Otite moyenne aiguë : le pneumocoque est la 2^{ème} cause de l'otite moyenne aiguë de l'enfant après *H. influenzae*.

-Mastoïdite, sinusite chez l'adulte.

4-3- Méningites purulentes

4-4- Septicémie

4-5-Infections rares : péritonite, arthrite, ostéomyélite, conjonctivite.



5- EPIDEMIOLOGIE

La transmission est interhumaine par le biais de gouttelettes de pfluge provenant des voies aériennes supérieures. Elle est favorisée par la promiscuité, la saison froide, une infection virale des voies aériennes supérieures.

Les infections à pneumocoque sont particulièrement fréquentes sur des terrains à risque : âges extrêmes de la vie, les sujets atteints de certaines pathologies sous-jacentes dont la splénectomie, cirrhose, immunodépression (déficit en IgA, en complément, neutropénie).

6- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE : Diagnostic direct

6-1- Diagnostic classique

Prélèvements : doivent être réalisés avant tout traitement et rapidement transportés au laboratoire (germe fragile) :

- Invasifs : LCR, sang (hémoculture), liquides de ponction
- Non invasifs : prélèvement bronchopulmonaire (protégés ou crachats), pus ORL...

Pour les crachats, le diagnostic est difficile à cause de la contamination salivaire.

Examen direct : est très évocateur lorsqu'il montre des diplocoques à Gram positif encapsulés dans un prélèvement invasif, par contre, Il n'a pas de valeur si prélèvement polymicrobien.

Mise en culture : sur milieu enrichi/gélose au sang

Identification de la bactérie : colonies α -hémolytiques, sensibles à l'optochine.

Sérotypage : intérêt épidémiologique

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Le pneumocoque était sensible à plusieurs antibiotiques puis il a acquis des résistances $\Rightarrow$ **L'antibiogramme est indispensable.**

Le traitement de choix des infections à pneumocoque repose sur les β -lactamines. Initialement la Pénicilline G était le traitement de choix des infections à pneumocoque. Actuellement apparition des **PSDP** : pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline. La résistance est chromosomique acquise par un phénomène de transformation bactérienne. Elle est due à une diminution de l'affinité des PLP pour les β -lactamines. Ces PLP sont organisées en mosaïque. Cette altération des PLP entraîne une résistance croisée à toutes les β -lactamines mais à des niveaux très variables selon les molécules.

La détection des PSDP se fait par un disque d'oxacilline 1 μ g :

- si le diamètre d'inhibition autour du disque d'oxacilline $\geq 20 \rightarrow$ souche de pneumocoque sensible.
- si le diamètre d'inhibition autour du disque d'oxacilline $< 20 \rightarrow$ PSDP. Le niveau de résistance sera ensuite précisé par la mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des molécules utilisées en thérapeutique.

En Tunisie : 67,2 % de PSDP en 2017.

6-2- Diagnostic rapide :

- Détection des antigènes solubles capsulaires par des techniques immunologiques (méthode d'agglutination au latex) : manque de sensibilité.
- Le test immunochromatographique « BinaxNow *S. pneumoniae* » est rapide, sensible et spécifique. Il permet la reconnaissance du polysaccharide C commun

à toutes les souches. Il est validé dans le diagnostic des méningites surtout décapitées++ (réalisé sur le LCR) et les pneumonies (effectué sur les urines).

➤ Détection par amplification génique (PCR) : Recherche de gènes spécifiques de *S. pneumoniae* dans le LCR permet de poser un diagnostic rapide.

STREPTOCOQUES ORAUX

(Streptocoques non groupables)

≈ 20 espèces (streptocoques viridans) : *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*...

Selon les espèces, ils sont **commensaux des muqueuses oropharyngées, intestinales ou génitales**. C'est à partir de ces portes d'entrées qu'ils vont devenir pathogènes opportunistes et provoquer des **endocardites infectieuses subaiguës** chez des patients atteints de valvulopathies cardiaques, septicémies, suppurations profondes...

Certaines espèces sont responsables de caries dentaires/ *Streptococcus mutans*

Ils sont naturellement sensibles à la Pénicilline G. Des Souches de sensibilité diminuée à la pénicilline sont de plus en plus isolées. L'association Pénicilline G + aminosides est synergique à condition que la résistance aux aminosides soit de bas niveau.

ENTEROCOQUES

Les entérocoques sont des bactéries commensales du tube digestif de l'homme et des animaux, donc retrouvés dans l'environnement. Ce sont des bactéries résistantes dans le milieu extérieur.

Les espèces les plus fréquemment isolées en pathologie humaine sont :
Enterococcus faecalis +++ et *Enterococcus faecium*.

Les entérocoques sont une cause fréquente **d'infections nosocomiales** où ils sont fréquemment associés à d'autres bactéries (Entérobactérie et bactérie anaérobie stricte). Ils sont responsables d'infections manuportées ou Infection d'origine endogène : sélection dans le tube digestif.

- infection urinaire
- infections abdominales d'origine intestinale
- septicémie, endocardite

Le diagnostic est direct basé sur l'isolement de la bactérie dans les produits pathologiques, non exigeante. Ils se distinguent des streptocoques par leur capacité à cultiver sur milieu ordinaire (non enrichi).

Les entérocoques sont naturellement très résistants aux antibiotiques : Pénicilline M, céphalosporines, lincosamides, quinolones et aux aminosides (bas niveau). Ils sont sensibles aux aminopénicillines et aux glycopeptides qui constituent les molécules de choix pour le traitement en association avec un aminoside à condition que la résistance aux aminosides soit de bas niveau.

Des souches d'*Enterococcus faecium* résistantes à la vancomycine ont été isolées en Tunisie. Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont des BMR (bactéries multirésistantes aux antibiotiques).

POST-TEST

- 1- Quelles sont les propositions justes concernant le Streptocoque du groupe A :
 - a- Donne des colonies β -hémolytiques sur gélose au sang
 - b- Aérobie stricte
 - c- Produit une catalase
 - d- Naturellement résistant aux aminosides e- Résistant à la pénicilline G

- 2- Le Streptocoque du groupe B est :
 - a- Appelé *Streptococcus pyogenes*
 - b- Bactérie strictement humaine
 - c- Responsable d'infections néonatales
 - d- Bactérie pathogène spécifique
 - e- Incriminé dans les complications post-streptococciques

- 3- La capsule du pneumocoque est :
 - a- Antigénique
 - b- Composée de protéines
 - c- Le principal facteur de virulence de la bactérie
 - d- d- Présente > 90 sérotypes capsulaires
 - e- Entraîne la formation d'anticorps protecteurs communs à tous les sérotypes

- 4- Définir l' α -hémolyse et la β -hémolyse chez les streptocoques et donner un exemple pour chaque type.

- 5- Citer les facteurs de virulence de *S. pneumoniae*.

LES ENTEROBACTERIES

Objectifs éducationnels

- Préciser la classification des entérobactéries
- Définir l'habitat des entérobactéries
- Distinguer les entérobactéries pathogènes spécifiques des opportunistes
- Préciser les principaux caractères bactériologiques des entérobactéries
- Reconnaître le pouvoir pathogène des entérobactéries en fonction des espèces.
- Décrire la physiopathologie des salmonelloses et des shigelloses
- Préciser l'épidémiologie des différentes infections à entérobactéries pathogènes spécifiques et opportunistes.
- Reconnaître les moyens de diagnostic bactériologique des infections à entérobactéries
- Déterminer les résistances naturelles (phénotype sauvage) des entérobactéries
- Reconnaître le niveau de résistance acquise aux antibiotiques des espèces des entérobactéries les plus isolées en clinique humaine.
- Citer les moyens de prévention des infections à entérobactéries

Pré-test

- Quelle est la bactérie la plus isolée dans un laboratoire de Microbiologie clinique ?
- Qu'est ce ça veut dire colimétrie ?
- Pour quelle espèce d'entérobactérie, l'identification du sérotype est-elle obligatoire ?
- Un *Escherichia coli* peut-il être responsable de diarrhée ?
- Quels sont les aliments qui sont pourvoyeurs de transmettre les salmonelles ?
- Quelles sont les espèces d'entérobactéries qui sont responsables de zoonoses ?
- Peut-on être porteur asymptomatique de *Salmonella* Typhi ?
- Quels sont les antibiotiques qui restent les plus actifs sur les entérobactéries ?
- L'amoxicilline acide clavulanique peut-il être utilisé en première intention pour traiter les infections à *Escherichia coli* ?
- La shigellose et la fièvre typhoïde sont-elles endémiques en Tunisie ?
- Quelles sont les infections à entérobactéries à prévention vaccinale ?

LES ENTEROBACTERIES

I. HABITAT

Les entérobactéries sont des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et des animaux.

Elles peuvent résister et proliférer abondamment dans l'environnement.

II. CLASSIFICATION

Les entérobactéries appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae qui est une très vaste famille représentant près de trois quarts des isoléments d'un laboratoire de bactériologie médicale.

Le famille des Enterobacteriaceae comprend plus de 40 genres avec près de 200 espèces décrites dont seuls une vingtaine d'espèces sont plus communément isolées en bactériologie clinique et appartiennent aux genres : *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*.

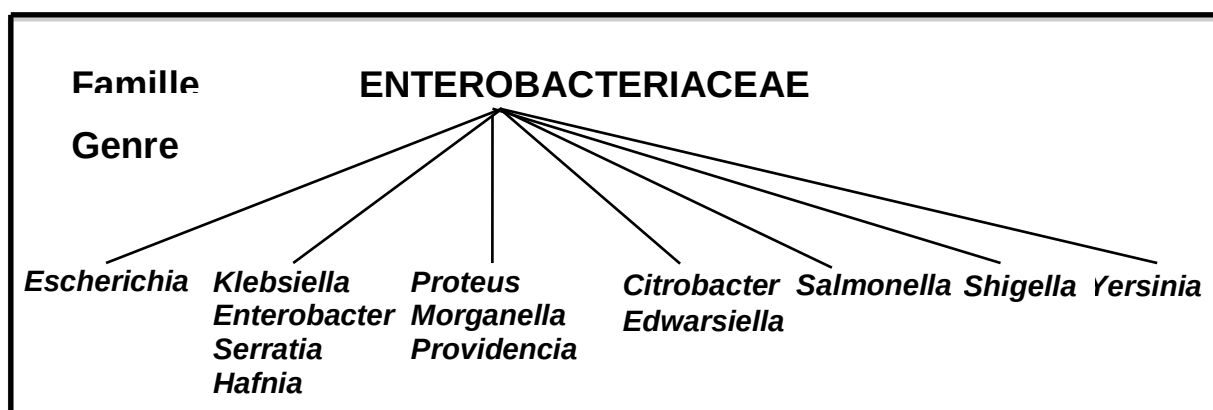


Figure 1: représentation de la famille des Enterobacteriaceae et des principaux genres isolés en clinique humaine

Les entérobactéries sont aussi classées selon leur pouvoir pathogène en deux grands groupes :

1. Entérobactéries pathogènes spécifiques :

Les entérobactéries pathogènes spécifiques sont: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et certaines souches d'*Escherichia coli*. Elles sont responsables de pathologies spécifiques notamment dans le cadre d'infections communautaires telles que la typhoïde pour

Salmonella Typhi, la peste pour *Yersinia pestis*, une diarrhée invasive (*Shigella*, Salmonelles mineures) ou une diarrhée toxigène (*E. coli* entérotoxigène).

A part *Y. pestis*, ces entérobactéries sont responsables de maladies du péril fécal témoignant d'un défaut d'hygiène.

La contamination se fait par voie directe ou indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Les porteurs asymptomatiques de ces bactéries jouent un rôle important dans leur transmission.

2. Entérobactéries pathogènes opportunistes :

Les autres espèces d'entérobactéries sont pathogènes opportunistes. Elles sont non seulement commensales du tube digestif (contamination endogène) mais aussi très présentes et résistantes dans l'environnement (contamination exogène). Elles sont responsables de pathologies opportunistes, notamment dans le cadre **d'infections nosocomiales : infections extra-intestinales** à type d'infections urinaires, infections abdominales, septicémies, infections post-opératoires...

III.CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

1- Caractères morphologiques :

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, asporulés, généralement mobiles par une ciliature péritriche. Certaines espèces sont capsulées.

2- Caractères culturels :

Les entérobactéries poussent facilement et rapidement sur les milieux ordinaires à 37°C : **non exigeantes**. Elles sont aéro-anaérobie facultatives.

Des milieux de culture sélectifs sont utilisés pour la sélection pour les entérobactéries pathogènes spécifiques responsables de diarrhées tels que la gélose SS pour la sélection des *Salmonella* et *Shigella*.

3- Caractères biochimiques :

Plusieurs caractères biochimiques sont utilisés pour l'identification des espèces des entérobactéries.

4- Structure antigénique :

Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes

- Antigènes O : Ag de paroi constitué de LPS
- Antigènes H : Ag flagellaire (bactéries mobiles) de nature protéique
- Antigènes K : Ag de surface ; Ag capsulaire (*Klebsiella* et certaines souches d'*E. coli* et *Shigella*) ou Ag d'enveloppe (*Salmonella* : « Ag Vi ») constitué de couches de polysaccharides externes.

L'identification biochimique doit être complétée par une identification antigénique ou la détermination de la formule antigénique (Ag O, Ag H, AgK) : sérotype ou sérovar pour certains genres et espèces tels que *Salmonella*, *Shigella*.

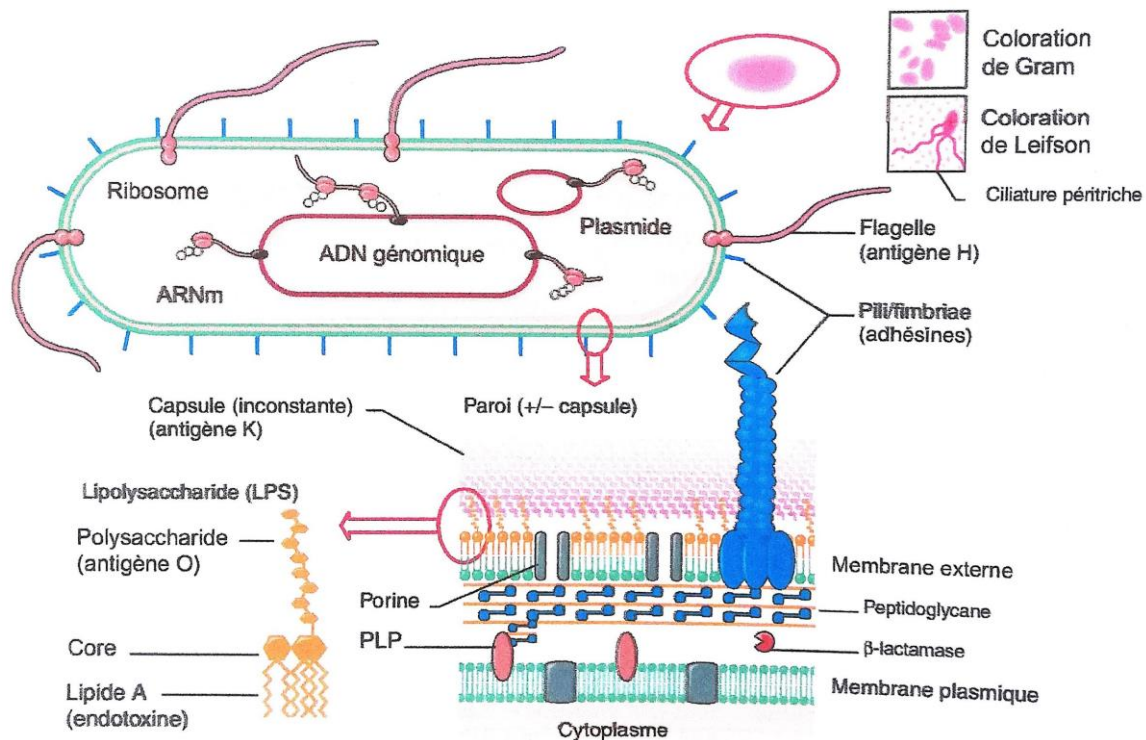


Figure 1 : structure des entérobactéries

IV. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Les entérobactéries (**BGN**) sont **naturellement résistantes** aux :

- Pénicillines G et M
- Macrolides - lincosamides - streptogramines
- glycopeptides
- acide fusidique

1- β -lactamines :

1.1. Résistance naturelle aux β -lactamines (tableau 1)

Concernant la **sensibilité naturelle aux β -lactamines**, les entérobactéries sont classiquement divisées en 4 groupes :

- **Groupe 1** : les entérobactéries qui ne produisent pas naturellement de β -lactamases comme *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* et *Proteus mirabilis*.
- **Groupe 2** : les entérobactéries qui produisent naturellement une pénicillinase comme *Klebsiella pneumoniae* et *Citrobacter diversus*. La pénicillinase hydrolyse toutes les pénicillines (Aminopénicillines et Carboxypénicillines). L'activité des pénicillines est restaurée par l'acide clavulique (inhibiteur de β -lactamases)
- **Groupe 3** : les entérobactéries qui produisent naturellement une céphalosporinase comme *Enterobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia*. La céphalosporinase hydrolyse les Aminopénicillines et les céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération. L'activité de ces β -lactamines n'est pas restaurée par l'acide clavulique.
- **Groupe 4** : les entérobactéries qui produisent naturellement à la fois une pénicillinase et une céphalosporinase comme *Yersinia enterocolitica*.

Tableau 1 : phénotypes de résistance naturelle aux β -lactamines des principaux genres et espèces d'entérobactéries

	A M X	A M C	T I C	T C C	C 1 G	C 2 G	C 3 G	F E P	I M P
Groupe 1 : Pas de β - lactamases - <i>Escherichia coli</i> - <i>Shigella</i> - <i>Salmonella</i> - <i>Proteus mirabilis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Groupe 2 : Pénicillinase - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Citrobacter diversus</i>	R	S	R	S	S	S	S	S	S
Groupe 3 : Céphalosporinase - <i>Enterobacter</i> - <i>Serratia</i> - <i>Morganella</i> - <i>Providencia</i>	R	R	S	S	R	R	S	S	S
Groupe 4 : Pénicillinase + Céphalosporinase - <i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	S	R	R	S	S	S

AMX : amoxicilline (Aminopénicilline) ; AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; TIC ticarcilline (Carboxypénicilline) ; TCC Ticarcilline+acide clavulanique ; C1G : céphalosporine de 1^{ère} génération ; C2G : céphalosporine de 2^{ème} génération ; C3G : céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime ; ceftazidime), FEP : céfépime, IMP : imipénème (carbapénème).

1.2. Résistance acquise aux β -lactamines (tableau 2)

La résistance acquise aux β -lactamines est très fréquente (particulièrement pour les souches nosocomiales) et est souvent enzymatique (β -lactamases) et de support plasmidique. L'acquisition de pénicillines particulièrement de haut niveau touche plus de la moitié des entérobactéries.

Plusieurs types de β -lactamases peuvent être acquises par les entérobactéries :

- **Pénicillinase acquise de bas niveau** : hydrolyse des pénicillines ; activité des pénicillines rétablie par l'acide clavulanique (même phénotype que celui de la pénicillinase naturelle)
- **Pénicillinase acquise de haut niveau** : hydrolyse des pénicillines mais l'activité des pénicillines est non rétablie par l'acide clavulanique
- **Céphalosoprine chromosomique dérégulée (hyperproduite) ou plasmidique** : inactivation de toutes les β -lactamines à part le céfépime et les carbapénèmes
- **β -lactamase à spectre élargi (BLSE)** : inactivation de toutes les β -lactamines à l'exception des carbapénèmes
- **Carbapénémase** : inactivation de toutes les β -lactamines y compris les carbapénèmes

Les nouvelles associations, telles que la ceftazidime-avibactam et imipénème-varobactam, sont actives vis-vis des entérobactéries productrices de BLSE et de certains types de carbapénémases. Mais vu leur spectre le plus étendu, elles doivent être utilisées que sur des bactéries résistantes aux carbapénèmes et devant des impasses thérapeutiques.

Les entérobactéries productrices de **BLSE ou de carbapénémases** sont des **bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR)**. Elles sont de plus en plus isolées dans les hôpitaux (à peu près 50% des souches de *K. pneumoniae* isolées dans les hôpitaux tunisiens sont productrices de BLSE et 10% de carbapénémases). Leur isolement nécessite une signalisation et un **renforcement des mesures d'hygiène**.

Tableau 2 : phénotypes de résistance acquise aux β -lactamines des entérobactéries

	A M X	A M C	T I C	T C C	C 1 G	C 2 G	C 3 G	F E P	I M P
Pénicillinase acquise de bas niveau	R	S	R	S	S	S	S	S	S
Pénicillinase acquise de haut niveau	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Céphalosporinase acquise ou hyperproduite	R	R	R	R	R	R	R	S	S
β -lactamase à spectre élargi (BLSE)*	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Carbapénèmase *	R	R	R	R	R	R	R	R	R

AMX : amoxicilline (Aminopénicilline) ; AMC : Amoxicilline+acide clavulanique ; TIC ticarcilline (Carboxypénicilline) ; TCC Ticarcilline+acide clavulanique ; C1G : céphalosporine de 1^{ère} génération ; C2G : céphalosporine de 2^{ème} génération ; C3G : céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime ; ceftazidime), FEP : céfépime, IMP : imipénème (carbapénème).

* : les BLSE et les carbapénèmases doivent être signalées comme BMR

2- Autres antibiotiques :

Les autres antibiotiques sont habituellement actifs en dehors des résistances acquises de plus en plus fréquentes particulièrement pour les souches d'origine hospitalière.

ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli est l'**espèce la plus fréquemment isolée** dans le laboratoire de Microbiologie à partir d'infections digestives et extradiigestives +++.

I. HABITAT

E. coli est un commensal de l'intestin de l'Homme et des animaux représentant l'espèce aérobie la plus abondante de la flore digestive (**80 % de la flore aérobie**). La présence d'*E. coli* dans l'eau représente est un témoin de contamination fécale (colimétrie). C'est aussi le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales.

II. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

E. coli a les caractères morphologiques et culturels de la **Famille des Entérobactéries** : BGN mobile aéro-anaérobie facultatif et non exigeant.

Structure antigénique : *E. coli* possède une multitude de sérotypes. Elle a plus de 190 AgO (LPS), plus de 56 AgH (flagellaires) et plus de 80 AgK (capsulaires). Les sérotypes correspondent aux diverses associations de ces Ag. La détermination de ces sérotypes est indiquée pour les souches isolées de **coprocultures** pour distinguer les souches responsables d'infections digestives particulièrement les entéropathogènes et les souches isolées chez les **nouveau-nés** pour détecter les souches ayant l'**Ag capsulaire K1** et alerter les cliniciens sur le caractère hautement virulent de ces souches à **tropisme méningé**.

Structure génétique : *E. coli* présente une grande diversité génétique se traduisant par une grande diversité sur le plan pathogène. Les souches pathogènes se distinguent des souches commensales par une acquisition de différents facteurs de virulence. Les souches responsables d'infections digestives (diarrhée) sont hautement pathogènes et possèdent des facteurs de virulence spécifiques alors que les souches responsables d'infections extra-intestinales en possèdent d'autres.

III. POUVOIR PATHOGENE

1.1. Les infections intestinales

E. coli est l'une des causes majeures de diarrhée. Les souches responsables de diarrhée possèdent des facteurs de virulence spécifiques de support plasmidique ou

chromosomique et appartiennent à des sérotypes particuliers. On distingue six pathovars entérovirulents dont 4 sont les plus importants (figure 2) :

1.1.1. *E. coli* Entéropathogènes (ECEP) : sont responsables de **Diarrhée aqueuse infantile** par une adhésion localisé sur les entérocytes liée à l'intimine (gène *eae*) entraînant un effacement des microvillosités. Ces diarrhées sont fréquentes dans les pays en voie de développement et sont à caractère épidémique. Ces ECEP appartiennent à certains sérotypes (O111 : H2, O55 : H6, ...).

1.1.2. *E. coli* Entéroinvasifs (ECEI) : ont la capacité de pénétrer dans les entérocytes et de provoquer des **syndromes dysentériques (diarrhée invasive)** comme *Shigella*. Les ECEI sont très proches génétiquement des *Shigella*.

1.1.3. *E. coli* Entérotoxinogènes (ECET) : secrètent des toxines de 2 types, ST (thermostable) et LT (thermolabile) proche de la **toxine cholérique** et possèdent des facteurs d'adhésion à la muqueuse intestinale. Ces souches sont responsables de **syndromes cholériques (diarrhée liquidienne)** touchant principalement les enfants des pays en voie de développement et les voyageurs « Turista ».

1.1.4. *E. coli* Entérohémorragiques (ECEH) : responsables de **diarrhées sanglantes d'origine alimentaire** épidémiques ou sporadiques pouvant se compliquer de syndrome hémolytique et urémique (SHU) par la production de shigatoxines ; on parle de STEC (*E. coli* producteurs de shigatoxines). Le sérotype O157:H7 est fréquemment associé aux ECEH.

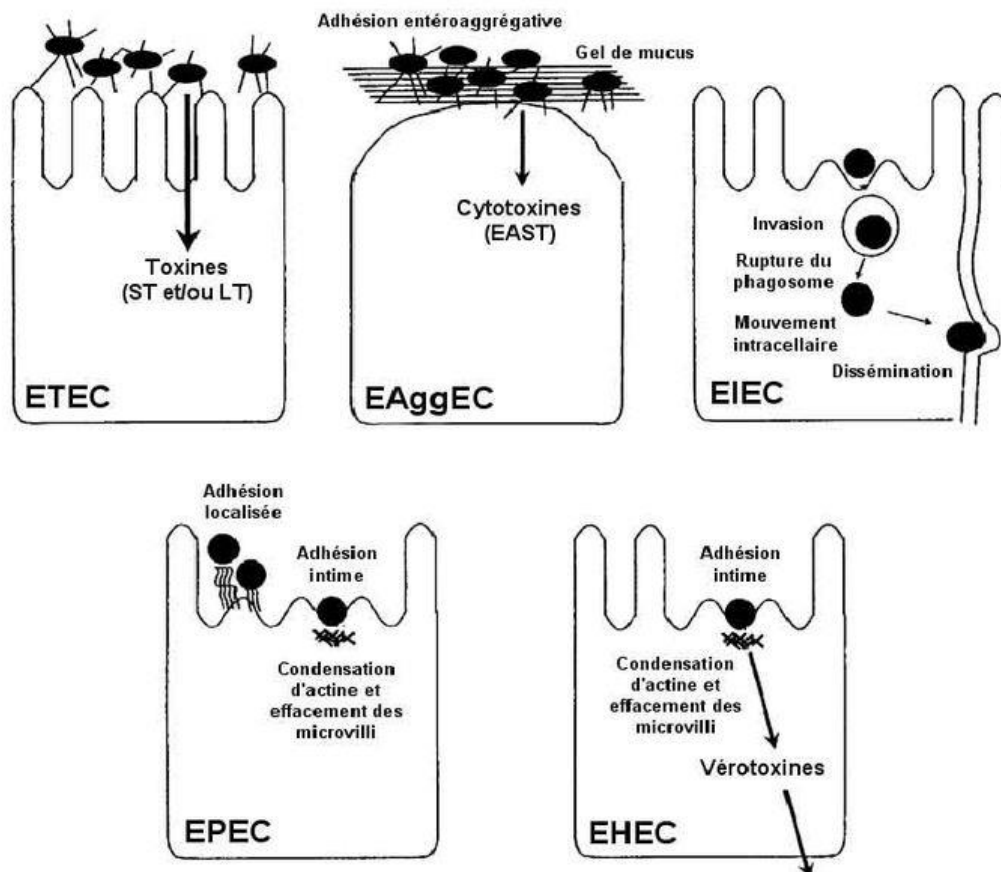


Figure 2: modes d'actions des grands pathovars de la bactérie *Escherichia coli* induisant des diarrhées.

1.2. Les infections extra-intestinales

E. coli est de loin le premier germe responsable d'infections urinaires.

Infections urinaires (I.U) : cystite, pyélonéphrites, prostatites. Les souches « uropathogènes » parviennent à coloniser l'arbre urinaire grâce à des adhésines (pili ou fimbriae) de différents types : type P ++ (pili), type I ou mannose sensible, type S

Infections materno-fœtales : septicémie et méningites. La complication la plus redoutable est la **méningite** associée à la présence de l'**Ag capsulaire K1** similaire à celui de *Neisseria meningitidis* du groupe B.

Suppurations diverses à partir de la flore digestive : infections de la voie biliaire, péritonites, salpingites, infections postopératoires

Septicémies : toutes ces infections peuvent se compliquer de septicémies

Infections nosocomiales : de tout type liées à une contamination endogène ou exogène par transmission croisée manuportée.

IV. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

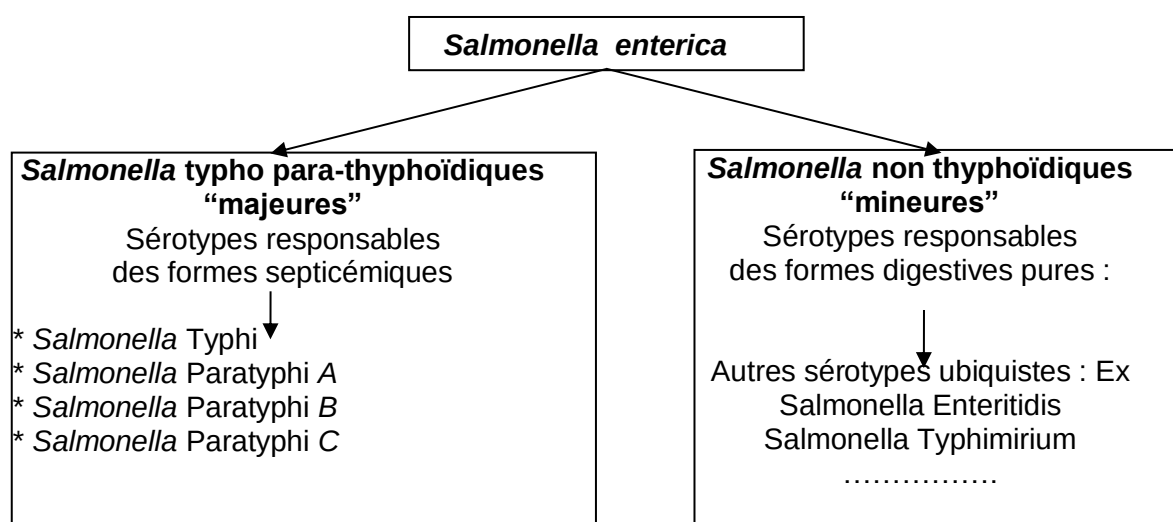
Le diagnostic des infections à *E. coli* est un **Diagnostic direct**.

- **Les infections extra-digestives** : le diagnostic est facile reposant sur l'isolement et l'identification biochimique du genre et de l'espèce à partir des différents prélèvements : urines, hémocultures, pus, LCR.....
- **Les infections intestinales (diarrhées)** : l'isolement d'un *E. coli* à partir d'une coproculture est normal. Seules les souches entérovirulentes sont responsables de diarrhée. L'identification au genre et à l'espèce ne suffit pas et il faut mettre en évidence les facteurs de virulence spécifiques à chaque pathovars (gène *eae*, gène de la shigatoxine....). Les ECEP peuvent être identifiés par la détermination des sérotypes entéropathogènes par agglutination sur lame. Généralement la détection des pathovars responsables de diarrhées reste du domaine des **laboratoires spécialisés**.
- **Etude de la sensibilité aux antibiotiques** : est obligatoire pour toute souche d'*E. coli* jugée pathogène vu la fréquence des résistances acquises.

SALMONELLA

I. CLASSIFICATION ET HABITAT

Salmonella enterica est la seule espèce du genre **Salmonella** isolée chez l'homme et les animaux à sang chaud. Au sein de cette espèce plus de **1600 sérotypes** sont individualisés et définis par les AgO (LPS), AgH (flagelle) et Vi (capsule). Quatre de ces sérotypes correspondent aux salmonelles dites « **majeures** » strictement humaines (Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C) responsables de fièvre **typhoïde** et paratyphoïdes (formes septicémiques). Les autres salmonelles, dites « **mineures** » sont d'origine animale et sont responsables chez l'Homme de **diarrhées fébriles** (formes digestives pures) souvent d'origine alimentaire et épidémique.



Les salmonelles sont des **bactéries pathogènes spécifiques** retrouvées dans le tube digestif de l'homme et des animaux malades ou porteurs asymptomatiques.

II. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

Les salmonelles ont les caractères morphologiques et culturels de la **Famille des Entérobactéries** : BGN **mobiles** aéro-anaérobie facultatifs et non exigeants. Pour faciliter leur culture à partir des selles (prélèvement polymicrobien) on utilise des **milieux sélectifs** comme la gélose SS qui sélectionne la culture des Salmonelles et des shigelles, les 2 entérobactéries les plus fréquemment responsables de diarrhée chez l'homme.

Structure antigénique : *Salmonella enterica* possède plus de **1600 sérotypes** caractérisés chacun par une formule antigénique unique d'AgO, AgH et Ag Vi. Chez les salmonelles l'Ag O est composé d'une mosaïque de plusieurs AgO de 1 à 67 dont certains sont spécifiques de groupe et d'autres communs à différents groupes. à l'intérieur des groupes, les sérotypes sont individualisés par la présence d'autres AgO, des Ag flagellaires (mono- ou biphasique) et de **l'Ag Vi** (Ag d'enveloppe présent uniquement chez de rares sérotypes : **Salmonella Typhi**, S. Paratyphi C et S. Dublin). Les formules antigéniques complètes de toutes les salmonelles sont répertoriées dans le schéma de Kauffmann-White (tableau 3). La communauté des Ag O et AgH sérotypes des salmonelles entraîne **des réactions sérologiques croisées** compliquant le diagnostic indirect des formes septicémiques majeures.

Tableau 3 : EXTRAIT DU SCHEMA DE KAUFFMANN-WHITE

Groupes	sérotypes	Antigènes O	Vi	Antigènes H	
				phase 1	phase 2
A	paratyphi A	1, 2, 12		a	-
B	Paratyphi B	1, 4, 5,12		b	1, 2
	Wien	4, 12		b	1,w
	Typhimurium	1, 4, 5, 12		i	1, 2
	Essen	4, 12		gm	-
	Coeln	4, 5, 12		y	1, 2
	Brandenburg	4, 12		e, v	e, h, 2, 15
C1	Paratyphi C	6, 7	+	c	1, 5
	Cholerae suis	6, 7		c	1, 5
	Montevideo	6, 7		gms	
	Bareilly	6, 7		y	1, 5
	Newport	6, 8		eh	1, 2
C2	Bovis	6,8		r	1, 5
	morbificans				
D	Typhi	9, 12	+	d	-
	Enteritidis	1, 9, 12		gm	-
	Dublin	1, 9, 12	+	gp	-
	Panama	1, 9, 12		l, v	1, 5
E1	Meleagridis	3, 10		eh	lw
	Anatum	3, 10		eh	1, 6
	London	3, 10		l, v	1, 6
	Give	3, 10		l, v	1, 6

III. POUVOIR PATHOGENE : SALMONELLOSES

1.1. Salmonelloses majeures : fièvre typhoïde

Voir cours fièvre typhoïde.

1.2. Salmonelloses mineures :

Les salmonelles mineures sont habituellement responsables de **toxi-infections alimentaires** qui se manifestent par des gastroentérites avec des **diarrhées fébriles** et vomissements survenant dans **12 à 72 heures suivant l'ingestion de l'aliment contaminé** et dont l'évolution est généralement spontanément favorable en 2 à 3 jours. Ces salmonelles mineures sont responsables aussi de **toxi-infections alimentaires collectives (TIAC)**. Une TIAC = apparition au même moment de troubles digestifs ou neurologiques similaires chez au moins deux personnes ayant consommé un repas en commun.

Les salmonelles mineures peuvent être cependant être responsables **d'infections extra-digestives** (infections ostéo-articulaires, septicémies voire méningites) de type opportuniste sur **terains particuliers** (drépanocytose, immunodépression, âges extrêmes)

IV. PHYSIOPATHOLOGIE

1. Fièvre typhoïde et paratyphoïde

Voir cours fièvre typhoïde.

2. Salmonelloses mineures

La physiopathologie de ces salmonelloses mineures est mal connue. A l'inverse des salmonelles majeures, les salmonelles mineures sont arrêtées par les macrophages et ne passent pas dans le sang. Elles ne passent que très rarement dans le sang (les quelques cas de bactériémies positives concernent les sujets immunodéficients).

L'action des salmonelles mineures reste localisée dans la muqueuse digestive où elles détruisent la bordure en brosse la lamina propria pour entraîner des lésions inflammatoires de la muqueuse digestive avec une diarrhée fébrile.

Salmonella est une **bactérie entéro-invasive** à multiplication intracellulaire facultative.

V. EPIDEMIOLOGIE

1. Fièvre typhoïde et paratyphoïde

Voir cours fièvre typhoïde.

2. Salmonelloses mineures

Les salmonelloses mineures sont en augmentation constante particulièrement dans les pays industrialisés étant donné que le réservoir principal des salmonelles mineures est le tube digestif des animaux qui contaminent l'homme : **ZOONOSE**. Ces salmonelles n'ont pas de spécificité d'hôte et sont dites alors ubiquitaires. Les **volailles**, les bovins et les ovins étant des animaux fréquemment contaminants, les salmonelles peuvent se retrouver dans les aliments, notamment les **viandes**, le **lait** ou les **œufs**. L'aliment contaminant doit être consommé cru ou peu cuit. La transmission des salmonelles se fait par voie alimentaire (95%). Une transmission directe est aussi possible (5% ; porteurs asymptomatiques++)

Les sérotypes mineurs les plus isolés sont : ***S. Typhimurium*** (viande de volaille et bovins) et ***S. Enteritidis*** (œufs).

Les salmonelloses non typhiques sont une **cause majeure de diarrhées infectieuses** dans le monde et de TIAC. En effet, **plus de la moitié des TIAC** sont dues à des salmonelles mineures. Ces salmonelles sont aussi responsables d'épidémies hospitalières (services de pédiatrie, gériatrie...)

La **fièvre typhoïde** et les **TIAC** sont des maladies à **déclaration obligatoire**.

VI. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

1. Formes septicémiques : fièvre typhoïde

L'hémoculture est le seul moyen d'affirmer le diagnostic d'une fièvre typhoïde.

Voir cours fièvre typhoïde.

2. Formes digestives

Le diagnostic repose sur les coprocultures. L'identification des salmonelles ne doit pas s'arrêter au genre et à l'espèce mais doit être complétée systématiquement par la **détermination du sérotype** (typage antigénique) pour distinguer les salmonelles majeures des mineures.

3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

Elle est obligatoire. Les salmonelles sont naturellement sensibles à tous les antibiotiques actifs sur les BGN (groupe 1 des entérobactéries). La résistance acquise aux antibiotiques des salmonelles majeures est encore faible. Néanmoins, vu l'usage intensif des antibiotiques dans les élevages d'animaux, la résistance acquise aux antibiotiques est de

plus en plus fréquente chez les salmonelles mineures particulièrement aux **β -lactamines** et aux **fluoroquinolones**.

VII. PREVENTION

1. Prévention collective :

- amélioration des conditions d'hygiène
- contrôle bactériologique des denrées et des eaux de consommation et des aliments surgelés et plats cuisinés (vérification du respect de la chaîne du froid)
- dépistage et éviction des porteurs asymptomatiques travaillant dans l'alimentation collective ou industrielle.
- déclaration obligatoire en cas de TIAC et fièvre typhoïde
- précautions complémentaires de type contact pour les patients hospitalisés.

2. Prévention individuelle :

- Lavage des mains
- **Vaccination** : pour la prévention de la fièvre typhoïde : le seul vaccin disponible est le **vaccin Vi** (Typhim Vi®), composé de l'Ag capsulaire Vi qui protège que contre l'infection à ***S. Typhi***. Il est conseillé pour les voyageurs et les personnels de laboratoire.
- Les salmonelles mineures :
 - Ne pas consommer les œufs peu cuits pour les personnes à risque (femme enceinte, âges extrêmes, immunodéprimés)
 - Les préparations à base d'œufs peu cuits doivent être consommés rapidement et conservés à +4°C pendant maximum 24 heures.
 - Bien cuire les viandes particulièrement hachées.

SHIGELLA

I. HABITAT

Shigella est une **bactérie pathogène spécifique** du tube digestif de l'homme, **strictement humaine** responsable de **dysentérie bacillaire**.

II. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

Les shigelles ont les caractères morphologiques et culturels de la **Famille des Entérobactéries** mais sont toujours **immobiles**. Pour faciliter leur culture à partir des selles (prélèvement polymicrobien) on utilise des **milieux sélectifs** comme la gélose SS qui sélectionne la culture des Salmonelles et des shigelles.

Le genre *Shigella* comporte **4 espèces** comportant chacune plusieurs sérotypes: ***Shigella dysenteriae*** (sérotipe 1 = bacille de Shiga = le sérotipe le plus pathogène), ***Shigella flexneri***, ***Shigella boydii*** et ***Shigella sonnei***.

Substances élaborées : toxine de Shiga : exotoxine protéique entérotoxique et neurotoxique.

III. PHYSIOPATHOLOGIE

Après ingestion (dose infectante faible), les shigelles adhèrent aux cellules épithéliales coliques, y pénètrent et y se multiplient jusqu'à leur destruction. Les lésions de la muqueuses s'étendent de proche en proche et sont à l'origine d'une réaction inflammatoire intense qui explique la présence de sang, de glaires et de pus (leucocytes) dans les selles et aussi la fièvre. Les lésions siègent surtout au niveau du colon avec absence de passage dans le sang (figure 4).

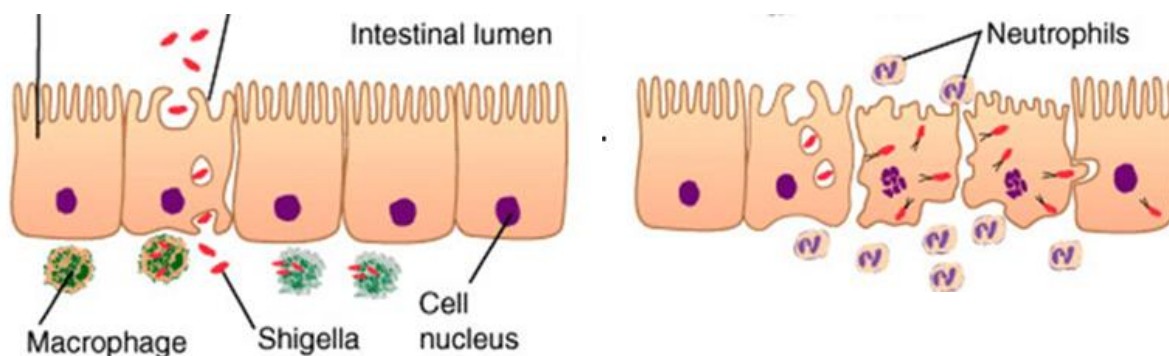


Figure 4 : physiopathologie d'une shigellose

I. POUVOIR PATHOGENE

S. dysenteriae type I ou bacille de Shiga est l'agent de la dysentérie bacillaire stricto sensu. Les autres shigelles provoquent des syndromes dysentériques de gravité variable. Le dysentérie bacillaire se manifeste après une incubation brève de 24 heures par un syndrome dysentérique, une fièvre à 40°C, + /- des complications neurologiques.

II. EPIDEMIOLOGIE

La dysentérie bacillaire est endémo-épidémiques dans les régions à hygiène défectueuse (Sud-Est asiatique) = **bacille de Shiga**

En **Tunisie** les cas de shigelloses sont **sporadiques** et dues surtout à *S. flexneri* +++ et *S. sonnei*.

La shigellose est une maladie du péril fécal strictement humaine à déclaration obligatoire

III. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le diagnostic des shigelloses est **DIRECT**, repose sur la **Coproculture** qui met en évidence l'aspect invasif de la diarrhée à l'examen direct : présence de Leucocytes et Hématies (Figure 4), isole les shigelles à la culture et étudie sa sensibilité aux antibiotiques (résistance acquise fréquente).

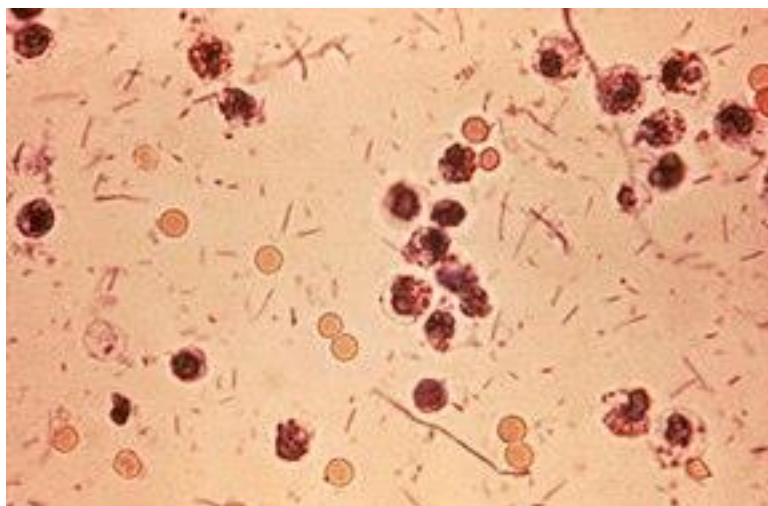


Figure 4 : Examen direct d'une selle lors d'une shigellose

YERSINIA

Le genre *Yersinia* comporte 3 espèces pathogènes principales :

- *Yersinia pestis*
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- *Yersinia enterocolitica*

I. YERSINIA PESTIS

Bactérie **pathogène spécifique** responsable de la **PESTE** qui est une maladie des rongeurs transmissible occasionnellement à l'homme : **ZOONOSE**.

Le couple puce-rongeur constitue le réservoir, mais la bactérie peut survivre plusieurs mois dans le sol. La puce transmet *Y. pestis* de rongeur à rongeur et accidentellement des rongeurs à l'homme. A partir de la pique, la multiplication bactérienne entraîne une nécrose tissulaire puis la bactérie diffuse par voie lymphatique vers le ganglion proche pour y former un bubon ou adénite pesteuse : peste bubonique. La bactérie peut disséminer par voie sanguine déterminant des formes septicémiques pulmonaires graves. En absence de traitement la peste tue dans 50 à 70% des cas.

La transmission interhumaine est possible par les sécrétions bronchiques provoquant des pestes pulmonaires primitives. La contamination par aérosols est possible dans les laboratoires ou dans un contexte de bioterrorisme.

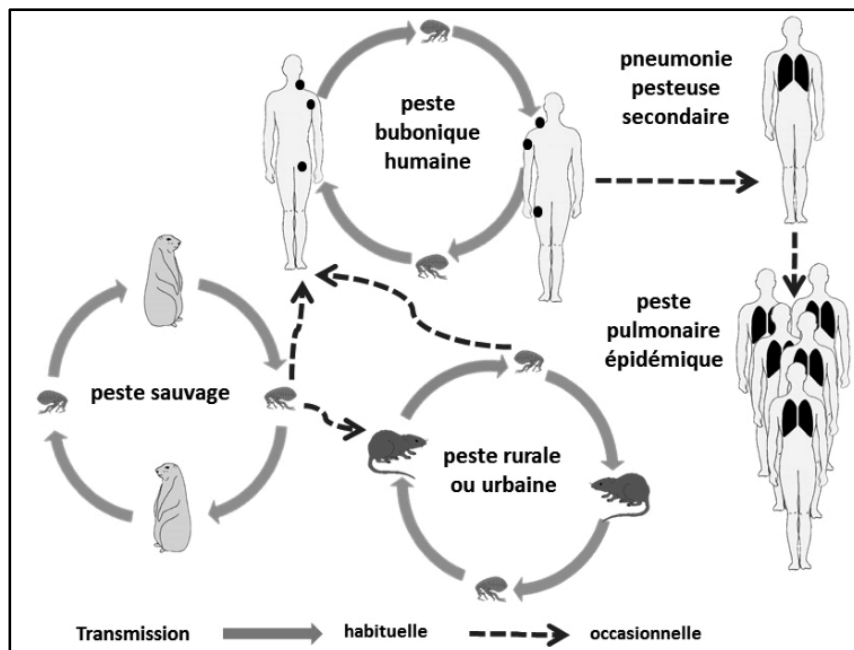


Figure 5 : Cycle de la peste

La peste sévit encore en **Afrique** particulièrement dans 3 pays : Madagascar, Pérou et république démocratique du Congo. Pas de cas rapportés en Tunisie.

Le diagnostic bactériologique est **direct** reposant sur l'isolement de la bactérie à partir du bubon, sécrétions pulmonaires ou le sang.

Le traitement repose actuellement sur la gentamicine ou la doxycycline.

II. YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

Y. pseudotuberculosis a pour réservoir les **rongeurs et les chats**. L'homme se contamine le plus souvent par contact direct avec ces animaux ou par l'ingestion d'aliments contaminés.

Y. pseudotuberculosis est surtout responsable **d'adénite mésentérique** (forme pseudo-appendiculaire) **+++**, rarement de formes septicémiques

Le diagnostic bactériologique est direct.

III. YERSINIA ENTEROCOLITICA

Y. enterocolitica a un réservoir très vaste : environnement (eaux, sols) ou animaux (porcs, rongeurs..). La contamination se fait par voie digestive (aliments contaminés).

Y. enterocolitica est surtout responsable d'**entérocolite aiguë** chez le jeune enfant et d'arthrites réactionnelles.

Le diagnostic bactériologique est direct.

Les Yersinioses sont **rares en Tunisie**, fréquentes en Europe du Nord et Amérique du Nord (multiplication à +4°C).

LES ENTEROBACTERIES

PATHOGENES OPPORTUNISTES

Toutes les espèces d'entérobactéries autres que les 4 pathogènes spécifiques sont : *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et les pathovars entérovirulents d'*Escherichia coli* sont pathogènes opportunistes.

1. Epidémiologie :

Les entérobactéries pathogènes opportunistes sont responsables d'infections communautaires et nosocomiales. Leur porte d'entrée est le plus souvent urinaire ou digestive. La contamination peut être endogène ou exogène (transmission croisée).

Les entérobactéries pathogènes opportunistes représentent **la première cause d'infections urinaires et de septicémies**. Les infections communautaires sont dues essentiellement à *E. coli*, *Proteus* et *K. pneumoniae*. Les infections nosocomiales sont dues à toutes les espèces particulièrement *K. pneumoniae* en Tunisie.

2. Physiopathologie

Les entérobactéries sont des propriétés d'adhérence grâce à leur pili avec lesquels elles colonisent et infectent les voies urinaires et des lésions préexistantes. Une contamination massive ou une défaillance immunitaire locale ou systémique favorisent la survenue de bactériémies et de localisations viscérales profondes. Les entérobactéries représentent **la première cause de choc septique** induit notamment par les endotoxines (LPS) de leur paroi.

3. Pouvoir pathogène

En fonction de la porte d'entrée :

- Infections urinaires où les entérobactéries représentent la première cause (*E. coli* 80%, suivi par *P. mirabilis* et *K. pneumoniae*)
- Infections intra-abdominales où les entérobactéries sont associés à d'autres bactéries de la flore digestive (cholécystite, péritonites, abcès hépatiques...).
- Pneumopathies : surviennent sur des terrains fragiles où *K. pneumoniae* donne des formes graves
- Colonisations et infections des plaies et ulcérations chroniques

- Différents types d'infections nosocomiales : Les portes d'entrées sont multiples : sondes vésicales, sondes d'intubations, les cathéters, les plaies ouvertes...
- Septicémies compliquant toutes ces infections avec des localisations secondaires.

4. Résistance aux antibiotiques

Les souches d'entérobactéries ont acquis beaucoup de mécanismes de résistance aux antibiotiques notamment aux β -lactamines, fluoroquinolones et moins aux aminosides. A titre d'exemple vous trouverez dans le Tableau N° 4 le relevé de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées au Laboratoire de Microbiologie du CHU Habib Bourguiba de Sfax en 2021. **70%** des souches **d'*E. coli*** sont résistantes aux **pénicillines**; **19% aux C3G** (CTX); 0,6% aux carbapénèmes (IMP) et **28%** aux fluoroquinolones (CIP). Pour les souches de ***K. pneumoniae***, elles ont des niveaux très élevés de résistance aux antibiotiques avec **53% de résistance aux C3G**, **22% aux carbapénèmes** et **47% aux fluoroquinolones**.

Principes du traitement curatif :

- **Antibiothérapie probabiliste ou empirique** : doit suivre les protocoles et consensus thérapeutiques basés sur le niveau de résistance acquise aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées en Tunisie (épidémiologie locale) et ce particulièrement pour les infections urinaires. Par exemple, les antibiotiques auxquels *E. coli* a acquis plus de 20% de résistance ne peuvent pas être utilisés en probabiliste pour le traitement des infections urinaires (comme les amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique, cotrimoxazole).
- **Antibiothérapie adaptée ou documentée** : après avoir reçu le résultat de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme), il faut adapter le traitement antibiotique en administrant l'antibiotique actif et adéquat (diffuse dans le site de l'infection, absence de contre indication) et **qui a le moins large spectre**.

Tableau N° : relevé de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées au Laboratoire de Microbiologie du CHU Habib Bourguiba de Sfax en 2021.

2021

RELEVÉ DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

EXPRIME EN POURCENTAGE DE RESISTANCE*
CHU Habib BOURGUIBA & CHU Hédi CHAKER de Sfax

	Germes	Nombre de souches	PENI G	OXA
ENTEROBACTERIES	<i>E. coli</i>	1423	RN	RN
	<i>K. pneumoniae</i>	859	RN	RN
	<i>Enterobacter sp</i>	263	RN	RN
	<i>P. mirabilis</i>	194	RN	RN
	<i>Autres Proteus</i>	111	RN	RN
	<i>C. koseri</i>	46	RN	RN
	<i>S. marcescens</i>	73	RN	RN
	<i>Salmonella sp</i>	14	RN	RN
BGN NF	<i>P. aeruginosa</i>	615	RN	RN
	<i>A. baumannii</i>	332	RN	RN
CCP	<i>S. aureus</i> ^(a)	399	96	19
	<i>S. pneumoniae</i> ^(a)	33	73	-
	<i>Streptocoque A</i> ^(a)	73	0	-
	<i>Streptocoque B</i> ^(a)	87	0	-
	<i>E. faecalis</i> ^(a)	301	-	RN
	<i>E. faecium</i> ^(a)	101	-	RN
	<i>H. influenzae</i>	31	RN	RN
	<i>N. gonorrhoeae</i>	7	71	RN

AMP/AMX	AMC	TIC	TZP	MEC	CXN	CXM	CFM ^(e)	CTX	CAZ
70	42	69	16	8	22	22	20	19	19
RN	57	RN	41	18	55	55	53	53	53
RN	RN	30	21	5	RN	46	33	27	26
64	24	63	12	32	26	23	21	19	18
RN	92	48	23	-	RN	-	44	40	38
RN	4	RN	4	0	10	12	9	9	9
RN	RN	12	4	-	RN	RN	11	11	10
7	7	7	7	-	0	0	0	0	0
RN	RN	24	21	-	RN	RN	RN	RN	20
RN	RN	93	94	-	RN	RN	RN	98	94
96	19	-	-	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-	-	3	-
0	0	-	-	-	-	-	-	0	-
0	0	-	-	-	-	-	-	0	-
0	0	-	-	-	RN	RN	RN	RN	RN
97	97	-	-	-	RN	RN	RN	RN	RN
45	6	-	-	-	-	-	-	6	-
71	-	-	-	-	-	-	-	0	-

ETP	IMP	GM	AN	NAL ^(a)	CIP	ERY	LIVCKIN	PRVQDF
1,1	0,6	8	3	34	28	RN	RN	RN
24	22	32	22	48	47	RN	RN	RN
6	3	10	1	21	16	RN	RN	RN
12	-	24	7	41	36	RN	RN	RN
10	-	50	12	57	48	RN	RN	RN
0	0	0	0	2	2	RN	RN	RN
1,4	1,4	8	RN	-	7	RN	RN	RN
0	0	57	57	78	78	RN	RN	RN
RN	22	18	15	RN	19	RN	RN	RN
RN	92	90	90	RN	94	RN	RN	RN
-	-	2	24	RN	28	15	2	0,4
-	-	RNB	RNB	RN	-	60	44	0
-	-	RNB	RNB	RN	-	3	3	0
-	-	RNB	RNB	RN	-	47	46	0
RN	-	RNB ^(d)	RNB	RN	-	77	RN	RN
RN	-	RNB ^(d)	RNB	RN	-	96	-	73
-	-	-	-	-	6	RN	RN	-
-	-	-	-	-	86	-	RN	-

TET	CHL	RIF	SXT	FUR ^(a)	FUS	FOS	VAN	TEC
-	-	-	43	1,1	RN	0,4	RN	RN
-	-	-	39	28	RN	21	RN	RN
-	-	-	13	14	RN	12	RN	RN
RN	-	-	39	RN	RN	22	RN	RN
RN	-	-	57	RN	RN	75	RN	RN
-	-	-	4	0	RN	5	RN	RN
-	-	-	15	-	RN	1,4	RN	RN
-	-	-	0	38	RN	-	RN	RN
RN	RN	-	RN	RN	RN	-	RN	RN
90	-	-	87	RN	RN	RN	RN	RN
28	2	6	1	0	39	3	0	0
56	0	0	21	-	RN	-	0	0
78	0	1,4	0	-	RN	-	0	0
94	0	1,2	0	-	RN	-	0	0
-	-	62	-	1,7	RN	-	0	0
-	-	96	-	86	RN	-	16	16
3	0	3	24	-	RN	-	RN	RN
-	-	-	-	-	RN	-	RN	RN

PENI G: Pénicilline G, OXA: Oxacilline, AMP: Ampicilline, AN: Amikacine, NAL: Acide nalidixique, CIP: Ciprofloxacine, ERY: Erythromycine,

* : Résultats résistants + intermédiaire
CCP: Cœci à Gram positif; BGN: Bactéries à Gram négatif; NF: Non fermentantes
(a): données pour les furanes, acide nalidixique et céfixime concernent uniquement les souches isolées d'urines,
(b): Pour les staphylocoques, les données rapportées pour la ciprofloxacine sont extrapolées à l'ofloxacine,

AMC: Amoxicilline + acide clavulanique, TIC: Ticarcilline, MEC: Mércaptonam, CMN: Cindamycine, QDF: Quinoxaline - Dalopristine, LIN: Lincomycine, PRN: Pristinamycine, TET: Tétracycline, CHL: Chloramphénicol, TZP: Pipracilline + tazobactam, CXN: Céfalexine,

(c): Pour les streptocoques, un haut niveau de résistance aux aminosides (gentamicine) implique l'abolition de toute synergie avec les bêta-lactamines ou les glycopeptides,
(d): 30% des *E. faecalis* sont résistants de haut niveau à la gentamicine
(e): 77% des *E. faecium* sont résistants de haut niveau à la gentamicine
(f): résistances confirmées par la mesure des CMI

TCC: Ticarcilline + Acide clavulanique, CXM: Céfuroxime, CFM: Céfexime, RIF: Rifampicine, SXT: Cotrimoxazole, FUR: Nitrofuranes, FUS: Acide fusidique,

0 à 20% de résistance
21 à 50% de résistance
51 à 100% de résistance

RN Résistance naturelle
RNB Résistance naturelle de bas niveau
- Antibiotiques non testés

Sigaz.com

Evaluation formative

1. Les entérobactéries ont les caractéristiques suivantes:
 - A. Bacilles à Gram positif
 - B. fragiles
 - C. non exigeantes
 - D. cultivent dans une atmosphère anaérobie
 - E. rarement isolées au laboratoire de Microbiologie
2. *Escherichia coli* est naturellement sensible à :
 - A. Oxacilline
 - B. Ticarcilline
 - C. Céfotaxime
 - D. Vancomycine
 - E. Ciprofloxacine
3. *Salmonella Typhimurium* est :
 - A. une bactérie pathogène spécifique
 - B. strictement humaine
 - C. responsable de la fièvre typhoïde
 - D. parmi les sérotypes de *Salmonella* les plus fréquents dans les TIAC
 - E. aussi appelée bacille de Shiga
4. *Klebsiella pneumoniae* est naturellement sensible à :
 - A. amoxicilline
 - B. Ticarcilline
 - C. Céfalexine (C1G)
 - D. Genatmaïcine
 - E. Acide fusidique
5. *Enterobacter cloacae* est naturellement sensible à :
 - A. amoxicilline
 - B. Ticarcilline
 - C. Céfalexine (C1G)
 - D. Macrolides
 - E. Colistine
6. Une souche d'*Escherichia coli* productrice de β -lactamase à spectre élargi est sensible à :
 - A. Amoxicilline
 - B. Ticarcilline
 - C. Céfotaxime
 - D. Imipénème
 - E. Céfuroxime

7. Citer le pathovar d' *Escherichia coli* qui peut donner le même type de diarrhée que :
Shigella :
Vibrio cholerae :

8. Citer le sérotype de Salmonelles majeures le plus fréquemment rencontré en Tunisie :
.....

9. Citer les 2 sérotypes de Salmonelles mineures les plus fréquemment rencontrés en Tunisie :
.....
.....

10. Quel est le moyen de diagnostic de certitude de la fièvre typhoïde ?
.....

11. Donner une estimation des chiffres de résistance acquise aux C3G atteints en Tunisie pour les bactéries suivantes?
Escherichia coli :
Klebsiella pneumoniae :

12. Citer les β -lactamines hydrolysées par :
Une pénicillinase :
.....

Une céphalosporinase :
.....

Une β -lactamase à spectre élargi :
.....

Une carbapénèmase :
.....

Cas clinique :

Une femme consulte pour une infection urinaire, l'ECBU (examen cyto bactériologique des urines) a mis en évidence une entérobactérie dont l'antibiogramme est le suivant :

	Nom antibiotique	Résultat
P E N I C I L L I N E S	Amoxicilline	Résistant
	Amoxicilline +Acide clavulanique	sensible
	Ticarcilline	Résistant
	Ticarcilline +Acide clavulanique	sensible
C É P H A L O S P O R I N E S	Céfalexine (C1G)	sensible
	Céfuroxime (C2G)	sensible
	Céfotaxime (C3G)	sensible
	Céftazidime (C3G)	sensible
C A R B A P É N È M	Ertapénème	sensible
	Imipénème	sensible
	Méropénème	sensible

a- Quel type de β -lactamase produit cette entérobactérie ?

.....

b- Citer une entérobactérie qui peut produire naturellement cette β -lactamase ?

.....

c- Parmi ces β -lactamines, le médecin a choisi de traiter avec l'imipénème, avait-il raison?

.....

Justifier votre réponse:

.....

.....

NEISSERIA MENINGITIDIS: Méningocoque

Objectifs éducationnels :

Préciser l'habitat et l'épidémiologie des infections invasives à *N. meningitidis*.

Préciser les facteurs de virulence de *N. meningitidis*

Expliquer la physiopathologie des infections invasives à *N. meningitidis*.

Décrire le diagnostic bactériologique des infections à *N. meningitidis*.

Vignette clinique :

Un enfant, âgé de 14 ans est hospitalisé pour céphalées intenses, fièvre et des vomissements en jet apparus la veille. L'examen clinique montre :

- Fièvre à 40°C
- Syndrome méningé franc
- Taches purpuriques sur les jambes

- 1- Quelle est la bactérie probablement en cause?
- 2- Quels sont les facteurs de virulence de cette bactérie?
- 3- Quels sont les prélèvements bactériologiques à réaliser?
- 4- Comment confirmer le diagnostic au laboratoire?

1- INTRODUCTION

Neisseria meningitidis appartient au genre *Neisseria* qui se caractérise par un aspect morphologique particulier : **diplocoques à Gram négatif, réniformes, en grain de café** (faces adjacentes aplaties). Ce sont des bactéries aérobies strictes, **oxydase positive et catalase positive**. Les bactéries du genre *Neisseria* sont **fragiles et exigeantes**.

Au sein du genre *Neisseria*, deux espèces sont pathogènes pour l'Homme : *Neisseria gonorrhoeae* et *Neisseria meningitidis*. Les autres espèces sont commensales du rhinopharynx et de l'appareil urogénital et sont rarement des pathogènes opportunistes.

2- HABITAT

Le réservoir de la bactérie est **strictement humain**, constitué par les malades et les porteurs asymptomatiques. L'habitat naturel est la paroi postérieure du rhinopharynx.

Malgré la gravité des infections invasives à *N. meningitidis*, il est important de la considérer comme une bactérie **commensale du rhinopharynx**. Les analyses moléculaires ont montré des différences entre les souches de portage et les souches invasives.

3- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

3-1- Morphologiques : Diplocoque à Gram négatif parfois capsulé, immobile, **intra et extracellulaire** dans les produits pathologiques : LCR.

3-2- Cultureux : la culture est délicate, le méningocoque est un germe **exigeant** qui pousse sur milieu enrichi (gélose au sang, gélose au sang cuit). C'est une bactérie **fragile**.

3-3- Structure antigénique

➤ **Capsule bactérienne** : c'est un **facteur de virulence** important, qui inhibe la phagocytose et permet à la bactérie de lutter contre le pouvoir bactéricide du sérum. Toutes les souches virulentes sont capsulées.

La capsule est de nature **polysaccharidique**. Elle permet de définir **12 sérogroupes** : A, B, C, X, Y, Z, 29E, W135, H, I, K et L. Les sérogroupes A, B, C et W135 sont les plus fréquents. La capsule est immunogène, elle suscite la formation d'anticorps protecteurs spécifiques du groupe. Le polysaccharide capsulaire purifié est à la base du vaccin. Le polysaccharide de type B n'est pas immunogène, car un sucre identique est présent au niveau du cerveau. Il n'existe **pas de prophylaxie vaccinale contre le séro groupe B**.

➤ **Antigènes protéiques (membrane externe)** : permettent de subdiviser les sérogroupes en types et sous-types.

➤ **LPS (endotoxine)** : toxique et antigénique. Elle est responsable du purpura fulminans.

4- POUVOIR PATHOGENE

4-1- Méningococcémie ou septicémie. Une forme particulière est le purpura fulminans *ou* le purpura est rapidement extensif et nécrotique et s'accompagne de choc septique.

4-2- Méningite purulente cérébro-spinale : après franchissement de la barrière hémato-méningée. Elle survient surtout chez l'enfant et l'adulte jeune.
⇒ Ces infections sont des urgences diagnostique, thérapeutique et épidémiologique.

4-3- Autres infections rares : infection bronchopulmonaire, endocardite, péricardite, atteinte ostéoarticulaire.

5- PHYSIOPATHOLOGIE (voir cours Maladies infectieuses)

6- EPIDEMIOLOGIE

La transmission est interhumaine se fait par voie aérienne à partir des malades et des porteurs asymptomatiques, d'où le rôle important de la promiscuité et des conditions socio-économiques défavorables.

Les infections à *N. meningitidis* sont dominées par les méningites qui peuvent entraîner des **épidémies**. Ces infections sont fréquentes en Hiver et au début du Printemps. Les infections à méningocoque sont inégalement réparties dans le monde. L'infection est endémo-épidémique en Afrique sub-saharienne : ceinture de la méningite avec une incidence de 20 à 30 cas/ 100 000 habitants/ an. C'est le sérogroupe A qui y prédomine. En Europe, l'incidence est beaucoup plus faible, de 1 à 5 cas/ 100 000 habitants/ an, c'est sérogroupe B qui y est retrouvé.



En Tunisie, les cas restent sporadiques et c'est également le sérotype B qui est retrouvé. La méningite et la méningococcémie sont des **maladies à déclaration obligatoire**.

7- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le diagnostic est **direct, c'est une urgence bactériologique**

7-1- diagnostic direct par isolement du germe :

➤ **Les prélèvements** : doivent être effectués avant toute antibiothérapie (sauf en cas de purpura fulminans). L'acheminement au laboratoire doit être rapide en évitant le refroidissement et la dessiccation (germe fragile).

N. meningitidis est habituellement isolé à partir de LCR, sang (hémoculture), lésion cutanée en cas de purpura.

➤ **Examen direct** : l'examen du LCR montre :

- Examen macroscopique : LCR trouble, purulent
- Examen microscopique :

Cytologie : élevée > 1000 leucocytes /mm³ à prédominance P.N.N altérés

Gram : diplocoques à Gram négatif intra et extracellulaires. Le nombre de bactéries est souvent faible. L'absence de germes à l'examen microscopique ne doit pas écarter le diagnostic d'infection à méningocoque.

☐ **Mise en culture** : sur milieux enrichis

☐ **Identification + sérogroupage**

☐ **Antibiogramme** : Le méningocoque est généralement sensible aux antibiotiques : ampicilline, céphalosporines, rifampicine, ciprofloxacine et chloramphénicol. Des souches de sensibilité diminuée à la pénicilline par diminution d'affinité des PLP ont été décrites, mais restent sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) est nécessaire.

7-2- Diagnostic rapide : recherche des Ag solubles capsulaires dans le LCR en cas de méningite décapitée par un traitement antibiotique (la culture est souvent négative).

7-3- Amplification génique (PCR) : recherche d'ADN bactérien dans le LCR et le sérum.

Post test

1- *Neisseria meningitidis* est :

- a- Un diplocoque à Gram positif, en grain de café
- b- Bactérie pathogène spécifique
- c- Bactérie strictement humaine
- d- Responsable de méningite purulente
- e- Naturellement sensible aux beta lactamines

2- Décrire les données de l'examen direct d'un LCR au cours d'une méningite à méningocoque

3- Citer 3 rôles de la capsule de *Neisseria meningitidis*

Réponses : 1- c,d,e

2- Cytologie élevée, à prédominance PNN ; coloration de Gram du LCR : diplocoques à Gram négatif intra et extracellulaires.

3- Inhibition de la phagocytose

Lutte contre le pouvoir bactéricide du sérum

Immunogène et suscite la formation d'anticorps spécifiques protecteurs

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Objectifs éducationnels :

- Décrire l'habitat et le mode de transmission d'*H. influenzae*
- Décrire les caractères bactériologiques d'*H. influenzae*
- Préciser le pouvoir pathogène d'*H. influenzae*
- Décrire le diagnostic bactériologique des infections à d'*H. influenzae*

Vignette clinique

Un Enfant de 3 ans, vaccination à jour, est amené par sa maman pour otalgie droite depuis la veille avec fièvre à 39°C et pleurs inconsolables. L'examen montre une otite moyenne aigue purulente.

1- Quels sont les 2 bactéries le plus souvent en cause ? 2- Quelle serait votre démarche diagnostique ?

3- Comment confirmer le diagnostic au laboratoire ?

1- INTRODUCTION

Haemophilus influenzae est l'espèce type du genre *Haemophilus*. Les espèces d'*Haemophilus* font partie de la flore normale commensale des muqueuses des voies respiratoires supérieures et de la bouche, de l'homme et des animaux. Chez l'homme, ces bactéries sont présentes dans 3 écosystèmes principaux : l'oropharynx, l'appareil génital et le rectum.

Ce sont des bactéries fragiles, ne survivant pas dans l'environnement.

2- HABITAT

H. influenzae fait partie de la flore normale commensale des muqueuses des voies respiratoires supérieures de l'enfant et de l'adulte. Les souches peuvent posséder ou non une capsule (colonisation par les souches non capsulées chez 50-80% des individus). Cette colonisation sera le point de départ des infections invasives, ORL et broncho-pulmonaires.

3- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

3-1- Caractères morphologiques : ce sont des petits bacilles **polymorphes** (forme cocobacillaire existe souvent avec des bacilles plus longs) à **Gram négatif**, immobiles, **parfois capsulés**.

3-2- Caractères culturels : c'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, **exigeante** en culture, nécessitant la présence de 2 facteurs de croissance apportés par le sang : Facteur X (hémine) et Facteur V (Nicotinamide adénine dinucléotide). Les milieux de culture doivent contenir les facteurs X et V : gélose au sang cuit.

3-3- Structure antigénique : la capsule. Certaines souches d'*H. influenzae* ont une capsule polysidique. Six types capsulaires sont connus : a, **b**, c, d, e, f. Le sérotype b est le plus pathogène. Il est responsables d'infections invasives. Le polysaccharide est le polyribosylribitol phosphate (PRP). Le PRP est antigénique. Les anticorps dirigés contre le PRP du type b sont protecteurs.

3-4- substance élaborées : protéase : enzyme extracellulaire qui clivent les IgA1.

4- POUVOIR PATHOGENE

➤ *H. influenzae* est responsable **d'infections communautaires de la sphère ORL** de l'enfant et de l'adulte et de **surinfections broncho- pulmonaires** de l'adulte (plus rarement de l'enfant en cas de facteurs favorisants/ dilatation de bronches, mucoviscidose). Ces infections sont provoquées souvent par des souches non capsulées. Dans ces pathologies communautaires très fréquentes, *H. influenzae* se place en tête ou partage cette première place avec le pneumocoque (parfois associés).

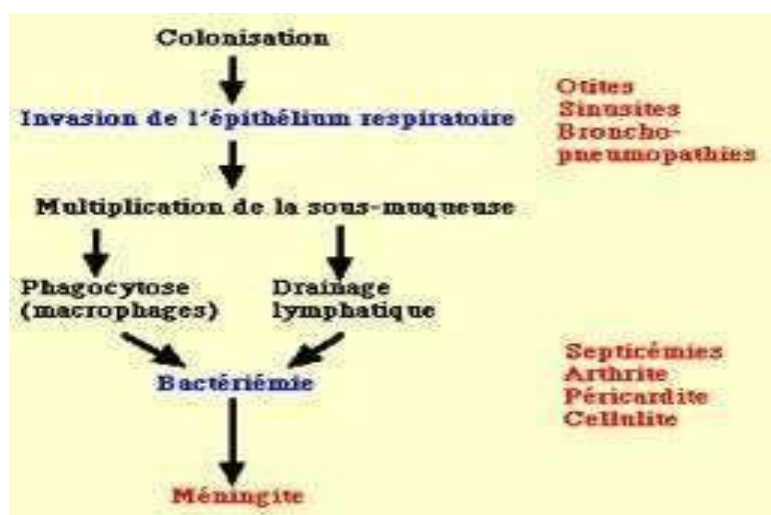
➤ *H. influenzae* est aussi responsable de **manifestations invasives**, septicémie, méningite mais aussi épiglottite, pneumonie, arthrite, péricardite, cellulite. Ces manifestations invasives, en particulier les méningites sont dues souvent au sérotype b. Les méningites à *H. influenzae* b surviennent chez l'enfant âgé de 3 mois à 3 ans avec un pic entre 6 mois et 2 ans, période pendant laquelle l'immunité, en particulier les anticorps anti-polysaccharides de capsule peuvent être inexistantes. Dans les pays où la vaccination est généralisée, les méningites à type b ont pratiquement disparu, avec en même temps, une quasi disparition du portage des souches de type b.

5- PHYSIOPATHOLOGIE

Les infections à *H. influenzae* commencent toujours par une étape de colonisation de la muqueuse des voies respiratoires. Cette implantation est favorisée par une infection virale intercurrente (diminuant les défenses locales surtout l'atteinte du système muco-ciliaire) ou par certains facteurs physiques, chimiques ou toxiques (fumée du tabac). Par ailleurs, les bronchitiques chroniques ont des altérations de la muqueuse qui favorisent la colonisation et la multiplication de différentes espèces bactériennes dont *H. influenzae*.

Pour les souches capsulées, l'implantation est souvent suivie d'une invasion de l'épithélium respiratoire et la multiplication dans la sous muqueuse ce qui entraîne une inflammation aiguë locale, avec parfois passage sanguin. Lorsque la bactériémie se prolonge (et grâce à la présence de capsule qui protège contre la phagocytose) ou lorsqu'elle survient chez des sujets aux défenses amoindries, les localisations à distance sont fréquentes (méningite, arthrite...). Le passage de la barrière hémato-méningée se fait par les plexus choroïdes. Les souches non capsulées sont moins virulentes.

Elles sont incapables d'envahir l'endothélium vasculaire. Elles sont donc responsables d'infections locales : ORL et pulmonaires.



6- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

Le diagnostic est **direct**

- **Prélèvements** : Sang, LCR, sécrétions bronchiques, pus
- **Examen microscopique** : petits bacilles à Gram négatif parfois polymorphes

- **Mise en culture** : les milieux de culture doivent contenir les facteurs X et V: gélose au sang cuit
- **Identification** : mise en évidence de l'exigence en facteurs X et V.
- **Etude de la sensibilité aux antibiotiques** : *H. influenzae* est une espèce naturellement sensible à de nombreux antibiotiques : β -lactamines, phénicolés, cyclines, sulfamides, fluoroquinolones et très peu sensibles aux macrolides. En Tunisie, $\approx 30\%$ des souches sont productrices de β -lactamase. Ces souches sont résistantes aux aminopénicillines et restent sensibles aux inhibiteurs de β -lactamase (acide clavulanique) et aux céphalosporines de 3^{ème} génération.
→ Faire un antibiogramme + recherche de β -lactamase dès l'isolement de la souche
- **Diagnostic rapide** : recherche d'antigène soluble capsulaire du sérotype b dans les liquides biologiques/ LCR++

7- PREVENTION

La prophylaxie des infections à *Haemophilus influenzae* b repose sur l'utilisation d'un **vaccin conjugué anti-Hib**. Ce vaccin a été introduit dans les pays développés depuis les années 90 et fait partie du calendrier de vaccination tunisien depuis 2011 (administré en 3 doses au 2^{ème}, 3^{ème} et 6^{ème} mois de vie).

Post-test

1- La capsule d'*Haemophilus influenzae* est :

- a- Constante
- b- Antigénique
- c- Composé de polyribosylribitol phosphate
- d- Inhibe la phagocytose
- e- A la base de la vaccination

2- Quelles sont les propositions justes concernant *Haemophilus influenzae* :

- a- Bacille à Gram négatif
- b- Le sérotype a est le plus fréquemment responsable d'infections invasives
- c- Bactérie commensale du tube digestif
- d- Bactérie exigeante en culture
- e- Principale bactérie responsable de méningite chez l'adulte

Réponses :

1- b,c,d,e

2- a,d

LISTERIA MONOCYTOGENES

Objectifs éducationnels :

Préciser l'habitat et l'épidémiologie de *Listeria monocytogenes*
Préciser le pouvoir pathogène des infections à *Listeria monocytogenes*.
Décrire le diagnostic bactériologique des infections à *Listeria monocytogenes*.

Vignette clinique :

Un Nouveau-né âgé de 15 jours, est hospitalisé pour fièvre, ictère et détresse respiratoire.

Une PL faite a montré : liquide clair renfermant 200 EB/mm³, prédominance PNN à 60% ; Examen direct après coloration de Gram : présence de Bacilles à Gram positif.

- 1- Quelle est la bactérie probablement en cause ?
- 2- Expliquer la physiopathologie de cette infection ?

1- HABITAT

L. monocytogenes est un germe **ubiquitaire, saprophyte**, présent dans le sol, l'eau, les végétaux, les aliments et dans le tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (porteurs). Ce germe résiste à des températures allant de +4°C à +37°C ce qui permet sa multiplication dans les aliments contaminés (lait, fromage, volaille, poissons fumées) et conservés à basse température.

2- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

2-1- Morphologie : c'est un **bacille à Gram positif, non sporulé**, peu ou pas mobile à 37° et Mobile à 20°.

2-2- Culture : c'est un germe aéro-anaérobie facultatif, **non exigeant** (pousse sur milieu ordinaire). Sur gélose au sang, les colonies sont β -hémolytiques.

La bactérie pousse entre **+3° et +45°**. La croissance à 4° est utilisée comme procédé d'enrichissement pour l'isolement de cette bactérie à partir de produits polymicrobiens

3- POUVOIR PATHOGENE

L. monocytogenes est une bactérie pathogène pour l'homme et nombreuses espèces animales.

3-1- Chez l'homme

La Listériose est une **septicémie d'origine digestive** avec risque d'infection fœto-placentaire et de méningo-encéphalite.

3-1-1- Listériose de l'adulte :

La maladie survient surtout sur des terrains fragiles (femmes enceintes, patients immunodéprimés).

- Atteinte neuro-méningée : la plus fréquente (méningite, encéphalite, méningo-encéphalite lympho-monocytaire ou purulente).
- Septicémie

3-1-2-Listeriose materno-fœtale :

➤ Chez la femme, les signes de l'infection sont souvent inapparents ou résumés à un syndrome pseudo-grippal avec fièvre et frissons, fatigue, maux de tête. Elle peut entraîner un avortement ou accouchement prématuré.

➤ Chez le nouveau-né, la maladie est plus sévère. Le nouveau-né est souvent infecté *in utero* par voie sanguine à la suite d'une bactériémie de la mère.

Il existe deux formes :

- Forme précoce (jusqu'à j5) : Septicémie : **granulomatose septique infantile**
- Forme tardive (8 à 60 jours après l'accouchement) : **Méningite**

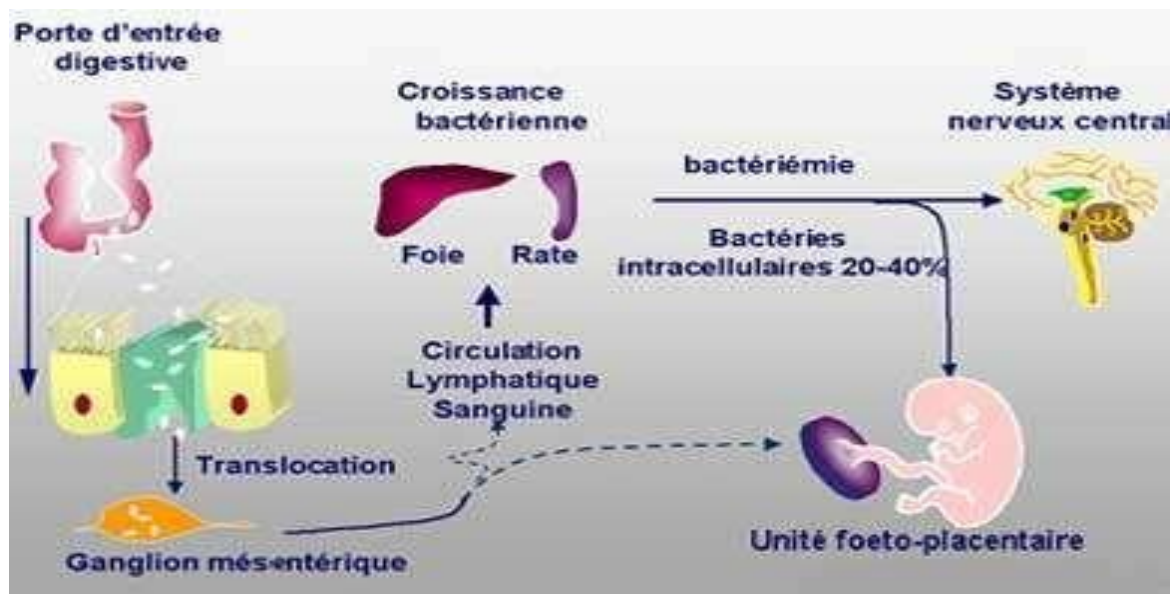
3-2- Chez l'animal

Toutes les espèces animales : atteinte nerveuse, génitale, septicémique, mammite
⇒ contamination du lait.

4- PHYSIOPATHOLOGIE

L. monocytogenes est une bactérie intracellulaire facultative. **La porte d'entrée est digestive** (aliments contaminés). A partir de l'intestin, les bactéries gagnent les ganglions lymphatiques régionaux, puis la circulation sanguine. Le système immunitaire contrôle l'infection chez les sujets immunocompétents qui font une

infection inapparente. Cependant, si l'inoculum est massif ou chez certains sujets fragilisés, l'infection n'est pas contrôlée dans l'intestin, la rate et le foie et les bactéries seront libérées dans la circulation sanguine, exposant le placenta et le système nerveux central. Chez la femme enceinte, surtout après le 5ème mois, les bactéries colonisent le placenta pouvant entraîner l'infection de l'enfant in utero.



5- EPIDEMIOLOGIE

La contamination humaine est d'origine alimentaire. Certains aliments sont à risque : fromages au lait cru, fruits de mer viande, volaille, végétaux. La contamination alimentaire est liée au caractère ubiquiste et saprophyte de la bactérie (sol, végétaux...) qui contamine fréquemment à faibles doses de l'alimentation. Cette bactérie a une température de croissance entre 3°C et 45°C, avec optimum 30-37°C. Cette capacité de croître lentement à basse température explique la fréquence des contaminations alimentaires qui sont amplifiées par un long séjour au froid avant consommation.

La contamination du fœtus se fait par voie transplacentaire.

La listériose est une **maladie rare dans notre région**, évolue de façon sporadique. Quelques épidémies ont été rapportées dans le monde.

6- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

C'est un diagnostic **direct** basé sur l'isolement et l'identification de la bactérie.

➤ **Prélèvements** : *L. monocytogenes* peut être isolée à partir d'hémoculture, LCR.

Chez le Nouveau-né, ce germe peut être isolé également dans le liquide gastrique et le placenta

➤ **Examen direct** : l'examen direct du LCR montre des bacilles à Gram positif.

La réaction cellulaire est souvent modérée (100 à 500 EB/mm³) et la formule est souvent **panachée** ou à prédominance lymphocytaire.

➤ **Culture** : *L. monocytogenes* croît facilement en 24 h sur milieux ordinaires ou gélose au sang.

➤ **Sensibilité aux antibiotiques**

Cette bactérie présente une **résistance naturelle aux cephalosporines de 3^{ème} génération**.

Le traitement repose sur l'administration d'ampicilline ± gentamicine.

Post – test

1- *Listeria monocytogenes* est :

- a- Bactérie strictement humaine
- b- Capable de se multiplier dans les aliments conservés à +4°C
- c- Se transmet par voie aérienne
- d- Colonise le nasopharynx de l'homme
- e- Bactérie anaérobie stricte

2- *Listeria monocytogenes* :

- a- Est responsable d'infections sévères chez la femme enceinte
- b- Est responsable d'infection néonatales
- c- Peut donner des méningo-encéphalites
- d- Est responsable de la mononucléose infectieuse
- e- Peut entraîner des épidémies

Réponses :

- 1- b
- 2- b,c,e

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

BACILLE PYOCYANIQUE

OBJECTIFS ÉDUCATIONNELS

- 1) Définir l'habitat de *Pseudomonas aeruginosa*
- 2) Décrire le pouvoir pathogène de *Pseudomonas aeruginosa*
- 3) Préciser les sources et les vecteurs de contamination de *Pseudomonas aeruginosa*
- 4) Citer la morphologie microscopique de *Pseudomonas aeruginosa*
- 5) Citer les résistances naturelles de *Pseudomonas aeruginosa* et les antibiotiques actifs sur cette bactérie

Pseudomonas aeruginosa encore appelé bacille pyocyanique est l'espèce type du genre *Pseudomonas*.

Le genre *Pseudomonas* comprend plusieurs espèces bactériennes saprophytes du sol, air, eau et plantes.

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce la plus rencontrée en pathologie infectieuse humaine.

1- HABITAT

C'est une bactérie de l'eau, du sol humide et des végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation.

Elle peut vivre à l'état commensal dans le tube digestif et la peau de l'homme et des animaux sains.

C'est une bactérie fréquente en milieu hospitalier.

2- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

Morphologie : C'est un bacille à Gram négatif (BGN). Il est très mobile.

Son type respiratoire : aérobie strict.

Il peut croître à des températures comprises entre 10° et 41°.

A la culture, les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont caractéristiques par leur pigmentation en bleu vert. Cette couleur est due à la production de deux pigments : la pyocyanine (couleur bleu) et la pyoverdine (couleur jaune fluorescent).

La colonie de *Pseudomonas aeruginosa* se distingue aussi par son odeur florale de seringia.

C'est une bactérie résistante dans le milieu extérieur, mais aussi à certains antiseptiques et antibiotiques.

3- POUVOIR PATHOGENE

C'est une bactérie pathogène opportuniste : Elle est peu virulente chez les sujets normaux et capable d'infecter les sujets débilisés.

C'est un agent d'infections nosocomiales.

Il peut s'agir d'infections :

- pulmonaires (Ventilation artificielle et mucoviscidose)
- urinaires (sur sonde)
- cutanées (brûlés)
- ORL : otite
- oculaires
- septicémies
- méningites post chirurgicales.

4- EPIDEMIOLOGIE

Sources de contamination :

La contamination est le plus souvent hospitalière particulièrement dans les services de réanimation et de chirurgie

La bactérie peut se retrouver dans les siphons d'évier ou du sol, les humidificateurs, les respirateurs, l'eau distillée, les eaux de vases et sur les fleurs et certaines solutions **antiseptiques**.

Vecteurs de contamination :

La transmission de la bactérie se fait par les mains du personnel médical et paramédical ou visiteurs ou par l'intermédiaire de supports inertes tel que les sondes.

Dans les services hospitaliers, l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* prend parfois une allure épidémique (transmission de la même souche).

Une enquête épidémiologique (lysotype, sérotype et surtout marqueurs moléculaires) permet de confirmer ou d'infirmer l'épidémie. Elle permet aussi de rechercher la source de l'épidémie.

5- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

C'est un diagnostic aisé.

C'est un diagnostic direct qui consiste à isoler la bactérie dans différents prélèvements selon la localisation de l'infection.

La dernière étape consiste à étudier la sensibilité aux antibiotiques de la souche isolée.

* Résistances naturelles :

Macrolides	}	Résistances naturelles de tous les BGN
Pénicilline G		
Aminopénicillines		
C1G		
C2G		
quelques C3G		
Phénicolés		
Cyclines		
Quinolones de 1 ^{ère} génération		
Sulfamides		

* Antibiotiques actifs :

- Carboxypénicillines
- Uréidopénicillines
- Certaines céphalosporines : Ceftazidime
- Certains aminosides (Amikacine)
- Carbapénème (Imipénème)
- Colistine
- Fluoroquinolones (Ciprofloxacine)

* Résistances acquises sont fréquentes. Les souches multirésistantes (résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques peuvent poser des problèmes thérapeutiques).

* *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime est une BMR (bactérie multirésistante)

ACINETOBACTER

OBJECTIFS ÉDUCATIONNELS

1. Définir l'habitat d'*Acinetobacter baumannii*
2. Citer l'aspect à la coloration de Gram d'*Acinetobacter baumannii*
3. Connaître le caractère nosocomial des infections à *Acinetobacter baumannii*
4. Citer les BMR
5. Préciser les règles permettant la prévention des infections associées aux soins

Les bactéries de ce genre sont des coccobacilles à Gram négatif aérobies stricts.
L'espèce la plus fréquente est ***Acinetobacter baumannii***

✓Habitat : bactérie ubiquiste de l'environnement surtout **humide** (eau, sol)

Elle se trouve aussi au niveau de la flore normale de la peau avec préférence pour les zones humides et chaudes

✓C'est une bactérie **pathogène opportuniste** responsable **d'infections nosocomiales** surtout dans les unités de réanimation

✓ Les infections nosocomiales à *A. baumannii* sont souvent **épidémiques**

(Il faut savoir éliminer une simple contamination du prélèvement par des souches de l'environnement)

✓C'est une bactérie **multirésistante aux antibiotiques** de part ses résistances naturelles et acquises

Acinetobacter baumannii résistant à l'imipénème est une **BMR**.

Prévention des infections associées aux soins (IAS)

Une infection est dite associée aux soins si elle survient **au cours ou au décours** d'une **prise en charge** d'un patient **ET** si elle n'était **ni présente, ni en incubation** au début de la prise en charge

Une infection nosocomiale est une IAS contractée en établissement de santé.

Les règles pour prévenir ce type d'infection sont :

- * Application des règles d'hygiène à l'hôpital : **lavage des mains ++**
 - * Stérilisation ou désinfection correcte de certains matériels, endoscopes...)
 - * Antiseptiques et solutions désinfectantes à concentration suffisante
 - * Contrôle de l'usage des antibiotiques
- **Ces mesures sont à renforcer en cas d'isolement de BMR** (bactérie multi-résistante aux antibiotiques) :
- SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline
 - ERV : Entérocoque résistant à la vancomycine
 - E-BLSE : Entérobactérie productrice de BLSE
 - EPC : Entérobactérie productrice de carbapénèmase
 - PYOCAZ R : *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime
 - ABA IMPR : *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème

Post-test

1- Le bacille pyocyanique est naturellement résistant à

- A- La pénicilline G
- B- La céfalotine
- C- L'amoxicilline
- D- L'imipénème
- E- La ceftazidime

2- Citer une bactérie multi-résistante aux antibiotiques

- à Gram positif
- à Gram négatif

BACTERIES ANAEROBIES STRICTES

OBJECTIFS ÉDUCATIONNELS

- Définir les bactéries anaérobies strictes
- Préciser la classification des bactéries anaérobies strictes en citant les différences entre les 2 groupes
- Décrire les particularités du diagnostic des infections à bactéries anaérobies strictes
- Reconnaître les circonstances cliniques amenant à rechercher les bactéries anaérobies strictes
- Préciser la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies strictes

1- DEFINITION

- Les bactéries anaérobies strictes sont des bactéries qui produisent leur énergie et effectuent leurs réactions de biosynthèse sans avoir recours à l'O₂ moléculaire. Elles produisent leur énergie par des processus de fermentation.

-En plus, ce sont des bactéries pour lesquelles l'O₂ est toxique car elles ne possèdent pas les enzymes inactivatrices des dérivés toxiques de l'O₂ comme la catalase, la peroxydase et la superoxyde dismutase.

- Les bactéries anaérobies strictes ne poussent pas en présence de 20% d'O₂, donc en présence d'air atmosphérique. Leur degré de sensibilité à l'O₂ est cependant variable :

- La plupart des bactéries anaérobies strictes ayant un intérêt en pathologie infectieuse sont des anaérobies modérées (tolèrent de 1 à 5 % d'O₂) +++
- D'autres ne tolèrent que des pressions d'O₂ < 0,5% : Bactéries EOS (extremely oxygen sensitive) : paraissent dénuées de tout pouvoir pathogène.

2- CLASSIFICATION

On distingue parmi les bactéries anaérobies strictes d'intérêt médical deux grands groupes qui s'opposent par leur habitat, leur morphologie et leur pouvoir pathogène.

a) Anaérobies sporulées ou telluriques

Ce sont des bactéries présentes dans le sol, l'eau, les végétaux et pouvant survivre grâce à leur spore thermorésistante.

Elles se trouvent aussi dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Elles appartiennent à un seul genre : **CLOSTRIDIUM**.

Ce sont des bacilles à Gram positif **sporulés**.

Les espèces pathogènes pour l'homme produisent une toxine protéique et engendrent des infections le plus souvent spécifiques.

Les 4 espèces importantes en pathologie humaine sont :

❖ *Clostridium perfringens* responsable de :

- la gangrène gazeuse associant myonecrose + crépitation + signes toxiques généraux
- diverses suppurations abdominales
- septicémie

❖ *Clostridium tetani* : Agent du tétanos

Clostridium tetani est une bactérie tellurique. L'introduction de la bactérie ou sa spore se fait à la faveur de plaie ou lésion cutanée contaminée par la terre.

Le tétanos néonatal est la conséquence de la section du cordon ombilical par matériel contaminé.

❖ *Clostridium botulinum* : agent du botulisme.

C'est une neuro-intoxication liée à l'ingestion de la toxine botulinique préformée dans l'aliment à type de conserves mal préparés.

Elle se manifeste par des signes digestifs (vomissements, diarrhée) et des paralysies

❖ *Clostridium difficile* : diarrhée post antibiotique (voir cours diarrhée bactérienne)

b) Anaérobies non sporulées de la flore endogène (Flore de VEILLON)

- Ces bactéries font partie de la flore commensale des cavités naturelles de l'homme. Elles sont abondantes dans :

- le tube digestif (majeure partie de la flore intestinale)
- la cavité buccale, le rhinopharynx
- la partie supérieure de l'appareil respiratoire
- la cavité vaginale

- Leur morphologie est variée avec **absence de spore**.

- Ce sont des **bactéries pathogènes opportunistes** (BPO) responsables de septicémies ou suppurations non spécifiques, à l'occasion d'un affaiblissement des défenses de l'organisme.

3- CIRCONSTANCES CLINIQUES POUR LA RECHERCHE DES ANAEROBIES

La suspicion de l'implication possible des bactéries anaérobies strictes se fait dans les situations suivantes :

- ✓ Suppuration fermée à proximité de la **muqueuse** buccale, anale ou génitale
- ✓ Suppuration secondaire à une **morsure** humaine ou animale
- ✓ Infections **tumorales** (bronchiques, coliques, et utérines)
- ✓ Formation d'**abcès**, **gangrène**, **nécrose** tissulaire (↓ de l'**O2** tissulaire)
- ✓ Mauvaise **odeur** de l'échantillon, Présence de **gaz** dans une lésion,
- ✓ Présence de pus avec **grain** de soufre (*Actinomyces*)

Exemples d'infections où les **anaérobies** sont **presque toujours en cause** : infections dentaires, péritonites, infections postchirurgicales abdominales, pneumopathies d'inhalation, otites et sinusites chroniques, infections des extrémités chez les diabétiques.

4- PARTICULARITES DU DIAGNOSTIC

1) Prélèvements

- ✓ **Asepsie** (éviter tout contact avec la flore commensale)
- ✓ Préciser : Recherche des bactéries anaérobies strictes
- ✓ Prélèvement à **la seringue** (chasser l'air)
- ✓ Transport rapide ou milieu de transport
- ✓ Eviter l'écouvillon
- ✓ Hémoculture : flacon anaérobie.

2) Examen direct :

- ✓ Examen macroscopique (aspect, odeur fétide, gaz, grains.....)
- ✓ Examen microscopique : parfois morphologie caractéristique.

3) Culture et identification

- ✓ Milieux riches et privés d'O₂
- ✓ Incubation prolongée (2 à 10 jours)
- ✓ Atmosphère anaérobie

4) Sensibilité aux antibiotiques

- ✓ Résistance naturelle aux aminosides
- ✓ Sensibilité aux :
 - * β lactamines, même pénicilline G sauf : *Bacteroides*, *Prevotella*
 - * Macrolides surtout **clindamycine**
 - * Chloramphénicol
 - * **Metronidazole (Flagyl*)**

Classification schématique des principales bactéries anaérobies strictes

	Flore tellurique Exogène	Flore de Veillon Endogène
Habitat	Sol, plantes, intestins des mammifères	Commensales des cavités naturelles
Bactériologie	Homogène: bacilles à Gram positif du genre <i>Clostridium</i> (<i>perfringens</i> , <i>tetani</i> , <i>botulinum</i> , <i>difficile</i> ...)	Variée: bacilles et cocci à Gram positif et négatif, spirochètes, spirilles
Sporulation	+	-
Toxinogénèse	+++ (toxines protéiques)	-
Tableaux cliniques	Syndromes d'intoxication spécifiques, gangrènes, septicémies	Infections pyogènes et putrides, septicémies. Souvent action synergique de plusieurs espèces
Prévention spécifique	Anatoxines (tétanos)	
Traitement	Antibiothérapie. Parfois antitoxine (tétanos, botulisme)	Antibiothérapie adaptée

Incidence relative des bactéries anaérobies strictes dans diverses infections

	Incidence %
Bactériémies - Septicémies	5-10
Système Nerveux central Abscess cérébraux Empyème sous dural Méningites	90 50 faible
Tête et cou Sinusite chronique Abscess périodontiques Infections de la cavité buccale	50 100 MD*
Sphère pleuro-pulmonaire Pneumonies d'aspiration Abscess du poumon Pneumonies nécrosantes Empyèmes Bronchites chroniques	80-90 90 85 75 MD*
Infections gynécologiques Salpingites, péritonites pelviennes Abscess Avortements septiques et endométrites	50 90 70
Infections des tissus morts Gangrènes gazeuses et myonécroses Cellulites	100 élevé
Infections urinaires	faible

* MD : Mal documenté

Post-test

- 1) Les bactéries anaérobies strictes sont fréquemment en cause dans les infections suivantes :
 - Infection dentaire
 - Angine érythémato-pultacée
 - Péritonite
 - infection urinaire
 - Méningite

LES BACTERIES RESPONSABLES DE DIARRHEE :

Vibrio cholerae, Clostridium difficile et Campylobacter

Objectifs éducationnels :

- Reconnaître les sérogroupes de *Vibrio cholerae* responsable du choléra
- Préciser l'habitat de *Vibrio cholerae*, *C. difficile* et *Campylobacter*
- Citer les caractères bactériologiques de *Vibrio cholerae*, *C. difficile* et *Campylobacter*
- Décrire la physiopathologie du choléra
- Préciser l'épidémiologie du choléra
- Reconnaître les moyens du diagnostic bactériologique du choléra, d'une diarrhée à *C. difficile* et à *Campylobacter*

Pré-test

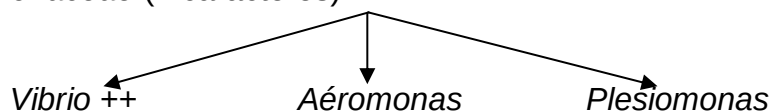
Diarrhée aiguë aqueuse et profuse, sans fièvre, accompagnée de vomissements chez un homme de retour d'un voyage en Afrique :

- 1- Quelle est la première étiologie à évoquer ?
- 2- Expliquer son urgence diagnostique

A. VIBRIO

La famille des *Vibrionaceae* comporte 3 genres : *Vibrio*, *Aeromonas* et *Plesiomonas*

Famille : *Vibrionaceae* (7 caractères)



⇒ *Vibrio cholerae* = Vibrion cholérique
(+) de 155 sérogroupes O

- *Vibrio cholerae* O1
- *Vibrio cholerae* O139 } Choléra

- Autres sérogroupes (*Vibrio cholerae* non O1/O139) ⇒ Syndrome cholériforme

⇒ Autres espèces de *Vibrio* :

- répandus dans la nature (eaux, espèces animales vivant dans l'eau)
- **sont halophiles**
- *Vibrio parahaemolyticus* (par exp) ⇒ infection gastro-intestinale après ingestion de fruits de mer crus (Japon++)

VIBRIO CHOLERAЕ O1/O139

Agents du *choléra*

Habitat :

- tube digestif de :
 - malades
 - porteurs sains
- Environnement : essentiellement eaux salées ⇒ fruits de mer

I- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

1) Morphologie

BGN en virgule
très mobile

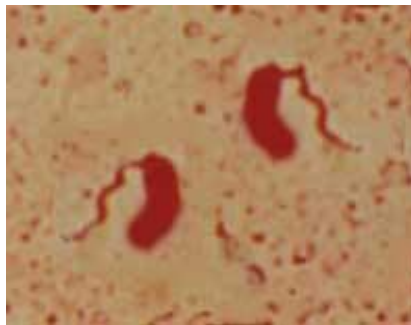


Figure 1 : coloration de flagelle montrant un *vibrio*

2) Caractères culturels

- * pousse sur milieux ordinaires
 - * très sensible à l'acidité
 - ↓
 - pH neutre ou alcalin
- } Milieux sélectifs - EPA
- GA
- TCBS
- * Halotolérante

3) Caractères biochimiques

Oxydase (+)

Espèce

Biotype : *Vibrio cholerae* (classique)
Vibrio El Tor } O1

4) Structure antigénique

- ✓ Ag flagellaire H
- ✓ Ag somatique O : LPS : Endotoxine
(+) de 155 sérogroupes O

✓ Sérogroupe O1 → 3 sérotypes :

- * Ogawa
- * Inaba
- * Hikojima

✓ Communautés antigéniques entre O1 et d'autres bactéries

5) Substances élaborées

- Enzymes extracellulaires :
 - * lécithinase
 - * mucinase
 - * protéase

↓

Destruction de la couche de mucus
protégeant les entérocytes

- **Exotoxine protéique = Entérotoxine ++**
Facteur essentiel de la virulence

II- POUVOIR PATHOGENE

Choléra = Toxi infection intestinale strictement humaine
Voir cours (maladies infectieuses)

III- PHYSIOPATHOLOGIE

1) Ingestion et fixation de la bactérie

- ✓ Voie digestive
- ✓ Destruction par acidité gastrique
- Certains facteurs favorisent la survie des bactéries dans l'estomac
- ✓ Survivants → Intestin grêle ⇒ multiplication rapide
- ✓ Mucinase → destruction du mucus
- ✓ Adhésion aux entérocytes (pili)
- ✓ Pas de pénétration dans
 - * les cellules muqueuses
 - * le sang (hémocultures négatives)

2) Effets de la toxine cholérique

Protéine thermolabile

1 sous unité A₁

1 sous unité A₂

5 sous unités B

sous unités B fixation de la toxine à son récepteur : ganglioside GM₁

sous unité A₂ : franchissement de membrane

sous unité A₁ : fonction toxique

Active l'adénylcyclase

↓

ATP → AMP cyclique ⇒ AMPc ↑↑ ⇒

* ↓ absorption de Na⁺ (villosité)

* ↑↑ fuite Cl⁻, bicarbonate et eau (cryptes)

↓

DIARRHÉE

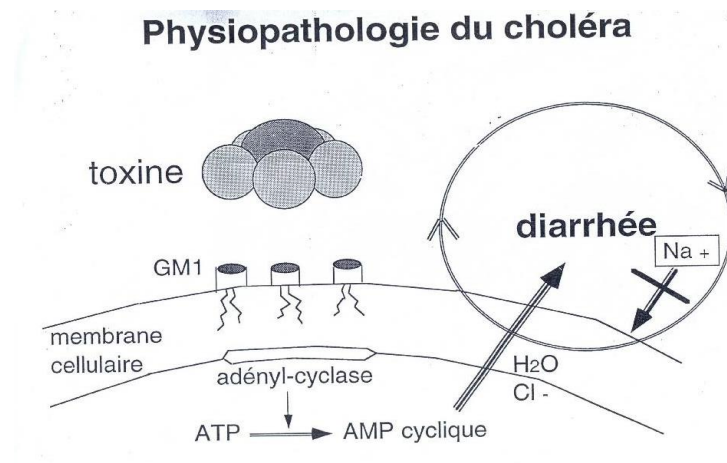


Figure 2 : Physiopathologie du Choléra

IV- IMMUNITÉ

2 types d'anticorps protecteurs :

* anti-paroi : inhibition de l'adhésion à la muqueuse

* anti-toxine : inhibition de fixation membranaire de la toxine

Au niveau du sang : IgG

Au niveau de l'intestin : IgA

Mais immunité acquise de **courte durée** (réinfection fréquente).

V- EPIDEMIOLOGIE

1) Modes de transmission

porteurs → Aliments ou eau contaminés par les fèces de malades ou
Voie orale

→ Mains souillées par excréta pathologique (selles, vomissements)

Rôles des formes frustes ou inapparentes ++

Maladie du péril fécal

↔ * défaut d'hygiène
* insuffisance de l'assainissement
↔ bas niveau socio-économique

Maladie à déclaration obligatoire.

2) Types épidémiologiques

Propagation de la maladie selon 2 modes :

⇒ Mode épidémique

Population indemne

Cas importés (rassemblements humains)

Contamination massive

Taux de mortalité élevé

⇒ Mode endémique

Forte densité de population

Allure traînante : Nombre de cas faible

Tous les jours ou les semaines

Faible morbidité

3) Répartition géographique

- * Avant 1817 : Endémoépidémie : Asie (**Inde**)
- * 1817 : 1^{ère} pandémie
- * 6 autres pandémies
- * 1961 : 7^{ème} pandémie : pandémie actuelle
 - Source : Asie du Sud
 - Elle a atteint l'Afrique en 1971, puis l'Amérique en 1991.
 - Souche responsable: *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor
- * Le choléra est désormais endémique dans de nombreux pays.
- * 1992 : épidémie à nouveau sérotype O139 à Bangladesh. Ce sérotype est confiné à l'Asie du Sud-Est
- * 2016 : épidémie en Afrique centrale :
 - RDC (République démocratique du Congo) : depuis Novembre 2015 extension vers RCA (République centrafricaine)
 - Atteinte aussi d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest.
- * L'OMS estime que chaque année, 1,4 à 4,3 millions de cas avec 142 000 décès sont notés.
- * Tunisie : pas de cas depuis 1980

VI- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Diagnostic direct

Diagnostic d'**URGENCE** et **RIGoureux**

Prélèvements

Coproculture

Vomissements
Aliments

Ensemencement rapide sinon, milieu de transport : papier buvard ou filtre

Examen direct

Résultat présomptif

Culture

Milieu d'enrichissement : EPA
Milieu sélectif : TCBS

Identification Espèce

sérogroupe
biotype
sérotype

Antibiogramme

Nécessaire (Résistances acquises)

VII- PROPHYLAXIE

Hygiène individuelle et collective ++

Dans les pays indemnes de choléra, le diagnostic d'un cas nécessite :

- Mesures préventives
- Enquête épidémiologique

Vaccination

→ Vaccin parentéral n'est plus recommandé par l'OMS

Efficacité * insuffisante (50 %)
 * de courte durée

- 2 vaccins anti cholériques oraux (VCO) préqualifiés par l'OMS, sont disponibles sur le marché mondial : Dukora® et Shanchol®
- Ces 2 vaccins sont dirigés contre le sérotype O1
- Etudes en cours pour O139
- Indication :
 - * voyage en zone d'endémie
 - * populations à haut risque

B. AEROMONAS

BGN mobiles

Habitat : eaux douces +, sol, produits alimentaires

Pathogènes pour les poissons

L'homme est occasionnellement infecté ⇒

Septicémie chez les patients débilisés

Infection de plaie (contact avec eau ou sol)

Diarrhée aiguë

C. CAMPYLOBACTER

Bacilles à Gram négatif **mobiles incurvés** parfois forme de "S" ou spiralés

Micro-aérophiles

Plusieurs espèces :

Campylobacter jejuni +++

Campylobacter coli



I. HABITAT

Tube digestif des animaux (notamment les volailles, ovins, porcs)

Environnement ±

II. POUVOIR PATHOGENE

Diarrhée : type inflammatoire ; composante aqueuse

Complications : syndrome de Guillain Barré

Arthrite réactionnelle

III. EPIDEMIOLOGIE

Fréquence sous estimée

Deuxième position après *Salmonella*

Contamination : alimentaire

L'emballage des aliments sous vide favorise la microaérophilie et le développement de *Campylobacter*

IV. DIAGNOSTIC

Diagnostic direct ++ : Coproculture

Examen direct : bacilles ayant une mobilité caractéristique

Culture sur milieu sélectif dans une atmosphère de microaérophilie

Diagnostic indirect : uniquement pour les complications

D. CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Bacille à Gram positif sporulé anaérobie strict



I. Habitat:

Le réservoir de *C. difficile* est l'intestin humain et des animaux.

C. difficile est une bactérie très répandue dans l'environnement,

C. difficile est capable de survivre plusieurs mois dans l'environnement grâce à ses spores qui résistent aux désinfectants. Ainsi, on le trouve dans l'environnement hospitalier des malades (sols des chambres, vêtements, mobiliers, robinets, toilettes ...)

II. Pouvoir pathogène :

➤ **portage asymptomatique** : 3% des adultes sains
15 à 25% des sujets après un traitement antibiotique ou un séjour dans une unité à forte endémicité

➤ **diarrhée après antibiothérapie** : *C. difficile* est responsable de 25% des diarrhées associées à une antibiothérapie. Les signes cliniques régressent dans 25% des cas après arrêt de l'antibiotique responsable.

➤ **colites pseudomembraneuses (CPM)** comme complication d'un traitement antibiotique (*C. difficile* est responsable de 95% des CPM)

Signes : Diarrhée, Distension abdominale

Fièvre

Pseudo-membranes sur la paroi colique à l'endoscopie

Complications : graves : mégacolon toxique, perforation, péritonite

Rechutes : 20%



Figure 3 : Colite pseudomembraneuse : pseudo-membranes sur la paroi colique à l'endoscopie

➤ **La quasi-totalité des Antibiotiques ont été incriminés** : essentiellement les lincosamides **Aminopénicillines** Céphalosporines

III. Epidémiologie

➤ À l'hôpital : 1 – 10 p. 1000 admissions
– type de services
– pression antibiotique
– mesures d'isolement en place
– prescriptions de recherche de *C. difficile*

➤ Diarrhée nosocomiales dans >70% des cas
– souvent épidémiques
– réanimation, maladies infectieuses, hématologie, gériatrie

➤ Portage asymptomatique encore plus fréquent

- 15 – 25% des patients acquièrent *C. difficile*
- restent asymptomatiques dans 2/3 cas
- Incidence x 10 ces dernières années aux USA, Canada, Europe : épidémie à *C. difficile* O27
- **Transmission :**
 - Voie oro-fécale, Mains du personnel, Environnement ++
 - Facteurs favorisant la transmission : diarrhée, résistance des spores dans l'environnement, pression antibiotique, promiscuité des patients
 -

IV. Physiopathologie :

- **Contamination exogène par *C. difficile* OU Déséquilibre de la flore intestinale** induit par une antibiothérapie ⇒ multiplication de *C. difficile*
- *C. difficile* va produire **2 toxines** : entérotoxine TcdA et cytotoxine TcdB : désagrégation des filaments d'actine des entérocytes : ↑ la perméabilité cellulaire. Lésions inflammatoires de la paroi colique : CPM et diarrhée exsudative.

V. Diagnostic bactériologique :

Le diagnostic d'une diarrhée à *C. difficile* repose sur la **recherche des toxines de *C. difficile* dans les selles par :**

- méthodes immunoenzymatiques : rapides
- biologie moléculaire : PCR
- culture : isolement de *C. difficile* et mise en évidence de son pouvoir toxigène

Evaluation formative

- 1- Le vibron cholérique peut survivre :
 - A. à pH acide
 - B. dans les eaux saumâtres
 - C. en milieu sec
 - D. en milieu hypersalé
 - E. en milieu chloré
- 2- Le vibron cholérique peut infecter :
 - A. L'homme
 - B. Le plancton
 - C. Les mammifères aquatiques
 - D. Les fruits de mer
 - E. Toutes les réponses sont justes
- 3- Le choléra
 - A. est favorisé par l'hyperacidité gastrique
 - B. peut donner des diarrhées profuses
 - C. peut entraîner le décès en moins de 6 heures
 - D. donne une fièvre à 40 °C
 - E. est une maladie strictement humaine

- 4- Parmi les propositions suivantes à propos de *Campylobacter jejuni*, laquelle est exacte ?
- A. C'est un bacille Gram négatif
 - B. *C. jejuni* est naturellement résistant aux macrolides
 - C. *C. jejuni* est une bactérie anaérobie stricte
 - D. La transmission se fait principalement par voie hématogène
 - E. C'est le principal germe responsable de colites pseudo-membraneuses
- 5- Citer un examen bactériologique, autre que la mise en culture, à demander pour étayer le diagnostic d'une diarrhée nosocomiale à *Clostridium difficile* :

LES MYCOBACTERIES

Objectifs éducationnels

- 1- Préciser la classification des mycobactéries
- 2- Définir l'habitat de *Mycobacterium tuberculosis*.
- 3- Distinguer les mycobactéries pathogènes spécifiques des opportunistes
- 4- Préciser les caractères bactériologiques de *Mycobacterium tuberculosis*.
- 5- Reconnaître le pouvoir pathogène des mycobactéries en fonction des espèces.
- 6- Décrire la physiopathologie de la tuberculose
- 7- Expliquer l'immunité anti-tuberculeuse
- 8- Préciser l'épidémiologie de la tuberculose en Tunisie.
- 9- Reconnaître les moyens de diagnostic bactériologique de la tuberculose
- 10- Reconnaître les indications du diagnostic moléculaire de la tuberculose

Pré-test

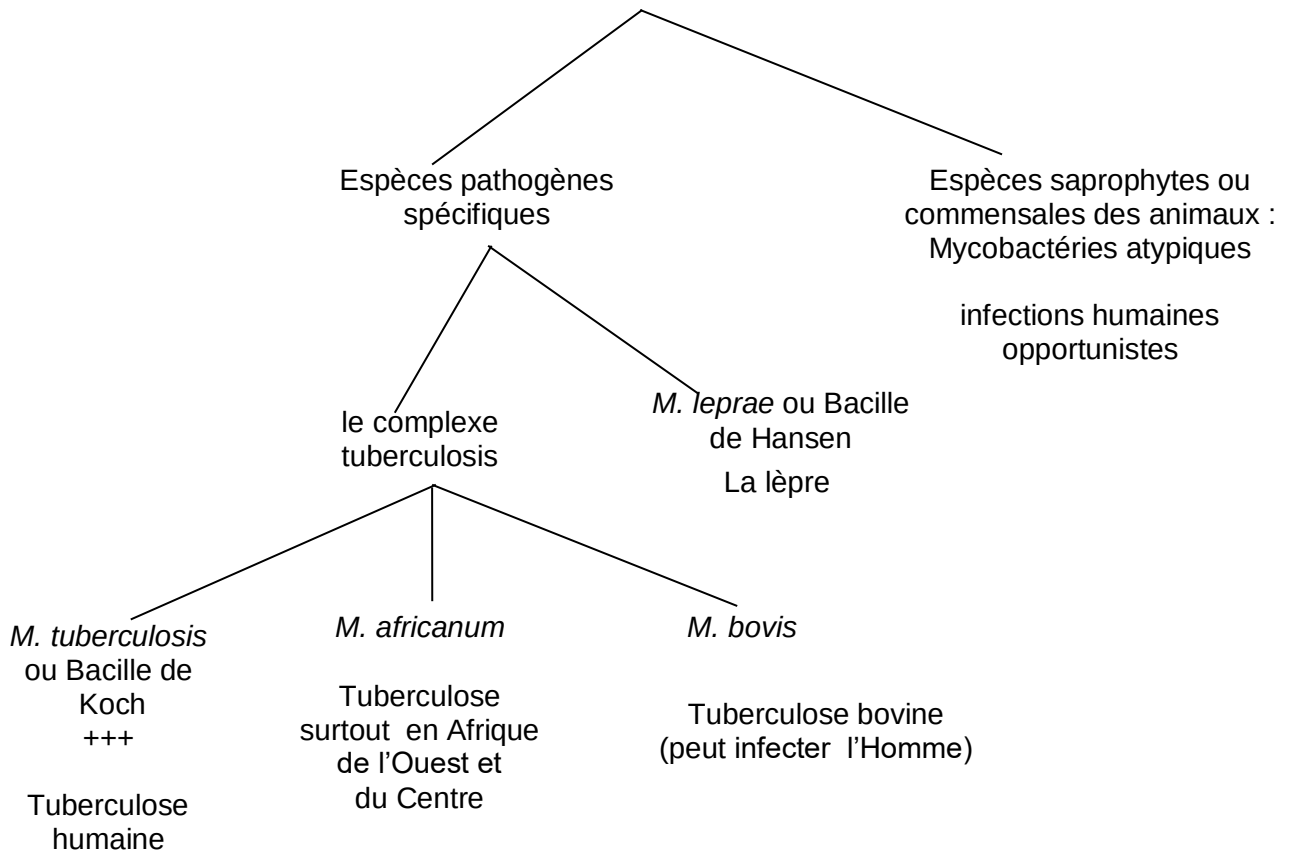
- Quelle est l'espèce bactérienne la plus fréquemment responsable de tuberculose en Tunisie ?
- Qu'est ce ça veut dire caséum ?
- En Tunisie, la tuberculose est fréquemment transmise par les bovins?
- Donner une estimation de l'incidence de la tuberculose en Tunisie
- Le soleil peut-il détruire *Mycobacterium tuberculosis*?
- Quel est le facteur de virulence majeur de *Mycobacterium tuberculosis*?
- Peut-on être porteur asymptomatique de *Mycobacterium tuberculosis*?
- Quels sont les antibiotiques qui sont actifs sur *Mycobacterium tuberculosis*?
- Une PCR négative, élimine-t-elle le diagnostic de tuberculose active?
- Le diagnostic bactériologique de la tuberculose peut-il être fait en 2 heures ?
- Quelle est la durée habituelle du traitement de la tuberculose pulmonaire ?
- Le vaccin BCG est à base de tuberculine, vrai ou faux?

Mycobacterium est le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae*.

Les mycobactéries se présentent comme des bacilles ayant une propriété tinctoriale essentielle : l'**acido-alcool-résistance (BAAR)** due à leur richesse en lipides et acides mycoliques de leur paroi (forte hydrophobicité). Les mycobactéries sont **non colorables par le Gram**.

Bacilles Acido Alcool Résistants (BAAR) : capacité de retenir certains colorants / fushine (coloration de Ziehl Neelsen) auramine en présence d'agents solubilisants / alcool.

MYCOBACTERIES



Mycobacterium tuberculosis

I. HABITAT

C'est une Bactérie pathogène spécifique de l'homme, mais capable d'infecter certaines espèces animales vivant à ses côtés (chat, chien ...) qui peuvent eux mêmes devenir des vecteurs de la tuberculose.

M. tuberculosis est absent dans l'environnement sauf si contamination par l'homme infecté, d'autant plus que la bactérie est très résistante au froid et à la dessiccation.

II. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

1. Caractères morphologiques

M. tuberculosis est non colorable par les colorants usuels / coloration de Gram. Il est colorable par des colorations spécifiques tels que la coloration de **Ziehl Neelsen** (Figure 1) qui est spécifique des mycobactéries mettant en évidence des **BAAR** fin, légèrement incurvés, isolés ou groupés en amas. Les mycobactéries peuvent être mis en évidence également par la **coloration à l'auramine** (Figure 2), les mycobactéries vont apparaître alors comme des bacilles fluorescents.

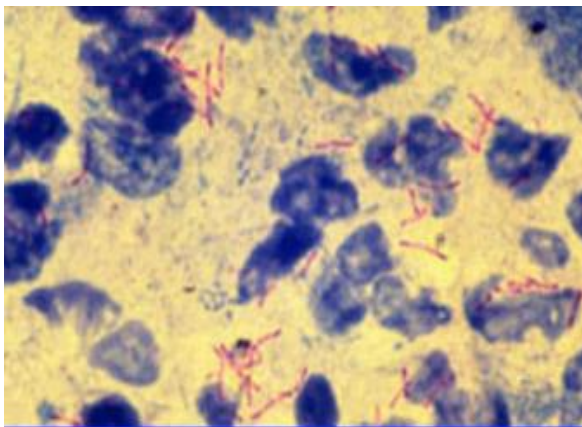


Figure 1 : Coloration de Ziehl Neelsen

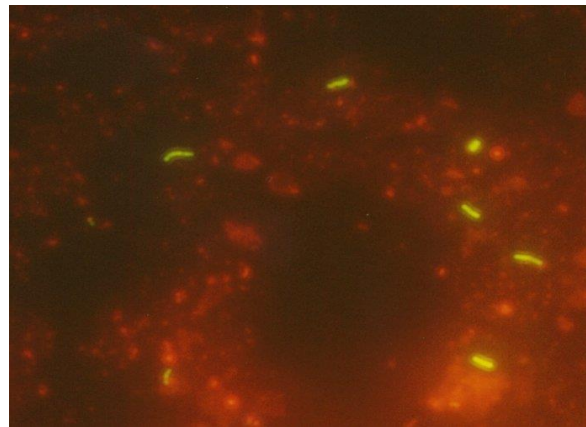


Figure 2 : Coloration à l'auramine

2. Caractères cultureux

M. tuberculosis est une bactérie **aérobie strict**. C'est une bactérie **exigeante** ne se développant pas sur les milieux usuels, mais que sur des milieux spécifiques très enrichis (complexes) tel que le milieu de Lowenstein-Jensen.

La culture de *M. tuberculosis* est **lente** avec un temps de génération de 20 h. La poussée des colonies est visible en **2 à 4 semaines**.

3. Structure de la paroi

La paroi de *M. tuberculosis* joue **un rôle majeur** chez cette espèce : **propriétés tinctoriales, virulence** (résistance à la phagocytose), **lenteur de croissance et exigence, résistance aux antibiotiques**.

Elle est constituée de l'intérieur vers l'extérieur de (figure 3) :

- Couche interne : peptidoglycane
- Couche intermédiaire : faite de **lipides** (60 % des constituants de la paroi). La majorité sont des **acides mycoliques** et des cires.
- Couche externe : polysaccharides et protéines : telles que la **tuberculine** support de l'hypersensibilité retardée.

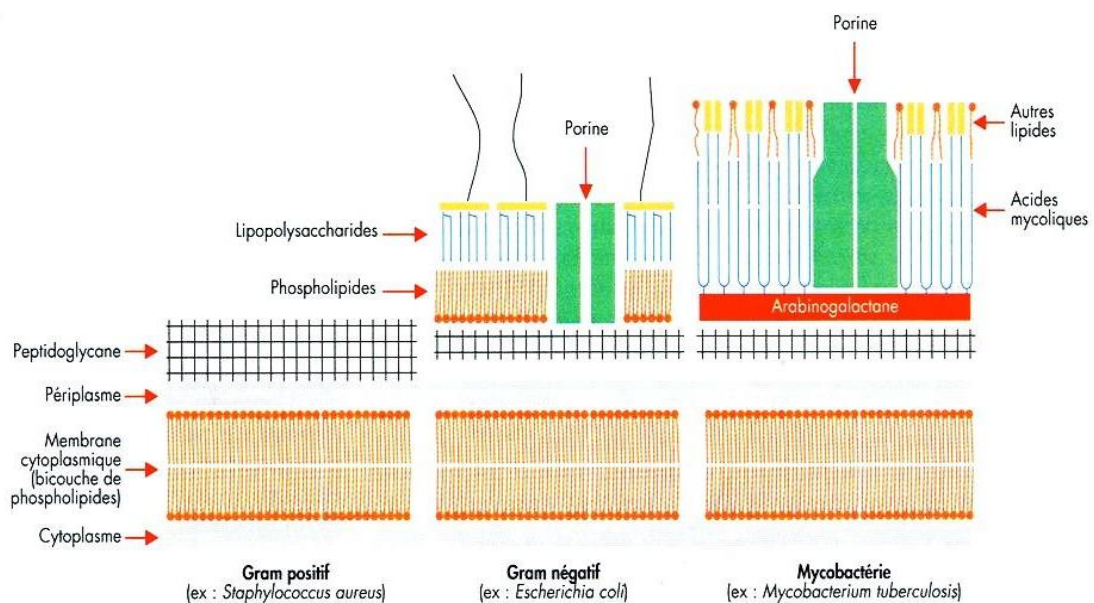


Figure 3 : structure de la paroi de *M. tuberculosis*

4. Sensibilité aux agents physiques et chimiques

➤ *M. tuberculosis* est **très sensible** à l'action des :

- agents physiques : chaleur, **lumière solaire**, rayons X ou UV
- agents chimiques : alcool dilué (70°)

⇒ Moyens de décontamination

➤ *M. tuberculosis* est **résistant** :

- **au froid à +4°C** ⇒ conservation des prélèvements à +4°C possible
- **à la dessiccation** ⇒ le BK est éliminé dans les microgouttelettes de flûdage qui se dessèchent rapidement et où le BK peut rester vivant en suspension dans l'air

pendant plusieurs heures pour être inhalé par les sujets contacts

- aux acides, bases diluées et détergents divers $\Rightarrow$ décontamination des prélèvements pulmonaires, coloration de **Ziehl Neelsen**

III. PHYSIOPATHOLOGIE

- Le développement de la tuberculose dépend de l'équilibre existant entre les facteurs de virulence du BK (paroi riche en lipides, enzymes protectrices du stress oxydatif inhibant la fusion phagolysosomiale) et les moyens de défense mis en jeu par l'hôte (coopération cellulaire) qui entraîneront la formation du granulome et la nécrose tissulaire (Figure 4).
- Le BK pénètre le plus souvent par voie **aérienne**, atteint les alvéoles (le plus souvent la partie inférieure ou moyenne des poumons) où il va être phagocyté par les macrophages. Le BK va se **multiplier à l'intérieur** de ces **macrophages** (virulence du BK) en entraînant une réaction inflammatoire non spécifique : alvéolite (chancre d'inoculation). Le BK va migrer vers les ganglions régionaux créant le **complexe primaire** de la **Primoinfection** (chancre d'inoculation+ adénopathie satellite).
- Selon les individus et le terrain, les BK vont soit être tués (95%), soit survivre et se multiplier à l'intérieur des macrophages et disséminer par voie lymphohématogène (5%) et se multiplier dans les zones où la pression partielle d'oxygène est élevée : essentiellement les champs pulmonaires apico-dorsaux, mais aussi, les zones les mieux vascularisées: ganglions, reins, épiphyses des os longs, corps vertébraux, système nerveux central.
- **4 à 6 semaines après la primoinfection**, il y a une installation de l'immunité spécifique adaptative. L'apparition de l'**hypersensibilité retardée** à la tuberculine va entraîner une nécrose solide au niveau du foyer tuberculeux, le **caséum** qui va inhiber les BK. Parallèlement, il y a installation de l'**immunité à médiation cellulaire**. Les lymphocytes T recrutent et activent les macrophages qui deviennent alors capables de détruire les BK.
- Si l'inoculum de départ est faible et l'immunité naturelle du sujet est bonne, le plus grand nombre de BK meurt d'où contrôle de l'infection : **Tuberculose infection**. Cependant, des BK peuvent rester dans des macrophages pendant plusieurs années (BK quiescents) et être à l'origine d'une **Tuberculose maladie** à l'occasion d'une immunodépression. Dans de rares cas, le **caséum** solide **se ramollit**. Le mécanisme du ramollissement n'est pas bien élucidé. Si ce caséum ramolli s'élimine par une

bronche, il y aura formation d'une **caverne** où il y'aura une intense multiplication du BK (bien oxygénée) $\Rightarrow$ sujets les plus contaminants.

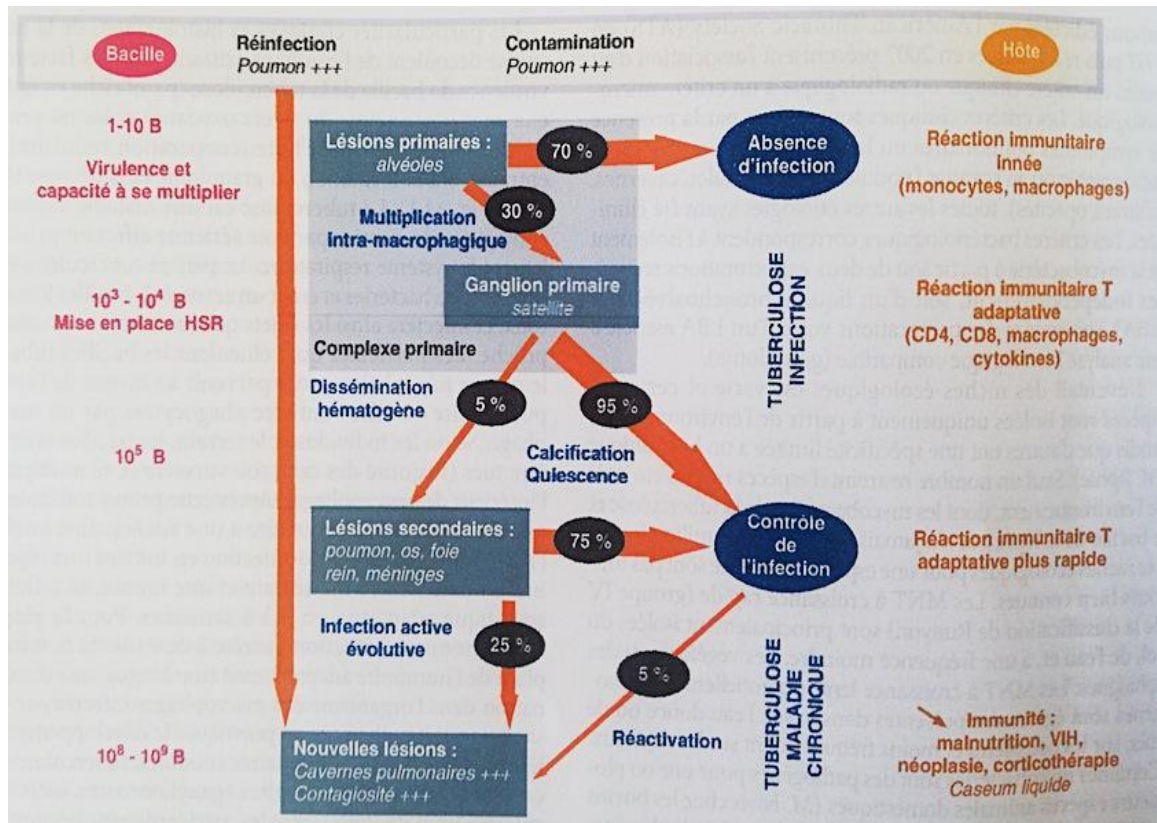
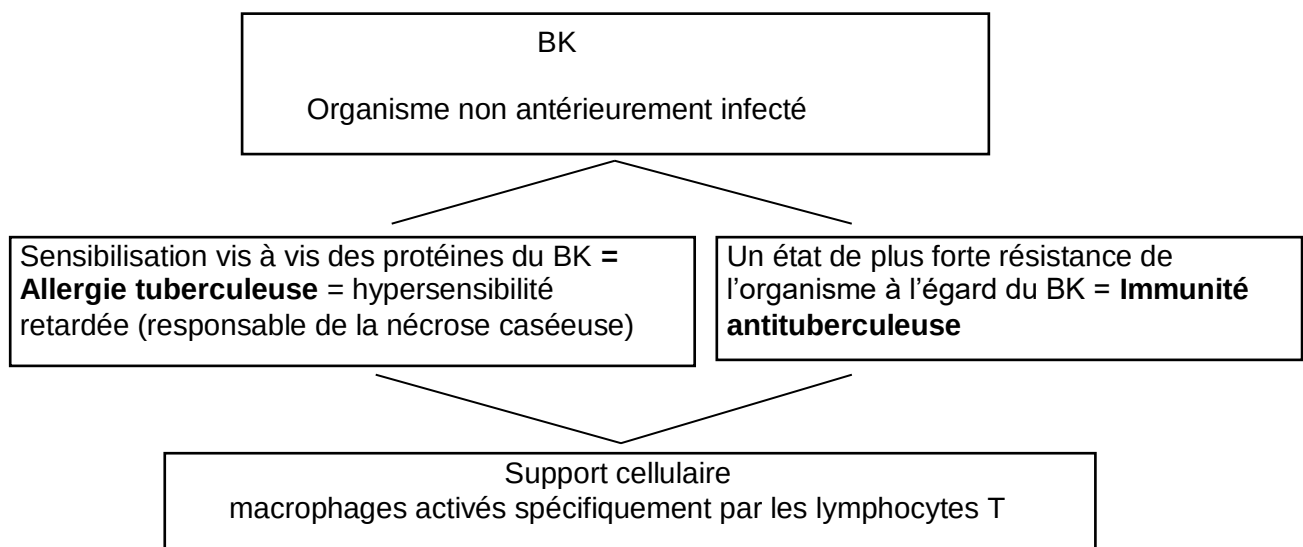


Figure 4 : physiopathologie de la tuberculose

IV. IMMUNITE ET HYPERSENSIBILITE



Les mécanismes de la réaction immunitaire mise en jeu lors de l'infection tuberculeuse sont complexes et pas tous connus :

- Inhibition de la fusion phagolysosomiale des macrophages

- Activation des macrophages par la production d'interféron γ et la prolifération clonale des lymphocytes par l'IL2.
- Augmentation de l'activité métabolique, de la production du $\text{TNF}\alpha$ et la production de composés oxygénés toxiques par les macrophages activés

1. Modèle animal de l'immunité dans la tuberculose :

Le phénomène de Koch

- Inoculation de BK à un cobaye sain $\Rightarrow$ vers 10 - 14^{ème} jour apparition d'un nodule au point d'inoculation, qui va s'ulcérer et persister jusqu'à sa mort.
- Inoculation de BK à un cobaye déjà infecté depuis plusieurs semaines $\Rightarrow$ apparition en 24 - 48 heures d'une réaction indurée et inflammatoire au point de réinoculation. En quelques jours, nécrose de la partie centrale, puis ulcération et enfin guérison rapide et définitive. Ainsi, le cobaye tuberculeux réagit à l'inoculation de *M. tuberculosis* tout autrement que le cobaye sain. Le cobaye sain fait une réaction tardive qui va durer jusqu'à la mort. L'animal déjà infecté fait une réaction précoce mais transitoire. Le fait que la réaction soit précoce traduit un état de sensibilisation vis-à-vis de *M. tuberculosis* ou allergie tuberculeuse. Le fait que la réaction soit transitoire traduit un état d'immunité de surinfection : c'est l'immunité acquise.

2. L'allergie tuberculinique

- Mise en évidence : injection de BK vivants, BK morts ou de tuberculine
- Signification : l'apparition de l'allergie signifie seulement que le sujet est entré en contact avec le BK ou qu'il a été vacciné.

3. L'immunité acquise

C'est une immunité imparfaite : un certain pourcentage de sujets infectés font, malgré le développement de l'immunité acquise, une tuberculose clinique.

V. POUVOIR PATHOGENE

1. Primoinfection tuberculeuse (PIT)

Souvent asymptomatique (90%) sinon un syndrome infectieux modeste et non spécifique

2. Infection tuberculeuse latente (ITL)

3. Tuberculose maladie

3.1. Tuberculose pulmonaire +++ :

Associe : AEG; fébricule; Toux ± hémoptysie avec à la radio pulmonaire : infiltrats, nodules ou cavernes au niveau de la partie postérieure d'un **lobe supérieur**

3.2. Autres formes :

Tuberculose miliaire : dissémination sanguine

Tuberculose extra pulmonaire : **ganglionnaire** (+++ Tunisie), tuberculose méningée, ostéo-articulaire, urogénitale,...

VI. EPIDEMIOLOGIE

1. Transmission

La tuberculose est transmise par **voie aérienne** par l'intermédiaire des microgouttelettes de flüddge (**aérosol <5µm**) émises par un patient bacillifère lors de la parole ou la toux. La contagiosité augmente pour les malades ayant un examen microscopique positif, des cavernes (lésions pulmonaires riches en BK fistulisés dans les bronches) sur la radiothorax, et avec la toux.

L'homme est le réservoir et l'agent de transmission de *M. tuberculosis* et seule la tuberculose pulmonaire est contagieuse.

La contamination par voie digestive est possible suite à l'ingestion de produits laitiers contaminés par *M. bovis*.

2. Fréquence

- Selon l'OMS, il y a dans le **monde 10,4 Millions de nouveaux cas** en 2016 avec 1,7 Millions de décès (3^{ème} cause de décès par maladies infectieuses) avec une grande disparité épidémiologique entre les pays. La **co-infection VIH-tuberculose** représentait 1,2 millions (**11%**) de l'ensemble des nouveaux cas estimés.

La tuberculose est un **problème majeur de santé publique** dans les pays pauvres et en voie de développement (80 % ces cas de TB dans le monde). Dans les pays occidentaux, il y a une réaugmentation de l'incidence annuelle liée à la confection par le VIH.

- En **Tunisie**: la tuberculose est retenue parmi les **priorités de la santé publique** (PNLT: plan national de lutte anti-tuberculeuse, dernières recommandations datent de 2018). La Tunisie est un pays à **endémicité intermédiaire** avec une incidence

enregistrée de **29/100.000habitants en 2017** avec une variabilité entre les régions : Tataouine, Ariana et Tunis ont les incidences les plus élevées.

La tendance, qui était décroissante depuis plusieurs années (taux d'incidence déclarée de 48,6/100.000 habitants en 1975 à 18,9/100.000 en 2002), s'est inversée **à partir de 2003** et on assiste à une **recrudescence de la maladie**. Pour la tuberculose pulmonaire, après une baisse jusqu'en 2002, on assiste depuis 2003 à une certaine stabilisation. Concernant la tuberculose **ganglionnaire**, l'incidence est en nette augmentation. **La tuberculose pulmonaire constitue 38 %** de toutes les formes de la maladie en 2017 alors que la tuberculose extra-pulmonaire représente 62% des cas, la fréquence des formes ganglionnaires est relativement élevée avec une **augmentation** constante passant de 2.3/100.000 en 1993 à 18/100.000 en 2017. ***Mycobacterium bovis*** est responsable de 78,9% des cas de tuberculose ganglionnaire. Ceci serait entre autre, en rapport avec un retard de mise en oeuvre des mesures de lutte contre la tuberculose animale qui est endémique en Tunisie. La tuberculose multi-résistante est rare en Tunisie (13 cas déclarés en 2017).

3. Maladie à déclaration obligatoire

VII. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le **diagnostic bactériologique de la tuberculose maladie est uniquement direct**. Seule la mise en évidence du bacille tuberculeux **confirme** le diagnostic de la tuberculose. Le diagnostic bactériologique comprend obligatoirement un **examen direct** et une **culture** qui permettra d'étudier la sensibilité aux antituberculeux. La détection des bacilles de la tuberculose par amplification génomique (PCR) a actuellement un intérêt surtout en présence de BAAR à l'examen direct. Le diagnostic indirect consiste à la mise en évidence de l'HSR pour le diagnostic d'un CONTACT avec le BK et non la tuberculose maladie.

A. Diagnostic direct

Le diagnostic bactériologique de la tuberculose n'utilise pas les méthodes usuelles de bactériologie. Il a beaucoup de particularités inhérentes aux caractéristiques des mycobactéries :

- croissance lente $\Rightarrow$ incubation prolongée, 2 mois
- exigence $\Rightarrow$ milieux spécifiques très enrichis et complexes

- bactéries dangereuses et contagieuses (classe 3) ⇒ manipulation sous des règles de sécurité strictes (postes de sécurité microbiologiques et classe III et zones de confinement de type 3) pour protéger le personnel

Spécifier sur le bon de demande d'examen bactériologique la recherche de mycobactéries pour que l'examen microscopique par coloration de Ziehl-Neelsen et la culture sur milieu adapté à la recherche de mycobactéries soient réalisés.

1. Prélèvements :

L'émission des BK est intermittente, les prélèvements broncho-pulmonaires et urinaires doivent être si possible répétés 3 fois. Selon les recommandations actuelles de l'OMS et du PNLT2018, le nombre est réduit à 2 **prélèvements** Si une microscopie de bonne qualité est assurée (contrôle de qualité valide).

Le prélèvement peut être conservé à +4° (sans fixation), pendant une période ne dépassant pas une semaine.

1.1. Tuberculose pulmonaire

- Expectorations, Sinon tubage gastrique
- Aspiration bronchique, brossage, lavage broncho-alvéolaire par fibroscopie

1.2. Tuberculose extra-pulmonaire

LCR, liquide pleural, liquide articulaires, urines, fragments biopsiques, Hémocultures (faites sur milieux spécifiques)

2. Examen direct

- Mise en évidence de BAAR par la coloration de Ziehl-Neelsen ou à l'auramine
- **Non spécifique** : Présence de BAAR ® présence d'une mycobactérie et pas de BK
- **Peu sensible** (seuil de détection 10^4 bacilles /ml) ® détecte les cas graves et contagieux
- reste un examen indispensable dans la détection rapide des patients **bacillifères** atteints d'une tuberculose évolutive contagieuse (mesures d'isolement respiratoire, précautions complémentaire type « AIR ») et pour le **suiti du traitement** (levée d'isolement si après 3 semaines de traitement, l'examen direct de 3 prélèvements consécutifs est négatif, échec du traitement si persistance de la positivité).

- **Semi-quantitatif** (présence de BAAR de 1 à 4 croix)

3. Culture

3.1. Mise en culture :

Les produits contenant une flore associée doivent subir une **décontamination** préalable (décontamination par la soude à 4 % puis neutralisation par l'acide sulfurique). Les produits non contaminés par une flore associée sontensemencés directement.

Les milieux de culture utilisés sont complexes, doivent apporter des lipides :

- Les milieux solides (ex Lowenstein Jensen, coagulé à l'œuf), incubé en aérobiose : la culture est lente sur ce milieu (colonies apparaissent qu'après 2 semaines minimum)
- Les milieux liquides (ex MGIT) permettent une culture plus rapide (7 à 10 jours).

3.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

- La méthode des **proportions** est la méthode de référence (détection de < 1 % de mutants résistants signe la sensibilité) : antibiogramme **systématique** pour : Isoniazide, rifampicine, pyrazinamide, éthambutol et streptomycine.
- Méthodes moléculaires : détection des gènes de résistance est de plus en plus utilisé en routine pour la détection de la résistance à la rifampicine et à l'isoniazide.

4. Détection moléculaire par amplification génomique (PCR) :

Afin d'améliorer les performances du diagnostic direct, d'accélérer le diagnostic de la tuberculose et de mettre les patients sous traitement adéquat le plus rapidement possible; des tests moléculaires sont **actuellement recommandés**.

Le test moléculaire le plus utilisé est le test **Xpert MTB/RIF** (recommandé par l'OMS et le PNLT). C'est un test rapide (**2 heures**) qui présente une meilleure sensibilité que la microscopie.

L'amplification génique par PCR du complexe tuberculosis directement dans les prélèvements à visée diagnostique s'avère particulièrement sensible et spécifique dans les prélèvements respiratoires positifs à l'examen microscopique (sensibilité et spécificité voisines de 100%). Elle est moins sensible dans les prélèvements respiratoires négatifs à l'examen microscopique (sensibilité entre 70-80%). Dans les formes extra-pulmonaires de TB qui sont souvent pauci-bacillaires, la sensibilité de la PCR est encore plus faible (environ 50 à 60%).

⇒ **Une PCR négative n'exclut pas le diagnostic de tuberculose ++++**

Les tests moléculaires sont recommandés surtout pour différencier rapidement *M. tuberculosis* d'une mycobactérie atypique en cas de microscopie positive pour commencer rapidement le traitement.

L'OMS recommande le **diagnostic moléculaire de la tuberculose** pour :

- diagnostiquer la **tuberculose pulmonaire**, en priorité chez les patients suspects de tuberculose **multi-résistante** (tout patient ayant déjà eu un traitement anti-tuberculeux dans le passé)
- tuberculose chez l'**enfant**
- patients porteurs de **VIH**
- certaines formes de tuberculoses extra-pulmonaires, la **méningite tuberculeuse** en priorité

B. Diagnostic indirect

- Il n'existe pas de diagnostic sérologique pour la tuberculose.
- Le diagnostic indirect est utilisé pour mettre en évidence l'**hypersensibilité retardée** observée à l'issue d'un contage tuberculeux. Il est indiqué pour le **diagnostic de l'infection tuberculeuse latente**.

LES MYCOBACTÉRIES ATYPIQUES

- Mycobactéries saprophytes ou commensales des animaux
- Pouvoir **pathogène opportuniste** varié : mycobactérioses pulmonaires, ganglionnaires ou cutanées (tableau) chez les immunodéprimés
- Dans les produits pathologiques naturellement contaminés, leur rôle pathogène peut être évoqué, si des bactéries de la même espèce sont isolées en grand nombre, dans plusieurs prélèvements successifs et en l'absence de bacilles de la tuberculose
- Recherche dans les produits pathologiques : même technique que pour le BK. Selon les espèces, les colonies apparaissent en 3 à 6 jours à 6 semaines.

Mycobactéries « atypiques »

Espèce	Pouvoir pathogène attendu
<i>Mycobacterium kansasii</i>	Infections pulmonaires et ostéo-articulaires, voire ganglionnaires
<i>Mycobacterium marinum</i>	Infections cutanées superficielles (granulome des piscines) dans les pays tempérés
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Infections ganglionnaires chez le <i>jeune</i> enfant
<i>Mycobacterium szulgai</i>	Exceptionnellement responsable d'infections pulmonaires, ganglionnaires ou cutanées
<i>Mycobacterium avium</i> <i>intracellulare</i>	Infections pulmonaires mais aussi ganglionnaires, osseuses et articulaires. Agent essentiel des infections généralisées à mycobactéries atypiques chez les sujets atteints de SIDA
<i>Mycobacterium malmoense</i>	Infections pulmonaires et ganglionnaires susceptibles de survenir chez les sujets immunocompétents
<i>Mycobacterium xenopi</i>	la mycobactérie atypique la plus fréquemment responsable d'infections pulmonaires en France chez les sujets immunocompétents
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	Infections cutanées profondes dans les pays tropicaux
<i>Mycobacterium fortuitum</i> ou <i>chelonae</i>	Abcès localisés après injection

MYCOBACTERIUM LEPRAE

Bacille de Hansen

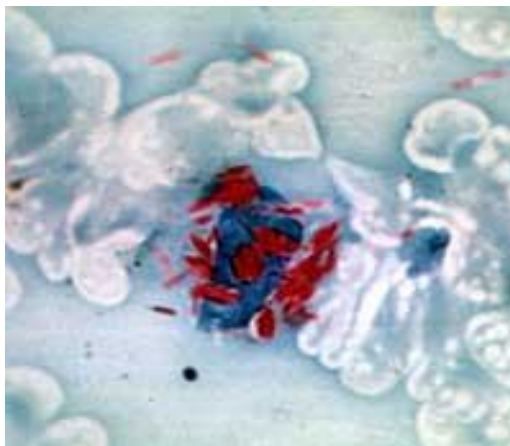
- Bactérie strictement humaine
- Non cultivable sur milieux artificiels et sur cellules. Inoculation dans le coussinet plantaire de la souris (temps de génération : 12 à 14 jours)
- Agent de la lèpre : maladie chronique avec des lésions cutanées et atteintes nerveuses



Patient atteint de Lèpre

- Le diagnostic est basé sur l'examen direct fait sur :
 - des biopsies cutanées
 - suc dermique après scarification du lobule de l'oreille
 - Mucus nasal

Il montre des BAAR isolés ou groupés en amas (en globi) en intracellulaire



Coloration de Ziehl-Neelsen : Bacille de Hansen agglomérés en globi

Evaluation formative

1. Parmi les propriétés suivantes, quelles sont celles qui caractérisent *Mycobacterium tuberculosis*?
 - A. Résistance à la décoloration par les acides forts
 - B. Anaérobiose stricte
 - C. Croissance en 48 heures
 - D. Cultive sur milieu à base d'œuf
 - E. Est sensible à la pénicilline G

2. Parmi les propositions suivantes concernant *Mycobacterium tuberculosis*, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s):
 - A. C'est un bacille à Gram négatif
 - B. Il est inactivé par l'alcool éthylique à 70°
 - C. Il pousse lentement sur gélose au sang
 - D. Le délai d'apparition des colonies sur milieu adapté est supérieur à 15 jours
 - E. Il induit une immunité de type essentiellement cellulaire

3. *Mycobacterium tuberculosis* est résistant à :
 - A. lumière solaire
 - B. dessiccation
 - C. Froid
 - D. Alcool dilué à 70°
 - E. Bases faibles

4. A propos de *Mycobacterium tuberculosis*, quelles sont les propositions exactes ?
 - A. touche surtout les pays en voie de développement
 - B. la primo-infection en général très symptomatique oriente vers le diagnostic
 - C. se multiplie mieux dans les organes oxygénés
 - D. l'infection latente est la forme la plus fréquente
 - E. peut être responsable de méningite lymphocytaire

5. Indiquer la/les proposition(s) exacte(s) concernant *Mycobacterium tuberculosis* :
 - A. L'infection à *M. tuberculosis* fait l'objet d'une déclaration obligatoire
 - B. Le vaccin BCG confère une meilleure protection contre la forme pulmonaire que contre les formes méningées
 - C. le BCG protège à plus de 90 % contre la tuberculose pulmonaire
 - D. la durée habituelle du traitement d'une tuberculose pulmonaire est de deux mois
 - E. Le traitement d'une tuberculose fait parfois appel à l'association de quatre antibiotiques

6. Pourquoi doit-on spécifier la recherche de mycobactéries sur le bon de demande d'examen microbiologique ?

.....

.....

.....
.....

- 7.** Citer 4 caractéristiques de *Mycobacterium tuberculosis* liées à la structure de sa paroi :

.....
.....
.....
.....

- 8.** Décrire la coloration de Gram de *Mycobacterium tuberculosis* :

.....
.....
.....

- 9.** Citer les 2 types d'immunités qui interviennent dans la défense antituberculeuse :

.....
.....
.....

- 10.** Citer l'examen microbiologique qui confirme le diagnostic d'une tuberculose :

.....
.....
.....

LES BACTERIES A DEVELOPPEMENT INTRACELLULAIRE

CHLAMYDIA

Objectifs éducationnels :

- 1- Connaitre la classification des *Chlamydia*.
- 2- Préciser les principaux caractères bactériologiques et le cycle de développement des *Chlamydia*.
- 3- Connaitre le pouvoir pathogène des *Chlamydia* en fonction des espèces et des sérovars.
- 4- Décrire l'épidémiologie et les modes de transmission des *Chlamydia*.
- 5- Déterminer les moyens de diagnostic bactériologique des infections à *Chlamydia*.
- 6- Préciser la sensibilité aux antibiotiques des *Chlamydia*.

Pré-test :

- Quelles sont les espèces de *Chlamydia* qui sont impliquées en pathologie humaine ?
- Est-ce-que l'infection uro-génitale à *Chlamydia trachomatis* est une infection sexuellement transmissible (IST) ?

1- INTRODUCTION :

Les *Chlamydia* sont des bactéries à **développement intracellulaire obligatoire**. Ce sont des **bactéries pathogènes spécifiques** rencontrées chez l'homme et l'animal. Deux espèces sont spécifiquement humaines, ***Chlamydia trachomatis*** responsable de trachome, infections urogénitales sexuellement transmissibles (IST) et de lymphogranulomatose vénérienne (LGV) et ***Chlamydia pneumoniae*** biovar TWAR responsable d'infections respiratoires (pneumopathies atypiques communautaires). Une troisième espèce d'origine aviaire, ***Chlamydia psittaci***, peut occasionnellement provoquer des pneumopathies sévères chez l'homme.

2- TAXONOMIE :

La famille des *Chlamydiaceae* comprend un seul genre *Chlamydia* et 9 espèces

dont trois sont pathogènes pour l'homme.

L'espèce ***C. trachomatis***, **strictement humaine**, est divisée en deux biovars, trachoma et lymphogranuloma venereum (LGV) et 19 sérovars. Le biovar trachoma comprend 15 sérovars : A, B, Ba, C, D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J et K et le biovar LGV comprend 4 sérovars : L1, L2, L2a et L3.

L'espèce ***C. pneumoniae*** a été isolée principalement chez l'homme, mais aussi le koala et le cheval. Suivant la spécificité d'hôte, les souches ont été regroupées en trois biovars : **TWAR, spécifiquement humain**, et Koala et Equine.

Les autres espèces sont isolées chez l'animal. ***C. psittaci***, **d'origine aviaire**, est retrouvée accidentellement chez l'homme.

Les espèces de *Chlamydia* pathogènes pour l'homme

Famille	<i>Chlamydiaceae</i>				
Genre	<i>Chlamydia</i>				
Espèce	<i>trachomatis</i>			<i>pneumoniae</i>	<i>psittaci</i>
Hôte	Homme			Homme (biovar TWAR)	Oiseaux, Mammifères, Homme
Sérovars	A, B, Ba et C	D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J et K	L1, L2, L2a et L3.	1	Nombreux
Pouvoir pathogène	Trachome	Infections : - Uro-génitales - Oculaires - Pulmonaires (nouveau-né)	Lymphogranulomatose vénérienne	Infections broncho-pulmonaires	Psittacose
Transmission	Indirecte	- Relations sexuelles (IST) - Mère-N. né	Relations sexuelles (IST)	Voie aérienne	Voie aérienne

3- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES :

La bactérie existe essentiellement sous deux formes, le **corps élémentaire (CE)** et le **corps réticulé (CR)**.

Le **CE** est adapté au transit extracellulaire et est incapable de se multiplier. Il constitue la **forme infectieuse**.

Le **CR** est adapté au milieu intracellulaire et constitue la **forme métaboliquement active** de la bactérie. Il est non infectieux.

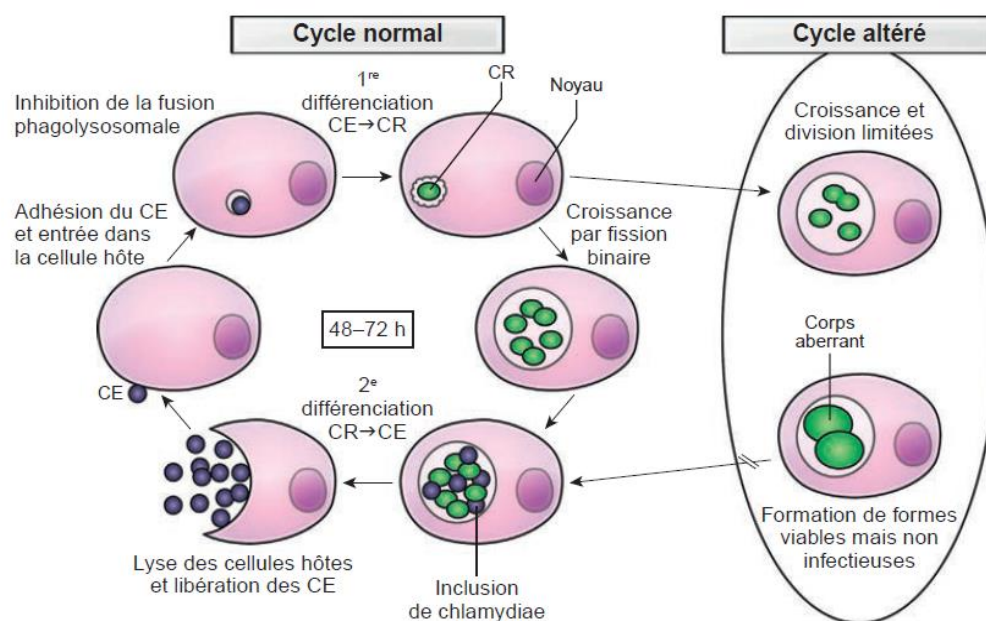
Le cycle de développement des *Chlamydiae* est unique dans le monde bactérien. Il est identique quelle que soit l'espèce. Ce cycle comprend plusieurs étapes et il dure 48H à 72H :

1. Attachement initial du CE à la cellule hôte
2. Entrée du CE dans la cellule hôte. L'internalisation s'achève par la formation d'une inclusion dans le cytoplasme de la cellule hôte
3. Différenciation des CE en CR et multiplication des CR dans une inclusion cytoplasmique caractéristique de l'infection
4. Différenciation des CR en CE
5. Relargage des CE par éclatement de la cellule

Dans certaines conditions, en particulier en présence de cytokines comme l'interféron, le cycle de développement est altéré. Le CR ne se transforme pas en CE mais persiste dans une forme altérée, appelée **corps aberrant**. La bactérie ne peut plus se multiplier mais sa persistance contribuerait à l'installation d'une infection chronique responsable de séquelles caractéristiques, de diagnostic et de traitement difficile telle que la stérilité tubaire.

Ce cycle de développement spécifique, particulièrement lent explique :

- Le **caractère subaiguë et insidieux des infections à Chlamydia**
- La fréquence des **formes asymptomatiques** et des **complications**
- La nécessité **d'une antibiothérapie prolongée** avec des molécules **actives en intracellulaire**



Cycle de développement des *Chlamydia*.

CE : corps élémentaire ; CR : corps réticulé (livre de Bactériologie Médicale 3^{ème} édition)

4- POUVOIR PATHOGENE :

- ***C. trachomatis* de sérovars A, B, Ba, C :**

Ces souches sont responsables de **trachome** qui est une kératoconjonctivite folliculaire, chronique et contagieuse dont la complication majeure est la cécité.

- ***C. trachomatis* de sérovars D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J et K :**

Ces souches sont responsables d'**infections urogénitales sexuellement transmissibles (IST)**. Il s'agit chez l'homme d'urétrite subaigüe avec le risque de complication à type d'orchite et d'orchépididymite. Chez la femme, ces souches sont à l'origine d'une cervicite pouvant se compliquer de salpingite dont les conséquences sont la stérilité d'origine tubaire, la grossesse extra-utérine et le S^d de Fitz-Hugh-Curtis (périhépatite à *C. trachomatis*). (Voir cours les IST)

Ces sérovars peuvent entraîner des **infections néonatales** par transmission verticale lors de l'accouchement avec le risque de conjonctivite et de pneumopathie néonatale.

Ces souches de *C. trachomatis* sont en plus responsables de **conjonctivite** par auto-inoculation à partir d'un foyer génital. L'infection peut disséminer et donner un tableau de Fiessenger-Leroy-Reiter associant urétrite, arthrite et conjonctivite.

- ***C. trachomatis* de sérovars L1, L2, L2a et L3 :**

Ces souches sont responsables de la **lymphogranulomatose vénérienne (LGV)** ou maladie de Nicolas-Favre. La LGV débute par un chancre génital ou parfois ano-rectal qui passe souvent inaperçu et évolue vers une atteinte ganglionnaire puis des lésions destructrices. (Voir cours les IST)

- ***C. pneumoniae* :**

C. pneumoniae biovar TWAR est responsable d'**infections respiratoires hautes** (sinusites, pharyngites...) et d'**infections respiratoires basses** (bronchites et **pneumopathies atypiques+++**).

- ***C. psittaci* :**

Chez l'homme, l'infection à *C. psittaci* survient accidentellement chez des sujets travaillant en contact avec des oiseaux. La maladie peut aller d'une **forme pseudo-grippale** à une **pneumopathie atypique sévère voire mortelle**

(psittacose, ornithose) avec risque de complications neurologiques, hépatiques, rénales...

5- EPIDEMIOLOGIE :

Le trachome est la principale cause de cécité évitable dans le monde. La maladie survient là où les gens vivent dans des conditions de surpeuplement avec un accès limité à l'eau. Le trachome est endémique en Asie et en Afrique subsaharienne. En Tunisie, il est presque totalement éradiqué.

C. trachomatis est l'un des principaux agents bactériens responsables d'IST.

Les infections urogénitales à *C. trachomatis* ont une répartition mondiale avec une incidence plus élevée dans les pays industrialisés. L'IST à *C. trachomatis* est un problème de santé publique. En effet, l'infection est asymptomatique, latente et persistante avec des complications fréquentes (salpingite, épididymite...) à l'origine d'infertilité. (Voir cours les IST)

En cas d'IST à *C. trachomatis* chez la mère, le taux de contamination du nouveau-né à la naissance est élevé, de 50 à 70 %. Parmi les nouveau-nés contaminés, plus de 50 % présentent une conjonctivite, environ 20 % une pneumopathie et les autres restent asymptomatiques.

La LGV est une IST très répandue dans les régions tropicales, plus rare dans les pays industrialisés où elle atteint essentiellement les homosexuels. Une recrudescence de l'infection anorectale chez les homosexuels est notée en Europe notamment chez les patients VIH positif. (Voir cours les IST)

L'infection à *C. pneumoniae* est largement répandue dans le monde entier et la primo-infection est précoce dans l'enfance. Le seul réservoir de *C. pneumoniae* biovar TWAR est humain et la transmission se fait de personne à personne par voie aérienne.

La psittacose est une maladie rare. Il s'agit d'une maladie professionnelle qui touche des sujets travaillant dans la filière aviaire. L'homme peut se contaminer par contact direct avec les oiseaux porteurs de la bactérie ou par inhalation de poussières contaminées.

6- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

6-1- Diagnostic bactériologique direct :

Le diagnostic bactériologique direct repose sur la mise en évidence de la bactérie, de ses antigènes ou de son ADN.

Prélèvements :

Le prélèvement doit être fait **avant toute antibiothérapie** et doit être **riche en cellules**.

Pour les prélèvements effectués à l'écouvillon, il faut utiliser des écouvillons spéciaux, en alginate ou en nylon.

Les milieux de transport et les conditions de transport du prélèvement doivent être adaptés à la technique de détection utilisée. Seule la culture exige des conditions strictes de transport (milieux de transport /délai et température de transport / prélèvement ramenant des cellules infectées) de manière à ne pas affecter la viabilité de la bactérie.

➤ Les prélèvements à la recherche de *C. trachomatis* sont variés :

- Trachome / infections oculaires : **prélèvement conjonctival**
- Infections uro-génitales (IST) :
 - Homme : **prélèvement urétral, 1^{er} jet d'urines, sperme**
 - Femme : **prélèvement endocervical, 1^{er} jet d'urines, prélèvements peropératoires des voies génitales hautes, liquide péritonéal...**
- Infections du nouveau-né : **prélèvements conjonctivaux et respiratoires**
- Lymphogranulomatose vénérienne : prélèvements des **ulcérations génitales** ou **biopsies ganglionnaires** chez l'homme et la femme

➤ Dans le cadre de l'infection respiratoire, *C. pneumoniae* et *C. psittaci* peuvent être recherchées dans les **aspirations broncho-alvéolaires** et les **prélèvements naso-pharyngés**.

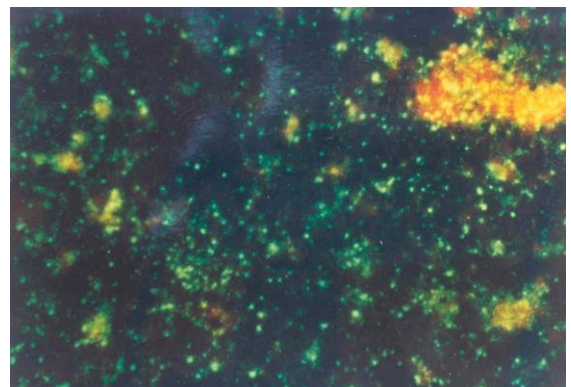
Techniques de diagnostic :

- **Culture cellulaire** : c'est la technique de référence. Elle est spécifique mais peu sensible. Cette technique est réservée à des laboratoires spécialisés.
- **Détection des antigènes par Immunofluorescence directe (IFD)** utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques d'espèces marqués à la fluorescéine
- **Biologie moléculaire (PCR)** : c'est la **technique la plus utilisée** actuellement. Elle est très sensible et spécifique.

6-2- Diagnostic bactériologique indirect : Sérodiagnostic :

Le sérodiagnostic consiste en la mise en évidence des anticorps circulants. Ses indications sont les infections profondes et /ou compliquées accompagnées d'une réponse immune. Son interprétation exige des techniques spécifiques permettant de distinguer les anticorps spécifiques des différentes espèces. Pour *C. trachomatis*, le sérodiagnostic est indiqué dans les infections génitales hautes et compliquées (salpingite, stérilité ...). Pour *C. pneumoniae* et *C. psittaci*, le sérodiagnostic est la méthode la plus utilisée pour confirmer le diagnostic. La présence des anticorps de la classe des IgM ou une élévation significative du taux des anticorps sur deux sérums prélevés à 15 j d'intervalle est nécessaire.

- La micro-immunofluorescence (MIF) est une technique d'immunofluorescence indirecte. C'est la **technique de référence** pour le sérodiagnostic des *Chlamydia*. Cependant, elle est d'interprétation difficile du fait des **réactions croisées** entre les différentes espèces.



Micro-immunofluorescence (MIF) : réaction positive

- La technique immuno-enzymatique (ELISA) utilise des antigènes spécifiques de *C. trachomatis* donc permet un **diagnostic spécifique d'espèce**.

7- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES :

L'étude de la sensibilité de *Chlamydia* aux antibiotiques (culture cellulaire en présence de concentrations croissantes d'antibiotique) ne se fait pas en routine.

Les *Chlamydia* présentent une résistance naturelle aux antibiotiques actifs sur la paroi, car dépourvues de peptidoglycane (β -lactamine, glycopeptides), aux aminosides, à la colistine...

Peu d'antibiotiques sont naturellement actifs sur *Chlamydia*. Les **antibiotiques actifs** sont ceux ayant une bonne pénétration cellulaire tels les **tétracyclines**, les **macrolides**, les **fluoroquinolones** et la **rifampicine**. Les résistances acquises sont exceptionnelles.

MYCOPLASMA

Objectifs éducationnels :

1. Connaitre la classification des mycoplasmes.
2. Préciser les principaux caractères bactériologiques des mycoplasmes
3. Connaître le pouvoir pathogène des différentes espèces de mycoplasmes.
4. Préciser l'épidémiologie des infections à mycoplasmes.
5. Préciser les moyens de diagnostic bactériologique des infections à mycoplasmes.
6. Connaitre la sensibilité aux antibiotiques des mycoplasmes.

Pré-test :

- Citer une espèce de mycoplasmes responsable d'infections respiratoires et une espèce responsable d'infections uro-génitales.
- Est-ce-que l'infection uro-génitale à *Mycoplasma genitalium* est une infection sexuellement transmissible (IST) ?

1- INTRODUCTION :

Les mycoplasmes sont les **plus petits procaryotes capables de multiplication autonome**. Ce sont des bactéries à **développement intracellulaire facultatif**. Ils sont dépourvus de paroi, d'où un aspect polymorphe et une résistance aux β -lactamines.

Les mycoplasmes sont largement répandus dans la nature. Seules certaines espèces sont pathogènes pour l'homme.

2- TAXONOMIE :

Les mycoplasmes appartiennent à la classe des *Mollicutes* (de *mollis cutis* : peau molle), ordre des *Mycoplasmatales* et famille des *Mycoplasmataceae*.

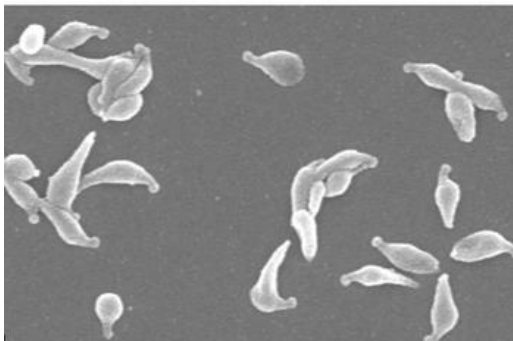
Les espèces commensales et/ou ayant un pouvoir pathogène chez l'homme appartiennent au genre ***Mycoplasma*** (*M. pneumoniae*, *M. hominis*, *M. genitalium*) et au genre ***Ureaplasma*** (*U. urealyticum* et *U. parvum*).

3- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES :

Les mycoplasmes sont des bactéries polymorphes de très petite taille non colorables par la coloration de Gram (car dépourvus de paroi).

Les mycoplasmes exigent pour leur culture des milieux complexes. La croissance, relativement aisée pour *M. hominis*, *U. urealyticum* et *U. parvum* (environ 48 heures), est difficile et lente pour *M. pneumoniae* (6 à 20 jours). *M. genitalium* n'est pas cultivable.

La croissance des mycoplasmes en milieu liquide se traduit par le virage d'un indicateur coloré dû à l'hydrolyse soit de l'urée (genre *Ureaplasma*) soit de l'arginine (genre *Mycoplasma*). Sur gélose, ils donnent de petites colonies visibles à la loupe binoculaire.



Observation des mycoplasmes
au microscope électronique



4- POUVOIR PATHOGENE :

M. pneumoniae a un pouvoir pathogène certain et n'appartient pas à la flore commensale des voies respiratoires. Cette bactérie est responsable d'**infections respiratoires** (trachéobronchites et **pneumopathies atypiques+++**) pouvant être associées à des **manifestations extra-respiratoires** : cutanées, cardiaques, neurologiques...

Les mycoplasmes uro-génitaux (*M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* et *U. parvum*) sont responsables d'**infections uro-génitales** (urétrites chez l'homme, cervicites, endométrites et salpingites chez la femme), **troubles de la reproduction** (infections du post-partum, chorioamniotites), **prématurité et**

infections néonatales (pneumonies, bactériémies ...). La présence des mycoplasmes uro-génitaux à l'état commensal dans les voies génitales (à l'exception de *M. genitalium*) rend délicate l'appréciation de leur pouvoir pathogène.

5- EPIDEMIOLOGIE :

M. pneumoniae est le 2^{ème} agent responsable de pneumopathies communautaires bactériennes après le pneumocoque. Cette bactérie touche surtout l'enfant âgé de plus de 5 ans et l'adulte jeune de façon endémique avec des poussées épidémiques. La transmission est aérienne interhumaine.

M. hominis, *U. urealyticum* et *U. parvum* sont **commensaux des voies génitales basses**. Cette colonisation est variable selon l'âge, les facteurs hormonaux, l'activité sexuelle...

M. genitalium **n'est pas commensal des voies génitales** et c'est le seul mycoplasme considéré comme agent d'infections sexuellement transmissibles (IST).

6- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

➤ *Mycoplasma pneumoniae* :

Diagnostic bactériologique direct :

Les prélèvements à la recherche de *M. pneumoniae* doivent être **riches en cellules** (prélèvement de gorge, aspiration naso-pharyngée, lavage broncho-alvéolaire...)

Le diagnostic direct des infections à *M. pneumoniae* repose sur la **biologie moléculaire (PCR) +++**. La culture est rarement pratiquée en raison des délais nécessaires et de sa faible sensibilité.

Diagnostic bactériologique indirect :

La **sérologie** est la méthode la plus utilisée pour le diagnostic d'infection à *M. pneumoniae*. Les techniques employées sont l'agglutination de particules de latex sensibilisées et l'ELISA. L'interprétation nécessite 2 sérums prélevés à 15 jours d'intervalle.

➤ Mycoplasmes uro-génitaux

Diagnostic uniquement direct++

Les prélèvements doivent être **riches en cellules**. La recherche des mycoplasmes uro-génitaux se fait à partir des prélèvements suivants :

- Chez l'homme : **prélèvement urétral, 1er jet d'urines, sperme...**
- Chez la femme : **prélèvement cervico-vaginal, 1er jet d'urines, prélèvement endométrial, brossage tubaire...**
- N.né: **liquide amniotique, placenta, prélèvement endotrachéal...**

Pour la culture, ces prélèvements seront mis dans un milieu de transport. Pour la PCR, il n'est pas nécessaire d'utiliser un milieu de transport.

Pour la recherche d'*U. urealyticum*, *U. parvum* et *M. hominis*, la **culture** dans des milieux liquides spécifiques (**galeries commercialisées**) est recommandée. Ces galeries commercialisées permettent une quantification des mycoplasmes (seuil de positivité : $\geq 10^4$ UCC/ml) et l'étude de la sensibilité aux **antibiotiques habituellement actifs** : **cyclines, fluoroquinolones et macrolides**.



Galleries commercialisées pour l'identification, la quantification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des mycoplasmes

Les méthodes moléculaires n'ont d'intérêt pour la recherche d'*U. urealyticum*, *U. parvum* et *M. hominis* qu'à partir des échantillons où ces bactéries sont difficiles à mettre en évidence.

Pour la recherche de *M. genitalium* (non cultivable), la **biologie moléculaire** est la seule méthode diagnostique utilisée.

7- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES :

Les mycoplasmes résistent naturellement à tous les antibiotiques agissant sur la biosynthèse du peptidoglycane (β -lactamines...). Les antibiotiques actifs, utilisables en thérapeutique sont les tétracyclines, les macrolides et les fluoroquinolones. Les résistances acquises à ces antibiotiques sont surtout fréquentes chez les mycoplasmes uro-génitaux.

RICKETTSIA

Objectifs éducationnels :

1. Connaître les groupes de rickettsies et les principales espèces responsables de rickettsioses.
2. Connaître les principaux caractères bactériologiques des rickettsies.
3. Préciser le pouvoir pathogène des rickettsies.
4. Décrire l'épidémiologie et les modes de transmission des rickettsies.
5. Déterminer les moyens de diagnostic bactériologique des rickettsioses.
6. Connaître le principal antibiotique actif sur les rickettsies.

Pré-test :

- Quels sont les vecteurs impliqués dans la transmission des rickettsies ?
- Est-ce-que la rickettsiose existe encore en Tunisie ?

1- INTRODUCTION :

Les rickettsies sont de petites bactéries à **développement intracellulaire obligatoire**, transmises à l'homme par des **arthropodes** qui agissent comme réservoirs et/ou vecteurs.

Les rickettsioses sont des maladies infectieuses émergentes dont l'épidémiologie et le pouvoir pathogène sont variables en fonction de l'espèce des rickettsies en cause.

En Tunisie, la fièvre boutonneuse méditerranéenne due à l'espèce *Rickettsia conorii* est la rickettsiose la plus fréquente.

2- TAXONOMIE :

Les rickettsies appartiennent à la famille des *Rickettsiaceae*, genre *Rickettsia*

Les rickettsies sont classées en deux grands groupes :

- Le groupe des typhus comprenant 2 espèces : *R. prowazekii* et *R. typhi*.
- Le groupe des fièvres boutonneuses comprenant plus de 20 espèces dont les 2 espèces les plus fréquentes : *R. rickettsii* et *R. conorii*.

3- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES :

Les rickettsies sont de petites bactéries à multiplication intracellulaire obligatoire. Bien que la composition de leur paroi soit proche de celle des bactéries à Gram négatif, elles prennent mal la coloration de Gram. Elles sont colorables par la coloration de Gimenez.

4- POUVOIR PATHOGENE :

Le pouvoir pathogène est variable en fonction de l'espèce des rickettsies en cause. Ces bactéries sont à l'origine de fièvre, escarre d'inoculation (*Rickettsia* du groupe des fièvres boutonneuses), éruption cutanée, manifestations neurologiques (*Rickettsia* du groupe des typhus) pouvant être associés à d'autres manifestations systémiques. (Voir cours les fièvres éruptives)

5- EPIDEMIOLOGIE :

Les rickettsioses sont des **maladies infectieuses émergentes**. Les rickettsies sont cosmopolites et infectent de nombreux animaux qui constituent un réservoir naturel. Elles infectent aussi de nombreux arthropodes qui peuvent être vecteurs et réservoirs. Les arthropodes interviennent dans la transmission inter-animale, de l'animal à l'homme ou interhumaine.

Les bactéries du groupe des typhus sont transmises par le **pou de corps** (*R. prowazekii*) et la **puce du rat** (*R. typhi*). Ces bactéries sont retrouvées dans les **pays de faible niveau socio-économique**.

Les bactéries du groupe des fièvres boutonneuses sont transmises par des **tiques**, qui sont vecteurs et réservoirs. La répartition géographique de ces bactéries est le reflet de celle de leurs vecteurs. ***R. conorii*** responsable de la **fièvre boutonneuse méditerranéenne** est la **plus fréquente dans le pourtour méditerranéen** (y compris la Tunisie) et la maladie sévit essentiellement à la fin du printemps, en été et au début de l'automne.



**Fièvre boutonneuse méditerranéenne : transmission par la tique
Rhipicephalus sanguineus à partir du chien**

6- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE :

- Le diagnostic direct permet la détection des rickettsies dans les **biopsies** (peau, ganglion, foie...). Ce diagnostic direct est basé essentiellement sur la **biologie moléculaire (PCR)++** alors que la **culture cellulaire** reste réservée à des **laboratoires spécialisés**.
- Le diagnostic bactériologique des rickettsioses est en général un diagnostic indirect (sérologie). L'**Immunofluorescence indirecte (IFI)** est la technique de référence pour le sérodiagnostic.

7- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES :

Les rickettsies sont résistantes aux antibiotiques de la famille des β -lactamines, aux aminosides et au triméthoprim-sulfaméthoxazole. La **doxycycline** est le **traitement de choix**.

COXIELLA BURNETII

Objectifs éducationnels :

1. Connaître les principaux caractères bactériologiques de *Coxiella burnetii*.
2. Préciser le pouvoir pathogène de *Coxiella burnetii*.
3. Connaître le réservoir et le principal mode de transmission de *Coxiella burnetii*.
4. Déterminer les moyens de diagnostic bactériologique des infections à *Coxiella burnetii*.
5. Connaître les antibiotiques actifs sur *Coxiella burnetii*.

Pré-test :

Quel est le principal réservoir de *Coxiella burnetii* ?

Quelle est la maladie causée par *Coxiella burnetii* ?

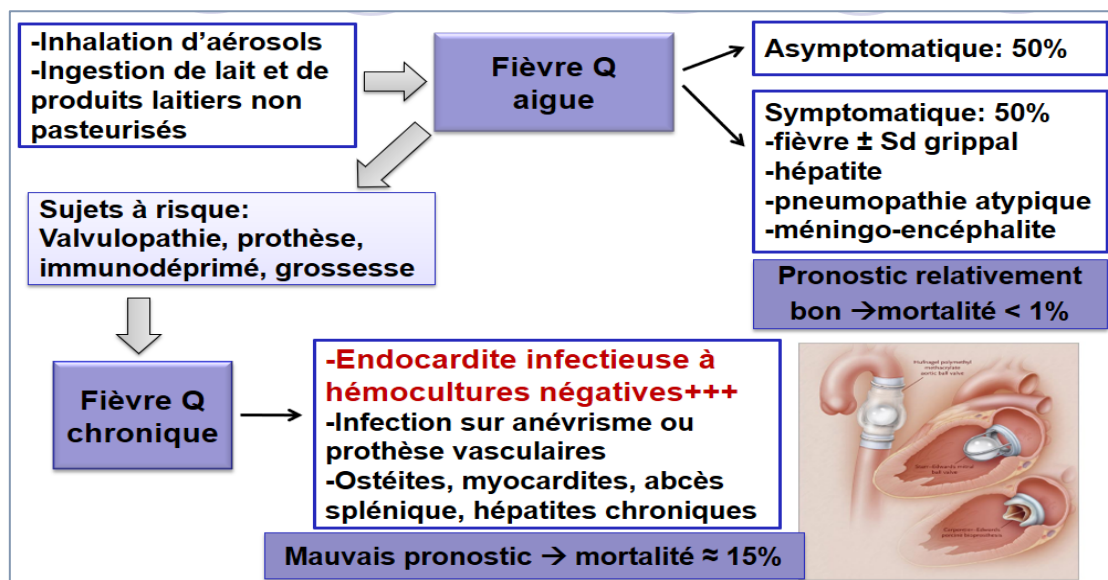
Coxiella burnetii est une **bactérie intracellulaire obligatoire**. C'est la seule espèce du genre *Coxiella*, famille des *Coxiellaceae*.

Coxiella burnetii a une structure proche de celle des bactéries à Gram négatif mais elle n'est pas colorable par la coloration de Gram. Elle prend bien la coloration de Gimenez.

Cette bactérie est responsable de la **fièvre Q** qui est une zoonose ubiquitaire touchant surtout les personnes en contact avec les animaux.

Le principal réservoir de *C. burnetii* sont les mammifères surtout domestiques (ovins, caprins, bovins...) qui éliminent la bactérie dans leur environnement. Cette bactérie est très résistante dans le milieu extérieur. L'homme se contamine principalement par **inhalation de particules infectieuses**, beaucoup plus rarement par ingestion d'aliments contaminés.

C. burnetii est hautement infectieuse et une seule bactérie peut occasionner une infection : la **fièvre Q aiguë** qui peut évoluer vers la chronicité chez des patients à risque. La **fièvre Q chronique** est définie comme la persistance de l'infection pendant une période de plus de 6 mois.



Pouvoir pathogène de *C. burnetii*

- Le diagnostic bactériologique direct peut être réalisé sur **tout type de prélèvement** : sang, biopsies (hépatiques, pulmonaires...), prélèvements chirurgicaux (valves, prothèses...).

La **culture cellulaire** n'est pratiquée que dans des **laboratoires spécialisés** (caractère hautement infectieux de la bactérie).

La **biologie moléculaire (PCR)++** est la technique la plus sensible pour poser le diagnostic d'infection à *C. burnetii*. Elle peut être réalisée sur tout type de prélèvement et elle est très utile lorsqu'elle est appliquée à une valve cardiaque en cas d'endocardite à hémocultures négatives.

- Le diagnostic bactériologique indirect (sérologie) est la **méthode la plus couramment utilisée** pour poser le diagnostic d'infection à *C. burnetii*. L'**Immunofluorescence indirecte (IFI)** est la technique de référence pour le sérodiagnostic. *C. burnetii* est sujette à une variation de phases ; elle exprime 2 phases antigéniques (phase I et phase II). Les anticorps anti- *C. burnetii* phase II sont élevés lors de la fièvre Q aiguë alors que les anticorps anti- *C. burnetii* phase I sont élevés lors de la fièvre Q chronique.

Concernant la sensibilité aux antibiotiques, seuls les antibiotiques à bonne pénétration et ayant une bonne activité à l'intérieur des cellules eucaryotes sont actifs : tétracyclines, fluoroquinolones, rifampicine et cotrimoxazole. L'activité des macrolides est variable d'une souche à l'autre.

BARTONELLA

Objectifs éducationnels :

1. Connaitre les principaux caractères bactériologiques de *Bartonella*.
2. Préciser le pouvoir pathogène et le mode de transmission des deux espèces de *Bartonella* les plus isolées chez l'homme.
3. Déterminer les moyens de diagnostic bactériologique des infections à *Bartonella*.
4. Connaitre les antibiotiques actifs sur *Bartonella*.

Pré-test :

Quelle est la maladie causée par *Bartonella henselae* ?

Bartonella est une bactérie à **multiplication intracellulaire facultative**. Il s'agit de bacilles à Gram négatif difficiles à mettre en évidence à la coloration de Gram. Ils sont colorables par la coloration de Gimenez.

Le genre *Bartonella* regroupe plus de 15 espèces. Les deux espèces les plus fréquemment isolées chez l'homme :

- *B. henselae* : c'est l'agent de la maladie des griffes de chat. Cette bactérie peut être responsable d'autres types d'infections. La contamination de l'homme se fait par griffure ou morsure de chat. (Voir cours les maladies d'inoculation).
 - *B. quintana* : cette bactérie est responsable **d'endocardites infectieuses à hémocultures négatives**, angiomatose bacillaire et septicémies chez les sujets sans domicile fixe (SDF) et HIV positifs.... La transmission à l'homme se fait par le pou de corps.
- Le diagnostic bactériologique direct se fait sur **biopsies ganglionnaires, sang, valves cardiaques....**
- La **Culture sur gélose au sang** est très lente.
- La **culture cellulaire** reste réservée à des **laboratoires spécialisés**.

La **biologie moléculaire (PCR)** est la **technique la plus sensible pour le diagnostic direct** des infections à *Bartonella*.

- Le diagnostic bactériologique indirect (sérologie) est la **méthode la plus couramment utilisée**. La technique de référence est l'**Immunofluorescence indirecte (IFI)**.

La sensibilité in vitro des bartonelles aux différents antibiotiques ne corrèle pas avec la réponse clinique au traitement. In vitro, *Bartonella* est sensible à la plupart des β -lactamines, aux aminosides, aux macrolides, aux tétracyclines et à la rifampicine.

LEGIONELLA

Objectifs éducationnels :

- 1- Connaitre la classification des légionnelles.
- 2- Préciser les principaux caractères bactériologiques des légionnelles.
- 3- Connaître le pouvoir pathogène des légionnelles.
- 4- Décrire l'épidémiologie et le mode de transmission des légionnelles.
- 5- Déterminer les moyens de diagnostic bactériologique des infections à *Legionella*.
- 6- Préciser la sensibilité aux antibiotiques des légionnelles.

Pré-test :

Quelle est la voie de contamination de l'homme par les légionnelles ?
Est-ce-que l'infection à *Legionella* est une maladie à déclaration obligatoire ?

Les légionnelles sont des bacilles à Gram négatif à **développement intracellulaire facultatif**.

Legionella est le seul genre de la famille des *Legionellaceae*. Ce genre comprend plus que 50 espèces. Chez l'homme, l'espèce ***Legionella pneumophila*** est responsable de la grande majorité des cas de légionelloses (95 % environ). Cette espèce comprend 16 sérogroupes. Les infections humaines sont généralement dues à ***Legionella pneumophila* sérogroupe 1**.

Le réservoir naturel des légionnelles est hydro-tellurique (milieux aquatiques, sols humides...). Les amibes interviennent dans la survie et la dissémination de ces bactéries.

Le réservoir artificiel comprend les systèmes de climatisation, les réseaux de distribution d'eau...

La seule voie de contamination de l'homme est aérienne par **inhalation d'aérosols contaminés** ; pas de contamination interhumaine.

La légionellose est une **maladie à déclaration obligatoire**. La plupart des cas sont sporadiques, les cas groupés (définis par au moins deux cas, survenus dans un intervalle de temps et d'espace géographique susceptible d'impliquer une source commune de contamination) correspondent à des épidémies survenant dans des hôpitaux (infection nosocomiale), des hôtels...

Legionella est responsable de **trois entités cliniques** : la maladie des légionnaires (pneumonie aigue sévère, confusions, troubles digestifs, cytolysse hépatique, hyponatrémie et atteinte rénale), la fièvre de Pontiac (syndrome pseudogrippal sans pneumonie) et les formes extrapulmonaires (neurologiques, cardiaques, digestives, rénales...) touchant surtout des patients immunodéprimés.

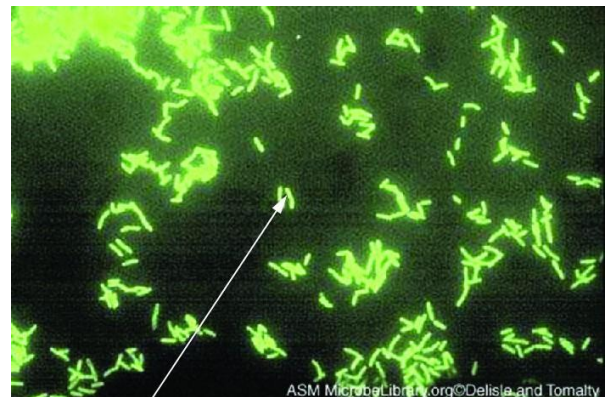
▪ **Diagnostic bactériologique direct :**

- Détection des antigènes urinaires : c'est le **test diagnostique de première ligne** vu sa rapidité (15 min à 4 h), la simplicité de sa réalisation et sa bonne spécificité. Les tests les plus couramment utilisés sont fondés sur des techniques d'immunochromatographie ou immunoenzymatiques ciblant principalement *L. pneumophila* serogroupe 1.
- Les **autres techniques de diagnostic direct** se font sur des **prélèvements respiratoires bas** (crachats, aspiration bronchique, LBA...). Des échantillons autres que respiratoires peuvent être prélevés dans le cadre de légionellose extrapulmonaire.
 - La culture bactérienne est la méthode de référence permettant l'isolement de la souche pour la réalisation d'un typage en vue d'une enquête épidémiologique. Cependant, elle est **difficile et lente**, nécessite des milieux spécifiques et elle a une faible sensibilité. La réalisation d'antibiogramme sur une souche de *Legionella* n'est pas recommandée car l'acquisition de résistance aux antibiotiques reste exceptionnelle (antibiotiques actifs : macrolides, fluoroquinolones, rifampicine).

- L'Immunofluorescence directe (IFD) se base sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques de *L. pneumophila*. C'est une technique rapide mais de **sensibilité et spécificité faibles**.
- La biologie moléculaire (PCR) a une **bonne sensibilité** et permet de détecter toutes les espèces de *Legionella* et tous les sérogroupes de *L. pneumophila*.



Détection des antigènes urinaires de
L. pneumophila séroroupe 1 par
immunochromatographie



Immunofluorescence directe
(IFD)

▪ Diagnostic bactériologique indirect :

L'**Immunofluorescence indirecte (IFI)** est la méthode de référence. Elle ne permet qu'un diagnostic rétrospectif. Deux prélèvements à 2-3 semaines d'intervalle sont nécessaires pour l'interprétation (montée tardive des anticorps) .

L'étude in vitro de la sensibilité aux antibiotiques des légionelles ne peut être directement corrélée avec l'activité clinique des molécules. Les antibiotiques efficaces sont les macrolides, fluoroquinolones et rifampicine.

BORDETELLA

Objectifs éducationnels :

- 1- Connaitre les 2 espèces de *Bordetella* responsables de la coqueluche.
- 2- Préciser les principaux caractères bactériologiques de *Bordetella*.
- 3- Décrire l'épidémiologie et la voie de transmission de la coqueluche.
- 4- Déterminer les moyens de diagnostic bactériologique de la coqueluche.
- 5- Connaitre le principal antibiotique actif sur *Bordetella*.

Pré-test :

La vaccination contre la coqueluche fait partie du calendrier vaccinal Tunisien. Pourquoi la coqueluche existe encore en Tunisie ?

Les bactéries du genre *Bordetella* sont de petits coccobacilles à Gram négatif.

Le genre *Bordetella* comporte 9 espèces. Chez l'homme, les **2 espèces *B. pertussis* et *B. parapertussis*** sont responsables de la **coqueluche**.

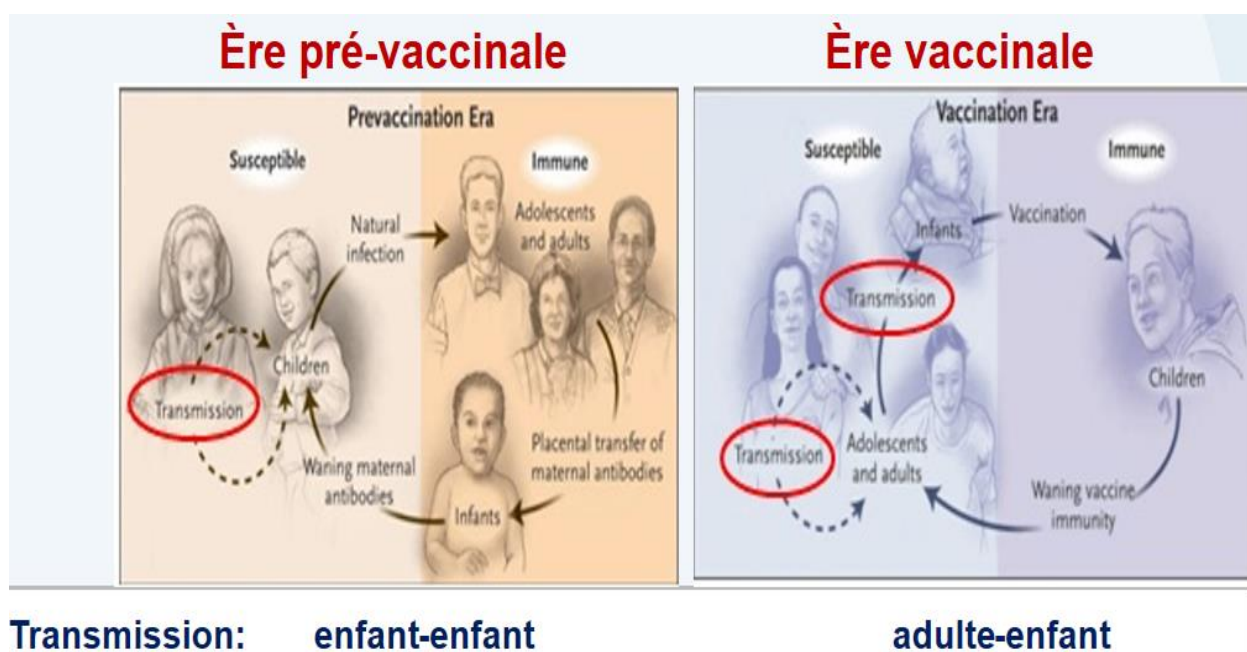
B. pertussis est un pathogène strictement humain alors que *B. parapertussis* infecte l'homme et les ovins.

B. pertussis est une bactérie capable de pénétrer dans les cellules phagocytaires et les cellules épithéliales mais ne se multiplie pas à l'intérieur des cellules et est éliminée.

La coqueluche est une infection respiratoire très contagieuse strictement humaine. Typiquement, il s'agit d'une toux durant au moins deux semaines avec au moins un des symptômes suivants : des paroxysmes de toux, une reprise inspiratoire difficile (whooping) et/ou des vomissements post-tussifs sans autre cause apparente. Sur le plan biologique, une hyperlymphocytose est souvent retrouvée.

La coqueluche est une maladie à déclaration obligatoire. En Tunisie, la vaccination a été introduite en 1979. Le calendrier vaccinal Tunisien comporte 3 doses de primovaccination à 2, 3 et 6 mois et un rappel à 18 mois.

L'immunité induite après infection naturelle ou vaccination n'est pas durable. La durée de la protection acquise après infection naturelle est plus longue que celle acquise après vaccination. Ces deux dernières décennies, un **changement épidémiologique** de la coqueluche est apparu : avant l'ère vaccinale, la transmission se faisait essentiellement d'enfant à enfant et 95% des sujets étaient infectés avant l'âge de 10 ans. Suite à l'introduction de la vaccination, la coqueluche touche les jeunes nourrissons non protégés par les anticorps maternels et non ou partiellement vaccinés dont la source de contamination est les adolescents et les adultes ayant perdu leur immunité en l'absence de rappels vaccinaux et présentant la maladie sous des formes atypiques.



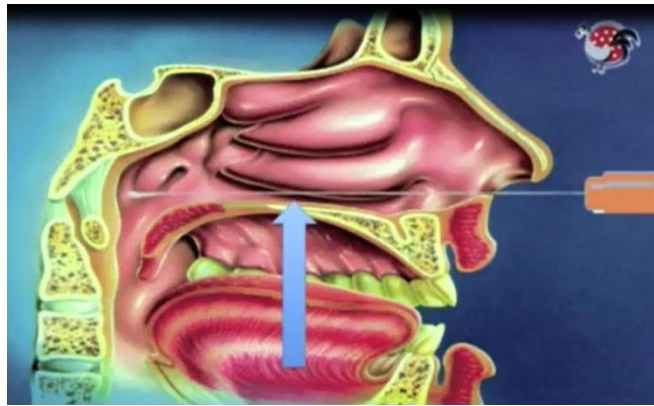
La coqueluche : changement épidémiologique.

Devant ce changement épidémiologique, de nouvelles recommandations vaccinales sont mises en place dans nombreux pays comme les rappels chez l'adolescent et l'adulte et la vaccination maternelle et familiale (stratégie du «cocooning»).

- Diagnostic bactériologique direct :

Le diagnostic bactériologique direct se fait sur des **prélèvements naso-pharyngés**. Les échantillons peuvent être obtenus par écouvillonnage naso-pharyngé ou par aspiration naso-pharyngée. Les prélèvements doivent se faire au

niveau du nasopharynx postérieur. Devant une suspicion de coqueluche, le prélèvement naso-pharyngé doit être réalisé le plus précocement possible.



Prélèvement naso-pharyngé pour la recherche de B. pertussis / B. parapertussis.

La **culture** se fait sur des milieux de culture spécifiques. La culture des Bordetelles est **lente et de sensibilité faible**. La **biologie moléculaire (PCR)** a une meilleure sensibilité et est **largement utilisée** dans le diagnostic de la coqueluche.

- Diagnostic bactériologique indirect :

La **sérologie** n'a d'intérêt qu'après 4 à 5 semaines de toux chez une personne non vaccinée depuis trois ans afin de pouvoir l'interpréter correctement. Elle fournit un diagnostic rétrospectif. La sérologie n'est pas un outil diagnostique utile pour les nouveau-nés ou les nourrissons alors qu'elle est utile pour le diagnostic de la coqueluche **chez les adolescents et les adultes** ayant une toux prolongée. La technique de référence est l'**ELISA**.

➤ Les macrolides sont le traitement de choix pour la coqueluche.

POST-TEST

- 1- Un patient âgé de 35 ans aux antécédents de rapports sexuels non protégés consulte pour une urétrite subaigue. Une urétrite à *Chlamydia trachomatis* est suspectée.
 - Quels sont les sérovars pouvant être responsables d'une telle infection ?
 - Quel prélèvement peut-on réaliser ?
 - Quelle est la technique la plus utilisée pour confirmer le diagnostic ?
 - La sérologie a-t-elle un intérêt devant ce tableau clinique ?
- 2- Un patient âgé de 20 ans consulte pour une toux sèche persistante évoluant dans un contexte fébrile (T° : 38-38.5°C) non améliorée sous amoxicilline. La radiographie du thorax montre une opacité hétérogène non systématisée. Le diagnostic d'une pneumopathie atypique est retenu.
 - Citer les 2 bactéries les plus incriminées devant ce tableau clinique.
 - Pour le diagnostic bactériologique direct, quel prélèvement réaliser et quelle technique utiliser ?
 - Une sérologie ciblant les 2 bactéries les plus incriminées est réalisée (IFI) et s'avère négative. Ceci-élimine-t-il la responsabilité des bactéries déjà suspectées ?
- 3- Quelle est la rickettsiose la plus fréquente en Tunisie et quelle est l'espèce en cause ?
- 4- Devant une endocardite infectieuse à hémoculture négative, quelles sont les deux bactéries les plus incriminées et quelle est la méthode la plus couramment utilisée pour confirmer l'infection à ces bactéries.
- 5- Quel est le test diagnostique de première ligne devant une suspicion de légionellose ?
- 6- Un nourrisson âgé de 1 mois et demi présente un tableau typique de coqueluche.
 - Quelles sont les bactéries incriminées dans la coqueluche ?
 - Quel prélèvement et quelle technique utiliser pour le diagnostic de la coqueluche chez ce nourrisson ?
 - Quelle est la source de contamination la plus suspectée ?

LES BACTERIES RESPONSABLES D'INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES (IST)

Une IST est une infection qui se transmet à l'occasion d'une relation sexuelle.

Les IST sont toujours une réalité. D'après l'OMS, chaque jour, plus d'un million de personnes contractent une IST avec des conséquences qui engagent le pronostic fonctionnel (stérilité post salpingite) ou vital (SIDA).

On estime que, chaque année, 357 millions de personnes contractent l'une des quatre IST suivantes : chlamydie, gonorrhée, syphilis ou trichomonase.

Les IST comme la gonorrhée et la chlamydie sont des causes majeures d'inflammation pelvienne et de stérilité.

I- CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE

1-Signes fonctionnels d'infection génitale basse :

1-1 Ecoulement génital :

Chlamydia trachomatis, suivie de *Neisseria gonorrhoeae* sont les agents les plus fréquents avec possibilité d'association des deux bactéries.

Chez l'homme : C'est un écoulement urétral signe d'urétrite

□ Les principales causes des urétrites masculines sont

Chlamydia trachomatis (voir cours bactéries intracellulaires)

Neisseria gonorrhoeae

□ Moins fréquents sont :

Mycoplasma genitalium

Ureaplasma urealyticum

}

(voir cours bactéries intracellulaires)

Trichomonas vaginalis (voir cours IST infectieux)

Chez la femme : Il s'agit de leucorrhées et ou prurit vulvaire signes de vaginite ou de cervicite

□ Les agents responsables sont :

Chlamydia trachomatis (voir cours bactéries intracellulaires)

Neisseria gonorrhoeae

□ Moins fréquents sont :

Mycoplasma genitalium (voir cours bactéries intracellulaires)

Trichomonas vaginalis (voir cours IST infectieux)

1-2 Ulcération génitale :

C'est une perte de substance muqueuse et ou cutanée localisée au niveau des organes génitaux

Agents responsables :

Treponema pallidum responsable de la syphilis

Herpes Simplex Virus (HSV) (voir cours virologie)

Haemophilus ducreyi : rare

Chlamydia trachomatis (sérovars particuliers L) : rare

Klebsiella granulomatis : exceptionnelle

1-3 Complications loco régionales :

Chez l'homme : épидidymite, prostatite, orchite

Chez la femme : endométrite, salpingite, syndrome inflammatoire pelvien, pelvipéritonite

2-Localisations extra pelviennes

Conjonctivite ou ulcération cornéenne

Chancres labial ou amygdalien

Eruption cutanée

Arthrite suppurée ou réactionnelle

Syndrome de Fitz Hugh Curtis

Syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter

}

(voir cours bactéries intracellulaires)

3-Examen systématique ou sérologie systématique

En fait, les formes asymptomatiques sont fréquentes

NEISSERIA GONORRHOEAE : Gonocoque

OBJECTIFS ÉDUCATIONNELS

- Définir l'habitat de *Neisseria gonorrhoeae*
- Préciser les caractères épidémiologiques des infections à *Neisseria gonorrhoeae*
- Décrire les caractères morphologiques et culturels de *Neisseria gonorrhoeae*
- Décrire le pouvoir pathogène de *Neisseria gonorrhoeae*
- Reconnaître les moyens permettant le diagnostic bactériologique des infections à *Neisseria gonorrhoeae*
- Reconnaître les résistances aux antibiotiques acquises par *Neisseria gonorrhoeae*

- Bactérie pathogène spécifique
- Responsable d'infection sexuellement transmissible (IST) : blennorragie ou gonococcie ou gonorrhée.
- Problème de santé publique.

I-HABITAT ET EPIDEMIOLOGIE

Neisseria gonorrhoeae ou gonocoque est une bactérie strictement humaine. Elle est très fragile et exigeante. Elle est retrouvée dans les voies génitales de l'homme et de la femme. La contamination inter-humaine se fait presque exclusivement par voie sexuelle +++.

Exception : contamination du nouveau né par sa mère

L'existence de formes asymptomatiques chez les femmes joue un rôle important dans la dissémination de l'infection.

Autrefois, considéré par l'OMS comme le premier agent d'urétrite masculine, le gonocoque occupe, actuellement, la deuxième place après *Chlamydia trachomatis*.

La situation épidémiologique est aggravée par le problème des résistances acquises.

C'est une maladie à déclaration obligatoire.

II- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

· Morphologie :

- ☐ Diplocoque à Gram négatif en grain de café.
- ☐ Dans les produits pathologiques, il se trouve en intra et extra cellulaire

· Culture :

- ☐ Elle est assez difficile vu la fragilité de la bactérie et ses exigences nutritives
- ☐ Les milieux de culture utilisés sont des milieux enrichis type Gélose au sang cuit (gélose chocolat)
- ☐ Un milieu de culture sélectif doit être associé : gélose chocolat additionnée d'antibiotiques et d'antifongique VCN /VCAT

· Structure antigénique

Les structures bactériennes ayant des propriétés antigéniques sont :

- * pili ou fimbriae : ils entraînent la fabrication d'anticorps protecteurs spécifiques de type
- * capsule
- * LPS
- * Protéines de la membrane externe : il y'en a 16 types permettant la distinction en sérovars utilisés comme marqueurs épidémiologiques

III- POUVOIR PATHOGENE

· **Chez l'homme** : dans plus de 90% des cas c'est un tableau d'urétrite antérieure aiguë survenant 2 à 5 jours après un rapport sexuel non protégé

- ☐ Il s'agit d'un écoulement urétral purulent (blennorragie)
- ☐ L'infection peut se propager vers les organes génitaux internes et entraîner une épididymite ou une prostatite

· **Chez la femme** : la bactérie entraîne une cervicite et particulièrement une endocervicite.

- ☐ Sur le plan clinique 80 % des femmes infectées sont asymptomatiques.
- ☐ Elles jouent un rôle important dans la transmission de la bactérie.

L'extension vers le haut appareil peut engendrer une endométrite ou une salpingite aiguë ou une pelvi-péritonite pouvant entraîner une infertilité.

Chez les deux sexes :

- ☐ Infections ano-rectales et pharyngées
- ☐ Manifestations disséminées : formes septicémiques avec atteintes articulaires et cutanées

Manifestations néonatales :

- ☐ Conjonctivite pouvant entraîner une ophtalmie purulente et cécité.
- ☐ Possibilité de formes disséminées

IV- PHYSIOPATHOLOGIE

Trois grandes étapes dans le développement de la maladie

1ère étape : adhésion et colonisation des muqueuses assurées grâce aux pili et protéine PII de la membrane externe

2ème étape : résistance aux défenses de l'hôte grâce aux pili qui gênent la phagocytose et la sécrétion d'IgA protéase

3ème étape : lésions des muqueuses par l'activité cytotoxique du LPS libéré de la bactérie

V- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Le diagnostic bactériologique est uniquement direct.

Il s'agit : ➤ soit de la culture pour l'isolement de la bactérie

➤ soit des tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN)

☐ Chez les patients symptomatiques, on privilégie l'isolement de la bactérie associé ou non aux TAAN

☐ Chez les patients asymptomatiques on privilège les TAAN qui sont plus sensibles

V-1 Les prélèvements :

Ils doivent se faire au laboratoire ; sinon utiliser un milieu de transport (surtout pour la culture). Ils doivent se faire le matin avant l'émission d'urine et avant toute toilette génito- urinaire

✓ **Chez l'homme** : prélever, à l'aide d'un écouvillon, le pus urétral au niveau du méat urinaire ou à l'extrémité de l'urètre antérieur à distance d'une miction.

En l'absence d'écoulement, on peut prélever :

- le premier jet d'urine : le principe est de collecter dans l'urine des cellules infectées d'origine uréthrale.
- ou rarement le sperme

✓ **Chez la femme** : prélèvement cervical (endocol)

L'association d'un prélèvement urétral, pharyngé et anal augmente les chances d'isoler la bactérie

✓ **Autres prélèvements** : ano-rectal, pharyngé, liquide articulaire, sang, prélèvement conjonctival

V-2 Examen direct :

- La présence des PNN indique l'inflammation.
- La présence de diplocoques Gram négatif à l'intérieur des PNN a une forte valeur prédictive positive de la gonorrhée surtout chez l'homme

V-3 Mise en culture :

C'est le test diagnostique de référence chez les patients symptomatiques. Elle nécessite des milieux de culture enrichis sélectifs et non sélectifs

V-4 Identification

V-5 Etude de la sensibilité aux antibiotiques

➤ C'est une étape importante du diagnostic, vu l'acquisition par *Neisseria gonorrhoeae* de résistance à plusieurs antibiotiques : pénicilline, cyclines, fluoroquinolones et récemment émergence de la résistance aux céphalosporines 3^{ème} génération.

➤ Données (2011- 2018) du laboratoire de Microbiologie du CHU H. Bourguiba de Sfax : 83 souches

✓ 13% des souches sont intermédiaires à la pénicilline G

- ✓ 42% des souches sont résistantes à la pénicilline G : 40% pénicillinase (+) (NGPP)
- ✓ 26 % des souches sont résistantes aux cyclines
- ✓ 81 % des souches sont résistantes à la ciprofloxacine (fluoroquinolones)
- ✓ Pas de résistance à la spectinomycine (trobicine)
- ✓ Pas de résistance aux céphalosporines 3^{ème} génération

V-6 Amplification génique :

Les TAAN offrent une excellente sensibilité notamment sur les prélèvements non invasifs et chez les patients asymptomatiques

VI- PREVENTION

- ✓ Education sanitaire
- ✓ Dépistage et traitement systématique du ou des partenaires sexuels
- ✓ Dépistage et traitement d'une éventuelle IST associée (infection à *Chlamydia trachomatis*, HIV, syphilis....)
- ✓ Utilisation de préservatifs en cas de rapport sexuel suspect.

Post-test

1- En Tunisie, le gonocoque présente des résistances acquises vis à vis des antibiotiques suivants :

- A- Pénicilline G
- B- Cyclines
- C- Fluoroquinolones
- D- Spectinomycine
- E- Céphalosporines de 3^{ème} génération

TREPONEMA PALLIDUM

OBJECTIFS ÉDUCATIONNELS

- Définir l'habitat de *Treponema pallidum*
- Décrire les caractères morphologiques et culturels de *Treponema pallidum*
- Décrire le pouvoir pathogène de *Treponema pallidum*
- Expliquer la physiopathologie de la syphilis
- Préciser les caractères épidémiologiques de la syphilis
- Reconnaître les moyens permettant le diagnostic bactériologique de la syphilis

I- GENERALITES

Treponema pallidum appartient à la famille des *Spirochaetaceae* ou spirochètes. Ce sont des bactéries caractérisées par leur forme hélicoïdale et leur mobilité grâce à un appareil locomoteur interne.

Treponema pallidum est la principale espèce pathogène au sein du genre *Treponema*. C'est l'agent de la syphilis.

Les autres espèces du genre *Treponema* sont commensales des muqueuses

II- HABITAT

C'est une bactérie strictement humaine. Elle est très fragile, donc détruite hors de l'organisme et non retrouvée dans l'environnement

III- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

1) Morphologie

- C'est une bactérie très fine hélicoïdale spiralée avec une mobilité caractéristique
- *Treponema pallidum* ne se colore pas par la technique de Gram.

On l'observe habituellement à l'état frais au microscope à fond noir ou après coloration spéciale (immunofluorescence, imprégnation argentinique)

2) Culture

T. pallidum est non cultivable in vitro

3) Structure antigénique

✓ **Ag cardiolipidique** = Ag de Wassermann. C'est l'Ag le plus anciennement identifié.

Il est localisé à la membrane cytoplasmique

C'est un phospholipide commun à tous les tréponèmes et retrouvé dans les tissus animaux (cœur et foie sont particulièrement riches)

✓ **Ag protéiques** : portés par les endoflagelles. Ils sont communs aux Tréponèmes pathogènes et non pathogènes. Ils sont spécifiques de groupe

✓ **Ag de l'enveloppe externe** : Ag les plus spécifiques des Tréponèmes Pathogènes

IV- POUVOIR PATHOGENE

C'est une infection systémique acquise chez l'adulte ou congénitale pour le nouveau-né.

1) Syphilis de l'adulte

C'est une maladie chronique, évoluant lentement et caractérisée par la succession de phases symptomatiques et asymptomatiques.

Après une période d'incubation de 3 semaines apparaît la première phase qui est la syphilis primaire

✓ **Syphilis primaire** : caractérisée par deux lésions :

*Chancres : Ulcération unique, indolore à base indurée siégeant au point d'inoculation, souvent génitale

*Adénopathie satellite indolore non suppurative

Le chancre disparaît spontanément en 4 à 6 semaines.

✓ **Syphilis secondaire**

Elle débute 2 mois après le contagion

C'est une phase de dissémination septicémique avec différents types de manifestations :

* Manifestations cutanées : - Roséole

- Syphilides

- * Atteinte des phanères : Alopécie
- * Manifestations muqueuses : région anogénitale, langue
- * Signes généraux :
 - fièvre
 - Malaise
 - Polyadénopathies
- * Evolution : les signes disparaissent en 1 à 2 ans

Toutes les lésions secondaires sont riches en tréponèmes, donc contagieuses

✓Syphilis latente

Asymptomatique et non ou peu contagieuse. Le diagnostic se fait lors d'examens sérologiques systématiques.

Cette phase dure longtemps (plusieurs années)

✓Syphilis tertiaire : chez certains syphilitiques. Ce sont des lésions granulomateuses, cardiovasculaires neurologiques (neurosyphilis), cutanées ou osseuses

Sur le plan pratique, la syphilis est divisée en deux stades ayant des prises en charge différentes

✓Syphilis précoce : est définie par une évolution datant de moins d'un an. Elle regroupe : Syphilis primaire + Syphilis secondaire + Syphilis latente précoce (moins d'une année d'évolution). C'est la période la plus contagieuse.

✓Syphilis tardive : est définie par une évolution datant de plus d'un an. Elle regroupe : Syphilis latente tardive (plus d'une année d'évolution) et Syphilis tertiaire. C'est la période de la syphilis la moins riche en tréponèmes (risque minime de contagion).

2) Syphilis congénitale

Une femme enceinte avec syphilis récente en évolution (primaire ou secondaire) peut contaminer son fœtus par voie transplacentaire (surtout après 4ème mois de grossesse).

Les conséquences sont soit la mort fœtale in utéro soit la naissance d'un bébé atteint de syphilis néonatale.

V- PHYSIOPATHOLOGIE

- *Treponema pallidum* pénètre dans l'organisme à travers une muqueuse saine ou une peau érodée
- Les bactéries se localisent au point d'inoculation et se multiplient puis ils gagnent les voies sanguines et lymphatiques ce qui entraîne leur dissémination aux autres tissus
- Le chancre est le résultat de la multiplication des *T. pallidum* au point d'inoculation La guérison spontanée est le résultat de la réponse immune locale
- Syphilis secondaire est une septicémie tréponémique. La réponse immune générale entraîne la disparition des signes en 1 à 2 ans
- Syphilis latente : quelques *T. pallidum* à l'état quiescent à l'intérieur de cellules entretiennent la synthèse d'anticorps
- Syphilis tertiaire : les lésions sont très pauvres en *T. pallidum*. Ils sont le résultat de l'immunité à médiation cellulaire.

VI- EPIDEMIOLOGIE

C'est une infection sexuellement transmissible : IST

Elle est cosmopolite avec atteinte de plusieurs dizaines de millions de personnes dans le monde. L'homme est l'hôte naturel de *T. pallidum*

Les modes de transmission :

- contacts sexuels ++ (chancres génitaux ou anaux, accessoirement buccaux)
- transplacentaire
- Transfusion de sang de malade atteint de syphilis primaire ou secondaire (exceptionnel)

C'est une Maladie à Déclaration obligatoire

VII- DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

1) Diagnostic direct

C'est la mise en évidence de *T. pallidum* ou son génome essentiellement dans les lésions de la Syphilis primaire ou secondaire

1-1 Prélèvements :

- chancre : Raclage du centre de la lésion par un vaccinostyle et recueil de la sérosité sans faire saigner
- ganglion
- syphilides cutanées
- plaques muqueuses (syphilis secondaire)
- LCR
- Lésions syphilitiques chez le nouveau-né

NB : La recherche est systématique dans toute ulcération génitale.

1-2 Microscope à fond noir:

Examen entre lame et lamelle au microscope à fond noir à la recherche de la morphologie et la mobilité caractéristiques. L'examen microscopique doit être immédiat

C'est un examen délicat nécessitant de l'expérience.

En plus, il manque de spécificité vu la possibilité de tréponèmes commensaux.

Un examen direct négatif n'élimine pas le diagnostic.

La confrontation : examen direct + clinique + sérologie est nécessaire pour faire le diagnostic

1-3 PCR :

Elle est intéressante surtout pour les cas où *T. pallidum* en faible quantité : syphilis congénitale et syphilis neurologique.

Elle permet de rechercher les autres agents responsables de chancre

2) Diagnostic indirect

Recherche dans le sang ± LCR d'anticorps spécifiques

La sérologie ne permet pas de distinguer la syphilis des différentes tréponématoses non vénériennes.

La sérologie sert pour :

- . Le diagnostic d'une infection, rechute ou réinfection
- . Le suivi sous traitement
- . Le dépistage

a)Tests utilisés

2 types de tests :

- des tests utilisant des antigènes non tréponémiques : **TNT**
- des tests utilisant des antigènes tréponémiques : **TT**

✓ TNT : Réaction avec antigène non tréponémique

L'Ag utilisé est un cardiolipide (cœur de bœuf). La réaction détecte les anticorps anticardiolipide ou réagines qui ne sont pas spécifiques du tréponème

C'est une réaction d'agglutination : VDRL (Venereal Disease Research laboratory)

→ Résultat qualitatif : de 0 à ++++

En cas de dépistage positif, un titrage est effectué par dilution du sérum.

Les TNT sont les seuls tests qui permettent de suivre l'évolutivité de la syphilis et son évolution sous traitement

Les faux positifs : infection (bactérienne, virale ou parasitaire), maladies immunologiques (LED ; antiphospholipides...), néoplasie, toxicomanie et grossesse

✓ TT : Réactions avec Ag tréponémiques

Ces réactions sont plus spécifiques et plus sensibles. Plusieurs réactions sont disponibles.

Les plus utilisés sont :

➤TPHA : *T. pallidum* hemagglutination assay

Réaction d'hémagglutination passive utilisant les globules rouges de mouton sensibilisés par un lysat de *T. pallidum*.

Le TPHA est rapide et peu coûteux.

Il se négative en cas de traitement précoce. Il reste positif en cas de traitement tardif chez un patient guéri

➤ ELISA : Test immunoenzymatique. Il permet de rechercher les IgM et les IgG

Ces tests ont l'avantage d'être automatisables, reproductibles ; simples et rapides.

➤ FTA : Fluorescent Treponemal Antibody

Réaction d'IFI utilisant comme Ag une souche de *T. pallidum* entier

C'est une réaction délicate, longue, subjective et chère. Elle n'est pas de pratique courante.

Elle permet de rechercher les IgM et les IgG

b) Cinétique des Anticorps

Les sérologies se positivent quelques jours après le début du chancre (J.0 étant par définition le début du chancre) (figure 1 et 2)

- le FTA-abs vers J5 – J7
- le TPHA, l'ELISA vers J7 - J10
- le VDRL vers J10 – J15

Une sérologie négative n'élimine pas le diagnostic de syphilis primaire.

Les sérologies de la syphilis atteignent un titre maximum vers le 6ème mois, correspondant à la phase secondaire.

Au stade secondaire, toutes les sérologies (tréponémiques et non tréponémiques) sont positives.

En l'absence de traitement, ou en cas de traitement tardif (plus d'un an d'évolution), le taux des Ac diminue mais reste indéfiniment positif à l'exception des TNT qui se négativent.

En cas de traitement précoce (3 à 6 mois après contagion), une négativation de tous les tests est possible. La négativation se fait dans le sens inverse de l'apparition. Donc, c'est le VDRL qui se négative le premier.

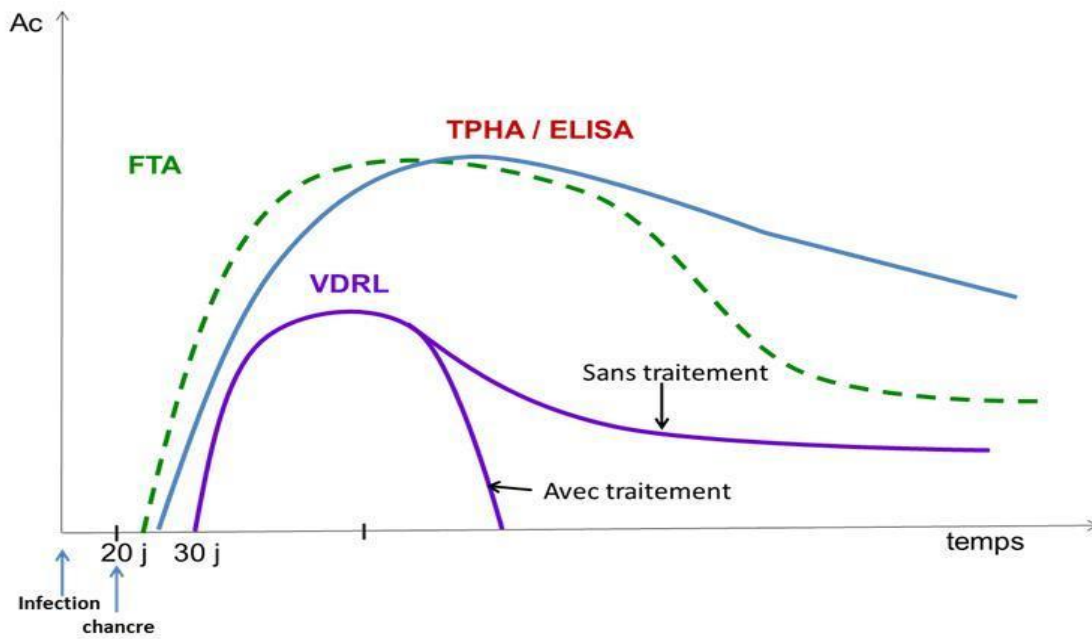


Figure 1 : Evolution des anticorps au cours d'une syphilis non traitée ou traitée tardivement

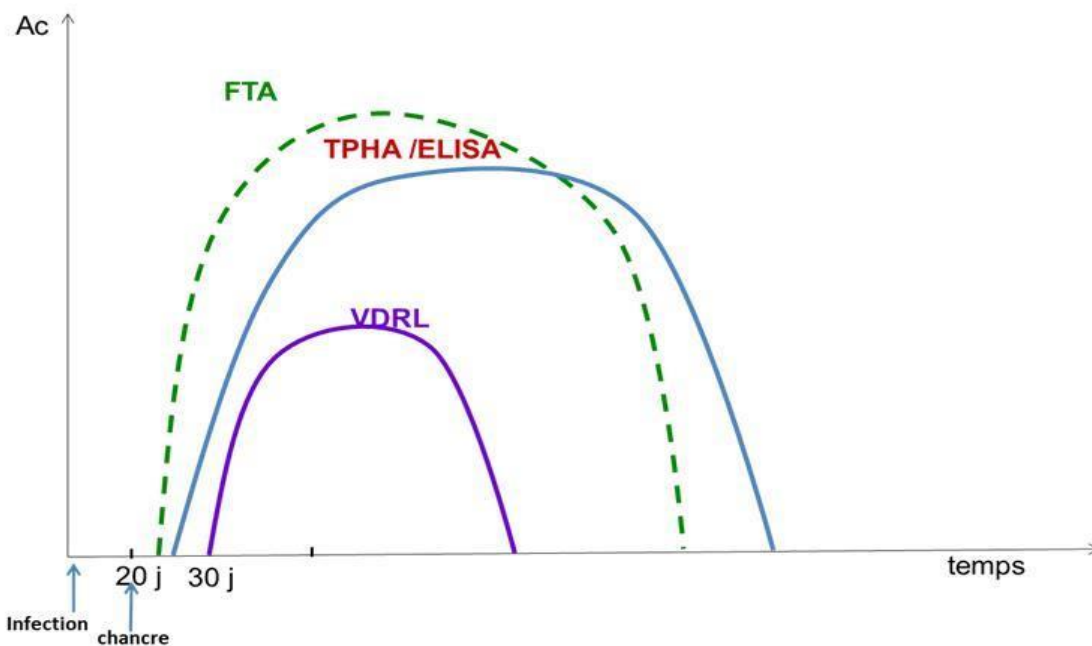


Figure 2 : Evolution des anticorps au cours d'une Syphilis traitée

c) Interprétation

Sérologie de la syphilis : Au moins deux types de réactions devraient être réalisées : Réaction à antigène cardiolipidique + Réaction à antigène tréponémique. La combinaison la plus utilisée : VDRL + TPHA

* VDRL (-)	}	- Pas de syphilis
TPHA (-)		- Phase présérologique FTA ou sérologie 15 jours après
* VDRL (+) ↑	}	Syphilis
TPHA (+) ↑		
* TPHA (+)	}	- début du chancre
VDRL (-) ou faible		- Syphilis récente traitée
* TPHA (-)		- Syphilis ancienne
VDRL (+)	}	- Tréponématose non vénérienne (zone d'endémie)
		faux VDRL (+) : femme enceinte, toxicomane, LED....

En France, selon la nouvelle nomenclature de Juin 2018, la sérologie syphilitique repose dorénavant sur un test automatisé (ELISA) qualitatif et en cas de positivité la pratique d'un test quantitatif non tréponémique (VDRL) sur le même sérum.

VIII- TRAITEMENT

Pénicilline G : Traitement de choix

Si allergie ⇒ Cyclines

Erythromycine

Effet secondaire lié au traitement : la réaction d'Herxheimer (lyse de *T. pallidum*).

Elle se manifeste par une fièvre, une éruption et une hypotension.

IX- PREVENTION

Pas de vaccin

Une infection traitée et guérie ne protège pas contre une réinfection

La prévention repose sur le dépistage systématique : examen prénuptial, examen prénatal et don de sang.

HAEMOPHILUS DUCREYI

- Bactérie pathogène spécifique.
 - Agent du chancre mou
 - * ulcération génitale (base molle, fond purulent, douloureux)
 - * adénopathie douloureuse
 - Exceptionnel en Tunisie, fréquent dans les zones tropicales et subtropicales
 - Diagnostic bactériologique difficile. Le prélèvement se fait par grattage de la bordure de la lésion et la ponction du ganglion
- L'examen direct recherche des petits bacilles à Gram négatif
- La culture est difficile vu les exigences de la bactérie.

Post-test

Devant la suspicion d'un chancre syphilitique, la mise en évidence de *T. palladium* peut se faire par :

- ☐A- Examen à l'état frais au microscope à fond noir
- ☐B- Examen après coloration de Gram
- ☐C- Examen après coloration à l'auramine
- ☐D- Mise en culture sur milieux de culture enrichis
- ☐E- Mise en culture cellulaire

VIROLOGIE

INSTRUCTIONS AUX APPRENANTS POUR LES COURS DE VIROLOGIE

TACHES DE L'APPRENANT

- Lire les objectifs éducationnels
- Etudier le document de base
- Répondre aux questions de l'évaluation formative

NOTEZ BIEN :

Dans le document de base de la **partie virologie**, les paragraphes précédés du symbole  ne sont pas à apprendre, il s'agit d'explications ou d'informations supplémentaires pour en savoir plus.

POUR EN SAVOIR PLUS, vous pouvez aussi consulter les références suivantes :

- 1- Traité de virologie médicale- JM Huraux et al, Editions ESTEM 2003 Paris
- 2- www.virology.net

DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- 1/ Distinguer entre les méthodes de diagnostic directes et indirectes utilisées au laboratoire de virologie.
- 2/ Comprendre le principe des techniques les plus utilisées pour le diagnostic virologique direct et indirect : ELISA, PCR.
- 3/ Interpréter le sérodiagnostic selon la situation.

Notez bien : *les techniques de diagnostic développées dans ce cours seront vues au cours du stage d'immersion en virologie.*

1- INDICATIONS DES EXAMENS VIROLOGIQUES

Les missions d'un laboratoire de virologie sont multiples :

-sa mission première est de répondre aux demandes d'analyses virologiques prescrites par le clinicien. Ces analyses visent soit à:

- poser le **diagnostic** d'une infection virale
- **suivre l'évolution** des patients infectés
- **suivre l'efficacité d'un traitement antiviral**
- **investiguer une épidémie virale**
- définir le **statut immunitaire** d'un individu vis-à-vis d'un virus:
 - * a-t-il déjà rencontré le virus ou pas ? (dans le cadre d'un bilan prénatal chez une femme enceinte, chez les donneurs de sang, bilan pré transplantation d'organe...),
 - * est-il vacciné ou pas ?

-contribue au contrôle des agents infectieux et des épidémies en collaboration avec les autorités sanitaires.

Pour cela, les outils du diagnostic virologique sont multiples et sont classés en deux groupes de méthodes :

- Méthodes directes : consistent à détecter le virus causal ou un de ses constituants c'est-à-dire ses antigènes ou son génome.
- Méthodes indirectes : consistent à détecter la réponse immunitaire spécifique.

Le choix de l'une ou l'autre de ces méthodes se fera en fonction du virus concerné et de la situation clinique.

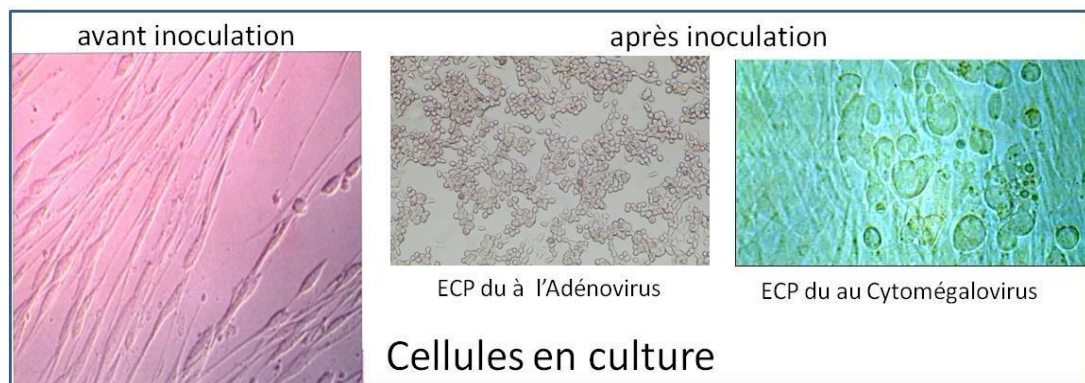
2-METHODES DE DIAGNOSTIC

2-1- Méthodes de diagnostic direct

2-1-1- Détection du virus causal

Elle repose actuellement sur l'**isolement viral en culture cellulaire** : s'effectue par inoculation de ce prélèvement sur une culture cellulaire *in vitro*.

 *Principe : une fois le prélèvement inoculé, la multiplication du virus dans les cellules se traduit par la lyse de ces cellules d'où l'apparition de lésions morphologiques caractéristiques au niveau de la culture qu'on désigne par **effet cytopathique** ou **ECP** visible en microscopie optique. Cet ECP est différent d'un virus à un autre. Selon l'aspect obtenu, il est donc possible d'identifier le virus responsable de l'infection.*



2-1-2-Détection et/ou quantification des acides nucléiques viraux

Il est possible de détecter le génome viral (ADN ou ARN selon les virus) par amplification génique = **PCR** (réaction de polymérisation en chaîne). (voir annexe)

Le rendu de résultat de cette technique peut être :

- *qualitatif* : présence ou non de l'acide nucléique viral exprimée en positif ou négatif
- *quantitatif* : on parle de charge virale (exprimée en copies/ml ou en UI/ml).

La PCR a plusieurs intérêts, elle permet de :

- poser le diagnostic d'une infection en cours,
 - suivre son évolution,
 - suivre l'efficacité d'un traitement antiviral par comparaison des charges virales entre elles, obtenues respectivement avant et en cours de traitement ou à la fin du traitement.
- Cette technique a révolutionné le diagnostic virologique** en raison de sa sensibilité, de sa spécificité et de sa rapidité.

Il existe plusieurs variantes de cette technique mais la plus utilisée actuellement est la **PCR en temps réel**. Elle a l'avantage d'être plus sensible et plus rapide puisqu'elle permet d'amplifier et de détecter en même temps l'acide nucléique ciblé.

Encore plus, de nouveaux tests de diagnostic par PCR dits **MULTIPLEX** sont apparus ces dernières années. Ces tests, à visée syndromique, ont l'avantage de détecter plusieurs pathogènes (viraux et/ou bactériens et/ou parasitaires) sur le même prélèvement.

2-1-3-Détection d'antigènes viraux

Elle fait appel à différentes techniques basées sur le même principe : l'antigène viral est détecté dans un prélèvement biologique à l'aide d'un anticorps monoclonal spécifique du virus recherché et qui a la particularité d'être marqué. Ensuite, les complexes antigènes-anticorps éventuellement formés sont détectés et lus par des moyens de révélation qui sont différents selon la technique.

A noter qu'après chaque étape de la réaction, un lavage permet d'éliminer les éléments non fixés.

 **Tableau : différences entre les techniques de détection des antigènes viraux**

Techniques	Support de la réaction	Produit de marquage de l'Ac	Moyen de révélation	Temps de réaction
Immuno-fluorescence	lame de microscope	fluorescéine	Microscope à immunofluorescence	1-2 h
ELISA	microplaque	Enzyme+ substrat de l'enzyme	Spectrophotomètre	3-4 h
TDR	-particules de latex ou -membrane de nitrocellulose	-rien -or colloïdal	A l'œil nu	Quelques minutes

-Technique d'Immunofluorescence (voir annexe) : est très rapide à réaliser puisqu'on peut obtenir un résultat en 1 à 2 heures.

Mais, elle ne peut être appliquée que sur des prélèvements cellulaires (cellules épithéliales respiratoires, lésions cutanées ou muqueuses, polynucléaires...) puisqu'elle détecte des antigènes viraux localisés à l'intérieur des cellules infectées présentes dans le prélèvement à analyser. Par conséquent, le résultat dépend étroitement de la qualité du prélèvement qui doit être riche en **cellules intactes** d'où l'importance de réaliser un BON prélèvement.

-Technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) (voir annexe): cette technique a l'avantage d'être sensible, facile, rapide (résultat en 3 heures) et

applicable en série.

-Tests de diagnostic rapide TDR : il s'agit de tests permettant d'obtenir un résultat immédiat. Ces tests sont simples, rapides, ne nécessitent pas de structure de laboratoire et peuvent être utilisés dans un cabinet médical par exemple.

Leur inconvénient c'est le manque de sensibilité (faux négatif).

Ces tests sont basés sur l'un de ces principes :

- *agglutination passive de particules de latex* sensibilisées par l'anticorps spécifique du virus recherché.
- *immunochromatographie sur membrane ou bandelette unitaire* (voir annexe).



Applications des TDR en virologie : ils se pratiquent sur:

- Sang (sang total, sang prélevé au doigt, plasma ou sérum): notamment pour les accidents d'exposition au sang ou les diagnostics d'urgence.
- sécrétions respiratoires : pour le diagnostic de grippe
- prélèvement de selles : pour le diagnostic des diarrhées virales.

2-2- Méthodes de diagnostic indirect = sérodiagnostic

2-2-1- Généralités

C'est la recherche d'anticorps spécifiques dirigés contre un virus en réponse à l'infection virale. Les anticorps recherchés sont de la classe des **IgG et IgM**.

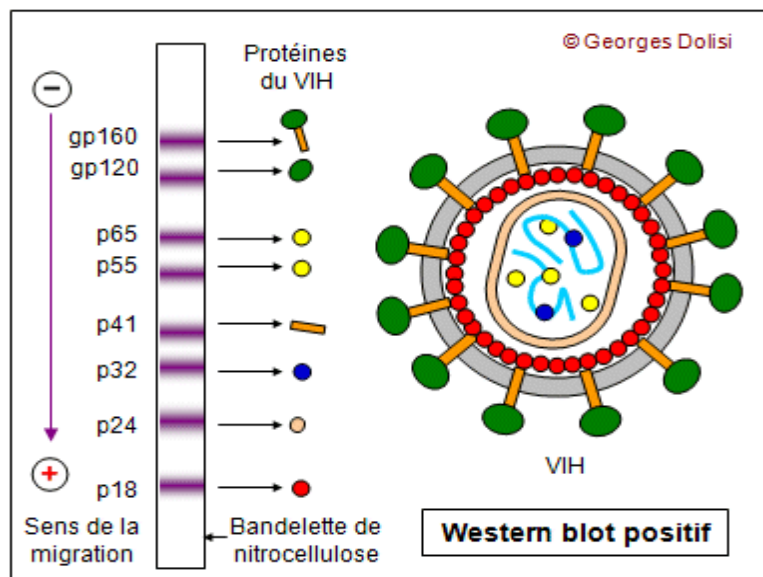
Cette recherche peut être **qualitative** (pour les IgG ou les IgM) ou **quantitative** (pour les IgG).

La recherche d'anticorps se fait principalement dans le sérum. Elle se fait parfois dans certaines fluides biologiques, essentiellement le LCR, permettant de déterminer l'existence d'une **synthèse locale intrathécale d'anticorps** en faveur d'une infection neuroméningée.

2-2-2- Techniques

Le sérodiagnostic fait appel à différentes techniques basées toutes sur le même principe que pour la détection d'antigènes viraux solubles mais là, l'anticorps spécifique du virus recherché est capté par des antigènes viraux fixés au préalable sur un support solide (variable selon la technique utilisée). Ensuite, les complexes antigène-anticorps éventuellement formés seront détectés par un anti-anticorps marqué (anti-IgG ou anti-IgM selon l'anticorps recherché). A noter qu'après chaque étape de la réaction, un lavage permet d'éliminer les éléments non fixés. Parmi les techniques utilisées, on cite :

- **Technique ELISA:** la plus utilisée actuellement. Comme pour la détection d'antigènes, cette technique a l'avantage d'être sensible, facile, rapide (résultat en 3 heures) et applicable en série.
- **Technique d'immunofluorescence indirecte**
- **Tests de diagnostic rapide**
- **Western Blot ou Immunoblot :** repose sur le même principe que l'ELISA mais le support de la réaction est une bandelette de nitrocellulose prête à l'emploi, sur laquelle sont déjà fixés plusieurs antigènes d'un virus. Cette technique permet de déterminer un profil anticorps. Elle est surtout utilisée en deuxième intention, après un dépistage positif des anticorps par ELISA, pour confirmer par exemple une *infection par le VIH*.



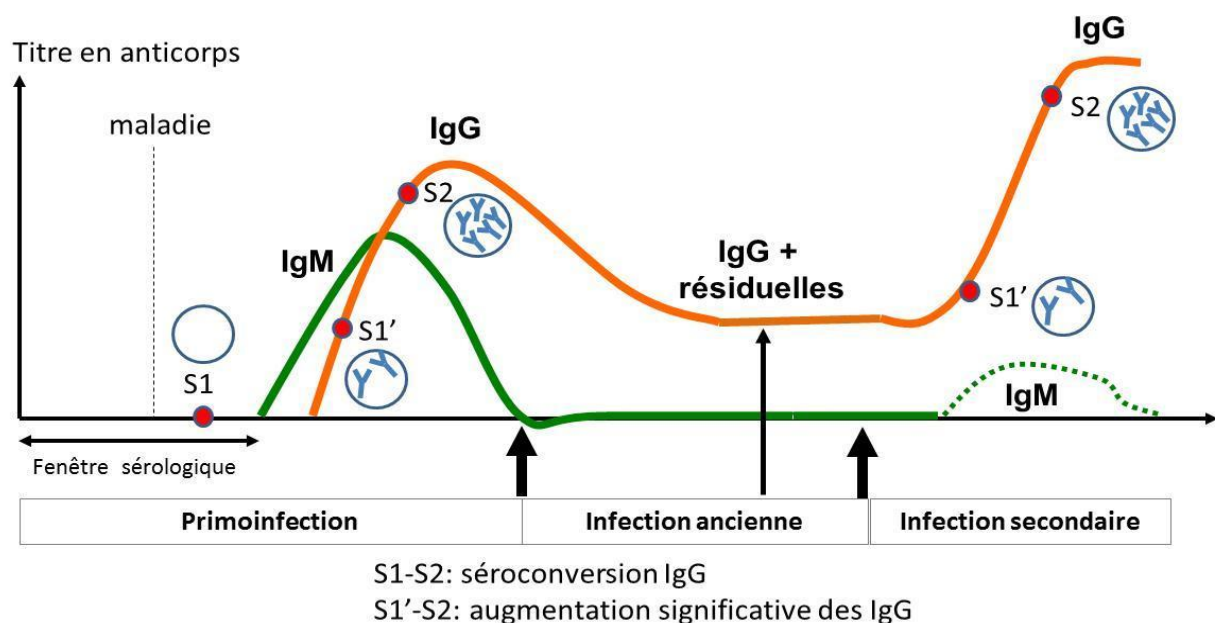
2-2-3- Cinétique des anticorps et interprétation du sérodiagnostic

2-2-3-1- Cinétique :

- *Au cours d'une primo-infection* : la détection des anticorps dans le sang d'un patient se fait plusieurs jours après la contamination. La période qui sépare le jour de la contamination et l'apparition des anticorps s'appelle fenêtre sérologique.

Les IgM apparaissent les premières, suivies des IgG quelques jours après. Les IgM disparaissent ensuite et les IgG persistent en général toute la vie traduisant une immunité résiduelle.

- *Au cours d'une infection secondaire* (réinfection ou réactivation), les IgG résiduelles réaugmentent traduisant une réponse immune secondaire. A noter que les IgM peuvent réapparaître.



2-2-3-2- Interprétation :

En pratique, la sérologie est demandée soit pour poser le diagnostic d'une infection en cours soit pour évaluer l'immunité d'un individu vis-à-vis d'un virus donné.

❖ **Diagnostic d'une infection en cours** : nécessite la recherche des IgG et des IgM. Selon le résultat obtenu de ces 2 paramètres, l'interprétation est plus ou moins facile.

Situations évidentes :

- la détection d'IgM et d'une séroconversion des IgG permet de poser le diagnostic de primo-infection récente avec certitude.

On parle de séroconversion des IgG lorsque le premier sérum S1 d'un malade est négatif et le deuxième sérum S2 de ce même malade, prélevé quelques jours après le premier, devient positif (voir courbe ci-dessus).

- l'augmentation significative des IgG entre deux sérums (S1' et S2 positifs avec $S2 \gg S1'$) sans IgM est en faveur d'une infection secondaire.

Situations d'interprétation délicate :

- la présence simultanée d'IgG et d'IgM sur un seul sérum ou

- l'augmentation significative des IgG entre deux sérums avec présence d'IgM.

Elles peuvent correspondre à une primo-infection récente, mais aussi à une infection secondaire.

❖ **Evaluation de l'immunité d'un individu vis-à-vis d'un virus donné** : permet de déterminer si un patient a déjà été infecté par un virus ou s'il a été vacciné contre ce virus. Dans ce cas, seules les IgG sont recherchées.

Si les IgG contre un virus donné sont positives, le patient est dit séropositif vis-à-vis de ce virus. Cela veut dire qu'il a déjà été en contact avec ce virus et garde une immunité résiduelle à la suite d'une infection antérieure ou qu'il a été vacciné contre ce virus.

Si les IgG sont négatives, le patient est dit séronégatif vis-à-vis de ce virus. Cela signifie qu'il n'a jamais été en contact avec le virus ou qu'il n'a pas été vacciné.

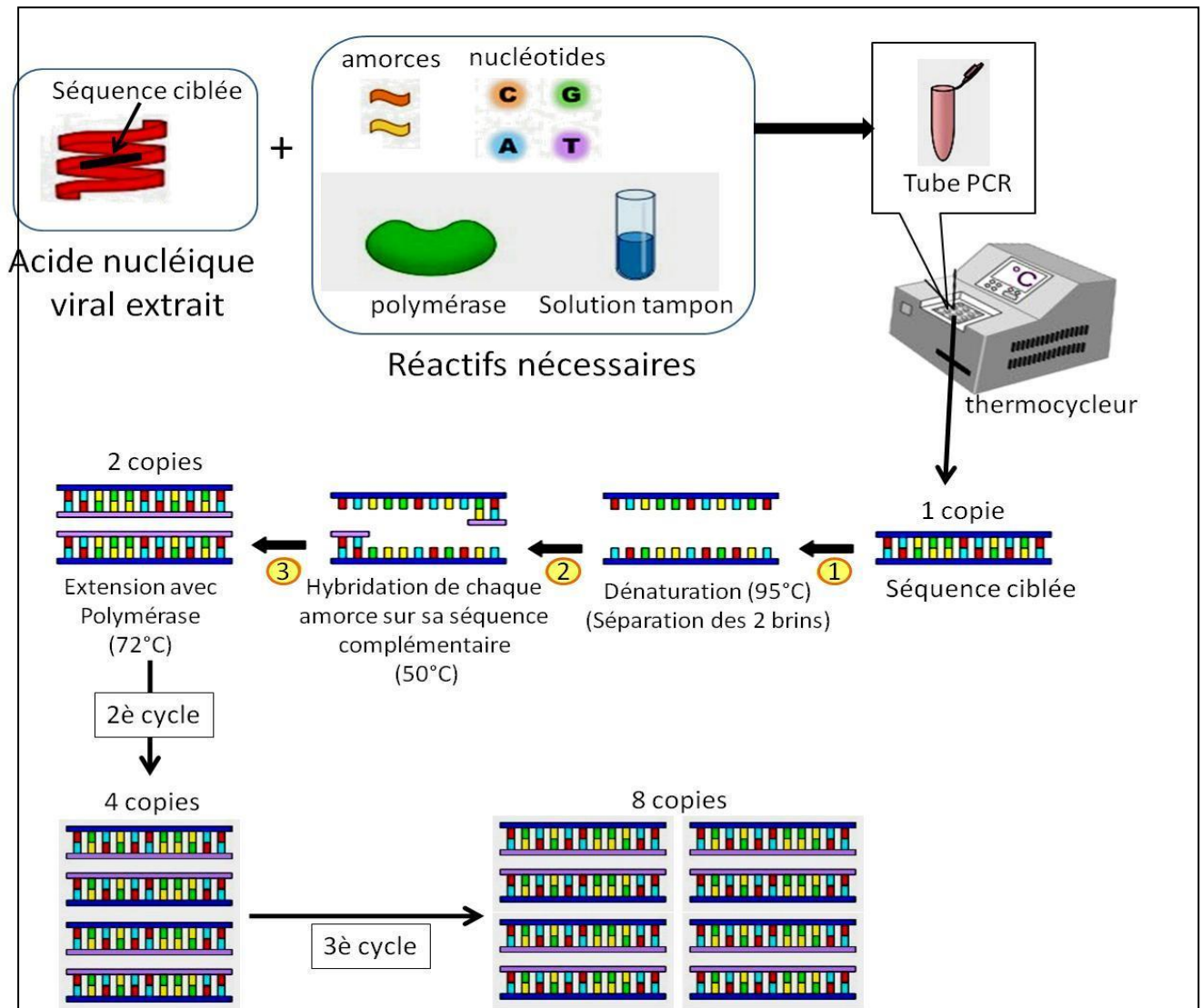
Evaluation formative

- 1- Préciser les conditions d'un bon prélèvement lorsqu'on doit rechercher des antigènes viraux par la technique d'immunofluorescence.
- 2- Citer les avantages de la technique ELISA.
- 3- Préciser les intérêts diagnostiques de la PCR.
- 4- Devant une augmentation significative des IgG, préciser les différentes situations qui peuvent y correspondre.

ANNEXE

PRINCIPE DES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Technique de PCR



Etapes de la PCR

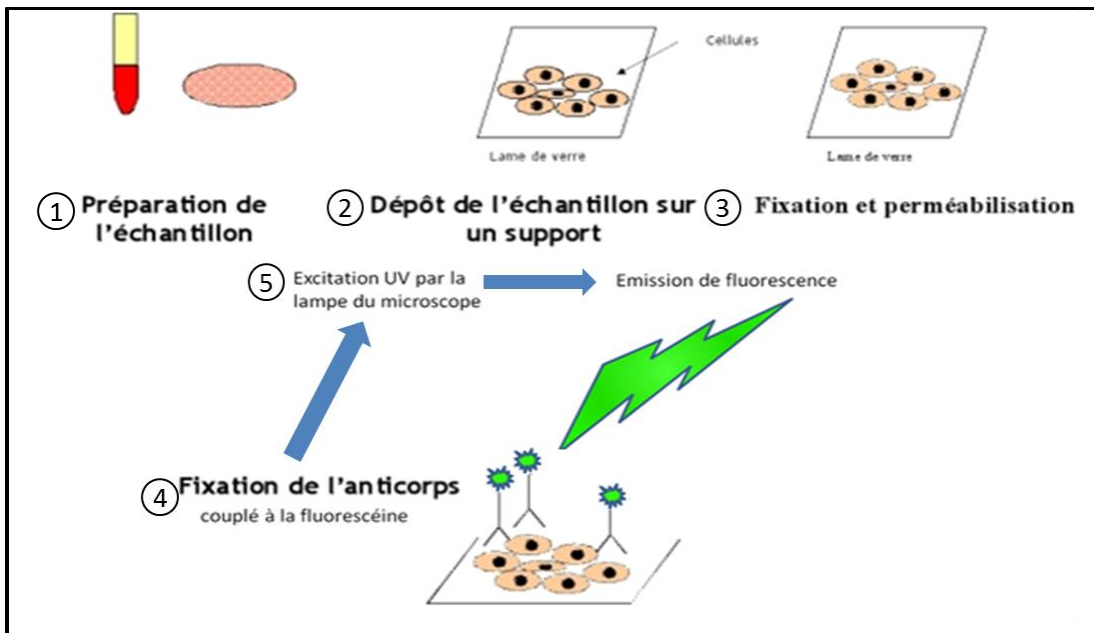
3 étapes de la PCR:

- extraire l'acide nucléique viral à partir du prélèvement
- ajouter à l'extrait le réactif nécessaire (amorces, nucléotides, polymérase...)
- puis copier un très grand nombre de fois une séquence ciblée de cet acide nucléique à l'aide des réactifs nécessaires (amorces, polymérase, nucléotides...) et d'un appareil appelé **thermocycleur**.

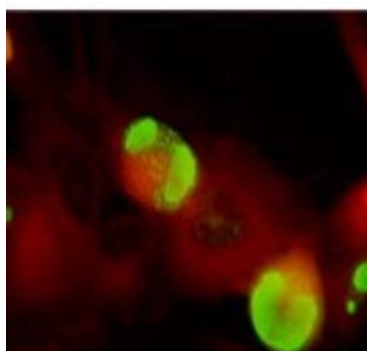
Technique d'immunofluorescence

1-Etapes de la réaction d'immunofluorescence:

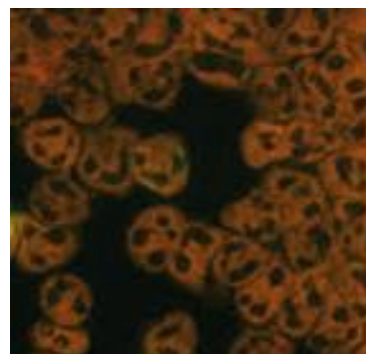
- préparer un frottis sur lame à partir du prélèvement
- détection de l'antigène viral avec un anticorps spécifique marqué par la fluorescéine
- révélation de la réaction par lecture de la lame au microscope à immunofluorescence.



2- Résultat de la lecture au microscope à immunofluorescence



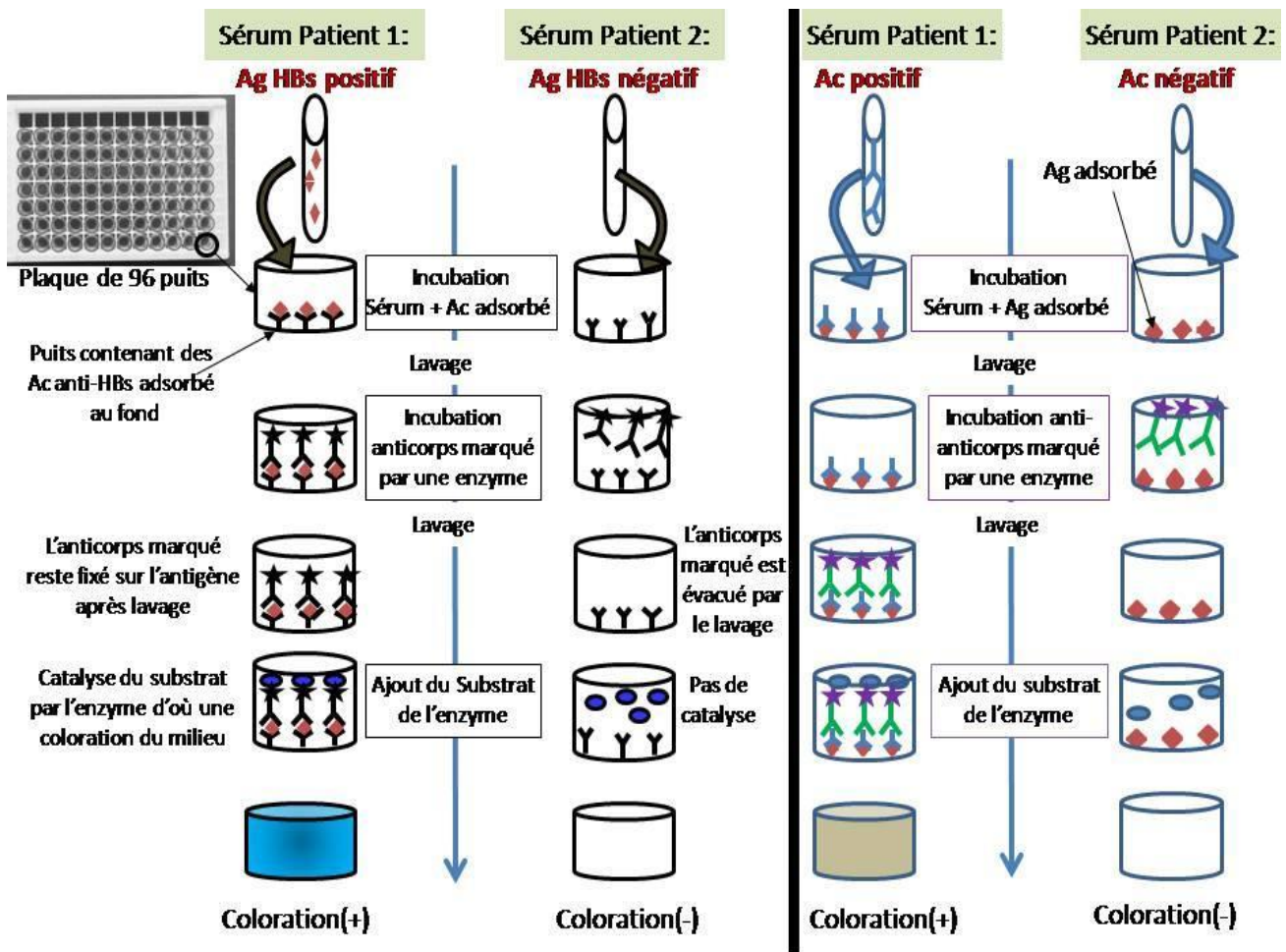
Prélèvement



Prélèvement

Recherche du cytomégalo virus dans les polynucléaires du sang par immunofluorescence directe

Technique ELISA



ELISA pour la recherche d'antigènes viraux :

- 1-l'anticorps spécifique de l'antigène à rechercher est adsorbé au fond d'un support en plastique.
- 2-la révélation du complexe formé par l'anticorps adsorbé-antigène recherché se fait par l'addition d'un autre anticorps couplé à une enzyme puis
- 3-addition du substrat de l'enzyme afin de révéler la réaction.

ELISA pour la recherche d'anticorps anti- viraux :

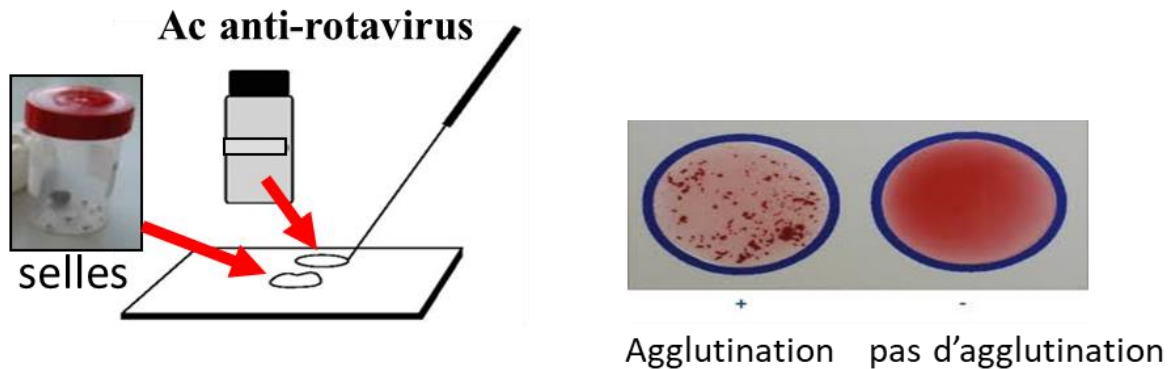
- l'antigène spécifique est adsorbé au fond d'un support en plastique.
- la révélation du complexe formé par l'antigène adsorbé-anticorps recherché se fait par l'addition d'un anti-anticorps (anti-IgG si recherche d'IgG, anti-IgM si recherche d'IgM) couplé à une enzyme puis
- addition du substrat de l'enzyme afin de révéler la réaction.

PRINCIPE DES TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE

Agglutination de particules de latex :

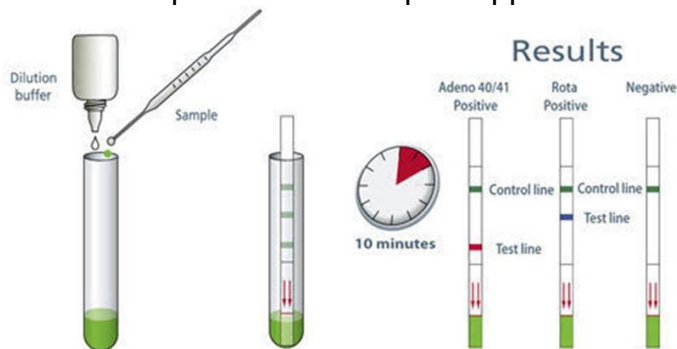
Lorsqu'un échantillon contenant l'antigène à rechercher est mélangé avec l'anticorps fixé sur la surface des particules de latex, il se produit une **agglutination**.

Recherche de Rotavirus dans les selles

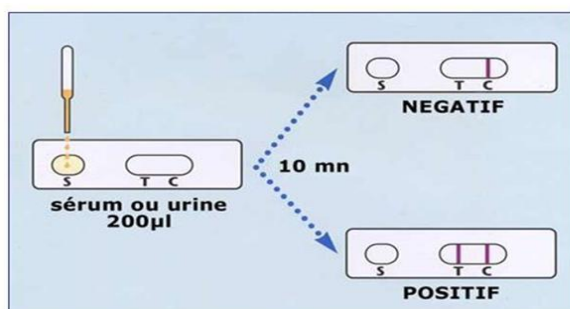


Principe de l'immunochromatographie :

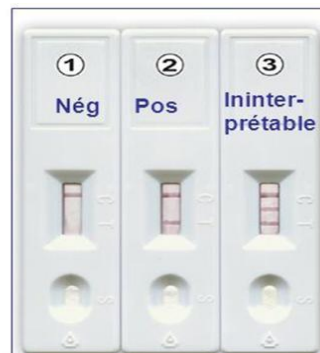
- l'échantillon testé est déposé à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose.
- si l'antigène recherché est présent, il se lie avec des anticorps spécifiques marqués à l'or colloïdal
- sous l'effet d'un tampon de lyse-migration, les complexes antigène-anticorps migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane.
- un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée.



Test rapide sur bandelette



Test rapide sur membrane



TRAITEMENTS ANTIVIRAUX

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- 1/ Décrire le mécanisme d'action des molécules antivirales.
- 2/ Tenir compte des problèmes posés par les antiviraux (spécificité, cytotoxicité, résistance et latence) lors de leur prescription.

1-INTRODUCTION

Contrairement aux infections bactériennes, peu de médicaments antiviraux spécifiques sont disponibles pour traiter les infections virales. La lenteur de développement des antiviraux est liée principalement à 2 obstacles :

- le parasitisme intracellulaire strict des virus qui impose la synthèse de molécules antivirales actives à l'intérieur même des cellules pour atteindre les virus. Ceux-ci ne peuvent donc être inactivés sans risque pour les constituants cellulaires de l'hôte. Il en résulte une **toxicité** de ces molécules sur l'organisme.
- la variabilité génétique des virus à l'origine de **résistances** au traitement antiviral.

C'est après la découverte du Virus du SIDA (VIH) que la recherche sur les antiviraux s'est intensifiée. Mais du fait de leurs nombreux effets indésirables, ces molécules doivent être utilisées avec précaution.

2-BASES DE LA CHIMIOThERAPIE ANTIVIRALE

La chimiothérapie antivirale a pour but **d'inhiber la multiplication virale** $\Rightarrow$ n'agit que sur les virus en réplication active.

Son action repose sur 2 grands principes : l'immunomodulation et l'inhibition de la réplication virale.

2-1- Immunomodulation

-Molécules utilisées :

- Cytokines humaines recombinantes : **Interférons I (IFN α et β)**.
- Les formes pégylées de ces molécules ou **PEG-IFN** permettent de maintenir des concentrations élevées d'IFN en retardant leur élimination d'où une meilleure efficacité.

PEG-IFN = interféron standard conjugué à du polyéthylène glycol

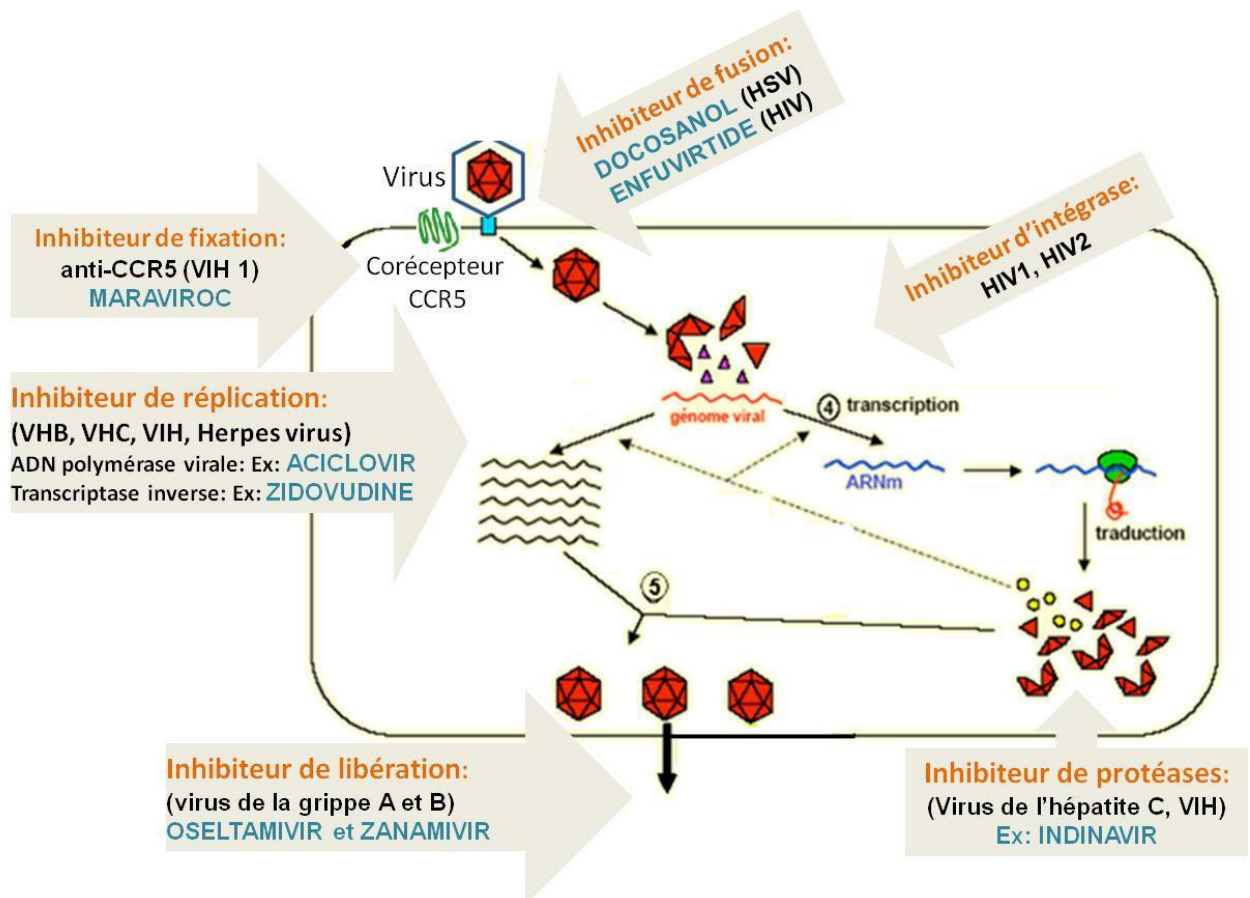
-Mécanismes d'action de ces molécules :

- activent les réponses immunes pour combattre l'infection.
- effet anti-réplication virale : une fois fixé à la membrane cellulaire, l'IFN déclenche la synthèse de protéines cellulaires à action antivirale d'où l'inhibition de la réplication virale dans les cellules infectées.

-Spectre d'action : virus de l'hépatite B (VHB) et virus de l'hépatite C (VHC).

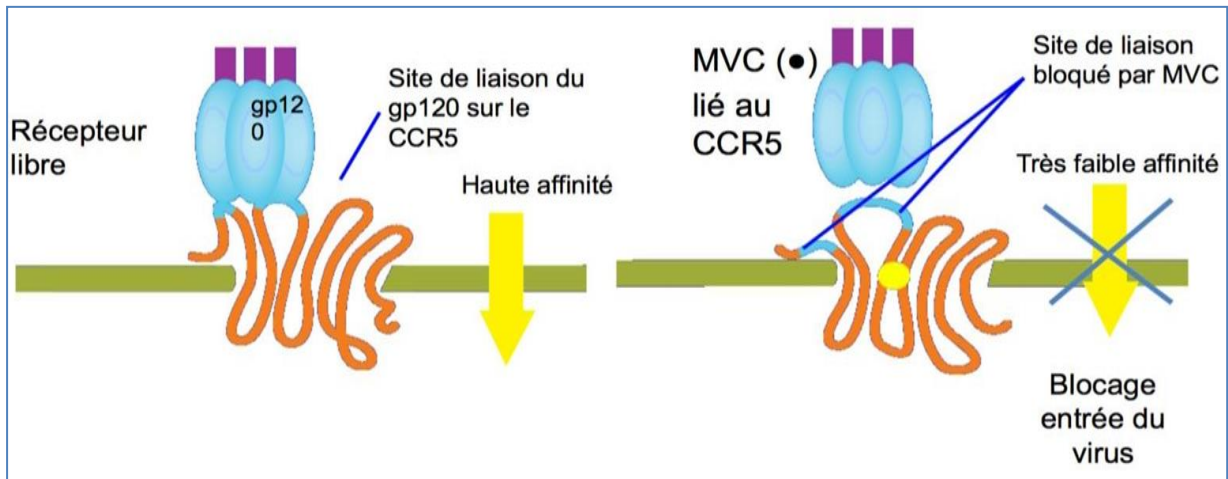
2-2- Inhibition de la réplication virale

Les molécules utilisées bloquent l'une des étapes du cycle de réplication virale:



2-2-1- Inhibiteur de fixation

Une seule molécule est disponible: elle est active sur le **VIH1** qui a un tropisme pour le corécepteur cellulaire CCR5. Cette molécule se fixe sur le CCR5 et bloque l'entrée du virus dans de nouveaux lymphocytes en empêchant la liaison de la gp 120 du virus au CCR5 d'où le spectre d'action : VIH1 à tropisme CCR5.



Inhibition de l'entrée du VIH1 à TROPISME CCR5 par Maraviroc(MVC)

Source : <https://www.cdbn.fr/file/frontend/2018/04/Antiviraux-1.pdf>

2-2-2- Inhibiteur de fusion

Il inhibe la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cytoplasmique cellulaire inhibant ainsi la pénétration intracellulaire du virus.

-Spectre d'action : Herpes simplex virus (HSV)

2-2-3-Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

La plupart des antiviraux actuellement utilisés en clinique agissent sur la réplication proprement dite. Leurs principales cibles sont les enzymes codées par les virus et impliquées dans la réplication du génome viral. Exemples :

- ADN polymérase des Herpes virus
- ADN polymérase du VHB
- ARN polymérase du VHC
- transcriptase inverse du VIH.

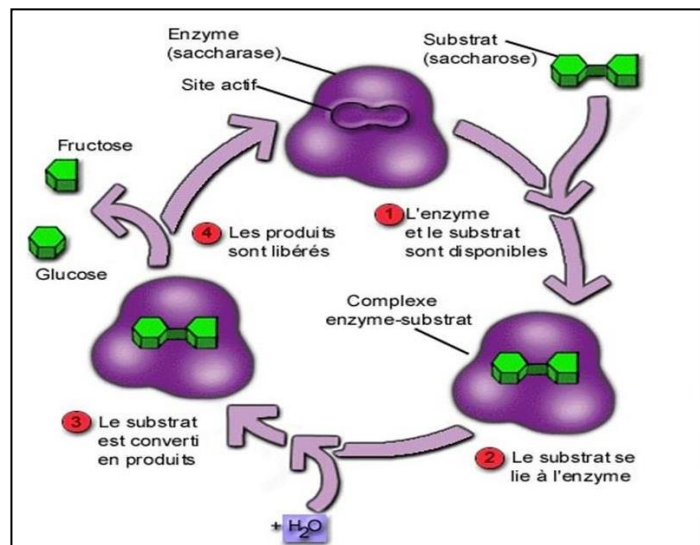
Ces **inhibiteurs de la réplication virale** agissent par deux mécanismes : inhibition compétitive ou non compétitive.

→ Inhibition compétitive :

Consiste à bloquer le site actif de l'enzyme virale cible par un **analogue du substrat de l'enzyme** qui va se comporter comme un *terminateur de chaîne*.

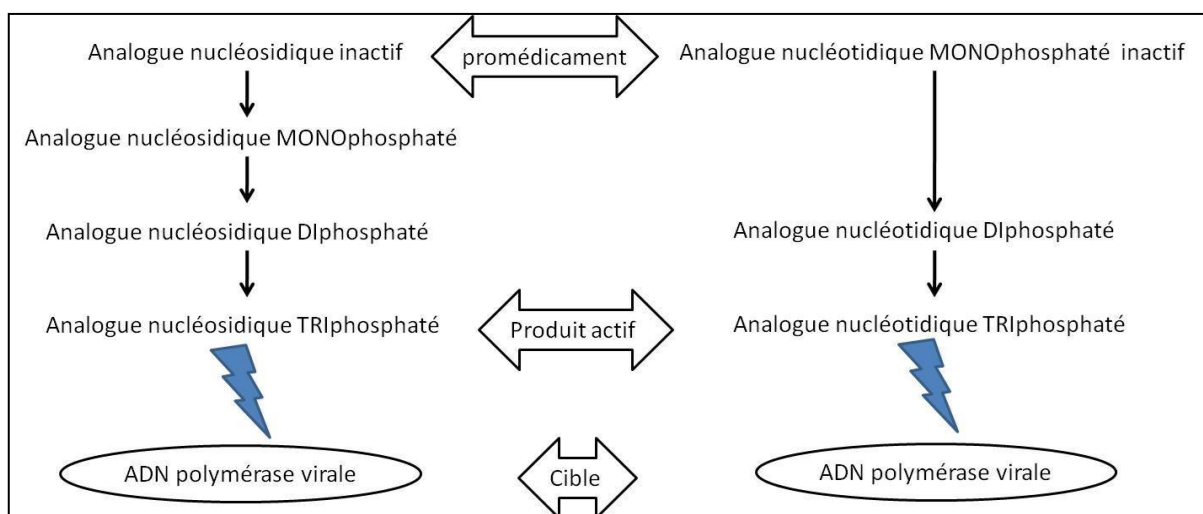
Comme les enzymes virales qui sont ciblées sont celles qui servent à la synthèse des acides nucléiques viraux, les substrats de ces enzymes sont les nucléosides ou les nucléotides et les inhibiteurs sont donc des **analogues**

nucléosidiques ou des **analogues nucléotidiques**: ce sont des nucléosides ou nucléotides artificiels structuellement proches des nucléos(t)ides naturels. Ils s'en distinguent par l'absence de groupement OH en 3'.



Exemple rappelant le mode d'activité d'une enzyme

Ces analogues ont la particularité d'être administrés sous forme de pro-médicaments donc inactifs. Pour devenir actifs, ils doivent subir des étapes de phosphorylation: tri-phosphorylation pour les analogues nucléosidiques et bi-phosphorylation pour les analogues nucléotidiques. Selon l'antiviral, cette phosphorylation se fait sous l'action de **kinases virales ou cellulaires** à l'intérieur de la cellule.



📖 Donc la différence entre nucléo sidique et nucléo tidique réside dans la présence ou non de phosphate ⇒ pour nucléo t idique : déjà monophosphorylé

Une fois actifs, ces analogues entrent en compétition avec les nucléos(t)ides triphosphatés naturels en tant que substrats de l'ADN ou ARN polymérase ou de la transcriptase inverse virale au niveau du site actif de l'enzyme $\Rightarrow$ l'absence de groupement OH en 3' dans ces analogues entraîne l'incapacité de fixation du nucléotide suivant d'où arrêt de l'élongation de la chaîne d'ADN ou d'ARN viral.

- Spectre d'action :

- analogues nucléosidiques : Herpes virus (Herpes simplex virus HSV, virus de la varicelle et du zona VZV, cytomégalovirus CMV), VHB, VHC, VIH.
- analogues nucléotidiques : VHB, VIH.

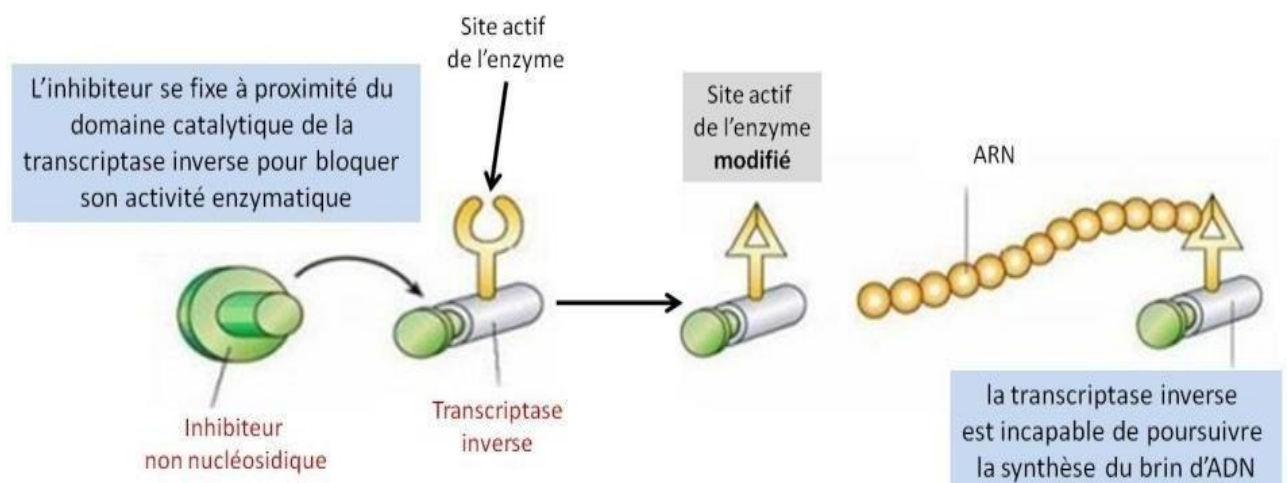
→ **Inhibition non compétitive** :

Les inhibiteurs non compétitifs se fixent sur un autre site de l'enzyme, proche du site actif de fixation des nucléosides naturels, induisant une modification de conformation du site actif. Celui-ci, modifié, devient incapable de se fixer au substrat $\Rightarrow$ ces molécules empêchent le processus normal de synthèse de l'ADN.

Comme ces inhibiteurs ne sont pas des analogues de substrat, ils sont dénommés ***inhibiteurs non nucléosidiques***.

Ces composés agissent directement, sans nécessité de modification chimique, de phosphorylation.

- Spectre d'action : VIH1, CMV, HSV, VHC.



Fixation de l'inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse du VIH à une poche hydrophobe proche du site catalytique de l'enzyme

Source : <https://www.cdbn.fr/file/frontend/2018/04/Antiviraux-1.pdf>

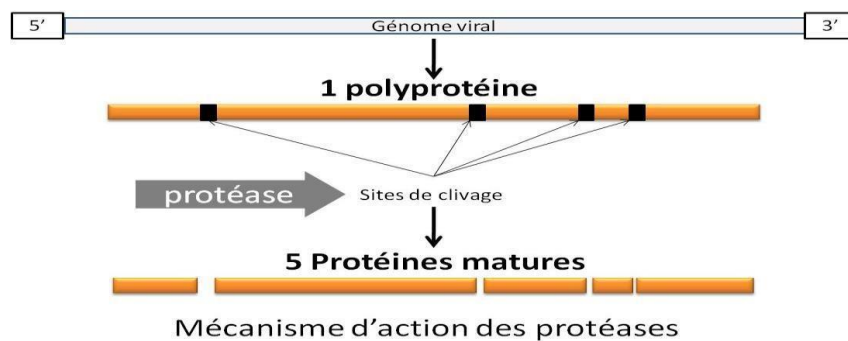
2-2-4- Inhibiteurs d'intégration dans le génome cellulaire

Ils inhibent l'intégrase qui est l'enzyme responsable de l'intégration de l'ADN proviral du VIH dans le noyau de la cellule infectée au sein des chromosomes d'où inhibition de la suite du cycle de réplication virale.

-Spectre d'action : VIH1 et VIH2.

2-2-5- Inhibiteurs de maturation

Ce sont des **inhibiteurs des protéases virales**. Ces protéases sont normalement responsables du clivage des polyprotéines virales en protéines matures de structure (de capside, d'enveloppe) ou enzymatiques ce qui permet au virus de compléter la synthèse de ses nouvelles particules virales.



Les inhibiteurs de cette enzyme se lient de manière compétitive au site actif de la protéase et empêchent ainsi le clivage des précurseurs polypeptidiques en protéines de structure définitive. Les particules virales nouvellement formées sont alors immatures et non infectieuses.

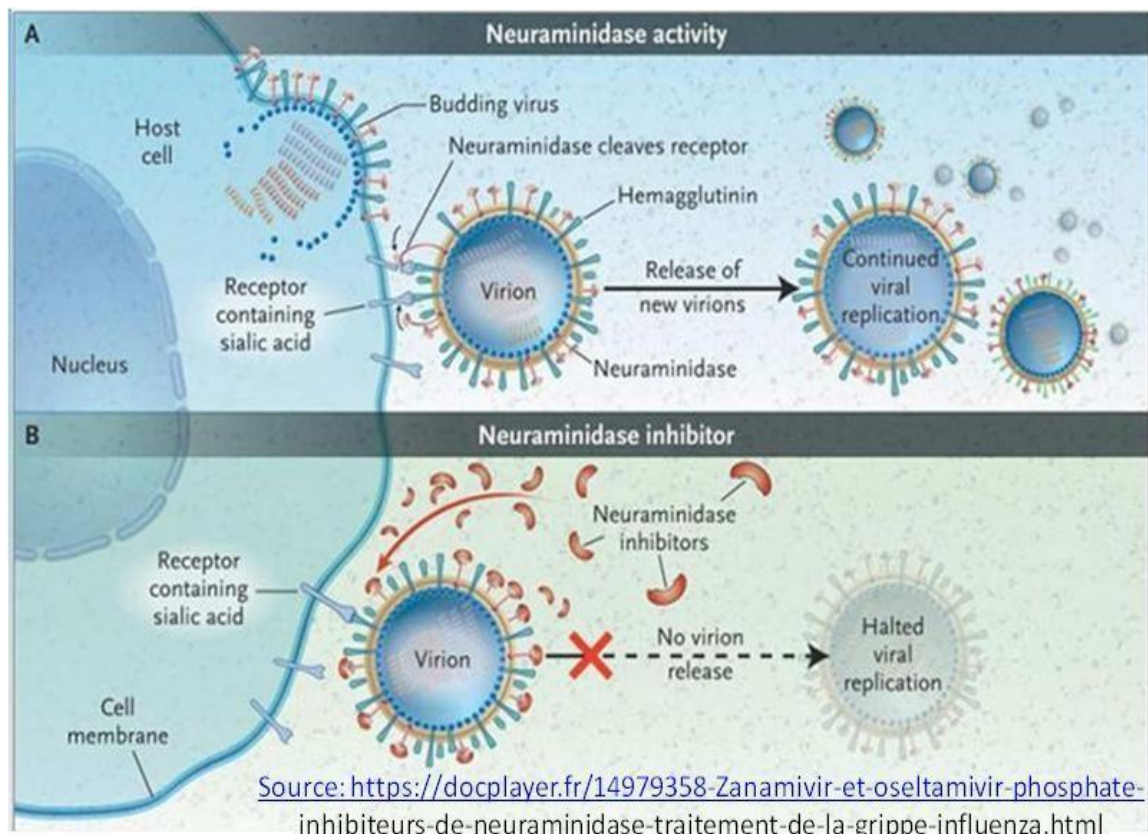
-Spectre d'action : VIH, VHC.

2-2-6- Inhibiteurs de libération

La neuraminidase des virus de la grippe favorise la diffusion des virions néoformés en les libérant de la cellule après leur bourgeonnement.

Les molécules disponibles inhibent l'action de cette enzyme et de ce fait entraînent une agrégation des particules virales qui ne peuvent plus infecter les cellules voisines.

-Spectre d'action : Virus de la grippe A et B



Au total : les virus pour lesquels on dispose actuellement d'un traitement sont: les Herpes virus, VIH, VHB, VHC et Virus de la Grippe.

4- PROBLEMES DES TRAITEMENTS ANTIVIRAUX

4-1- Effet très spécifique

A part quelques antiviraux (comme le tenofovir et la lamivudine qui sont actifs aussi bien sur le VIH que le VHB ou l'aciclovir actif sur l'herpes simplex virus ainsi que le virus de la varicelle et du zona), la spécificité des antiviraux est étroite : un antiviral actif sur un virus ne peut pas être utilisé pour un autre virus d'où la nécessité d'un diagnostic étiologique précis. Il n'y a pas de thérapie à large spectre.

Exemple ; les inhibiteurs de la protéase du VIH sont inefficaces sur la protéase du VHC.

4-2- Cytotoxicité

Cependant, plusieurs antiviraux sont activés par des enzymes cellulaires et

peuvent donc être activés dans toutes les cellules de l'hôte, même dans les cellules non infectées à l'exception de l'aciclovir.

L'aciclovir présente une relative faible toxicité par rapport aux autres antiviraux pour 2 raisons :

- il a une sélectivité très importante pour l'ADN polymérase de ces deux virus et donc n'altère pas les ADN polymérases cellulaires humaines.
- de plus, la première phosphorylation de cette molécule étant assurée par la thymidine kinase virale, seules les cellules infectées contiennent le métabolite actif et donc cette molécule n'agit que sur les cellules infectées par ces virus.

La plupart des antiviraux sont donc toxiques sur l'organisme par interférence avec le métabolisme cellulaire normal : exemple :

- Toxicité hématologique (azidothymidine)
- Toxicité rénale (foscarnet, cidofovir)
- Troubles du métabolisme : hyperglycémie, hypertriglycémie, hypercholestérolémie (Inhibiteurs des protéases)
- Troubles du métabolisme des lipides et glucides, toxicité mitochondriale, réactions cutanées (inhibiteurs de la transcriptase inverse du VIH)

Cette toxicité oblige parfois à réduire ou à arrêter le traitement.

La prescription d'un antiviral doit donc prendre en considération ses éventuels effets secondaires et ses contre-indications et impose de prendre les précautions nécessaires (surveillance rénale, hématologique...) s'ils sont prescrits.

4-3- Résistance aux antiviraux

Les virus peuvent acquérir des résistances aux antiviraux par mutation.

Exemple : le HSV peut devenir résistant à l'aciclovir par mutation du gène codant pour la thymidine kinase virale (d'où absence de phosphorylation du promédicament) ou de l'ADN polymérase virale (l'enzyme ainsi modifiée n'est plus reconnue par l'aciclovir). De même, le VIH peut devenir résistant à l'azidothymidine par mutation du gène de sa transcriptase inverse.

Ces résistances sont croisées entre les molécules d'une même classe (qui agissent par le même mécanisme d'action).

Ces résistances sont augmentées lorsque l'antiviral est sous-dosé, lors des traitements prolongés (VIH, VHB) et/ou répétés (HSV, CMV) ou lors d'une mauvaise observance ou d'interactions médicamenteuses (entre médicaments de la tuberculose et anti-rétroviraux par exemple).

Afin de limiter l'apparition de virus porteurs de mutation de résistance, susceptibles d'entraîner un échec au traitement, on associe entre elles des molécules ayant des mécanismes d'action différents. Par exemple, la base du traitement de l'infection à VIH consiste à associer un inhibiteur nucléosidique + inhibiteur de protéase...

4-4- Pas d'effet sur les virus latents

Les antiviraux sont inefficaces sur les virus latents car ils n'agissent que sur les virus en réplication active. Leur action se limite à arrêter la réplication virale. Ils ont donc une action uniquement virostatique. Ils ne sont pas virucides (ne détruisent pas le virus).

4-5- Coût élevé

Conclusion

A part l'ACV, les effets toxiques des autres molécules antivirales sur les cellules de l'organisme imposent de prendre des précautions avant de les prescrire. Chaque classe d'antiviraux et même chaque molécule possède des contre-indications propres. Il est donc important de les prendre en considération avant toute prescription d'un traitement.

ANNEXE : exemples d'antiviraux

Mécanisme d'action		Nom de la molécule	Spectre d'action
Inhibiteur de fixation		MARAVIROC	VIH1 à tropisme CCR5
Inhibiteur de fusion		DOCOSANOL	HSV
	Inhibiteurs nucléosidiques	Anti-herpes virus : <u>ACICLOVIR</u>	HSV VZV
		VALACICLOVIR	HSV, VZV et CMV
		GANCICLOVIR	CMV
		VALGANCICLOVIR	CMV
		PENCICLOVIR	HSV
		FAMCICLOVIR	HSV
		CIDOFOVIR	HSV et CMV
Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques		AZIDOTHYIMIDINE	VIH
		LAMIVUDINE	VIH, VHB
		SOFOBUVIR	VHC
	Inhibiteurs nucléotidiques	ADEFOVIR	VHB VHB VIH, VHB
		ENTECAVIR	
		TENOFOVIR	
	Inhibiteurs non nucléosidiques	NEVIRAPINE	VIH1 uniquement
		FOSCARNET	-CMV résistant au ganciclovir -HSV résistant à l'aciclovir
		DACLATASVIR	VHC
	Inhibiteurs d'intégration		RALTEGRAVIR
Inhibiteurs de protéases virales		ATAZANAVIR SIMEPREVIR	VIH VHC
Inhibiteurs de libération		OSELTAMIVIR ZANAMIVIR	Virus de la grippe A et B

VIH: virus de l'immunodéficience humaine ; HSV: Herpes Simplex virus ; VZV: Virus de la varicelle et du zona ; CMV: Cytomégalo virus ; VHB: virus de l'hépatite B ; VHC: virus de l'hépatite C.

Evaluation formative

QCM1 :

- A. Les antiviraux sont des molécules virostatiques
- B. Les antiviraux sont en général peu toxiques
- C. Un même antiviral peut être actif sur tous les virus à ARN
- D. Il existe des antiviraux contre tous les virus impliqués en pathologie humaine
- E. Certains antiviraux sont actifs sur des virus de la même famille

QCM2 :

- A. Les antiviraux doivent agir avant l'entrée du virus dans la cellule
- B. La plupart des antiviraux ciblent la réplication virale proprement dite
- C. Contrairement aux antibiotiques, il n'existe pas de résistance aux antiviraux
- D. Le développement des molécules antivirales a connu un véritable essor après l'apparition du SIDA
- E. Les antiviraux doivent être prescrits seulement après avoir identifié le virus responsable de l'infection.

QCM3 :

L'aciclovir :

- A- inhibe la réplication virale
- B- est spécifique de l'ADN polymérase des virus herpes simplex
- C- est toxique pour la cellule infectée
- D- est un analogue nucléosidique
- E- peut agir sur le cytomégalovirus

QROC :

- 1- Préciser les différences entre inhibiteurs nucléos(t)idiques et inhibiteurs non nucléosidiques.
- 2- Citer les étapes du cycle viral sur lesquelles agissent les différents traitements anti-rétroviraux.
- 3- Expliquer la faible toxicité de l'aciclovir par rapport aux autres molécules antivirales.
- 4- Expliquer l'inefficacité des antiviraux sur les virus latents.
- 5- Citer le mécanisme d'acquisition de résistance des virus aux molécules antivirales et donner un exemple.

LES VIRUS DE L'HEPATITE

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- 1/ Distinguer les virus responsables d'hépatite virale, leur épidémiologie et l'histoire naturelle des infections qu'ils provoquent (modes évolutifs).
- 2/ Prescrire les analyses nécessaires pour le diagnostic virologique de l'infection, le suivi de son évolution (guérison, hépatite chronique...) selon le virus et savoir interpréter les résultats.

1/ INTRODUCTION

- Bien que des virus comme l'EBV, le CMV ou le VZV puissent donner d'authentiques hépatites, le terme de virus des hépatites est réservé aux **virus de l'hépatite A, B, C, D, E** en raison de leur tropisme exclusif pour le foie.
- Parmi ces virus, on distingue ceux qui se transmettent par voie **féco-orale** qui sont les virus A et E et les autres qui se transmettent essentiellement par **voie parentérale**.
- Les hépatites virales, en particulier A et B, constituent un problème de santé publique en Tunisie.
- Les moyens de traitement antiviral efficace étant limités actuellement aux virus de l'hépatite B et C, la lutte contre ces infections repose essentiellement sur la prévention. Une vaccination efficace existe mais uniquement contre les virus de l'hépatite A et B.

2/ CARACTERISTIQUES COMMUNES

2-1/ Physiopathologie

- Les virus de l'hépatite appartiennent à des familles différentes mais ils ont tous un point commun : leur tropisme pour la cellule hépatique.

Le premier contact avec l'un de ces virus provoque une **infection aigue** qui est asymptomatique chez la plupart des malades.

Cette infection aigue peut évoluer de différentes manières :

- vers la **résolution** avec apparition d'une **immunité spécifique contre le virus infectant** (il n'existe pas d'immunité croisée entre les 5 virus de l'hépatite).

-vers une infection chronique avec persistance du virus au niveau de l'organisme, principalement le foie : cette forme concerne les virus B, C et D. Un passage à la chronicité de l'hépatite E a été également décrit chez l'immunodéprimé.

-vers une hépatite fulminante (insuffisance hépatique aiguë) : exceptionnellement.

► Les lésions hépatiques observées au cours d'une hépatite sont dues à la réponse immune cellulaire de l'hôte qui détruit les hépatocytes infectés exprimant des antigènes viraux à leur surface.

En fait, l'expression clinique et la gravité de l'hépatite virale sont justement liées au conflit entre le virus et l'intensité de la réponse immune de l'hôte :

- Si la réponse immunitaire est **modérée**, *l'hépatite aiguë reste asymptomatique*.
- Plus la réponse immunitaire est **intense** et plus l'hépatite aiguë est *symptomatique* avec plus de chance d'évoluer vers la *résolution*.
- Mais si cette réponse immunitaire est **exagérée**, cela peut conduire à une *hépatite fulminante*.
- Si la réponse immunitaire est **faible insuffisante**, l'infection devient *chronique*.

► En outre, les hépatites virales peuvent provoquer des **manifestations extra hépatiques** qui sont dues essentiellement au dépôt de complexes immuns formés par les Ag viraux et les anticorps correspondants.

2-2/ Diagnostic virologique

Il n'est pas possible de distinguer les virus responsables de l'hépatite sur le plan clinique, aussi est-il indispensable de **confirmer le diagnostic en laboratoire**. Les virus de l'hépatite étant de culture difficile, le diagnostic repose essentiellement sur la détection des anticorps, des antigènes ou des génomes viraux.

VIRUS DE L'HEPATITE A et E

1/ Structure

Virus de l'hépatite A (VHA): virus nu à ARN, de la famille des *Picornaviridae*.

Virus de l'hépatite E (VHE) : virus nu à ARN, famille des *Hepeviridae*.

2/ Epidémiologie

► Ces deux virus se transmettent essentiellement par voie ***féco-orale***, soit:

- par l'ingestion d'eau
- par l'ingestion d'aliments contaminés :
 - coquillages, crustacés, légumes... pour les deux virus
 - viande de porc ou de cervidés insuffisamment cuite pour le VHE.
- directement par contact avec les mains sales ou avec les selles d'une personne infectée (contamination familiale, dans les collectivités ou nosocomiale). Dans le cadre familial, cette transmission peut se produire par exemple lorsqu'un sujet infecté prépare avec des mains sales la nourriture destinée aux membres de sa famille.

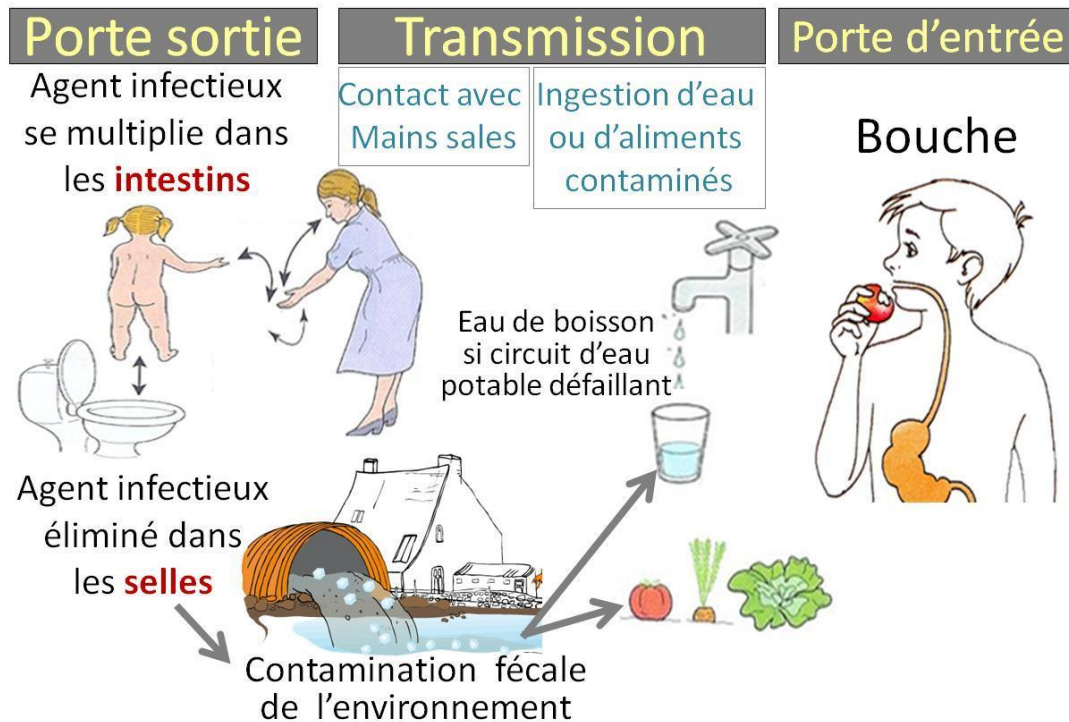
► Ces virus étant éliminés dans les selles, leur transmission est liée à l'hygiène fécale. Ils sont très résistants dans le milieu extérieur pouvant être ainsi détectés dans les eaux usées.

Le VHA est inactivé par les dérivés chlorés (concentrations de chlore de 2 à 2,5 mg/l pendant 15 minutes). Il peut cependant résister aux concentrations de chlore présentes dans l'eau de boisson et les eaux de piscine.

Il survit dans l'eau douce ou salée durant de longues périodes.

Il reste sur les mains 4 heures.

En Tunisie, le risque d'infection par le virus de l'hépatite A est lié principalement au manque d'eau potable et à la médiocrité des conditions d'assainissement et d'hygiène individuelle (mains sales).



3/ Pouvoir pathogène

♦Après avoir pénétré par voie digestive, le VHA ou le VHE gagnent l'intestin grêle puis le foie par **le sang** (virémie). Ils se multiplient dans les cellules hépatiques puis sont relargués dans le sang et les selles.

L'immunité qui apparait est spécifique du virus en cause, solide et durable.

L'hépatite A n'évolue jamais vers la chronicité.

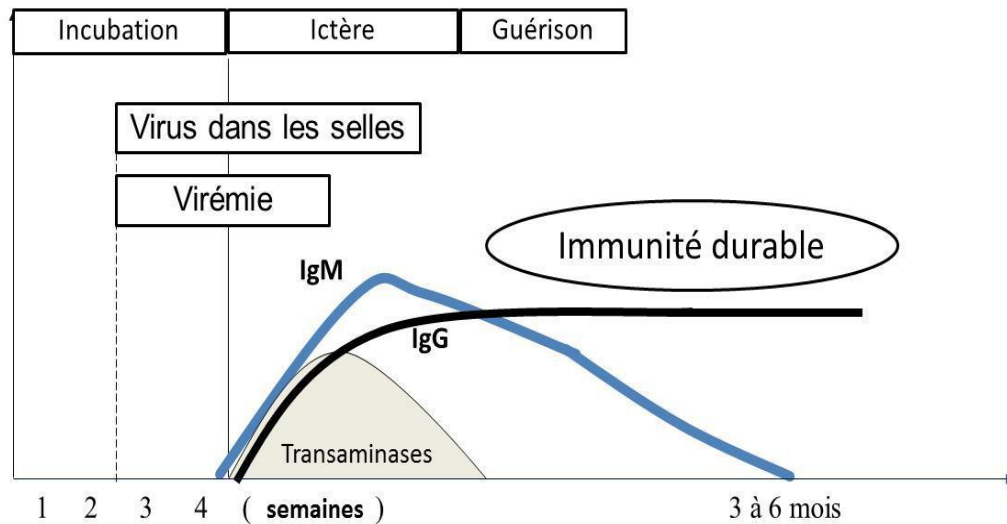
Par contre, ***l'hépatite E peut passer à la chronicité*** dans un contexte d'immunodépression. L'hépatite E aiguë peut également être grave sous forme ***d'hépatite fulminante*** lorsqu'elle survient chez la femme enceinte, durant le 3^{ème} trimestre de grossesse, pouvant être responsable de mortalité maternelle dans 20 % des cas.

4/ Diagnostic virologique

En cas d'hépatite aiguë :

♦L'apparition des IgM et IgG anti-VHA ou anti-VHE est contemporaine de l'apparition des manifestations cliniques.

Ensuite, les IgM disparaissent après en moyenne 3 à 6 mois tandis que les IgG persistent plusieurs dizaines d'années protégeant contre une réinfection.



Cinétique des marqueurs VHA et VHE au cours de l'hépatite aiguë

⇒ En pratique, le diagnostic d'une hépatite A/E aiguë repose sur la détection des **IgM spécifiques**.

En cas d'hépatite E aiguë évoluant vers la chronicité :

♦ L'ARN VHE est détectable dans le **sang** ou les **selles** avant même l'apparition des signes cliniques et disparaît normalement quelques semaines après le début des signes cliniques en cas de guérison. En cas d'évolution vers une hépatite E chronique, l'**ARN VHE** persiste dans le sang **au-delà de 3 mois après l'infection aiguë** ⇒ le diagnostic d'une hépatite E chronique repose sur la recherche de l'ARN VHE par **RT-PCR dans le sang**.

VIRUS de L'HEPATITE B (VHB)

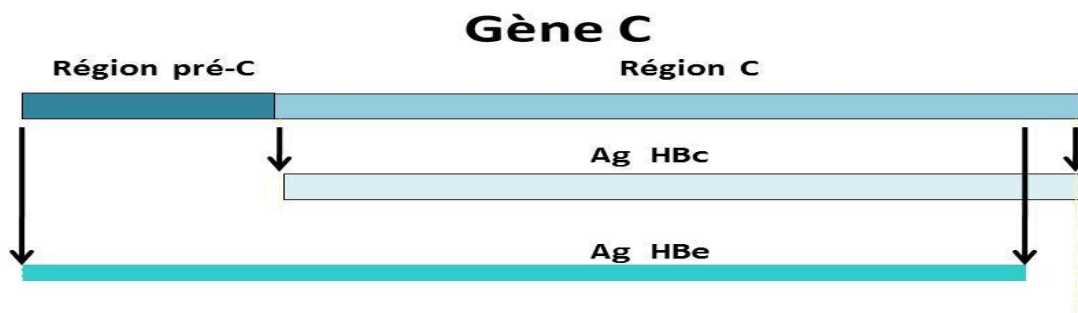
1/ Structure

Famille : *Hepadnaviridae*.

Virus à ADN, enveloppé.

Son génome ADN est constitué de quatre gènes:

- gène **S** qui code les protéines d'enveloppe ou antigène HBs (s pour surface)
- gène **C** (constitué des régions pré-Core et Core) qui code les protéines suivantes:
 - * antigène HBc (c pour capside), codé par la région Core (C).
 - * antigène HBe, codé par la région pré-Core (pré-C) et une partie de la région C.



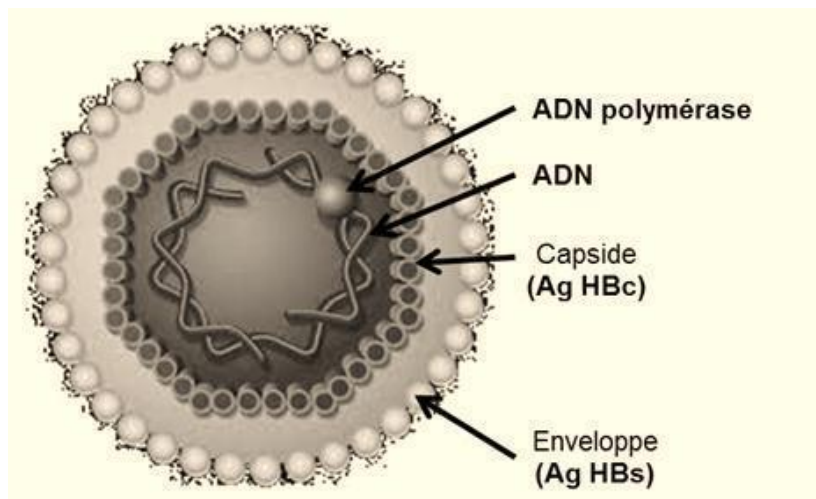
Région préC-C et protéines correspondantes

-gène **P** qui code l'ADN polymérase virale.

-gène **X** qui code une protéine X, retrouvée au niveau du foie infecté. Cette protéine joue un rôle de régulation dans la réplication virale. C'est aussi une protéine transactivatrice d'oncogènes cellulaires.

Le VHB est constitué de dehors en dedans par :

- une enveloppe, constituée essentiellement de protéines = l'**Ag HBs** (appelé autrefois Ag Australia). Cette protéine est impliquée dans la fixation et la pénétration du virion au niveau de l'hépatocyte.
- une capside constituée de l'**Ag HBc**.
- l'**ADN viral**.
- l'**ADN polymérase**, associée à l'ADN viral. Elle permet la réplication de cet ADN viral.



Structure du VHB

(Source : [http://www.newsmedical.net/health/What-is-Hepatitis-B-\(French\).aspx](http://www.newsmedical.net/health/What-is-Hepatitis-B-(French).aspx))

Dans le sérum d'un sujet infecté, on retrouve aussi une autre protéine non structurale du virus (non constitutive de la particule virale): **l'Ag HBe**. En effet, au cours de la réplication virale, cette protéine est synthétisée par le virus puis excrétée par la cellule hépatique dans le sang, sous forme soluble.

*Les protéines constitutives du virion (HBs, HBc) ou sécrétée (HBe) sont antigéniques et induisent chez les sujets infectés l'apparition d'anticorps spécifiques: **anticorps anti-HBs, anti-HBc et anti-HBe**.*

2/ Propriétés physicochimiques du VHB

L'enveloppe de structure essentiellement protéique du VHB lui confère des caractéristiques physicochimiques particulières :

- une **grande résistance** dans le milieu extérieur (le virus résiste plus de 7 jours dans une goutte de sang desséchée) et à de nombreux antiseptiques et désinfectants.
- il est cependant sensible à l'eau de Javel et au glutaraldéhyde.
- il est résistant à 56°C et son inactivation nécessite un chauffage jusqu'à 100°C pendant au moins 20 minutes.

3/ Transmission

-Ce virus est 100 fois plus contagieux que le VIH.

-Il est présent à une concentration élevée dans le sang des sujets ayant une infection VHB (*0,1 µl de plasma contaminé peut transmettre le virus*).

Il est également présent dans les sécrétions génitales et le sperme, la salive, le lait, les urines et les larmes.

-La contagiosité est maximale entre 1 et 3 mois après la contamination et persiste tant que l'ADN du VHB est détectable dans le sang.

Sa transmission est essentiellement :

- **parentérale**:

- par le sang et ses dérivés (la transmission transfusionnelle est très rare actuellement en raison du dépistage et l'exclusion des donneurs de sang porteurs des marqueurs du VHB)
- par contact percutané avec du matériel souillé (injection de drogue, tatouage, scarification, piercing...)
- lors d'accident d'exposition au sang pour le personnel de la santé.

- **sexuelle** (l'hépatite B est classée parmi les infections sexuellement transmises).

-**materno-infantile**: l'enfant est infecté surtout au cours de l'accouchement et dans le post-partum. Le risque de contamination et de passage à la chronicité est lié essentiellement à la charge virale à la fin de grossesse chez la mère.

- **transmission intra-familiale ou dans une collectivité** où le VHB peut être transmis au cours des gestes de la vie quotidienne. Elle se fait le plus souvent par le partage d'objets de toilette (rasoirs..), couverts, ou par les lésions cutanées.

⇒ **Les Groupe à risque** de faire une infection à VHB découlent des modes de contamination et sont donc les:

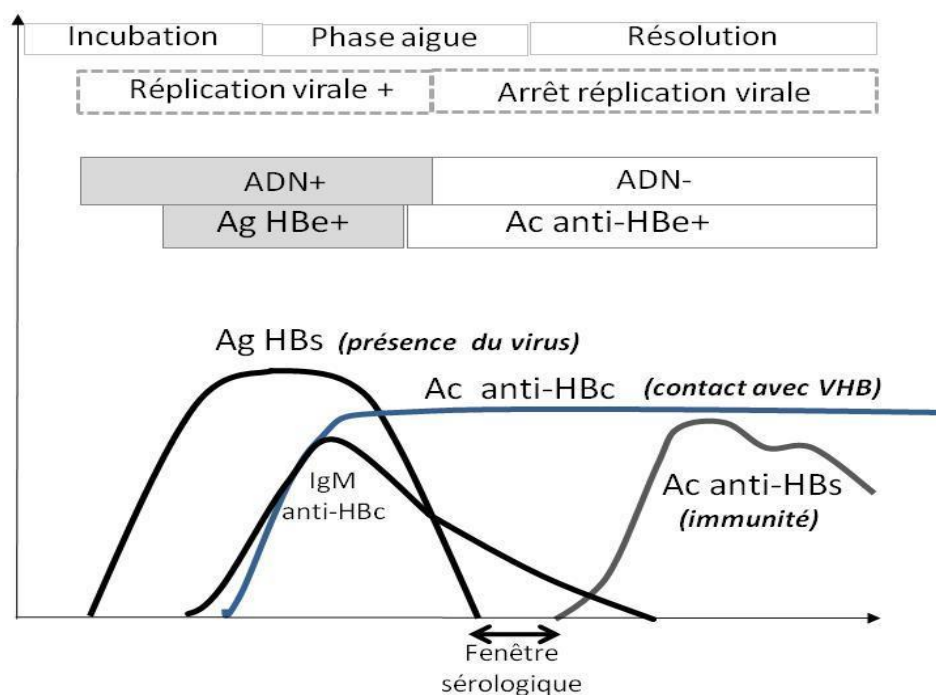
- Toxicomanes par voie intraveineuse
- Hémodialysés, Hémophiles, Polytransfusés
- Personnels de santé
- Homosexuels
- Partenaires sexuels des porteurs du VHB

- Enfants nés des mères porteuses du VHB
- Entourage d'un porteur du VHB
- Personnes séropositives pour le VIH.
- Milieu d'incarcération.

4/ Histoire naturelle de l'infection VHB

4-1/ Infection VHB aigue

- Après pénétration du VHB dans l'organisme, l'infection aigue se caractérise au début par une réplication intense du virus. Ceci se traduit par la détection dans le sérum du malade de l'ADN viral, l'Ag HBs puis de l'Ag HBe avant même l'apparition des signes cliniques.
- Avec le développement d'une réponse immunitaire, les Ac anti-HBc de type IgG et IgM apparaissent en même temps que l'ictère, soit en moyenne 2 mois après la contamination. Les IgM disparaissent ensuite après quelques mois alors que les IgG persistent toute la vie traduisant un contact antérieur avec le VHB.



Evolution des marqueurs VHB au cours d'une hépatite B aigue résolutive

- En cas d'évolution favorable, le virus s'arrête de se répliquer d'où :
 - L'ADN viral devient négatif.
 - L'Ag HBe disparaît et laisse la place aux Ac anti-HBe: c'est la *séroconversion HBe*.

- L'Ag HBs disparaît et les Ac anti-HBs apparaissent mais quelques semaines après la disparition de l'Ag HBs (après une fenêtre sérologique). Ces anticorps sont **neutralisants** et leur apparition témoigne d'une **immunité contre le VHB**.

Ces anticorps anti-HBs sont considérés positifs et donc protecteurs lorsqu'ils sont ≥ 10 UI/l.

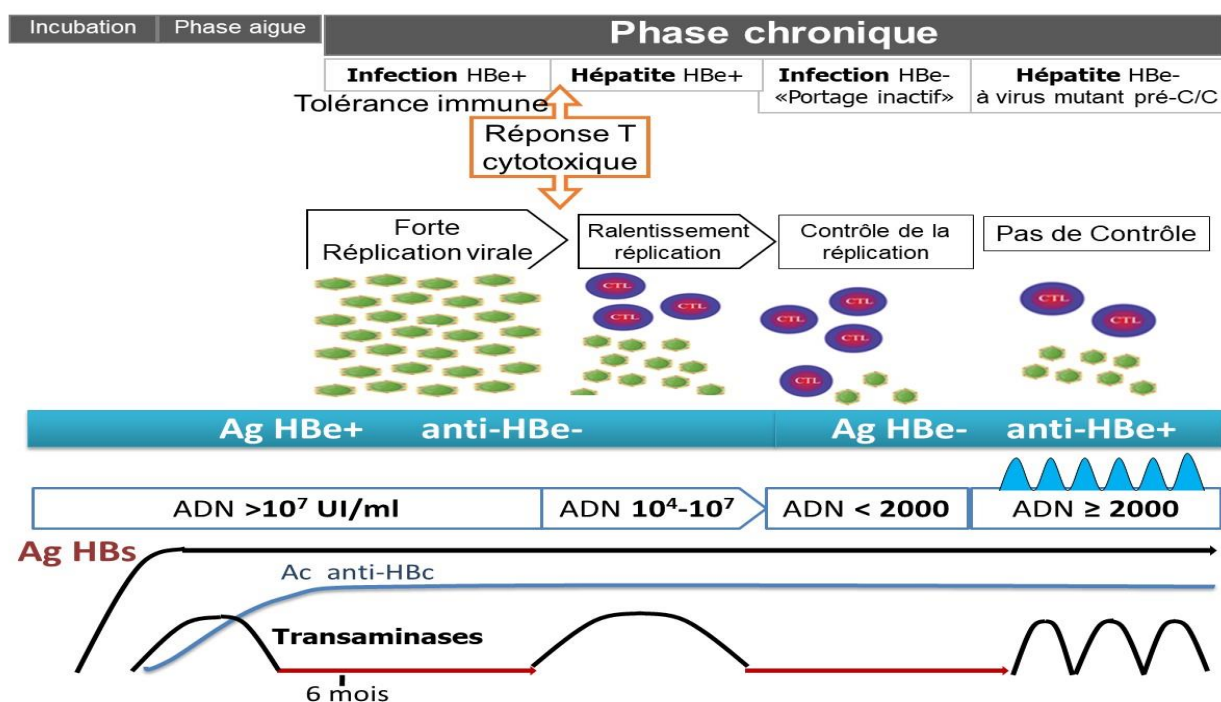
ATTENTION : il faut garder à l'esprit que malgré la résolution de l'infection, le virus n'est pas complètement éliminé : il persiste latent dans les hépatocytes sous forme d'ADN superenroulé. Il peut se réactiver en cas d'immunodépression.

4-2/ Infection VHB chronique

En cas d'évolution vers la chronicité, le virus persiste au niveau du foie et continue à se répliquer et à produire de l'Ag HBs d'où l'infection VHB chronique se *définit par la **persistance de l'Ag HBs et/ou de l'ADN viral plus de 6 mois après une infection aiguë.***

En raison d'une réponse immune insuffisante, les anticorps anti-HBs n'apparaissent pas.

Les Ac anti-HBc sont retrouvés dans la fraction des IgG et les IgM sont négatives.



Evolution des marqueurs VHB et des transaminases au cours d'une infection VHB chronique

Il existe quatre formes de cette infection chronique : (voir figure ci-dessus)

► **l'infection chronique Ag HBe positif à virus sauvage** (n'a pas subi de mutations) : ***c'est la phase de tolérance immune.***

Au début après l'infection aiguë, la réponse immunitaire de l'hôte est insuffisante ce qui explique la persistance du virus et une forte réplication virale. Ceci se traduit sur le plan biologique par la présence des marqueurs de la réplication virale dans le sérum du malade:

- Ag HBe+
- ADN viral+ à un taux très élevé ($>10^7$ UI/ml)
- par contre, les transaminases sont normales et il n'y a pas ou peu de lésions hépatiques.

Cette forme est très contagieuse.

L'évolution de cette phase est variable:

► pour la plupart des patients, l'évolution se fait vers le développement d'une réponse immune importante qui détruit les hépatocytes infectés d'où un ralentissement de la réplication virale qui se traduit par :

- une diminution de la charge virale (entre 10^4 et 10^7 UI/ml)
- une augmentation des transaminases.

C'est la **phase d'hépatite chronique HBe+**.

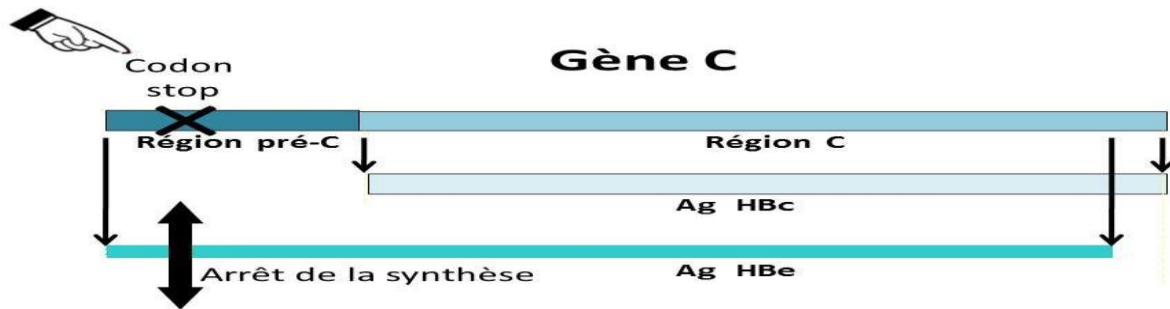
► le contrôle de la réplication du VHB peut conduire ainsi à une séroconversion HBe et à une **infection chronique Ag HBe négatif** ou **portage inactif du VHB**.

Cette infection se caractérise par :

- un taux d'ADN non détectable ou faible < 2000 UI/ml.
- la présence d'anticorps anti-HBe sans Ag HBe.
- des transaminases normales.

Ce portage inactif est généralement de bon pronostic avec un risque faible de cirrhose ou de cancer du foie voire une résolution de cette infection qui peut survenir spontanément chez quelques patients après plusieurs années de portage.

► d'autres patients n'arrivent pas à contrôler le virus et progressent vers une **hépatite chronique** où le virus se réplique avec toutefois un **Ag HBe négatif** : l'absence de détection de l'Ag HBe malgré l'existence d'une réplication du virus résulte de mutations dans la région pré-Core/Core du génome viral conduisant à un blocage de la production d'Ag HBe. Le VHB porteur de ces mutations est dit **mutant « précore/core »** ou **« préC/C »** et est sélectionné lors de la séroconversion HBe.



Cette forme se caractérise par :

- des taux d'ADN viral $\geq 2000 \text{ UI/ml}$.
- la présence d'anticorps anti-HBe sans Ag HBe.
- des taux élevés des transaminases.
- des lésions hépatiques avec un risque élevé d'évolution vers la cirrhose et le cancer du foie.

Très rarement, cette hépatite peut finir par une résolution de l'infection.

5/Diagnostic virologique

La confirmation virologique d'une infection VHB est basée sur la détection des marqueurs VHB dans le sérum des malades:

- antigènes: HBs et HBe.
- anticorps: anti-HBs, anti-HBc et anti-HBe.
- la quantification par PCR de l'ADN VHB ou charge virale.

ATTENTION: l'antigène HBc n'est jamais détecté dans le sérum.

► Devant une suspicion d'hépatite B aiguë, le diagnostic est confirmé par le profil sérologique : **Ag HBs+**, **IgG anti-HBc+** et **IgM anti-HBc+**.

Remarque : en plus de ces marqueurs et selon le moment où la sérologie a été réalisée, on détecte soit l'Ag HBe soit les anticorps anti-HBe. L'apparition rapide des anticorps anti-HBe est de bon pronostic et en faveur d'une évolution de l'infection aigue vers la résolution.

► Le profil d'hépatite B résolue se traduit par: **Ag HBs-**, **IgG anti-HBc+**, **Ac anti-HBs+**.

► Le diagnostic d'une hépatite B chronique repose sur le profil : **Ag HBs+**, **IgG anti-HBc+**, **IgM anti-HBc-**.

Une fois ce diagnostic retenu, le système HBe/anti-HBe et la charge virale sont déterminés afin de distinguer entre infection chronique Ag HBe+ à virus sauvage ou HBe- à virus mutant ou un portage inactif (voir tableau ci-dessous).

Au total, l'Ag HBs est retrouvé au cours d'une infection aigue ou chronique et témoigne donc de la **présence du virus dans l'organisme**.

L'Ag HBe traduit la **réplication virale** au cours d'une infection aigue ou chronique. *Cependant, son absence ne traduit pas nécessairement l'absence de réplication virale comme c'est le cas de l'hépatite chronique HBe- due à un mutant preC/C.*

L'ADN est le seul **vrai marqueur de réplication virale**. La détermination de son taux est utile pour le diagnostic de la forme d'infection chronique VHB mais aussi pour le suivi des malades chroniques avec ou sans traitement antiviral.

Les anticorps anti-HBe ne sont pas protecteurs et témoignent de **l'arrêt de la réplication virale** sauf si mutant preC/C.

Les IgG anti-HBc ne sont pas protecteurs, ils témoignent seulement d'un **contact avec le VHB récent (infection aigue) ou ancien (infection résolue ou chronique)**.

Les anticorps anti-HBs sont les seuls **anticorps protecteurs** et témoignent d'une résolution de l'infection lorsqu'ils sont retrouvés avec les IgG anti-HBc ou d'une immunité post-vaccinale s'ils sont retrouvés seuls sans IgG anti-HBc (car le vaccin est constitué de la seule fraction Ag HBs).

Tableau récapitulatif des profils sérologiques de l'infection VHB

Ag HBs	IgG anti-HBc	IgM anti-HBc	Ag HBe	Ac anti-HBe	Ac anti-HBs	Taux d'ADN	Interprétation
+	+	+	+	-	-	++	Infection aiguë
-	+	-	-	+/-	+ ≥10 UI/l	-	Infection résolue
+	+	-	+	-	-	>10 ⁷	Infection chronique Ag HBe positif
+	+	-	-	+	-	<2000	Infection chronique Ag HBe négatif
+	+	-	-	+	-	≥2000	Hépatite chronique Ag HBe négatif
-	-	-	-	-	+ ≥10 UI/l	-	Vaccination ou Injection d'immunoglobulines spécifiques anti-HBs

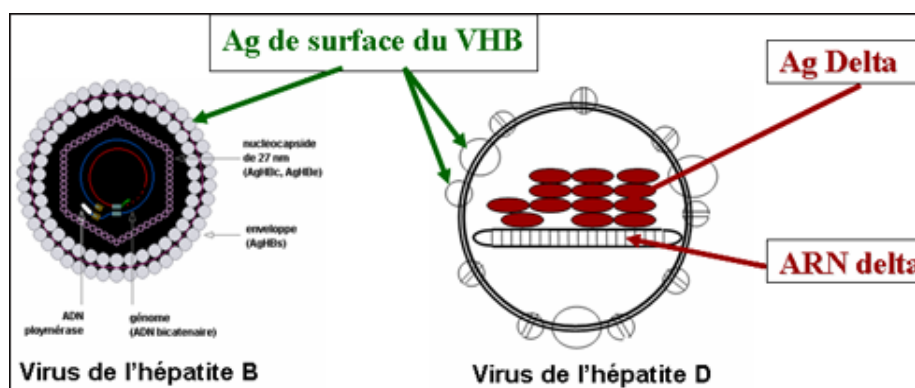
VIRUS de L'HEPATITE delta (VHD)

1/ Structure

C'est un virus déficient qui ne peut se multiplier qu'en présence du VHB.

Le génome viral est constitué par un ARN qui code pour une protéine interne spécifique = antigène Delta, associée à l'ARN.

Le virus Delta utilise comme enveloppe celle de l'HBV qui est nécessaire à son pouvoir infectieux. Toutefois, dans l'hépatocyte, la réplication de l'HDV est indépendante de celle de l'HBV.



Structure du VHD

2/ Transmission

Ce virus n'infecte que les sujets infectés par le VHB : il ne peut pas y avoir d'hépatite D en l'absence du virus de l'hépatite B.

Les voies de transmission sont donc les mêmes pour le VHD que pour le VHB, mais essentiellement **parentérale** (surtout chez les drogués) et **sexuelle**. La transmission verticale est possible mais rare.

3/ Pouvoir pathogène

Le VHD réalise 2 types d'infection, soit :

– **une coinfection B et D**: avec transmission simultanée des deux virus d'où se manifeste comme une hépatite aiguë banale.

Cette coinfection augmente le risque *d'hépatite fulminante*.

Par contre, le risque d'infection chronique est relativement faible.

-**une surinfection Delta** qui correspond à la transmission du virus Delta chez un patient présentant déjà une hépatite B chronique. Cette surinfection entraîne une hépatite delta aiguë qui va *aggraver l'hépatite B chronique* d'où une augmentation du risque d'évolution vers la cirrhose et le cancer du foie.

4/ Diagnostic virologique

La recherche d'une infection par le VHD ne peut se faire que chez **un porteur de l'antigène HBs**.

On diagnostique alors l'infection par le VHD en mettant en évidence les IgG et IgM anti-VHD (détectables aussi bien dans l'infection delta aiguë que chronique). Le diagnostic est confirmé par la détection sérique de l'ARN du VHD.

Ces marqueurs du VHD coexistent avec les marqueurs du VHB :

-Ag HBs+, IgG et IgM anti-HBc+ en cas de coinfection B-D.

-Ag HBs+, IgG anti-HBc+ et IgM anti-HBc- en cas de surinfection B-D.

VIRUS DE L'HEPATITE C (VHC)

1/ Structure

Jusqu'à sa découverte en 1989, ce virus était responsable de la majorité des hépatites non A - non B à transmission parentérale et post-transfusionnelles. C'est un virus à ARN, enveloppé, de la famille des *Flaviviridae*.

Le VHC se caractérise par une variabilité génétique qui permet de le subdiviser en plusieurs génotypes et sous-types : on dénombre 6 génotypes numérotés de 1 à 6 au sein desquels on retrouve des sous-types désignés par une lettre a, b, c... (Exemple : 1a, 1b, 2a, 2c....).

Ces génotypes ont une répartition géographique différente. En Tunisie, on retrouve surtout les Génotypes 1,2, 3.

L'identification du génotype du VHC infectant un malade est importante pour le choix des doses et la durée du traitement antiviral (la réponse au traitement varie selon le génotype).

2/ Transmission

L'hépatite C est beaucoup moins contagieuse que l'hépatite B.

Sa transmission est essentiellement PARENTÉRALE par le biais de :

- la transfusion (devenue rare avec le dépistage du VHC chez les donneurs de sang),
- surtout de la toxicomanie par voie intraveineuse, par contact percutané avec du matériel souillé (personnels de la santé, tatouage, piercing, ...), suite à une mauvaise stérilisation du matériel médical (endoscopie, cathétérisme, chirurgie, soins dentaires...).
- Plus rarement, la transmission peut se faire par voie sexuelle, de la mère à l'enfant (au cours de l'accouchement ou de l'allaitement) ou intrafamiliale.
- Dans 50 % des cas, le mode de transmission reste indéterminé.

Les groupes à risque sont surtout des:

- Toxicomanes par voie intraveineuse

- Personnes ayant des antécédents de transfusion, Hémophiles, Hémodialysés
- Personnels de la santé
- Personnes vivant avec le VIH

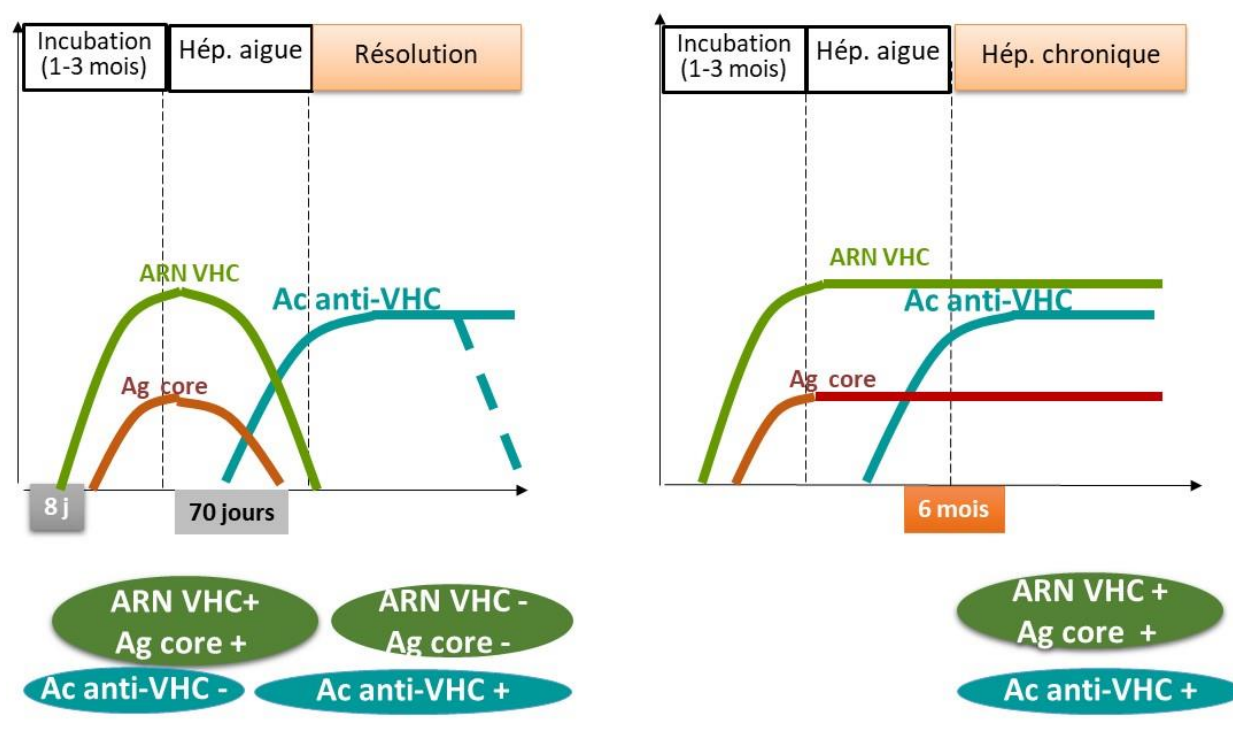
3/ Histoire naturelle

La gravité de l'hépatite C réside dans son *risque élevé d'évolution vers la chronicité*.

Sur le plan virologique :

L'hépatite C aiguë se caractérise par une **réplication virale intense** qui se traduit par une détection de l'ARN du VHC à partir de la 2^{ème} semaine après la contamination. L'ARN se négative en cas de guérison.

Les anticorps anti-VHC sont absents à la phase aiguë et ne se positivent que quelques semaines plus tard ⇒ La sérologie ne permet donc pas un diagnostic de l'hépatite C au moment de la phase aiguë. Les anticorps persistent après la guérison.



Cinétique des marqueurs VHC au cours de l'hépatite C aiguë évoluant vers la résolution ou la chronicité

L'hépatite chronique C se définit par la ***persistance d'une réplication virale*** au-delà de 6 mois après l'épisode aigu.

Sur le plan virologique, elle se traduit par une persistance de l'ARN viral.

Les Ac anti-VHC persistent dans l'infection chronique.

La présence de l'ARN viral dans le sang est le signe d'une réplication du virus dans l'organisme que ce soit au cours de l'infection aiguë ou chronique.

4/ Diagnostic virologique

Il fait appel à:

-la recherche des anticorps totaux anti-VHC pour rechercher l'existence d'un ***contact*** ou non avec le virus.

-la recherche de l'ARN du VHC par PCR pour rechercher l'existence d'une ***réplication virale***.

Stratégie diagnostique :

- on réalise d'abord, **un dépistage des anticorps anti-virus de l'hépatite C** par un test sérologique ELISA :

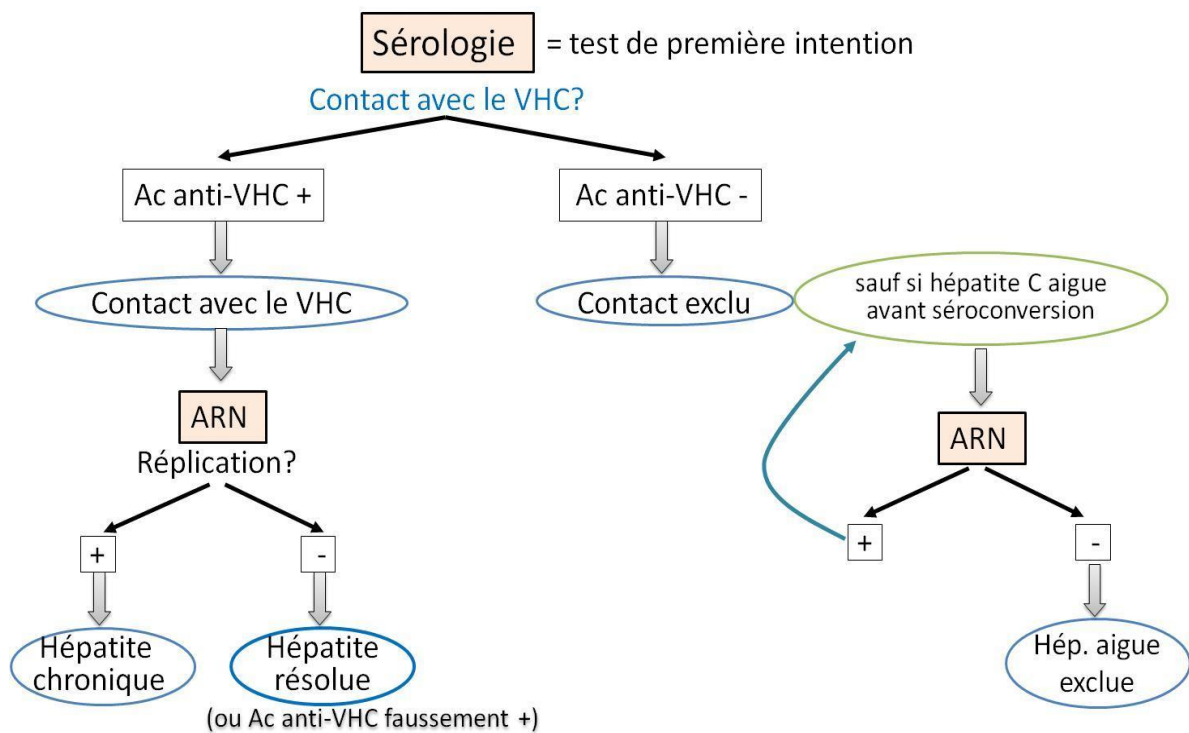
- si les anticorps anti-VHC sont négatifs: ça traduit l'absence de contact avec le VHC sauf si infection aiguë avant la séroconversion. Dans ce cas, on recherche l'ARN viral :

- si l'ARN est négatif, le diagnostic d'hépatite C aiguë est exclu.
- si l'ARN est positif, le diagnostic d'hépatite C aiguë est retenu.

-si les anticorps anti-VHC sont positifs : il s'agit d'une personne ayant été en contact avec le VHC mais sans pouvoir distinguer entre une infection résolue et une hépatite C chronique active.

Dans ce cas, la recherche de **l'ARN du VHC permet de trancher** :

- si l'ARN est négatif, il s'agit d'une hépatite résolue (il peut s'agir aussi d'une sérologie faussement positive).
- si l'ARN est positif, le diagnostic d'hépatite C chronique active est retenu.



Le diagnostic d'une hépatite C aigue repose donc sur la détection de l'ARN viral en absence d'anticorps anti-VHC.

A noter qu'il existe actuellement des **tests ELISA combinés** qui détectent simultanément les anticorps anti-VHC et l'antigène de la capside virale. Ces tests combinés sont de plus en plus utilisés comme tests de diagnostic car permettent de raccourcir la fenêtre sérologique et donc un diagnostic plus précoce de l'infection aigue. En effet, l'antigène de la capside virale est plus précoce que les anticorps et est détecté dès la période d'incubation comme l'ARN viral.

Le diagnostic de l'hépatite C chronique repose sur la détection de l'ARN viral chez un sujet ayant des anticorps anti-VHC+.

-une fois, le diagnostic d'hépatite C chronique confirmé et une fois la décision prise de mettre en route le traitement anti-viral :

* on détermine **le génotype VHC** : se fait par diverses techniques moléculaires. Son intérêt est d'établir les doses et la durée du traitement qui diffèrent selon le génotype.

* on réalise également une **quantification de l'ARN VHC** avant et après la mise en route du traitement pour le suivi des malades afin d'évaluer la réponse à ce traitement.

EVALUATION FORMATIVE

Cas clinique 1

Une jeune femme âgée de 30 ans développe une asthénie intense et un ictère conjonctival. Le dosage des transaminases montre une élévation des ALAT et ASAT. Elle est mariée, a deux enfants et vit à Bir Ali. L'approvisionnement en eau de sa maison se fait à partir d'un puits. L'école où sont scolarisés ses enfants est approvisionnée par de l'eau conservée dans une citerne.

- 1- Quelle est votre première suspicion diagnostique ?
- 2- Quelle peut être l'origine de sa contamination?
- 3- Quelle(s) analyse(s) virologique(s) faut-il demander pour confirmer votre diagnostic? Rédigez l'ordonnance.
- 4- Cette patiente qui est enceinte court-elle un risque ?
- 5- L'hépatite de cette patiente peut-elle évoluer vers une hépatite chronique?

Cas clinique 2

Une infirmière est adressée à la consultation du service de maladies infectieuses pour la découverte fortuite d'un Ag HBs positif lors d'un bilan systématique demandé par le service de médecine du travail.

Le bilan sérologique VHB complété a montré:

Ag HBs	Ac anti-HBc	IgM anti-HBc
+	+	-

Question N°1: cette patiente présente une:

- A- Infection VHB aigue
- B- Infection VHB chronique

Le bilan sérologique VHB complété a montré:

Ag HBe	Ac anti-HBe	Charge virale
-	+	40000 UI/ml

Question N°2 : Expliquez pourquoi il faut compléter le bilan par ces marqueurs VHB.

Question N°3. Quelle est votre conclusion:

- A. Infection chronique à virus sauvage
- B. Portage inactif
- C. Hépatite chronique HBe-

Question N°4. Comment expliquer l'Ag HBe négatif malgré l'existence d'une réplication virale?

QROC

- 1-Devant une sérologie VHC positive, que peut-on conclure.
- 2- Préciser l'intérêt de la détermination de l'ARN VHC.
- 3- Préciser l'intérêt de la détermination du génotype VHC.

LES HERPES VIRUS HUMAINS (HHV)

CLASSIFICATION

Les Herpes Virus humains (HHV pour Human Herpes Virus) appartiennent à la famille des *Herpesviridae* qui regroupe plus de 100 virus connus, infectant les animaux ou les êtres humains.

On distingue 8 Herpes Virus Humains:

- les virus Herpes simplex : de deux types 1 et 2 (HSV1 et HSV2)
- le virus de la varicelle et du zona (VZV)
- le cytomégalovirus (CMV)
- le virus d'Epstein-Barr (EBV)
- et 3 virus de découverte plus récente: le 6^{ème} Herpes virus humain (HHV6), le 7^{ème} Herpes virus humain (HHV7) et le 8^{ème} Herpes virus humain (HHV8).

CARACTERES COMMUNS des HHV

1/ STRUCTURE

Tous ces virus ont en commun une structure générale identique : virus à ADN donc ***stables génétiquement***.

Ils sont enveloppés et donc ***fragiles***.

2/ CYCLE VIRAL DANS L'ORGANISME

Ces virus présentent une propriété biologique remarquable : **leur persistance à vie** chez les sujets infectés à la suite d'une primo-infection, leur permettant de se maintenir dans la population.

- En effet, au cours de la primo-infection aiguë, ces virus réalisent une **phase répllicative lytique** entraînant la production de nouvelles particules virales qui sont excrétées dans les liquides biologiques (salive, sécrétions génitales, sang...).
- En réponse à cette infection aiguë, une réponse immune se développe et permet de stopper la réplication virale, mais sans pouvoir éradiquer le virus qui reste caché dans l'organisme sous forme « dormante » « silencieuse » réalisant une **infection latente**.

Le virus persiste sous forme d'ADN viral dans certaines cellules de l'organisme (différentes selon l'espèce virale) sous une forme non infectieuse et donc sans production de particules virales. *Ainsi, ces virus deviennent après la primo-infection des constituants de notre organisme.*

Cet état de latence permet aux HHV d'échapper au système immunitaire et aux antiviraux (camouflage).

- Sous l'effet de facteurs déclenchants ou spontanément, cette phase de latence peut être interrompue, et donner lieu à de nouvelles phases de production virale : la sortie de la latence est appelée **réactivation**.



la réactivation est une **réinfection endogène** $\Rightarrow$ l'homme est son propre réservoir de virus

- Le contrôle immunitaire permet de nouveau l'arrêt de la réplication du virus et le retour à son site de latence.

*Ainsi, une fois le virus installé, l'infection latente est entrecoupée d'épisodes de réactivation qui sont **variables en fréquence et en intensité selon les sujets**.*

Shéma du cycle des HHV dans l'organisme :

Primoinfection $\rightarrow$ latence $\rightarrow$ réactivation $\rightarrow$ latence $\rightarrow$ réactivation $\rightarrow$ latence ...

3/ CARACTERISTIQUES CLINIQUES

- Les primo-infections par les HHV sont le plus souvent asymptomatiques, à l'exception de la varicelle qui est majoritairement symptomatique.
- Au cours de la phase de latence, il n'existe aucun signe clinique et/ou biologique d'infection active.
- La réactivation de ces virus est le plus souvent asymptomatique ou d'expression limitée chez le sujet immunocompétent.

Lorsque la réactivation est associée à des signes cliniques, elle est appelée **récurrence**. Dans ce cas, les manifestations cliniques sont en général différentes de celles de la primoinfection.

- Evolution :

- Les infections par ces virus sont en général bénignes, que ce soit lors de la

primoinfection ou des récurrences.

- Elles peuvent être graves et même mortelles *lorsqu'elles surviennent chez certains groupes de patients* :

- aux âges extrêmes de la vie,
- au cours des grossesses,
- chez les patients immunodéprimés (maladies hématologiques, sujets transplantés ou atteints par le SIDA, malades sous traitements corticoïdes, immunosuppresseurs ou chimiothérapie ...).

4/ CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES

Ces virus sont :

- **strictement humains** ⇒ l'homme est le *seul réservoir de ces virus*.
- **ubiquitaires** (très largement répandus dans le monde)
- responsables d'infections **très fréquentes** puisque la plupart des adultes sont porteurs de ces virus : la fréquence des **excrétions asymptomatiques** de ces virus chez les sujets infectés explique leur *très grande diffusion dans la population*.
- **Fragiles** (car enveloppés) ce qui explique la nécessité de *contacts interhumains très étroits et directs* pour leur transmission.
- Leur dissémination est **endémique** : les cas d'infection sont soit sous forme sporadique, soit limités à de petits foyers localisés. Il n'existe **pas d'épidémie** (la seule exception est la varicelle).

Evaluation formative

QCM : Les Herpes virus :

- A. Sont fragiles dans le milieu extérieur
- B. Persistent à vie suite à la primoinfection et réalisent une infection chronique productive
- C. L'infection latente est asymptomatique
- D. Leur réactivation est toujours symptomatique
- E. Sont responsables en général d'infections bénignes sauf en cas d'immunodépression
- F. Provoquent des épidémies.

Réponses justes : A, C, E

LES VIRUS HERPES SIMPLEX (HSV)

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- 1- Evoquer le diagnostic d'un herpès cutané et muqueux et ses complications les plus fréquentes.
- 2- Connaître les risques en cas d'infection chez la femme enceinte, le nouveau-né, le sujet eczémateux.
- 3- Indiquer le(s) prélèvements nécessaire(s) selon la forme clinique de l'infection.
- 4- Demander un diagnostic virologique quand il le faut et savoir interpréter les résultats.
- 5- Prescrire un traitement antiviral dans les situations cliniques où il le faut en prenant les précautions nécessaires.

INTRODUCTION

Les virus Herpes simplex (HSV) font partie des agents infectieux les plus souvent rencontrés en pathologie humaine.

Cette espèce comprend deux sérotypes: **HSV1** et **HSV2** qui présentent la même structure générale mais sont différenciés entre eux par leurs glycoprotéines d'enveloppe (et sont donc *reconnus par des anticorps différents*).

Ces virus ont un tropisme pour la *peau, les muqueuses et le système nerveux*.

1-PHYSIOPATHOLOGIE

► La *primo-infection* par HSV correspond à la phase de multiplication du virus au niveau de sa porte d'entrée dans l'organisme où il provoque une infection *cytolytique* avec production de nouvelles particules virales.

La cytolysse explique l'aspect typique des lésions élémentaires de l'herpès : *vésicules cutanées ou muqueuses qui évoluent vers des ulcérations*.



Aspect typique de vésicules herpétiques

La porte d'entrée est classiquement:

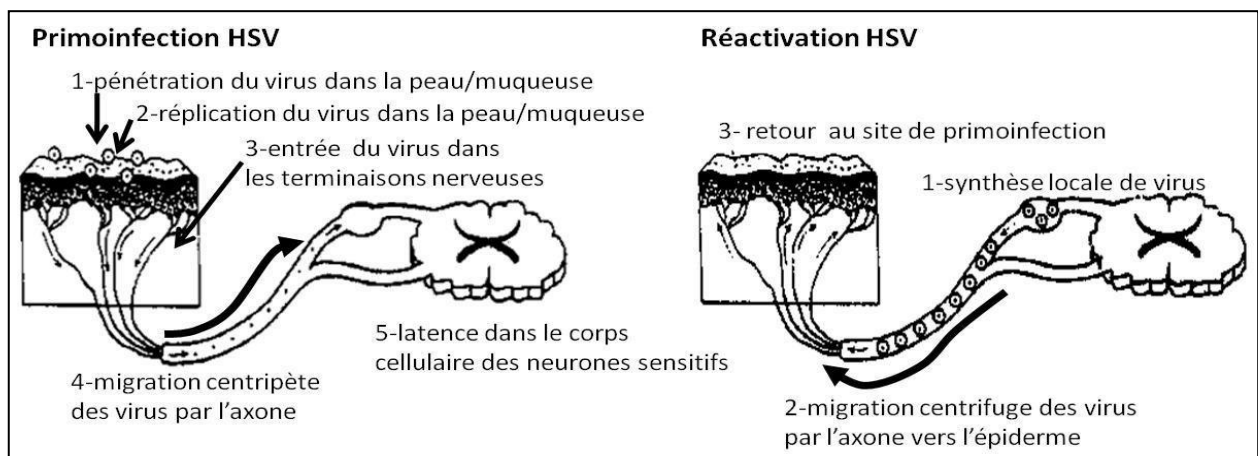
*l'oropharynx pour HSV1

*l'appareil génital pour HSV2.

Mais ces deux virus peuvent infecter toute région cutanéomuqueuse.

► Le virus infecte ensuite les ramifications cutanées des neurones sensitifs qui innervent ces sites périphériques puis migre jusqu'au ganglion sensitif correspondant (ganglion Trigéminal ou de Gasser pour HSV1 et ganglions sacrés pour HSV2) où il s'établit sous forme **latente**.

► De temps en temps, le virus reprend sa réplication puis retourne vers les tissus périphériques où il génère des **foyers localisés** de lésions cytolitiques (vésicules, ulcérations) = **réactivation** ou **récurrence** (si symptomatique).



Physiopathologie de l'infection herpétique

A noter qu'il existe une **immunité croisée** entre HSV1 et HSV2 mais qui est **partielle** : une primoinfection orale et même des réinfections endogènes avec HSV1 n'empêchent pas de s'infecter ultérieurement avec HSV2 au niveau génital et inversement.

2- POUVOIR PATHOGENE

► Les HSV sont responsables d'infections fréquentes et caractéristiques.
Classiquement :

- HSV1 règne au-dessus de la ceinture : responsable de ***l'herpès orolabial***.
- HSV2 règne au-dessous de la ceinture : responsable de ***l'herpès génital***.

Cependant, cette distinction n'est pas absolue car on peut isoler HSV1 de lésions génitales.

► Les infections HSV sont responsables habituellement d'infections bénignes.

Cependant, ils peuvent donner des formes cliniques graves voire mortelles.

2-1/ Infections bénignes :

L'herpès (primoinfection ou récurrence) se manifeste classiquement par des lésions vésiculeuses qui font 2 à 4 mm de diamètre et qui sont au début remplies de liquide clair.

Primoinfection à HSV1 :

Elle survient dès l'enfance, classiquement à partir de l'âge de 6 mois (après disparition des anticorps maternels).

Elle est très fréquente mais en général asymptomatique (dans 90 % des cas).

Lorsqu'elle est symptomatique :

- Incubation : 2 à 12 jours
- Tableau clinique classique: ***gengivo-stomatite vésiculeuse*** :

* ça commence par une sensation de brûlures dans la bouche et une dysphagie (gêne à l'alimentation)

* puis à J1-J2 : apparition d'une éruption vésiculeuse au niveau de la muqueuse buccale (joues, gencives et amygdales) qui est oedématisée et rouge. Ces vésicules peuvent déborder à l'extérieur sur les lèvres.

* puis, rupture des vésicules laissant la place à des ulcérations douloureuses «aphtoïdes » recouvertes d'un enduit blanchâtre.

Ces ulcérations sont douloureuses et gênent considérablement l'alimentation, de sorte qu'on est parfois amené à nourrir ces jeunes enfants par perfusion intraveineuse, ou par sonde nasopharyngée, le temps que les lésions guérissent.

* autres signes : fièvre modérée et adénopathies sous-maxillaires.

-La guérison se fait en 2 à 3 semaines.



source :

http://campus.cerimes.fr/dermatologie/enseignement/dermato_6/site/html/cours.pdf

La gingivo-stomatite herpétique de l'enfant s'accompagne parfois d'un **panaris herpétique** des doigts ou des orteils, par auto-inoculation (succion du doigt ou de l'orteil).

Ce panaris herpétique s'observe aussi parfois chez les dentistes ou le personnel soignant (exemple: infirmières prenant en charge des patients trachéotomisés...) dont les mains sont en contact avec les sécrétions orales des patients.

ATTENTION, le panaris herpétique est souvent confondu avec un panaris bactérien : le contenu liquidien des vésicules est de couleur jaune mais il n'y a pas de pus. **Son incision chirurgicale est contre-indiquée** car entraîne la diffusion des lésions herpétiques.



SOURCE: DR P. MARAZZI/SCIENCE PHOTO LIBRARY

Autres formes cliniques (plus rares) :

- **angine herpétique** : vésiculeuse (souvent confondue avec l'herpangine (voir cours Entérovirus)).
- **rhinite aiguë** associant une obstruction nasale, des vésicules périnarinaires et des adénopathies cervicales.
- **Laryngite, glossite.**
- **Herpès génital.**

► Primoinfection à HSV2:

Elle est localisée au niveau des organes génitaux externes.

Elle survient plus tard dans la vie, à partir de la puberté à la suite de rapports sexuels. C'est donc une infection sexuellement transmise.

Elle est le plus souvent asymptomatique (50 à 90 %).

L'incubation est de 4 à 6 jours en moyenne (2 à 20 jours)

Classiquement, elle se manifeste par une **infection génitale aiguë** avec :

- Vésicules très douloureuses au niveau des organes génitaux externes (fourreau, prépuce ou gland chez l'homme, vulvovaginite / vulvite chez la femme). La localisation anale est également possible.

Ces vésicules s'ulcèrent rapidement.

- fièvre, myalgies, dysurie, adénopathies inguinales sensibles.

Les lésions herpétiques disparaissent spontanément en 4 à 6 semaines sans laisser de cicatrice. La durée de l'excrétion virale est en moyenne de 8 jours mais peut atteindre 20 jours, au cours desquels la contagiosité persiste.

► Herpès récurrent:

Les récurrences à HSV surviennent spontanément ou sous l'effet de divers stimuli:

- fièvre
- maladie infectieuse
- stress
- règles chez la femme
- grossesse
- exposition au soleil (rayons UV)
- immunodépression.

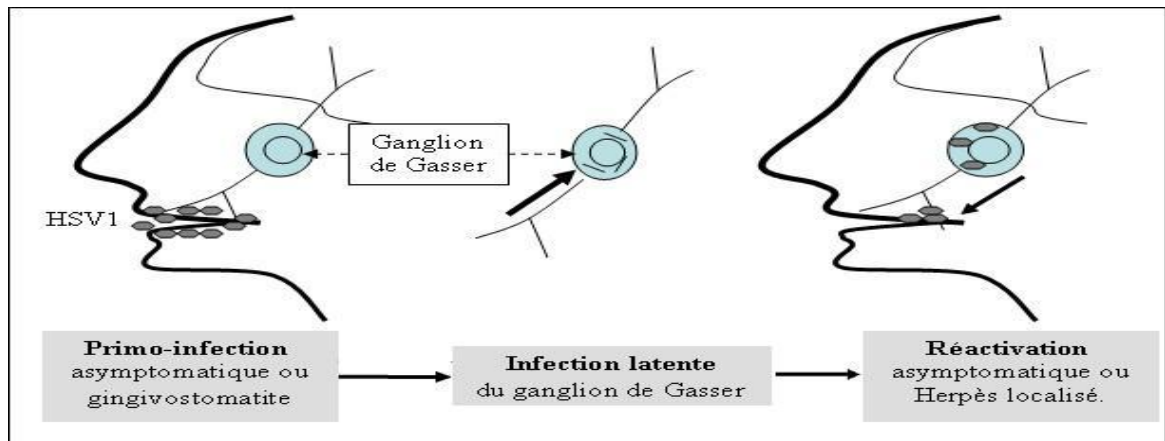
Les récurrences peuvent :

- siéger ***n'importe où***, mais pour un malade donné la récurrence a lieu ***au même endroit***.
- survenir à ***n'importe quel âge***
- être répété ***une à plusieurs fois*** dans la vie selon les individus.

Cliniquement :

- Ça commence classiquement par des *prodromes notés dans les 24 heures précédant l'éruption* : à type de douleur, brûlures, picotements, prurit dans la zone de future éruption.
- Puis, apparition de vésicules confluentes formant un ***bouquet herpétique*** qui est en général unique avec sièges de prédilection :

- au pourtour des lèvres ou des narines, joues, lobule de l'oreille pour HSV1...
- au niveau des organes génitaux externes pour HSV2 mais aussi HSV1.



En quelques jours, les vésicules, qui contenaient initialement un liquide clair, se troublent et évoluent vers des croûtes qui guérissent en quelques jours.

Moins fréquemment, les picotements et la rougeur apparaissent sans qu'il y ait formation ultérieure de vésicules.

Evolution : les récurrences sont en général moins intenses et durent moins longtemps que la primo-infection. La cicatrisation survient en 10 jours.

En fait, que ce soit la primoinfection ou les épisodes de réactivation, ils peuvent être cliniquement inapparents se limitant à une excrétion asymptomatique d'HSV1 dans la salive et d'HSV2 dans les sécrétions génitales et rendant la personne contagieuse, même en l'absence de lésions. Cette excrétion asymptomatique de virus contribue, à la diffusion du virus vers d'autres individus réceptifs.

2-2/ Infections graves :

Elles peuvent se voir aussi bien au cours de la primo-infection que de la récurrence par ces deux virus.

► **Herpès oculaire : conjonctivite ou kératite.** C'est une infection grave, car les lésions de la cornée peuvent laisser une cicatrice fibreuse opaque, appelée **taie**. Si elle se trouve en face de la pupille, elle rend aveugle.

C'est souvent l'application de corticoïdes locaux qui aggrave les lésions et favorise le passage de la conjonctivite à la kératite d'où la contre-indication formelle de ces produits avant d'avoir éliminé le diagnostic d'herpès.

► **Encéphalite herpétique** : c'est une nécrose hémorragique de l'encéphale due à l'action cytolytique directe du virus. C'est une atteinte grave qui constitue une urgence thérapeutique. En effet, en absence de traitement (aciclovir), elle aboutit à des séquelles importantes (psychomotrices) ou au décès du malade.

► **Herpès chez l'immunodéprimé (VIH+, ...)** :

- peut se manifester par des lésions cutanéomuqueuses extensives ulcérantes qui peuvent devenir nécrotico-hémorragiques ou se surinfecter.

- Rarement, on peut avoir des atteintes d'organes isolées graves (hépatite, œsophagite, pneumopathie...) ou multiviscérales.

► **Herpès néonatal** :

- L'herpès génital au cours de la grossesse expose au risque de transmission périnatale. Il est lié le plus souvent à une **primo-infection à HSV** chez la mère.

- La majorité des herpes néonataux proviennent de femmes asymptomatiques.

- Les formes bénignes sont rares (vésicules en bouquets au niveau buccal et/ou oculaire).

Il existe des formes graves cutanéomuqueuses (purpura, hémorragies muqueuses...) ou disséminées (hépatite, pneumonie, méningoencéphalite...). Sans traitement, l'atteinte du fœtus est mortelle ou laisse des séquelles neuropsychiques graves chez 50% des survivants.

► **Pustulose de Kaposi-Juliusberg** : survient chez un enfant atteint d'un eczéma cutané et sur lequel se greffe une infection herpétique. Il en résulte une éruption vésiculeuse herpétique souvent nécrotique et qui peut être grave par son caractère disséminé, parfois mortelle chez le nourrisson ⇒

un nourrisson eczémateux ne doit pas être embrassé par une personne présentant un herpès labial.

3- TRANSMISSION des HSV

- La contamination par HSV1 se fait par contact de la peau lésée ou des muqueuses avec des écoulements provenant des lésions vésiculeuses cutanéomuqueuses riches en virus (si forme symptomatique) ou surtout avec la salive d'un sujet infecté, qu'il soit symptomatique ou non.

- Le HSV2 se transmet principalement pendant les rapports sexuels : par contact avec les lésions génitales (si forme symptomatique) ou les sécrétions génitales d'un sujet infecté (qu'il soit symptomatique ou non).

Une contamination par HSV1 par voie oro-génitale et une contamination orale par HSV2 sont également possibles et de plus en plus rapportées.

Le virus HSV peut également être transmis à travers la muqueuse oculaire (manuportage/auto-inoculation)

- La contamination du nouveau-né par HSV2 ou HSV1 a lieu au moment de l'accouchement par contact direct avec les lésions génitales de sa mère (si symptomatique) ou ses sécrétions génitales infectées (symptomatique ou non).

4 – DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

4.1/ Diagnostic direct + + +

Prélèvements : les prélèvements sont variés, selon la localisation de l'infection: vésicules cutanéomuqueuses, LCR, prélèvement oculaire, gorge, prélèvement génital (lésions ou sécrétions), liquide de lavage broncho alvéolaire, biopsies d'organe.

Méthodes :

✓ *isolement viral en culture cellulaire* ⇒ ECP rapide, apparaît en 1 à 2 jours.

✓ *détection d'antigènes viraux* : possible uniquement sur les prélèvements contenant des cellules (buccal, génital, oculaire,...) car réalisée par la technique d'immunofluorescence.

REMARQUE : cette technique n'est pas adaptée à la recherche d'une excrétion virale asymptomatique (portage génital chez une femme enceinte).

✓ ***détection de l'ADN viral par PCR+++***: elle est globalement plus sensible que les deux premières techniques et actuellement la plus utilisée.

4.2/ Sérologie

- Lors d'une primo-infection, la réponse anticorps est retardée : les IgG et IgM apparaissent dans le sérum **à partir de la 2^e semaine** du début des signes cliniques (à partir du 8^e-10^e jour pour les IgM et 10^e-12^e jour pour les IgG).

⇒ Une sérologie négative réalisée au tout début des signes cliniques n'élimine pas le diagnostic d'herpès et nécessite de refaire un 2^{ème} prélèvement de sang après la 2^e semaine du début de la maladie pour mettre en évidence une séroconversion des IgG avec IgM+ d'où un diagnostic tardif.

- Lors des récurrences, la sérologie n'a pas d'intérêt : en effet, les IgM anti-HSV ne sont pas spécifiques de la primo-infection puisqu'elles peuvent être aussi détectées lors d'une réactivation virale.

STRATEGIES DU DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le diagnostic de l'herpès est avant tout un diagnostic clinique d'où le diagnostic au laboratoire est en général inutile devant les lésions vésiculeuses, celles-ci étant facilement reconnaissables.

En revanche, la **confirmation virologique est nécessaire dans les situations suivantes** :

Situation clinique	Moyen diagnostique
Herpès génital symptomatique (pour prévenir la contagiosité pour d'autres partenaires)	détection directe du virus HSV à partir d'un prélèvement des lésions génitales par écouvillonnage ⇒ culture, PCR, détection d'antigènes
Herpès génital asymptomatique chez une femme enceinte à antécédents d'herpès génital ⇒ recherche d'une <u>excrétion génitale pour prévenir l'herpès néonatal</u>	détection directe du virus HSV sur un prélèvement des sécrétions génitales par écouvillonnage des voies génitales ⇒ culture ou PCR : oui ; détection d'antigènes : NON
Manifestations graves ou atypiques de l'herpès (immunodéprimé, kératite...)	détection directe du virus HSV dans des prélèvements variés selon tableau clinique ⇒ culture, PCR, détection d'antigènes
Encéphalite herpétique	PCR dans le LCR¹ +++ Sérologie : IgG, IgM dans le sang et le LCR (si PCR non disponible ou si la PCR était initialement négative) ²
Herpes néonatal	Sérologie → IgM anti-HSV

¹ : La PCR dans le LCR a deux intérêts :

→ *intérêt pour le diagnostic* : la PCR est positive dès le début de la maladie ⇒

permet un diagnostic d'urgence.

ATTENTION, en cas de négativité de la PCR dans le LCR, cet examen doit être répété sur un deuxième prélèvement car il peut ne se positiver que 24 à 48h (même jusqu'à 4 jours) après le début de la maladie.

→ *intérêt pour évaluer l'efficacité du traitement antiviral* : si PCR négative après 15 jours de traitement ⇒ traitement efficace.

² : Cependant, le diagnostic sera tardif car ces anticorps ne sont détectés dans le LCR qu'à partir de la 2^{ème} semaine d'évolution de la maladie (comme pour le sérum).

5 TRAITEMENT

Les médicaments antiviraux efficaces contre HSV :

- **ACICLOVIR (ACV)** : administré selon les cas sous forme de :
 - crème (herpès labial),
 - voie orale (herpes labial, génital...)
 - pommade ophtalmique ou collyre (herpès oculaire),
 - en intraveineux pour les formes graves (exemple: encéphalite herpétique).

L'ACV a une très mauvaise biodisponibilité par voie orale (la proportion de produit actif passant dans le sang par rapport à la dose ingérée est de 15 à 30%) et donc une mauvaise absorption digestive.

Il a donc été amélioré et est utilisé maintenant sous forme de prodrogue = le **VALACICLOVIR** qui a une meilleure biodisponibilité par voie orale.



cette prodrogue est obtenue en couplant l'aciclovir à la valine ce qui lui permet de mieux résister au passage gastrique. La valine est ensuite coupée par les estérases intestinales, libérant la molécule princeps dans le sang).

- **PENCICLOVIR** : sous forme de crème pour traiter l'herpès labial.
- **FAMCICLOVIR** : c'est la forme administrable par *voie orale* du penciclovir.

Le traitement antiviral est surtout indiqué dans les **formes graves** ou les **formes récurrentes répétées**. Il aide à réduire la gravité et la fréquence des symptômes. L'effet de ces antiviraux est d'autant plus efficace que les molécules sont prescrites le plus tôt possible dès les premiers symptômes.

ATTENTION, le traitement antiviral ne peut pas éliminer le virus de l'organisme (*ne permet pas d'éradiquer le virus latent*).

Précautions à prendre lors de l'administration de ces antiviraux par voie générale en raison de leur élimination rénale sous forme inchangée :

- les posologies doivent être adaptées en prenant en compte la fonction rénale.
- il est impératif d'associer au traitement une hydratation par perfusion.

Evaluation formative

- 1- Préciser les particularités de l'herpès récurrent par rapport à la primo-infection herpétique.
- 2- Citer les méthodes virologiques à mettre en œuvre pour le diagnostic de l'encéphalite herpétique et préciser l'intérêt de chacune d'entre elles.

LE VIRUS de la VARICELLE et du ZONA

Ce virus est responsable de 2 maladies :

- la **varicelle** qui correspond à la primo-infection par ce virus.
- le **zona** qui résulte de la réactivation du même virus latent. L'éruption vésiculeuse caractéristique de ces deux maladies est due à l'infection productive et cytotytique par ce virus au niveau de l'épiderme.

1- PATHOGENIE ET EPIDEMIOLOGIE

1-1- Varicelle

1-1-1-Physiopathologie

*Le virus pénètre par **voie aérienne**.

*Il se réplique initialement dans le tissu lymphoïde des amygdales et est excrété dans la **salive**.

Il passe ensuite dans le sang ce qui permet la dissémination du virus et l'atteinte des cellules épithéliales de l'épiderme où il se multiplie et donne ***l'éruption cutanée vésiculeuse GENERALISEE*** caractéristique de la varicelle.

*Cette éruption survient en moyenne 15 jours après la contamination.

*La varicelle est extrêmement contagieuse: la période de contagiosité débute ***une semaine avant l'éruption cutanée*** (par la salive). Les malades sont donc contagieux dès la période d'incubation lorsqu'ils sont encore asymptomatiques. La contagiosité dure ***jusqu'à cicatrisation complète des vésicules*** (au stade de croûtes, il n'y a plus de virus).

*Pendant la grossesse, la survenue d'une varicelle au cours des 20 premières semaines chez la mère peut entraîner une **embryopathie** quoi qu'exceptionnellement. Lorsque l'éruption survient chez la mère dans les 5 derniers jours de la grossesse ou dans les 2 jours après l'accouchement (virémie chez la mère durant cette période), le nouveau-né peut faire une **varicelle généralisée maligne** par dissémination de l'infection à tous les organes.

*Après guérison, le virus passe par voie nerveuse et/ou hématogène dans les ganglions sensitifs où il s'établit sous forme latente.

1-1-2-Epidémiologie

La varicelle est une maladie quasi-obligatoire de l'enfance (> 90% des adultes ont des anticorps contre le virus).

Elle survient en principe 1 seule fois dans la vie d'un individu.

Sa transmission à un sujet réceptif (n'ayant jamais été en contact avec le VZV) se fait :

- * par contact avec les vésicules cutanées dont le liquide est *très riche en virus*,
- * et surtout par voie aérienne par les sécrétions respiratoires contaminées par la salive des personnes atteintes de varicelle.

Elle se manifeste par **petites épidémies** avec une fréquence plus élevée en hiver et au printemps.

La transmission du virus au fœtus au cours de la grossesse se fait par voie **transplacentaire** à l'occasion de la virémie maternelle.

1-2- Le zona

1-2-1-Physiopathologie

A l'occasion d'une diminution des réponses immunitaires, le VZV peut se réactiver et retourne alors par les nerfs sensitifs vers l'épiderme pour donner une **éruption cutanée vésiculeuse** riche en virus. Cette éruption du zona a la particularité d'être **LOCALISEE**, de topographie unilatérale radiculaire car limitée au territoire cutané (=dermatome) correspondant au ganglion sensitif où a eu lieu la réactivation.

1-2-2-Epidémiologie

Environ 15% de la population présentera un zona au cours de sa vie.

Le zona se voit plus fréquemment chez l'adulte de plus de 50 ans ou l'immunodéprimé.

On peut faire un zona une ou plusieurs fois dans sa vie.

Il n'y a **pas de transmission du zona**, puisque c'est une réactivation endogène.

Il n'y a donc **pas d'épidémie de zona**, mais un sujet réceptif peut faire une varicelle par contamination à partir des vésicules d'un malade présentant un zona.

A noter que chez la femme enceinte, le zona est sans conséquences pour le fœtus (car pas de virémie maternelle)

2- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le diagnostic de la varicelle et du zona est avant tout un diagnostic clinique. On fait appel au diagnostic virologique dans les formes sévères ou atypiques.

2-1/ Sérodiagnostic

-Le sérodiagnostic est surtout **intéressant en cas de primo-infection**, c'est-à-dire en cas de varicelle.

- La sérologie est indiquée aussi pour **définir le statut immunitaire** d'un patient vis à vis du VZV par la recherche d'IgG et permet donc d'identifier les sujets réceptifs à la varicelle : enfants immunodéprimés, femmes enceintes en contact avec un varicelleux.

2-2/ Diagnostic direct

Prélèvements : écouvillonnage des lésions cutanées vésiculeuses (ATTENTION : au stade de croûte, le prélèvement est inutile), prélèvements respiratoires, LCR...

La recherche du virus se fait par :

***culture cellulaire.**

***recherche d'antigènes viraux** par la technique d'immunofluorescence directe à partir des lésions cutanées de varicelle ou de zona.

***recherche de l'ADN viral par PCR** : intéressante surtout pour le LCR ou sur le liquide amniotique en cas de varicelle maternelle.

Evaluation formative

QROC :

Opposer l'épidémiologie de la varicelle et du zona.

QCM :

- 1- Un enfant peut faire une varicelle grave s'il est contaminé à partir de sa mère au cours du 7^{ème} mois de grossesse.
- 2- Le VZV peut se transmettre à l'enfant au cours de la grossesse à partir de sa mère présentant un zona?
- 3- Un sujet ayant des IgG anti-VZV (+) est réceptif à la varicelle.
- 4- Un sujet non immunisé (IgG anti-VZV -) peut faire un zona.
- 5- Le VZV est recherché à partir des vésicules cutanées.

LE VIRUS D'EPSTEIN-BARR

C'est l'agent d'une maladie spécifique bénigne : la **mononucléose infectieuse** (MNI). Cette maladie est connue sous le nom de « maladie du baiser » car transmise par la salive.

Rarement, l'EBV est associé à des manifestations tumorales.

1- CYCLE DU VIRUS DANS L'ORGANISME

Les cellules cibles de l'EBV sont les *cellules épithéliales de l'oropharynx* et les *lymphocytes B*.

► Au cours de la primo-infection :

- l'EBV pénètre dans l'organisme au niveau de l'oropharynx et infecte les cellules épithéliales de *l'oropharynx* et des glandes salivaires. Il s'y multiplie et les détruit libérant une grande quantité de virions dans la salive d'où sa grande contagiosité.

D'autre part, une réponse humorale se développe rapidement contre des protéines de l'EBV/ *protéines de la Capside Virale VCA*.

- L'infection des lymphocytes B par l'EBV surviendrait lors de leur passage dans les tissus lympho-épithéliaux pharyngés. Cette infection du lymphocyte B se caractérise par la synthèse d'une *protéine virale* = **EBNA** (*Epstein- Barr Nuclear Antigens*). Cette protéine va faire acquérir à ces lymphocytes une propriété particulière qui est de proliférer de façon continue ou **immortalisation**.

Chez le sujet immunocompétent, cette prolifération des lymphocytes B est contrôlée par le système immunitaire et induit la prolifération de lymphocytes T CD8+ qui vont détruire les lymphocytes B infectés d'où libération des Ag EBNA et ainsi, apparition tardive **d'Anticorps anti- EBNA** dans le sang.

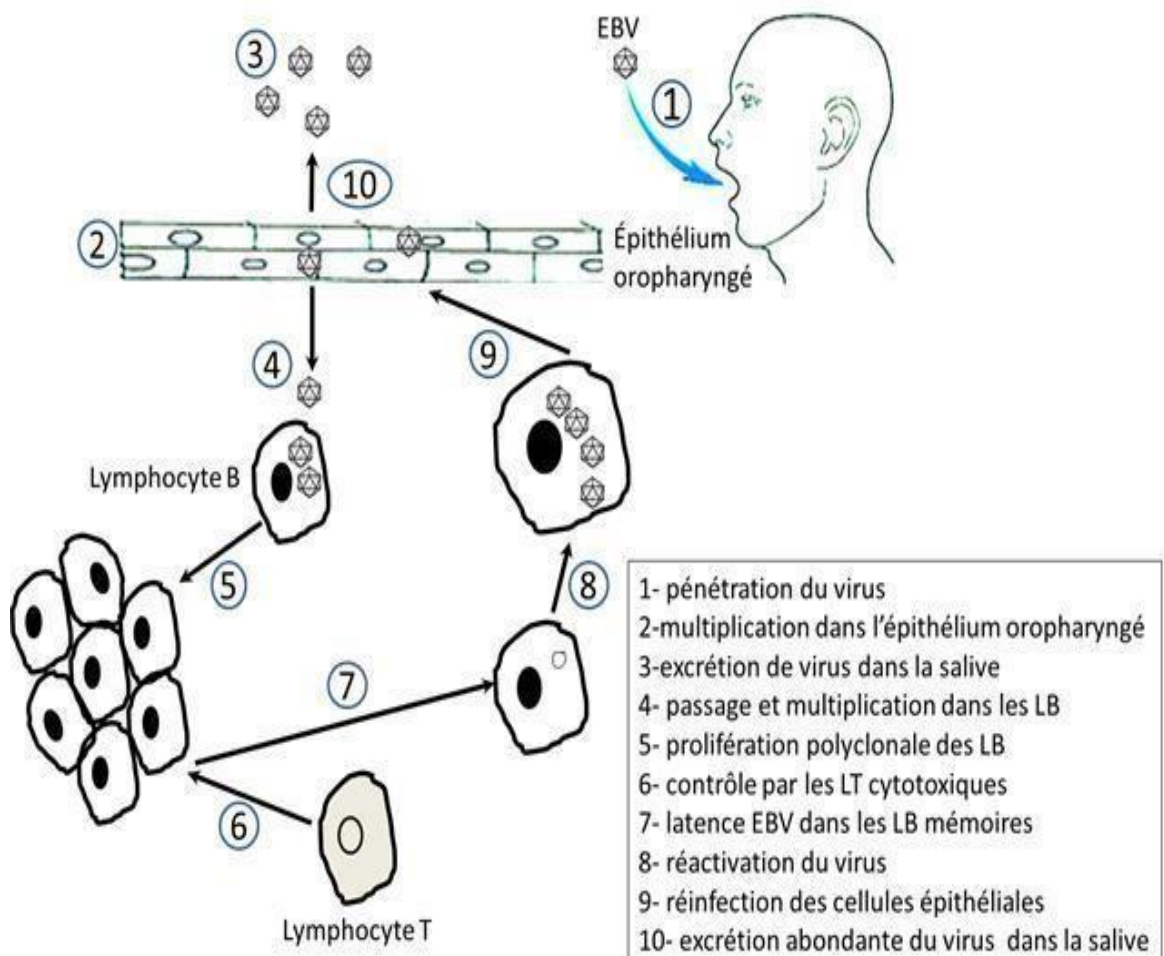
□ C'est cette réaction immunitaire cellulaire T qui expliquerait la plupart des *signes cliniques et biologiques de la primo-infection EBV* lorsqu'elle est symptomatique et réalisant alors le tableau de *mononucléose infectieuse*.

Phase de latence : après primo-infection, l'EBV persiste à vie sous forme latente dans les lymphocytes B mémoires dans le sang circulant.

Phases de réactivation : de temps à autre, le virus **se réactive**. Il reprend sa multiplication dans les lymphocytes B mémoires qui prolifèrent de nouveau. Il en résulte une réinfection des cellules épithéliales de l'oropharynx avec production d'importantes quantités de virus qui seront libérées dans la salive.

Chez les sujets immunocompétents, la prolifération des lymphocytes B reste contrôlée par le système immunitaire comme au cours de la primo-infection et la **réactivation de l'EBV est toujours asymptomatique et se traduit uniquement par une excrétion du virus dans la salive**.

En revanche, chez les sujets immunodéprimés (SIDA, greffés), le système immunitaire peut-être incapable d'arrêter la prolifération des lymphocytes B et la récurrence, comme la primo-infection, peut se compliquer notamment de la survenue d'un lymphome.



2- MANIFESTATIONS CLINIQUES

2-1-Primoinfection EBV

Dans sa forme symptomatique, la primoinfection EBV réalise classiquement une maladie spécifique= **mononucléose infectieuse (MNI)**.

En effet, la primoinfection EBV est :

- en général asymptomatique chez l'enfant.
- symptomatique dans 25% des cas lorsqu'elle survient chez les adolescents ou les jeunes adultes.

Tableau classique de MNI :

-incubation : 4 à 6 semaines

- signes cliniques:

* caractérisés par une triade :

+ fièvre avec fatigue intense

+ angine: érythémateuse ou érythémato-pultacée ou à fausses membranes (= pseudomembraneuse)

+ adénopathies cervicales.

* parfois d'autres symptômes en plus :

- splénomégalie : fréquente, et exceptionnellement peut se compliquer d'une rupture spontanée de la rate (=urgence chirurgicale).

⇒ C'est pourquoi il faut veiller à ne pas porter de charge lourde lorsque l'on est atteint par la mononucléose.

- éruption cutanée maculopapuleuse sur le tronc, les cuisses et les bras. Cette éruption est parfois spontanée mais le plus souvent déclenchée par la prise d'amoxicilline ou d'ampicilline (antibiotiques souvent prescrits en cas d'angine).

⇒ Il ne s'agit pas d'une réelle allergie à ces antibiotiques mais d'une réaction induite par l'EBV.

-signes biologiques:

***syndrome mononucléosique** à la numération formule sanguine (NFS) = augmentation du nombre des éléments mononucléés (monocytes et lymphocytes), qui forment plus de 50 % de la formule blanche.

Ce syndrome est le plus souvent dû au virus d'Epstein-Barr mais peut être également présent dans d'autres infections: essentiellement primoinfection à cytomégalo virus ou à VIH, toxoplasmose voire hépatites (telle que l'hépatite A)...

Surtout, on observe sur frottis sanguin des lymphocytes atypiques, car de grande taille et hyperbasophiles (= lymphocytes T activés anti-EBV) et qui peuvent faire penser à une leucémie.

***cytolyse hépatique**

*La MNI se caractérise aussi par la présence passagère **d'anticorps hétérophiles** particuliers dans le sérum. Ces anticorps sont NON SPECIFIQUES de l'EBV (non dirigés contre les antigènes propres du virus).

⇒ Ces anticorps sont liés à la stimulation polyclonale du système immunitaire par l'infection EBV. Ils sont dits hétérophiles car sont dirigés contre les globules rouges d'autres espèces que l'homme : mouton, bœuf et cheval.

-L'évolution se fait vers la guérison des symptômes en 1 mois environ (sauf complications). Cependant, l'asthénie, intense, peut persister au-delà de 3 mois, ce qui invalide parfois le malade dans ses activités quotidiennes.

2-2-Réactivation de l'EBV

- toujours asymptomatique chez l'immunocompétent.
- peut conduire à des lymphomes chez l'immunodéprimé.

3 - EPIDEMIOLOGIE

L'infection à EBV est ubiquitaire et **95% des adultes** ont des **anticorps anti- EBV**. La primo-infection survient d'autant plus tôt que le niveau socio- économique est bas et passe le plus souvent inaperçue chez le petit enfant.

Sa transmission se fait :

- essentiellement par la **SALIVE** à partir d'un sujet en primo-infection ou plus couramment au décours d'une réactivation virale. Le sujet infecté excrète le virus dans sa salive de façon prolongée, parfois pendant plusieurs mois.
- plus rarement, par les transfusions de sang ou les organes et tissus transplantés.

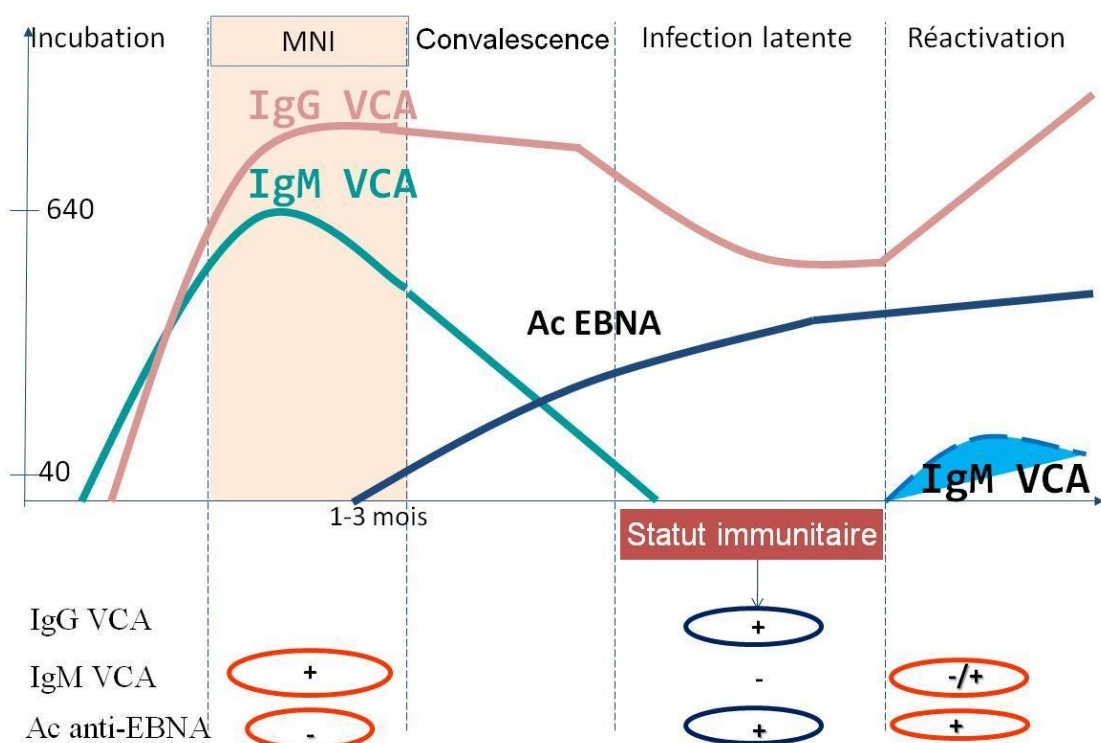
4 - DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

❖ Le diagnostic de MNI est suspecté devant la présence de signes cliniques évocateurs et devant un syndrome mononucléosique à l'hémogramme.

La confirmation de ce diagnostic se fera par la mise en évidence d'anticorps spécifiques contre le virus par la sérologie EBV.

⇒ Il est primordial de confirmer le diagnostic de MNI car les symptômes cliniques et biologiques, bien qu'évocateurs, ne sont pas spécifiques et peuvent se rencontrer dans d'autres maladies infectieuses (primo-infection à cytomégalovirus ou à VIH, toxoplasmose) ou non (allergie médicamenteuse). La confirmation d'un diagnostic de MNI permet donc d'exclure ces pathologies, de rassurer le patient et le médecin, et d'assurer une prise en charge adéquate d'une maladie bénigne qui va guérir spontanément.

Cinétique des Ac anti-EBV:



**Lors de la primo-infection :*

- les Ac anti-VCA de type IgG et IgM apparaissent dès la période d'incubation et sont donc déjà détectables dès le début des signes cliniques.

Les IgG anti-VCA persistent ensuite toute la vie, représentant le témoin d'un contact ancien avec le virus.

Les IgM anti-VCA disparaissent après quelques semaines.

- les Ac anti-EBNA sont absents lors de la phase aiguë. Ils apparaissent tardivement, 1 à 3 mois après le début des signes cliniques et persistent toute la vie.

**En cas de réactivation :*

Les IgM anti-VCA peuvent réapparaître à un taux faible mais les Ac anti- EBNA sont positifs permettant de faire la différence avec une primo-infection.

Le diagnostic sérologique de la primo-infection EBV est donc posé devant la présence des IgM anti-VCA et l'absence d'anticorps anti-EBNA.

❖ La sérologie peut être demandée pour *l'évaluation du statut immunitaire vis-à-vis de l'EBV*: se fait par la recherche des IgG anti-VCA et/ou des Ac anti- EBNA qui sont positifs en cas de contact antérieur avec le virus et donc d'une infection ancienne à EBV.



5- PREVENTION ET TRAITEMENT

Ni vaccin ni molécule antivirale spécifique n'existent aujourd'hui.

Traitement uniquement symptomatique :

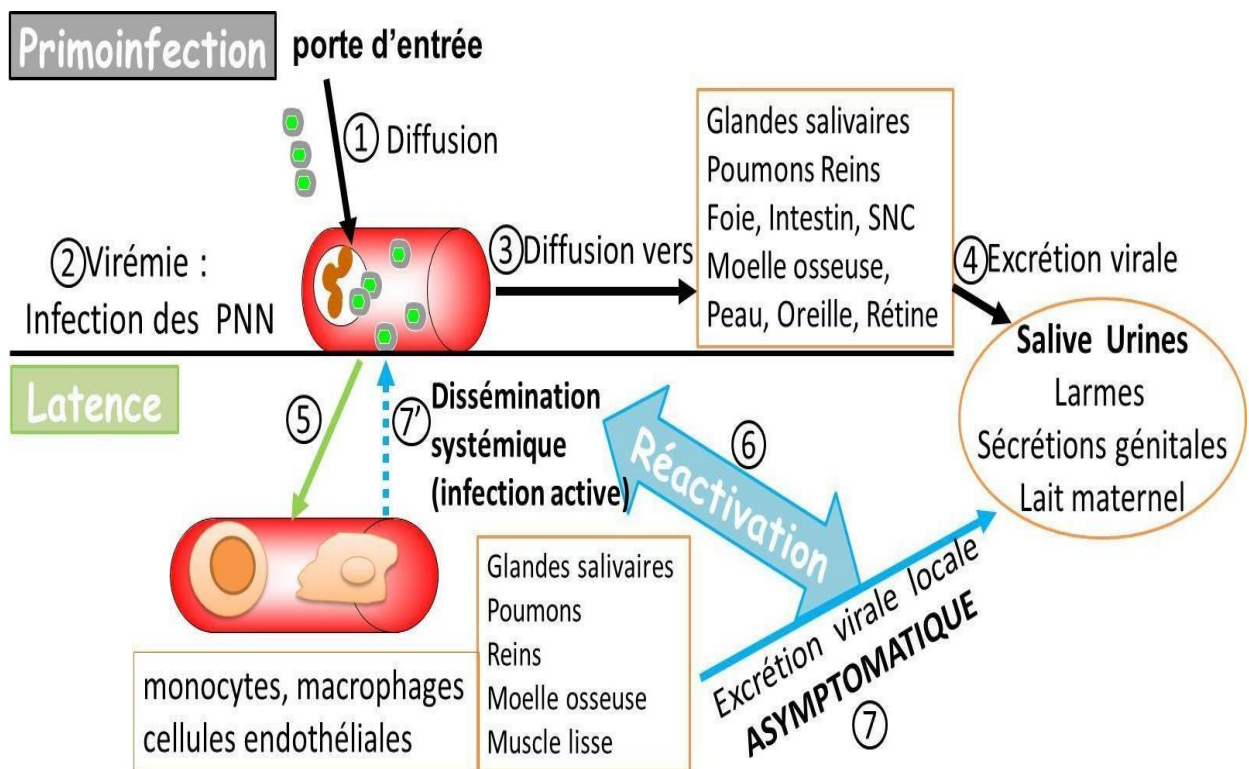
Traitement de l'asthénie: repos au lit, reprise progressive des activités ± antipyrétiques.

LE CYTOMEGALOVIRUS

INTRODUCTION

Le CMV tient son nom de la **maladie des inclusions cytomégaliqes**, qui se voit chez le fœtus ou le nouveau-né. Cette maladie a été découverte dès 1904 à l'examen de produits d'avortements et des viscères d'enfants mort-nés. On y observe de grandes cellules = **cytomégalie** à inclusions intranucléaires et intracytoplasmiques dans les organes atteints, résultant de l'infection par ce virus.

1- PATHOGENESE



Lors de la primo-infection : à partir de la porte d'entrée, le virus passe dans le sang (virémie) où il contamine les **leucocytes** (principalement les **polynucléaires**) et permet ainsi la **dissémination virale** au travers de l'organisme et d'atteindre de nombreux organes cibles : glandes salivaires, poumons, reins, foie, intestin, moelle osseuse, système nerveux central, oreille, rétine, peau.

Chez le sujet infecté, le virus est ainsi présent dans les leucocytes du sang circulant et il est excrété dans la salive, les larmes, les urines, les sécrétions génitales et le lait maternel qui constituent une source de contamination.

Suite à la primo-infection, le CMV persiste sous forme latente dans les monocytes, macrophages et les cellules endothéliales et également dans de nombreux tissus. Les réactivations de ce virus latent sont fréquentes et selon le terrain, peuvent être:

-seulement locales, limitées à une **excrétion virale asymptomatique** au niveau des différents liquides biologiques sus cités : salive, urines....

-ou systémiques avec **virémie** traduisant une **infection active** avec rediffusion au niveau de un ou plusieurs organes cibles du virus.

Cliniquement :

Les manifestations cliniques de l'infection à CMVH varient selon le statut immunitaire du sujet. Si l'infection est souvent asymptomatique chez le sujet immunocompétent, elle peut avoir des conséquences graves chez l'immunodéprimé ou dans le cadre d'infections materno-fœtales.

→ Chez le sujet immunocompétent :



La pathogénie est limitée chez l'immunocompétent car le virus dissémine faiblement sur ce terrain : en effet, ce virus se caractérise par un cycle de réplication très long (environ 5 jours en culture de cellules) d'où une dissémination très lente dans les cellules.

La primo-infection est symptomatique dans 10% des cas seulement, traduite le plus souvent par un tableau non spécifique :

-incubation : très variable selon la voie de contamination = 3 à 12 semaines.

- symptomatologie clinique :

- fièvre modérée, isolée souvent prolongée (2 à 3 semaines en moyenne),
- ou un syndrome pseudo-grippal avec fièvre persistante, asthénie, myalgies et adénopathies cervicales.
- ou une angine (érythémateuse ou érythémato-pultacée) fébrile avec adénopathies voire une hépatosplénomégalie ou une hépatite, ces signes faisant évoquer une MNI.

- manifestations cliniques moins fréquentes : arthralgies et arthrites, colite ulcéreuse, pneumopathie, méningite aseptique, myocardite, péricardite ou syndrome de Guillain-Barré.

-Sur le plan biologique, la primo-infection est souvent associée à :

- une cytolysse hépatique,
- un syndrome mononucléosique (hyperlymphocytose avec présence de lymphocytes activés)
- et parfois une thrombopénie.
- la présence d'auto-anticorps est fréquente faisant orienter le diagnostic à tort vers une maladie autoimmune.

Evolution spontanément favorable en 2 à 3 semaines.

Les infections graves localisées au niveau d'un organe chez le sujet immunocompétent sont rares.

Les réactivations sont toujours asymptomatiques.

→ **Chez le sujet immunodéprimé :**

Le CMV est un agent infectieux majeur chez l'immunodéprimé (*transplanté d'organe, atteint de SIDA ou de cancer...*). Sur ce type de terrain, la dissémination du CMV dans l'organisme est beaucoup plus importante aussi bien au cours de la primo-infection que de la réactivation.

Contrairement aux sujets immunocompétents, la réactivation du CMV l'immunodéprimé peut être symptomatique.

Les symptômes les plus fréquents aussi bien au cours de la primo-infection que de la récurrence sont représentés par :

- une fièvre isolée
- une hépatite cytolytique traduite par une augmentation des transaminases
- une thrombopénie et une leucopénie.

Le tableau clinique est parfois plus sévère avec **atteinte d'un ou plusieurs organes**: atteintes digestives (colite, œsophagite, gastrite...), pneumopathie interstitielle grave, rétinite, encéphalite, pancytopénie...

→ **Chez le nouveau-né :**

- Le CMV est la principale cause d'infection virale congénitale aussi bien au cours de la primo-infection que de la réactivation de ce virus chez une femme enceinte.

- *L'infection congénitale* est plus sévère en cas de primo-infection maternelle. Elle peut être grave et se manifester par **la maladie des inclusions cytomégaliq**ues caractérisée par de grandes inclusions dans les glandes salivaires, les poumons, le foie, le pancréas, le rein et occasionnellement le cerveau, ce qui aboutit à des anomalies congénitales graves (rétinite, microcéphalie, retard de développement psychomoteur ou surdité).

De plus, l'infection congénitale s'accompagne d'une *excrétion virale massive et prolongée au niveau des urines du nouveau-né* faisant courir des risques importants de contamination de l'entourage.

- *L'infection périnatale* peut se manifester par une **pneumopathie interstitielle** entre la 4^e et la 12^e semaine de vie.

2 – EPIDEMIOLOGIE

Les infections à CMV sont très fréquentes.

La transmission du CMV se fait ainsi par contact étroit **à partir d'un malade ou d'un porteur asymptomatique** excréant le virus au niveau de ses liquides biologiques:

- par voie aéropharyngée (salive, sécrétions respiratoires)
- par voie sexuelle
- par transfusion sanguine et transplantation d'organes à partir d'un donneur séropositif pour le CMV
- de la mère à son enfant soit *in utero* par voie transplacentaire, soit périnatale au cours de l'accouchement ou postnatale lors de l'allaitement maternel.

3- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

3-1-Diagnostic direct

Il repose principalement sur la **recherche de l'ADN viral par PCR** à partir de différents prélèvements :

- le principal prélèvement est le **SANG** à la recherche d'une **virémie**.
- selon le contexte clinique, on rajoute d'autres prélèvements : lavage broncho-alvéolaire, LCR, biopsie d'organe, liquide amniotique, urines, gorge...

3-2-Diagnostic indirect

Comme dans le cas du HSV:

- les anticorps apparaissent à partir de la 2^{ème} semaine d'évolution.
- les IgM anti-CMV ne sont pas spécifiques de la primo-infection et peuvent être aussi détectées lors d'une réactivation virale à CMV.

3-3-Stratégie du diagnostic virologique selon la situation clinique

Chez le sujet immunocompétent :

Le diagnostic virologique est demandé devant des signes cliniques évocateurs d'une primo-infection à CMV (la réactivation du CMV étant toujours asymptomatique) : le diagnostic repose classiquement sur la sérologie à condition de mettre en évidence une séroconversion IgG avec des IgM anti-CMV.

Chez les immunodéprimés :

-le diagnostic de primo-infection repose sur la sérologie comme pour l'immunocompétent.

-le diagnostic de réactivation du CMV qui peut être symptomatique, repose sur le diagnostic direct : sur la détection d'une **VIREMIE** témoignant d'une infection active à CMV.

Selon le tableau clinique, on peut ajouter *d'autres prélèvements (biopsie colique, LBA...) en dehors de la gorge et des urines*.



la recherche du CMV dans la gorge et les urines (sauf pour le nouveau-né) est inutile en raison de la fréquence de l'excrétion virale dans ces deux prélèvements chez les porteurs de CMV et ceci en dehors de tout processus

Le diagnostic de l'atteinte du fœtus pendant la grossesse repose sur la mise en évidence du CMV dans le liquide amniotique par PCR, ce liquide étant très riche en virus en cas d'infection du fœtus qui excrète le virus dans ses urines.

Le diagnostic de l'infection congénitale chez le nouveau-né repose sur :

- la mise en évidence du CMV dans les urines par PCR.
- la détection d'IgM dans le sérum.

L'évaluation de l'immunité des donneurs et receveurs d'organe ou de sang vis à vis du CMV se fait par la recherche d'IgG anti-CMV.

4- TRAITEMENT ET PREVENTION

→ Le traitement antiviral est indiqué dans les infections **graves** chez l'**immunodéprimé**.

Antiviraux actuellement utilisés: GANCICLOVIR, VALGANCICLOVIR, CIDOFOVIR et FOSCARNET.

Ces traitements présentent des toxicités hématologiques et rénales, contre-indiquant leur utilisation chez la femme enceinte et limitant leur utilisation sur de longue durée, avec risque d'émergence de résistance par mutation.

→ La prévention d'une infection à CMV chez les sujets à haut risque repose sur:

- La transfusion de sang CMV négatif pour les receveurs d'organe séronégatifs, les femmes enceintes séronégatives et les nouveau-nés.
- la sélection de donneurs d'organes séronégatifs.
- l'administration de sang filtré déleucocyté.
- l'administration d'immunoglobulines chez les sujets à risque qui permet de diminuer l'importance de la symptomatologie et de la gravité de l'infection.

Il n'existe pas de vaccin contre le CMV.

Evaluation formative

- 1- Citer la principale cellule cible du CMV.
- 2- Expliquer pourquoi l'infection à CMV est plus grave chez l'immunodéprimé.
- 3- Indiquer le principal prélèvement à effectuer pour poser le diagnostic direct d'une infection à CMV chez l'immunodéprimé.

Cas clinique :

Une jeune femme enceinte consulte son médecin de famille car elle se sent de plus en plus fatiguée depuis 10 jours. A l'examen, elle a une fièvre à 38°C, une angine et deux adénopathies cervicales hautes. Le reste de l'examen est normal. Un bilan initial est demandé le jour même de la consultation et la patiente est mise sous ampicilline pour traiter son angine.

Le résultat du bilan biologique revient comme suit: ASAT=55 UI/l (normale de 8 à 35)

NFS:

Eléments du sang	Valeurs	Unités
GB	5.95	10 ³ /μl
GR	4.82	10 ⁶ /μl
HBG	13.8	g/dl
NEUT	0.91	10 ³ /μl
LYMP	4.05	10 ³ /μl
MONO	0.78	10 ³ /μl
EO	0.02	10 ³ /μl
BASO	0.19	10 ³ /μl
NEUT	15.3	%
LYMP	68.1	%
MONO	13.1	%
EO	0.3	%
BASO	3.2	%

Sérologie EBV: IgM anti-VCA+

Sérologie CMV: IgG= 2UI/l IgM (+).

- 1- Quels sont les arguments en faveur d'une mononucléose infectieuse?
- 2- Interprétez les résultats de la sérologie EBV et CMV.

Une nouvelle sérologie CMV a été réalisée 15 jours plus tard: IgG=10 UI/l IgM (+)

- 3- Quelle est votre conclusion?
- 4- Etant donné que la patiente est enceinte, court-elle un risque?

Après l'accouchement, le nouveau-né présente des malformations.

- 5- Quelles analyses faut-il prescrire chez cet enfant pour confirmer son atteinte par le CMV?

HERPES VIRUS HUMAINS 6 (HHV6)

Découvert en 1986, HHV6 a été isolé de patients immunodéprimés (SIDA, lymphome et leucémie) à partir de cellules mononucléées et appelé initialement Human B-lymphotrope virus. Mais ce virus a en fait un tropisme pour les lymphocytes T et non pas B.

1- EPIDEMIOLOGIE

Le pic de primo-infection est entre 6 mois et 4 ans.

Le virus est essentiellement transmis par la **salive**, les **sécrétions respiratoires**, le **don de sang, de tissus ou d'organes**.

HHV6 est également responsable d'une **infection sexuellement transmissible**.

2- PATHOGENIE

*Ce virus se multiplie essentiellement dans les lymphocytes T CD4+.

*Cliniquement, la primo-infection serait inapparente dans la plupart des cas. Dans certains cas, elle se manifeste par ***l'exanthème subit du nourrisson = Roséole infantile = 6^{ème} maladie de l'enfant***, caractérisée par :

- une *fièvre d'apparition brusque*, isolée et évoluant pendant 3 à 5 jours.
- puis la fièvre disparaît brusquement, laissant la place à une *éruption cutanée maculeuse et maculopapuleuse rubéoliforme*. Cette éruption est fugace, ne dure que 24 à 48 heures et de ce fait, peut passer inaperçue.

*Après primoinfection, HHV6 reste latent dans les glandes salivaires et est excrété de manière intermittente dans la salive lors de sa réactivation. Il persiste également dans les monocytes du sang, dans le LCR et dans les poumons.

*Les réactivations sont largement asymptomatiques ou cliniquement non spécifiques (fièvre et asthénie chez l'adulte).

Chez l'immunodéprimé, ce virus peut se réactiver et être responsable d'infections mortelles (pneumopathie, insuffisance médullaire, encéphalite, hépatite fulminante...). Après greffe de moelle en pédiatrie, HHV6 est associée à la leucémie aigue lymphoblastique ou non lymphoblastique et à la pneumopathie interstitielle à HHV6 comparable à celle induite par le CMV.

3- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le diagnostic virologique repose essentiellement sur la PCR, appliquée à tout type de prélèvement : sang, LCR, biopsies...

4- TRAITEMENT

Le traitement de l'infection est rarement nécessaire. En cas de nécessité, HHV6 répond mieux au ganciclovir ou au foscarnet qu'à l'aciclovir. Ce traitement est indiqué dans les formes graves.

HERPES VIRUS HUMAINS 7 (HHV7)

HHV7 a été découvert en 1990 dans les lymphocytes CD4+. Il présente des croisements antigéniques avec HHV6.

L'infection est acquise plus tard chez l'enfant qu'avec HHV6 (après 3 ans) et transmise par la salive et par voie sexuelle comme HHV6.

La traduction clinique de l'infection HHV7 est équivalente à celle d'HHV6. Le diagnostic de l'infection se fait par PCR.

Il n'existe pas de traitement antiviral.

HERPES VIRUS HUMAINS 8 (HHV8)

HHV8 peut être **oncogène** comme l'EBV. Il est l'agent étiologique du **sarcome de Kaposi**. Il a été découvert en 1994 au cours des études de cette tumeur chez les Sidéens par la détection de son génome dans les lésions tumorales.

Sa transmission se fait essentiellement par la salive et la voie sexuelle.

Le diagnostic repose sur la PCR, pratiquée sur des échantillons de sang, LCR ou biopsies.

Le traitement repose sur le ganciclovir et le cidofovir.

Evaluation formative

- 1- Décrire le tableau clinique de la roséole infantile et préciser le ou les virus responsables.
- 2- Citer la maladie associée au HHV8.

LES VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

Objectifs éducationnels

- 1-Indiquer les caractères virologiques des VIH : classification et structure, cycle de réplication et les caractères physico-chimiques du virus.
- 2-Préciser les modes de transmission de l'infection par les VIH.
- 3-Comprendre l'histoire naturelle de l'infection par les VIH avec ses différentes étapes (en corrélant la dynamique de la réplication virale avec les différentes phases cliniques de l'infection).
- 4-Indiquer les différentes méthodes pour le diagnostic virologique de l'infection par les VIH, préciser leurs indications et leur interprétation.

1- INTRODUCTION

Les VIH sont les agents du « **syndrome d'immunodéficience acquise** » ou SIDA qui représente la dernière phase de l'infection par ces virus.

En effet, l'infection par ces virus se caractérise par sa lenteur d'évolution sur plusieurs années, liée à la persistance du virus dans l'organisme avec production continue de virus chez le sujet infecté.

Il existe deux types de VIH : le VIH-1 et le VIH-2 qui se distinguent entre eux notamment par leur structure antigénique, leur épidémiologie et leur pouvoir pathogène (VIH2 étant moins virulent que VIH1).

L'infection par ces virus constitue un problème de santé publique mondial.

2- CARACTERES VIROLOGIQUES

2-1/ Classification et structure

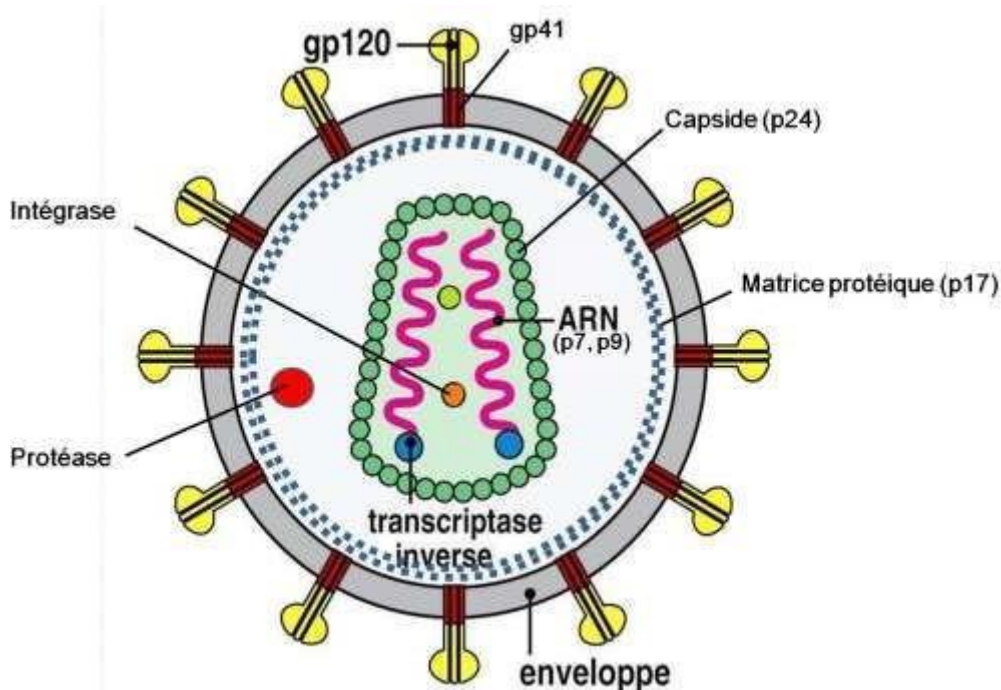
Les VIH appartiennent à la famille des *Rétroviridae* et à la sous-famille des *Orthoretrovirinae* (genre *Lentivirus*).

On distingue 2 types : le VIH1 et le VIH2.

Ces virus sont constitués de dehors en dedans (figure n°1) :

- d'une enveloppe : double couche lipidique d'origine cellulaire dans laquelle sont insérées 2 glycoprotéines d'origine virale, la **gp120** qui forme des spicules à la surface du virus et la **gp41**, transmembranaire qui est enchâssée dans la couche lipidique
- d'une matrice constituée de protéines de 17 KD (**P17**)

- d'une capside conique constituée de protéines de 24KD (**P24**)
- de 2 brins d'ARN monocaténares associés à 2 protéines de structure (**P7 et P9**) et à des enzymes de réplication virale : **la transcriptase inverse**, une intégrase et une protéase.



2-2/ Variabilité génétique

- La glycoprotéine gp120 permet de distinguer, au sein du type VIH1, quatre groupes :
 - * le groupe M (pour Major) majoritaire, qui contient lui-même 9 sous- types (**A, B, C, D, F, G, H, J, K**) en plus des formes recombinantes (ex : AB,...)
 - * le groupe O (pour Outlier)
 - * le groupe N (pour non M non O).
 - * le groupe P de découverte récente.

Le type VIH2 est subdivisé en 9 lignées (**A, B, C, D, E, F, G, H et I**).

- Les VIH se caractérisent par un taux de mutation élevé au cours de leur réplication et notamment au niveau de la gp120 ce qui leur permet d'échapper au système immunitaire et ce qui explique la difficulté jusqu'ici de mettre au point des vaccins anti-VIH.

–Depuis son individualisation en 1981, l'infection à VIH1 s'est propagée d'une manière importante réalisant une véritable pandémie.

Les 2 types de VIH se distinguent par une répartition géographique particulière : le VIH1 est retrouvé dans le monde entier alors que le VIH2 est plutôt retrouvé en Afrique et notamment en Afrique de l'Ouest. Cependant certains pays d'Europe comme le Portugal et la France dénombrent, un grand nombre de cas de VIH2 en raison des échanges historiques avec des pays de forte prévalence. En Tunisie, on retrouve uniquement le VIH1.

2-3/ Cycle de réplication (figure n°2)

L'attachement du virus se fait grâce à une interaction entre le virus par sa glycoprotéine de surface gp120 et la cellule cible par son **récepteur CD4** et des **co-récepteurs transmembranaires**.

La pénétration de la nucléocapside se fait par le phénomène de fusion faisant intervenir la gp41 du virus, suivie d'une décapsidation et d'une libération de l'ARN viral dans le cytoplasme de la cellule infectée. La **reverse transcriptase** assure alors une transcription inverse de l'ARN viral en ADN qui prend le nom **d'ADN proviral**. Celui-ci s'intègre ensuite grâce à **l'intégrase** du virus dans les chromosomes de la cellule-hôte.

Cet ADN proviral sera répliqué avec le génome cellulaire par l'ADN polymérase cellulaire lors des divisions cellulaires. En plus d'être répliqué, cet ADN sera transcrit par une ARN polymérase cellulaire en ARN qui donnera naissance, d'une part à des ARN génomiques et d'autre part à des ARNm qui seront traduits à leur tour dans le cytoplasme en protéines régulatrices et en protéines de structure. Ces protéines de structure sont produites sous forme de polyprotéines de grande taille qui seront clivées par la **protéase virale** pour donner les protéines de structure finales du virus.

Après assemblage et maturation virale, les nouveaux virions sortent par bourgeonnement à travers la membrane cytoplasmique.

Cette capacité du virus à s'intégrer dans les chromosomes cellulaires lui permet ainsi de persister avec une production continue de virus.

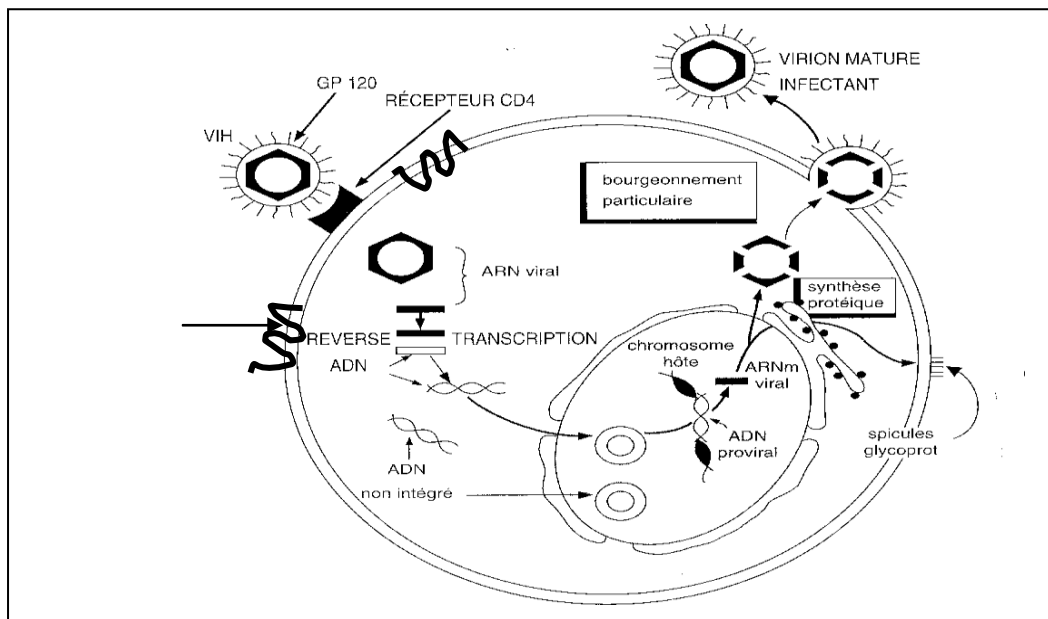


Figure n°2. Cycle de réplication du VIH

2-4/ Caractères physico-chimiques

Le VIH est fragile. Il est sensible à la sécheresse, la température (il est inactivé en 30 mn par un chauffage à 56°C), à l'alcool à 70 %, à l'eau de javel à 10 % et à des pH acides ou alcalins.

3- TRANSMISSION

→ On décrit 3 modes de transmission :

***Sexuel** : se fait par les muqueuses du vagin, du pénis, du rectum ou de la bouche, en contact avec des sécrétions sexuelles (sperme, ou sécrétions vaginales) ou du sang contenant du virus. Le risque de transmission dépend du type de relation sexuelle, mais aussi de la quantité de virus présent dans le sperme ou les sécrétions vaginales. Parmi les facteurs favorisant la transmission : l'homosexualité, l'existence de multipartenaires et d'infections sexuellement transmises.

***Sanguin** : par le biais de la toxicomanie par voie intraveineuse ou au cours de transfusion (actuellement, le risque par transfusion est devenu minime grâce au dépistage systématique des dons de sang) ou lors d'accidents d'exposition au sang d'ordre professionnel (chirurgie, endoscopie, piqûre par aiguille,...) ou non professionnel (Tatouage, piercing,...).

***Mère-enfant** : la contamination de l'enfant a lieu soit *in utero* soit à l'accouchement soit par l'allaitement maternel.

A noter que, la salive, la sueur, les larmes et l'urine ne sont pas des liquides contaminants.

4- HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION

L'infection à VIH se caractérise par son évolution sur plusieurs années au cours desquelles le sujet passe par différentes phases avant d'entrer au stade SIDA qui constitue la phase finale de l'infection.

4-1/ Phase de primo-infection

Suite à la contamination, le virus rencontre ses premières cellules cibles : les cellules dendritiques. Ces cellules présentatrices d'antigènes jouent un rôle majeur dans la dissémination du virus dans les tissus lymphoïdes secondaires, où le VIH est présenté aux lymphocytes TCD4+, siège de multiplication préférentiel. D'autres cellules représentent une cible du VIH, comme les **macrophages tissulaires** et les **monocytes sanguins**, qui vont constituer un réservoir de persistance du virus. De plus, les cellules microgliales et les astrocytes, les cellules de Langherans et les progéniteurs hématopoïétiques sont également une cible du VIH.

Au cours de cette phase, la réplication virale est très importante surtout au niveau des organes lymphoïdes et s'accompagne d'une diminution modérée et transitoire des lymphocytes CD4+.

Face à cette réplication virale intense, l'organisme va opposer une réponse immune cellulaire T cytotoxique qui va permettre de stabiliser la virémie ou charge virale. Les anticorps neutralisants essentiellement dirigés contre la gp120 apparaissent entre 3 et 8 semaines après la contamination. Leur efficacité est limitée du fait de la variabilité génétique continue du virus qui se manifeste notamment par une modification de la gp120.

4-2/ Phase de latence clinique

C'est la **phase de séropositivité asymptomatique** ou encore de **portage asymptomatique**.

Elle est caractérisée par une absence de signes cliniques et d'immunodépression. Par contre, la réplication virale est élevée mais reste contrôlée par la réponse immunitaire cellulaire. Cet équilibre persiste jusqu'à épuisement des défenses immunes par diminution du nombre des lymphocytes CD4+ et altération de la fonction des cellules de l'immunité (CD8+...) ou par l'apparition d'une souche virale hautement virulente.

4-3/ Le stade de SIDA

Il apparaît en moyenne 8 ans après la contamination.

La réplication virale déborde la réponse immune de l'hôte. Le nombre des lymphocytes CD4 chute rapidement et une immunodépression profonde s'installe. A noter qu'il existe des patients qui sont **progressseurs rapides** et développent rapidement un SIDA, alors que d'autres sont non **progressseurs à long terme** et demeurent indemnes après plus de 8 ans d'infection.

Il existe également des individus **résistants à l'infection VIH** (qui restent séronégatifs).

5- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

5-1/ Evolution des marqueurs viraux au cours de l'infection

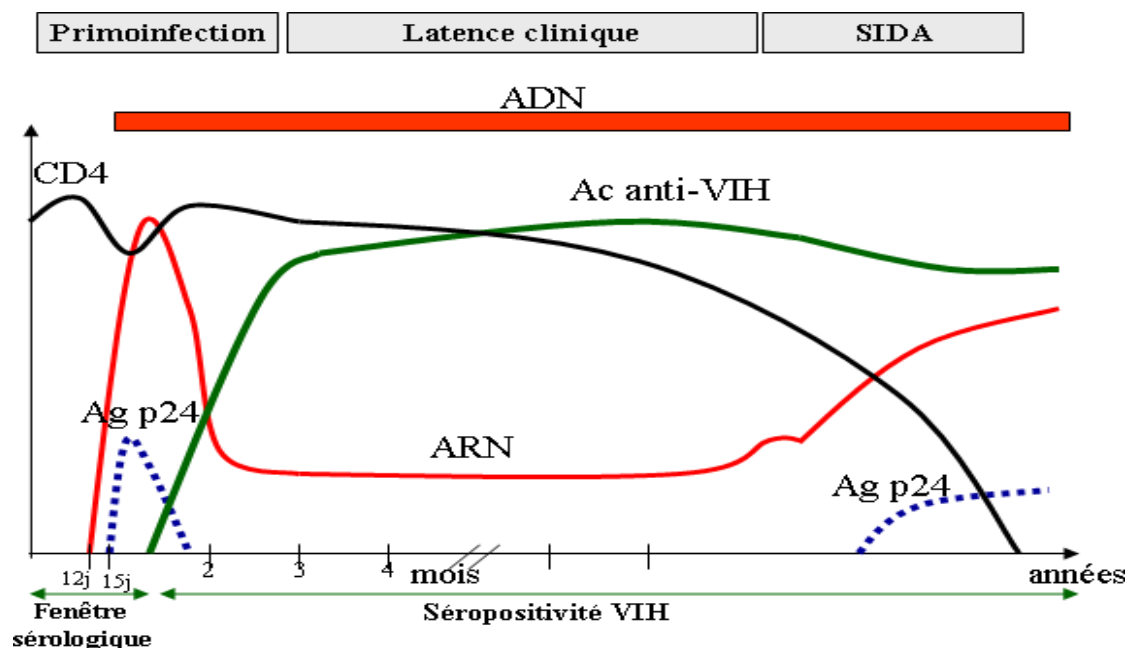


Figure n°3. Cinétique des marqueurs viraux au cours de l'infection VIH

Le premier marqueur à se positiver est l'ARN viral dans le plasma, en moyenne 12 jours après la contamination.

Vers 15 jours, l'antigénémie p24 et la recherche d'ADN proviral se positivent.

Les anticorps anti-VIH apparaissent les derniers, 3 à 8 semaines après la contamination.

Après un pic observé au cours de la primo-infection, la charge virale diminue et se stabilise pendant plusieurs années chez les malades non traités pour réaugmenter au stade SIDA.

L'antigène p24 est au contraire fugace et se négative dans le sérum après 2 à 3 semaines puis redevient détectable au stade SIDA.

Les anticorps anti-VIH persistent à vie et même chez le malade traité.

5-2/ Méthodes diagnostiques

Le diagnostic virologique de l'infection par les VIH se fait en 2 étapes:

- Le dépistage de l'infection.
- La confirmation en cas d'un dépistage positif.

→Le dépistage:

Le dépistage de l'infection par les VIH repose essentiellement sur la sérologie. Il vise à rechercher les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2 et ceci essentiellement par **la technique ELISA**. Cette technique est caractérisée par une sensibilité très importante d'où le risque de faux positifs.

De ce fait, en pratique, si le test ELISA est négatif, le résultat est rendu négatif au patient. Par contre, si ce test est positif, il faut obligatoirement confirmer ce résultat par **une autre technique et sur un nouveau prélèvement** avant de rendre un résultat positif au patient.

Actuellement, il existe des **tests ELISA combinés** qui détectent simultanément les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2 et l'antigène p24. Ces tests combinés sont de plus en plus utilisés comme tests de diagnostic car permettent de raccourcir la fenêtre sérologique et donc un diagnostic plus précoce de la primoinfection.

Remarque: il existe des tests ELISA qui détectent l'antigène p24 seul (antigénémie p24) mais ces tests sont très peu utilisés en routine.

A noter que le dépistage peut aussi se faire par les **tests rapides** immunochromatographiques notamment en situation d'urgence (ex : accident d'exposition au sang) ou dans le cadre d'un dépistage communautaire.

→ **La confirmation:**

Une fois le dépistage s'avère positif (par ELISA ou test rapide), une étape de confirmation s'impose. Cette étape s'effectue, selon les recommandations tunisiennes actuelles, par des techniques moléculaires basées sur la recherche de **l'ARN viral par RT-PCR** à partir du plasma. Ceci dit, la recherche de l'ADN proviral par PCR à partir des cellules mononucléées du sang peut être également utilisée pour la confirmation.

La recherche de l'ARN viral par RT-PCR peut être soit:

- qualitative
- quantitative, appelée **CHARGE VIRALE**.

Dans certaines situations (résultats sérologiques indéterminés ou ARN viral non détecté alors que le test sérologique est positif), on peut avoir recours à une autre technique de confirmation, qui est le **Western-Blot**, réalisée dans le laboratoire de référence à Tunis. Cette technique est basée sur la recherche des Ac anti-VIH 1 et 2, et est caractérisée par une excellente spécificité.

5-3/ Indications des marqueurs viraux

*Devant une suspicion de primo-infection, on peut obtenir un diagnostic précoce par la détection de l'ARN viral ou l'antigénémie p24.

Une sérologie négative n'élimine pas le diagnostic et devra être contrôlée d'où l'intérêt actuellement d'utiliser les tests combinés.

*En dépistage systématique, c'est la sérologie qui est utilisée.

*Pour le suivi des malades sous traitement, le meilleur test est la charge virale. En pratique, on détermine la charge virale avant traitement qui sera comparée à la charge virale effectuée tous les 3 mois après la mise en route du traitement afin d'évaluer son efficacité :

- En cas de bonne réponse du malade au traitement, la charge virale diminue et devient indétectable
- Au contraire, elle reste stable ou augmente en cas de mauvaise réponse ou d'apparition de résistances au traitement.

*Chez les nouveau-nés issus de mère séropositive, la sérologie étant systématiquement positive du fait du passage des Ac maternels qui restent présents chez l'enfant jusqu'à l'âge de 15 mois, le diagnostic au cours des premiers mois de la vie repose sur la recherche qualitative de l'ARN viral ou l'antigénémie p24.

Evaluation formative

1- Un nouveau-né est issu d'une mère séropositive pour le VIH. Ce nouveau-né risque-t-il d'être contaminé ? Si oui, à quel moment et comment confirmer le diagnostic ?

2- Décrire l'évolution dans le temps des marqueurs du VIH suite à une contamination par ce virus.

LES ENTEROVIRUS & PARECHOVIRUS

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- 1-Comprendre l'épidémiologie des *Enterovirus* et des *Parechovirus*.
- 2-Expliquer leur physiopathologie.
- 3-Identifier les différentes manifestations cliniques.
- 4-Indiquer les prélèvements à faire et les techniques utilisées en vue d'un diagnostic virologique.
- 5-Appliquer les mesures préventives générales contre les Enterovirus et Parechovirus et spécifiques (vaccination) contre les poliovirus.

1- CLASSIFICATION

Les genres Enterovirus et Parechovirus humains appartiennent à la famille des Picornaviridae qui comprend par ailleurs un autre genre pathogène pour l'homme = Hepatovirus auquel appartient le virus de l'hépatite A (sera vu avec «les virus de l'hépatite»).

Le genre Enterovirus humain comporte 7 espèces :

- Entérovirus humains A, B, C et D.
- Rhinovirus A, B et C (seront vus avec «les virus respiratoires»).

Le genre Parechovirus humain comprend 1 seule espèce = Parechovirus A.

Ces espèces comportent de nombreux sérotypes.

Au sein des Entérovirus C, on retrouve notamment les **poliovirus** qui constituent l'espèce-type.

Tableau : Classification actuelle des virus du genre Entérovirus

Genre	Espèces	Sérotypes
Enterovirus humains	Entérovirus A	coxsackievirus A 2-A8, A10, A12, A14, A16 entérovirus A 71, 76, 89 90-92, 114, 119-121
	Entérovirus B	coxsackievirus A 9, coxsackievirus B1-B6, échovirus 1-7, 9, 10, 11-21, 24-27, 29-33 entérovirus B 69, 73-75, 77-88, 93 ; 97, 98, 100, 101, 106, 107, 110-113
	Entérovirus C	poliovirus 1, 2 et 3 coxsackievirus A 1, 11, 13, 15, 17, 19-22, 24 entérovirus C 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116-118
	Entérovirus D	Entérovirus D 68, 70, 94, 111, 120
Parechovirus	Parechovirus A	HPeV 1 à 19

2- CARACTERES VIROLOGIQUES

2-1- Structure

Il s'agit de petits virus à ARN non enveloppés et donc résistants dans le milieu extérieur et à l'acidité gastrique.

2-2/ Propriétés antigéniques

Les nombreux sérotypes qui constituent ces deux espèces sont distingués entre eux par les déterminants antigéniques portés par la capside virale. Leur identification se fait par des anticorps neutralisants.

Il n'existe pas de déterminant antigénique commun à toutes les espèces et tous les sérotypes d'où l'absence d'immunité croisée entre eux.

3- PHYSIOPATHOLOGIE

Les Enterovirus et les Parechovirus ont un tropisme pour le **tractus intestinal**. Après pénétration orale, le virus se multiplie initialement au niveau de l'oropharynx puis de l'intestin. Ensuite, l'infection se propage au tissu lymphoïde (amygdales et plaques de Peyer) et se généralise par une virémie. Le virus peut atteindre ainsi différents organes-cibles dont principalement **le système nerveux central, la moelle épinière, les méninges** mais aussi le cœur, la conjonctive de l'œil, la peau... d'où un polymorphisme clinique important.

La multiplication du virus dans l'oropharynx et les intestins entraîne une excrétion virale prolongée pendant plusieurs jours dans la gorge et pendant plusieurs semaines voire des mois dans les selles entraînant une diffusion du virus dans l'entourage du sujet infecté et dans l'environnement.

Cette infection entraîne la sécrétion d'anticorps circulants neutralisants protecteurs mais uniquement contre le sérotype infectant. Or, les sérotypes sont nombreux et il n'y a pas d'immunité croisée entre les sérotypes. Ainsi, tout individu fait plusieurs infections à Enterovirus et Parechovirus au cours de sa vie.

4- EPIDEMIOLOGIE

Le réservoir de ces virus est strictement humain, représenté essentiellement par

les enfants puisque la primo-infection a lieu en général dès la petite enfance.

La transmission de ces virus se fait principalement par voie **féco-orale**.

Ces virus ont une grande capacité de résistance et leur élimination dans les selles de l'homme infecté **contamine l'environnement** pendant des semaines voire des mois.

La multiplication des EV :

- dans les cellules épithéliales du pharynx et des voies respiratoires rend possible la transmission par la salive ou par aérosols.
- dans les conjonctives de l'œil ou les vésicules cutanées rend possible une transmission par les larmes ou les vésicules.

Les infections par ces virus évoluent sous forme de cas sporadiques au cours de l'année avec l'apparition **d'épidémies entre Mai et Novembre**.

5- POUVOIR PATHOGENE

L'infection par les Enterovirus et les Parechovirus est rarement symptomatique. Toutefois, ces virus peuvent provoquer des tableaux cliniques très polymorphes.

5-1/ infections à poliovirus

Il existe 3 sérotypes de poliovirus : 1, 2 et 3.

Ils sont tous responsables de la **poliomyélite antérieure aiguë** ou **paralysie infantile**, liée à une inflammation et une destruction des neurones moteurs des cornes antérieures de la moelle épinière. C'est l'expression la plus rare (1 pour 1000 infections inapparentes) mais la plus grave de l'infection par ces virus.

Après une incubation de 10 à 14 jours, la phase d'invasion de la maladie débute par une fièvre, une infection rhinopharyngée et des douleurs musculaires intenses.

La période d'état est marquée par l'installation brutale de **paralysies flasques** touchant le plus souvent les membres inférieurs.

Evolution : Le pronostic vital est mis en jeu lorsque l'atteinte touche les muscles respiratoires et les centres bulbaires. Sinon, la régression des paralysies est partielle avec persistance de séquelles fonctionnelles importantes (troubles de la croissance, amyotrophie d'un membre...).

L'immunité qui apparaît à la suite de l'infection protège uniquement contre le sérotype infectant : *il n'y a pas d'immunité croisée entre les 3 sérotypes de poliovirus.*

5-2/ Pathologies dues aux virus autres que les poliovirus

Manifestations neurologiques

* **Méningite lymphocytaire aigue de l'enfant** où les Enterovirus et Parechovirus constituent la première cause. L'évolution est en général bénigne.

*Encéphalite : plus rare.

*Paralysies flasques isolées comme avec les poliovirus mais généralement sans séquelles.

Manifestations cardiaques et musculaires

*Myocardite, Péricardite.

*Pleurodynie ou Maladie de Bornholm (fièvre, douleurs musculaires, thoraciques voire abdominales d'apparition brutale).

Manifestations cutanées et muqueuses

*Herpangine: angine vésiculeuse du pharynx et du palais.

*Syndrome main-pied-bouche : Stomatite érosive et douloureuse avec des vésicules cutanées au niveau des pieds et mains.

*Exanthème de Boston : fièvre, pharyngite et éruption cutanée maculo- papuleuse.

*Conjonctivite hémorragique.

Les infections respiratoires

*Rhume ou rhinopharyngite.

*Bronchiolite.

Autres tableaux cliniques

*Fièvre isolée

*Gastro-entérite

*Infections sévères : chez les immunodéprimés et les nouveau- nés sous forme d'infections disséminées mortelles avec nécrose hépatique, méningo-encéphalite,

myocardite, péricardite.

6- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le diagnostic repose sur les méthodes directes. L'existence de plusieurs sérotypes et l'absence d'antigènes communs limite l'utilisation de la sérologie.

Prélèvements :

La recherche directe du virus peut se faire à partir de différents prélèvements : principalement la **GORGE** et les **SELLES** du malade. Ces prélèvements seront associés selon le contexte clinique à un prélèvement de LCR, lésions vésiculeuses cutanéomuqueuses, prélèvement conjonctival, biopsies d'organes, liquide amniotique...

Méthode :

Le diagnostic est basé actuellement sur la détection de l'ARN viral par RT-PCR en temps réel.

7- TRAITEMENT et PREVENTION

Il n'existe encore aucun traitement antiviral efficace.

La prévention des infections à Enterovirus et Parechovirus repose sur les **règles d'hygiène universelle**.

La vaccination est limitée au poliovirus. Il existe 2 types de vaccins anti-poliovirus :

- vaccin inactivé, administré par voie *injectable* (sous-cutanée).
- vaccin à virus vivant atténué administré par voie *orale* (sous forme de gouttes).

Grâce à la vaccination généralisée dans le monde, l'OMS espère faire de la poliomyélite la deuxième maladie virale éradiquée après la variole. En effet, si une part suffisante de la population mondiale est immunisée, le virus n'aura pas d'hôtes sensibles et s'éteindra. Ainsi, le poliovirus sauvage de type 2 a été éliminé ; il a été détecté pour la dernière fois en Inde en 1999. Seuls les poliovirus sauvages de type 1 et de type 3 continuent de circuler dans les zones d'endémie.

En Tunisie, la vaccination anti-poliovirus des enfants a été introduite dans le calendrier vaccinal dans les années 60. Grâce à cela, aucun cas de poliomyélite n'a été rapporté depuis 1995 jusqu'à ce jour. La vaccination systématique continue à ce jour et les deux types de vaccin sont actuellement utilisés dans notre pays. Le vaccin injectable est trivalent (protège contre les 3 sérotypes) et le vaccin oral est bivalent (contre les sérotypes 1 et 3).

Evaluation formative

- 1- Parmi les atteintes liées aux Enterovirus (autres que le poliovirus) et Parechovirus, citer deux d'entre elles.
- 2- Citer les deux prélèvements indispensables pour le diagnostic direct d'une infection par /es Enterovirus et Parechovirus et expliquer pourquoi.

PAPILLOMAVIRUS HUMAINS (HPV)

Objectifs éducationnels

A la fin de ce cours, vous devez être capable de :

- 1-Comprendre le tropisme de ces virus.
- 2-Comprendre les particularités de la multiplication de ces virus.
- 3-Identifier les principales lésions cliniques associées à ces virus.
- 4-Citer les moyens de diagnostic de l'infection par ces virus.
- 5-Connaitre les moyens de prévention contre ces virus.

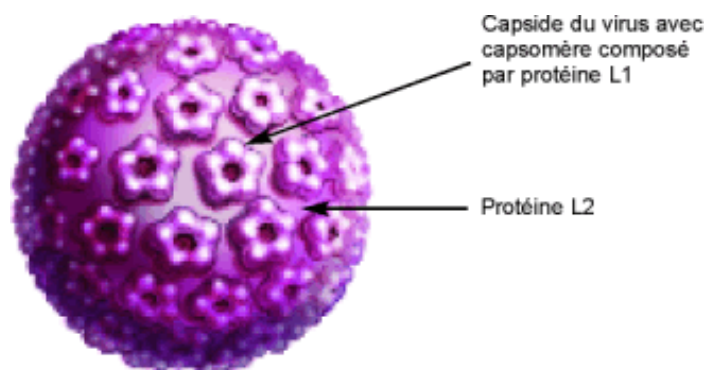
INTRODUCTION

Les HPV sont des virus largement répandus dans la nature et très résistants dans l'environnement. Ils peuvent infecter de nombreux vertébrés et notamment l'homme.

1- STRUCTURE

Virus à ADN, nus de la famille des Papillomaviridae.

La capside virale du HPV est composée de 72 capsomères, chacun constitué de 2 protéines L1 et L2. La protéine L1 forme à elle seule l'essentiel de la capside. Les anticorps neutralisants sont essentiellement dirigés contre L1, bloquant ainsi les sites de fixation du virus d'où le choix de cette protéine dans la fabrication des vaccins anti-HPV.



On en connaît environ 200 génotypes différents dont certains ont un potentiel oncogène, associés à des cancers cutanés ou génitaux comme le cancer du col utérin.

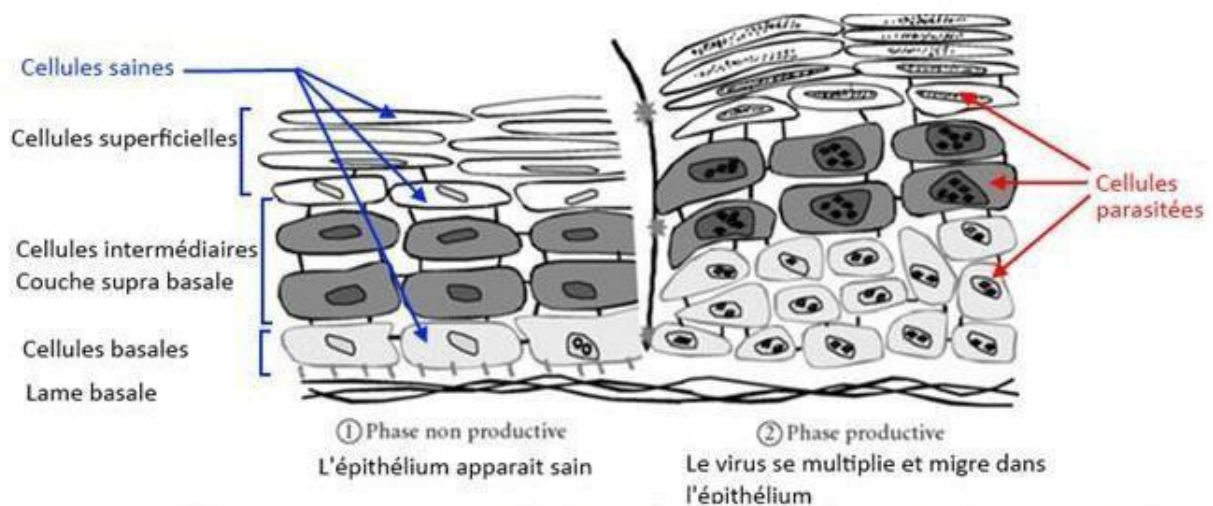
2- TROPISME

Les papillomavirus sont épithéliotropes : ils ont un tropisme exclusif pour les **épithéliums malpighiens pluristratifiés** comme la peau et les muqueuses génitale ou buccale qui sont en différenciation constante. La caractéristique principale des papillomavirus étant de favoriser la prolifération des cellules qu'ils infectent, ils peuvent être responsables de tumeurs, bénigne ou maligne.

3- MULTIPLICATION des HPV

Le cycle viral comporte 2 phases distinctes qui sont **fonctions de l'état de différenciation de la cellule** :

➤ La première phase est observée dans la couche basale de l'épithélium : suite à une brèche dans l'épithélium, Les HPV pénètrent et s'installent dans les cellules germinales peu différenciées de la couche basale de l'épithélium et les infectent mais sans production de virions. Il s'agit de la phase d'établissement. Au cours de cette phase, seuls les gènes viraux précoces sont transcrits et sont responsables de l'hyperplasie de l'épiderme à l'origine de la tumeur.



Source : Joseph Monsonogo - Infections à papillomavirus: État des connaissances, pratiques et prévention ...

➤ La seconde phase, étroitement liée au processus de différenciation des cellules épithéliales, se déroule dans les couches superficielles de l'épithélium. Au fur et à mesure que les cellules épithéliales se différencient, les cellules basales de l'épithélium se multiplient et "montent" vers la surface. Ce sont les cellules les plus différenciées des couches superficielles (les cellules en voie de kératinisation) qui

assurent le cycle viral complet avec une abondante production de particules virales.

La desquamation de ces kératinocytes infectés assure la libération du virus dans le milieu extérieur ⇒ ces virions poursuivent leur propagation au sein de l'épithélium infecté et/ou sont transmis à un autre individu par contact direct.

On a donc selon l'état de différenciation de la cellule hôte, une **réplication abortive ou productive**.

Ces lésions régressent le plus souvent spontanément.

L'ADN viral peut cependant persister ensuite à l'état LATENT :

*Sous forme d'épisome dans les cellules basales de l'épithélium et il n'y a pas de production de virion dans les cellules (porteur sain), avec possibilité de réactivation du virus sous l'effet de certains facteurs / Immunodépression.

*Sous forme intégrée dans le génome cellulaire avec un risque oncogène.

4- POUVOIR PATHOGENE :

Les HPV sont à l'origine de tumeurs bénignes de la peau et des muqueuses malpighiennes chez l'homme. D'une façon générale, on appelle **verrues** les lésions cutanées, et **condylomes** les lésions des muqueuses.

Les principales manifestations sont :

***VERRUES CUTANÉES** = Lésions les plus communes de l'infection à HPV. La contagion peut se faire directement (de peau à peau) ou indirectement (par des objets ayant été en contact avec la peau infectée). Le fait de marcher pieds nus dans des lieux publics (piscines, vestiaires, douches publiques, plages, centres sportifs, etc) est particulièrement propice à la transmission de la verrue plantaire. La transmission est favorisée par les microtraumatismes.

Les verrues peuvent aussi se propager d'une partie à l'autre du corps, sur une même personne. Ces verrues régressent le plus souvent spontanément.

***INFECTIONS GENITALES :**

-Transmission par voie sexuelle ⇒ Infections Sexuellement Transmises.

- Fréquemment asymptomatiques ou peuvent se manifester sous forme de **CONDYLOMES** appelés « **crêtes de coq** » : le plus souvent, ces lésions régressent spontanément. Mais, l'association de ces lésions à certains génotypes de HPV /HPV 16 et 18, peut conduire à l'apparition d'un Cancer du col utérin.

5- DIAGNOSTIC

Le diagnostic est avant tout clinique, cytologique (sur un frottis cervical) ou immunohistochimique: le HPV est recherché sur coupes biopsiques incubées en présence d'anticorps monoclonaux anti-HPV.

Actuellement, le diagnostic virologique garde des indications restreintes, l'objectif principal étant de contribuer à détecter des lésions de haut grade (surtout du col utérin) ou susceptibles de le devenir. Il consiste en la détection du génome viral et la détermination du génotype (HPV oncogènes) par des techniques moléculaires (PCR multiplex). La détection moléculaire des HPV à haut risque pour le dépistage du cancer du col de l'utérus est actuellement recommandée en première intention.

6- PREVENTION

Des vaccins anti-HPV sont disponibles depuis 2007. Le vaccin anti-HPV est basé sur la capacité d'autoassemblage des Protéines L1 en **pseudoparticules virales** (VLP: viral like particle) ayant une morphologie voisine de celle du HPV MAIS sans matériel génétique ⇒ ces VLP sont non infectieuses et non oncogènes mais **très immunogènes** lorsqu'elles sont associées à un adjuvant adéquat

Trois vaccins sont commercialisés :

Vaccin anti-HPV bivalent (Cervarix®) : protège contre deux génotypes **16 et 18**

Vaccin anti-HPV tétravalent (Gardasil®) : protège contre quatre génotypes **6/11/16 et 18**.

Vaccin anti-HPV 9-valent (Gardasil 9 ®) : protège contre neuf génotypes **6/11/16/18 + 31/33/45/52 et 58**. C'est ce vaccin qui est actuellement recommandé.

Dans certains pays industrialisés, Le vaccin HPV est désormais recommandé à toutes les jeunes filles de 11 à 14 ans, afin de les protéger avant qu'elles ne soient exposées au risque d'infection à HPV. Le vaccin est également proposé en rattrapage aux jeunes filles et jeunes femmes de 15 à 20 ans.

Evaluation formative

- 1-** Décrire la multiplication des papillomavirus dans leurs cellules cibles.
- 2-** Citer la lésion clinique la plus commune provoquée par ces virus.

VIRUS DES ERUPTIONS FEBRILES

OBJECTIFS

- 1- Connaître les étiologies virales des éruptions maculopapuleuses et vésiculeuses.
 - 2- Préciser les modes de transmission du virus de la rougeole.
 - 3- Décrire la pathogenèse de la rougeole.
 - 4- Préciser les différentes méthodes du diagnostic virologique de l'infection par le virus de la rougeole ainsi que leurs indications.
 - 5- Préciser les modes de transmission du virus de la rubéole.
 - 6- Différencier la pathogenèse de la rubéole en période prénatale et post- natale.
 - 7- Préciser les différentes méthodes pour le diagnostic virologique de l'infection par le virus de la rubéole, comprendre leurs indications et leur interprétation et l'impact du diagnostic sur la prévention de la rubéole congénitale.
 - 8- Distinguer le tropisme et les modes de transmission du parvovirus B19.
 - 9- Indiquer les moyens de diagnostic virologique selon la forme clinique de l'infection par le Parvovirus B19.
-

1- INTRODUCTION :

Les infections virales ont souvent pour expression clinique des manifestations cutanées qui parfois, à elles seules, évoquent une étiologie particulière ; ailleurs leur manque de spécificité fait que le clinicien est confronté à différents diagnostics incluant des affections très variées, infectieuses, inflammatoires ou médicamenteuses.

C'est chez l'enfant que se manifestent principalement les maladies éruptives virales, sous forme de primo-infection. Elles sont pour la plupart des maladies **contagieuses**, voire **épidémiques**.

La morphologie de l'éruption, l'association à des symptômes annexes (fièvre, adénopathie,...) et le contexte épidémiologique permettent en général le diagnostic. Ainsi le recours au diagnostic virologique n'est pas toujours obligatoire, mais garde son intérêt dans un certain nombre de situations cliniques.

Ces fièvres éruptives confèrent ensuite une immunité acquise qui peut être définitive.

Deux principaux types d'éruptions virales :

1- **Eruptions virales maculeuses ou maculo-papuleuses** : Décrites encore sous le nom d'**exanthèmes**, elles sont liées aux **dépôts de complexe immuns** virus/anticorps dans la paroi des vaisseaux (ainsi la recherche du virus au niveau des lésions cutanées n'a aucun intérêt). Elles entrent dans le cadre des fièvres éruptives qui correspondent toujours à des infections généralisées et apparaissent habituellement au moment de la détection des anticorps spécifiques dans le sérum (de ce fait le diagnostic virologique repose essentiellement sur la sérologie).

2- **Eruptions vésiculeuses** : qu'elles soient généralisées ou localisées, les vésicules fraîches sont le siège d'une **multiplication virale active** et, donc, une source de contamination importante. La contagiosité des lésions plus évoluées (au stade de croûtes) dépend de la résistance du virus en cause.

3- Les éruptions pustuleuses dues aux poxvirus : la principale était la variole ; depuis son éradication, les 3 éruptions à poxvirus qui continuent à se voir chez l'homme sont l'orf, le cowpox et le nodule des trayeurs. Il s'agit d'affections localisées bénignes souvent professionnelles. (Ne feront pas l'objet de ce cours)

Type de l'éruption	Virus en cause
Eruptions virales maculeuses ou maculo-papuleuses	-Virus de la rougeole -Virus de la rubéole -Parvovirus B19 -HHV6 -Entérovirus -EBV -CMV -Adénovirus -HIV -Autres : VHB, certains arbovirus, ...
Eruptions vésiculeuses	-HSV -VZV -Entérovirus (Coxsackievirus A)
Eruptions pustuleuses	-Poxvirus

Ne seront étudiés dans ce chapitre que les principaux virus responsables d'éruptions maculeuses ou maculo-papuleuses : virus de la rougeole, parvovirus B19 et virus de la rubéole. Le CMV, l'EBV et le HHV6 agent de la roséole étant déjà étudiés dans le chapitre des Herpesvirus, de même que VZV et HSV1 et 2 responsables d'éruptions vésiculeuses.

2- VIRUS DE LA ROUGEOLE

2-1- Propriétés structurales :

- Le virus de la rougeole appartient à la famille des *Paramyxoviridae*, incluant en plus du virus de la rougeole (ou morbillivirus) le virus des oreillons qui sont tous deux responsables d'infections généralisées, les virus parainfluenza 1,2,3 et 4, le VRS et le métapneumovirus qui sont responsables d'infections localisées de type respiratoire.

- Ce sont des virus à ARN, enveloppés, se transmettant tous par voie aérienne.

2-2- Transmission :

Le virus de la rougeole se transmet par voie aérienne. Cette transmission s'effectue habituellement par de grosses gouttelettes de l'appareil respiratoire qui sont projetées par la toux et restent brièvement en suspension sur une courte distance.

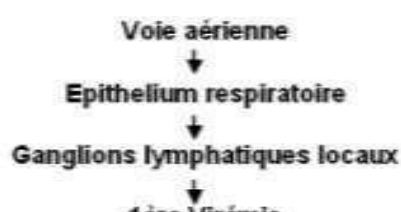
La transmission peut également être le fait de projection de petites gouttelettes d'aérosol qui peuvent rester en suspension (et ainsi être inhalées) jusqu'à 2 h dans les zones isolées (p. ex., dans un cabinet de consultation). La transmission par des vecteurs passifs semble moins probable que la transmission aérienne parce que le virus de la rougeole est supposé survivre pendant une courte durée sur des surfaces sèches.

2-3- Pathogenèse :

Après pénétration par voie aérienne, le virus se multiplie dans l'épithélium du rhino et de l'oropharynx, ensuite il gagne les ganglions lymphatiques locaux puis le sang où l'infection des leucocytes produit la virémie primaire.

Une nouvelle réplication dans les tissus lymphoïdes entraîne une intense virémie secondaire et généralisation à tous les organes (poumon, rein, conjonctive, Tube digestif, SNC, vaisseaux sanguins...).

Physiopathologie du virus de la rougeole



2-4- Diagnostic virologique

-Isolement viral :

**Prélèvements :* - Secrétions nasopharyngées

- Rarement Urines ou leucocytes

**Culture cellulaire :* l'isolement du virus permet de le caractériser génétiquement.

-PCR : sur les secrétions nasopharyngées en cas d'épidémie de rougeole ou à partir du LCR pour le diagnostic de l'encéphalite.

-Sérologie: Basée essentiellement sur la recherche des IgM spécifiques par ELISA. Elles apparaissent entre le 1^{er} et le 5^{ème} jour de l'éruption. Leur détection confirme le diagnostic de rougeole.

Indication :

Dans le cadre du programme national d'élimination de la rougeole (mis en place en Tunisie depuis 1998) et selon les recommandations de l'OMS, le diagnostic virologique est obligatoire devant :

*tout cas suspect de rougeole (tout sujet ayant une fièvre avec éruption maculopapuleuse avec toux ou rhinite ou conjonctivite). Le diagnostic se fait par la recherche d'IgM spécifiques dans le laboratoire national de référence.

*toute suspicion d'épidémie de rougeole (diagnostic virologique obligatoire chez une dizaine de patients): par la recherche d'IgM spécifiques et **l'isolement et la caractérisation du virus**, dans le laboratoire régional de référence.

3- VIRUS DE LA RUBEOLE

3-1- Généralités

Le virus de la rubéole est l'agent de la rubéole : maladie éruptive survenant habituellement dans l'enfance ; elle est souvent bénigne sauf lorsqu'elle atteint pour **la première fois une femme enceinte durant les 20 premières semaines d'aménorrhées** car le futur enfant peut être infecté *in utero* et naître malformé.

Ainsi, l'intérêt de la rubéole tient au risque de rubéole congénitale et à sa prévention. Nous disposons actuellement de moyens diagnostiques et d'une vaccination efficaces, le seul problème étant de les utiliser correctement. En effet, des erreurs sont souvent faites lors de l'interprétation des sérodiagnostics de la rubéole, notamment chez la femme enceinte.

3-2- Structure du virus

Le virus de la rubéole appartient à la famille des Togaviridae et au genre Rubivirus dont il est le seul membre.

Ce virus possède un ARN génomique et enveloppé.

3-3- Transmission :

-L'homme est le seul hôte naturel de ce virus.

- Le virus de la rubéole se transmet par voie respiratoire à l'occasion de contacts inter-humains rapprochés. Le virus est présent dans la gorge environ 5 à 8 jours avant et 5 à 8 jours après l'apparition de l'éruption, ce qui délimite la période de contagiosité.
- La transmission mère-enfant se fait par la voie hématogène transplacentaire à l'occasion d'une virémie maternelle (donc au cours d'une primo-infection).

3-4- Pathogénie

3-4-1- Rubéole de l'enfant et de l'adulte

- Primo-infection

Après inhalation, le virus de la rubéole se multiplie au niveau de la muqueuse respiratoire et des ganglions cervicaux d'où il gagne la circulation générale.

La virémie est détectable en général sept jours avant l'éruption.

Les polyadénopathies correspondent à des sites de multiplication secondaires du virus. L'éruption apparaît après une incubation d'en moyenne 16 jours (12 à 23 jours) en même temps que ou quelques jours avant (1 à 5 jours) la production d'anticorps.

La primo-infection rubéolique guérit en laissant une **immunité durable**; cependant, les réinfections ne sont pas exclues.

A noter que la primoinfection peut être asymptomatique dans 50% des cas.

- Réinfection

La majorité des réinfections sont **inapparentes, limitées à l'oropharynx** (absence de virémie) et **sans risque pour le fœtus**.

3-4-2- Rubéole congénitale

Elle correspond à une atteinte fœtale lors d'une **primo-infection** maternelle dans les **20 premières semaines** de la grossesse. A l'occasion de la virémie chez la mère, le virus peut traverser la barrière placentaire.

En se multipliant dans les tissus du futur enfant, le virus va provoquer des dégâts considérables, d'autant plus importants et visibles à la naissance que l'infection est plus précoce durant la grossesse.

C'est ainsi qu'une primo-infection au cours du premier trimestre de la grossesse peut aboutir à une **embryopathie** avec des malformations faites essentiellement de *cardiopathie, cataracte, microcéphalie* et *surdité*.

Très souvent, à l'embryopathie fait suite une infection chronique du fœtus= **fœtopathie**, le virus continuant à se multiplier pendant toute la grossesse.

Après la 10^{ème} semaine de grossesse, le risque de malformation diminue sensiblement mais persiste encore jusqu'à la 20^{ème} semaine où tout danger paraît écarté, la transmission étant possible durant toute la grossesse). Cependant, même normal à la naissance, l'enfant pourrait avoir une excrétion de virus, donc constituer une source de contamination.

3-5- Diagnostic virologique

Le **diagnostic de la rubéole n'est pas clinique** (en raison du caractère trompeur de la clinique). C'est un diagnostic de laboratoire, qui s'impose notamment dans les situations suivantes (**indications**) :

- formes atypiques et formes graves
- la survenue d'une éruption maculeuse, papuleuse voire purpurique chez une **femme enceinte** ou dans **son entourage**.
- la suspicion de rubéole congénitale (soit au cours de la grossesse devant des signes échographiques évocateurs ou avortement, ou à la naissance).
- établissement du statut immunitaire (ex : en pré-nuptial).
- dépistage d'une éventuelle rubéole asymptomatique au cours de la grossesse.

3-5-1- Diagnostic par mise en évidence directe du virus

La culture cellulaire a laissé place aux techniques moléculaires.

- Détection du génome viral par RT PCR

-Cet examen se fait sur le liquide amniotique obtenu par amniocentèse pour le **diagnostic anténatal** d'une éventuelle rubéole congénitale.

Il peut se faire à partir de prélèvements de produits d'interruption de grossesse ou d'avortement, des débris ovulaires ou de placenta.

-Il se fait aussi sur le liquide céphalorachidien devant une encéphalite rubéolique.

-Il se fait rarement à partir de la salive et permet ainsi un diagnostic précoce.

3-5-2- Le diagnostic sérologique

C'est en pratique, l'examen qui permet de faire le diagnostic d'une infection rubéolique, de préciser s'il s'agit d'une primo-infection ou d'une réinfection.

Les moyens de diagnostic sérologique :

Ce diagnostic repose actuellement sur les méthodes immunoenzymatiques (ELISA) ou de chimiluminescence pour la détection quantitative des IgG et qualitative des IgM.

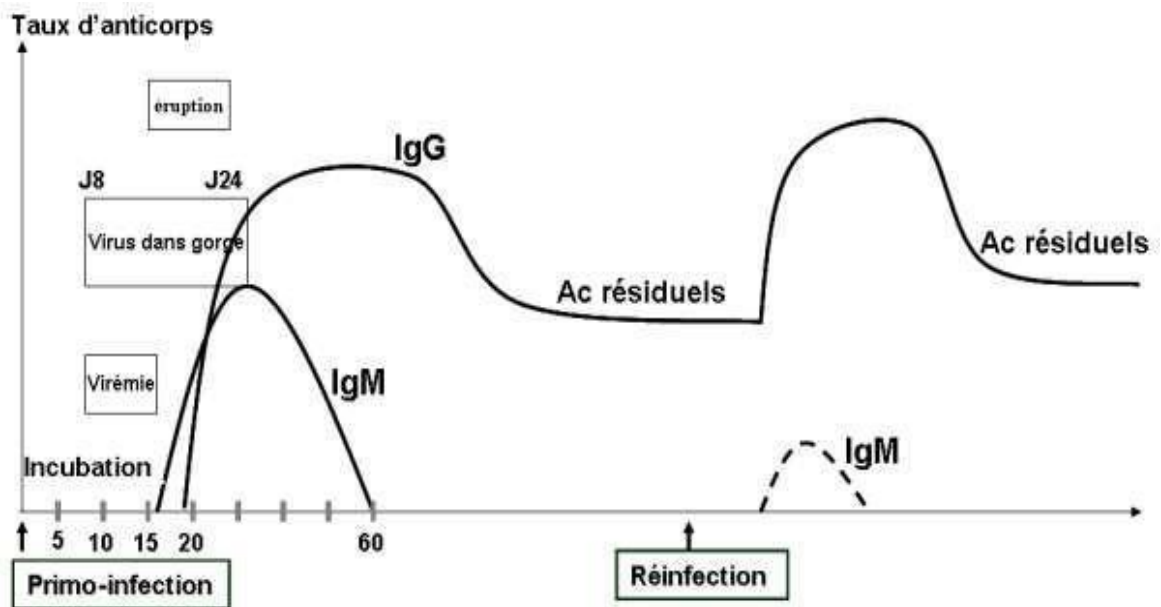
- La cinétique des anticorps rubéoliques :

Les IgM rubéoliques apparaissent au moment de l'éruption (ou plus souvent 3 à 5 jours après le début de l'éruption) et disparaissent en général en trois à huit semaines (40 jours en moyenne). Les IgG rubéoliques apparaissent plus tardivement et atteignent un plateau en un temps variable selon les sujets (trois

jours à trois semaines). Un taux stable d'anticorps n'exclut donc pas une primo-infection rubéolique récente.

Le titre maximal des IgG au plateau ainsi que le titre résiduel sont extrêmement variables. Il faut insister sur le fait qu'un titre élevé d'anticorps n'est pas en soi un marqueur de primo-infection récente.

Lors d'une réinfection, les IgG augmentent rapidement; les IgM peuvent dans certains cas réapparaître.



- Démarche du diagnostic et interprétation:

*** Recherche quantitative des IgG rubéoliques**

Il faut examiner simultanément deux sérums, précoce et tardif, pour déceler une séroconversion en faveur d'une primo-infection récente ou une élévation significative du titre des anticorps en rapport soit avec une primo-infection ou une réinfection.

La présence d'IgG à un taux stable est en faveur d'une immunité ancienne soit naturelle soit post vaccinale.

*** Recherche des IgM rubéoliques**

La détection d'IgM rubéoliques signe le plus souvent la primo-infection. Cependant les IgM peuvent réapparaître lors des réinfections ou dans d'autres circonstances (infections virales ou non (réactions croisées), pathologies immunologiques,...).

Cet examen a des indications limitées mais impératives :

- la distinction chez une femme enceinte, entre d'une part, primo-infection inapparente, dangereuse pour l'enfant et d'autre part, réinfection, en principe sans danger.
- le retard à l'examen d'une femme enceinte victime d'une éruption ou d'un contagé suspect et présentant un titre d'anticorps rubéoliques notable et en plateau.
- le diagnostic de rubéole congénitale chez le nouveau-né.

*** Détermination de l'avidité des IgG rubéoliques**

Enfin, dans certaines situations, on mesure l'avidité des IgG rubéoliques : en effet, les IgG rubéoliques secrétées lors de la primo-infection ont une avidité faible mesurée par un index d'avidité faible ($< 50 \%$) tandis que les IgG rubéoliques résiduelles ou secrétées lors d'une réinfection ont un index d'avidité élevé ($> 75 \%$).

Ainsi, cet examen permet de faire la différence entre une primo-infection récente datant de moins de deux mois (avidité faible) des autres situations (réinfection, stimulation polyclonale du système immunitaire...) au cours desquelles des IgM peuvent être détectées (avidité forte).

*** Cas particulier des femmes en âge de procréer ou enceintes :**

-Pour les femmes en âge de procréer, il faut d'abord déterminer le statut immunitaire vis à vis du virus rubéolique (recherche d'IgG sur un seul sérum) ***avant la première grossesse***, sachant qu'en Tunisie, cette détermination est recommandée en pré-nuptial: si des anticorps spécifiques sont présents attestant d'une immunité, la surveillance ultérieure au cours des grossesses devient inutile. Si la sérologie est négative, on vaccine la femme en proposant une contraception un mois avant et deux mois après l'injection du vaccin.

- Si la sérologie n'a pas été réalisée avant la grossesse, elle sera alors demandée au début de la grossesse. Selon les laboratoires, la démarche consiste à rechercher soit les IgG sur deux sérums, ou les IgG et IgM sur un seul sérum. Si la sérologie s'avère négative, des contrôles sérologiques seront réalisés tous les mois jusqu'à 20 semaines d'aménorrhée. Si la femme reste séronégative, on la vaccine en post-partum immédiat.

- Si une rubéole a été diagnostiquée chez une femme enceinte au cours des 20 premières semaines de grossesse, une interruption thérapeutique de la grossesse est indiquée.

4- PARVOVIRUS B19

4-1-Structure

Virus à ADN, nus.

4-2-Tropisme

Le Parvovirus B19 se fixe sur l'antigène P de l'érythrocyte ce qui explique son tropisme pour les précurseurs des érythrocytes dont il entraîne la LYSE 24 à 48h après l'infection. Les individus qui sont génétiquement dépourvus de l'antigène P sont résistants à l'infection.

4-3-Epidémiologie

Ce virus est **largement répandu dans le monde**.

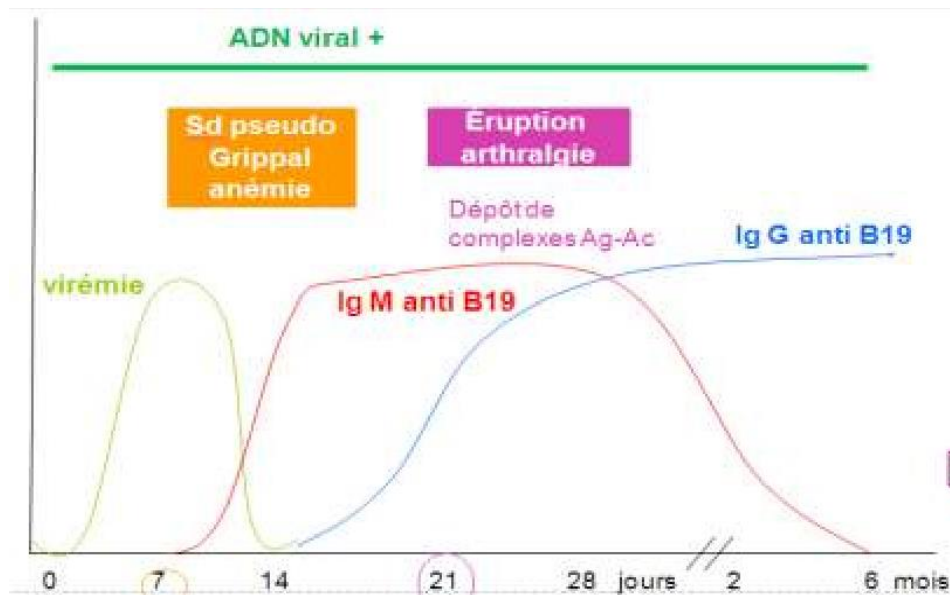
Transmission : essentiellement par voie respiratoire, rarement par voie sanguine. Les infections à B19 évoluent par épidémies survenant en fin d'hiver et au début du printemps. La primo-infection est plus fréquente chez l'enfant entre 6 et 10 ans mais, elle est courante aussi chez les adultes jeunes et en particulier chez les femmes de 20 à 30 ans.

Transmission mère –enfant au cours de la grossesse par voie transplacentaire.

4-4-Pouvoir Pathogène

Le virus rentre par voie respiratoire (ou sanguine). En 1 semaine, la détection du virus dans le sang ou virémie est intense et est contemporaine de la lyse des précurseurs érythroïdes médullaires. Les anticorps, IgM puis IgG, apparaissent dans les 2-3 jours après la fin de la virémie.

L'infection est généralement peu ou pas symptomatique. Lorsqu'ils existent, les symptômes sont liés soit à la **virémie** (lyse des précurseurs érythroïdes d'où **anémie**), soit à l'apparition des **anticorps avec dépôts d'immuns complexes** dans l'endothélium (**éruption cutanée**) ou dans les articulations (**arthrites**).



4-5-Diagnostic virologique basé sur :

Sérologie : c'est la technique de choix pour le diagnostic de l'infection à Parvovirus B19 ; la détection d'IgM(+) témoigne d'une primo-infection récente. La présence d'IgG sans IgM est en faveur d'une infection ancienne.

PCR : cette méthode est utile surtout :

- pour le diagnostic prénatal de l'infection chez le fœtus par la recherche du virus dans le liquide amniotique ou le sang fœtal.
- pour le diagnostic des infections chroniques chez les immunodéprimés, par la recherche de virémie.

Evaluation formative

- 1- Décrire la transmission de la rougeole.
- 2- Interpréter les sérologies rubéoliques réalisées sur 2 sérums à 15 jours d'intervalle chez chacune de ces 3 patientes :

	Sérum 1	Sérum 2
Patiente n°1	< 10	640
Patiente n°2	80	640
Patiente n°3	80	80

- 3- Préciser la cellule cible du parvovirus B19.

LES VIRUS RESPIRATOIRES

Objectifs :

- 1- Connaître les principaux virus responsables d'infections respiratoires localisées.
- 2- Décrire la transmission des virus respiratoires.
- 3- Comprendre la pathogénie des viroses respiratoires.
- 4- Indiquer le diagnostic virologique de l'infection par ces virus.
- 5- Réaliser le prélèvement adéquat pour le diagnostic virologique.
- 6- Citer les méthodes de diagnostic virologique pour déterminer l'étiologie virale.
- 7- Préciser la structure du virus de la grippe et son impact sur le pouvoir pathogène et le diagnostic virologique.
- 8- Comprendre les variations antigéniques du virus grippal et leurs conséquences sur l'épidémiologie de la grippe et sur la vaccination.
- 9- Connaître les particularités des Adénovirus et du virus respiratoire syncytial.
- 10- Connaître les particularités du SARS-CoV-2

1- GENERALITES :

Les virus respiratoires sont les virus qui ont pour **organe-cible principal l'arbre respiratoire**. Ils sont ainsi responsables d'infections respiratoires soit limitées aux voies respiratoires supérieures (rhinite, pharyngite, rhinopharyngite, laryngite), ou atteignant les voies respiratoires inférieures et plus rarement le parenchyme pulmonaire (bronchite, bronchiolite, pneumonie).

Ces infections (**viroses respiratoires**) surviennent habituellement tôt dans l'enfance et durant la saison froide et humide.

La plupart des infections à virus respiratoires (ou infections respiratoires virales : IRV) **sont des « infections localisées »**, c'est à dire établies au niveau de la muqueuse respiratoire et n'allant pas plus loin, de sorte que porte d'entrée et organe cible sont confondus et que l'incubation de la maladie, courte n'est que de quelques jours (en moyenne 2 à 8 jours selon les virus), ce qui favorise une diffusion rapide de l'infection dans la communauté (**une forte contagiosité**).

Les virus responsables d'infections respiratoires localisées appartiennent à différentes familles, et on distingue **les virus respiratoires « classiques »** : (les virus de la grippe ou virus influenza, les virus para-influenza, le virus respiratoire syncytial ou VRS, les coronavirus humains (HCoV), les rhinovirus, et les adénovirus) et les **« nouveaux » virus respiratoires** ou virus **émergents** : (métapneumovirus, SARS CoV, Henipavirus, Hantavirus, virus grippaux émergents chez l'homme ex : H1N1 pandémique, H5N1)

D'autres virus, n'ont pas un tropisme respiratoire prédominant, mais sont susceptibles de provoquer de graves pneumopathies, dans le cadre d'une

infection généralisée tels que le cytomégalovirus, le virus de la varicelle et du zona ou le virus de la rougeole.

Pour d'autres virus, le système respiratoire supérieur (Rhinopharynx) constitue uniquement une porte d'entrée (ex : EBV, virus de la Rubéole, virus des oreillons, virus de la rougeole,...).

2- PRINCIPAUX VIRUS EN CAUSE :

Nous étudierons ici les virus de la grippe ou virus influenza, les virus parainfluenza, le virus respiratoire syncytial ou VRS, les coronavirus, les rhinovirus, les adénovirus et les bocavirus.

A l'exception des adénovirus et des bocavirus (virus à ADN, nus) et des rhinovirus (virus à ARN nus), il s'agit de virus à ARN pourvus d'une enveloppe (tableau1).

Tableau 1 : Propriétés structurales des principaux virus en cause

Virus	Famille	Enveloppe	Génome	Sous-types
Rhinovirus	Picornaviridae	non	ARN	>100
Entérovirus			ARN	>70
Virus de la grippe	Orthomyxoviridae	oui	8 ARN	A, B, C
Virus respiratoire syncytial	Paramyxoviridae	oui	ARN	A, B
Virus parainfluenza			ARN	4
Métapneumovirus humain*			ARN	2
Adénovirus	Adenoviridae	non	ADN	>50
Coronavirus humains : - HCoV-229E - HCoV-OC43 - HCoV-SARS* - HCoV-NL63* - HCoV-HKU1*	Coronaviridae	oui	ARN	5
Bocavirus*	Parvoviridae	non	ADN	4

* : Nouveaux virus

3- EPIDEMIOLOGIE :

3-1- Transmission :

La transmission peut se faire par :

-*Gouttelettes ou aérosols* : Projetés par la personne infectée **symptomatique ou non** (période d'incubation et formes asymptomatiques) lorsqu'elle **tousse, éternue** ou **parle**, généralement à l'intérieur de deux mètres (pour les gouttelettes) ou plusieurs mètres de la personne infectée (pour les aérosols).

-*Contact* : soit par contact direct avec une personne infectée ou ses sécrétions. Soit par contact indirect avec un objet contaminé et une auto inoculation via la muqueuse du **nez** ou des yeux. Le risque de transmission via la muqueuse de la bouche est moindre.

La contagiosité persiste jusqu'à la disparition des symptômes. Ainsi la durée des précautions contre la transmission s'étale jusqu'à 5 jours après le début des symptômes ou jusqu'à 24 heures après la résolution des symptômes respiratoires selon la plus longue des deux éventualités.

A part quelques uns, la plupart de ces virus sont sensibles et détruits rapidement dans le milieu extérieur (quelques heures). Voir annexe page 17

3-2 - Caractéristiques épidémiologiques

Tableau 2 : Caractéristiques épidémiologiques

Virus	Caractéristiques épidémiologiques
Rhinovirus	-Tous les âges -Circule toute l'année avec 2 pics saisonniers : automne et printemps -3ème rang des infections virales respiratoires (IVR) -1^{er} rang des rhinites
Entérovirus	-Enfants < 1 an les + touchés -Evolution toute l'année avec un pic épidémique entre mai et octobre
Virus de la grippe	-Epidémies hivernales : (GA et GB) -Pandémies (GA) tous les 10 à 30 ans -2ème rang des IVR (chez l'adulte)
Virus respiratoire syncytial	-Acquisition précoce : 90 % à 2 ans, pic 2-6 mois -Epidémies hivernales (fin automne jusqu'au début du printemps) -Contagiosité et manuportage +++ (infections nosocomiales fréquentes) -Réinfections fréquentes -1er rang des bronchiolites du nourrisson
Virus parainfluenza	-PIV-1 et 2 : Petites épidémies automnales (2-3 ans, Peu fréquents)

	-PIV-3 : Epidémies fréquentes au printemps et en été Possibles réinfections -PIV-4 : Epidémiologie mal connue
Métapneumovirus	-Contamination précoce (5-10 ans) -Epidémies hivernales (novembre à mars, pic décembre-janvier)
Adénovirus	-Circule toute l'année avec recrudescence saisonnière (fin de l'hiver - début du printemps) -Sérotypes endémiques : 1, 2, 5, 6 -Sérotypes épidémiques : 7, 14, 21, 4 -Co-infections fréquentes
Coronavirus	-Contamination précoce (100 % à 5 ans) -Epidémies entre janvier et mai (pic en février)
Bocavirus	-Acquisition précoce (< 2 ans, pic 12 mois, rare < 6 mois) -Circule toute l'année avec un pic en hiver et au début du printemps -Co-infections fréquentes

4- PATHOGENIE :

L'infection virale respiratoire non compliquée évolue schématiquement en 3 phases dont la durée varie selon les virus :

-Une phase initiale de réplication virale intense très courte d'environ 72 heures : les virus se répliquent dans l'épithélium de surface, ils se propagent de proche en proche à partir des voies respiratoires supérieures vers les voies respiratoires inférieures pour atteindre les bronchioles. L'atteinte virale du parenchyme pulmonaire est inconstante et dépend surtout de la nature du virus en cause. Pendant cette phase les symptômes principaux (fièvre, asthénie) sont accompagnés de signes inflammatoires des voies respiratoires hautes.

-Une phase immuno-inflammatoire d'une durée variant habituellement de 7 à 10 jours : la réplication virale entraîne une destruction de l'épithélium de surface par nécrose qui s'accompagne d'une cascade de lésions inflammatoires complexes avec une hyperémie constituant un point d'appel pour une surinfection bactérienne aboutissant à des dommages de la paroi bronchique.

L'intensité des dommages induits par les virus et leurs conséquences immuno-inflammatoires peuvent menacer le pronostic vital, soit en raison du **potentiel**

malin de certaines souches virales, soit en raison du **terrain fragilisé** sur lequel survient l'infection.

-Une phase de réparation d'environ 3 semaines : cette réparation aboutit en règle, à une restitution *ad integrum* de la muqueuse respiratoire. Toutefois, il est possible d'observer des lésions cicatricielles bronchiques ou bronchiolaires qui sont à l'origine de conséquences respiratoires à long terme.

Syndrome clinique respiratoire :

Les signes cliniques sont témoins de l'agression de la muqueuse respiratoire et ils dépendent du niveau de diffusion des virus (dysphagie, toux, rhinites, laryngite,...) (tableau 3).

Tableau 3 : Syndromes cliniques respiratoires selon les virus

Syndrome viraux respiratoires	Principaux virus en cause
Rhinopharyngite	Rhinovirus, coronavirus, VRS, virus influenza A et B, virus parainfluenza
Angine	Adénovirus, entérovirus, Rhinovirus
Otite	VRS, Adénovirus
Laryngotrachéite	Virus parainfluenza, virus influenza, VRS, coronavirus
Bronchite	VRS, virus influenza, virus parainfluenza
Bronchiolite	VRS
Pneumonie	VRS, virus influenza, virus parainfluenza, Adénovirus

Cependant, en plus de son site préférentiel, chacun de ces virus peut accessoirement toucher n'importe quel étage de l'appareil respiratoire.

L'IRV peut aussi être asymptomatique.

5- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

5-1- Indications et intérêt du diagnostic étiologique des infections respiratoires virales :

Les infections respiratoires virales sont généralement diagnostiquées cliniquement sur la base des symptômes et de l'épidémiologie locale. Cependant dans certaines situations : malades hospitalisés, formes compliquées ou terrains particuliers, l'identification de l'agent pathogène spécifique devient nécessaire.

Ainsi, le diagnostic virologique :

- permet d'établir un diagnostic étiologique : en effet les signes cliniques ne sont pas spécifiques, ne permettent pas de connaître le virus en cause.
 - proposer les molécules antivirales spécifiques (disponibles notamment pour les virus grippaux).
 - éviter l'utilisation inutile des antibiotiques.
 - réduire la durée d'hospitalisation.
 - isolement des patients infectés (lutte contre les infections secondaires communautaires ou nosocomiales)
 - détecter les coinfections
 - surveillance épidémiologique de ces infections (notamment la grippe) (émergence de nouveaux virus)
 - évaluer l'efficacité vaccinale (vaccin anti-grippe)
- ⇒ Meilleure prise en charge des patients.

5-2- Diagnostic direct

5-2-1- Prélèvements :

Doivent être faits avant tout traitement et le plus tôt possible après le début clinique (< 4 jours).

Il s'agit de prélèvement de sécrétions respiratoires :

-essentiellement aspiration (prélèvement de choix chez les nourrissons) ou écouvillonnage (nourrissons, enfants, adultes) des sécrétions nasales ou nasopharyngées (figure 1)

-mais aussi crachats : les expectorations sont ramenées après un effort de toux (réservé à l'adulte).

-liquide de LBA (lavage broncho-alvéolaire) : se fait en milieu spécialisé.

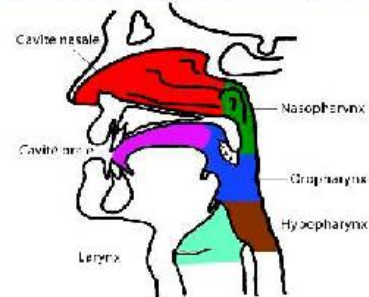
Le prélèvement doit être mis dans un milieu de transport et acheminé le plus rapidement possible au laboratoire.

Attention : le prélèvement de gorge ne constitue pas l'examen de choix pour les infections respiratoires.

5-2-2- Procédure du prélèvement nasopharyngé par écouvillon nasal

Matériel nécessaire :

- Équipement de protection individuelle
- Écouvillon flexible stérile
- Tube de milieu de transport virologique (VTM)



Procédure :

1

Étiqueter le tube du milieu de transport virologique pour éviter une erreur d'identification



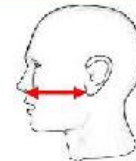
2

Prendre le temps de se laver les mains et porter l'équipement de protection individuelle : blouse, masque, gants, lunette ...



3

Tout en parlant avec le patient pour le rassurer, mesurer la distance (d) allant de la base du nez jusqu'au lobe de l'oreille homolatérale. La profondeur à atteindre par l'écouvillon sera la moitié de cette distance (d/2).



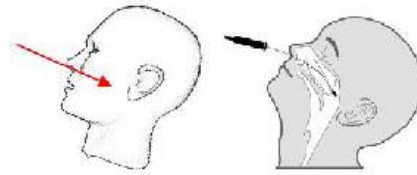
4

A l'aide d'un marqueur, marquer sur l'écouvillon la moitié de la distance mesurée.



5

Incliner légèrement la tête du patient vers l'arrière et insérer l'écouvillon par une narine jusqu'à la zone marquée en tournant la tige à droite et à gauche plusieurs fois pour recueillir le maximum de cellules infectées. Répéter la procédure par l'autre narine si nécessaire.



6

Tenir la tige de l'écouvillon à proximité de l'extrémité supérieure du tube du milieu de transport virologique. Casser la tige en laissant le bout de l'écouvillon plongé dans le liquide et bien fermer le tube.



<http://www.santetunisie.rns.tn/images/docs/anis/guidegripf6102016.pdf>

Il est important que l'examineur prenne les mesures nécessaires pour se protéger (port des gants, masque respiratoire, blouse et lunettes de protection).

5-2-3- Méthodes :

Le diagnostic est presque toujours **direct** : il existe plusieurs techniques utilisées dans le cadre de ce diagnostic. Les méthodes conventionnelles sont en général longues (culture) ou manquent de sensibilité (IF) par rapport aux techniques de biologie moléculaire qui se sont développées de manière importante depuis plusieurs années.

Culture cellulaire :

Il est difficile d'employer la culture comme technique de routine car elle est longue, fastidieuse et relativement coûteuse. Cependant, elle garde son intérêt pour le diagnostic des infections à virus facilement cultivables et elle est irremplaçable pour l'isolement du virus sous sa forme infectieuse.

En plus de son intérêt pour le diagnostic étiologique du syndrome grippal, la culture précise le sous-type ou le variant en cause.

Tests de détection rapide des antigènes viraux :

Les TDR peuvent être réalisés directement à partir des prélèvements respiratoires (écouvillons sur milieu de transport, aspirations).

La sensibilité de ces tests est inférieure à celle de la culture et surtout à celle des techniques de biologie moléculaire. Ainsi, un test négatif n'exclut pas une infection.

Ces tests rapides sont disponibles pour : les virus de la grippe A et B, le VRS, le SARS-CoV-2 et le Métapneumovirus.

Immunofluorescence :

L'immunofluorescence (IF) permet la détection d'antigènes viraux intracellulaires. Il s'agit d'une technique simple et rapide qui ne nécessite pas le maintien de l'infectiosité du virus mais nécessite *un prélèvement riche en cellules et n'ayant pas été congelé auparavant*. Cette technique est très utilisée, notamment pour la détection des virus respiratoires (virus influenza A et B, virus para-influenza 1, 2 et 3, adénovirus, VRS, hMPV). La sensibilité de la technique reste inférieure à celle de la culture cellulaire.

Tests ELISA :

Permettent la détection d'antigènes viraux, mais sont peu utilisés.

Les tests moléculaires

Les techniques sus-citées sont limitées en termes de sensibilité et sont limitées à certains virus, d'où elles sont supplantées aujourd'hui par les techniques de biologie moléculaire beaucoup plus sensibles et permettant d'identifier un grand nombre de virus.

En plus des tests de PCR « classique » et les tests de PCR en temps réel (offrant une meilleure sensibilité), il existe des PCR dites « **multiplex** » permettant de détecter plusieurs agents infectieux à la fois et aussi de détecter les co-infections. Il existe de plus en plus de trousse commerciales de PCR « multiplex » qui dans le cadre de l'approche syndromique permettent, sur un seul prélèvement respiratoire de rechercher plusieurs virus et/ou bactéries et/ou parasites simultanément.

5-3-Diagnostic indirect

La sérologie est de moindre intérêt, elle nécessite un sérum très précoce et un sérum prélevé 15 jours plus tard, le diagnostic sera ainsi rétrospectif après guérison. Elle garde un intérêt dans les études épidémiologiques.

6- EXEMPLE DE VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE :

6-1- Particularités des virus grippaux (ou *Virus influenza*)

Ces virus sont répartis en types A, B et C :

- les types B et C infectent principalement l'homme mais aussi quelques animaux.
- les virus de la grippe A infectent l'homme et plusieurs espèces de mammifères marins (baleines...) et terrestres, et surtout les espèces aviaires (poulets, canards, cailles...).

Seuls les virus de type A et B sont à l'origine des épidémies annuelles de grippe.

Le type C semble d'une importance très secondaire en pathologie humaine.

Les virus de la grippe ont tous la propriété de se modifier : ces variations antigéniques sont à l'origine des **sous-types** et des **variants** et jouent un rôle important d'un point de vue épidémiologique.

Ces virus sont responsables de la **GRIPPE**, très contagieuse évoluant sous forme d'épidémies qui diffusent rapidement dans la population.

L'atteinte respiratoire s'accompagne de signes systémiques. Bénigne le plus souvent, elle peut devenir grave, chez les personnes fragilisées (sujets âgés, sujets insuffisants respiratoires, femme enceinte,...)

La grippe peut être prévenue par la vaccination.

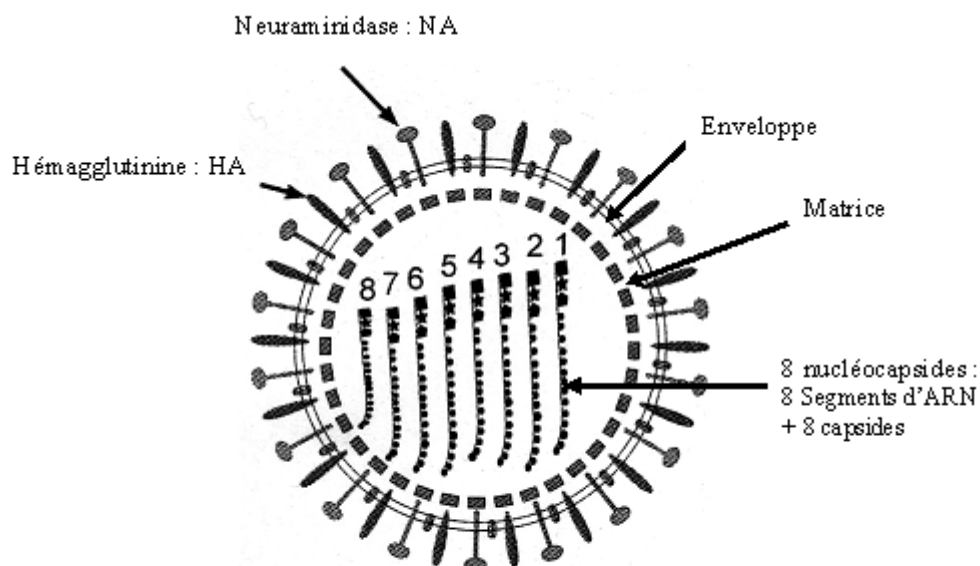
6-1-1- Structure du virus

-ARN monocaténaire fragmenté en 8 segments (virus de la grippe A et B) ou 7 (virus de la grippe C) : possibilité de recombinaisons des segments d'ARN de 2 virus grippaux différents ® nouveaux variants

- Capside à symétrie hélicoïdale

- Matrice = couche protéique interne (protéine M)

- Virus enveloppé (fragile) avec des glycoprotéines à la surface (Neuraminidase et Hémagglutinine) (figure 2).



Représentation schématique du virus de la grippe

6-1-2- Antigènes du virus

-Antigènes internes : localisés au niveau de la capside et de la matrice.

Ces antigènes sont stables et permettent de définir les types A, B ou C.

Les anticorps dirigés contre ces antigènes ne sont pas protecteurs.

-Antigènes externes = Hémagglutinine (HA ou H) et Neuraminidase (NA ou N) : insérés dans l'enveloppe (= glycoprotéines de surface).

HA et NA permettent de classer le virus de la grippe A en sous types : ainsi 18 sous types de HA et 11 sous types de NA sont décrits.

C'est par l'hémagglutinine que le virion s'attache spécifiquement à la surface d'une cellule possédant le récepteur mucoprotéique approprié.

Cette protéine est capable d'agglutiner les hématies de différentes espèces de mammifères et d'oiseaux (cette propriété est mise à profit pour le diagnostic). Les Ac anti-HA neutralisent le virus et protègent donc l'individu. Ils sont spécifiques du sous-type ou même du variant.

La neuraminidase diminue la viscosité du film muqueux protégeant les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur et met ainsi à nu les récepteurs cellulaires et permet donc l'infection. Elle permet également la libération des nouveaux virions à la fin du cycle de multiplication du virus infectant. Elles sont aussi spécifiques du sous-type ou même du variant.

6-1-3- Variabilité génétique

Elle représente une des caractéristiques importantes des virus de la grippe qui leur offre la faculté de s'adapter à des facteurs de pression comme le système immunitaire ou les médicaments antiviraux éventuellement prescrits.

Ce changement génétique peut être mineur ou majeur et provoque des variations antigéniques de HA ou de NA qui apparaissent continuellement au cours du passage du virus dans la population humaine ou animale. Il existe 2 types de variation : la cassure et le glissement.

-**Le glissement antigénique** (Drift) apparaît comme une modification progressive de l'hémagglutinine et/ou de la neuraminidase par des mutations ponctuelles. C'est le résultat de mutations sélectionnées par l'immunité de la population sensible assurant une circulation continue du virus malgré l'immunisation des sujets infectés. Cette variation intéresse aussi bien le type A

que B. Ce type de variation entraîne l'émergence de nouvelles souches au sein des sous-types, avec conservation d'une communauté antigénique avec les souches précédentes d'où une immunité croisée (conservation d'une immunité partielle). Ainsi, la diffusion sera limitée et seules des épidémies auront lieu. Ceci nécessite épisodiquement la mise à jour des souches de virus grippaux composant le vaccin.

-La cassure antigénique (Shift) : les virus Influenza de type A peuvent également subir un changement brutal et complet de HA, associé ou non à un changement complet de NA. Il émerge un nouveau virus influenza de type A portant soit une protéine HA ou une combinaison de protéines H et N n'ayant pas circulé chez les humains au cours des dernières années. Personne n'est donc immunisé contre ce nouveau sous-type antigénique et il se développe une pandémie de grippe (ex : pandémie de 1918, 1957, 1968, 2009).

Il y a au moins trois mécanismes possibles par lesquels la cassure antigénique peut survenir :

1. Un virus portant de nouvelles protéines HA et NA peut résulter du réassortiment génétique des virus de la grippe humaine et non humaine;
2. Un virus de la grippe d'origine animale (ex. aviaire ou porcine) peut infecter un être humain directement sans subir de réassortiment génétique;
3. Un virus non humain peut être transmis d'un animal (ex. oiseaux) à travers un hôte intermédiaire (ex. porc) pour infecter les humains.

6-1-4- Surveillance épidémiologique

Réseau national de surveillance :

En Tunisie, un système de surveillance sentinelle saisonnier a été mis en place en 1999. Il est constitué de centres dépendants de la Direction des Soins de Santé de Base (DSSB) et répartis sur tous les gouvernorats avec un laboratoire de référence national : l'Unité de Virologie du Laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Charles Nicolle à Tunis.

La surveillance clinique, épidémiologique (taux de consultation dans les centres sentinelles de soins primaires pour un syndrome grippal) et virologique (détections des virus grippaux en circulation) de la grippe saisonnière débute le

1er Octobre de chaque année (semaine 40) et se termine à la fin du mois d'Avril de l'année qui suit (semaine 19).

Des centres sentinelles pour la surveillance d'infections respiratoires aiguës sévères (SARI) ont été également désignés.

Réseau international de surveillance et Système d'information électronique:

Voir annexe page 17 et 18.

6-1-5- La grippe aviaire chez l'homme :

La grippe aviaire A (H5N1) s'est initialement déclenchée à Hong-Kong en 1997 (18 cas humains avec 6 décès). Une nouvelle épidémie a débuté en Asie en 2004 puis s'est propagée en Europe et en Afrique.

Depuis mars 2013, émergence en Chine de plusieurs dizaines de cas humains de grippe aviaire de type A (H7N9) dont plusieurs décès (mortalité > 30%).

La grippe aviaire peut toucher presque tous les oiseaux sauvages et domestiques et se transmet chez ces derniers par voie digestive.

Les sous-types les plus pathogènes chez les volailles sont H5 et H7.

La maladie peut entraîner une mortalité élevée chez les volailles, mais peut être asymptomatique (en particulier chez le canard).

La transmission à l'homme se fait par voie aérienne et nécessite un contact rapproché et direct avec des volailles infectées (vivantes ou décédées) ou des surfaces et des objets contaminés par leurs déjections. La transmission interhumaine reste très limitée.

Différents degrés d'atteinte clinique existent, mais les formes graves sont fréquentes.

6-1-6- La grippe H1N1:

Elle est provoquée chez l'homme par un nouveau virus grippal. Ce virus est génétiquement relié à des virus grippaux ayant circulé chez le porc. Il s'agit d'un virus réassortant contenant des gènes qui proviennent de plusieurs virus connus d'origine porcine, aviaire et humaine.

Le virus A H1N1 a été détecté pour la première fois au mois d'avril 2009 en Californie (Etats-Unis). Peu après, il a été reconnu comme étant responsable de l'épidémie d'infections respiratoires survenue au Mexique au mois de Mars. Ce virus s'est rapidement propagé dans plusieurs pays de différents continents et le 11 juin 2009, il a été considéré par l'OMS responsable d'une pandémie.

La transmission d'homme à homme de ce virus se fait par voie aérienne. Les symptômes sont similaires à ceux de la grippe saisonnière mais avec une fréquence plus élevée de signes digestifs (vomissements et diarrhée).

Au niveau mondial, la mortalité est faible et concerne essentiellement les personnes affaiblies mais également des jeunes par ailleurs en bonne santé.

Ce virus est sensible aux inhibiteurs de la neuraminidase.

Le vaccin saisonnier utilisé pour la saison 2009-2010 ne protège pas contre ce nouveau virus, d'où l'introduction de cette souche dans le nouveau vaccin.

6-2- Les Adénovirus:

-Les infections à adénovirus sont souvent **asymptomatiques** et très fréquentes chez le jeune enfant. Elles entraînent la production d'anticorps protecteurs contre le sérotype responsable (faible protection croisée entre les sérotypes).

-Les adénovirus sont transmissibles par voie aérienne et leur pouvoir pathogène s'exerce alors principalement sur le tractus respiratoire dont principalement :

- rhinopharyngites aiguës banales
- un syndrome adéno-pharyngo-conjonctival : rhume + toux + conjonctivite
- Otite, voire pneumonies

-Les adénovirus peuvent également pénétrer par voie **digestive** et **oculaire**: ils sont responsables :

- de 10 à 15% des gastro-entérites intestinales de l'enfant : dues aux sérotypes 40 et 41 et
- d'infections oculaires : conjonctivite.

-Le diagnostic virologique se fait par recherche directe du virus :

♦pour les **prélèvements respiratoires ou oculaires** : par culture cellulaire, recherche d'Ag viraux par IFD ou PCR.

♦pour les **selles** : recherche d'Ag viraux par ELISA ou par agglutination de particules de latex, ou PCR.

6-3- Le virus respiratoire syncytial (VRS):

C'est l'agent des fréquentes bronchiolites aiguës du nourrisson, souvent impressionnantes par la dyspnée aiguë.

Caractérisé par la survenue d'épidémies importantes communautaires et nosocomiales.

6-4- Le SARS CoV2 :

Le SARS-CoV-2 appartient à la famille des Coronavirus (CoV), dénomination liée à la « couronne » que forment certaines protéines à la surface de ces virus. Il a été identifié pour la première fois à Wuhan en Chine, en janvier 2020 comme étant la cause de la covid 19.

Plusieurs coronavirus sont déjà connus pour être capables d'infecter les humains :

- ✓ quatre coronavirus saisonniers (NL63, HKU1, 229E, OC43) responsables de symptômes hivernaux sans gravité (rhumes).
- ✓ trois virus ont causé des épidémies mortelles survenues au 21^e siècle:

-le SARS-CoV1 (en 2003) responsable du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) ; ce virus ne circule plus

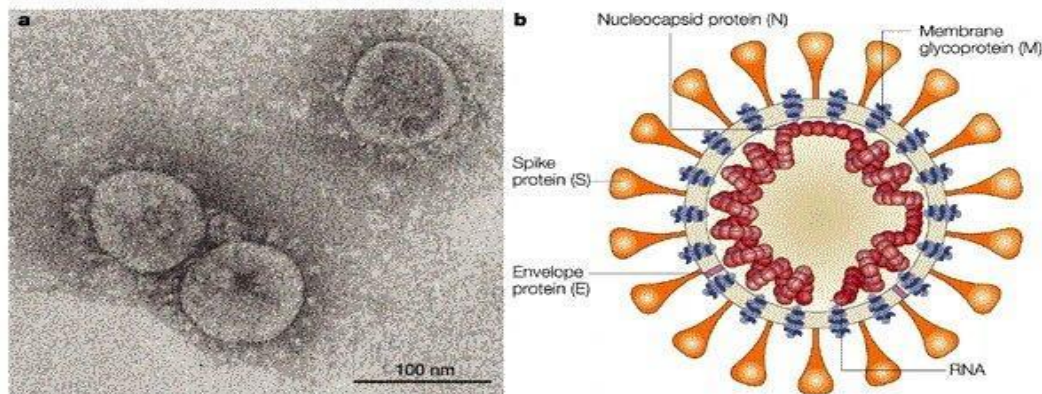
- le MERS-CoV (en 2012) responsable d'une atteinte respiratoire potentiellement sévère (Middle East Respiratory Syndrome) ; ce virus garde une circulation limitée

- le SARS-CoV-2 est responsable de la maladie Covid-19 (CoronaVirus Disease 2019) ; le SARS-CoV-2 s'est propagée dans le monde.

Les coronavirus sont très répandus chez les chauves-souris mais on peut les trouver aussi chez d'autres mammifères comme les humains et les baleines mais aussi chez les oiseaux. Ils ont un potentiel épidémique et de franchissement de barrière d'espèce. Ainsi, ils se transmettent de la chauve-souris à l'homme en général via un hôte intermédiaire : ex le SARS-CoV-1 a pour hôte intermédiaire la civette palmée, et le MERS-CoV a pour hôte intermédiaire des camélidés (comme le chameau).

6-4-1- Structure du virus

Le SARS-CoV-2 est composé d'une nucléocapside faite d'un génome de type ARN entouré d'une capside hélicoïdale formée par des protéines nommées N. Cette nucléocapside est entourée d'une membrane et d'une enveloppe qui sont formées par les protéines structurales E, M, S (spike) et de lipides provenant du bourgeonnement du virion.



Nature Reviews | Microbiology

Au niveau des muqueuses, le coronavirus se fixe et entre dans des cellules grâce à sa protéine spike (S) qui reconnaît la protéine ACE2 (des cellules humaines). Ainsi, l'affinité de la liaison entre la protéine S et le récepteur ACE2 détermine le niveau de la réplication virale et la sévérité de la maladie.

6-4-2- Variabilité génétique

D'une manière générale, les virus à ARN peuvent muter plus facilement que les virus à ADN. Toutefois, comme d'autres coronavirus, le SARS-CoV-2 est plutôt stable car il possède une enzyme qui corrige ces erreurs.

Depuis le début de l'épidémie, de très nombreuses mutations du SARS-CoV-2 ont été décrites dans la littérature. La vaste majorité de ces mutations ne présente aucune caractéristique préoccupante. Toutefois, depuis fin 2020, plusieurs lignées de virus qui présentent un impact démontré sur la santé publique (**augmentation de la transmissibilité, de la gravité de l'infection** ou encore **échappement immunitaire**) sont apparues dans des zones géographiques distinctes puis propagées dans plusieurs pays (variants Alpha puis Bêta puis Gamma puis Delta). Actuellement, c'est le variant omicron qui circule.

6-4-3- Diagnostic virologique

- Direct

Le diagnostic direct est basé essentiellement sur la détection de l'ARN viral dans le prélèvement respiratoire par la RT PCR en temps réel.

La détection d'antigènes spécifiques du SARS-CoV-2 dans les sécrétions des patients peut se faire par ELISA ou surtout par le test de diagnostic rapide (TDR). Ce dernier a une sensibilité de l'ordre de 60% et une spécificité de 99.5%. Il est positif chez les patients présentant une charge virale élevée.

Certains tests rapides antigéniques peuvent également être utilisés comme auto-tests, c'est à dire que la personne fait elle-même le prélèvement et le test à domicile.

- Sérologique

Il existe des trousse permettant la détection soit:

- des Anticorps anti protéine N qui traduisent le contact avec le SARS-CoV-2
- des IgG et IgM anti protéine S du SARS-CoV-2 qui sont neutralisantes et traduisent une immunité anti-SARS-CoV-2.

A la suite d'une infection à SARS-CoV-2, les IgM apparaissent les premières à partir de la 2^{ème} semaine de la maladie suivies des IgG (voir figure ci-dessous).

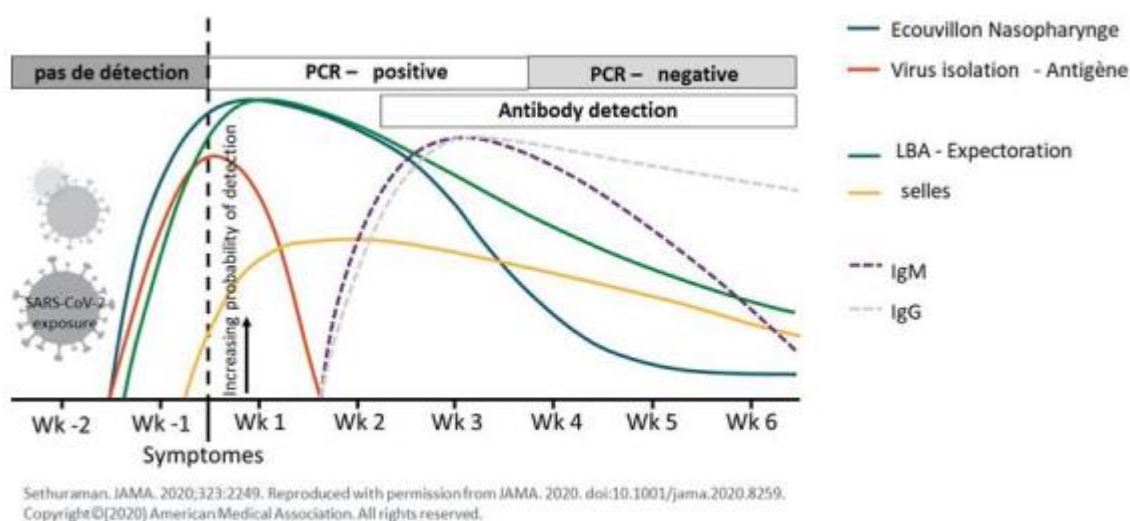
- La détection des IgG anti S sans IgM chez un sujet montre qu'il a déjà été infecté dans ses antécédents et qu'il garde une immunité naturelle ou aussi une immunité post vaccinale. Pour faire la part entre les 2 hypothèses, l'absence des anticorps anti N traduit l'absence de contact avec le virus et donc confirme l'origine post vaccinale des IgG anti S détectées.

En pratique :

-Les tests directs sont les méthodes de choix pour le diagnostic de l'infection dans sa phase précoce.

-Les tests sérologiques avaient un intérêt diagnostique au début de la pandémie pour redresser le diagnostic d'une infection récente (lorsque la PCR est négative ou n'a pas été réalisée) ou après la guérison. Avec l'augmentation du nombre de personnes ayant été infectées par ce virus durant la pandémie,

ces tests ne sont plus utilisés pour le diagnostic. Ils trouvent actuellement leur intérêt pour les études de prévalence du SARS CoV-2 et de l'immunité collective dans une population.



6-4-5- Surveillance des variants

Face à l'émergence et la diffusion mondiale de variants d'intérêt, une surveillance génomique basée notamment sur le séquençage s'est imposée à une échelle nationale et mondiale. Ainsi les séquences produites dans chaque pays sont partagées dans des bases de données internationales.

Le but étant de connaître les virus circulants dans chaque pays et de détecter à temps les nouveaux variants qui peuvent émerger ce qui permet de mettre en œuvre les mesures adaptées au contrôle de leur propagation.

6-4-6- Vaccins

Vaccins conventionnels

- Vaccins à virus inactivé : Il s'agit des vaccins inactivés, qui utilisent des virus qui ont perdu tout pouvoir infectant par procédé physico-chimique
- Vaccins de sous-unité protéique : les vaccins sous-unitaires sont constitués par des protéines S du SARS-CoV-2).

Vaccins non conventionnels

- Vaccins à vecteur viral : ces vaccins utilisent un virus modifié dont une partie du génome a été remplacée par une séquence permettant de

synthétiser la protéine S du SARS-CoV-2. Le vecteur le plus utilisé étant un adénovirus.

- Les vaccins à ARNm ces vaccins utilisent un fragment d'ARN messager codant pour la protéine S, encapsulé dans des nanoparticules de lipide

Evaluation formative

- 1- Citer les méthodes de diagnostic les plus adaptées aux virus respiratoires
- 2- Décrire l'épidémiologie de la grippe.
- 3- Concernant les virus de la grippe A et B :
 - A- le génome de ces virus est de l'ARN segmenté.
 - B- ces virus subissent des variations de leurs antigènes externes.
 - C- ces virus sont responsables de pandémies.
 - D- le diagnostic repose sur la recherche d'anticorps.
 - E- la vaccination contre ces virus est obligatoire chez tous les nourrissons.
- 4- Citer les méthodes de diagnostic d'une infection à adénovirus selon le tableau clinique

ANNEXE (pour en savoir plus)

Tableau : Propriétés physicochimiques des virus

Virus	Résistance dans le milieu extérieur
Rhinovirus	-Peut survivre sur les surfaces inertes (acier, bois, nylon,...) et les tissus (laine, soie) pendant un maximum de 3 heures; sur le coton, les mouchoirs en papier pendant 1 heure au maximum, et dans le mucus nasal pendant une période allant jusqu'à 24 heures. -Les rhinovirus sont sensibles aux désinfectants habituels
Entérovirus	-Peut persister jusqu'à 24 heures sur les surfaces inertes et plusieurs semaines dans un environnement humide.
Virus de la grippe	-Persiste quelques heures dans les sécrétions séchées et jusqu'à 48 heures sur des objets selon les conditions environnementales.
Virus respiratoire syncytial	-Persiste trente minutes sur la peau et plusieurs heures sur les surfaces
Virus parainfluenza	-Le PIV-3 peut survivre jusqu'à 10 heures sur des surfaces non poreuses et 4 heures sur des surfaces poreuses. Le taux de survie sur la peau humaine s'est révélé plus faible; le PIV-3 perd plus de 90 % de son infectiosité dans les 10 premières minutes lorsqu'il est placé sur les doigts.
Métapneumovirus	peut survivre jusqu'à six heures sur des surfaces non poreuses contaminées
Adénovirus	-Très stables dans l'environnement, peuvent survivre de 3 à 8 semaines sur les surfaces contaminées par des sécrétions respiratoires. Ils sont inactivés par un contact de 1 à 2 minutes avec une solution d'eau de Javel 1:5
Coronavirus	-Peut survivre jusqu'à six jours en milieu aqueux et jusqu'à trois heures sur des surfaces inertes sèches
Bocavirus	-Extrêmement stables, résistants aux désinfectants et aux traitements thermiques. Cette propriété peut faciliter la transmission nosocomiale entre les enfants

Réseau international de surveillance de la grippe:

Le système mondial de surveillance de la grippe et de riposte, précédemment connu sous le nom de Réseau mondial de surveillance de la grippe, a été créé par l'OMS en 1952. Les principaux objectifs du système sont : surveiller les changements antigéniques du virus de la grippe afin de guider à la sélection de souches pour le vaccin annuel contre la grippe; et fournir des échantillons de virus pour les utiliser dans la production de vaccins.

Ce réseau de surveillance est composé de plusieurs structures et est organisé comme suit :

* Centres nationaux de référence de la grippe : National Influenza Centres

(NIC) : Actuellement au nombre de 141 centres répartis dans 111 pays. Ce sont des institutions nationales, ayant une activité de virologie, désignées par les ministères nationaux de santé et reconnus par l'OMS. Leur rôle est de :

- Recueillir des échantillons de virus dans leurs pays respectifs.

- Effectuer une analyse préliminaire (détection, typage et sous-typage).

- Expédier des échantillons cliniques représentatifs et l'ARN viral aux centres collaborateurs de l'OMS pour l'analyse et la confirmation génétique et antigénique de pointe.

*Centres collaborateurs de l'OMS (CC OMS) : Ce sont des centres désignés par l'OMS et qui sont responsables de l'analyse des virus de la grippe qui circulent dans la population humaine dans différents pays à travers le monde. Actuellement ils sont au nombre de six localisés à : Melbourne (Australie), Beijing (Chine), Tokyo (Japan), London (Grande Bretagne), Atlanta et Memphis (Etats Unis d'Amérique).

- Laboratoires essentiels de réglementation : Ce sont des laboratoires travaillant en collaboration avec les fabricants de vaccins pour garantir la qualité et la standardisation des vaccins à base de virus vaccinaux choisis et isolés par les CC OMS. Actuellement, ils sont au nombre de quatre localisés à: Woden ACT (Australie), Tokyo (Japan), Hertfordshire (Grande Bretagne) et Rockville (Etats Unis d'Amérique).

- Laboratoires de référence H5 : Ce sont des centres désignés par l'OMS et qui sont référents dans la détection des virus de la grippe aviaire dans le cadre de la préparation à une pandémie de la grippe.

Système d'information électronique :

Plusieurs systèmes d'information électroniques sont disponibles sous la forme d'une base de données (FluNet, FluID). Parmi ces systèmes le FluNet qui est un système d'information géographique lancé en 1997 par l'OMS.

Ce système contribue à la surveillance mondiale en permettant l'accès aux informations relatives à l'activité grippale. C'est un site d'échange d'information qui fait le lien entre les différents centres nationaux de la grippe et les centres collaborateurs.

PARASITO-MYCOLOGIE

ENTOMOLOGIE MEDICALE

Objectif éducationnel

Diagnostiquer les maladies à transmission vectorielles et décrire les différents

Pr Ali Ayadi

1 - DEFINITIONS ET CLASSIFICATION SIMPLIFIEE

Les arthropodes parasites sont des animaux à symétrie bilatérale, à corps métamérisé recouvert d'une cuticule sclérifiée et rigide. Celle-ci joue le rôle d'un squelette externe impliquant une croissance discontinue par mues. On distingue cinq classes : Arachnides, Acariens, Crustacés, Myriapodes, Insectes (tableau 1). Seules les classes des insectes (adulte ayant une tête, un thorax, un abdomen et trois paires de pattes) et des acariens (adulte ayant un corps globuleux non segmenté et quatre paires de pattes) comprennent des vecteurs de maladies, hématophages et/ou des ectoparasites. Certains de ces arthropodes sont vecteurs de maladies virales, bactériennes et parasitaires pouvant être graves.

Tableau 1 Classification des ectoparasites, des maladies induites et la transmission éventuelle d'agents infectieux

Arthropodes	
Classe des Insectes	
Ordre des Anoploures (Poux)	
<i>Pediculus humanus</i> (pou de corps)	Pédiculose du corps Vecteur du typhus exanthématique et de la borréliose cosmopolite (fièvre récurrente)
<i>Pediculus capitis</i> (pou de tête)	Pédiculose de la tête
<i>Phthirus pubis</i> (morpion)	Phthirose
Ordre des Hétéroptères (Punaises)	
<i>Cimex lectularius</i> (punaise des lits)	Piqûres cutanées nocturnes
<i>Cimex hemipterus</i> (punaise des lits)	
<i>Triatoma</i> spp.	Vecteurs de <i>Trypanosoma cruzi</i> (maladie de Chagas)
<i>Rhodnius</i> spp.	
Ordre des Siphonaptères (Puces)	
<i>Pulex irritans</i>	Puce de l'homme : vecteur de la peste
<i>Xenopsylla cheopis</i> *	Puce du rat : vecteur de la peste
<i>Nosopsyllus fasciatus</i> *	Puce du rat et de la souris
<i>Ctenocephalides</i> spp.*	Puces du chien et du chat
<i>Tunga penetrans</i>	Puce chique, ou tungose

Ordre des Diptères	
Nématocères (à antennes longues)	
<i>Anopheles spp.</i>	Vecteurs des plasmodies
<i>Culex spp.</i>	Vecteurs de <i>Wuchereria bancrofti</i>
<i>Mansonia spp.</i>	Vecteurs de <i>Brugia malayi</i>
<i>Aedes spp.</i>	Vecteur du virus de la fièvre jaune, de la dengue, du chikungunya et de <i>Wuchereria pacifica</i> (filariose lymphatique)
<i>Simulium damnosum</i>	Vecteur d' <i>Onchocerca volvulus</i>
Cératopogonidés (Culicoides)	Vecteur des <i>Mansonella</i> (filariose)
<i>Phlebotomus spp.</i>	Vecteur des <i>Leishmania</i>
Orthorhaphes (à antennes courtes)	
<i>Chrysops spp.</i>	Vecteurs de <i>Loa loa</i>
Cyclorhaphes	
<i>Llossina palpalis</i> (glossine, ou mouche tsé-tsé)	Vecteurs de <i>T. b. gambiense</i> et <i>T. b. rhodesiense</i> (trypanosomoses africaines ou maladie du sommeil)
<i>Glossina morsitans</i> (glossine, ou mouche tsé-tsé)	
<i>Hypoderma bovis</i>	Hypodermose
<i>Hypoderma lineatum</i>	
<i>Dermatobia hominis</i>	Myiases furonculoïdes
<i>Cordylobia anthropophaga</i>	
Classe des Acariens	
Sarcoptidés	
<i>Sarcoptes scabiei</i>	Gale humaine
Démodicidés	
<i>Demodex folliculorum</i>	Démodicidose
Ixodidés (tiques)	
<i>Ixodes*</i> , <i>Dermacentor*</i> , <i>Haemaphysalis*</i> , <i>Rhipicephalus*</i>	Vecteurs de <i>Rickettsia</i> , arbovirus, <i>Babesia</i> ...
Argasidés (tiques)	
<i>Ornithodoros*</i>	Vecteurs de <i>Borrelia</i> (fièvres récurrentes régionales), d'arbovirus
<i>Argas*</i>	Vecteurs d'arbovirus

* Ces arthropodes, trop rares ou n'étant pas vecteurs de parasitoses, ne seront pas développés.

2 - LES INSECTES

2-1- Épidémiologie

Les Poux

Les poux sont des insectes au corps aplati dorsoventralement. Leur couleur à jeun varie en fonction de leur hôte habituel, allant du jaune très clair chez les sujets blonds, au noir chez les sujets très bruns. Gorgés de sang, ils deviennent brun-rouge. Ils sont cosmopolites. On distingue trois formes cliniques dues à des parasites spécifiques de l'homme: la pédiculose à *Pediculus capitis*, ou pou de tête (figure 1a), ectoparasitose bénigne, fréquente, notamment dans les

collectivités d'enfants jeunes; la pédiculose à *Pediculus humanus*, ou pou de corps qui touche les personnes à hygiène défectueuse. Les poux de corps peuvent transmettre le typhus exanthématique (dû à *Rickettsia prowazekii*), la fièvre récurrente à poux (due à *Borrelia recurrentis*) et la fièvre des tranchées (due à *Bartonella quintana*); la pthirose, ou « pédiculose » à *Pthirus pubis*, communément dénommée morpion, est bénigne et plus rare (figure 1b).

Poux de tête et poux de corps sont morphologiquement très voisins, les poux de corps étant généralement plus grands (2,5 mm à 3,5 mm) que les poux de tête (2 mm à 3 mm). Le morpion se distingue des deux précédents par sa taille plus petite, moins de 2 mm, par sa forme plus trapue et par ses deuxième et troisième paires de pattes plus larges et plus puissantes que la première. Chez les trois espèces, la femelle est légèrement plus grande que le mâle. Les poux ne sautent pas et ne volent pas. Chacune de leurs pattes se termine par une griffe qui se replie sur le tarse pour former une pince puissante avec laquelle ils s'accrochent solidement aux cheveux, aux fibres des vêtements, aux cils ou aux poils. Les poux vivent 1 à 2 mois. Ils se nourrissent du sang de leurs hôtes qu'ils piquent deux à quatre fois par jour. Ils s'accouplent plusieurs fois au cours de leur vie et la femelle fécondée pond 5 à 10 œufs par jour pendant 1 mois, sauf pour *Pthirus pubis* qui ne pond pas plus de 3 œufs par jour. Ces œufs, nommés lentes, mesurent près de 1 mm ; à leur ponte, ils sont collés aux cheveux (*Pediculus capitis*) (figure 1c), très près du cuir chevelu, aux fibres textiles (*Pediculus humanus*) ou aux poils ou cils (*Pthirus pubis*) grâce à une substance produite par la femelle, dénommée ciment (figure 1d).



Fig. 1 a *Pediculus capitis*, adultes femelle (gauche) et mâle (droite); fig1. b : *Pthirus pubis* (morpion), adulte; Fig 1.c : *Pediculus capitis* et son œuf; fig 1.d : Lente de *Pediculus capitis*

Pediculus capitis ne vit que sur le cuir chevelu humain où il se cache entre les cheveux. Hors de ce milieu et sans repas sanguin, il meurt en 1 à 2 jours. La transmission d'un sujet à l'autre a lieu lors d'un contact direct, cheveux contre

cheveux. Elle est possible par l'intermédiaire de brosses à cheveux ou de peignes. Lors d'une infestation massive, les parasites peuvent quitter le cuir chevelu et se retrouver sur le col des vêtements, les écharpes, voire sur l'oreiller: dans ces conditions, ces objets deviennent temporairement contaminants.

Pediculus humanus vit à la face interne des vêtements et ne va sur la peau que pour se nourrir. Dans les vêtements ou dans la literie, il peut survivre sans se nourrir pendant 2 à 3 jours. Ce sont donc les vêtements ou la literie contaminés qui assurent essentiellement la transmission des poux de corps.

Pthirus pubis vit accroché aux poils du pubis, il se retrouve parfois au niveau des poils sous-axillaires, de la barbe, des sourcils, des cils et, chez l'enfant, éventuellement au niveau des cheveux. La transmission d'un sujet à l'autre est directe, lors d'un contact. La pthirose est considérée comme une infection sexuellement transmissible (IST).

les Puces

Les puces sont des insectes de l'ordre des Siphonaptères, de petite taille (1 mm à 8 mm) et à corps aplati latéro-latéralement (figure 2). La tête porte des antennes courtes. La troisième paire de pattes est adaptée au saut. On distingue plus de 3 000 espèces dont *Pulex irritans*, *Xenopsylla cheopis* (puce du rat), *Ctenocephalides felis* (puce du chat), *C. canis* (puce du chien) vivant au voisinage de l'homme.



Fig.2 Puce adulte mâle (*Xenopsylla*)

Les puces, hématophages uniquement à l'état adulte, vivent aux dépens des mammifères et des oiseaux. Certaines peuvent transmettre le bacille de la peste (*Yersinia pestis*), des rickettsies (en particulier *Rickettsia mooseri*, agent du typhus murin), des bartonelles, et jouer le rôle d'hôte intermédiaire de certains cestodes (*Hymenolepis...*).

Punaises

Les punaises sont des insectes pour la plupart parasites de plantes, mais deux familles sont hématophages à tous leurs stades d'évolution (Réduvidés et Cimicidés) et peuvent se nourrir aux dépens de l'homme. Les Réduvidés comportent des espèces de grande taille, à corps et tête allongés. Les ailes sont généralement fonctionnelles. En Amérique du Sud, elles peuvent transmettre à l'homme, *via* leurs déjections, la maladie de Chagas, ou trypanosomose américaine.

Les Cimicidés sont des insectes lenticulaires, plats, de 3 mm à 5 mm, de couleur jaune à brun-roux. *Cimex lectularius* et *Cimex hemipterus*, ou punaises des lits, sont reconnaissables à leur « col Médicis » dû à une échancrure du bord antérieur du thorax où se loge la tête (figure 3). Le thorax porte la base de la première paire d'ailes, non fonctionnelles. Elles n'ont aucun rôle vecteur. On assiste actuellement à une recrudescence des invasions domiciliaires dont le diagnostic peut être fait en inspectant la literie à la recherche des déjections des punaises.



Fig.3 Punaise de lit adulte femelle (*Cimex lectularius*)

Les punaises hématophages vivent au voisinage de leur hôte : gîtes d'animaux ou habitations humaines. Elles sont actives la nuit et leur repas est très rapide. La piqure est indolore, rapidement prurigineuse pouvant entraîner des réactions inflammatoires importantes.

Tiques

Les tiques sont des parasites hématophages à tous les stades de leur évolution mais dont la plus grande partie de l'existence se passe à l'état libre.

Acariens de grande taille, au corps globuleux et sans segmentation extérieure, elles possèdent un rostre, appareil de fixation sur la peau et permettant la nutrition. Il existe deux familles à biologie bien distincte : *Ixodidae* et *Argasidae*. Chez les *Ixodidae*, le rostre est antéroterminal et la face dorsale du corps porte un écusson

ou bouclier rigide, d'où le nom de tiques dures. Cette famille représente environ 800 espèces de distribution mondiale appartenant à divers genres : *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*... Dans le genre *Ixodes*, certaines espèces, exophiles, chassent à l'affût sur les végétaux comme *Ixodes ricinus*, espèce des forêts des zones tempérées, et pouvant transmettre entre autres la borréliose de Lyme, l'encéphalite à tique, la babésiose.

Les tiques ont une importance considérable en pathologie humaine et vétérinaire. En effet, en dehors de l'action neurotrope voire paralysante de la salive élaborée par une femelle gravide, elles ont un rôle de réservoir et de vecteur de nombreuses maladies virales (arboviroses), bactériennes (borrélioses, rickettsioses, ehrlichioses) et parasitaires (babésioses, filarioses). La plupart des germes sont à transmission trans-stadiale, voire trans-ovarienne, ce qui permet leur pérennité à l'intérieur d'une population de tiques et le caractère parfois focal des maladies transmises.

2-2- Physiopathologie

Les ectoparasites sont localement pathogènes par leurs morsures ou piqûres, ou éventuellement toxiques (salive). Ils entraînent des lésions cutanées au point de piqûre ou plus largement avec des réactions inflammatoires ou allergiques. Leur rôle de vecteur d'agents infectieux peut provoquer la survenue de maladies bactériennes, virales ou parasitaires après une période d'incubation.

2-3- Clinique

2-3-1 Pédiculose et pthirose

La pédiculose de tête prédomine chez l'enfant. Le prurit concerne essentiellement les régions occipitales et rétroauriculaires. On observe des lésions de grattage, souvent impétiginisées et des lésions eczématiformes de la nuque et des épaules en «pèlerine». *Pediculus capitis* est responsable de véritables épidémies récidivantes scolaires (maternelles et élémentaires) et familiales.

La pédiculose du corps s'observe essentiellement chez l'adulte vivant dans des conditions précaires. Le prurit, les papules urticariennes prédominent entre les épaules, au niveau des hanches, des cuisses... Les lésions chroniques entraînent une leucomélanodermie (« mélanodermie des vagabonds »). Dans la pthirose, le

prurit intéresse la région pubienne et peut s'étendre à d'autres régions du corps. Les blépharites sont classiques, notamment chez l'enfant.

Piqûres de puces et punaises

Elles provoquent l'apparition de maculopapules érythémateuses, prurigineuses, parfois œdémateuses. Les piqûres de puces siègent préférentiellement au niveau des membres inférieurs, sont multiples et à regroupement linéaire. Les piqûres de punaises, nocturnes, peuvent être dispersées sur tout le corps.

Piqûres de tiques

Quelle que soit la tique, on peut observer un érythème autour du point de piqûre. Les taches noires (fièvre boutonneuse méditerranéenne, rickettsioses africaines) et les érythèmes migrants (borréliose de Lyme) sont dus à la présence de bactéries inoculées lors de la piqûre. On assiste actuellement à une recrudescence de fièvre boutonneuse méditerranéenne (due à *Rickettsia conorii*) chez les sans-abri accompagnés d'un chien, hôte habituel de la tique *Rhipicephalus sanguineus*.

Diagnostic biologique

En cas de pédiculose ou de pthirose, le diagnostic est évoqué devant un prurit ou des lésions cutanées. La mise en évidence des parasites ou de lentes permet la confirmation du diagnostic. En cas de pédiculose du cuir chevelu, les lentes sont plus rapidement retrouvées que les poux. Elles sont brillantes et de couleur caramel lorsqu'elles contiennent un embryon vivant ; elles sont alors retrouvées près de la racine des cheveux et, plus fréquemment, derrière les oreilles et au niveau de la nuque. Vides, elles sont blanchâtres et ressemblent à des pellicules qui restent fixées aux cheveux, résistant au lavage et au coiffage. Elles peuvent persister plusieurs mois mais, avec la pousse des cheveux, elles s'éloignent du cuir chevelu. Les poux adultes, au déplacement rapide, sont recherchés sur le cuir chevelu en écartant les cheveux, mèche par mèche. L'utilisation d'un peigne fin (dit « peigne à poux ») facilite grandement leur récolte. En cas de pédiculose à *P.humanus*, poux et lentes doivent être recherchés à la face interne des vêtements ou dans la literie. Les insectes se cachent dans les plis et les coutures où ils pondent leurs œufs. En cas de pthirose, les parasites sont recherchés sur les poils

du pubis, parfois axillaires, de la barbe mais aussi sur les cils, les sourcils ou les cheveux. Pour les puces, punaises et tiques, le diagnostic peut être évoqué sur l'aspect des lésions cutanées, mais le diagnostic de certitude nécessite de disposer de l'arthropode et l'identification d'espèce requiert un entomologiste.

Traitement et prévention

La lutte contre les ectoparasites consiste en l'utilisation d'insecticides : organochlorés, organophosphorés (malathion), carbamates, pyréthrine, pyréthrinoïdes et étofenprox utilisés en poudre, lotion, shampooing, diffuseur, spray, fumigène... L'ivermectine (*per os*) a démontré son efficacité dans le traitement de la gale et présente une activité intéressante dans le traitement de la pédiculose.

Pédiculoses et pthirose

La lutte contre les poux nécessite de traiter simultanément toute la famille ou la collectivité. Devant l'émergence des résistances aux pyréthrinoïdes et aux organophosphorés (malathion), on recommande les formulations associant plusieurs principes actifs ou des produits qui tuent les poux par une action physique et non chimique en les recouvrant d'un film qui les asphyxie (diméticone).

Parmi les insecticides actifs dans la pthirose, seule l'association pyréthrine et butoxyde de pipéronyle a l'AMM. L'ablation à la pince est le traitement le plus simple pour une blépharite à morpions. Parmi les formes galéniques, les lotions, gels ou sprays, plus longtemps en contact, seraient plus actifs que les shampooings rapidement rincés. On peut également utiliser un peigne fin (peigne à poux) trempé ou non dans de l'eau vinaigrée (actif seulement sur les poux adultes). Une désinfection des vêtements et de la literie par saupoudrage ou autoclavage est également recommandée.

Puces, punaises, tiques

Pour les animaux porteurs de puces (chats, chiens), le traitement de leur fourrure et litière par saupoudrage d'insecticide, traitement percutané et le port de collier antipuces sont recommandés.

3 - LES ACARIENS

3 -1 Gale ou Scabiose

La gale est une dermatose fréquente, cosmopolite, prurigineuse et contagieuse, due à un acarien, *Sarcoptes scabiei*. On estime à 300 millions le nombre de cas dans le monde.

3 -1-1 Épidémiologie

3 -1-1-1 Agent pathogène

Sarcoptes scabiei recouvre plusieurs sous-espèces d'ectoparasites dont une seule est spécifique de l'homme : *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*. L'acarien se présente sous une forme globuleuse à tégument plissé, de couleur brune à grisâtre. L'adulte mesure 200 µm à 350 µm; la femelle (figure 4) est légèrement plus grande que le mâle. L'adulte est muni de quatre paires de pattes très courtes. Les deux paires antérieures, orientées vers l'avant, se terminent par des ventouses. Les paires postérieures se terminent par des soies.

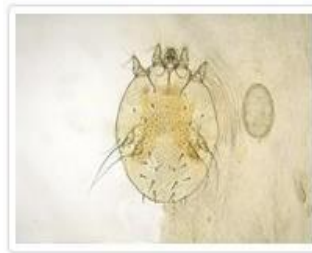


Fig.4 *Sarcoptes scabiei*, femelle et œuf (examen direct des squames)

3 -1-1-2 Cycle

Les sarcoptes s'accouplent sur leur hôte ; le mâle meurt après l'accouplement tandis que la femelle fécondée s'enfonce dans la peau en creusant une galerie entre la couche cornée et la couche de Malpighi. Dans ce tunnel, communément dénommé sillon, elle avance de 1 mm à 2 mm par jour en se nourrissant de la couche cornée et de l'exsudat de la couche de Malpighi. Tout en progressant, elle pond un à deux œufs par jour pendant environ 1 mois et meurt. Les œufs éclosent dans l'épiderme en 3 à 4 jours et donnent chacun une larve hexapode qui gagne la surface de la peau. Chaque larve subit des mues successives pour devenir nymphe puis adulte mâle ou femelle en 10 à 15 jours.

3 -1-1-3 Mode de contamination

La période d'incubation est habituellement de 3 semaines et peut être raccourcie (moins de 3 jours) en cas de réinfestation. Le risque de transmission, bien que faible, existe avant l'apparition du prurit. La transmission d'hôte à hôte s'effectue essentiellement lors d'un contact cutané direct ou, plus rarement, par l'intermédiaire d'objets de toilette (gants, serviette), de vêtements ou de la literie. Il peut s'agir d'une infection acquise en établissement de santé ou transmise sexuellement. En dehors de l'hôte, le sarcopte reste infestant de 24 à 48 heures. La contagiosité indirecte est très faible dans les gales communes, elle est plus importante dans les cas de gale hyperkératosique.

3 -1-2 Clinique

3 -1-2-1 Gale commune de l'adulte

Le diagnostic est d'abord clinique et épidémiologique : le patient consulte pour un prurit qui touche souvent plusieurs personnes d'une même collectivité.

Le prurit est continu, diurne et nocturne ; la nuit, il est plus intense et empêche de dormir. Il est tenace, féroce et, au début, souvent localisé aux espaces interdigitaux palmaires; il s'étend rapidement aux poignets, aux coudes, aux aisselles, aux mamelons, aux plis abdominaux, inguinaux, fessiers et au fourreau de la verge (chancre scabieux). L'examen, effectué avec des gants, retrouve des papules, des vésicules, des lésions de grattage, parfois surinfectées, ou des nodules multiples et très prurigineux. Le visage, le dos, la paume des mains et la plante des pieds sont habituellement épargnés. Le sillon scabieux, lésion sinueuse (5 mm à 15 mm), légèrement surélevée et se terminant par une vésicule perlée, est pathognomonique mais rarement retrouvé. Leur évolution se fait sous forme de croûtes punctiforme. Un prélèvement cutané, facilité par l'utilisation d'un dermatoscope, affirme le diagnostic.

3 -1-2-2 Gale du nourrisson

Le nourrisson atteint de gale est agité, il pleure constamment et dort peu. Il présente des lésions vésiculeuses, souvent surinfectées, siégeant au niveau du dos, des aisselles, de l'ombilic et des fesses. Ces lésions peuvent s'étendre aux bras, à la poitrine, aux cuisses. Elles touchent de manière caractéristique la plante des pieds et épargnent habituellement les doigts des mains.

3 -1-2-3 Gale hyperkératosique

Chez le sujet âgé ou à l'état général amoindri, la gale, peu prurigineuse, passe longtemps inaperçue. Les parasites et les lésions prolifèrent rapidement et la peau se recouvre de formations croûteuses, squameuses, parfois épaisses, blanc-jaune soufre. Les lésions peuvent se généraliser à toute la surface cutanée, y compris le visage, le dos, la paume des mains et la plante des pieds. Cette forme hyperkératosique (autrefois nommée « gale norvégienne»), très contagieuse, est responsable d'épidémies dans les centres de gériatrie et les services d'hospitalisation de long séjour.

3 -1-3 Diagnostic biologique

Le prélèvement, parfois orienté grâce à un dermatoscope, est effectué, à l'aide d'un vaccinostyle, sur les lésions susceptibles de contenir des parasites : un sillon scabieux lorsqu'il existe ou, plus souvent, de petites desquamations de moins de 2 mm, non surinfectées et qu'on retrouve plus facilement au niveau des espaces interdigitaux ou sur les poignets. Sont également souvent parasitées les lésions autour des mamelons chez la femme et les lésions génitales, ou chancre scabieux, chez l'homme. Les produits de grattage sont examinés au microscope à faible grossissement.

3 -1-4 Traitement et prévention

La dissémination du parasite est favorisée par la vie en collectivité et le non-respect des règles d'hygiène. Il convient de mener une enquête autour du malade pour rechercher la source de contamination et les sujets pouvant être à leur tour infestés : conjoint, famille, entourage proche, nourrice, puéricultrice, personnel soignant... Le traitement repose sur la prise en charge du patient, des sujets contacts proches et de l'environnement. Le traitement de la gale commune peut faire appel à un traitement oral ou à un traitement local. Cependant, le traitement par voie orale est privilégié en raison de sa facilité d'emploi, notamment lorsqu'il y a un grand nombre de patients à traiter. Une seconde administration entre 7 et 14 jours plus tard est conseillée du fait de l'inefficacité du traitement sur les œufs. En cas de gale hyperkératosique, le traitement *per os* est recommandé, associé à un

traitement local. Une seconde ou plusieurs doses de traitement *per os* et topique sont recommandés.

3 -1-4-1 Traitement local

Le traitement local repose sur l'application d'un produit antiscabieux. Actuellement, trois acaricides sont disponibles : deux pyréthrinoïdes de synthèse (Topiscab® et Sprégal®) et le benzoate de benzyle (Ascabiol®). Dans tous les cas, il convient de prendre un bain ou une douche et de réaliser un séchage doux avant l'application du scabicide. Le patient doit prendre un bain ou une douche à la fin du traitement.

3 -1-4-2 Traitement oral

Il repose sur l'ivermectine (Stromectol®), en une prise unique le matin à jeun avec de l'eau sans manger pendant les 2 heures suivantes et à la dose de 200 µg/kg. Ce traitement est à renouveler 7 à 14 jours plus tard. C'est un traitement simple ; cependant, sa sécurité d'emploi n'est pas établie chez les jeunes enfants de moins de 15 kg et la femme enceinte ou allaitant. Il peut être associé à un traitement local.

3 -1-4-3 Prévention

Quel que soit le traitement antiscabieux utilisé, il est indispensable d'effectuer un traitement antiparasitaire des draps de lit, des couvertures, du linge de toilette, des vêtements du patient et, en cas de gale profuse, de son domicile. Il est recommandé de couper les ongles courts pour éviter un réservoir sous-unguéal de parasites et les surinfections. Les draps et le linge utilisés dans les 3 jours précédents doivent être lavés si possible à plus de 60 °C ou enfermés hermétiquement dans un sac plastique pendant au moins 72 heures ou avec un scabicide de contact pendant 48 heures. Pour un cas de gale commune, un simple bionettoyage de la literie est réalisé. Il est étendu au mobilier, rideaux, fauteuils... en cas de gale profuse. Le produit scabicide est pulvérisé sur les surfaces à traiter. Dans le cas particulier des enfants en bas âge, il ne faut pas oublier de traiter les chaussons, les peluches (« doudou ») et autres jouets ainsi que la poussette et le landau.

3-2 *Demodex folliculorum*

Ce sont des acariens vermiformes (adultes de 300 à 400 µm) commensaux des follicules pilo-sébacés de l'homme. Ce sont des agents de blépharites et d'acné rosacée.

Post-test

1- La gale humaine de l'adulte est caractérisée par:

- A- des lésions interdigitales
- B- l'absence de prurit
- C- la contagiosité importante
- D- l'atteinte du visage
- E- l'atteinte des organes génitaux externes

Réponse : A-C-E

2- *Pediculus capitis*:

- A- est un acarien dépourvu d'ailes
- B- il peut être responsable d'un prurit localisé
- C- la lente du pou est visible sur les cheveux
- D- il se nourrit de kératine
- E- il est épidémique en milieu scolaire

Réponse : A-B-C-E

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL),
Campus de Parasitologie-Mycologie

TOXOPLASMOSE

Pr Ali Ayadi

INTRODUCTION :

On regroupe sous le nom de toxoplasmose toutes les manifestations cliniques ou biologiques dues au toxoplasme, protozoaire parasite de la classe des Coccidies dont le nom est *Toxoplasma gondii*. Cette parasitose cosmopolite est habituellement bénigne, mais potentiellement grave chez le fœtus et l'immunodéprimé. Le toxoplasme a été décrit pour la première fois en 1908 à l'Institut Pasteur de Tunis par Nicolle et Manceaux chez un petit rongeur, le gondi. Mais le cycle n'a été totalement élucidé qu'en 1969 avec la découverte du rôle du chat dans la transmission. La toxoplasmose de l'immunodéprimé est une infection grave susceptible de se manifester dans toutes les situations d'immunodépression. Le diagnostic biologique de cette affection bénéficie de plus en plus des techniques les plus modernes.

1. ÉPIDÉMIOLOGIE

1.1. Parasite :

Toxoplasma gondii existe sous trois formes évolutives différentes :

- le **tachyzoïte** (figure 1), stade intracellulaire de 6 μm à 8 μm de long sur 3 μm à 4 μm , qui peut parasiter n'importe quelle cellule nucléée de l'organisme, dont celles du système des phagocytes mononucléés, au sein desquelles il va se multiplier rapidement.

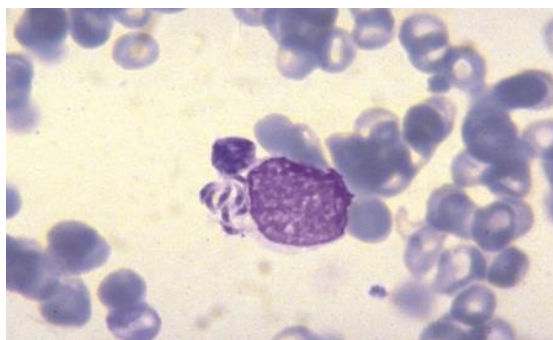


Fig. 1 : Frottis de moelle osseuse : *Toxoplasma gondii*, tachyzoïtes, 6–8 μm (MGG ; $\times 1\,000$)

- le **bradyzoïte**, qui résulte de la transformation du stade tachyzoïte au cours de son évolution chez l'hôte intermédiaire. Morphologiquement très proche, il s'en distingue par un métabolisme ralenti conduisant à un état de latence (peu ou pas de multiplication). Les bradyzoïtes sont regroupés (quelques dizaines à plusieurs milliers) au sein de kystes intracellulaires (figure 2), où ils sont inaccessibles aux défenses immunitaires et aux traitements actuels. La taille des kystes varie de 20 à 100 μm . Ils siègent principalement dans les neurones, les astrocytes, les cellules musculaires et les cellules rétiennes ;

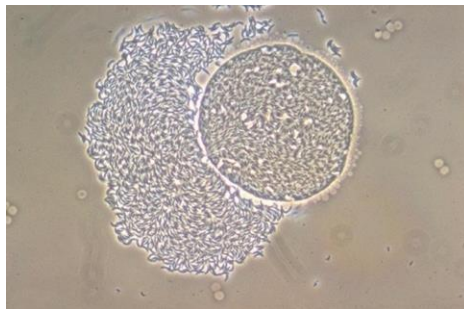


Fig. 2 : Rupture provoquée d'un kyste toxoplasmique avec libération de nombreux bradyzoïtes (contraste de phase $\times 400$)

- le **sporozoïte**, résultat de la reproduction sexuée qui a lieu dans les cellules de l'épithélium intestinal de l'hôte définitif. Il est contenu dans des oocystes (figure 3), qui peuvent survivre sur le sol plus d'un an dans un climat humide. Les oocystes sont de forme ovoïde et mesurent environ 12 μm .



**Fig. 3 : Selles de chat (litière) :
Oocystes de *Toxoplasma gondii* sporulés ($\times 400$)**

1.2. Cycle :

Le cycle de *T. gondii* peut se dérouler selon différentes modalités (figure 4).

Il peut s'agir :

- d'un cycle complet, comportant une phase de reproduction sexuée

chez les hôtes définitifs (chat et félidés sauvages) et une phase de reproduction asexuée chez les hôtes intermédiaires (autres animaux homéothermes, qu'il s'agisse de mammifères ou d'oiseaux) ;

- ou d'un cycle incomplet, uniquement entre hôtes intermédiaires, ne comportant que des phases de reproduction asexuée.

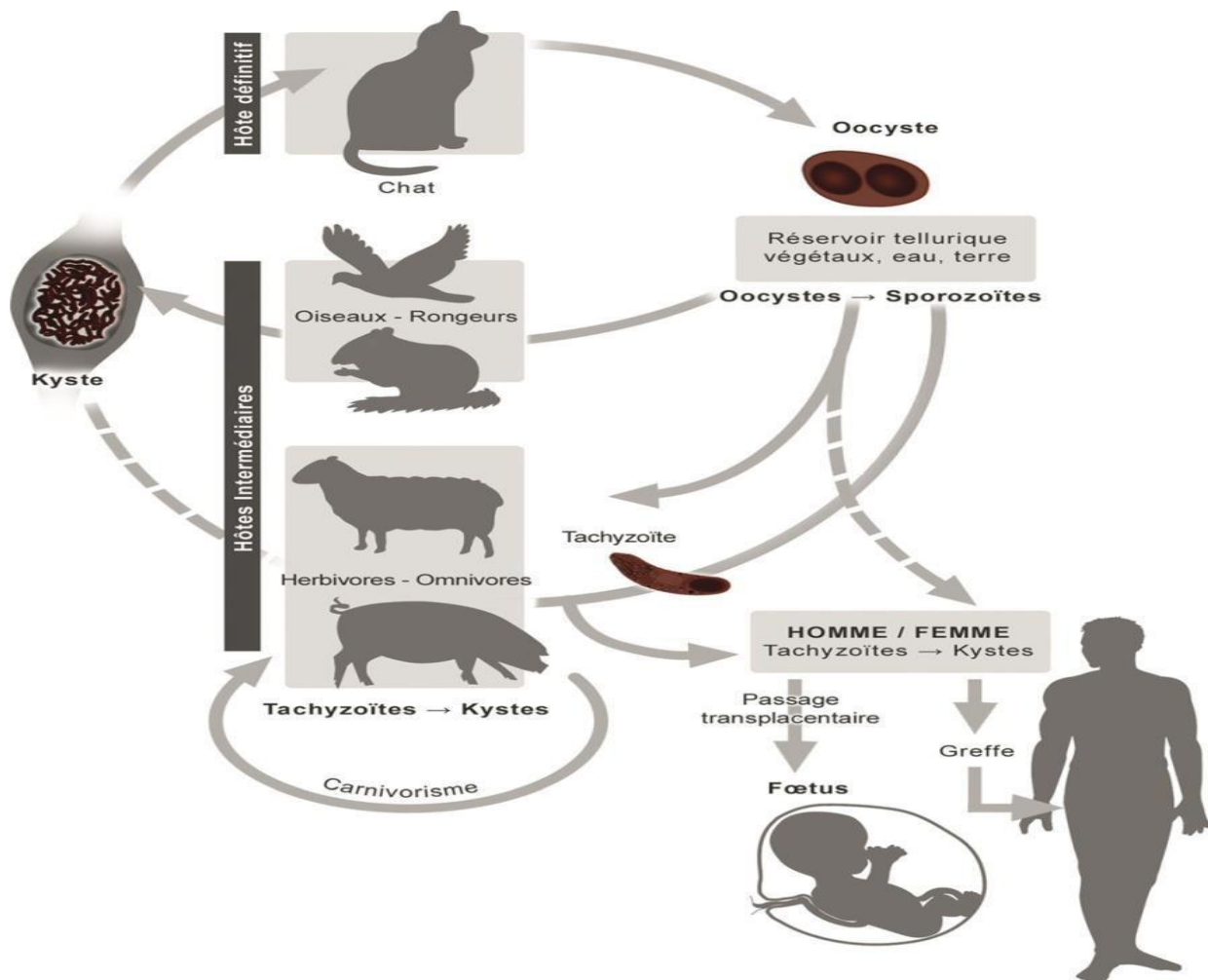


Fig. 4 : Cycle évolutif de *Toxoplasma gondii*

1.2.1. Cycle complet sexué :

Les félidés s'infectent par ingestion des hôtes intermédiaires infectés qui hébergent des kystes dans leurs tissus. Les bradyzoïtes libérés des kystes (figure 2) dans le tube digestif du chat pénètrent dans les cellules épithéliales intestinales. Après une phase de multiplication asexuée par schizogonie, certains parasites peuvent se transformer dans les cellules épithéliales en gamétocytes, puis en gamètes soit mâles soit femelles (phase de gamétogonie). L'union d'un gamète mâle et d'un gamète femelle aboutit à la formation d'un oocyste non sporulé qui est émis dans les fèces du chat. En

quelques jours, dans le milieu extérieur, se produit une sporulation au sein de l'oocyste qui donne naissance aux sporozoïtes contenus dans des oocystes matures ou sporulés (figure 3). Ces oocystes sporulés qui souillent le sol, les végétaux et l'eau sont à l'origine de la contamination des hôtes intermédiaires. Après ingestion des oocystes par l'hôte intermédiaire, les sporozoïtes libérés des oocystes envahissent les cellules intestinales et se transforment en tachyzoïtes. Les tachyzoïtes se multiplient dans n'importe quelle cellule nucléée et se disséminent dans l'organisme. Après quelques jours d'évolution, les tachyzoïtes ralentissent leur multiplication et se transforment en bradyzoïtes au sein de structures kystiques intratissulaires. Les kystes prédominent dans les muscles et le système nerveux des animaux infectés. Ils sont à l'origine de l'infection des félinés par carnivorisme.

1.2.2. Cycle incomplet asexué :

La particularité du toxoplasme est la possibilité de transmission du parasite entre hôtes intermédiaires : les bradyzoïtes contenus dans les kystes sont également infectants pour d'autres hôtes intermédiaires. Le toxoplasme pourra donc se propager par carnivorisme, entre hôtes intermédiaires, dans un cycle totalement asexué ne faisant pas intervenir l'hôte définitif.

1.3. Modes de contamination :

La contamination de l'Homme s'effectue selon trois modalités principales :

- transmission par ingestion d'oocystes : cette contamination est essentiellement indirecte par consommation de fruits et légumes crus mal lavés ou d'eau de boisson contaminée et à cause d'une hygiène des mains insuffisante après contact avec le sol (jardinage) ou les animaux ;
- transmission par les kystes : la contamination se fait par consommation de viandes insuffisamment cuites (en particulier le mouton), fumées ou saumurées, les kystes n'étant détruits que par une cuisson de la viande à 65 °C ou une congélation inférieure à – 12 °C pendant 3 jours au moins. Ce sont également les kystes qui sont impliqués dans la transmission par

transplantation d'organe d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose vers un receveur négatif avant la greffe

- transmission par les tachyzoïtes : le tachyzoïte, forme fragile détruite dans le milieu extérieur, est l'agent de la **transmission transplacentaire** responsable de la toxoplasmose congénitale.

1.4. Répartition géographique

Les différentes modalités de transmission ainsi que la capacité du toxoplasme à infecter n'importe quel animal homéotherme expliquent le succès de ce parasite **cosmopolite**. On estime qu'entre un tiers et un quart de la population mondiale est infecté. La prévalence de l'infection toxoplasmique augmente avec l'âge et varie en fonction de l'environnement et des habitudes alimentaires.

Dans les pays développés, la contamination serait essentiellement liée à la consommation de viande infectée. La prévalence est faible, inférieure à 25 % au Royaume-Uni, en Scandinavie et en Amérique du Nord. En **France** et dans les autres pays européens, les chiffres sont plus élevés, de l'ordre de **40 % à 60 %**.

En Asie du Sud-Est et au Japon, la prévalence est très faible, inférieure à 10 % ; elle est de l'ordre de 20 % à 30 % dans le sous-continent indien et au Proche-Orient.

Dans les **pays tropicaux d'Afrique et d'Amérique**, la contamination est plutôt liée à l'ingestion d'oocystes issus de chats domestiques et de félinés sauvages. Le rôle de la consommation d'eau souillée par les oocystes y a été mis en avant.

En Tunisie, on estime que la prévalence chez les femmes en âge de procréer est de 26 % environ.

La prévalence est faible dans les zones où le climat est chaud et sec, peu favorable à la survie des oocystes sur le sol ; elle est élevée, **jusqu'à 80 % parfois, dans les régions humides**.

2. PHYSIOPATHOLOGIE

Les tachyzoïtes sont capables d'envahir activement tout type de cellules et peuvent donc disséminer dans tous les organes, grâce à la migration des cellules mononucléées qui les hébergent. La durée de cette phase de **parasitémie** est variable selon les individus. On considère habituellement qu'elle est de l'ordre de 2 ou 3 semaines, mais peut dans certains cas s'étaler sur plusieurs mois. Les différents isotypes spécifiques de *Toxoplasma gondii* apparaissent successivement IgM, IgE, IgA puis IgG. Bien que de nombreuses molécules parasitaires soient détectées par ces différents isotypes, la protéine P30 est particulièrement intéressante car elle est précocement et constamment reconnue. Une réponse immunitaire efficace, de type cellulaire, est nécessaire pour le contrôle de la phase aiguë de l'infection, aboutissant à la transformation des tachyzoïtes en bradyzoïte et à la formation des kystes dès la fin de la première semaine d'infection. L'immunité humorale ne joue pas un rôle majeur dans le contrôle à long terme de la toxoplasmose. Ce contrôle dépend de l'immunité cellulaire T initiée grâce à la synthèse d'IL-12 par les cellules présentatrices d'antigènes, qui aboutit à la différenciation des lymphocytes CD4⁺ Th1 et à la synthèse d'interféron γ (IFN γ), amplifiant les réponses cytotoxiques des lymphocytes T CD8⁺ et des cellules NK, qui amplifieront encore la réponse en sécrétant à leur tour de l'IFN γ . Cette coopération cellulaire aboutit au contrôle de la multiplication parasitaire et à l'enkystement du parasite pour échapper à ces effecteurs. Les kystes persisteraient toute la vie de l'hôte, principalement dans les cellules musculaires, les cellules nerveuses et rétinienne. Cette persistance des kystes chez l'hôte est à l'origine d'une immunité qui, bien qu'elle n'assure pas l'élimination des kystes déjà présents chez l'hôte, empêche toute nouvelle infection par un toxoplasme de même type génétique (immunité concomitante). En cas de déficit de l'immunité cellulaire, les bradyzoïtes contenus dans les kystes se retransforment en tachyzoïtes, qui sont libérés des kystes. Ces tachyzoïtes provoquent une destruction tissulaire locale avec lésions inflammatoires et nécrose. La dissémination vers d'autres organes est possible par voie sanguine. Le terrain génétique de l'hôte et la

souche de toxoplasme en cause ont une influence sur l'évolution de l'infection. L'absence d'immunité cellulaire T efficace chez le jeune fœtus immuno-immature explique la gravité de la toxoplasmose congénitale.

3. CLINIQUE

On distingue trois grandes entités cliniques : la toxoplasmose acquise postnatale du sujet immunocompétent, la toxoplasmose du sujet immunodéprimé et la toxoplasmose congénitale.

Cette distinction clinique a également des conséquences diagnostiques ; schématiquement :

- chez l'immunocompétent, le diagnostic repose sur la sérologie ;
- chez l'immunodéficient (adulte immunodéprimé ou fœtus immuno-immature), le diagnostic repose sur la recherche directe du parasite ;
- chez le nouveau-né, à la frontière des deux situations précédentes, les deux approches diagnostiques sont complémentaires et nécessaires.

3.1. Toxoplasmose acquise postnatale du sujet immunocompétent :

Elle est asymptomatique dans plus de 80 % des cas.

Les formes symptomatiques classiques associent **fièvre, adénopathies et asthénie**.

Le patient présente une fébricule pendant quelques jours ou semaines, qui disparaît spontanément. Les adénopathies sont plus volontiers cervicales, peu volumineuses, n'adhérant pas aux plans profonds et ne fistulisant pas, mais les autres territoires ganglionnaires peuvent être atteints. L'évolution est habituellement bénigne et la guérison spontanée ; cependant, l'asthénie peut être profonde et persister plusieurs mois. Des **formes plus graves** de toxoplasmose acquise (cardiaques, musculaires, cérébrales...) ont été rapportées chez des immunocompétents. Des **formes oculaires acquises** (rétinochoroïdites) avec une tendance à la récurrence sont possibles ; leur fréquence et leur sévérité sont plus élevées en Amérique du Sud et, sans doute, en Afrique, en raison de la différence génétique des souches.

3.2. Toxoplasmose de l'immunodéprimé

Cette maladie grave est constamment mortelle sans traitement, sauf dans les formes oculaires isolées, qui peuvent cependant conduire à la cécité en cas de lésion maculaire. Les descriptions classiques distinguent les formes localisées et les formes disséminées mais la réalité est souvent moins tranchée. La toxoplasmose de l'immunodéprimé peut être secondaire soit à la réactivation d'une toxoplasmose ancienne, soit à une primo-infection. La réactivation d'une toxoplasmose est observée chez les patients souffrant d'un déficit important de l'immunité cellulaire T. En pratique, il s'agit le plus souvent de patients infectés par le **VIH avec un taux de CD4 inférieur à 100/mm³** ou de patients **greffés avec des cellules souches hématopoïétiques ou transplantés d'organe**, sans prophylaxie. Peuvent également être concernés les patients atteints de cancer, d'hémopathies malignes (principalement lymphoïdes) ou de déficit immunitaire congénital. Les chimiothérapies ou biothérapies immunosuppressives et la corticothérapie prescrites dans le cadre de maladies inflammatoires chroniques sont des éléments favorisant. La primo-infection chez l'immunodéprimé peut être d'origine alimentaire mais elle est le plus souvent secondaire à une transmission par le greffon lors de la **greffe d'un organe solide**. L'organe le plus souvent en cause est le myocarde (risque supérieur à 50 % en cas de discordance entre donneur séropositif et receveur séronégatif pour la toxoplasmose).

3.2.1. Toxoplasmose localisée :

La **localisation la plus fréquente** est **cérébrale**. Le tableau clinique est celui d'un abcès (figure 5). La symptomatologie associe des céphalées persistantes, une fièvre dans 50 % des cas et, secondairement, un déficit focalisé en rapport avec la localisation du ou des abcès. La révélation sous forme de crise comitiale est fréquente. Des tableaux d'encéphalite diffuse sont également décrits. En cas d'abcès, le diagnostic repose sur une imagerie caractéristique (image en « cocarde » révélée après injection d'un produit de

contraste) qui justifie un traitement antitoxoplasmique d'épreuve dans un contexte d'immunodépression.

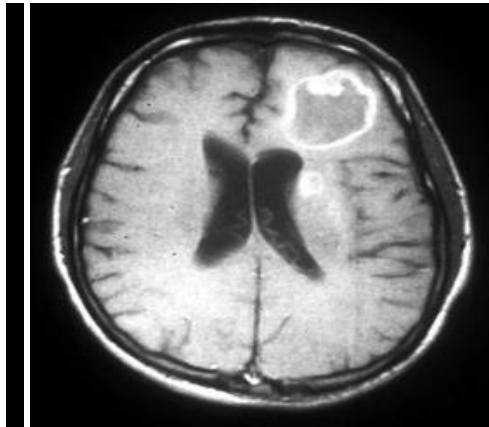


**Fig. 5 : Imagerie cérébrale (IRM avec injection) : toxoplasmose.
Deux lésions de nécrose avec prise de contraste périphérique.**

La deuxième localisation en termes de fréquence est **oculaire** (figure 6). Le patient se plaint d'une baisse d'acuité visuelle, d'impression de « mouches volantes » et d'une rougeur oculaire. Le diagnostic ophtalmologique peut être confirmé par la détection de l'ADN parasitaire et d'anticorps spécifiques dans les fluides oculaires. Au cours de l'infection par le VIH, une localisation cérébrale est associée dans 40 % des cas.



**Fig. 6 : Fond d'œil : toxoplasmose, rétinochoroïdite
(lésions cicatricielles pigmentées et une lésion active claire)**

La toxoplasmose **pulmonaire** se traduit par une pneumopathie interstitielle fébrile dyspnéisante évoquant la pneumocystose.

Le tachyzoïte de *T. gondii* pouvant pénétrer dans n'importe quel type de cellules, la littérature est riche de cas rapportés dans les localisations les plus diverses, le diagnostic étant apporté par l'examen anatomopathologique, l'inoculation à l'animal ou, plus fréquemment, la biologie moléculaire.

3.2.2. Toxoplasmose disséminée :

Le problème est celui d'une **fièvre isolée** dont le diagnostic n'est parfois fait que lors de la survenue de **localisations viscérales secondaires, en particulier pulmonaires**. Chez le patient greffé de cellules souches hématopoïétiques, le diagnostic est souvent fait lors des PCR systématiques de dépistage.

3.3. Toxoplasmose congénitale :

La toxoplasmose congénitale résulte de la contamination du fœtus au cours de la grossesse. La circonstance la plus habituelle est la survenue d'une primo-infection chez la femme enceinte : lors de la phase de parasitémie initiale, il peut se produire une colonisation du placenta suivie d'une transmission au fœtus. La transmission peut exceptionnellement se produire lors d'une récurrence parasitémique chez une femme enceinte immunodéprimée (toxoplasmose de réactivation).

Le risque de transmission verticale augmente avec le terme, à l'inverse de la gravité de l'atteinte fœtale, qui diminue. Le risque de transmission au fœtus est globalement de 30 %. Sa fréquence augmente au fur et à mesure que les échanges fœto-maternels à travers le placenta se développent au cours de la grossesse : moins de 10 % au premier trimestre, 30 % au deuxième, plus de 60 % au troisième. Les formes graves de toxoplasmose congénitale sont observées principalement pour des séroconversions du début de la grossesse en raison de l'immaturité du système immunitaire fœtal ; plus le terme est avancé lors de la contamination de la mère, plus le risque de formes graves diminue au profit des formes bénignes ou latentes (figure 7).

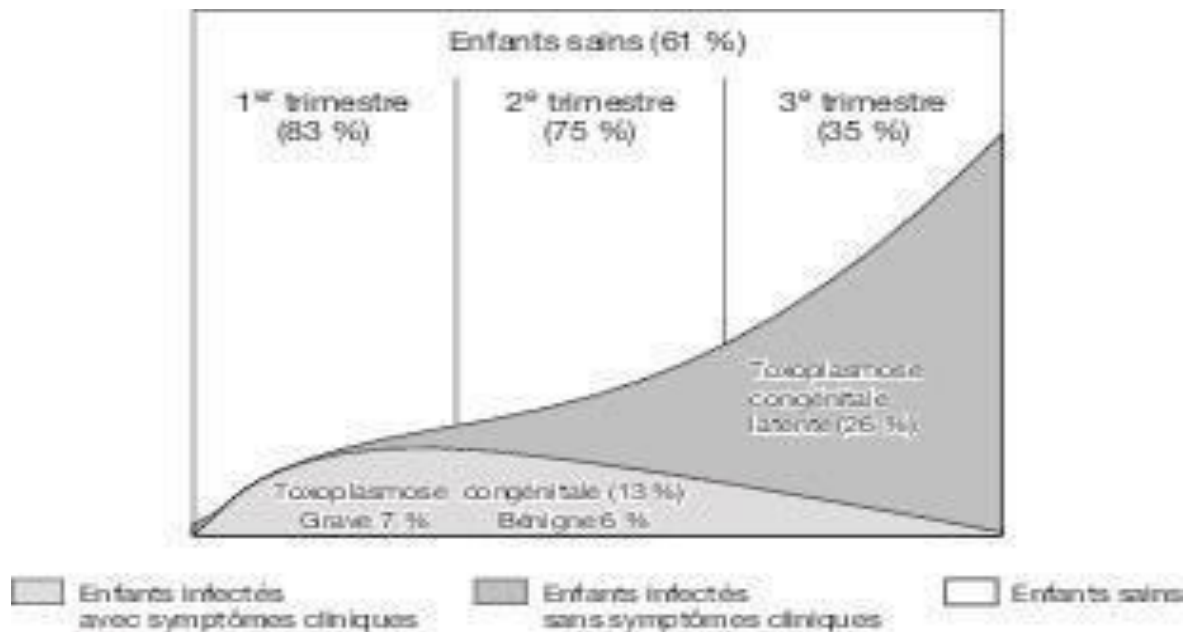


Fig. 7 : Risque de transmission et gravité de la toxoplasmose congénitale en fonction du terme de la grossesse

Il existe un risque très faible de transmission en cas de contamination périconceptionnelle (même antérieure à la conception) car la parasitémie initiale peut persister plusieurs semaines.

La toxoplasmose congénitale peut être responsable d'un **avortement spontané lors d'infections en début de grossesse ou de mort fœtale *in utero***.

Si la grossesse est menée à son terme, on décrit traditionnellement trois présentations cliniques :

- **la toxoplasmose congénitale grave** avec une encéphalo-méningomyélite qui s'observe dès la naissance et correspond à une contamination en début de grossesse. On décrit classiquement deux formes cliniques, la première associant une macrocéphalie avec hydrocéphalie, des calcifications intra-crâniennes et une atteinte oculaire sous forme d'une chorioretinite pigmentaire, la seconde se présentant sous forme d'un tableau d'infection néo-natale grave (fièvre, ictère, hépato-splénomégalie), au pronostic péjoratif.
- **la toxoplasmose congénitale bénigne**, secondaire à une contamination plus tardive au cours de la grossesse, est diagnostiquée dès la naissance ou au cours de la petite enfance. Le diagnostic clinique est

habituellement posé devant une **rétinochoroïdite pigmentaire**. Des **calcifications intracrâniennes** sans retentissement clinique peuvent être détectées lors de l'échographie transfontanellaire (figure 8 et 9). Exceptionnellement, l'installation progressive d'un retard psychomoteur, d'une hydrocéphalie et de convulsions peut être observée.

- **la toxoplasmose congénitale latente** concerne des nouveau-nés cliniquement normaux à la naissance chez qui le diagnostic est uniquement biologique. Le traitement précoce de ces cas limite leur possible évolution secondaire vers une forme oculaire ou neurologique retardée. L'atteinte oculaire secondaire est cependant possible tout au cours de la vie, dans environ 25 % des cas. Le suivi clinique une fois par an est poursuivi jusqu'à l'âge adulte, avec contrôle systématique du fond d'œil jusqu'à 7 à 10 ans ou jusqu'à l'adolescence selon les équipes.

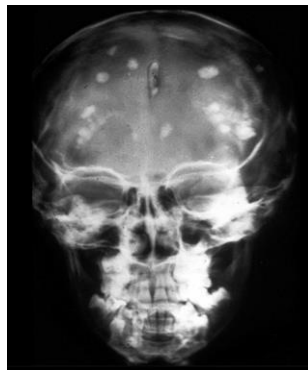


Fig. 8 : Toxoplasmose congénitale : calcifications cérébrales
(Radiographie du crâne de face)

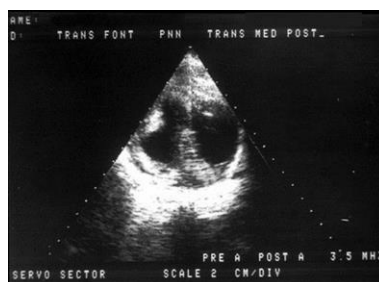


Fig. 9 Toxoplasmose congénitale : calcifications
(Échographie transfontanellaire)

3.4. Toxoplasmose oculaire :

L'atteinte oculaire peut s'observer dans trois circonstances : au cours de la toxoplasmose congénitale, chez les patients immunodéprimés, et au cours d'une toxoplasmose acquise postnatale de l'immunocompétent. Dans ce dernier cas, les localisations oculaires peuvent être parfois retardées de plusieurs mois par rapport à la primo-infection. Le diagnostic repose sur l'aspect du fond d'œil, mais peut nécessiter une confirmation biologique sur un prélèvement intraoculaire (figure 6)

4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

4.1. Chez l'immunocompétent :

Un **syndrome mononucléosique** et un syndrome inflammatoire (augmentation de la CRP) sont habituels mais non spécifiques.

Le diagnostic de certitude est fondé sur la **sérologie**.

Le code de nomenclature des actes de biologie médicale (arrêté du 3 avril 1985 modifié) impose la recherche d'anticorps de type IgG et IgM pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose.

Pour les IgG, la technique de référence reste le *dye test* (coloration vitale) ou test de lyse, dont la difficulté limite la réalisation à quelques laboratoires spécialisés. En routine, les techniques les plus utilisées sont les méthodes immunoenzymatiques dont l'ELISA, l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'agglutination sensibilisée. Le résultat est exprimé en unités internationales par millilitre (UI/mL).

Pour les IgM, la détection repose essentiellement sur des méthodes d'immunocapture : ELISA, **ISAGA** ; cette dernière technique est la plus sensible. Le résultat est exprimé sous la forme d'un index.

Classiquement, **les IgM apparaissent les premières, à la fin de la première semaine** suivant la contamination, et sont détectées 7 à 12 mois en moyenne avec les techniques actuelles ; **la présence d'anticorps de classe IgM ne permet pas d'affirmer une toxoplasmose évolutive**. Les IgG apparaissent habituellement à partir du 8^e jour (leur délai d'apparition peut parfois atteindre 5 à 6 semaines) et s'élèvent progressivement pour atteindre un plateau à partir du 2^e ou 3^e mois. Les titres diminuent ensuite lentement. **Les IgG**

persistent toute la vie à un taux résiduel (figure 10). La connaissance de cette cinétique permet l'interprétation du statut sérologique (figure 11). Le diagnostic de toxoplasmose évolutive nécessite l'étude de **deux sérums espacés de 15 à 20 jours** mettant en évidence soit une séroconversion (premier sérum négatif, second sérum positif) soit la présence d'IgM associée à une élévation significative du titre des IgG entre le premier sérum et le second sérum titrés en parallèle. Pour être significative, une élévation du titre des IgG implique au moins deux dilutions (de raison 2) d'écart avec les méthodes par dilution (IFI, par exemple) ; en ELISA, l'élévation à considérer comme significative varie selon les trousses mais un doublement du titre est le minimum à considérer. Un travail plus fin sur les IgG (détermination du **coefficient d'avidité**) ou le recours à la recherche des IgA spécifiques permettent le plus souvent de faire la distinction entre une infection récente ou ancienne.

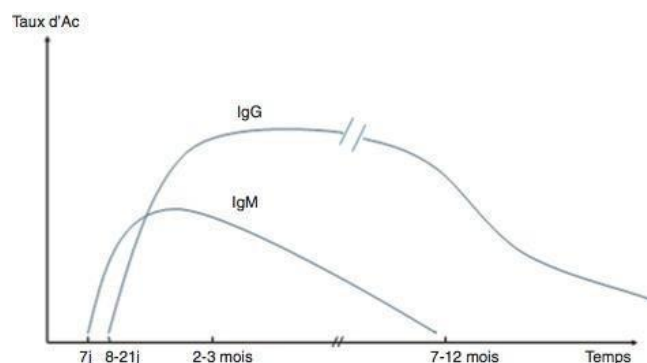


Fig. 10 : Cinétique des anticorps IgM et IgG au cours d'une primo-infection toxoplasmique

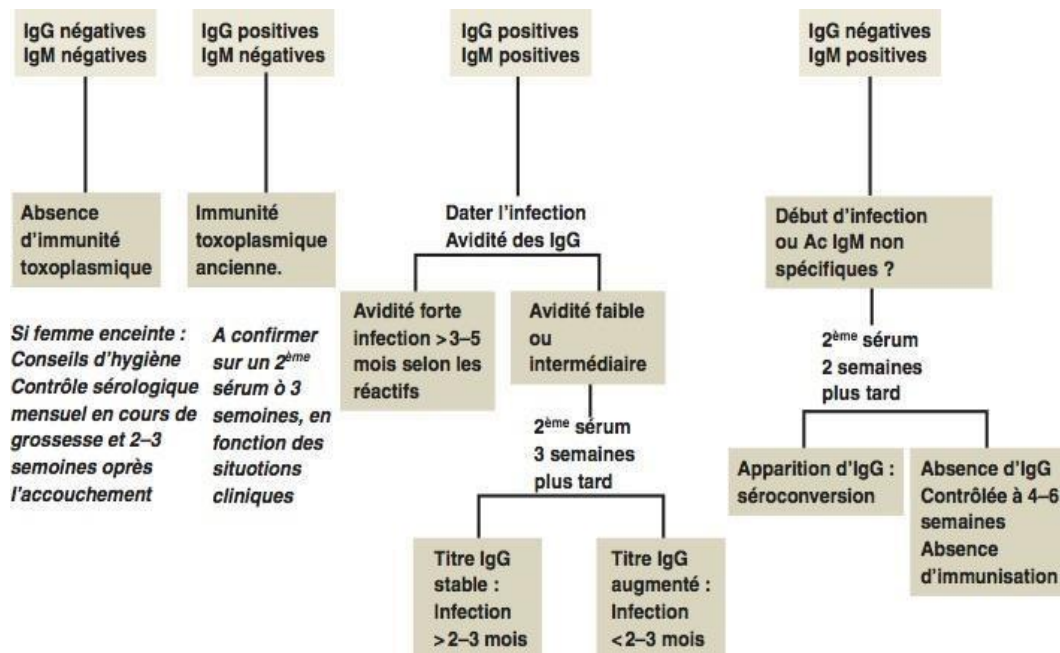


Fig. 11 : Interprétation des sérologies toxoplasmiques

Chez la femme enceinte, il convient de confirmer rapidement une infection acquise en cours de grossesse par un contrôle sérologique rapproché (15 jours) — apparition ou augmentation d'IgG en présence d'IgM — et d'instaurer le traitement par spiramycine dès la confirmation (figure 11).

Pour des raisons liées à l'absence de standardisation des réactifs, le résultat écrit doit mentionner le réactif utilisé et les valeurs seuils. Le biologiste doit de plus rédiger une conclusion argumentée. Aucune conclusion correcte ne peut être tirée de la comparaison de deux résultats de sérologie de la toxoplasmose qui n'auraient pas été effectués **en parallèle dans le même laboratoire et par la même technique**.

4.2. Chez l'immunodéprimé :

Chez les patients réactivant une toxoplasmose ancienne, la sérologie ne permet jamais d'affirmer que l'épisode clinique aigu est bien en rapport avec la toxoplasmose ; elle permet seulement d'envisager le diagnostic comme possible et c'est la recherche du parasite — ou l'efficacité du traitement d'épreuve, justifié devant un tableau d'abcès cérébral avec une imagerie évocatrice — qui confirme le diagnostic. La **recherche du toxoplasme** peut être faite par **coloration**, **marquage avec des anticorps monoclonaux**, **inoculation à l'animal** ou **PCR** à partir de n'importe quel prélèvement

biologique (lavage bronchiolo-alvéolaire, liquide cébrospinal, sang périphérique, moelle...).

Dans les cas de primo-infection, la sérologie reste contributive, avec toutefois un possible retard d'apparition des anticorps en rapport avec les traitements immunosuppresseurs (en particulier chez les patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques), ce qui justifie la recherche directe en cas de signe clinique évocateur. Chez les patients greffés d'organe solide séropositifs pour le toxoplasme en prégreffe, une réactivation sérologique portant sur les IgG est possible en postgreffe, parfois accompagnée de la réapparition des autres isotypes (IgM, IgA), mais le plus souvent sans conséquence clinique.

4.3. Diagnostic biologique de la toxoplasmose congénitale

4.3.1. Diagnostic anténatal :

Il n'est pas justifié de proposer systématiquement l'interruption de la grossesse à une femme enceinte faisant une séroconversion toxoplasmique dans la mesure où la majorité des enfants issus de ces grossesses sont indemnes (globalement 70 %). La prise en charge correcte de ces séroconversions nécessite d'établir le diagnostic de l'infection foetale. Le diagnostic anténatal repose sur la surveillance échographique et l'amniocentèse. **L'échographie** ne permettant que la visualisation d'anomalies déjà constituées, c'est **l'amniocentèse avec la détection dans le liquide amniotique du parasite par PCR et parfois par inoculation à la souris** qui permet de confirmer l'atteinte foetale ; ces examens doivent être réalisés dans un laboratoire agréé. On recommande un délai de 1 mois minimum entre la contamination maternelle et la date de la ponction (délai placentaire nécessaire au passage du parasite de la mère vers l'enfant), qui n'est faite au plus tôt qu'à partir de la 18^e semaine d'aménorrhée. La positivité de la PCR et/ou de l'inoculation à la souris permet d'affirmer le diagnostic de toxoplasmose congénitale. En revanche, **un résultat négatif n'exclut pas**

l'atteinte fœtale, les données bibliographiques faisant état d'environ 10 % de faux négatifs, essentiellement en cas de séroconversion survenue au premier ou au troisième trimestre de la grossesse.

4.3.2. Diagnostic néonatal et suivi sérologique ultérieur de l'enfant :

Les moyens biologiques du diagnostic néonatal doivent être mis en route pour tous les nouveau-nés dont les mères ont une suspicion d'infection toxoplasmique en cours de grossesse, avec un diagnostic anténatal négatif ou non pratiqué. Ces moyens associent la recherche du parasite et la sérologie. Ils sont associés à un bilan clinique comportant la réalisation d'un fond d'œil et d'une échographie transfontanellaire. La **recherche du parasite** est toujours pratiquée de façon indirecte, par inoculation à la souris ou PCR. Les produits biologiques étudiés sont le **placenta**, le sang de cordon, parfois le sang du nouveau-né. La **sérologie de l'enfant** dans le sang du cordon n'est pas vraiment contributive car la détection d'IgM ou d'IgA peut être due à une effraction de sang maternel vers l'enfant lors de l'accouchement. Sur le sang prélevé à quelques jours de vie, **la présence d'IgM ou d'IgA spécifiques permet d'affirmer la toxoplasmose congénitale**, car ces isotypes d'immunoglobulines ne franchissent pas la barrière placentaire et les IgM maternelles contaminant éventuellement le sang du cordon disparaissent très rapidement chez l'enfant non infecté. À l'inverse, l'absence de ces isotypes ne permet en aucun cas de récuser le diagnostic ; en effet, 30 % à 50 % des enfants infectés ne présentent pas d'IgM, et 20 % à 30 % n'ont ni IgM ni IgA. Les IgG franchissent la barrière placentaire. Chez l'enfant, il faudra donc évaluer la part d'anticorps IgG synthétisés par l'enfant en réponse à une infection congénitale et celle d'anticorps IgG transmis par la mère. Le **profil immunologique comparé mère/enfant par immunoempreinte** (*western blot*) ou technique assimilée permet de mettre en évidence les anticorps IgG ou IgM propres à l'enfant.

Si le diagnostic n'est pas porté à la naissance, l'organisation du suivi sérologique est la suivante : contrôles sérologiques à M1, M2, M3. Cette procédure permet de diagnostiquer 94 % des toxoplasmoses congénitales au

cours des trois premiers mois. Les sérologies prélevées ensuite à M4, M6, M9 et M12 confirment les cas restants sur la persistance des IgG.

Pour affirmer l'absence de toxoplasmose congénitale, la surveillance sérologique doit être poursuivie jusqu'à disparition complète des anticorps IgG transmis par la mère en l'absence de traitement antitoxoplasmique.

4.4. Diagnostic biologique de la toxoplasmose oculaire

La suspicion de diagnostic de toxoplasmose oculaire est principalement ophtalmologique. En cas de doute, des arguments en faveur du diagnostic peuvent être apportés par l'étude de l'humeur aqueuse après **ponction de la chambre antérieure**. Les techniques utilisées sont la **PCR** et la sérologie, avec la **recherche d'une synthèse locale d'anticorps** objectivée par le calcul du coefficient de charge immunitaire, ou coefficient de Desmots ou de Goldmann-Witmer, et le profil immunologique comparé sérum/humeur aqueuse par *western blot*. La positivité de ces examens est un bon argument pour le diagnostic de toxoplasmose oculaire ; leur négativité ne permet pas de le récuser formellement. La PCR et le profil immunologique comparé sont également réalisables sur le vitré.

5. EXAMENS COMPLEMENTAIRES NON BIOLOGIQUES

Les examens non biologiques se résument à l'imagerie et l'anatomie pathologique.

En matière d'imagerie, les indications sont limitées à la toxoplasmose congénitale et à celle des immunodéprimés. **En cas de séroconversion en cours de grossesse, le suivi échographique doit être mensuel**, à la recherche de signes d'atteinte fœtale : dilatation ventriculaire, calcifications cérébrales, épaississement du placenta, hépatomégalie, ascite ou péricardite. **Chez le nouveau-né, l'échographie transfontanellaire** (figure 9) peut détecter des calcifications intracérébrales ou une dilatation ventriculaire. **Chez l'immunodéprimé, l'imagerie est fonction de la localisation clinique** : tomodensitométrie ou résonance magnétique nucléaire, en particulier pour les atteintes cérébrales, avec la traditionnelle

image en « cocarde » prenant le contraste après injection (figure 5). Les lésions sont le plus souvent multiples. **L'étude anatomopathologique** peut être faite sur les **biopsies de divers organes**, essentiellement chez les immunodéprimés. En cas d'abcès cérébral, la biopsie stéréotaxique n'est souvent pratiquée qu'en cas d'échec du traitement d'épreuve. Quelle que soit la nature des biopsies, un fragment doit toujours être adressé au laboratoire de parasitologie.

6. TRAITEMENT ET PREVENTION

6.1. Toxoplasmose acquise de l'immunocompétent :

La toxoplasmose acquise guérit le plus souvent sans traitement chez l'immunocompétent. En cas d'asthénie importante, le traitement classique repose sur la spiramycine (Rovamycine® 1,5 MUI/10 kg par jour en pédiatrie, 6 à 9 MUI par jour chez l'adulte) administrée pendant 1 mois. L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole, Bactrim®) est probablement plus efficace, mais il y a peu de données bibliographiques dans cette indication.

Seules les rares formes graves dues à des souches virulentes justifient un traitement plus puissant identique à celui prescrit chez l'immunodéprimé. Cette décision relève du spécialiste.

6.2. Toxoplasmose de l'immunodéprimé :

Le traitement de première intention est l'association pyriméthamine (Malocide®, 50 à 75 mg par jour, après une dose de charge initiale de 100 mg le premier jour) **et sulfadiazine** (Adiazine®, 100 à 150 mg/kg soit 4 à 6 g par jour). La prescription d'**acide folinique** (Lederfoline®, Osfolate®, Folinoral®) 25 mg par jour doit être systématique pour prévenir les effets secondaires hématologiques, ainsi qu'une hydratation suffisante avec alcalinisation. Dans 40 % à 60 % des cas, ce traitement est cause d'effets indésirables :

- dermatologiques, dus aux sulfamides : exanthème, volontiers fébrile, cédant le plus souvent sous traitement symptomatique. Une surveillance

clinique rigoureuse est nécessaire du fait du risque de dermatose bulleuse (syndrome de Stevens-Johnson et syndrome de Lyell) ;

- toxicité hématologique, principalement due à la pyriméthamine, toxicité qu'il faut parfois tolérer si elle ne cède pas à l'augmentation de posologie de l'acide folinique.

En cas de localisation cérébrale, la nécessité d'un traitement antioédémateux est à apprécier au cas par cas. Il faut autant que possible éviter la prescription de corticoïdes : ceux-ci, efficaces aussi bien sur l'œdème associé à la toxoplasmose cérébrale que sur les lymphomes cérébraux, pourraient être source d'erreur diagnostique.

L'alternative à ce traitement de référence est l'association pyriméthamine (50 mg par jour) et clindamycine (2,4 g par jour) (Dalacine®), dont les effets indésirables sont les mêmes, toutefois moins sévères pour ce qui est de l'exanthème, avec en plus un risque de colite pseudomembraneuse.

En cas d'intolérance majeure à ces deux associations, on peut utiliser **l'atovaquone** en suspension (Wellvone®), à 750 mg, quatre fois par jour.

Le traitement d'attaque est maintenu pendant 3 à 6 semaines. Un traitement d'entretien utilisant les mêmes molécules à demi-dose doit être poursuivi ensuite tant que dure l'immunodépression. Chez les patients infectés par le VIH, le contrôle de l'infection (charge virale non détectable) avec une remontée des lymphocytes CD4 au-dessus de 15 % et 200/mm³ deux fois de suite à 3 mois d'intervalle autorise l'interruption de la prophylaxie secondaire.

La prophylaxie primaire chez le patient infecté par le VIH fait appel à **l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole** (cotrimoxazole, Bactrim®), à la posologie de 1 comprimé à 160 mg/800 mg trois fois par semaine ou 80 mg/400 mg une fois par jour. Dans les autres situations d'immunodépression (greffe d'organe, allogreffe de cellules souches hématopoïétiques), il n'y a pas vraiment de recommandations officielles, sauf pour les greffes cardiaques en cas de discordance (mismatch) des systèmes HLA du donneur et du receveur. Toutefois, la couverture antitoxoplasmique est souvent assurée grâce à la chimioprophylaxie anti-pneumocystose, qui fait l'objet d'un plus

large consensus (allogreffés hématologiques, greffés de cœur et de rein) et repose également sur le cotrimoxazole. L'utilisation fréquente du cotrimoxazole du 30^e jour au 6^e mois postgreffe de moelle ne met pas le patient à l'abri d'une toxoplasmose de réactivation le 1^{er} mois et peut entraîner des problèmes de toxicité hématologique.

6.3. Toxoplasmose congénitale :

En cas de séroconversion en cours de grossesse, il faut prescrire à la femme un traitement par spiramycine (Rovamycine®) à 9 MUI par jour en trois prises, instaurer une surveillance échographique et programmer l'amniocentèse (figure 12).

Le traitement vise à réduire le risque global de transmission verticale ; il réduirait également le risque de toxoplasmose congénitale grave. **Si le diagnostic anténatal est positif, la femme est traitée par une association pyriméthamine-sulfadiazine** aux mêmes posologies que l'immunodéprimé, en continu, jusqu'à l'accouchement. Pour réduire le nombre de prises médicamenteuses, on peut prescrire l'association **pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar®)** à la posologie de 1 comprimé pour 20 kg tous les 10 jours. Dans tous les cas, il ne faut pas omettre d'associer l'**acide folinique** (à la posologie de 50 mg par semaine).

L'interruption médicale de la grossesse n'est justifiée qu'en cas d'anomalie échographique.

Si le diagnostic anténatal est négatif, le traitement par spiramycine est poursuivi jusqu'à l'accouchement.

Chez l'enfant, que le diagnostic ait été posé en période anténatale ou dans la période néonatale, **le traitement en continu par pyriméthamine-sulfamides est prescrit pendant au moins 1 an**. La complémentation par acide folinique est systématique (à la posologie de 50 mg par semaine). Une surveillance régulière de la toxicité hématologique par numération-formule sanguine est obligatoire. **En l'absence de preuve d'infection, l'enfant ne doit pas recevoir de traitement.**

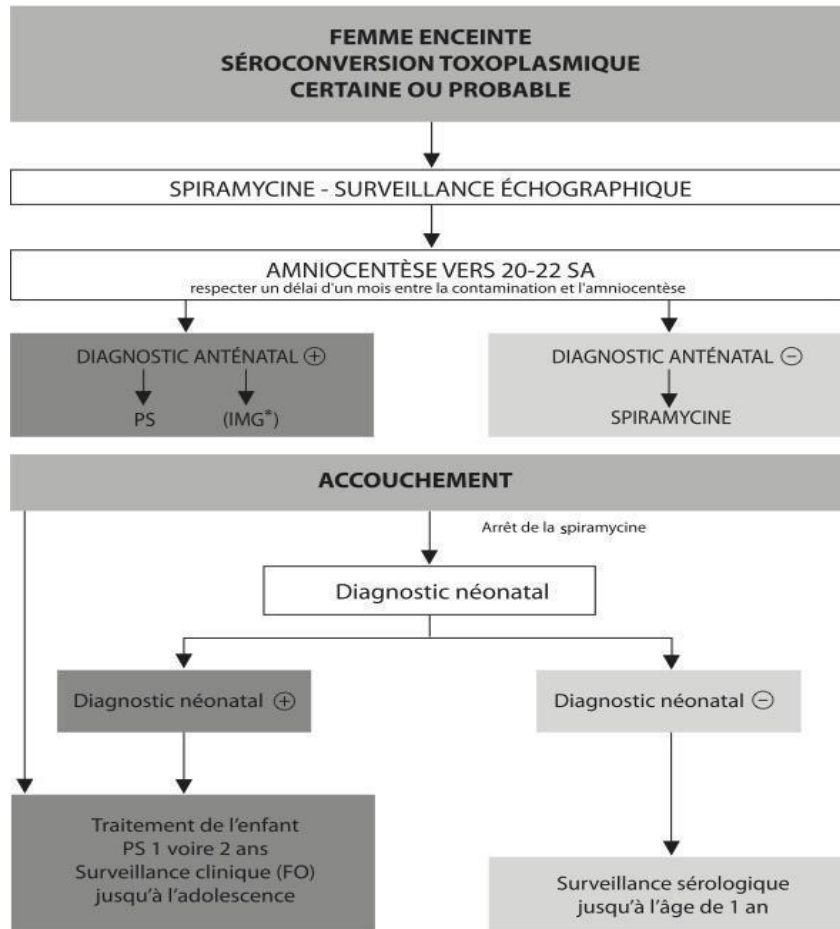


Fig. 12 : Séroconversion toxoplasmique : algorithme de prise en charge de la grossesse et du nouveau-né

Diagnostic anténatal : échographie, amniocentèse pour PCR et inoculation à la souris. Diagnostic néonatal : clinique, inoculation du placenta à la souris, profil immunologique comparé mère-enfant (*western blot*), sérologie (IgM-IgA).

* IMG uniquement si fœtus infecté et anomalies échographiques. SA, semaine d'aménorrhée ; PS, pyriméthamine-sulfamides ; IMG, interruption médicale de la grossesse ; FO : fond d'œil.

6.4. Toxoplasmose oculaire :

Le traitement de la toxoplasmose oculaire est le même (molécules et posologie) que celui de la toxoplasmose des immunodéprimés. La nécessité d'un traitement corticoïde local associé est à apprécier individuellement. Il ne doit jamais être donné seul.

6.5. Prévention :

La prévention de la toxoplasmose congénitale et de la toxoplasmose des immunodéprimés repose sur les mesures prophylactiques suivantes :

- Bien cuire la viande (bœuf, mouton, porc, cheval, gibier...), c'est-à-dire une cuisson d'au moins 65 °C dans toute l'épaisseur de la viande, ce qui correspond en pratique à une viande ne laissant pas s'écouler de jus rosé à la coupe. Éviter la consommation de viande marinée, fumée ou grillée (comme cela peut être le cas pour la viande de gibier) ; la congélation de la viande à une température de – 12 °C au minimum pendant 3 jours ou surgélation à – 18 °C tuent les kystes (la viande achetée surgelée est sans risque).
- Lors de la préparation des repas : laver soigneusement les légumes et les plantes aromatiques surtout s'ils sont terreux et consommés crus. Laver soigneusement les ustensiles de cuisine, ainsi que le plan de travail.
- Se laver les mains après contact avec des légumes, des fruits ou de la viande crue, après avoir caressé des animaux et avant de passer à table.
- Lors des repas pris en dehors du domicile (au restaurant ou chez des amis) : éviter la consommation de crudités et préférer les légumes cuits ; la viande doit être consommée bien cuite.
- Éviter les contacts directs avec les objets qui pourraient être contaminés par les excréments de chat (comme les bacs de litières, la terre) et porter chaque fois des gants en cas de manipulation de ces objets. Désinfecter les bacs des litières de chat avec de l'eau bouillante. Bien se laver les mains après contact avec les chats.
- Éviter le contact direct avec la terre et porter des gants pour jardiner. Se laver les mains après des activités de jardinage même si elles sont protégées par des gants.
- Consommer de préférence de l'eau en bouteille.
- Éviter les coquillages crus.

6.5.1. Prévention de la toxoplasmose congénitale :

Pour la toxoplasmose congénitale, la prévention repose sur le **dépistage sérologique obligatoire des femmes** associé à des conseils hygiéno-

diététiques en cas de sérologie négative. Afin de ne pas méconnaître une contamination de

l'extrême fin de la grossesse, **le dernier contrôle sérologique doit être fait 2 à 3 semaines après l'accouchement** (problème du délai d'apparition des anticorps).

6.5.2. Prévention chez les patients immunodéprimés :

La prévention de la toxoplasmose chez les greffés impose le dépistage sérologique (donneur et receveur) pour tout prélèvement d'organes, de tissus ou de cellules d'origine humaine.

Pour les personnes infectées par le VIH, le dépistage systématique de la toxoplasmose est recommandé lors du bilan initial. Si ce dépistage est négatif, le patient doit être informé des mêmes mesures prophylactiques que la femme enceinte et une surveillance sérologique semestrielle doit être instaurée. Si ce dépistage est positif, une prophylaxie primaire doit être prescrite lorsque le taux de lymphocytes CD4 est inférieur à $100/\text{mm}^3$.

En pratique, dans toutes les situations d'immunodépression, existantes ou programmées, le statut sérologique à l'égard de la toxoplasmose doit être établi avant toute prescription susceptible d'interférer dans les résultats (transfusion ou perfusion d'immunoglobulines).

Post-test

1- Parmi les propositions suivantes concernant le diagnostic biologique de la toxoplasmose, précisez celles qui sont vraies.

- A. La présence d'Ig M spécifiques permet d'affirmer une infection récente
- B. Chez l'immunocompétent, le diagnostic repose sur la sérologie
- C. Le dépistage sérologique chez la femme enceinte débute au 3^{ème} mois de grossesse
- D. Le dépistage sérologique chez la femme enceinte repose sur la recherche des Ig E
- E. Un indice d'avidité des IgG élevé exclut une toxoplasmose récente

Réponse : BE

2. Parmi les propositions suivantes concernant les femmes enceintes séronégatives pour la toxoplasmose, la ou lesquelles sont vraies ?

- A. La surveillance sérologique doit se faire chaque mois.
- B. Le dernier contrôle doit être fait plus d'une semaine après l'accouchement.
- C. L'un des facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose chez la femme enceinte séronégative est la présence d'un chat au domicile.
- D. Un dernier contrôle sérologique négatif à l'accouchement permet d'écarter le risque de toxoplasmose congénitale pour l'enfant.
- E. La séroconversion est définie par le passage d'une sérologie négative à une sérologie positive.

Réponse : ABCE

3. La toxoplasmose évolutive chez le sidéen :

- A. se caractérise par des taux d'anticorps élevés dans le sang
 - B. est due à une réactivation des bradyzoïtes intrakystiques
 - C. est la première cause des manifestations pulmonaires
 - D. les signes ophtalmologiques sont les plus fréquents
 - E. survient à des taux très bas de CD4
- Réponse : BE

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL),
Campus de Parasitologie-Mycologie.

LES LEISHMANIOSES

Pr Ali Ayadi

Objectifs

- Définir les leishmanioses
- Décrire les agents pathogènes
- Décrire le cycle évolutif
- Préciser les profils épidémiologiques des leishmanioses viscérales et tégumentaires dans le monde et en Tunisie
- Diagnostiquer les différentes formes cliniques des leishmanioses
- Préciser les principes de traitement médical et les mesures prophylactiques

Les leishmanioses sont des parasitoses du système monocytes-macrophages dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Il s'agit d'une zoonose, transmise de vertébré à vertébré par un moucheron hématophage, le phlébotome. Les leishmanioses incluent des formes viscérales (LV), des formes cutanées localisées (LCL), cutanées diffuses (LCD) et des formes cutanéomuqueuses (LCM). Cette multiplicité de tableaux cliniques résulte à la fois d'un large éventail d'espèces leishmaniennes et de la variation de la réponse immunitaire de l'hôte infecté. La description de la première espèce de *Leishmania* a été faite par Laveran et Mesnil en 1903 et, depuis, le nombre d'espèces décrites n'a cessé d'augmenter. Les leishmanioses sont endémiques dans 88 pays et quatre continents : Afrique, Amérique centrale et du Sud, Asie et Europe. Au total, 370 millions de personnes sont exposées au risque de la maladie. Chaque année, on compte 500 000 nouveaux cas de leishmaniose viscérale et le nombre de cas des diverses formes de leishmaniose dans le monde entier est estimé à 12 millions, un tiers seulement des nouveaux cas étant officiellement déclarés.

1- Épidémiologie

1.1- Agent pathogène

Le parasite est un protozoaire flagellé tissulaire qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts :

- le stade **amastigote**, sans flagelle extériorisé, est **intramacrophagique** et retrouvé chez les **hôtes vertébrés** dont l'Homme ;
- le stade **promastigote**, libre et mobile grâce à son flagelle, est retrouvé dans l'intestin du **phlébotome** et dans les milieux de culture.

Les formes amastigotes sont ovoïdes, mesurent 2 μm à 6 μm et présentent en microscopie optique, après coloration au MGG, deux inclusions pourpres caractéristiques : le noyau, arrondi, et le kinétoplaste (origine du flagelle) en bâtonnet plus sombre (figure 1).

Les formes promastigotes sont allongées, mesurant 10 μm à 25 μm de longueur (figure 2). Le noyau est central, le kinétoplaste est en position antérieure et le flagelle libre s'échappe à l'extrémité antérieure.

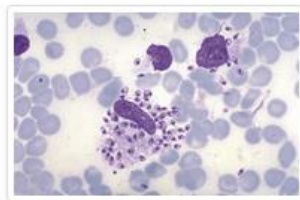


Fig. 1 Moelle osseuse : *Leishmania*, formes amastigotes (MGG ; × 1 000)



Fig. 2 Leishmanies en culture, formes promastigotes (MGG ; × 1 000)

Les leishmanies se multiplient aux deux stades par division binaire, dans la ou les vacuoles parasitophores du cytoplasme des macrophages pour les amastigotes ; libérées ensuite par lyse du macrophage, elles sont phagocytées et évoluent dans d'autres macrophages. En culture, comme

dans l'intestin du vecteur, les formes amastigotes se transforment en formes promastigotes et se multiplient par scissiparité longitudinale.

1.2 - Vecteur

Les **phlébotomes** sont des **moucheron hémaphages** (1,5 mm à 4 mm) **qui piquent surtout le soir et la nuit** par temps calme. Seule la femelle, hémaphage, assure la transmission de la leishmaniose. Leur gîte est constitué par les anfractuosités de murs et de terriers où ils se gorgent sur des micromammifères (rongeurs...), pouvant constituer le réservoir pour certaines espèces de leishmanies. Présents toute l'année en zone intertropicale, les phlébotomes apparaissent seulement l'été en région tempérée où ils confèrent à la maladie un caractère saisonnier.

1.3 - Réservoirs

Les réservoirs naturels des *Leishmania* sont des **mammifères domestiques ou sauvages** chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononucléés. Les mammifères réservoirs des *Leishmania* appartiennent à divers ordres : carnivores, rongeurs, marsupiaux, édentés, primates... ; dans ce cas, la leishmaniose est dite **zoonotique**. Lorsque l'Homme est l'unique réservoir du parasite, elle est dite **anthroponotique**.

1.4- Cycle

Chez le vecteur, les formes amastigotes sont ingérées au cours du repas sanguin (figure 3). Elles se transforment en formes promastigotes dans les heures qui suivent. Elles subissent ensuite un cycle complexe comportant de nombreuses divisions mitotiques, deux étapes de fixation à l'épithélium de la muqueuse intestinale et une phase de migration vers la partie antérieure du tube digestif, où a lieu la transformation en formes virulentes dénommées promastigotes métacycliques infectants. Ces dernières sont régurgitées **lors du repas sanguin** suivant dans le derme d'un hôte favorable. L'**inoculation intradermique de promastigotes** métacycliques induit, au site même de la piqûre, une lésion qui passe généralement inaperçue chez l'Homme et dont

le devenir dépend du tropisme cutané, muqueux ou viscéral des différentes espèces de *Leishmania*. Dès la pénétration intracellulaire, les formes promastigotes se transforment en formes amastigotes.

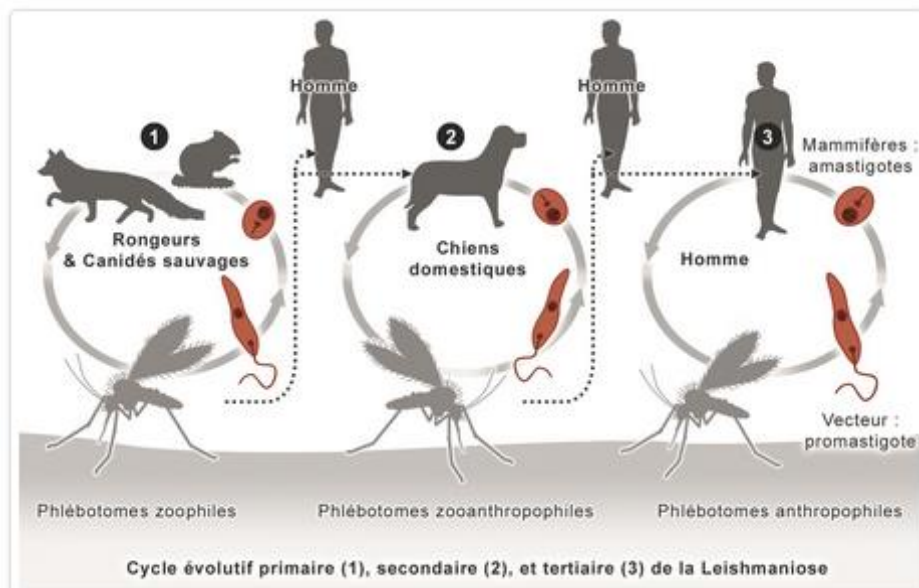


Fig. 3 Cycles évolutifs

La transmission vectorielle est le mode de contamination principal, la présence du phlébotome conditionnant la répartition de la maladie. Il existe également une transmission par échange de seringues chez les toxicomanes. Les transmissions transfusionnelles et congénitales restent exceptionnelles.

1.5- Répartition géographique

Il s'agit d'une parasitose des zones intertropicales (hormis l'Océanie) et tempérées chaudes, signalée dans 88 pays répartis en **cinq foyers : méditerranéen, chinois, indien, africain et latino-américain** (figure 4). La prévalence de la maladie est estimée à 12 millions et l'incidence annuelle à 2 millions (1,5 million de leishmanioses cutanées dont 90 % en Algérie, Afghanistan, Arabie saoudite, Brésil, Iran, Pérou, Syrie, et 500 000 leishmanioses viscérales dont 90 % au Bangladesh, Brésil, Inde, Népal et Soudan).



Fig. 4 Répartition géographique des leishmanioses

L'Europe du Sud fait partie du **foyer méditerranéen** dans la partie occidentale et septentrionale. On n'y rencontre que ***Leishmania infantum***, dont le réservoir principal est le **chien**. Chez l'Homme, la leishmaniose viscérale méditerranéenne y est l'expression clinique dominante.

2- Physiopathologie

La salive du phlébotome favorise les premières étapes de l'infection car elle contient des substances pharmacologiquement actives qui produisent une vasodilatation et une immunodépression locale. L'interaction primaire des leishmanies et des macrophages repose sur la reconnaissance, sur la face externe du parasite, de molécules de liaison par divers récepteurs présents sur la membrane des macrophages. L'infection dépend d'une phagocytose rapide des promastigotes et de leur transformation en amastigotes qui, dans une vacuole parasitophore, résistent aux mécanismes de défense cellulaire. Le parasitisme entraîne dans le macrophage une baisse des capacités de production de dérivés oxygénés et nitrogénés, complétant ainsi les mécanismes d'échappement des leishmanies à la digestion cellulaire. Les phénomènes de coopération cellulaire entre macrophages et lymphocytes T CD4 et T CD8 jouent un rôle important dans l'évolution de la maladie. Dans un bon nombre de cas, l'infection reste asymptomatique mais **des amastigotes intracellulaires peuvent rester quiescents des années**, expliquant les leishmanioses opportunistes de l'immunodéprimé. Lorsque la multiplication intracellulaire reste localisée aux macrophages et aux cellules dendritiques du site d'inoculation, les réactions cellulaires générées et les diverses cytokines produites entraînent le développement d'une lésion

cutanée localisée. Les parasites peuvent également être transportés aux ganglions lymphatiques, diffusant à d'autres sites cutanés comme dans la leishmaniose cutanée diffuse, ou aux muqueuses de la face comme dans la leishmaniose cutanéomuqueuse. Dans d'autres cas, les parasites s'étendent à tous les organes du système des phagocytes mononucléés, provoquant la leishmaniose viscérale. Dans cette forme, les organes le plus couramment atteints sont la rate (splénomégalie), le foie, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse (pancytopénie).

3 - Clinique

3.1- Leishmanioses viscérales

La leishmaniose viscérale a été décrite en Inde sous le nom de *kala-azar* (fièvre noire en sanscrit) à la fin du xix^e siècle. Elle connaît une distribution géographique très large, allant de la Chine à l'Amérique du Sud. Les grands foyers endémiques sont représentés par les foyers chinois, indiens, centre-asiatiques, est-africains, circumméditerranéens et sud-américains.

Deux espèces sont responsables de la leishmaniose viscérale : *L. donovani*, espèce anthroponotique, dans les foyers indiens et est-africains, et *L. infantum*, espèce zoonotique, dans les foyers centre-asiatiques, méditerranéens et américains.

La prépondérance infantile, historique, n'existe plus. En revanche, le **caractère opportuniste de la maladie** s'est manifesté pour le VIH avant la mise en place de la trithérapie et persiste pour les greffes d'organes. Le nombre de cas de leishmanioses coinfectées avec le VIH, particulièrement dans la forme viscérale, a augmenté dans les années quatre-vingt-dix avant l'avènement de la trithérapie antirétrovirale. Les cas de coinfection surviennent chez des adultes jeunes et 70 % d'entre eux sont toxicomanes. Le plus souvent, la coinfection est corrélée aux taux des CD4 (90 % de ces malades ont moins de 200 CD4/mm³). Chez ces patients, au tableau clinique classique peuvent s'associer, dans 15 % des cas, des manifestations cutanées, pulmonaires ou digestives. Par ailleurs, les cas après greffe d'organe sont en augmentation depuis une quinzaine d'années.

L'**incubation** est d'environ **3 à 6 mois** mais peut atteindre **plusieurs années**.

L'infection peut rester asymptomatique dans de nombreux cas.

Le tableau typique comprend un trépied symptomatique :

- la **fièvre**, qui est le signe clinique le plus précoce et le plus constant.
Cette fièvre est dite « folle », irrégulière dans la journée et d'un jour à l'autre ;
- la **pâleur** « cireuse », témoin de l'anémie ;
- la **splénomégalie**, qui peut parfois dépasser l'ombilic.

L'**hépatomégalie** est moins fréquente et les **adénopathies** sont **rare**s.

Les autres tableaux sont dissociés, paucisymptomatiques chez l'adulte ou avec des localisations inhabituelles (digestives notamment chez l'enfant ou chez le patient immunodéprimé, cutanées, muqueuses, pleuropulmonaires).

Le **diagnostic différentiel** se pose principalement avec les **hémopathies**.

Dans la leishmaniose viscérale à ***Leishmania donovani***, l'expression clinique et l'évolution diffèrent de la leishmaniose viscérale à *Leishmania infantum* par une plus grande fréquence d'adénopathies et surtout l'existence de **signes cutanés** : pigmentation bistre plus marquée en zones découvertes, maculopapules hypo- ou hyperpigmentées, nodules dermiques. Ces deux derniers types de lésions peuvent apparaître au cours de la maladie ou quelques mois ou années après la guérison clinique apparente.

La leishmaniose viscérale est une **maladie chronique** à évolution lente durant de longs mois, parfois plusieurs années. En cours d'évolution, les symptômes cliniques et les signes biologiques se majorent progressivement : amaigrissement, anémie et leucopénie s'aggravent, la thrombopénie est plus tardive, la splénomégalie s'accroît. Un état de **cachexie** s'installe avec une susceptibilité accrue aux infections. La **mort** survient le plus souvent par infection intercurrente ou hémorragie. Lorsque le traitement est institué suffisamment tôt, l'évolution est favorable et conduit à la guérison clinique, mais des parasites peuvent rester à l'état quiescent dans certaines cellules de l'organisme.

3.2- Leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses

Les leishmanioses cutanées correspondent à des atteintes exclusives de la peau, sans extension aux organes profonds ni aux muqueuses.

3.2.1- Leishmanioses cutanées localisées

C'est le classique bouton d'Orient (figure 5) ou autres dénominations vernaculaires en Afrique du Nord et Asie méridionale, le pian-bois en Guyane (figures 6 et 7), l'uta dans les vallées andines, l'ulcère des chicleros en Amérique centrale (figure 8)... Les espèces dermatropes sont nombreuses (tableau 1). Toutes les espèces anthropophiles de *Leishmania* peuvent être responsables de leishmaniose cutanée, y compris les espèces habituellement viscérotropes comme *L. infantum*. La période d'**incubation** varie entre **1 et 4 mois**. Les lésions siègent le plus souvent sur les parties découvertes et exposées à la piqure des phlébotomes (visage, mains et avant-bras, membres inférieurs). Elles débutent par une petite papule inflammatoire ou vésiculaire qui augmente régulièrement de taille.



Fig. 5 Leishmaniose cutanée : forme sèche (bouton d'Orient)



Fig. 6 Leishmaniose cutanée du Nouveau Monde : *Leishmania guyanensis* (pian-bois)



Fig. 7 Leishmaniose cutanée du Nouveau Monde : *Leishmania guyanensis* ; forme pseudo-sporotrichosique du pian-bois



Fig. 8 Leishmaniose cutanée du Nouveau Monde : ulcère des chicleros

Tableau 1 Principales espèces de leishmanies classées selon l'espèce, la répartition géographique et le tableau clinique principal

	Leishmaniose viscérale	Leishmaniose cutanée	Leishmaniose cutanéomuqueuse
Nouveau Monde Monde (Amériques)	<i>L. infantum</i>	<i>L. exicana</i> <i>L. guyanensis</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. venezuelensis</i> <i>L. peruviana</i>	<i>L. braziliensis</i>
Ancien Monde	<i>L. donovani</i>	<i>L. tropica</i>	
Europe, Afrique, Asie	<i>L. infantum</i>	<i>L. major</i> <i>L. aethiopica</i> (<i>L. infantum</i>)	

À la phase d'état, la **lésion leishmanienne** est **bien circonscrite**. Elle mesure entre un demi et une dizaine de centimètres de diamètre et a une forme arrondie ou ovale, régulière. Elle est **indolore**. Le nombre de lésions est variable et dépend du nombre de piqûres infectantes. La lésion de type **ulcéré** est le plus fréquemment rencontrée, quelle que soit l'espèce du parasite en cause. L'ulcération centrale, à fond irrégulier, est bordée par un **bourrelet périphérique, inflammatoire**, rouge, hyperpigmenté sur peau

noire : c'est la zone active de la lésion, riche en macrophages parasités, sur laquelle doit porter le prélèvement destiné au diagnostic parasitologique. L'ulcération est recouverte d'une croûte plus ou moins épaisse (figure 9). Des nodules sous-cutanés satellites sont parfois associés. Ils contiennent des parasites et témoignent de la diffusion de l'infection leishmanienne par voie lymphatique. La lésion de leishmaniose cutanée évolue de façon **torpide durant plusieurs mois**. Une surinfection bactérienne secondaire est possible, qui rend le diagnostic parasitologique aléatoire. **La lésion finit cependant par guérir spontanément**, en laissant une cicatrice indélébile.



Fig. 9 Leishmaniose cutanée : aspect ulcérocroûteux

3.2.2- Leishmanioses cutanées diffuses

Les leishmanioses cutanées diffuses sont peu fréquentes, dues à *L. amazonensis* en Amérique du Sud et *L. aethiopica* en Afrique de l'Est. La lésion élémentaire est un **nodule non ulcéré** de petite taille. Puis les nodules deviennent **très nombreux** et **disséminés** sur l'ensemble du corps. Les nodules augmentent de taille, deviennent confluents et forment de larges plaques infiltrées. L'aspect du malade s'apparente à celui d'un lépreux lépromateux, notamment au niveau du visage (aspect léonin). Cette forme de leishmaniose est rebelle aux antileishmaniens classiques.

3.2.3- Leishmanioses cutanéomuqueuses

Les leishmanioses cutanéomuqueuses sont surtout le fait de *L. braziliensis*. Cette affection évolue en deux temps, la lésion cutanée initiale pouvant être ultérieurement suivie par une atteinte muqueuse secondaire, après une phase quiescente qui peut être très longue. L'atteinte muqueuse, lorsqu'elle se produit, débute à la **muqueuse nasale** avec un granulome qui siège souvent à la partie antérieure de la cloison nasale, rapidement envahie et détruite. La perforation qui en résulte est considérée comme un symptôme quasi pathognomonique de leishmaniose cutanéomuqueuse. Lorsque la

destruction de la cloison s'étend à la partie osseuse, le nez du malade s'affaisse et prend la forme de « nez de tapir ». L'extension peut ensuite se faire au niveau de la **muqueuse buccale et du larynx**. Cette forme clinique peut aboutir à de spectaculaires et gravissimes destructions du massif facial (espundia).

4- Diagnostic biologique

4.1- Diagnostic de présomption de la leishmaniose viscérale

4.1.1- Pancytopénie

L'anémie, très fréquente, est normochrome, normocytaire, arégénérative et apparaît en premier. La leucopénie intéresse surtout les granulocytes et peut être très profonde. La thrombopénie est plus tardive et reste longtemps modérée.

4.1.2- Hypergammaglobulinémie

Elle est polyclonale et s'accompagne d'hypoalbuminémie. Le déséquilibre des protéines sériques est responsable d'un syndrome inflammatoire (vitesse de sédimentation, CRP...).

4.2- Diagnostic de certitude

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence du parasite, de son ADN et aussi d'antigènes circulants.

4.2.1- Prélèvements

Dans la **leishmaniose viscérale**, c'est la **ponction de moelle osseuse** pratiquée au sternum ou à la crête iliaque chez le jeune enfant qui est le plus souvent utilisée. La recherche d'**ADN sur sang total** est privilégiée chez l'immunodéprimé, en raison du caractère peu invasif du prélèvement. La recherche de leishmanies peut aussi s'effectuer sur du foie, des ganglions lymphatiques, la muqueuse digestive ou le liquide bronchiolo-alvéolaire.

La ponction d'une rate fragilisée, dangereuse, n'est pas fortement indiquée. Dans la **leishmaniose cutanée**, le prélèvement se fait préférentiellement au niveau de la **bordure inflammatoire de la lésion**. Il est pratiqué par grattage

au vaccinostyle ou à la curette, par aspiration à l'aiguille ou encore par biopsie à l'emporte-pièce.

4.2.2- Techniques de mise en évidence

Le matériel obtenu (par exemple, échantillons de moelle osseuse, prélèvement cutané...) permet de réaliser :

- un examen direct microscopique après étalement sur lame et coloration : le frottis est fixé et coloré par la méthode de MGG. Les formes amastigotes, intracellulaires ou extracellulaires, sont observées sur les frottis, souvent après une recherche longue et orientée ;
- une mise en culture : le prélèvement peut être ensemencé en culture sur gélose au sang : milieu NNN (Novy, McNeal, Nicolle) ou un équivalent (milieu de Schneider) incubé entre 24 °C et 28 °C. La culture est lente et peut nécessiter trois repiquages à 1 semaine d'intervalle avant de conclure à une négativité. Le parasite est, en culture, sous forme promastigote flagellée et mobile, comme chez le vecteur ;
- une recherche d'ADN par PCR : dans le cas de la leishmaniose viscérale, elle permet de poser le diagnostic et est un élément essentiel du suivi des sujets traités, en particulier pour le diagnostic de rechute chez l'immunodéprimé. Dans le cas des leishmanioses cutanées ou cutanéomuqueuses, la PCR s'avère une technique plus sensible que l'examen microscopique. De plus, une identification rapide de l'espèce est aussi possible ;
- un examen anatomopathologique des biopsies.

4.2.3 - Diagnostic immunologique

Il est utile essentiellement en cas de leishmaniose viscérale.

❖ Mise en évidence d'anticorps circulants

La leishmaniose viscérale s'accompagne d'une réponse immunitaire humorale, avec apparition de titres élevés d'anticorps sériques, qui peuvent toutefois faire défaut chez l'immunodéprimé. Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses sont peu expressives sur le plan sérologique. Les techniques présentent une excellente sensibilité mais une spécificité variable. Les techniques immunologiques les plus utilisées sont l'ELISA, les

réactions d'immunofluorescence indirecte, et d'hémagglutination indirecte. L'immunoempreinte (*western blot*) est la technique la plus sensible.

❖ **Mise en évidence d'antigènes circulants**

Une méthode : Katex a été mise au point pour la détection d'antigènes circulants dans les urines.

5- Traitement et prévention

5.1- Molécules disponibles

5.1.1- Antimoniés pentavalents

L'efficacité des antimoniés dans le traitement des leishmanioses est confirmée par près d'un siècle d'utilisation. Les produits disponibles sont l'antimoniate de méglumine (Glucantime®) et le stibogluconate de sodium (Pentostam®). Le traitement se prescrit par voie intramusculaire, intraveineuse ou en intralésionnel (formes cutanées). Dans les leishmanioses viscérales, la posologie est de 20 mg/kg par jour de dérivé pentavalent d'antimoine pendant 4 semaines. En raison de sa toxicité cardiaque (conduction ventriculaire), rénale et pancréatique, ce traitement, peu onéreux par lui-même, impose un suivi biologique et clinique étroit. C'est le traitement de première intention dans les zones d'endémie à faibles revenus. Malheureusement, en Inde, les résistances aux antimoniés sont de plus en plus fréquentes.

5.1.2- Amphotéricine B liposomale

L'amphotéricine B conventionnelle est actuellement remplacée par une formulation lipidique, la forme liposomale étant la plus utilisée (Ambisome®). Ce produit a l'AMM pour son usage dans la leishmaniose viscérale et a montré une toxicité inférieure à celle de la forme conventionnelle, avec une efficacité accrue dans la leishmaniose viscérale du sujet immunocompétent et immunodéprimé. Le protocole proposé chez le patient immunocompétent est une injection quotidienne de 3 mg/kg pendant 5 jours, plus une injection à même dose au 10^e jour (dose totale : 18 mg/kg). Une dose cumulée plus élevée est sans doute nécessaire chez l'immunodéprimé.

5.1.3- Pentamidine

Seul l'iséthionate de pentamidine, commercialisé sous le nom de Pentacarinat®, est disponible. Il est aujourd'hui surtout utilisé comme médicament de première intention dans le traitement de certaines formes de leishmaniose cutanée en cure courte. Il s'administre en milieu hospitalier, par voie parentérale à la dose de 4 mg base/kg. La pentamidine peut induire des effets secondaires immédiats, de type allergique ou local, surtout en cas de perfusion rapide. Les effets toxiques survenant au cours d'une série d'injections sont dépendants de la dose et peuvent atteindre les muscles, le rein, les lignées sanguines, le pancréas et entraîner des diabètes insulino-dépendants.

5.1.4- Miltéfosine

La miltéfosine (Impavido®) est le premier médicament oral disponible pour le traitement de la leishmaniose viscérale et cutanée. Il est efficace et moins toxique que la pentamidine ou les antimoniés. La dose recommandée est de 2,5 mg/kg par jour. La dose journalière totale maximum est de 150 mg. C'est une autre solution à la chimiorésistance, bien que la molécule soit abortive et tératogène.

5.1.5 - Autres anti-leishmaniens

L'aminosidine sulfate, ou paromomycine, est d'efficacité démontrée dans la leishmaniose viscérale à *L. donovani* en Inde (voie intramusculaire) et dans la leishmaniose cutanée localisée à *L. major*. L'atovaquone et des triazolés, seuls ou associés à des antimoniés, font l'objet de quelques essais limités.

5.2- Indications thérapeutiques

5.2.1- Leishmaniose viscérale

Le traitement fait appel à l'amphotéricine B sous sa forme liposomale (Ambisome®). Les antimoniés pentavalents sont aussi d'excellente efficacité mais demandent un nombre beaucoup plus élevé d'injections (vingt-huit) et sont associés à un nombre plus élevé d'effets indésirables.

Les récurrences sont exceptionnelles chez l'immunocompétent. En revanche, chez les patients co-infectés par le VIH, les guérisons sont incomplètes et les

récidives fréquentes. La prophylaxie secondaire est indispensable mais les schémas thérapeutiques demandent à être validés.

5.2.2- Leishmaniose cutanée

Le choix thérapeutique se fera en fonction de l'espèce de *Leishmania* identifiée, du nombre de lésions et de leurs localisations. L'abstention thérapeutique se justifie dans certaines formes bénignes à *L. major* de l'Ancien Monde. Le traitement local est indiqué en cas de lésion unique (ou peu nombreuses), sans diffusion lymphangitique, siégeant en dehors de zones péri-orificielles. Les infiltrations péri-lésionnelles d'antimoniés pentavalents associées à une cryothérapie superficielle représentent le traitement le plus efficace (une à trois infiltrations, une fois par semaine).

La voie parentérale (par un antimonie ou par la pentamidine) est choisie lorsque la leishmaniose cutanée récidive, en cas de diffusion lymphangitique et dans toutes les formes à *L. guyanensis* et *L. braziliensis* ou en cas de localisations multiples.

5.2.3- Leishmaniose cutanéomuqueuse à *L. braziliensis*

La lésion cutanée primaire est traitée par les antimoniés pentavalents pendant 20 jours pour éviter la diffusion des parasites vers les muqueuses faciales. Le traitement des atteintes muqueuses est d'autant plus efficace qu'il est réalisé précocement et dure 28 jours, limitant ainsi l'extension des mutilations.

5.3- Prévention

La lutte contre les réservoirs sauvages est illusoire et les campagnes d'élimination des chiens porteurs n'ont qu'une efficacité transitoire.

Les mesures prophylactiques individuelles sont destinées à éviter la piqûre des phlébotomes. Elles consistent en des pulvérisations domiciliaires et péri-domiciliaires de pyréthri-noïdes de synthèse et en l'utilisation de moustiquaires imprégnées de pyréthri-noïdes. Le port de colliers insecticides chez le chien dans les foyers de leishmaniose viscérale à *L. infantum* est recommandé.

Evaluation :

1- Le vecteur des leishmanies est :

- A. un moustique
- B. une tique
- C. une mouche
- D. un phlébotome
- E. une punaise

Réponse : D

2- Concernant les leishmanioses viscérales :

- A. Il existe une période d'incubation de quelques jours
- B. La clinique comprend un trépied symptomatique : fièvre folle, anémie et hépatomégalie
- C. Le diagnostic différentiel se pose principalement avec les hémopathies
- D. C'est une maladie chronique opportuniste
- E. Même après la guérison clinique, il peut subsister des parasites à l'état quiescent.

Réponse : CDE

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

AMOEBOSE INTESTINALE

(NOUVELLE APPELLATION DE'AMIBIASE)

Pr Fatma Cheikhrouhou

Objectif

définir l'amibiase

décrire l'agent pathogène *Entamoeba histolytica*

décrire le cycle évolutif saprophytique et pathogène

Connaître l'épidémiologie de l'amibiase,

préciser les conditions favorisantes et les modalités de contamination

expliquer la physiopathologie de l'amibiase intestinale et viscérale

diagnostiquer une amibiase intestinale et viscérale sur le plan clinique et paraclinique

prescrire un traitement en cas d'amibiase intestinale et hépatique

proposer des conseils prophylactiques individuels et collectifs.

1/ DEFINITION :

L'amoebose intestinale est l'état pathologique résultant de l'infestation humaine par la forme pathogène de l'amibe *Entamoeba histolytica*. Elle peut rester un certain temps asymptomatique puis se manifester par une atteinte essentiellement colique avec parfois d'autres localisations viscérales.

C'est la maladie liée au péril fécal et bien que cosmopolite, elle prédomine dans les régions tropicales du tiers monde. Elle affecte 10% de la population mondiale soit 500 millions présentant une amibiase maladie provoquant 40 000 décès /an parfois sévères d'amibiase intestinale ou extra intestinale; ce qui place l'amibiase au 2^{ème} rang après le paludisme en terme de morbidité dû à des protozoaires. La prévention reste difficile et repose sur l'hygiène alimentaire.

2/ EPIDEMIOLOGIE :

2.1/ Agent pathogène

E. histolytica est classée (Schaudin 1903) dans le sous embranchement des protozoaires *Sarcoidina* (parasite unicellulaire) à la classe des rhizopodes (se déplaçant à l'aide de pseudopodes et au genre *Entamoeba*.

Le genre *Entamoeba* comprend 6 espèces qui colonisent le tube digestif: *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. polecki*, *E. coli*, *E. hartmanni*.

2.1.1/ Ambiguïté taxonomique *E. histolytica*/*E. dispar* :

E. histolytica est la seule pathogène chez l'homme. Les autres sont considérés non pathogènes. Les caractères morphologiques observés à l'examen parasitologique des selles ne permettent pas généralement de faire la différence entre *Entamoeba histolytica* et *E. dispar* ou *E. moshkovskii*, deux amibes identiques à la première, mais non pathogènes. Elles sont différentes sur le plan biochimique, génétique et moléculaire.

2.1.2/ Morphologie : l'amibe *E. histolytica*

Elle peut se présenter sous trois formes :

- Forme végétative minuta responsable de l'infestation
- Forme végétative *histolytica* responsable de la maladie
- Forme kystique responsable de la transmission

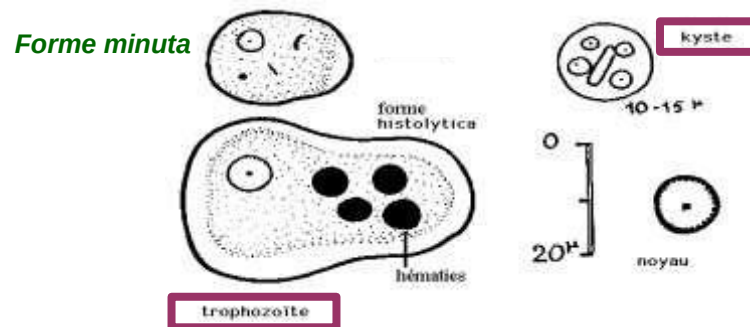
La forme minuta et le kyste sont communs pour les 3 espèces. La forme *histolytica* (forme invasive) n'existe que chez *E. histolytica*.

a) ***E. histolytica histolytica***: Cette forme végétative de 20 à 40 µm, hématophage (la présence des globules rouges permet de différencier *E. histolytica* d'*E. dispar*), très mobile (pseudopodes), et vit dans les tissus (épaisseur de la paroi colique, tissus hépatique). On la retrouve dans les selles dysentériques. C'est la forme virulente pathogène qui se multiplie par simple division asexuée.

b) **Forme minuta**: C'est une forme végétative plus petite 10-15µm, non hématophage, commensale dans la lumière colique et peut être présente dans les selles de sujets apparemment sains.

c) **Kyste**: 10-15µm ; entouré d'une coque épaisse et résistante. C'est la forme de résistance et de dissémination, contient 1 à 4 noyaux. Les kystes résistent aux concentrations usuelles de nombreux désinfectants en particulier à l'eau de javel. Ils sont rapidement détruits par la dissécation (quelque jours), la chaleur > à 55°C et la congélation. Les climats tropicaux

chauds et humides favorisent une longue conservation des kystes dans le milieu extérieur.



2-2. Cycle évolutif :

2-2-1. Cycle non pathogène :

L'amibiase infestation: le kyste infestant à 4 noyaux, ingéré avec l'eau ou la nourriture souillée, perd au niveau de la lumière intestinale sa coque. Une division nucléaire donne naissance à huit amibes qui se transforment au niveau du colon en forme minuta. Ce cycle au cours duquel à aucun moment il n'y a attaque de la muqueuse intestinale et celui qui se déroule chez les malades en période de rémission et chez les porteurs sains dont le rôle est capital dans la dissémination du parasite. Après un certain nombre de divisions les formes minuta s'arrêtent de se reproduire, s'immobilisent et deviennent des prékystes à un noyau. Après 2 divisions nucléaires on obtient des kystes à 4 noyaux

2-2-2. Cycle pathogène :

C'est le cycle d'amibiase maladie observé uniquement avec *E. histolytica*. Il n'intervient pas dans la transmission de la maladie. Dans certaines circonstances, les formes végétatives minuta peuvent passer au stade pathogène: L'amibe prend alors le nom d'*E. histolytica histolytica* qui est caractérisée par son hémaphagie, grossit et acquiert un pouvoir nécrosant, se fixe à la surface de l'épithélium colique et pénètre les cellules intestinales, gagne la sous muqueuse et crée des lésions typiques. Tout en se multipliant activement, elle force la paroi des capillaires et des veinules et passe dans le

système porte et sera emportée passivement dans le foie qui réalise la principale localisation extra intestinale. Plus rarement elle peut passer par contiguïté vers le poumon ou par voie hématogène et constitue des métastases à distance (cerveau, rate, rein)

2-3. Mode de contamination:

C'est une maladie liée au péril fécal. La contamination de l'homme se fait par voie orale par ingestion des kystes matures.

2-3-1. Contamination directe:

Par les mains et ongles sales ou contact oro-anal chez les homosexuels

2-3-2. Contamination indirecte:

- eau, fruits tombés à terre, légumes crus (salades) et ou cultivés avec enrichissement par les engrais humains,

- les mouches peuvent ramasser après contact avec les matières fécales, des kystes puis les déposent sur les aliments ou ustensiles.

Il faut retenir que la transmission de l'amibiase est étroitement liée au niveau d'assainissement, d'hygiène, de la situation socio-économique et au climat. Il faut souligner aussi le rôle des manipulateurs de dérivés alimentaires, qui s'ils sont des porteurs sains peuvent éliminer jusqu'à 6 millions de kystes/100g de selles. Ce qui justifie les contrôles périodiques en médecine de travail.

2-4. Répartition géographique:

L'amibiase est une parasitose cosmopolite, elle sévit principalement dans les zones chaudes et humides du globe. L'épidémiologie d'*E.histolytica*, *E.dispar* et *E. moshkovskii* demeure incertaine puisque les données publiées s'appuyaient sur des méthodes diagnostic ne permettant pas de différencier entre les 3 espèces.

E. dispar semble 10 fois plus fréquente qu'*E. histolytica* avec 500 millions de personnes infectés par *E histolytica* / *E dispar* sont en fait porteur d'*E dispar*. La mortalité et la morbidité par l'amibiase est surtout décrite dans les régions sous développées d'Amérique, du Sud d'Afrique et d'Inde. En Tunisie, la

prévalence de l'amibiase est mal connue (données fragmentaires). Elle était fréquemment rapportée dans le sud et devenue beaucoup plus rare. *E dispar* semble avoir supplanté *E histolytica*. La fréquence du portage des kystes est de 1 à 2 %.

L'amibiase extra intestinale est rare.

3/ PHYSIOPATHOLOGIE

3-1. Acquisition du pouvoir pathogène:

3-1.1. Facteurs liés à l'hôte:

- L'état immunitaire du porteur a souvent été évoqué
- Le rôle des facteurs locaux semble mieux établi : existence de petits foyers hémorragiques au niveau du colon, affection bactérienne ou virale associée, abaissement du PH intestinal.

3-1.2. Facteur lié à la virulence de la souche :

Les formes graves sont plus fréquentes en Asie et au Mexique

3-2. Physiopathologie de l'amibiase intestinale:

En pénétrant dans la paroi colique, les formes pathogènes entraînent:

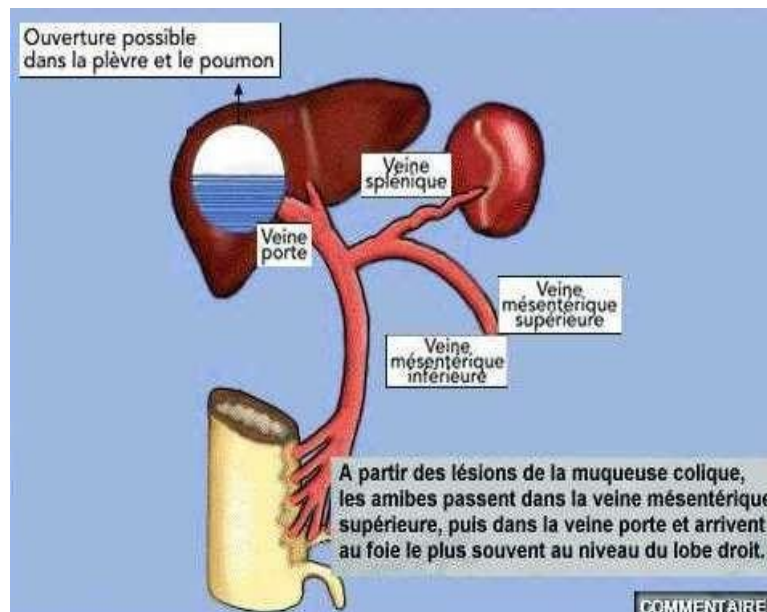
⇒ Les lésions intestinales qui siègent surtout au niveau du caecum et du colon sigmoïde « colite bipolaire ». Ce sont au début des lésions inflammatoires puis des érosions et enfin des ulcérations recouvertes d'un enduit sanguin:«abcès en bouton de chemise».

⇒ Dans l'épaisseur de la paroi intestinale, les parasites excitent les filets nerveux, moteurs, sécrétoires ou sensitifs et provoquent un hyperpéristaltisme (émission fréquente de selles), une hypersécrétion muqueuse et des douleurs.

Ainsi s'expliquent les principaux symptômes de l'AIA. L'amibe peut pénétrer en profondeur et causer des perforations intestinales. Elle érode parfois la paroi des vaisseaux sanguins et par le courant portal, est entraîné vers le foie ou vers autres viscères ou se produisent les principales complications de l'amibiase.

3-3. Physiopathologie de l'amibiase hépatique :

L'hépatite amibienne est la localisation la plus fréquente et siège surtout au niveau du lobe droit. Il y a deux stades : pré-suppuratif et d'abcès collectés.



3-4- Les lésions pulmonaires:

Sont comparables aux précédentes dont elles peuvent dériver par contiguïté (poumon droit).

4/CLINIQUE:

Le portage asymptomatique ou amibiase infestation est l'évènement le plus fréquent (90% des cas) parmi les individus parasités par l'*E. histolytica* qui sont les plus dangereux car ils transmettent la maladie.

4-1- Amibiase intestinale :

Il convient de distinguer 3 formes cliniques qui diffèrent par la nature, le pronostic et le traitement.

4-1-1- Amibiase intestinale aiguë ou dysenterie amibienne:

Elle est d'apparition brutale, le syndrome dysentérique associe:

➤ Des selles nombreuses (10 à 15/j) qui deviennent afécales, faites uniquement de glaire et de sang comparé à un « crachat rectal ».

- Des douleurs abdominales à type d'empreinte (faux lésions) et de ténésme (contractures douloureuses du sphincter anal).
- Le malade est apyrétique et son état général est longtemps conservé (pas de déshydratation profonde)

➤ L'examen clinique est pauvre, l'abdomen est sensible à la palpation et l'on perçoit parfois le colon spasmodique ou érectile. Le foie est indolore. Le toucher rectal est douloureux, révèle un rectum libre de toute tuméfaction et le doigtier revient glairo-sanglant.

Evolution: correctement traitée, la crise cède rapidement en quelques jours la guérison se fait généralement sans séquelle. Non traité, l'évolution est défavorable, avec rechute et complications.

4-1-2-Formes cliniques :

4-1-2-1- forme atténuée: les plus fréquentes, elles associent: des douleurs coliques moins violentes localisées aux fosses iliaques, une diarrhée plus ou moins banale (4 à 8x/ jours) et des selles pâteuses. La rectosigmoïdoscopie joue un rôle essentiel dans le diagnostic.

4-1-2-2- Dysenterie amoebo-bacillaire: En Asie du Sud est, l'association amébose Shigellose est fréquente provoquant des diarrhées abondantes avec fièvre, déshydratation et altération de l'état général.

4-1-2-3- A. colique maligne : rare, sévit en Afrique tropicale de l'Ouest, le sud est asiatique et au Mexique. C'est un syndrome toxi-infectieux sévère.

4-1-3- séquelles : colopathie post amibienne

Malgré un déparasitage total, après une AIA, peuvent persister des séquelles dues à des phénomènes scléro-inflammatoires et neuro-végétatifs. L'ensemble constitue la colite chronique post amibienne (souvent les amibes ont disparu).

4-1-4-complications intestinales :

à type d'hémorragie digestive par perforation, de Syndrome occlusif par brides cicatricielles, rétrécissement rectal et d'Amébobome : tumeur colique

granulomateuse bénigne siégeant électivement au niveau du coecum et du sigmoïde simulant cliniquement et radiologiquement un cancer colique qu'il faut toujours chercher à l'éliminer.

4-2- Amibiase extra-intestinale :

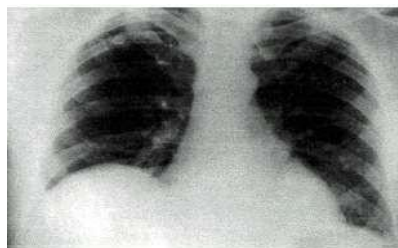
4-2-1- Amibiase hépatique

C'est la forme la plus fréquente. Elle peut survenir au cours d'une AIA ou sembler d'emblée primitive. La forme type correspond à l'hépatite amibienne diffuse pre-suppurative et réalise la triade de Fonton avec fièvre, douleur, et HMG. La douleur souvent violente siège dans l'hypochondre droit et irradiant vers l'épaule droite (douleur en bretelle spontanée). Elle est exacerbée à la palpation et à l'ébranlement. La fièvre est souvent modérée 38°C en 24 à 48H. L'HMG est plus au moins marquée avec un foie ferme, douloureux à la palpation avec un bord inflammatoire mousseux.

L'altération de l'état général est variable. A un stade plus avancé, d'abcès amibien constitué, il s'agit plutôt d'un tableau de suppuration profonde avec une HMG douloureuse et fébrile associé dans 1/3 des cas à un syndrome pleuro-pulmonaire (toux, dyspnée, douleur).

Le diagnostic doit être rapidement confirmé par:

➤ Rx thorax: coupole diaphragmatique droite surélevée parfois déformée en brioche par l'abcès



➤ Echographie: zone liquidienne pure anéchogène avec renforcement postérieur. Elle précise le nombre, la localisation, le volume et le stade évolutif

➤ Scanner + IRM : précise des lésions nécrotiques dès la taille de 1cm, met en évidence une zone hypo dense dans le parenchyme hépatique.

- La ponction sous écho: (proscrite dans la zone d'endémie hydatique) ramène un pus généralement de couleur chocolat dépourvu d'amibes (les amibes étant hématophages restent dans les parois de l'abcès)
 - Biologiquement : VS élevé (50 à 100 à la 1^{ère} H) associée le plus souvent à hyperleucocytose à PNN. L'EPS est sans intérêt. La Sérologie amibienne est très utile voire indispensable,
- ⇒ Correctement traité, l'évolution est favorable.

- Amibiase pleuro-pulmonaire:

Elle est presque toujours secondaire à une amibiase hépatique

- ⇒ Forme non suppurée : pneumopathie aigue de la base droite
- ⇒ Forme suppurée: abcès pulmonaire qui peut s'ouvrir (vomique brun chocolat

Rx: opacité arrondi avec une zone claire plus au moins étendue

- Autres localisations : rares: cerveau péricarde, rate, rein, périnée

5/ DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE:

5-1-Diagnostic parasitologique:

5-1-1- Amibiase intestinale :

-La recherche des formes hématophages *E. histolytica* à l'examen parasitologique des selles récemment émises au laboratoire. Les formes végétatives sont très fragiles. On les trouve dans les selles afécales, mucosité glairo-sanglante ou prélèvement sous rectoscopie. La recherche et l'identification se font sur l'examen direct ou après coloration MIF.

-Recherche des kystes et forme minuta : chez les malades en période de rémission et chez les porteurs sains à l'examen direct ou après coloration au Lugol et la Concentration de Ritchie modifiée.

-Antigènes solubles (copro antigènes):par ELISA.

5-1-2- abcès hépatique et pleuro-pulmonaire:

La recherche d'*E. histolytica histolytica* est effectuée dans le liquide de ponction hépatique obtenu en fin de drainage sous échographie.

5-2-Diagnostic sérologique :

La recherche d'anticorps est intéressante dans les amœbomes et les Amibiases extra intestinale. La sérologie est déterminante dans l'Amibiase hépatique et elle est fortement positive après quelques jours d'évolution.

L'EPS peut être négatif.

5-3-Anatomopathologie :

A la périphérie de la lésion intestinale et hépatique

5-4- Différenciation entre E histolytica, E dispar et E.

moskovski: D'après l'OMS, seule *E. histolytica* est pathogène. Son identification s'impose ainsi que sa différenciation avec *E dispar* et *E moshkovskii* qui ne seront pas sujettes à un traitement. L'identification se fait par l'identification de la forme végétative hématophage à l'examen direct, La recherche d'antigènes spécifiques dans les selles par méthode ELISA et l'Identification moléculaire par PCR

6/TRAITEMENT:

Il s'effectue en deux phases : utilisation d'un antiamibien diffusible (amœbicide tissulaire) pour traiter l'épisode, puis d'un antiamibien de contact (amœbicide de contact) pour traiter la colonisation intestinale.

7/ PROPHYLAXIE :

Action sur le réservoir : Dépister et traiter les porteurs asymptomatiques. En Tunisie, les manipulateurs de denrées alimentaires sont systématiquement contrôlés.

Action sur la transmission : toutes les mesures de lutte contre le péril fécal

8/ CONCLUSION :

Les cliniciens doivent suivre les recommandations de l'OMS 1997, incluant la nécessité de différencier entre *E histolytica* et des autres espèces morphologiquement identique et qui sont non pathogène.

Post-test

Cas clinique

Un homme âgé de 30 ans a consulté pour une fièvre irrégulière (38,5°C-39°C) associée à une pesanteur basithoracique droite augmentée et une toux non productive.

L'interrogatoire retrouve la notion d'un épisode diarrhéique important avec présence de traces de sang dans les selles survenu il y'a deux mois. A l'auscultation le murmure vésiculaire est diminué au niveau de la base droite. L'hypocondre droit est douloureux à la palpation. VS > 80mm à la 1^{ère} heure. GB : 14.4 G/L avec 84% de PNN

1- Quelle parasitose évoquez-vous en première intention ?

.....

2- Quels examens paracliniques demandez-vous pour confirmer votre diagnostic ?

.....

.....

3- Comment expliquez-vous les manifestations respiratoires?

.....

.....

4- Quel traitement prescrivez-vous ?

.....

Concernant *Entamoeba histolytica* :

- A-** L'un des réservoirs naturels est le sol
- B-** La diffusion aux organes de l'amibe est facilitée par la virulence de la souche
- C-** Les trophozoïtes sont la forme de dissémination de la maladie
- D-** On retrouve des kystes dans les selles des porteurs sains
- E-** Les trophozoïtes sont immobiles et se multiplient dans la lumière colique

LA GIARDIOSE

Pr Fatma Cheikhrouhou

Objectifs

Connaître les conseils d'hygiène et de prévention adaptés aux diarrhées due à une giardiose

Connaître les indications et savoir interpréter les résultats d'un examen parasitologique des selles.

1/ DEFINITION

Giardia intestinalis : *G. lamblia*, *G. duodenalis* : c'est le protozoaire cosmopolite le plus commun au cours des infections intestinales humaines.

Cet organisme unicellulaire flagellé, qui infecte l'intestin grêle de l'homme et de nombreux mammifères, est extrêmement répandu dans le monde et est responsable d'une importante morbidité. *Giardia intestinalis* infecte approximativement 2% des adultes et entre 6 à 8% des enfants dans les pays développés. La manipulation des couches-culottes et une mauvaise hygiène des mains dans les crèches peuvent être un mode de dissémination de la maladie dans une communauté de jeunes enfants.

2/ AGENT PATHOGENE

Giardia intestinalis se présente sous deux formes : la forme végétative, ou trophozoïte, qui est responsable de la maladie, et la forme kystique qui est responsable de la survie dans le milieu extérieur et la contamination.

Forme végétative

Les trophozoïtes mesurent de 10 à 20 μm de long, sont aplatis avec une extrémité antérieure large, et sont mobiles. Les trophozoïtes possèdent deux noyaux morphologiquement identiques. Quatre paires de flagelles sont réparties sur chaque face et assurent la mobilité

Forme kystique : 8 à 10 μm de diamètre, et constitue la forme de résistance. C'est la forme la plus souvent rencontrée à l'examen microscopique des selles.

3/ CYCLE

L'homme se contamine essentiellement par ingestion de kystes à partir de l'eau de boisson, moins souvent par les aliments souillés, ou par contact fécooral direct ou manuporté. Les kystes se transforment en trophozoïtes dans le duodénum sous l'action des sucs digestifs et du pH. Ils se multiplient par scissiparité puis redonnent des kystes avant d'être éliminés dans les selles.

4/ CLINIQUE

La symptomatologie est très variée, entre le portage asymptomatique fréquent et les formes graves rares. Les manifestations les plus fréquentes débutent 1 à 3 semaines après la contamination et sont marquées par une diarrhée modérée, des douleurs abdominales hautes, épigastriques, des nausées et une anorexie. Une perte de poids, une distension abdominale, des selles malodorantes et décolorées sont observées.

Les symptômes peuvent persister plusieurs mois, chez les enfants en particulier. En cas d'infection chronique et massive, des signes de malabsorption (stéatorrhée) peuvent apparaître avec des carences vitaminiques.

5/ DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic biologique repose sur des examens parasitologiques des selles répétés. On met fréquemment en évidence les kystes, plus rarement les trophozoïtes en cas de diarrhée à transit rapide. Dans certains cas, l'aspiration de liquide duodénal permet de faire le diagnostic.

6/ TRAITEMENT ET PREVENTION

Le traitement fait appel aux nitro-imidazolés : métronidazole (FLAGYL®) ou tinidazole (FASIGYNE®) ou secnidazole (SECNOL®). Un contrôle des selles un mois après la fin du traitement est conseillé.

LES NEMATODOSES INTESINALES

Objectif éducationnel

Diagnostiquer et prendre en charge les nématodoses intestinales : l'oxyurose, l'ascaridiose, la trichocéphalose, ankylostomoses et anguillulose.

A- OXYUROSE

Pr Sourour Néji

INTRODUCTION

L'oxyurose est une helminthose intestinale, fréquente, strictement humaine et familiale, causée par un nématode cosmopolite : *Enterobius vermicularis*.

1 – ÉPIDEMIOLOGIE

1.1 - Agent pathogène

1.1. 1 - Adultes

L'oxyure adulte est un ver rond et blanc. Le mâle mesure 5 mm de long. La femelle, de 10 mm, seule visible sur les selles ou la marge anale, a un corps effilé à l'extrémité postérieure (figure 1).



Fig. 1 *Enterobius vermicularis* (oxyure), adulte femelle (1 cm à 1,5 cm)

1. 1. 2 - Œufs

Les œufs, incolores et lisses, ont une forme ovalaire asymétrique (figure 2). Ils mesurent de 50 à 60 µm de long sur 30 à 32 µm de large.

Dès la ponte, habituellement sur la marge anale, ces œufs renferment un embryon mobile et sont infestants en moins de 6 heures.



Fig. 2 Test à la cellophane adhésive anal : *Enterobius vermicularis*, œufs (30 × 55 µm)

1. 2 - Cycle

Les oxyures adultes vivent dans la région cæcoappendiculaire. Les femelles gravides migrent vers la marge anale, s'y accrochent et pondent des milliers d'œufs au niveau des plis radiés. Cette ponte est vespérale et nocturne. Les œufs sont pondus embryonnés, rapidement infestants : cette particularité permet l'auto-infection.

La contamination se fait par ingestion des œufs émis dans le milieu extérieur. La grande quantité d'œufs embryonnés présents dans l'environnement des patients (chambres en milieu familial, collectivités d'enfants, casernes, pensionnats...) explique la forte contagiosité de cette parasitose. Les œufs restent viables plusieurs jours dans les vêtements, les draps, sur les objets et sur le sol. Un sujet sain s'infecte facilement en portant les mains ou un objet souillé à la bouche. La contamination peut se faire par inhalation des œufs remis en suspension dans l'air. Les œufs éclosent sous l'effet des sucs digestifs et libèrent les larves dans l'intestin grêle. Elles deviennent adultes après plusieurs mues dans la région cæcoappendiculaire. Le cycle dure 28 jours, il est monoxène et court (figure 3).

Cosmopolite, rencontrée sous tous les climats, l'oxyurose est très répandue, surtout chez les enfants (50 % à 90 % des enfants d'âge scolaire sont infectés).

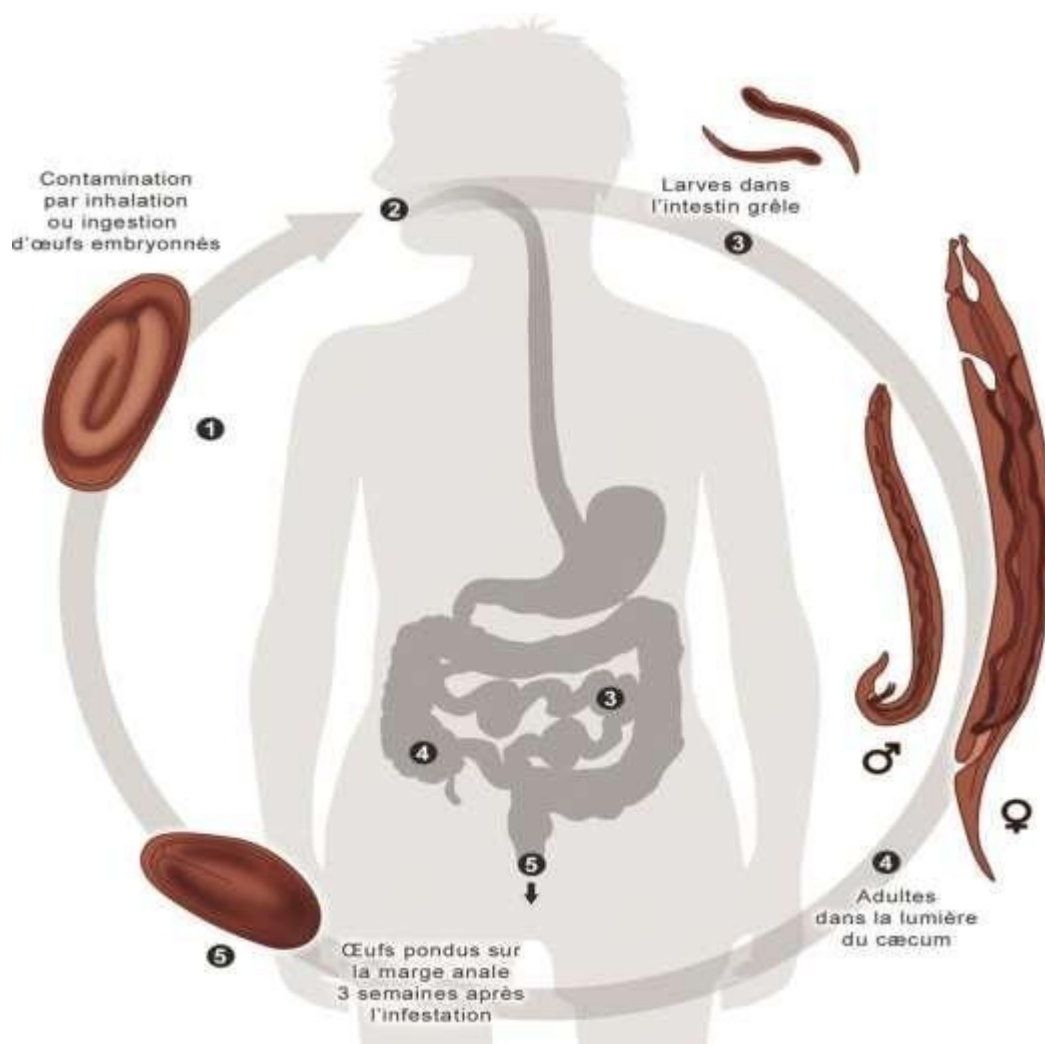


Fig. 3 Cycle évolutif de l'oxyure

2 - PHYSIOPATHOLOGIE

La localisation des femelles et l'émission des œufs au niveau de la marge anale entraîne le prurit anal vespéral. L'action irritative des vers adultes dans l'iléon terminal et le cæcum pourrait expliquer la symptomatologie digestive pseudoappendiculaire. Chez la fillette et la femme, les oxyures égarés peuvent entraîner un prurit vulvaire.

3 - CLINIQUE

En général, le portage d'*E. vermicularis* est asymptomatique. La clinique est dominée par un **prurit anal**, prédominant le soir au moment du coucher (vespéral). Il peut s'accompagner de lésions péri-anales de grattage.

Des épisodes de diarrhée, de douleurs abdominales, de manifestations nerveuses (irritabilité, cauchemar...) et de vulvite chez la petite fille sont classiques.

Les oxyures peuvent être retrouvés à l'examen histologique de pièces d'appendicectomie, sans lien de causalité établi avec l'appendicite.

4 - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Une hyperéosinophilie sanguine modérée peut être constatée en fin de période d'incubation.

Classiquement, la présence de petits vers blancs et mobiles, correspondant aux femelles adultes, sur les selles ou sur la marge anale permet un diagnostic aisé.

La recherche des œufs pondus sur la marge anale permet une identification facile de cette parasitose. Elle doit être réalisée le matin avant toute toilette locale et toute défécation. La meilleure technique est le test de Graham, ou **test à la cellophane adhésive** (« Scotch®-test » anal), qui consiste à appliquer contre les plis radiés de l'anus la face collante d'un ruban adhésif transparent. Celui-ci, une fois collé sur une lame porte-objet, est transporté vers un laboratoire et examiné au microscope où l'on peut voir à faible grossissement les œufs caractéristiques.

Le diagnostic sérologique n'a pas d'intérêt.

5 - TRAITEMENT ET PREVENTION

Le traitement repose sur les benzimidazolés en comprimés ou en suspension : flubendazole (Fluvermal®) à la dose de 100 mg (1 comprimé) quel que soit le poids, ou d'albendazole (Zentel®, Zzole ®) à la dose de 200 mg jusqu'à l'âge de 2 ans (ou 5 mL de suspension buvable à 4 %) et de 400 mg après 2 ans (10 mL de suspension buvable). Le pamoate de pyrantel (Combantrin®) est une alternative ainsi que le mébendazole (Vermox®) en zone tropicale.

En raison du cycle parasitaire, un nouveau traitement doit être administré 2 à 3 semaines après pour éviter l'auto-infestation et la réinfestation.

Des mesures d'hygiène rigoureuses doivent être prises et l'entourage devra être également traité pour éviter une réinfestation.

La prévention de l'oxyurose consiste :

- Changement de la literie, des sous-vêtements et du linge et dépoussiérer les lieux d'habitation par aspiration le jour du traitement
- Nettoyage et désinfection des objets usuels de l'enfant (jouets, cheveux des poupées) et des sols des chambres le jour du traitement
- Se laver les mains avec brossage des ongles après chaque selle et avant les repas
- Coupure des ongles le plus court possible
- Mettre un pyjama pour éviter le contact direct entre les doigts et l'anus lors du prurit anal nocturne

B- TRICHOCEPHALOSE

INTRODUCTION

La trichocéphalose est une helminthose intestinale cosmopolite, rarement symptomatique, causée par un nématode, *Trichuris trichiura*.

1 - ÉPIDÉMIOLOGIE

1. 1 - Agent pathogène

1. 1. 1 - Adultes

Les adultes, faiblement hématophages, de couleur blanchâtre, mesurent 3 cm à 5 cm (figure 1). La partie antérieure (deux tiers du corps), effilée — trichocéphale signifie « tête fine comme un cheveu » —, est implantée dans la muqueuse colique, tandis que la partie postérieure (un tiers du corps) pend dans la lumière intestinale.



Fig. 1 *Trichuris trichiura*, adultes mâle (à droite, 3 à 4 cm) et femelle (à gauche, 4 à 5 cm)

1. 1. 2 - Œufs

Les œufs sont éliminés dans les selles. Ils ont une forme ovalaire caractéristique « en citron ». Ils mesurent 55 µm de long par 20 µm de large. De couleur jaune à marron, lisses, ils possèdent une double coque épaisse et interrompue à chaque pôle par un bouchon muqueux. Ils ne sont pas embryonnés à la ponte (figure 2).



Fig. 2 Œufs de deux nématodes à l'examen des selles : *Trichuris trichiura* (55 × 25 µm) à gauche et *Ascaris lumbricoides* (60 × 40 µm) à droite

1. 2 - Cycle

L'œuf éliminé dans les selles ne devient infectant qu'après quelques semaines de séjour dans le sol (terre) et le reste plusieurs années. Dans les pays chauds, il faut environ 1 mois pour que l'œuf soit infectant. L'œuf embryonné, ingéré avec des crudités ou de l'eau souillées, éclôt dans le tube digestif et libère une larve qui devient adulte en 1 mois, après cinq mues, et se fixe dans la muqueuse cœcale. Cette nématodose, liée au péril fécal, est favorisée par l'utilisation d'engrais humains.

Le cycle évolutif monoxène long de *T. trichiura*, est résumé sur la figure 3

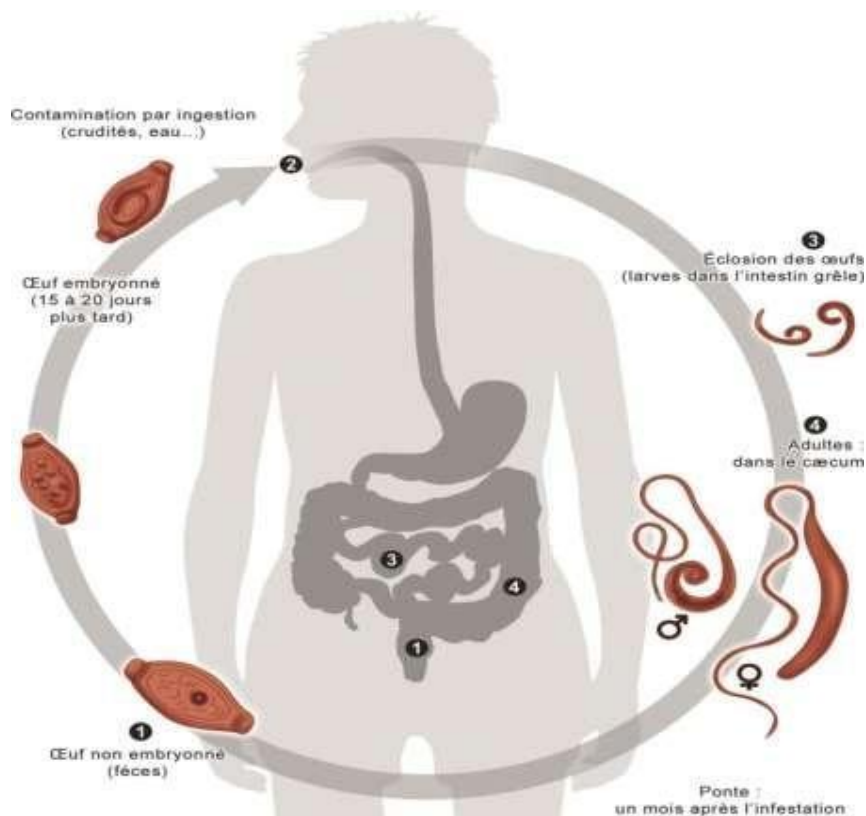


Fig. 3 Cycle évolutif du trichocéphale

2 - PHYSIOPATHOLOGIE

Les vers adultes enchâssés dans la muqueuse colique sont à l'origine de manifestations irritatives et inflammatoires. En cas de forte infestation, ils sont à l'origine d'anémie (hématophages) et, au niveau rectal, ils entraînent des ténésmes et des « faux besoins » pouvant se compliquer de prolapsus rectal.

3- CLINIQUE

Le portage de *T. trichiura* est en général asymptomatique.

En cas de charge parasitaire importante et sur une longue période, une asthénie peut être observée durant la période de maturation des vers adultes. Des troubles colitiques, une anémie et un prolapsus rectal peuvent se manifester durant la phase d'état.

4- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Une hyperéosinophilie sanguine modérée (inférieure à 1 000 éosinophiles par mm³) peut être constatée en fin de période de maturation des vers.

L'examen parasitologique des selles montre des œufs caractéristiques, émis environ 1 mois après la contamination.

Le diagnostic sérologique n'a pas d'intérêt.

5- TRAITEMENT ET PREVENTION

Les dérivés benzimidazolés sont préconisés :

- flubendazole (Fluvermal®) : 1 comprimé ou 1 cuillère-mesure dosé(e) à 100 mg matin et soir pendant 3 jours ou mébendazole (Vermox®) à l'étranger ;
- albendazole (Zentel®, Zzole ®), moins efficace : 400 mg en cure unique chez l'adulte, demi-dose chez l'enfant de moins de 2 ans.

La prophylaxie repose sur l'hygiène personnelle, le lavage des crudités et la lutte contre le péril fécal (installation de latrines, égouts, traitement des eaux usées, interdiction des engrais d'origine humaine pour les sols des cultures maraîchères).

C- ASCARIDIOSE

INTRODUCTION

L'ascaridiose est une helminthose intestinale due à un nématode de grande taille: *Ascaris lumbricoides*. Elle est fréquente dans les pays tropicaux à hygiène insuffisante, de plus en plus rare dans les pays tempérés.

1- ÉPIDÉMIOLOGIE

1. 1 - Agent pathogène

1.1. 1 - Adultes

Les mâles mesurent 12 cm à 17 cm de long et 2 mm à 4 mm de diamètre ; leur extrémité postérieure est recourbée en crosse. Les femelles mesurent 20 cm à 25 cm de long et 3 mm à 6 mm de diamètre et peuvent pondre jusqu'à 200 000 œufs par jour. De couleur rosée, les ascaris adultes vivent de 6 à 18 mois dans le jéjunum où ils ingèrent les particules alimentaires (figure 1).



Fig. 1 *Ascaris lumbricoides*, adultes : mâle (12-17 cm) en haut, femelle (20-25 cm) en bas

1. 1. 2 - Œufs

Les œufs ovoïdes, mesurant 60 µm à 70 µm de long par 40 µm à 50 µm de large, sont pondus en très grand nombre dans l'intestin et évacués avec les fèces. Ils sont entourés d'une double coque brune, d'aspect mamelonné très caractéristique, qui les rend très résistants dans le milieu extérieur (figure 2).



Fig. 2 *Ascaris lumbricoides*, œuf mamelonné fécondé (60 × 40 µm)

1. 2 - Cycle

Après ingestion d'un œuf embryonné (crudités, fruits, eau souillés), la larve est libérée dans le tube digestif. Elle traverse la paroi intestinale et gagne le foie où elle séjourne 3 à 4 jours, y subissant une mue, puis atteint le poumon par voie sanguine. La larve traverse alors la paroi de l'alvéole pulmonaire (au 10^e jour), remonte l'arbre bronchique jusqu'au pharynx où elle est habituellement déglutie, et gagne le jéjunum où elle devient adulte. Les femelles commencent à pondre environ 2 mois après ingestion de l'œuf. L'embryon infestant n'apparaît qu'après un séjour de quelques semaines dans le milieu extérieur. Sa maturation est facilitée par une température et une hygrométrie élevées.

Le cycle évolutif, monoxène long, d'*Ascaris lumbricoides* est résumé sur la figure 3.

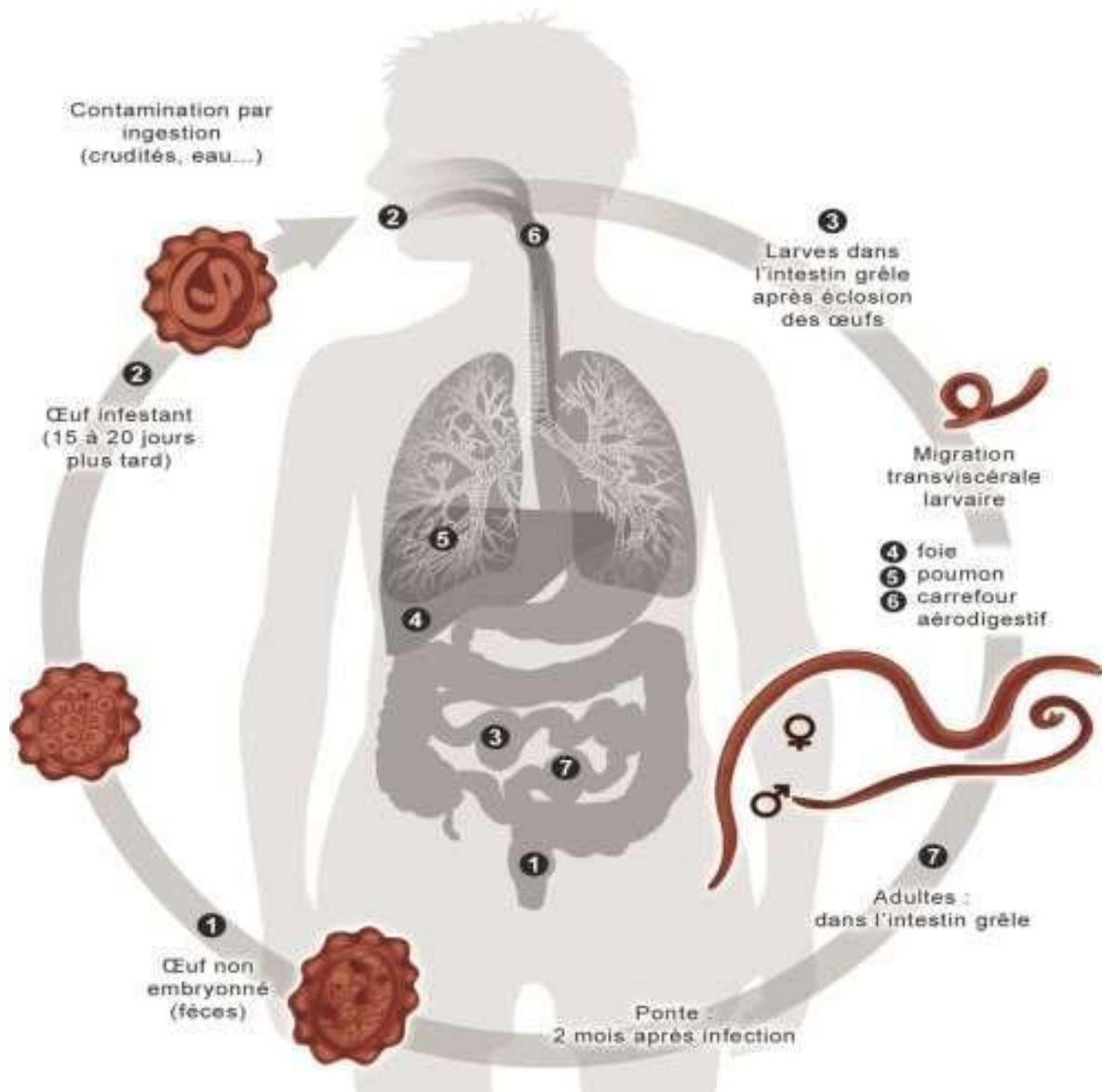


Fig. 3 Cycle évolutif de l'ascaris

2 - PHYSIOPATHOLOGIE

La migration tissulaire des larves détermine une réaction humorale et toxiallergique à l'origine de toux, d'opacités labiles pulmonaires et d'hyperéosinophilie (**syndrome de Löffler**).

Au stade adulte, le nombre et la grande taille des vers (troubles du transit, douleurs, occlusions...), leurs migrations ectopiques (rejet de vers, égarement dans le sphincter d'Oddi, perforation...) expliquent les symptomatologies parfois bruyantes.

3- CLINIQUE

Les manifestations cliniques dépendent de l'importance du parasitisme. Elles sont habituellement absentes en cas de pauciparasitisme et la découverte du parasite est souvent fortuite par émission de vers avec les fèces ou lors d'un vomissement.

La phase de migration larvaire, souvent silencieuse, associe à des degrés divers des signes allergiques (urticaire, bronchite asthmatiforme...) au syndrome de Löffler. La phase d'état est fréquemment marquée par des **troubles digestifs** (épisodes diarrhéiques, douleurs abdominales diffuses), exceptionnellement des signes nerveux (irritabilité, troubles du sommeil, voire convulsions).

Des **complications chirurgicales, bien que plus rares actuellement**, peuvent être observées par migration aberrante et/ou accumulation d'adultes donnant des signes d'angiocholite fébrile, de pancréatite aiguë hémorragique, d'appendicite, d'occlusion intestinale, de volvulus, d'étranglement herniaire, de perforation intestinale (péritonite).

4 - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Une **hyperéosinophilie** apparaît quelques jours après la contamination. Elle atteint son maximum au bout de 3 semaines (phase larvaire) puis décroît progressivement (phase adulte).

Un ascaris adulte, facilement identifiable du fait de sa taille, permet parfois le diagnostic à partir des fèces ou lorsqu'il est évacué par la bouche ou le nez.

Le plus souvent, le diagnostic repose sur la découverte des **œufs dans les selles, au minimum 2 mois après la contamination**, aisément retrouvés du fait de leur grand nombre.

Le diagnostic sérologique n'a pas d'intérêt.

5 - TRAITEMENT ET PREVENTION

Les traitements médicamenteux sont très efficaces. On utilise de préférence des benzimidazolés :

- le flubendazole (Fluvermal®), comprimé ou suspension : 100 mg matin et soir, pendant 3 jours ;
- l'albendazole (Zentel®, Zzole ®), comprimé ou suspension : 400 mg en cure unique.

Le pamoate de pyrantel (Combantrin®), 12 mg/kg en cure unique, est une alternative. L'ivermectine prescrite pour une autre verminose sera efficace sur une ascaridiose concomitante (hors AMM).

La prophylaxie repose sur l'hygiène personnelle et alimentaire (lavage des mains, des crudités et des fruits avant consommation) et la lutte contre le péril fécal (installation de latrines, égouts, traitement des eaux usées, interdiction des engrais d'origine humaine pour les sols des cultures maraîchères).

1- L'oxyurose peut se compliquer d'une :

- A- énurésie nocturne chez l'enfant
 - B- appendicite
 - C- leucorrhée chez la fillette
 - D- occlusion intestinale
 - E- anémie ferriprive
- Réponse : ABC

2- Concernant la trichocéphalose :

- A- La contamination humaine par *Trichuris trichiura* est liée au péril fécal.
- B- *Trichuris trichiura* pénètre chez l'homme par voie transcutanée.
- C- *Trichuris trichiura* ne migre pas dans les tissus.
- D- Le diagnostic de trichocéphalose se fait par recherche des œufs dans les selles.
- E- La recherche des anticorps doit être utilisée pour affirmer une trichocéphalose humaine.

Réponse : ACD

3-L'ascaridiose :

- A- Est due à un nématode vivipare.
 - B- Peut s'accompagner de signes pulmonaires et d'une hyperéosinophilie.
 - C- Est particulièrement fréquente dans les pays chauds et humides.
 - D- Est transmise par un tabanidé.
 - E- Peut facilement être transmise par contacts interhumains.
- Réponse : BC

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

D-L'ANGUILLULOSE OU STRONGYLOÏDOSE

Pr Houwaïda Trabelsi

1- DEFINITION

L'anguillulose ou strongyloïdose est une infection due à un nématode, *Strongyloides stercoralis*. En Afrique noire et en Asie, une anguillule du singe, *Strongyloides fulleborni*, peut donner des atteintes comparables.

2- ÉPIDEMIOLOGIE

2-1- Agent pathogène

Les anguillules peuvent se multiplier dans l'intestin de l'homme mais également, sous certaines conditions sur le sol favorisant ainsi la persistance de cette parasitose. Un cycle direct endogène favorise la ténacité et la durée de cette parasitose notamment en cas de corticothérapie prolongée.

2.1.1- L'adulte

Dans l'intestin de l'homme on ne connaît que la femelle dite parthénogénétique, ver rond blanchâtre qui mesure 2 à 3 mm. L'œsophage est cylindrique. Elle vit enchâssée dans la muqueuse duodéno-jéjunale.

Dans la nature on rencontre des mâles et des femelles stercoraires libres. Le mâle mesure 0,7 mm et la femelle 1,2 mm. L'œsophage qui présente un étranglement compris entre deux renflements piriformes est dit rhabditoïde.

2.1.2- L'œuf

Les œufs (50 à 55 µm de diamètre) sont rarement retrouvés dans les selles, l'éclosion de l'œuf ayant lieu très rapidement dans l'intestin (stade 1 du cycle parasitaire).

2.1.3- Les larves

La larve rhabditoïde de *S. stercoralis* (anguillule) est caractérisée par un double renflement œsophagien, un stylet buccal court, une extrémité postérieure peu effilée.



Figure 1 : Selles: *Strongyloides stercoralis* - larve rhabditoïde [275x15 µm]

Seule la larve strongyloïde *S. stercoralis* est infectante par voie transcutanée et, accessoirement, par voie orale. Cette larve présente un seul renflement œsophagien et une queue tronquée bifide. Elle n'a pas de gaine.



Figure 2 : *Strongyloides stercoralis* - larve strongyloïde [500-600x15 µm]

2.2- Cycle

Le cycle évolutif de *S. stercoralis* est résumé sur la figure 3.

Le cycle fait appel à deux modes de reproduction : parthénogénétique chez l'homme, sexué dans le milieu extérieur. Trois modalités sont possibles :

- **cycle long externe sexué** : la larve strongyloïde contamine l'homme par voie transcutanée (marche pieds nus) et gagne le poumon par voie lymphatique ou sanguine. Après avoir traversé la paroi de l'alvéole pulmonaire, elle gagne les bronches puis la trachée. Elle est déglutie, gagne l'intestin grêle, devient une femelle adulte parthénogénétique qui s'enfonce dans la muqueuse et y pond ses œufs. Les œufs éclosent dans la muqueuse intestinale, les premières larves rhabditoïdes apparaissent dans les selles 27 jours après la contamination.

Une température du sol supérieure à 20 °C favorise la transformation des larves rhabditoïdes émises dans les selles en adultes libres stercoraux

capables de fécondation. Dans le milieu extérieur, les œufs pondus libèrent des larves rhabditoïdes de seconde génération, capables de devenir des larves strongyloïdes infestantes (cycle stercoral) ;

- **cycle court externe asexué** : dans certaines conditions extérieures, les larves rhabditoïdes se transforment directement en strongyloïdes infectantes;
- **cycle direct endogène ou d'auto-infection** : lors de transit intestinal ralenti, les larves rhabditoïdes se transforment en larves strongyloïdes infectantes directement dans l'intestin de l'homme contaminé capables de réinfestation à travers la muqueuse du tube digestif ou de la marge anale sans passage par le milieu extérieur. Ce cycle endogène d'auto-infestation explique la ténacité et la durée illimitée de cette parasitose.

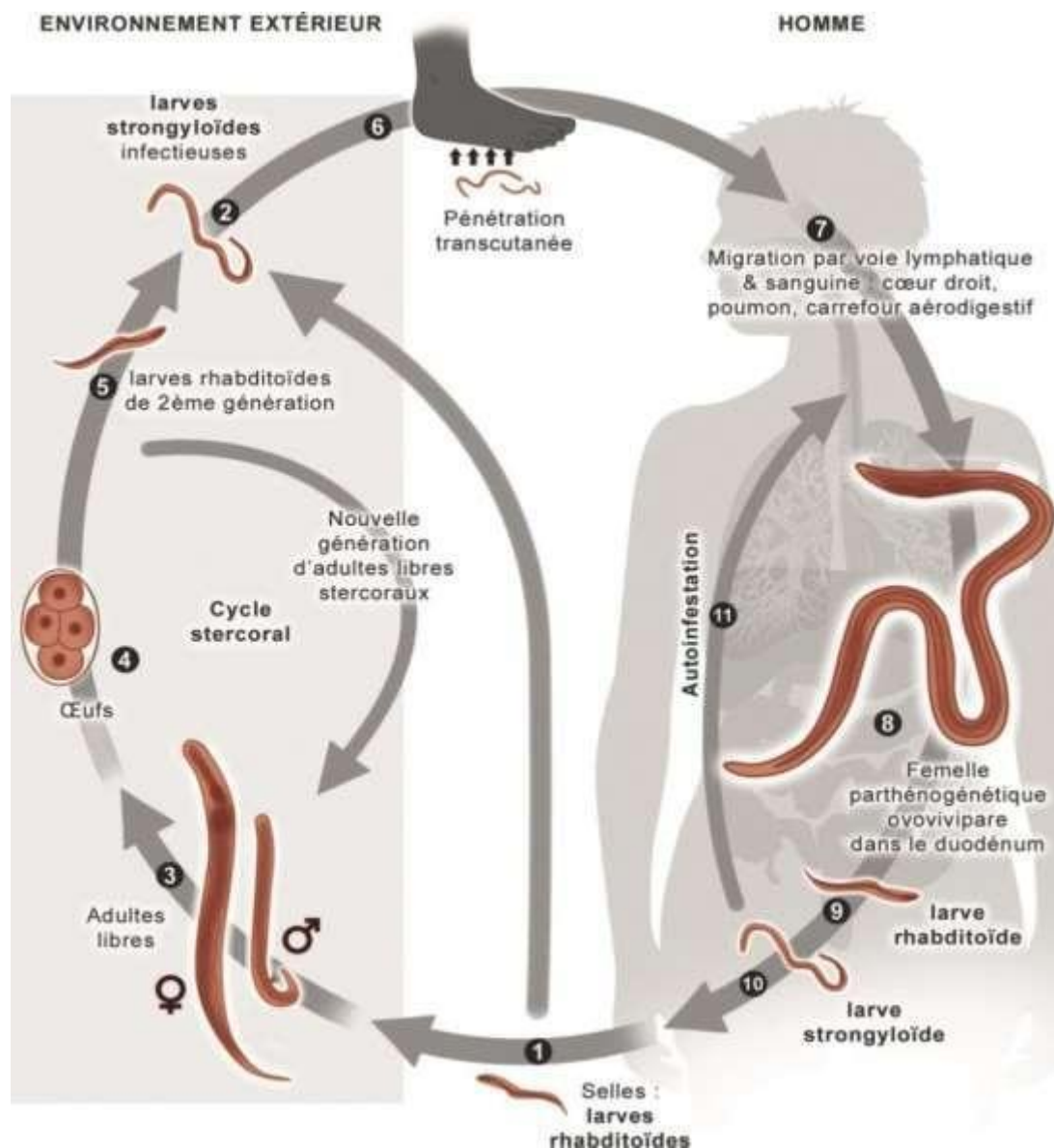


Fig. 3 Cycle évolutif de *Strongyloides stercoralis*

2.3- Répartition géographique

L'anguillulose se voit dans tous les pays tropicaux et subtropicaux. Elle est observée dans le sud de l'Europe (Italie, Espagne). En France, les cas sont habituellement importés (Antilles, Réunion...) mais la contamination autochtone reste cependant possible.

3-PHYSIOPATHOLOGIE

Les adultes et les larves enchâssés dans la muqueuse duodénale sont responsables de phénomènes inflammatoires peu douloureux et de troubles du transit. La migration des larves issues des cycles directs endogènes, favorisée par un ralentissement du transit, entraîne des manifestations cutanées allergiques (larva currens, urticaire). Une immunodépression, surtout médicamenteuse (corticoïdes...), parfois rétrovirale (HTLV-I, VIH rarement), peut favoriser un emballement du cycle endogène et une dissémination massive de larves (anguillulose maligne). La létalité importante est liée à la dissémination des bactéries entériques transloquées du tube digestif aux différents tissus (sang, poumon, méninges) par les larves strongyloïdes.

4-LA CLINIQUE

4.1- Forme habituelle

L'anguillulose est souvent asymptomatique. La phase de pénétration des larves passe souvent inaperçue.

La phase d'invasion reste peu ou pas symptomatique. On observe parfois un syndrome de Löffler. Des signes pulmonaires sont rarement observés. Ils traduisent la migration trans-pulmonaire des larves au cours de la primo-infection ou des réinfestations. Ils sont marqués par une toux sèche, irritative, des crises d'asthme et à la radio des infiltrats pulmonaires labiles.

A la phase d'état les troubles intestinaux sont les plus fréquents (douleurs épigastriques, épisodes diarrhéiques).

Les signes cutanés correspondent rarement à la phase de primo-invasion. Le

plus souvent ils traduisent la migration sous-cutanée de larves et on peut observer un sillon d'une dizaine de centimètres se déplaçant rapidement, de plusieurs centimètres par heure, avant de disparaître spontanément (phénomène de larva currens). Parfois, cet épisode de larva currens peut prendre la forme d'un urticaire. Cette dermatite rampante peut récidiver à un rythme plus ou moins régulier (cycle endogène).



Figure 5 : Larva currens

4.2 - Formes graves, malignes

L'anguillulose maligne aiguë est une forme disséminée, souvent mortelle, survenant sur un terrain immunodéprimé (corticoïdes à dose élevée prolongée, maladies de systèmes, greffes d'organe, onco-hématologie, HTLV- 1). Elle s'accompagne de septicémie à Gram négatif, de détresse respiratoire, de méningoencéphalite.

5- LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic d'anguillulose peut être évoqué plusieurs dizaines d'années après un séjour en zone d'endémie, en particulier devant la découverte d'une hyper-éosinophilie sanguine parfois très élevée et évoluant en dents de scie.

Le diagnostic de certitude est obtenu par la découverte de larves de *S. stercoralis* dans les selles fraîchement émises. Cette recherche nécessite un examen parasitologique après extraction par la méthode de Baermann ou un enrichissement par coproculture.

La méthode de Baermann repose sur l'attraction des larves d'anguillules

mobiles contenues dans les selles par l'eau tiède. Ces larves sont ensuite concentrées par sédimentation et visualisées par microscopie.

La coproculture en boîte de Pétri repose sur la transformation des larves rhabditoïdes en adultes libres stercoraux capables de se multiplier par voie sexuée lorsque la température est supérieure à 25°C.

A noter que ces deux techniques sont sensibles, que les larves obtenues sont vivantes et donc capables d'infester par voie transcutanée...

Le sérodiagnostic est d'interprétation délicate en raison des réactions croisées avec les autres nématodes.

6-LE TRAITEMENT

Le traitement, efficace, repose sur : L'ivermectine (Stromectol®) est la molécule de choix, avec un taux de guérison de 85 à 90 % en cure unique. Chez l'adulte, la posologie est de 200 µg/kg en une seule prise. Dans les formes disséminées, une administration quotidienne de 12 mg jusqu'à obtention d'une amélioration a été proposée.

L'albendazole (Zentel®, Zzole ®) nécessite une posologie de 15 mg/ kg / jour pendant 7 jours pour avoir la même efficacité. A la posologie recommandée par le résumé des caractéristiques du produit, soit 1 comprimé par jour pendant 3 jours, le taux de guérison est inférieur à 40%.

7-LA PROPHYLAXIE

La lutte contre le péril fécal, reposant sur l'amélioration de l'hygiène et l'éducation sanitaire, est à la base de la prévention de cette hélmintose. L'assainissement (élimination des déjections humaines et des eaux usées), l'assèchement des collections d'eau stagnante, le port de chaussures et le traitement des porteurs sont préconisés.

Tout sujet ayant vécu en zone d'endémie doit recevoir un traitement préventif avant toute corticothérapie au long cours, surtout s'il présente une hyper éosinophilie sanguine, même modérée.

E-ANKYLOSTOMOSES

Les ankylostomoses sont des helminthoses intestinales très répandues dans les zones chaudes et humides du globe, causées par deux nématodes hématophages : *Ancylostoma duodenale* et *Necator americanus*. Elles se contractent par contact avec le sol, essentiellement lors de la marche pieds nus.

1-ÉPIDÉMIOLOGIE

1.1- Agents pathogènes

1.1.1- Adultes

Les adultes des deux espèces, de couleur blanc nacré ou rosé, sont difficiles à différencier. Les mâles mesurent 5 mm à 9 mm de long et les femelles de 9 mm à 11 mm. Les adultes hématophages vivent attachés aux muqueuses duodénales et jéjunales qu'ils font saigner en les abrasant avec leur capsule buccale.

Les femelles pondent dans la lumière intestinale de 5 000 à 10 000 œufs par jour.

1.1.2- Œufs et larves

Les œufs sont ellipsoïdes, symétriques à coque lisse et mince (figure 1). Les œufs d'*A. duodenale* mesurent de 60 µm à 65 µm de long sur 40 µm de large, les œufs de *N. americanus* sont légèrement plus grands (70 µm). Ils contiennent à l'émission quatre à huit blastomères.

Les larves rhabditoïdes, à double renflement œsophagien, mesurent 300 µm de long. La larve strongyloïde, à œsophage rectiligne, mesure 500 µm.



Fig.1 *Ancylostoma duodenale*, œuf (60 × 40 µm)

1.2- Cycle

L'homme s'infeste par voie transcutanée. La pénétration active de la larve strongyloïde se fait essentiellement au niveau des pieds, exceptionnellement par voie buccale.

Par la circulation générale, les larves atteignent successivement le cœur droit puis traversent les alvéoles pulmonaires, remontent vers le pharynx où elles sont dégluties dans l'œsophage. Elles deviennent adultes dans le duodénum vers le 40^e jour. Les œufs sont éliminés avec les fèces. Ces œufs, dans le milieu extérieur, s'embryonnent en 1 à 2 jours et libèrent une larve rhabditoïde. En quelques jours, la larve subit deux mues et devient une larve strongyloïde infestante. Elle peut résister de nombreux mois en milieu humide. Les larves enkystées ont un tropisme pour la chaleur, l'humidité et la peau, ce qui facilite la poursuite du cycle naturel. Le cycle évolutif, monoxène long, des ankylostomes est résumé sur la figure 2.

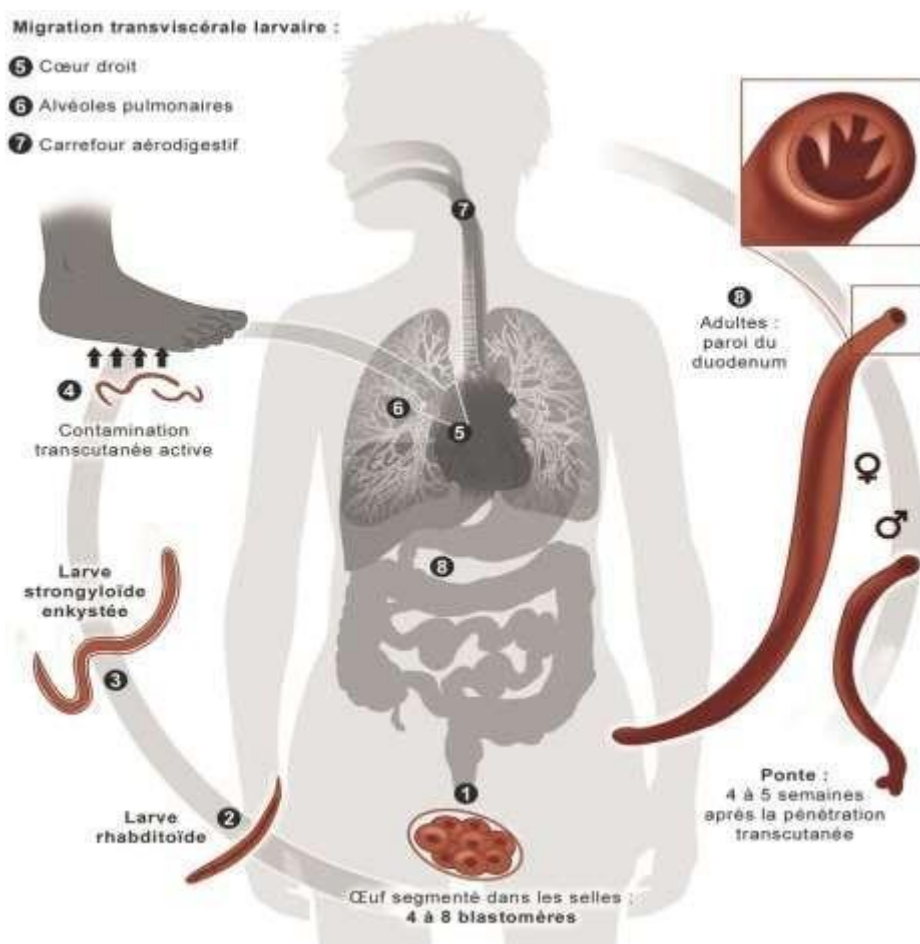


Fig.2 Cycle évolutif des ankylostomes

1.3- Répartition géographique

Les larves d'ankylostomes peuvent évoluer à partir de 22 °C ; celles de *Necator* nécessitent une température plus élevée.

Ainsi, *A. duodenale* prédomine au nord du tropique du cancer (région méditerranéenne, Inde, Chine, sud-est asiatique, Japon, Amérique du Sud, îles du Pacifique, Australie) et *N. americanus* au sud de ce tropique (Afrique tropicale, Asie méridionale, Inde et îles du Pacifique) (figure 3). Seul *A. duodenale* est retrouvé en Europe (région méditerranéenne). Ce parasite peut être implanté dans certains microclimats (mines, tunnels, briqueteries...), où il est reconnu agent de maladie professionnelle.

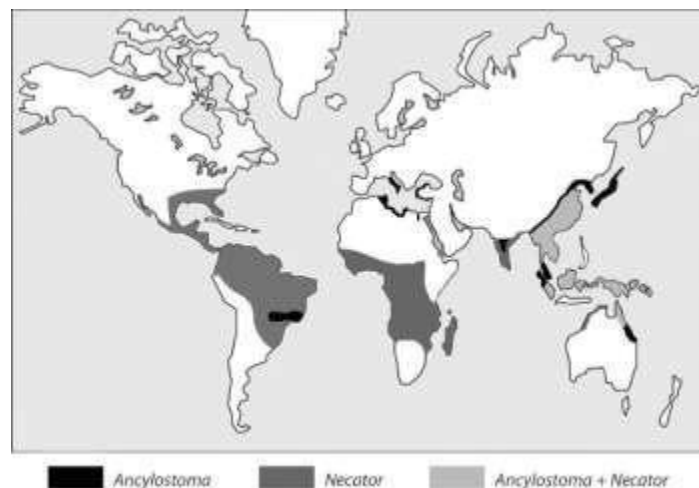


Fig. 3 : Répartition géographique d'*Ancylostoma duodenale* (noir) et de *Necator americanus* (gris foncé) ; présence simultanée des deux parasites en gris clair

2-PHYSIOPATHOLOGIE

Lors de la pénétration puis de la migration larvaire, l'action irritative des larves explique les réactions allergiques, d'abord cutanées puis respiratoires, et l'hyperéosinophilie.

Au stade intestinal, les adultes présents dans le duodénum et le jéjunum érodent et dilacèrent la muqueuse, entraînant douleurs et saignements. Leurs déplacements réguliers étendent le délabrement de la muqueuse et amplifient

l'anémie (hypochrome, hyposidérémique). *A. duodenale* entraîne une spoliation sanguine beaucoup plus importante que *Necator americanus*.

3-CLINIQUE

La phase d'invasion souvent asymptomatique peut être marquée par une dermatite d'inoculation aux points de contact avec le sol contaminé, qui se traduit par l'apparition à la 24^{ième} heure d'un érythème maculoprurigineux (figure 4) disparaissant en quelques jours.



Fig.4 Dermatite ankylostomienne

La phase de migration larvaire pulmonaire, pharyngée et laryngotrachéale est marquée par une irritation des voies aériennes supérieures « catarrhe des gourmes » sans infiltrat pulmonaire radiologique.

La phase d'état intestinale dépend du nombre d'adultes hébergés. Elle est marquée par une duodénite, des troubles du transit (diarrhée), puis une anémie d'installation progressive, majorée en cas d'infestation par *A. duodenale*. En zone d'endémie, l'anémie longtemps bien supportée participe chez la femme enceinte et l'enfant à un syndrome anémo-carentiel responsable de troubles du développement.

4-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

La numération formule sanguine montre une anémie microcytaire hyposidérémique discrète au début, son importance dépend de l'espèce. *Ancylostoma* est plus hématophage et de la charge parasitaire. Une

hyperleucocytose avec hyperéosinophilie sanguine observée au début de l'infestation se normalise progressivement.

L'examen parasitologique des selles permet le diagnostic d'ankylostomose par la mise en évidence des œufs dans les selles, 1 mois après l'infection, mais ne permet pas de distinguer les deux espèces. C'est la culture des selles (coproculture parasitaire) qui permet de distinguer les deux espèces à partir de la morphologie des larves.

La sérologie n'est pas contributive au diagnostic.

5- TRAITEMENT ET PREVENTION

On utilise de préférence des benzimidazolés, comme dans l'ascaridiose, mais avec une efficacité moindre :

- flubendazole (Fluvermal®), comprimé ou suspension à 100 mg : 1 comprimé matin et soir, pendant 3 jours ;
- albendazole (Zentel®, Zzole ®), comprimé ou suspension : 400 mg en cure unique.
- Le pamoate de pyrantel (Combantrin®), 25 mg/kg pendant 3 jours, est une alternative.
- La lutte contre le péril fécal, reposant sur l'amélioration de l'hygiène et l'éducation sanitaire, est à la base de la prévention de cette helminthose en zone tropicale: élimination des déjections humaines et des eaux usées, port de chaussures.

En zones tempérées, la lutte contre l'ankylostomose, maladie professionnelle passe par le dépistage, la surveillance et le traitement dès l'embauche pour tous les travailleurs des mines et tunnels ainsi que la ventilation et parfois le traitement des surfaces des galeries.

2- Concernant l'ankylostomose :

- A. *Ancylostoma duodenale* et *Necator americanus* sont zoophiles.
- B. Un saignement de la muqueuse duodénale est à l'origine de l'anémie observée au cours de l'ankylostomose.
- C. Les larves rhabditoïdes sont à l'origine de la transmission de l'ankylostomose.
- D. L'ankylostomose est une maladie professionnelle.
- E. Son cycle est hétéroxène.

Réponse : BD

3- Concernant l'anguillulose :

- A. L'hyperéosinophilie sanguine observée au cours de l'anguillulose peut être très élevée et évolue en dents de scie.
- B. Le diagnostic biologique de l'anguillulose repose sur la recherche des œufs dans les selles.
- C. Les larves d'anguillules peuvent être cultivées au laboratoire.
- D. Le sérodiagnostic d'anguillulose est très fiable.
- E. Il est important de rechercher une contamination par *S. stercoralis* avant toute thérapeutique immunosuppressive.

Réponse : ACE

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

LES PARASIToses DIGESTIVES DE L'IMMUNODEPRIME

Pr Hayet Sellami

LES COCCIDIOSES ET LES MICROSPORIDIOSES

Objectifs éducationnels:

Connaître l'épidémiologie et le diagnostic des coccidioses et des microsporidioses.

INTRODUCTION

En dehors de l'amébose et de la giardiase, trois autres protozooses intestinales dues à des coccidies : la cryptosporidiose, la cytoisosporose et la cyclosporose ont une importance médicale notable, que ce soit par leur fréquence, leur implication dans des épidémies d'origine alimentaire ou hydrique, ou leur caractère opportuniste chez le malade immunodéprimé. Les microsporidies, classés dans le règne fongique, affectent aussi les sujets immunodéprimés.

La cryptosporidiose

1-EPIDEMIOLOGIE :

1.1-Agent pathogène

La cryptosporidiose est une infection causée par un protozoaire, une coccidie du genre *Cryptosporidium*. Il existe plusieurs espèces, dont les principales sont *Cryptosporidium hominis*, infectant uniquement l'Homme, et *C. parvum*, parasite de l'Homme et de plusieurs autres espèces de mammifères (bovins, ovins).

1.2- Cycle évolutif :

Cryptosporidium est un parasite de l'épithélium intestinal du grêle dont le

cycle comporte une multiplication asexuée (schizogonie) et une multiplication sexuée (gamogonie).

La contamination s'effectue par **ingestion d'oocystes**.

Les oocystes étant directement infectants dès leur émission et très résistants dans l'environnement.

1-3 Mode de contamination :

La contamination peut être :

- **directe** entre un hôte infecté et un hôte sain : ceci explique les cas d'infections liées aux soins.
- **indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments souillés** par des oocystes ; l'infection peut aussi découler de la pratique d'activités aquatiques comme la baignade.

Les animaux domestiques (bovins, ovins) jouent un rôle important dans la contamination de l'environnement. L'irrigation par aspersion des cultures végétales par des eaux usées est une source de contamination des cultures. La cryptosporidiose est une parasitose **cosmopolite**, observée sous forme sporadique ou épidémique (réservoir d'eau de consommation, piscines, interhumaine directe, crèche, animaux infectés...).

De nombreuses épidémies sont régulièrement observées dans les pays industrialisés dues à une contamination fécale des réseaux de distribution d'eau potable, l'efficacité du chlore seul envers le *Cryptosporidium* étant presque nulle.

2- PHYSIOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES :

La multiplication des parasites dans les entérocytes entraîne des perturbations hydroélectrolytiques et une malabsorption avec, à terme, un retentissement possible de la croissance chez l'enfant et un risque de cachexie chez les malades immunodéprimés.

Chez un sujet immunocompétent, la cryptosporidiose est responsable d'une **diarrhée aqueuse** consistant en trois à dix selles par jour, liquides et

non sanglantes. Cette diarrhée s'associe à **des douleurs abdominales, des nausées et une fièvre modérée** (38 °C à 38,5 °C, inconstante). Ces symptômes sont **spontanément résolutifs** en une dizaine de jours sans traitement. Chez les enfants et les personnes âgées, on peut observer des formes diarrhéiques plus prolongées.

Chez les **patients immunodéprimés**, la cryptosporidiose est responsable d'une diarrhée prolongée devenant **chronique** et s'associant à une forte malabsorption

Elle peut être directement ou indirectement responsable de **décès**. Les principaux sujets touchés sont les patients infectés par le VIH dont le taux de lymphocytes **CD4 est inférieur à 100/mm³**. Des formes sévères sont également observées chez d'autres patients immunodéprimés présentant un déficit de l'immunité cellulaire. Une atteinte des voies biliaires est fréquente chez ces patients, du fait d'une colonisation de l'épithélium des voies biliaires. Cette localisation contribue très probablement à l'entretien de la parasitose digestive. Des formes extra-intestinales (pulmonaires) sont exceptionnelles.

3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Le principal moyen de diagnostic de la cryptosporidiose est la **recherche d'oocystes dans les selles**. La prescription doit spécifier « Recherche de cryptosporidies » ou le contexte d'immunodépression du patient. En effet, l'examen parasitologique des selles standard est insuffisant pour mettre en évidence ces éléments de petite taille. Il est recommandé d'effectuer une technique de concentration puis une technique de coloration des oocystes. La **coloration de Ziehl-Neelsen** modifiée conduit à une coloration des oocystes en rose fuchsia, bien visible après une contre-coloration en vert ou en bleu des autres éléments présents dans les selles. Les oocystes ont une forme arrondie avec une paroi épaisse et un contenu granuleux ; leur taille est de 5 µm à 8 µm suivant les espèces.

En complément des colorations standards, on peut effectuer une recherche d'antigènes dans les selles par immunomarquage ou

immunochromatographie ou la détection d'ADN par PCR. Des oocystes peuvent être retrouvés dans le **liquide jéjunal** ou la **bile** et, très exceptionnellement, dans le liquide de lavage bronchiolo-alvéolaire.

Les cryptosporidies peuvent également être mises en évidence par l'examen histopathologique de **biopsies intestinales** après coloration à l'hématoxyline.

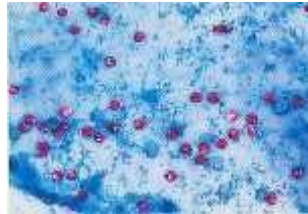


Fig.1 : Oocystes de *Cryptosporidium* : coloration de Ziehl-Neelsen (en rose fuchsia)

4-TRAITEMENT ET PREVENTION :

Certains médicaments ont une activité partielle sur la cryptosporidiose digestive en réduisant la durée des symptômes mais sans permettre chez les immunodéprimés une éradication des parasites. Chez les patients immunodéprimés, la restauration de l'immunité (par exemple, traitement antirétroviral chez les patients au stade sida de l'infection par le VIH) est le meilleur moyen d'éliminer l'infection par *Cryptosporidium* sp.

La prévention est à la fois individuelle et collective. Sur le plan individuel, il n'existe aucune chimioprophylaxie et la prévention consiste à réduire le risque de contamination par des oocystes en respectant des **règles d'hygiène alimentaire** et en évitant l'ingestion d'eau ou d'aliments pouvant être souillés par des matières fécales. Chez les patients fortement immunodéprimés, cette prévention conduit à recommander exclusivement la consommation d'eau embouteillée.

La prévention collective consiste à **protéger les ressources naturelles d'eau** de toute contamination fécale animale et à s'assurer de la protection et de l'intégrité des réseaux de distribution d'eau potable.

La cystoisosporose à *Cystoisospora belli*

1-EPIDEMIOLOGIE :

La cystoisosporose est due à *Cystoisospora belli* (ex-*Isospora belli*), protozoaire parasite **spécifique de l'Homme**. Il s'agit d'une **coccidiose** intestinale dont le cycle comporte une schizogonie au niveau des cellules épithéliales de l'intestin grêle et une gamogonie conduisant à la production d'oocystes.

Les oocystes sont émis dans la lumière intestinale sous forme **non sporulée**. Ils deviennent infectants après maturation dans le milieu extérieur. Les oocystes éliminés dans les selles peuvent contaminer l'eau ou les végétaux. La contamination humaine s'effectue par **ingestion d'oocystes** sporulés contenus dans l'eau ou des **aliments contaminés**, ou sur les **mains**.

Il s'agit d'une parasitose largement répandue en **zone tropicale**. Sa fréquence est variable, mais peut atteindre plus de 10 % chez les patients infectés par le VIH dans des zones de faible niveau d'hygiène.

La cystoisosporose est observée chez des sujets immunocompétents mais elle est plus fréquente et plus **sévère chez les malades immunodéprimés**.

2-PHYSIOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS

CLINIQUES :

Chez les sujets immunocompétents, la cystoisosporose est responsable typiquement d'une **diarrhée** aqueuse **fébrile**, de **nausées** et de **vomissements**. Chez les patients immunodéprimés, en particulier les sujets infectés par le **VIH**, la diarrhée peut être sévère et entraîner **malabsorption** et **déshydratation**. L'évolution vers la chronicité est fréquente, de même que les rechutes après traitement. Les localisations extradigestives sont exceptionnelles.

3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Le diagnostic de cystoisosporose repose sur la mise en évidence des oocystes de *Cystoisospora belli* lors d'**examens parasitologiques des**

selles. Les oocystes ont une forme ovale et mesurent de 25 µm à 30 µm de long sur 12 µm à 16 µm de large. Ils contiennent un sporoblaste et, parfois, deux sporocystes plus ou moins différenciés. Il est à noter que, dans les selles, on retrouve fréquemment des **cristaux de Charcot-Leyden** et qu'il existe parfois une hyperéosinophilie sanguine.

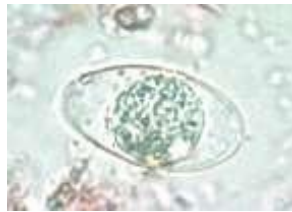


Fig 2 : Oocystes de *Cystoisospora belli*

4-TRAITEMENT ET PREVENTION:

Le traitement de la cystoisosporose repose sur l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole ou Bactrim®). La prévention individuelle repose sur des mesures hygiénodietétiques (péril fécal).

Cyclospora cayetanensis

1-EPIDEMIOLOGIE :

Cyclospora cayetanensis est la seule espèce du genre *Cyclospora* retrouvée chez l'Homme. Le cycle parasitaire, mal connu, se déroule dans les entérocytes et comporte une schizogonie et une gamogonie qui conduisent à l'émission d'oocystes immatures. Ceux-ci deviendront infectants après une maturation de 2 semaines dans le milieu extérieur.

La contamination humaine s'effectue par ingestion d'**oocystes** sporulés présents dans l'**eau**, les **aliments** ou sur les **mains**. La transmission interhumaine directe n'est pas possible car les oocystes excrétés dans les selles sont immatures.

2-PHYSIOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES :

La **diarrhée aqueuse** est la principale manifestation clinique de la cyclospore. L'évolution est habituellement spontanément résolutive en quelques jours mais peut durer 2 ou 3 semaines, avec retentissement sur l'état général. Chez les patients infectés par le **VIH**, la cyclospore devient sévère et prolongée. Le tableau clinique se traduit par une diarrhée qui évolue sur un mode chronique.

3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Il repose sur la mise en évidence des oocystes de *C. cayetanensis* dans les selles. L'oocyste de *C. cayetanensis* est de forme arrondie, très réfringent, entre 8 µm et 10 µm de diamètre. La coloration de Ziehl-Neelsen peut la mettre en évidence. L'oocyste est bien visible sous lumière ultraviolette, car la paroi des oocystes possède une autofluorescence naturelle intense.

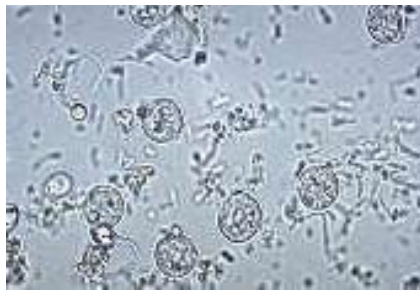


Fig 3 : Oocystes de *Cyclospora cayetanensis*

4-TRAITEMENT ET PREVENTION :

Le **cotrimoxazole** (Bactrim®) est la molécule de référence pour le traitement de la cyclospore.

La prévention repose sur des mesures d'hygiène individuelle et alimentaire.

Les microsporidies

1-EPIDEMIOLOGIE

Les microsporidies sont des eucaryotes dépourvus de mitochondries. Des études récentes les placent dans le règne des champignons. Il en existe plus de mille espèces, parasitant de nombreux hôtes vertébrés et invertébrés.

Seules quelques espèces sont parasites de l'Homme. Les principales sont: *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis*.

Enterocytozoon bieneusi : ce parasite se développe exclusivement au niveau de l'intestin grêle et de l'épithélium des voies biliaires. Il s'agit de l'espèce la plus fréquemment rencontrée chez l'Homme.

Encephalitozoon intestinalis est également un parasite des entérocytes mais il est capable d'infecter d'autres muqueuses, notamment l'arbre urinaire ou les voies aériennes supérieures.

Le parasite se multiplie dans les **cellules entérocytaires** avec une phase mérogonique (multiplication asexuée) puis une phase sporogonique conduisant à la formation de **spores**, dont la taille est comprise entre **1 et 3 µm** suivant les espèces. Les spores sont éliminées avec les **selles** ou les **urines** suivant les espèces et disséminées dans le milieu extérieur.

La contamination s'effectue très probablement par voie digestive à la suite de l'ingestion de spores contenues dans l'eau ou les aliments. **Une contamination interhumaine directe est également probable.**

La répartition géographique des microsporidioses est mal connue. Ces parasitoses **cosmopolites** touchent principalement les patients infectés par le **VIH dont le taux de CD4 est très bas (inférieur à 50/mm³)**. Toutefois, depuis quelques années, on observe une forte diminution du nombre de cas de microsporidiose chez les patients infectés par le VIH grâce à la restauration immunitaire induite par les traitements antirétroviraux.

Des cas de microsporidioses sévères sont désormais observés chez d'autres patients immunodéprimés : allogreffés de cellules souches hématopoïétiques, transplantés d'organe (reins).

2-PHYSIOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES :

La physiopathologie des microsporidioses reste mal connue. L'intensité des signes cliniques est très variable suivant le génotype du parasite et l'intensité de l'immunodépression. L'infection des entérocytes par les microsporidies à tropisme digestif (*E. bieneusi*, *E. intestinalis*) conduit régulièrement à des

troubles hydroélectrolytiques, une stéatorrhée et une malabsorption chez les patients les plus immunodéprimés. Cliniquement, il en résulte une **diarrhée aiguë évoluant vers la chronicité** et conduisant progressivement à la cachexie. Pour *E. intestinalis*, on peut observer une dissémination par voie hématogène avec atteinte rénale et pulmonaire.

3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Mise en évidence des spores dans les prélèvements biologiques (selles,...) : ovoïdes, très petite taille (1 à 3 µm suivant les espèces). Elle nécessite impérativement l'utilisation de techniques de coloration : -composé fluorescent colorant la paroi des spores (Uvitex 2B, par exemple)- le trichrome de Weber qui colore les spores en rose. Les microsporidies peuvent aussi être mises en évidence sur des biopsies digestives ou d'autres tissus.

L'identification d'espèce repose sur la microscopie électronique et, surtout, sur l'amplification d'ADN par PCR ou l'immunomarquage.

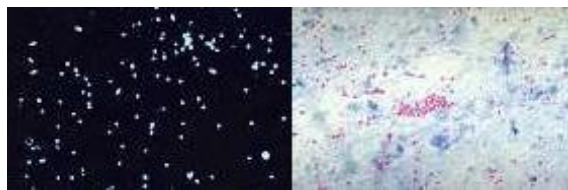


Fig 4 : Spores de microsporidies Coloration au trichrome de Weber Uvitex 2B

4-TRAITEMENT ET PREVENTION :

Le traitement des infections dues à *Encephalitozoon* est l'**albendazole** (Zentel®). Le traitement des infections très symptomatiques à *Enterocytozoon bienewisi* est la fumagilline. À l'heure actuelle, chez les patients infectés par le VIH, la **restauration immunitaire** apportée par les traitements antirétroviraux permet de réduire considérablement le risque de rechute.

La prévention repose sur des **règles hygiénodététiques**.

Post-test

1-La contamination par *Cryptosporidium* peut s'effectuer par :

- A** -ingestion d'eau non traitée
- B** -piqûre d'insecte
- C** -contact direct avec des bovins
- D** -contact avec des sujets infectés
- E** – consommation d'aliments contaminés

Réponse : A-C-D-E

2-Concernant la cryptosporidiose:

- A**-la forme infestante est le kyste
- B**- elle peut atteindre les enfants malnutris
- C**- le diagnostic repose sur la sérologie
- D**- est sévère chez les sujets immunodéprimés
- E**- peut être responsable d'autoinfestation

Réponse: B-D E ;

A-Faux : la forme infestante : les oocystes ;;

C- Faux : le diagnostic repose sur l'examen parasitologique des selles (coloration spécifique)

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL),
Campus de Parasitologie-Mycologie

SCHISTOSOMOSSES (BILHARZIOSES)

Pr Houwaïda Trabelsi

Objectif éducationnel

Diagnostiquer et prendre en charge les infections à *Schistosoma*.

INTRODUCTION

Les bilharzioses, ou schistosomoses, sont des affections parasitaires dues à des trématodes, vers plats, à sexes séparés, hématophages, vivant au stade adulte dans le système circulatoire des mammifères et évoluant au stade larvaire chez un mollusque d'eau douce.

On répertorie 200 millions de cas de schistosomoses dans le monde. Six espèces sont pathogènes pour l'homme et sévissent à l'état endémique sur trois continents.

La contamination s'effectue par la pénétration transcutanée du parasite lors de bains en eau douce stagnante, aux heures chaudes de la journée.

1- ÉPIDÉMIOLOGIE

1.1 - Agents pathogènes

Le mâle est blanc et mesure de 10 mm à 15 mm de long sur 1 mm de large. Le corps est plat mais paraît cylindrique par suite de l'enroulement de ses bords qui délimitent ainsi un canal, le canal gynécophore, dans lequel est logée la femelle (figure 1). La femelle, cylindrique et filiforme, est plus longue que le mâle ; elle mesure de 15 mm à 30 mm de long.

Il existe dans les deux sexes deux ventouses : l'une, orale, qui s'ouvre dans l'œsophage, l'autre ventrale, organe de fixation (tableau 1).

Tableau 1 : Principaux caractères distinctifs des schistosomes

Schistosomes	Localisation des parasites	Voie d'élimination des œufs	Nombre d'œufs pondus par jour	Forme des œufs	Prélèvements pour diagnostic direct	Répartition	Hôte intermédiaire
<i>S. haematobium</i>	Plexus veineux urogénital et/ou rectal	Vessie	20 à 200	Ovale à éperon terminal 150 × 60 µm	Urines biopsies vésicales et rectales	Afrique	<i>Bulinus</i> , <i>Physopsis</i>
<i>S. mansoni</i>	Veine mésentérique inférieure	Côlon	100 à 300	Ovale à éperon latéral 140 × 60 µm	Selles biopsies rectales	Afrique, Amérique, (Asie)	<i>Biomphalaria</i>
<i>S. japonicum</i>	Veine mésentérique supérieure	Intestin grêle	500 à 3500	Arrondi à éperon latéral peu visible 70 × 50 µm	Selles	Asie	<i>Oncomelania</i>
<i>S. mekongi</i>	Veine mésentérique supérieure	Intestin grêle	Inconnu	Arrondi à éperon latéral peu visible 60 × 40 µm	Selles	Asie	<i>Tricula</i>
<i>S. intercalatum</i>	Plexus veineux périrectal	Rectum	Inconnu	Ovale à éperon terminal 200 × 65 µm	Selles biopsies rectales	Afrique	<i>Bulinus</i>
<i>S. guineensis</i>	Plexus veineux périrectal	Rectum	Inconnu	Ovale à éperon terminal 200 × 65 µm	Selles biopsies rectales	Afrique	<i>Bulinus</i>

1. 1. 1 - *Schistosoma haematobium*

Il s'agit de l'agent de la bilharziose urogénitale. Les vers adultes manifestent un tropisme pour les plexus veineux périvésicaux et péri-rectaux.

La femelle pond ses œufs à éperon terminal, en paquet, dans les parois vésicales et rectales. Les œufs sont éliminés à l'extérieur essentiellement par les urines et assurent la pérennité de l'espèce, mais beaucoup restent dans les tissus avoisinants (granulomes) ou sont parfois embolisés à distance. La longévité de *S. haematobium* est de plus de 10 ans.

L'homme est le seul réservoir du parasite. Les hôtes intermédiaires sont des mollusques appartenant le plus souvent aux genres *Bulinus* et *Physopsis*.

La schistosomose à *S. haematobium* sévit dans toute l'Afrique, à Madagascar (côte ouest) et à l'île Maurice. Il existe quelques foyers sur le pourtour du bassin méditerranéen (Maghreb) et au Proche-Orient.

1. 1. 2 - *Schistosoma mansoni*

S. mansoni est l'agent de la schistosomose intestinale et, parfois, hépatosplénique. Les schistosomes adultes migrent vers les plexus veineux mésentériques inférieurs. La ponte a donc surtout lieu dans la paroi intestinale, mais souvent les œufs à éperon latéral s'embolisent dans le foie ou la rate. La longévité des adultes est de plus de 10 ans.

L'homme est le principal, mais pas l'unique, réservoir du parasite : une trentaine d'espèces animales (rongeurs) ont été trouvées spontanément infestées. Les hôtes intermédiaires sont des planorbes, mollusques appartenant à divers genres et espèces.

La schistosomose à *S. mansoni* est la plus répandue dans le monde. Son extension est très importante en Afrique tropicale. On la retrouve sur la côte est de Madagascar. Elle est la seule schistosomose américaine. Elle touche les Antilles et l'Amérique du Sud mais respecte l'Asie, sauf la péninsule arabique.

1. 1. 3 - *Schistosoma japonicum*

Espèce la plus pathogène, *S. japonicum* détermine la redoutable schistosomose artérioveineuse.

Chez l'homme, les adultes vivent essentiellement dans les plexus veineux mésentériques supérieurs, mais des couples erratiques peuvent atteindre les artères pulmonaires. La ponte est particulièrement abondante. La longévité des adultes ne dépasse guère 5 ans.

Ce ver détermine une zoonose qui affecte l'homme et de très nombreux animaux sauvages et domestiques. Les hôtes intermédiaires, mollusques amphibies, sont des *Oncomelania*.

La schistosomose à *S. japonicum* est strictement asiatique. Elle sévit en Chine, à Taïwan, aux Philippines, aux Célèbes (Sulawesi).

1. 1. 4 - *Schistosoma mekongi*

S. Mekongi est également très pathogène, strictement asiatique et de morphologie semblable à *S. japonicum*.

Son hôte intermédiaire est un mollusque : *Tricula aperta*, plus petit que les *Oncomelania* et ne survivant pas à la sécheresse.

Il existe des foyers limités en Thaïlande, aux confins du Laos et du Cambodge (le long du Mékong).

1.1.5 – *Schistosoma intercalatum* et *Schistosoma guineensis*

Agents de la schistosomose rectale, *S. intercalatum* et *S. guineensis*, très proches morphologiquement mais de répartitions géographiques différentes, sont assez mal adaptés à l'homme. Les vers adultes vivent essentiellement dans les plexus veineux péri-rectaux. Leur longévité est mal connue.

L'hôte intermédiaire est un bulin.

Ces deux schistosomoses sont uniquement africaines, sévissant en Afrique équatoriale de l'Ouest : République démocratique du Congo pour *S. intercalatum* ; République centrafricaine, République populaire du Congo, Guinée équatoriale, Cameroun, Gabon, Nigeria, Angola, Tchad et Sao Tomé pour *S. guineensis*.

1. 2 - Cycle

Il est identique dans ses grandes lignes pour les six espèces, nécessitant l'intervention obligatoire d'un hôte intermédiaire, mollusque d'eau douce (figure 1).

Les femelles, localisées selon l'espèce dans les fines ramifications veineuses de l'intestin ou de la vessie, pondent leurs œufs qui, par effraction, tombent dans la cavité de l'organe et sont éliminés par les selles (*S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*) ou les urines (*S. haematobium*).

Si les œufs sont embolisés dans les tissus, on les retrouve fixés et calcifiés en coupe histologique entourés d'un granulome éosinophile. Si, en revanche, les œufs sont excrétés dans le milieu extérieur et si les conditions sont favorables (eau douce, pH voisin de la neutralité et température comprise entre 18 °C et 33 °C), ils libèrent une forme larvaire ciliée : le miracidium, dont la durée de vie est courte : quelques heures et qui doit nager à la recherche du mollusque hôte intermédiaire spécifique de l'espèce de schistosome.

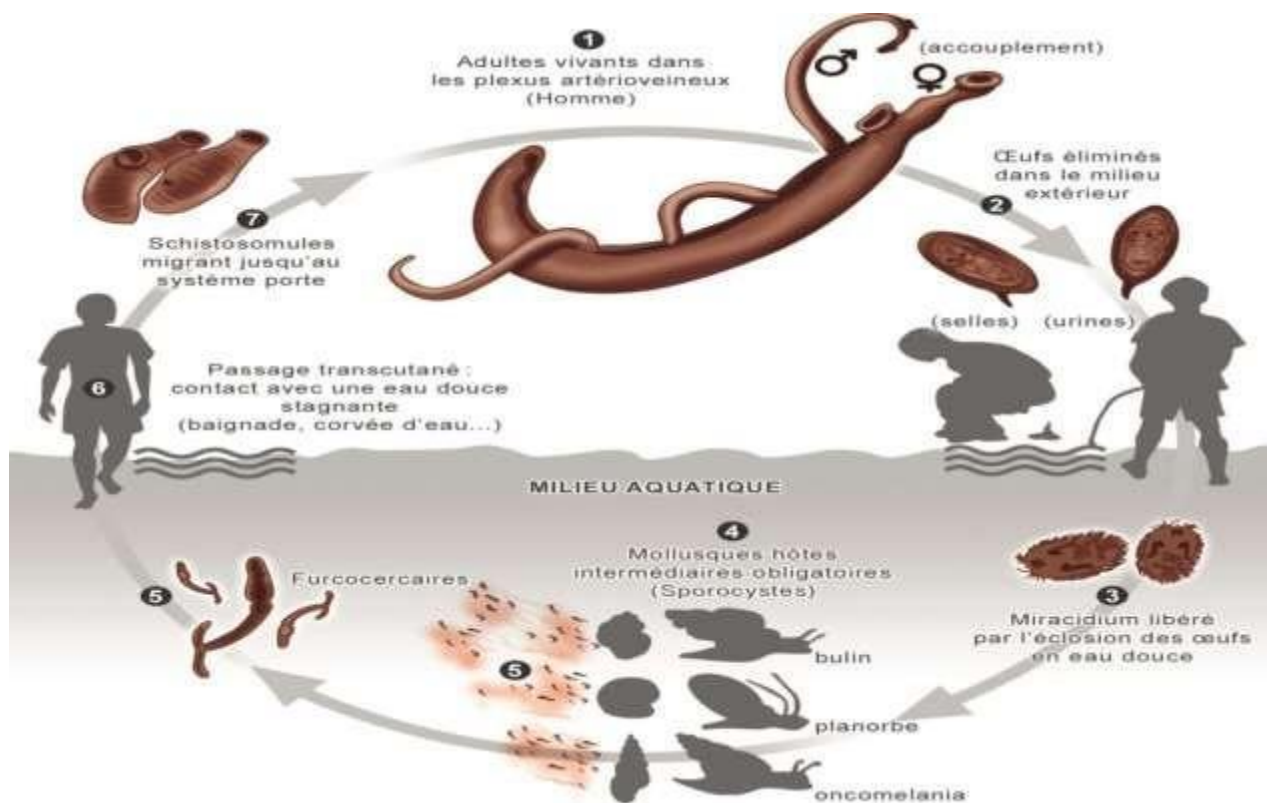


Fig. 1 Cycle évolutif des schistosomes

Lorsque la température est adéquate (30°C), l'évolution larvaire chez le mollusque dure 1 mois. Le mollusque excrète la forme larvaire infectante : la cercaire. Par phénomène de polyembryonnie, un miracidium donne des milliers de cercaires. Celles-ci, très mobiles dans l'eau douce, mesurent 0,5mm et possèdent une « queue » bifide ou fourchue (furcocercaire).

La contamination de l'homme s'effectue à l'occasion d'un bain en eau douce, même bref (moins de 10 minutes). La durée de survie des furcocercaires est courte (quelques heures) ; celles-ci sont attirées par chimiotactisme et pénètrent au travers des téguments de toute partie immergée de l'hôte

définitif. Au moment où la furcocercaire pénètre, elle se sépare de sa «queue» et la partie antérieure, ou schistosomule, migre vers les vaisseaux portes intrahépatiques où il devient adulte en 2 à 3 mois. Après l'accouplement, les vers remontent la circulation porte à contre-courant. Les femelles fécondées se séparent alors des mâles et s'engagent, selon un tropisme particulier à chaque espèce, dans les fines ramifications viscérales d'un plexus veineux déterminé où elles pondent leurs œufs.

2 - PHYSIOPATHOLOGIE

Hormis l'action irritante des cercaires pénétrant à travers la peau et les phénomènes toxiques dus à la migration des schistosomules et des adultes, ce sont essentiellement les réactions immunitaires autour des œufs dans les tissus qui sont à l'origine des lésions anatomiques et des signes cliniques observés. Les œufs traversent les parois des capillaires et des tissus de l'organe creux sous-jacent, arrivent dans sa lumière et sont éliminés avec les excréta (selles, urines), assurant la continuité du cycle parasitaire. Des microsaignements expliquent les hématuries et le sang dans les selles.

Certains d'entre eux restent bloqués dans les tissus, à l'origine du granulome bilharzien (réaction inflammatoire autour des œufs). Au cours des années, les granulomes confluent et deviennent macroscopiques (bilharziomes). Ils subissent une évolution soit hyperplasique soit nécrotique et ulcéreuse, toujours génératrice de sclérose secondaire responsable de rétractions cicatricielles des organes contaminés ou de calcifications des tissus. Par exemple, les œufs de *S. haematobium* peuvent provoquer une sténose orificielle entraînant une stase urinaire. Celle-ci peut être responsable, en amont, de la dilatation de tout l'arbre urinaire aboutissant, à terme, à la destruction du parenchyme rénal. Ils peuvent se calcifier et constituer ainsi une vessie rigidifiée, favorisant infection et stase. Les tumeurs granulomateuses de la vessie peuvent évoluer en carcinome, le plus souvent épidermoïde.

Dans la genèse de la fibrose bilharzienne avec hypertension portale, le rôle pathogène primordial est joué par les œufs. L'examen histologique du foie révèle une fibrose péri-portale, faisant suite à l'évolution du granulome

bilharzien autour des œufs. Ces granulomes enserrant électivement les veinules porte, souvent thrombosées, donnant la classique image de sclérose en « tuyau de pipe ».

3 - CLINIQUE

La phase d'invasion toxémique est commune, à des degrés divers, aux différentes espèces. Les signes cliniques de la période d'état sont plus spécifiquement en rapport avec l'espèce en cause et la localisation des pontes.

3. 1 - Phase de contamination

Elle correspond à la pénétration transcutanée des furcocercaires. Souvent asymptomatique, elle peut se manifester par une dermatite cercarienne, dite « dermatite des nageurs » (érythème cutané allergique), survenant 15 à 30 minutes après le bain infestant. Cette dermatite est plus marquée pour les deux espèces extrême-orientales (*S. japonicum*, *S. mekongi* : maladie de Katayama).

3. 2 - Phase d'invasion toxémique

Elle est contemporaine de la migration et de la maturation des schistosomules dans la circulation sanguine. Elle peut être marquée par un malaise général: asthénie, fièvre, céphalées, anorexie, accompagné de troubles d'ordre allergique (prurit, arthralgies, myalgies, poussée d'urticaire...). Des encéphalites ou des myocardites sont rarement observées. Cette phase est marquée au cours des primo-infestations à *S. mansoni* ou *S. japonicum* et plus discrète pour *S. haematobium* ou *S. intercalatum*.

3. 3 - Phase d'état et évolution

Elle est en rapport avec la localisation des pontes des femelles.

3.3.1 - Schistosomose urogénitale (*S. haematobium*)

L'atteinte vésicale est la plus fréquente: le maître symptôme est l'hématurie souvent inaugurale, micro- puis macroscopique, indolore et d'évolution capricieuse, de découverte fortuite ou macroscopique, discrète et

terminale ou abondante et totale avec caillots. Elle s'accompagne de signes d'irritation vésicale : douleurs mictionnelles, irradiant vers les bourses et le périnée, pollakiurie. Des crises de cystites et des coliques néphrétiques peuvent faire évoquer un diagnostic de schistosomose. À la longue, des complications de l'arbre urinaire peuvent apparaître : fistule urétrale, sténose et dilatation urétrales, urétérohydronéphrose, surinfection (cystite, pyélonéphrite...), lithiase vésicale, glomérulonéphrite.

Les appareils génitaux peuvent être touchés (urétrite, épididymite, spermatocystite, prostatite, salpingite, endométrite, vaginite, cervicomérite) et se compliquer d'impuissance et/ou de stérilité.

C'est surtout au niveau rénal que se joue le pronostic de la schistosomose urogénitale (insuffisance rénale). Un cancer de la vessie est à suspecter en cas de persistance des symptômes vésicaux malgré un traitement bien conduit.

3.3.2- Schistosomose intestinale (*S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*)

La symptomatologie est dominée par les manifestations intestinales et hépatospléniques. On observe une perturbation du transit, alternance de crises diarrhéiques d'intensité variable et de constipation, accompagnée de douleurs coliques pour *S. mansoni* et d'une pathologie rectale pour *S. intercalatum*. *S. mansoni* et, à un moindre degré, *S. intercalatum* et *S. guineensis* entraînent à la longue une pathologie hépatosplénique avec, dans les formes graves, l'apparition d'une hypertension portale qui conditionne le pronostic des schistosomoses intestinales.

3.3.3- Schistosomose artérioveineuse (*S. japonicum*, *S. mekongi*)

La phase d'état est fréquemment grave, marquée d'emblée par une atteinte hépatosplénique grave, un ictère, des hémorragies digestives par hypertension portale, de l'ascite, de l'œdème et des phénomènes d'hypersplénisme. En l'absence de prise en charge précoce, le pronostic est sombre.

3.3.4 - Schistosomose extra-intestinale

Les localisations extra-intestinales sont dues à la migration erratique du parasite ou, plus souvent, à l'embolisation massive d'œufs vivants par les anastomoses portocaves. Il s'agit le plus souvent de localisations cardiovasculaires, neurologiques ou cutanées. Elles sont relativement rares pour *S. haematobium*, *S. guineensis* et *S. intercalatum*, plus fréquentes pour *S. mansoni* et *S. japonicum*.

4- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic est évoqué sur des arguments :

- épidémiologiques : patient revenant d'une zone d'endémie bilharzienne et possible contamination au cours d'un bain dans un marigot, un lac d'eau douce, une rivière...)
- cliniques : devant une fièvre, une hématurie, des selles striées de sang
- biologiques : hyperéosinophilie non spécifique mais évocatrice en association avec les données cliniques et épidémiologiques.

Les méthodes diagnostiques utilisées varient en fonction du stade de développement du parasite.

4. 1 - Diagnostic indirect

En période d'invasion, la symptomatologie de la schistosomose est aspécifique et il n'y a pas encore d'élimination d'œufs permettant un diagnostic de certitude. Seul le diagnostic indirect est envisageable: hyperéosinophilie et anticorps sériques spécifiques apparaissant progressivement 4 à 6 semaines après le bain contaminant.

L'association de plusieurs techniques sérologiques (IFI, HAI, ELISA, western blot) utilisant des antigènes différents améliore la sensibilité du sérodiagnostic et permet de suivre l'évolution après traitement.

4. 2 - Diagnostic direct

À la phase de maturation des parasites, il y a émission d'œufs, qu'on doit rechercher dans les selles ou les urines ou éventuellement reconnaître dans les biopsies (granulome). À cette phase, l'imagerie permet un bilan

d'extension des lésions. La mise en évidence des œufs, dont l'émission débute 2 à 3 mois après le bain infestant, apporte la preuve indiscutable de la parasitose et l'identification de l'espèce.

4. 2. 1 - Recherche des œufs dans les urines

Il s'agit uniquement d'œufs de *S. haematobium*. Le meilleur examen consiste à examiner le culot de sédimentation des urines de 24 heures. En cas d'impossibilité de recueillir les urines de 24 heures, les œufs peuvent être recherchés sur miction complète matinale si possible, après un effort physique prémictionnel (marche à pied, montée d'un escalier, massage pelvien, sautillerment...). Le nombre et la vitalité des œufs sont notés.

La filtration des urines sur membrane est une méthode sensible, fidèle et quantitative (nombre d'œufs par litre d'urine).

Les œufs de *S. haematobium* sont grands, 150 µm sur 60 µm, de forme ovale, à éperon terminal. Le miracidium est bien visible dans les œufs vivants grâce aux cils vibratiles (figure 2a).

4. 2. 2 - Recherche des œufs dans les selles

Le rectum étant un carrefour pour les six espèces de schistosomes, les œufs de *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum*, *S. guineensis* et parfois *S. haematobium* peuvent être rencontrés au cours d'un examen de selles.

Les œufs de *S. mansoni* mesurent 140 µm sur 65 µm. De forme ovale, ils possèdent un éperon latéral subterminal de grande taille. L'œuf viable contient l'embryon cilié, ou miracidium (figure 2b).

Les œufs de *S. intercalatum* et *S. guineensis* mesurent 200 µm sur 65 µm. De forme ovale, grossièrement losangique, ils possèdent un éperon terminal apical long (figure 2c).

Les œufs de *S. japonicum* (figure 2d) et de *S. mekongi* (figure 2e) sont plus petits (70 µm sur 50 µm pour *S. japonicum* et 60 µm sur 40 µm pour *S. mekongi*) et plus sphériques. Ils présentent latéralement un petit éperon souvent difficile à voir selon l'orientation des œufs. Les œufs possèdent dès l'émission un embryon cilié.

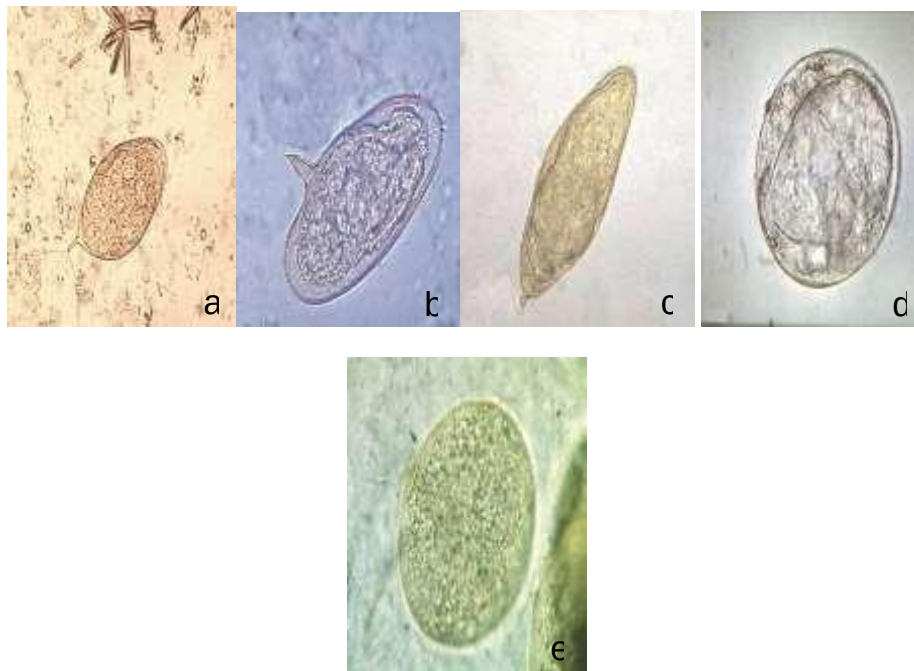


Fig. 2 œufs de *Shistosoma*

Fig. 2a: œuf de *S. haematobium* (culot de sédimentation des urines); Fig. 2b: œuf de *S. mansoni*; Fig 2c: œuf de *S. intercalatum*; Fig. 2d: œuf de *S. japonicum*; Fig. 2e: œuf de *S. mekongi*

4. 2. 3 - Biopsies

En cas d'examens d'urines et de selles négatifs, des biopsies rectales (préférentiellement) et vésicales sont plus performantes. La forme des œufs et la position de l'éperon permettent d'identifier l'espèce. L'examen anatomopathologique d'une biopsie rectale, vésicale, hépatique ou d'un autre organe peut retrouver des œufs plus ou moins calcifiés avec une réaction granulomateuse et de nombreux éosinophiles. Le plan de coupe passe par l'axe de l'éperon, ce qui permet le diagnostic d'espèce (*S. mansoni*).

5- EXAMENS COMPLEMENTAIRES NON BIOLOGIQUES

Des examens complémentaires sont nécessaires pour évaluer l'extension des lésions.

5-1 - Schistosomose urinaire

En cystoscopie, les images sont pathognomoniques et différentes suivant la phase évolutive : image en « sucre semoule », aspect de grains d'acné, puis

tumeur framboisée évoluant éventuellement vers une cancérisation.

La radiographie simple permet d'observer des calcifications vésicales ou urétérales dans les formes chroniques. La vessie peut être entièrement calcifiée, donnant l'image classique et pathognomonique de la « vessie porcelaine ».

L'échotomographie permet de repérer les papillomes vésicaux ou les dilatations calicielles au niveau des reins.

L'urographie intraveineuse peut être intéressante pour faire le bilan des lésions vésicales et urétérales et évaluer le retentissement rénal en amont. Elle permet d'apprécier le degré des stases, les rétrécissements et dilatations des uretères, l'hydronéphrose uni- ou bilatérale, et les calcifications vésicales et urétérales.

5. 2 - Schistosomose intestinale ou hépatosplénique

La rectosigmoïdoscopie et la colonoscopie permettent d'apprécier le siège et le nombre des lésions, et montrent des lésions ulcéreuses, voire des polypes, saignant facilement au contact (bilharziome).

5. 3 - Schistosomose extra-intestinale

La radiographie pulmonaire visualise des images micronodulaires disséminées ou une miliaire dans la schistosomose cardiopulmonaire. L'IRM objective une compression médullaire dans la schistosomose rachidienne épidurale ou une image pseudotumorale cérébrale.

6- TRAITEMENT ET PREVENTION

6-1-Traitement curatif

Toute schistosomose évolutive doit être traitée afin d'éviter les complications. En phase d'invasion, le traitement anti-schistosome est inefficace sur les formes larvaires et peut entraîner des réactions paradoxales. En phase d'état, le praziquantel (Biltricide®) est efficace sur tous les schistosomes adultes. Il est prescrit à la dose de 40 mg/kg *per os* en une à deux prises mais en un seul jour (soit 4 comprimés de 600 mg chez l'adulte) dans les schistosomoses urogénitale et intestinales, et à la dose de 60 mg/kg dans les schistosomoses

artérioveineuses. Une corticothérapie n'est pas recommandée ; elle augmente le métabolisme hépatique et diminue la concentration plasmatique du praziquantel, et expose le patient à un risque d'échec thérapeutique.

La surveillance post-thérapeutique associe une série de contrôles à 2 mois, 6 mois et un an. Le traitement peut provoquer une libération brutale d'antigènes provenant de la lyse des vers. Il en résulte parfois une élévation du taux des éosinophiles et des anticorps antibilharziens dans les 2 à 3 mois. Des œufs morts peuvent être éliminés pendant plusieurs mois après traitement.

6. 2 - Prévention

La lutte contre la maladie impose une stratégie globale comprenant la lutte contre les mollusques, le traitement des sujets parasités, l'amélioration des conditions sanitaires dans l'élimination des excréments humains. Ces programmes de lutte sont freinés par le niveau de développement socio-économique. Cependant, le traitement de masse (praziquantel) a fortement diminué la charge parasitaire.

À titre individuel, il est fortement déconseillé de se baigner en eaux douces ou saumâtres stagnantes, même pour de très courtes et très partielles immersions. Les baignades ne doivent être acceptées qu'en eau de mer ou en piscine.

POST-TEST

1- Le pouvoir pathogène de la bilharziose à la phase d'état est dû essentiellement à :

- A-** l'action mécanique des parasites adultes
- B-** l'action des toxines élaborées par les parasites adultes
- C-** la présence d'œufs dans les tissus
- D-** la migration sous cutanée des formes larvaires
- E-** l'hématophagie des parasites adultes

Réponse : C

2- Quels sont les examens 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 ?

Réponse : C-D

CESTODES ADULTES ET CYSTICERCOSE

Pr Sourour Néji

Objectif éducationnel

Diagnostiquer et prendre en charge les cestodoses : les taeniasis, la cysticercose, l'hyménolépiose et la bothriocéphalose.

INTRODUCTION

Les ténias, *Taenia saginata* et *Taenia solium*, sont des cestodes, vers plats, cosmopolites, parasites de l'intestin grêle de l'Homme. Ils ont une forme rubanée, sont segmentés, hermaphrodites, et leur évolution comporte un stade adulte et un stade larvaire. Les stades larvaires, ou cysticerques, sont hébergés par les hôtes intermédiaires (bovins, porcins). Ces stades larvaires sont infectants par voie orale pour l'Homme (hôte définitif), chez lequel ils déterminent le tæniasis. Cependant, l'Homme peut accidentellement devenir hôte intermédiaire pour *T. solium* : ses larves peuvent déterminer une cysticercose sous-cutanée, musculaire, neurologique ou oculaire. D'autres cestodes peuvent parasiter l'intestin de l'Homme à l'état adulte : il s'agit surtout d'*Hymenolepis nana* et de *Diphyllobothrium latum* (bothriocéphale).

1 - ÉPIDÉMIOLOGIE

1. 1 - Agents pathogènes

1. 1. 1 - *Taenia saginata*

Parasite de l'intestin grêle, strictement humain, il s'agit d'un ver plat blanc de grande taille (**4 à 10 mètres de longueur**), segmenté en 1 000 à 2 000 anneaux, ou proglottis. Il est **en général isolé (ver solitaire)** (figure 1).

La tête, ou scolex, est piriforme, d'un diamètre de 1,5 mm à 2 mm, possède quatre ventouses (fixation à la muqueuse intestinale), sans rostre, ni crochet (ténia inerme). À la suite du scolex, le cou mesure quelques millimètres de

long et donne naissance aux anneaux, qui forment le corps du ténia, ou strobile, en augmentant progressivement de taille. À maturité, ils prennent la forme d'une « nouille plate », rectangulaires, plus longs que larges (16–20 mm × 5–7 mm). Les proglottis matures sont émis activement dans le milieu extérieur, en dehors des selles, isolément ou en chaînes plus ou moins longues. Ils contiennent des œufs, qui se transforment en embryophore contenant une larve hexacanthe de 40 µm de diamètre. La durée de vie du ténia adulte est de plusieurs années en l'absence de traitement.



Fig. 1 *Taenia saginata* adulte (in toto)

1. 1. 2 - *Taenia solium*

Parasite strictement humain, ce ver a un aspect semblable à *T. saginata*, mais légèrement plus court (**2 à 8 mètres**) (figure 2).

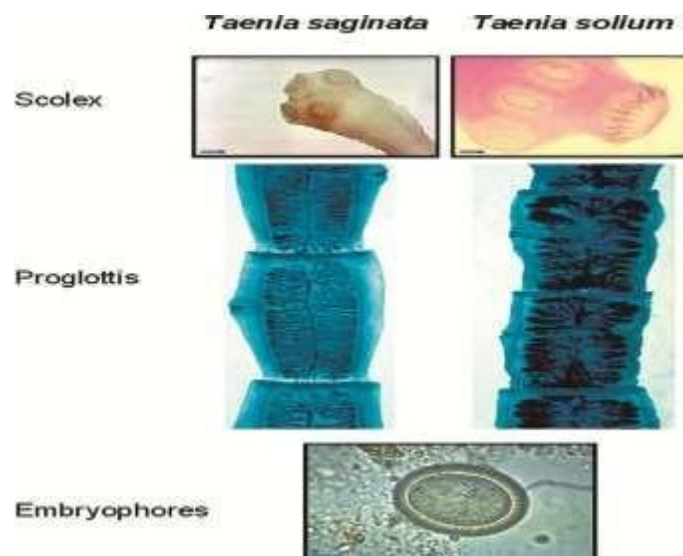


Fig. 2 *Taenia saginata* et *Taenia solium*, adultes, embryophores

Le scolex, d'un diamètre de 1 mm, avec quatre ventouses arrondies et un rostre court, est muni d'une double couronne de crochets (ténia armé). Les proglottis sont macroscopiquement semblables à ceux de *T. saginata*. Ils diffèrent par leur immobilité et sont donc émis passivement dans le milieu extérieur, avec les selles, isolément ou en chaînes. Les œufs et embryophores sont semblables à ceux de *T. saginata*.

1. 1. 3 - *Hymenolepis nana*

Les adultes, souvent nombreux, mesurent **3 cm** au maximum. Leur chaîne est constituée d'anneaux beaucoup plus larges que longs dont les pores génitaux, un par anneau, sont tous situés sur le même côté. Le scolex porte une seule couronne de crochets. Les œufs hexacanthés émis dans les selles mesurent 30 µm à 50 µm de diamètre.

1. 1. 4 - *Diphyllobothrium latum*

Le bothriocéphale est un grand cestode qui atteint **10 à 15 mètres**. Le scolex présente deux fentes longitudinales, les bothridies. Les derniers anneaux de la chaîne, qui peut en comporter jusqu'à 4 000, plus larges que longs, ont un aspect trapézoïdal. Le pore génital de chacun d'eux est médian et ventral ; il libère dans l'intestin des œufs operculés (60-70 µm × 40-45 µm).

1. 2 - Cycles

1.2. 1 - *Taenia saginata*

À maturité, les proglottis se détachent un à un du strobile. **Plusieurs anneaux mobiles forcent activement le sphincter anal** en laissant échapper des œufs ou des embryophores dans les plis de la marge anale.

Dans le milieu extérieur, les anneaux sont lysés et libèrent les œufs (environ 80 000 œufs par anneau), qui sont très résistants dans le milieu extérieur. Ils sont disséminés sur le sol, les égouts, les pâturages... Après ingestion par un bovidé, les embryophores, contenant des embryons hexacanthés, sont digérés par les sucs gastriques, les sucs intestinaux et la bile (figure 3). Les

embryons libérés traversent la muqueuse intestinale. Ils disséminent dans tout l'organisme par voie sanguine et lymphatique. Ils se localisent principalement dans les muscles pour former en 3 à 4 mois des vésicules de 5 mm à 10 mm : les larves cysticerques. Le cysticerque comporte un scolex invaginé avec quatre ventouses. Sa durée de vie est en moyenne de 20 à 30 mois, puis il se calcifie. Le même hôte peut héberger de nombreux cysticerques à plusieurs stades d'évolution. Les cysticerques résistent 40 jours dans les carcasses à 4°C et 4 heures à – 10 °C. Ils sont détruits à 45 °C. La contamination de l'Homme (hôte définitif) se fait par ingestion de viande de bœuf (hôte intermédiaire) contaminée, crue ou mal cuite, contenant des larves cysticerques vivantes. Dans l'intestin grêle, particulièrement dans le jéjunum, le scolex s'évagine, puis se fixe sur la muqueuse et donne un adulte en 3 mois.

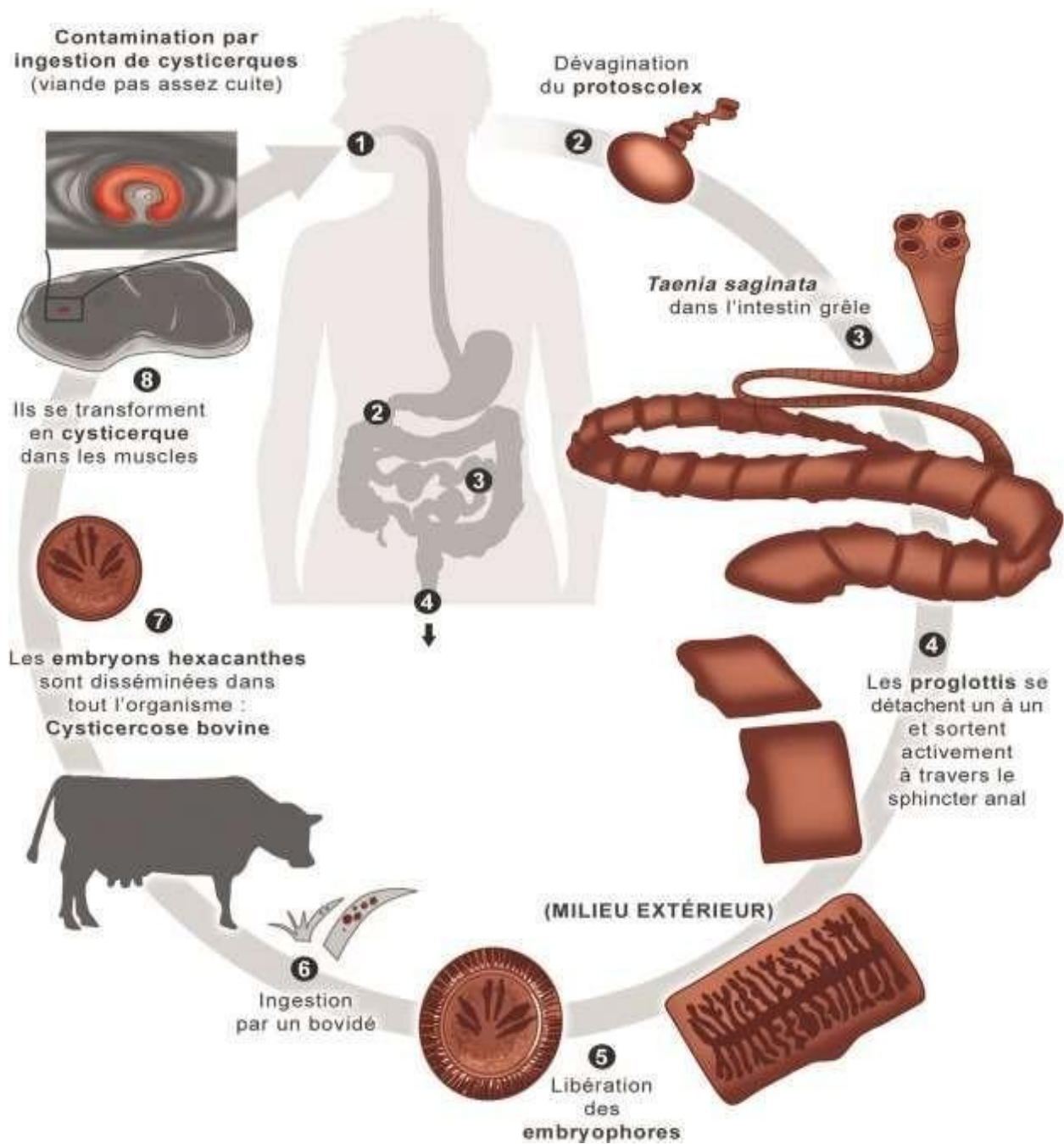


Fig. 3 Cycle évolutif de *Taenia saginata*

1. 2. 2 - *Taenia solium*

À la différence de *T. saginata*, les anneaux sont **éliminés passivement dans les selles** par courtes chaînes de cinq à dix éléments.

Dans la nature, les anneaux sont lysés et les œufs, puis les embryophores, sont libérés. Après ingestion par un porc (mais aussi sanglier, phacochère...), animal volontiers coprophage, les embryophores sont digérés et les embryons libérés se localisent principalement dans le tissu conjonctif des muscles striés, pour former en 3 à 4 mois des vésicules de 15 mm × 7 mm : les larves cysticerques. Chez le porc infecté (dénommé ladre), le cœur et la langue peuvent contenir de très nombreuses larves. L'Homme peut également être infecté par les larves cysticerques : soit par contamination exogène (crudités souillées par les embryophores), soit par contamination endogène (auto-infection par digestion d'anneaux remontés dans l'estomac par anti-péristaltisme) (figure 4).

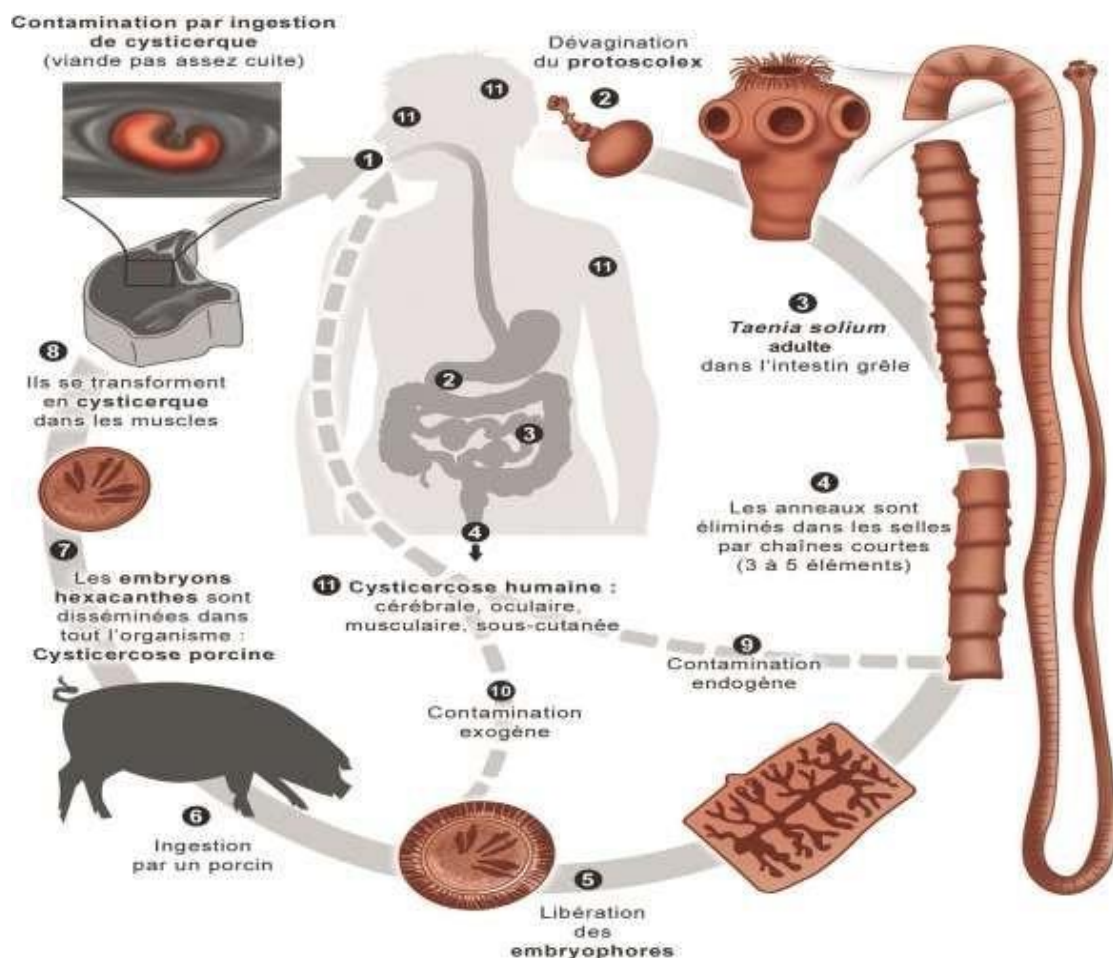


Fig. 4 Cycle évolutif de *Taenia solium*

L'Homme (hôte définitif) se contamine par ingestion de viande de porc lardre (hôte intermédiaire) mal cuite ou de charcuterie (la fumaison ne détruit pas les cysticerques). Dans l'intestin grêle, l'adulte parvient à maturité en 3 mois.

1. 2. 3 - *Hymenolepis nana*

Le cycle à l'origine de l'infestation de l'Homme est **le plus souvent direct** et entretient la parasitose par **auto-infection**. À partir de l'œuf ingéré avec des crudités souillées, l'embryon hexacanthé est libéré et pénètre dans l'épaisseur d'une villosité, y évolue en larve cysticercoïde (forme microscopique non vésiculeuse contenant un seul scolex invaginé) en quelques jours ; celle-ci retombe dans la lumière de l'intestin, se dévagine et donne naissance à l'adulte dont les œufs commencent à apparaître dans les matières fécales 1 mois environ après l'infestation. Un **cycle indirect, beaucoup plus rare, passe par un insecte**, hôte intermédiaire (ver de farine, charançon...). L'Homme est donc le plus souvent à la fois hôte définitif et hôte intermédiaire.

1. 2. 4 - *Diphyllobothrium latum*

Sa longévité est de l'ordre de 10 ans. Les anneaux du bothriocéphale émettent dans l'intestin des œufs éliminés dans le milieu extérieur avec les matières fécales. Le cycle est **aquatique** (figure 5) : après maturation, l'œuf libère un embryon mobile (coracidium) qui, ingéré par un crustacé copépode, donne une première forme larvaire (procercoïde). Ce copépode ingéré par un **poisson d'eau douce carnivore** permet à la larve de se transformer en une forme infectante (plérocercoïde).

L'**Homme** et les **mammifères ichthyophages** (chien, chat, loutre, ours...) se contaminent par ingestion d'un poisson infecté cru ou peu cuit. Dans l'intestin grêle, le ver parvient à maturité en 3 mois.

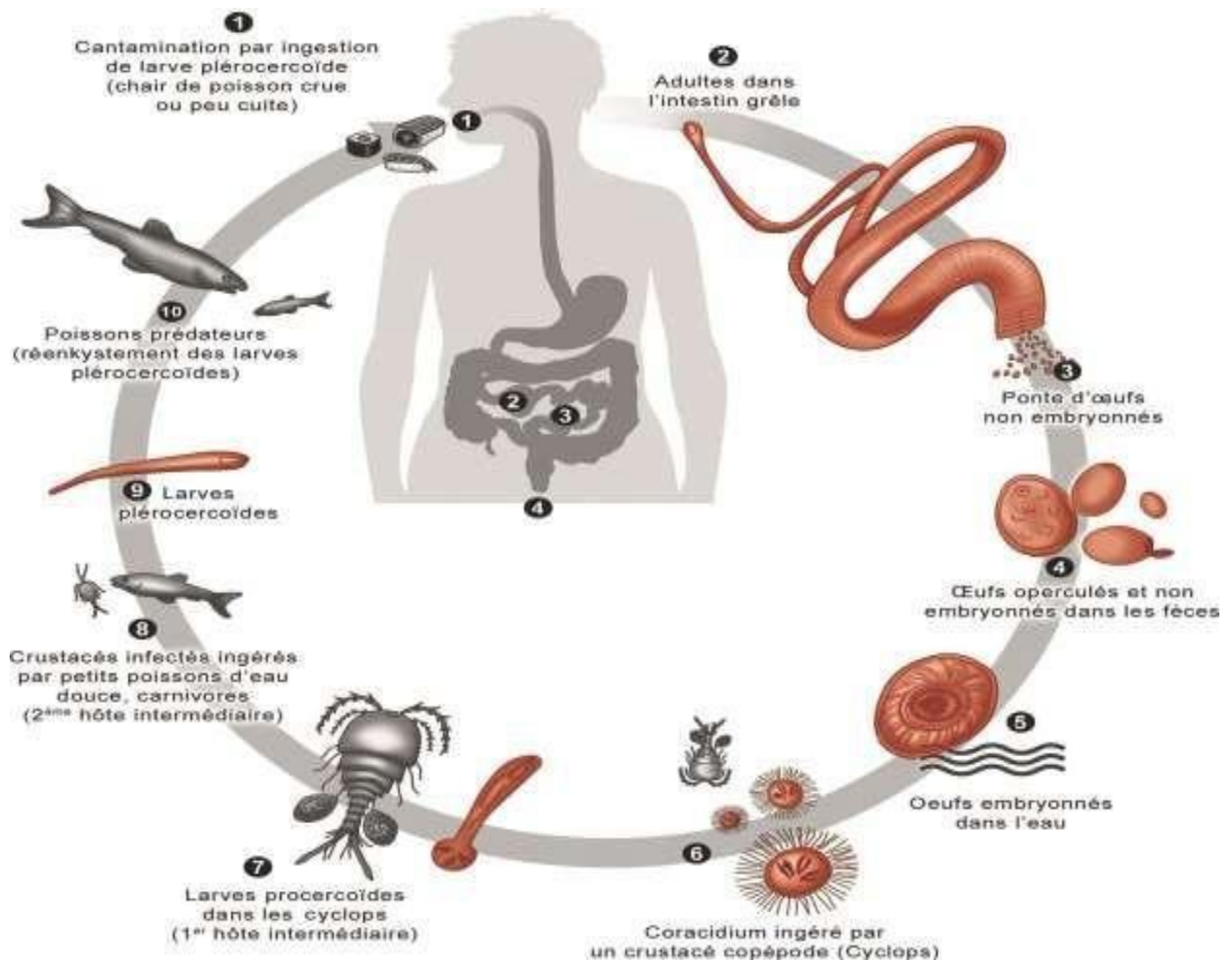


Fig. 5 Cycle évolutif du bothriocéphale (*D. latum*)

1. 3 - Répartition géographique

La répartition est **cosmopolite**. Elle dépend des habitudes alimentaires (viande et poisson crus) et de la carence ou de la difficulté des contrôles sanitaires.

Taenia saginata est de très loin le plus fréquent en France et en Tunisie.

Taenia solium est encore présent dans certains pays d'Europe (péninsule ibérique, Italie, pays de l'Est européen) et dans plusieurs pays tropicaux (Réunion, Madagascar, Amérique du Sud, Extrême-Orient...). Du fait de l'interdiction religieuse de la consommation de viande de suidés, il est rare dans les communautés musulmanes et juives.

Hymenolepis nana est essentiellement rencontré dans les régions du globe sous équipées en structures d'hygiène collectives. ***Diphyllobothrium latum*** existe dans de très nombreuses régions lacustres, sous tous les climats.

2 - PHYSIOPATHOLOGIE

Dans les cestodoses intestinales, les troubles sont essentiellement dus à l'action irritative, mécanique (*T. saginata*, *T. solium* et *H. nana*) et spoliatrice en cas de forte infestation pour le bothriocéphale (carence en vitamine B12). Dans la cysticercose, sauf lorsqu'ils sont localisés dans l'œil, les cysticerques viables induisent une réaction granulomateuse. Un cysticerque qui meurt peut entraîner une réaction inflammatoire aiguë associée à des lésions tissulaires. Après un temps variable, le cysticerque se calcifie.

3 - CLINIQUE

3. 1 - Tæniasis

Le plus souvent, le tæniasis est latent et n'est reconnu que par la **découverte d'anneaux dans les sous-vêtements ou la literie** dans le cas de ***T. saginata***. Cependant, les manifestations cliniques peuvent revêtir les aspects les plus divers.

Les signes digestifs sont variés : **boulimie ou anorexie, nausées ou vomissements, troubles du transit avec alternance de diarrhée et de constipation**. Il peut exister des douleurs d'intensité variable plus ou moins bien localisées, souvent épigastriques ou pseudo-appendiculaires. Lors du passage d'un anneau de *T. saginata*, il peut se produire un **prurit anal**. Les signes extradigestifs sont polymorphes, souvent exagérés par un patient anxieux et rattachés sans preuve formelle à la présence d'un ténia. On peut noter :

- des signes nerveux : troubles du caractère, troubles du sommeil...
- des signes cardiovasculaires : palpitations, réactions vasomotrices...
- des signes respiratoires : dyspnée, manifestations asthmatiques...

- des signes cutanés de nature allergique : prurit, urticaire.

3. 2 - Hyménolépiose

Chez l'adulte, cette parasitose est **généralement asymptomatique**. En cas de manifestations cliniques, elles sont alors identiques à celles des grands ténias.

Chez l'enfant, l'hyménolépiose est souvent associée à des troubles de l'absorption avec un retard staturo-pondéral pouvant être important.

3. 3 - Bothriocéphalose

Le bothriocéphale, en dépit de sa grande taille, est souvent **relativement bien toléré**. On peut observer des **manifestations classiques de tœniasis** (nausées, douleurs abdominales, poussées de diarrhée, trouble de l'appétit). Le sujet porteur de bothriocéphale peut présenter une **anémie de type macrocytaire et mégaloblastique** (pseudobiermérienne), due à la fixation par les tissus du parasite de la vitamine B12 apportée par l'alimentation. Cette anémie est cependant rare ; elle ne s'observe que dans les régions où le régime alimentaire de l'Homme est déjà carencé en vitamine B12 ou en cas de polyparasitisme.

3. 4 - Cysticercose

La cysticercose est l'infection de l'Homme par le **stade larvaire de *T. solium***. Des cysticerques ont été observés dans tous les organes du corps humain. Ils sont cependant plus souvent localisés dans les tissus sous-cutanés, les muscles de la langue, du cou et du thorax, les muscles orbitaires et l'œil, et le cerveau. La symptomatologie est fonction du nombre et de la localisation des cysticerques.

2. 4. 1 - *Cysticercoses sous-cutanée et musculaire*

Ces localisations sont le plus souvent asymptomatiques. Les localisations fréquentes sont : masséters, cou, poitrine, paroi abdominale, dos, aine, cuisse.... Il y a rarement œdème et myopathie.

L'examen radiographique peut montrer des calcifications après 3 à 5 ans. Les larves calcifiées ou partiellement calcifiées dans les muscles se présentent comme des formations allongées de 1 cm à 2 cm sur 0,8 cm (aspect en « grain de riz »).

3. 4. 2 - *Neurocysticercose*

La neurocysticercose est le plus souvent révélée par une **crise convulsive** inaugurale ou une découverte radiologique. Les signes cliniques varient selon les localisations : épilepsie, hémiplégie transitoire, états psychotiques, manie aiguë, détérioration mentale progressive, hypertension intracrânienne, hydrocéphalie...

En imagerie, les **cysticerques cérébraux calcifiés** sont sphériques à la **radiographie**. À l'examen tomodensitométrique, ils se présentent souvent comme des images hypodenses entourées d'un halo clair, qui peut prendre le contraste après injection.

3.4. 3 - *Cysticercose oculaire*

Les atteintes oculaires sont rares. Parmi celles-ci, on peut noter 10 % d'atteintes des annexes de l'œil (paupière supérieure, orbite, conjonctive) et 90 % de formes intraoculaires avec, souvent, une localisation dans le vitré entraînant une uvéite plus ou moins sévère et une perte de la vue soudaine ou progressive. Le cysticerque est visible à l'examen du fond d'œil.

4 - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic des cestodoses adultes est avant tout direct, assuré par la mise en évidence d'anneaux (*T. saginata*, *T. solium*), éventuellement d'œufs

(bothriocéphale et *Hymenolepis*) ou d'embryophores (*T. saginata*, *T. solium*). Dans la cysticercose, le diagnostic est sérologique, radiologique et/ou anatomopathologique.

4. 1 - Tæniasis, hyménolépiose et bothriocéphalose

4. 1. 1 - Diagnostic direct

Pour *T. saginata*, le prélèvement des **anneaux** a lieu le plus souvent dans les **sous-vêtements** ou la **litterie**. Les anneaux recueillis sont aplatis, rectangulaires, blanchâtres, opaques, souvent déformés car desséchés. Dans les selles, les anneaux de *T. saginata* restent mobiles.

Pour *T. solium*, la mise en évidence des anneaux est classiquement faite dans les **selles**. Les anneaux sont dépourvus de mobilité. Les **embryophores** peuvent être retrouvés à l'examen parasitologique des selles. Ils sont indifférenciables pour *T. saginata* et *T. solium*. Dans ces deux espèces, les œufs à double coque libèrent, en perdant la plus externe, dans le milieu extérieur des embryophores arrondis (40 µm), à paroi épaisse, brune et striée, contenant un embryon hexacanthé.

Ils sont aussi retrouvés sur la marge anale. Le test à la cellophane adhésive de Graham consiste à appliquer un morceau de ruban adhésif transparent à la marge de l'anus après en avoir déplissé les plis radiés (« Scotch®-test » anal) puis de le coller sur une lame de verre et d'observer le montage au microscope.

Les **œufs d'*Hymenolepis***, arrondis (45 µm × 35 µm), contiennent aussi un embryon hexacanthé. La coque est lisse, mince et incolore, la coque interne porte deux mamelons, diamétralement opposés, d'où partent des filaments.

Les **œufs de bothriocéphale**, nombreux, sont ovoïdes, operculés et contiennent des cellules ovulaires (65 µm × 45 µm).

4. 1. 2 - Diagnostic indirect

L'éosinophilie, classiquement modérée, voire absente lorsque le ver est adulte, peut s'avérer élevée à l'installation du parasite (avant le 3^e mois). L'observation de **cristaux de Charcot-Leyden** dans les selles est évocatrice de la présence d'un ténia immature.

Dans la bothriocéphalose, une anémie macrocytaire et mégaloblastique peut être observée.

Le sérodiagnostic est sans intérêt dans les cestodoses intestinales. Toutefois, en cas d'infection par *T. solium*, un examen sérologique peut être pratiqué pour dépister une éventuelle cysticercose.

4. 2 - Cysticercose

Les signes d'orientation cliniques, géographiques et l'imagerie sont importants. L'éosinophilie sanguine, souvent absente, présente peu d'intérêt pour le diagnostic. Le diagnostic biologique repose sur le **sérodiagnostic** en dépit d'une sensibilité moyenne. Les techniques le plus fréquemment utilisées sont la recherche d'anticorps dans le **sérum** ou dans le **liquide cébrospinal** par ELISA et par *western blot*, plus spécifique et plus sensible.

Bien que peu pratiquée, la biopsie-exérèse avec mise en évidence du cysticerque reste l'examen de certitude. Elle reste le fait de quelques formes cutanées, de quelques formes neurologiques dont la gravité impose la chirurgie ou encore des rares formes oculaires.

5-TRAITEMENT ET PREVENTION

5-1 - Traitement curatif

5. 1. 1 - Cestodoses intestinales

Le **praziquantel** (Biltricide®), hors AMM, est efficace à la posologie habituelle est de 10 mg/kg en une seule prise pour *T. saginata*, *T. solium* et le bothriocéphale, et de 15 à 25 mg/kg pour *Hymenolepis*. Le **niclosamide** (Trédémine®) est prescrit à la dose de 2 g chez l'adulte

pour *T. saginata*, *T. solium* et bothriocéphale. Ce produit nécessite un mode de prise particulier : rester à jeun depuis la veille ; prendre 2 comprimés, les mâcher longuement puis les avaler avec très peu d'eau ; attendre 1 heure en restant à jeun ; prendre à nouveau 2 comprimés, les mâcher longuement puis les avaler avec très peu d'eau ; attendre encore 3 heures avant de s'alimenter.

Pour *Hymenolepis*, la dose d'attaque est de 4 comprimés le premier jour, à répartir au cours des repas, et de 2 comprimés par jour pendant 6 jours pour couper le cycle direct. Chez l'enfant, la dose est réduite de moitié ou du quart selon l'âge.

En cas d'anémie secondaire à une bothriocéphalose, la vitamine B12 doit être prescrite en complément.

Dans tous les cas, il faut prescrire un contrôle parasitologique 3 mois après traitement.

5. 1. 2 - Cysticercose

Le traitement est maintenant essentiellement médical, quelles que soient la forme et la localisation. Deux protocoles existent, celui utilisant l'albendazole semble en général avoir la préférence :

- albendazole (Zentel®, Eskazole®, Zzole®) : 15 mg/kg par jour en deux prises, pendant 1 à 4 semaines selon la clinique et l'imagerie ;
- praziquantel (Biltricide®) : 50 mg/kg par jour en deux prises pendant 2 à 4 semaines selon les mêmes critères.

Le traitement nécessite une surveillance neurologique et, souvent, une **corticothérapie associée** pour éviter le développement d'une hypertension intracrânienne. Le traitement chirurgical est réservé aux formes oculaires qui ne peuvent bénéficier du traitement médical et aux formes graves neurologiques avec hypertension intracrânienne et hydrocéphalie.

5-2 - Prévention

La base de la prophylaxie est l'hygiène fécale et la modification de certaines habitudes alimentaires.

Tæniasis et cysticercose : La détection vétérinaire est plus facile pour les porcs que pour les bovins, car les cysticerques sont souvent nombreux. Ils sont aussi plus volumineux et localisés dans des zones accessibles à la vue (en particulier la langue). La congélation de la viande peut aider à la destruction des cysticerques.

Pour l'Homme, les mesures générales de prévention à adopter sont :

- éviter de manger la viande crue ou peu cuite ;
- lutter contre le péril fécal : lavage des mains, tout-à-l'égout, boues résiduaires, construction de latrines pour éviter la dispersion des œufs ; les embryophores restent viables dans les boues résiduaires épandues sur les champs, ce qui explique la pérennisation du cycle ;
- traiter les sujets infectés (tæniasis et cysticercose).

Hyménolépiose : La prophylaxie consiste à se laver les mains très régulièrement, à lutter contre le péril fécal et à traiter les sujets infectés.

Bothriocéphalose : La prophylaxie consiste à éviter la consommation de poissons d'eau douce crus, peu cuits, fumés ou insuffisamment salés.

Post-test

1- Le taeniasis à *Taenia saginata* se contracte :

- A- Par ingestion de viande de porc
- B- Par ingestion de viande de mouton
- C- Par ingestion de viande de boeuf
- D- Par contact avec les anneaux d'un sujet parasité
- E- Par l'ingestion de légumes souillés par les embryophores

Réponse : C

2- La cysticercose humaine est :

- A - responsable d'épilepsie
- B - souvent asymptomatique
- C - très rare en zone tropicale

D - responsable de graves manifestations d'hydrocéphalie

E – résistante à l'albendazole

Réponse : ABD

Références Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

LES ASPERGILLOSES

Pr Fatma Cheikhrouhou

Objectifs : au terme de ce cours, l'étudiant pourra :

Connaître le polymorphisme des affections dues à *Aspergillus*. Savoir reconnaître les principaux tableaux cliniques d'aspergilloses

Connaître les facteurs de risque d'une aspergillose invasive, les sources environnementales de contamination aspergillaire et savoir s'informer sur les mesures préventives.

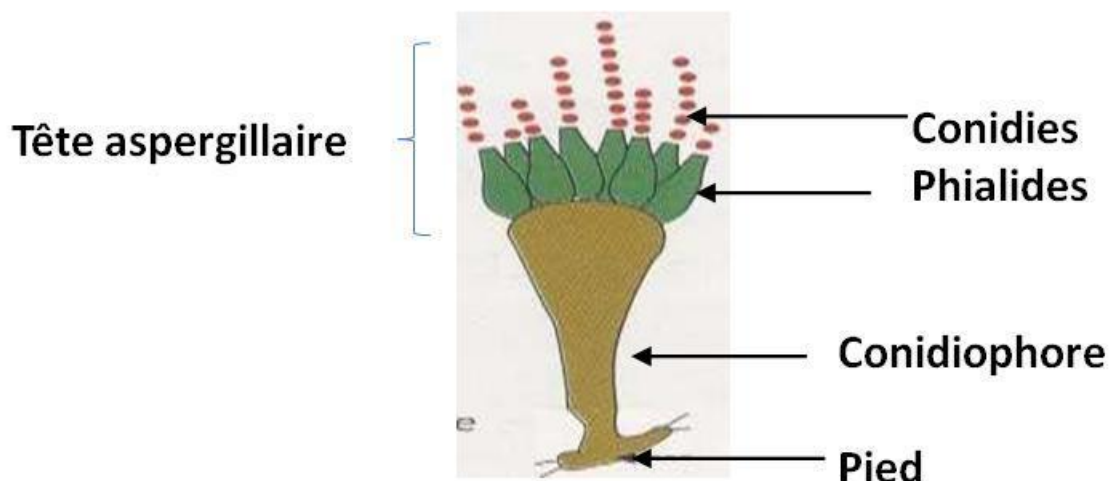
Connaître les principes de traitement des différentes formes cliniques d'aspergillose.

1/DEFINITION :

Les aspergilloses sont des mycoses, le plus souvent pulmonaire, provoquées par le développement de champignons filamenteux appartenant au genre *Aspergillus*, à la famille des aspergillales et à la classe des ascomycètes. Ce sont des affections opportunistes, fréquentes et souvent mortelles chez les immunodéprimées.

2/AGENT PATHOGENE :

Plus de 300 espèces appartiennent au genre *Aspergillus* mais certains (5 ou 6) sont incriminés couramment en pathologie humaine.



Par ordre de fréquence : *A. fumigatus* : espèce la plus fréquemment incriminée mais dans notre pays il s'agit d'*A. flavus*. *A. flavus* : plus fréquente en zone tropicale (arachide, production d'aflatoxines), *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. versicolor*,

3/ÉPIDEMIOLOGIE :

3-1-Habitat:

Les aspergillus sont des champignons filamenteux cosmopolites fréquemment rencontrés :

- Dans l'air, sol, les céréales, les légumes, les fruits moisissés et les matières organiques en décomposition. Ils sont en abondance dans la composition des silos à grain, le foin et la paille tassés ... Ils prédominent dans les régions humides. Certains professionnels sont plus exposés : cultivateur, mineurs ...
- Les maisons, les caves humides, climatiseurs, poussières de maison, rainures de meubles, caissons de volets roulants, fruits, légumes, pain ...
- Hôpital : grilles d'arrivée d'air, travaux de rénovation : nuage aspergillaire.
 - Les espèces pathogènes sont thermo tolérants (température de 12 à 70°C).

3-2-Mode de contamination :

Ce sont des champignons ubiquitaires que nous respirons tous les jours. Leur principale voie de pénétration chez l'homme est aérienne. Mais une contamination directe liée ou non à un traumatisme ou une acte chirurgicale peut être responsable de formes localisées (kératite, otomycose...). La contamination par l'eau, les aliments a été décrite (poivre, thé, fruit).

4/ PHYSIOPATHOLOGIE :

4-1- Moyens de défense :

Les aspergillus ne provoquent de lésions chez l'homme que s'ils rencontrent des conditions favorables à leur implantation. Le revêtement cutané constitué une barrière efficace contre les spores et les filaments mycéliens aspergillaires et toute rupture de la barrière constitue une porte d'entrée possible à l'infection (exemple : brûlé). Lorsque les voies aériennes sont intactes, différents systèmes de défense sont successivement mis en jeu pour éliminer ou neutraliser l'agent pathogène :

- Les mouvements des cils vibratiles et la sécrétion de mucus s'opposent au développement du champignon (clairance micociliaire)
- Les macrophages alvéolaires : 1^{ère} lignée recrutée par l'organisme. Ils constituent un système efficace pour cheminer les spores récemment inhalés. Ils sont sans action sur les spores et les tubes germinatifs.
- Les polynucléaires neutrophiles (PNN) : la 2^{ème} lignée de défense, son activité s'exerce vis-à-vis des filaments mycéliens trop volumineux pour le macrophage mais aussi sur les conidies prégermées
- Les monocytes peuvent également détruire les filaments aspergillaires.

4-2- Facteurs favorisants :

4-2-1. Facteur généraux

Toute altération de ces facteurs de défense immunitaire (atteinte des macrophages alvéolaires et/ou PNN) joue un rôle déterminant dans les formes invasives qui apparaissent chez le leucémique, le greffé et en cas d'aplasie médullaire.

- Une neutropénie sévère ($PNN < 500/mm^3$) est un facteur de risque majeur dans la survenue d'AI : le risque est directement corrélé à la durée et à la profondeur de la neutropénie.
- Réaction greffon contre hôte le GVH augmente le risque d'AI
- Corticothérapie (forte dose inhibe l'action des macrophages)
- Déficit en NADPH oxydase

4-2-2. Facteurs de virulence

Des facteurs de virulence propre aux *Aspergillus*:

- 1- Thermotolérants : se multiplient à 37°C et même à plus de 52°C
- 2- Ils sont microaérophiles : capacité de vivre dans milieux faiblement oxygénés
- 3- Elle possède de petites spores ne dépassant pas 2 à 3 µm leur permettant de pénétrer profondément dans les voies respiratoires jusqu'aux alvéoles
- 4- Les conidies ont une capacité d'adhérence aux tissus de l'hôte. Ainsi *A. fumigatus* se lie spécifiquement aux membranes basales: fibrinogène, laminine, fibronectine, collagène.

5- *Aspergillus* produit aussi des toxines qui réduisent la phagocytose des macrophages et des PNN

6- tropisme Vasculaire qui peut être responsable d'infarctissement et de nécrose

5/ CLINIQUE :

5.1-Aspergillose du système respiratoire

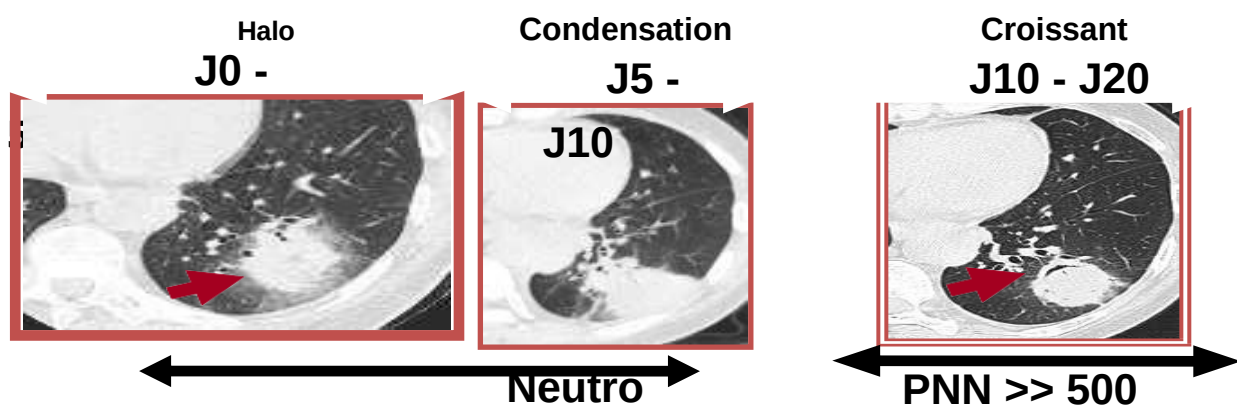
5-1-1- Aspergillose pulmonaire invasive:

C'est la manifestation clinique de loin la plus fréquente. Elle se rencontre de façon classique chez les patients neutropéniques surtout les leucémiques en aplasie, les transplantés, les cancéreux sous chimiothérapie, les sidéens et les patients atteints de granulomatose septique. L'aspergillose évolue sur un mode aigue angio-invasif dû au tropisme vasculaire d'*Aspergillus*. Ce qui explique la possibilité de métastase septique notamment cérébrale par voie hématogène mais aussi les phénomènes d'hémoptysie. Cliniquement il n'a y pas de signe pathognomonique d'API. Il y a plutôt des signes évocateurs qui évoluent de manière aigue et rapide. La fièvre est un symptôme trop fréquent chez les neutropéniques ainsi chez un aplasique depuis 10 j, la persistance d'un syndrome fébrile, l'apparition d'une toux ou d'une infiltration pulmonaire à la radio thorax qui ne régressent pas sous ATB, doit faire rechercher une API. Dans ce contexte la survenue de douleur thoracique ou d'expectoration hémoptoïque sont évocateurs d'API.

C'est de la précocité de diagnostic et de la rapidité du traitement que dépendra le pronostic qui restera toujours sombre grevé d'une mortalité assez fréquente. Le diagnostic sera porté sur des signes cliniques et du terrain, sur des arguments anatomopathologique, mycologique, sérologique et surtout radiologique.

- Radio thorax ne devient évocateur qu'au cours de la 3ème semaine. Ces signes radiologiques sont très peu spécifiques.
- TDM : Il doit être demandé en urgence, il peut montrer:

- Une lésion nodulaire entourée d'un halo périphérique hautement évocateur : il s'agit d'une hémorragie péri-lésionnelle témoignant du caractère angioinvasif de l'aspergillose. Ce signe disparaît en quelques jours.
- Au cours de la 3ème et 4ème semaine: apparition de la cavitation au sein des opacités ou signe du croissant gazeux. Il s'agit d'une détersion et d'une rétraction du parenchyme pulmonaire nécrosé sous l'effet de l'afflux de PN. A ce stade, le risque est maximum pour les lésions proches d'un gros vaisseau par destruction de la paroi du vaisseau.



L'aspergillome est défini comme étant le développement du champignon dans une cavité préexistante en communication avec l'arbre aérien permettant d'une part l'arrivée des spores et l'aération de la cavité nécessaire à la croissance fongique. La cavité peut être une caverne tuberculeuse, un abcès à pyogène, un carcinome pulmonaire opéré, une bronchiectasie ou une bulle d'emphysème. Les principales manifestations cliniques sont l'hémoptysie récidivante (provoquée par la production locale d'une toxine nécrosante constituant le signe de gravité de la maladie ; la Toux, expectoration, fièvre résistante aux ATB, asthénie et douleur thoracique. L'examen radiologique montre une image caractéristique : image en **grelot** : opacité arrondie dans une cavité à bord fin siégeant à l'apex et parfois surmonté à sa partie supérieure d'un croissant radio transparent. L'Evolution : le champignon peut spontanément dégénérer (rare 10%). La complication la plus importante est l'hémoptysie récidivante abondante menaçant la vie et imposant la chirurgie parfois.

5-2- Les aspergilloses immunoallergiques :

Le champignon agit ici comme un allergène, 3 aspects cliniques peuvent être observés :

5-2-1-asthme aspergillaire : Il se rencontre préférentiellement chez les sujets atopiques. L'aspergillus se comporte comme tout autre allergène entraînant une réponse de type immédiate avec production d'IgE spécifique d'aspergillose. L'origine domestique est possible : appartement humide, tapisserie moisie mais parfois agricole.

5-2-2- alvéolite allergique extrinsèque aspergillaire : Chez les sujets non atopiques exposés à l'inhalation massive des spores (sujet manipulant le grain du foin moisi. Il s'agit d'une affection type « poumon de fermier » mettant en jeu des phénomènes d'Hyper sensibilité semi retardées avec des Ac précipitants.

Clinique : quelque heure après l'exposition, le sujet est pris de toux avec dyspnée, fièvre, frissons, râles crépitant et bileux. L'expectoration est mucopurulente ou hémoptoïque. Un tel épisode dure 24 à 48 heures. La répétition des accès 6-8h après l'exposition est très caractéristique.

Rx : images réticulo-nodulaire ou miliaire.

5-2-3-Aspergillose broncho-pulmonaire allergique : Asthme avec éosinophilie pulmonaire : maladie de Hinson. Elle associe 2 types de HS : immédiate (élévation des IgE)et semi retardée (présence d'Ac). Elle survient chez des sujets atopiques (surtout sexe féminin) ou atteint de mucoviscidose.

Clinique : asthme à dyspnée continue, fébrile, expectoration épaisse avec émission fréquente de moules bronchiques contenant Aspergillus et des PN éosinophiles.

Rx : infiltration pulmonaire (variable d'un examen à un autre)

Biologie : hyperéosinophilie sanguine. L'examen des crachats ; brunâtre contenant des filaments mycéliens et un pourcentage important de

polynucléaire éosinophiles, Elévation d'IgE, IgG et IgA anti-aspergillus. L'évaluation est bronchique avec destruction progressive du tissu bronchique. Elle est de mauvais pronostic.

5-3-Aspergillose pleurale :

Le tableau est celui d'une pleurésie purulente. L'atteinte pleurale est soit d'origine endogène par contiguïté à partir d'un foyer d'insuffisance pulmonaire ou par la présence d'une fistule ; ou d'origine exogène au cours d'un drainage, après intervention chirurgicale, ou après des ponctions pleurales répétées avec du matériel contaminé.

5-4-Bronchite aspergillaire :

Elle est rare et caractérisée par le développement d'un véritable bouchon de mucus envahi par aspergillus avec trouble de ventilation, segmentaire, lobaire ou parfois pulmonaire suivant le siège de l'obstacle.

5-5-Aspergillose pulmonaire semi invasive :

L'Aspergillose nécrosante chronique est due à une défaillance partielle, mais chronique du système immunitaire. Elle est marquée par une AEG avec fièvre, toux productive. Le diagnostic sera confirmé par les examens mycologiques, sérologiques, Rx et anatomopathologie.

5-6-Aspergillose sinusienne :

se caractérise par l'atteinte le plus souvent unilatérale d'un sinus maxillaire, d'étiologie dentaire (pâte dentaire, extraction) ou apparaît sur un terrain de sinusite bactérienne chronique.

Les Aspergilloses profondes sont liées au développement de spores aspergillaires suite à un geste médico-chirurgical: Péritonite aspergillaire, Ostéomyélite, Aspergillose cérébrale, Endocardite aspergillaire.

5-7-Aspergilloses superficielles :

Otomycose : Lésion péri-existante du CAE caractérisé par une otite externe squameuse, prurigineuse parfois purulente, due le plus souvent à *A. niger*

Onyxis aspergillaire: seulement s'il est obtenu en culture pure et que les FMont été vu à l'examen direct.

Aspergillose cutanée : chez les grands brulés.

Aspergilloses oculaires: kératite ou de chorioretinite d'origine traumatique.

6/DIAGNOSTIC MYCOLOGIQUE:

6-1-Prélèvement: Les produits biologiques : expectorations, LBA, LCR, biopsie d'organes, seront recueillis dans des récipients stériles sans fixateur avec beaucoup de précautions pour limiter au maximum les souillures et acheminés rapidement au laboratoire. Les biopsies doivent être partagées pour ana-path et examen mycologique.

6-2-Examen direct: L'examen microscopique montre des filaments hyalins, cloisonnés, ramifiés, sinieuses à angle aigüe (45°) à paroi bien délimitée.

6-3-Culture: La culture précise de l'espèce en cause. Elles sont réalisées en routine sur milieu Sabouraud sans cycloheximide (**Actidione**). Les Aspergillus poussent rapidement en 48 heures: présence de colonies d'abord blanche puis leur pigmentation liée à la fructification apparaît au 3^{ème} jour. L'identification d'espèce se fera sur des critères macro et microscopiques (tête aspergillaire).

En revanche, son isolement à partir d'un site normalement stérile (LCR, Liquide pleural, Hc...) doit être considéré d'emblée comme pathologique. Par ailleurs, la présence d'Aspergillus (expectoration aspiration bronchique, LBA) est un argument fort pour le diagnostic d'un API chez le neuropénique suspect de pneumopathie.

6-4-Recherche d'Ag circulants:

Ils peuvent être recherchés chez l'immunodéprimé. La galactomannane est l'Ag qui a été le plus étudié. Les techniques sont l'agglutination de particules de Latex et ELISA.

7/BIOLOGIE MOLECULAIRE

7-1-Résultats :

- Aspergillome: la recherche de précipitine
- AAE : la sérologie positive, l'examen mycologique est négatif
- ABPA : l'Ig totale et IgG spécifique sont d'intérêt capital
- API : c'est une urgence, signes cliniques, Radiologiques et biologiques

Critère EORTEC

Aspergillose prouvée: critère histologique, identification d'aspergillus en culture. Aspergillose probable: terrain à risque et un critère clinique radiologique majeur de localisation viscérale ou 2 mineurs et un critère mycologique

Aspergillose possible: terrain à risque et un critère clinique / radiologique majeur de localisation viscérale (ou deux mineurs) ou un critère mycologique.

8/TRAITEMENT : *Surtout médical, parfois chirurgical*

8-1- API : L'Amphotéricine B standard a été longtemps considéré comme le traitement de référence de AI. Le voriconazole est devenue le traitement de référence. La Caspofungine, l'AMP ou l'AMB liposomal peuvent être proposé en cas de contre indication au voriconazole.

8-2- Aspergillome :

La chirurgie reste le traitement de choix. En cas de contre indication opératoire, un traitement par Itraconazole peut être proposé sur plusieurs mois.

8-3- AAE : *suppression de l'exposition à l'allergène + corticoïdes*

PROPHYLAXIE :

- Patient en phase neutropénique doivent être placés sous flux laminaire ou en chambre stérile avec Organisation architecturale des locaux en cascade de pression positive. Leur nourriture doit être surveillé (épices, tisanes...) fruits seront supprimés ou stérilisés.

- Recherche de la colonisation fongique des malades par des prélèvements hebdomadaires (expectoration, écouvillon nasal) et recherche d'Ag circulants.
- Prophylaxie ATF par Itraconazole, AMB, AMB liposomale chez les malades à haut risque.

Post-test

QROC : Quel est le principal facteur de risque d'une aspergillose invasive ?

Cas clinique : Il s'agit d'une patiente âgée de 17 ans, hospitalisée en unité d'hémo- oncologie pédiatrique pour prise en charge d'une Leucémie aigue myéloïde de type 4. Au cinquième jour de la deuxième induction, elle a présenté une neutropénie avec des polynucléaires neutrophiles (PNN) à 150 éléments/mm³, compliquée dix jours après par une fièvre chiffrée à 39 °.

L'enfant est mise en isolement, avec une antibiothérapie à large spectre. Le bilan infectieux a montré Une CRP à 80 mg/L, les prélèvements microbiologiques sont revenus négatifs, la radiographie du Thorax est normale.

Cinq jours après, le tableau s'est compliqué par l'apparition d'une toux sèche, une douleur basi-thoracique avec deux épisodes d'hémoptysie.

Le scanner thoraco-abdominale a montré l'image suivante montrant une lésion nodulaire entourée d'un halo périphérique du lobe gauche



- 1-Quelle affection fongique à évoquer devant ce tableau ?
- 2-Quels sont les examens biologiques demandez vous pour étayer le diagnostic ?
- 3- Quel est le traitement de première intention ?

L'HISTOPLASMOSE

Pr Fatma Cheikhrouhou

Les histoplasmoses sont des mycoses dues à des champignons dimorphiques: *Histoplasma capsulatum*: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, agent de l'histoplasmosse à petites formes ou « maladie de Darling », et *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, agent de l'histoplasmosse africaine à grandes formes.

Histoplasmosse à *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*

Cette histoplasmosse est la plus fréquente et la plus redoutable. Un tiers des observations provient de patients atteints du sida.

La contamination chez l'Homme se fait par **inhalation de spores** aéroportées et issues de la forme filamenteuse, particulièrement abondantes dans les endroits confinés comme les grottes, les galeries et tunnels (habités par des chauves-souris), silos, pigeonniers. Les régions d'endémie sont les **États-Unis** (États du centre, du nord et de l'est), l'**Amérique centrale** et l'**Amérique du Sud** (dont Caraïbes et Guyane française).

1-CLINIQUE

- Les formes asymptomatiques sont les plus fréquentes.
- Forme pulmonaire aiguë primitive de primo-infection: Après 5 à 10 jours d'incubation, elle se manifeste par un syndrome pseudogrippal avec fièvre, toux, dyspnée. La radiographie thoracique montre des adénopathies uni- ou bilatérales, ou des images de calcifications.
- Forme disséminée: chez les sujets atteints de sida. C'est une atteinte viscérale multiples (adénopathies, hépatomégalie, splénomégalie), des lésions buccales (chute des dents, ulcères de la langue et du palais), des signes cutanés disséminés (papules ombiliquées) et une altération majeure de l'état général. Le pronostic est réservé.

- Forme tertiaire, ou pulmonaire chronique : Cette forme ressemble à une tuberculose. Le pronostic est sombre.

1-Diagnostic mycologique:

L'examen direct au MGG des frottis assure le diagnostic immédiat (moelle osseuse, peau, muqueuses, sérosités, expectorations, lavage bronchiolo-alvéolaire, liquide cébrospinal, biopsies). Il met en évidence le champignon sous forme de petits éléments arrondis (« petites formes »), ovoïdes, sphériques, de 3 µm à 5 µm de diamètre. Les cultures montrent les formes saprophytiques filamenteuses, très infectieuses, représentent un réel danger pour le personnel des laboratoires.

Histoplasmose à *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*

Cette histoplasmose, nettement moins fréquente limitée au **continent africain** et à **Madagascar**).

LA PNEUMOCYSTOSE

Pr Fatma Cheikhrouhou

Mycose pulmonaire due à un champignon cosmopolite opportuniste transmissible: *Pneumocystis jirovecii*, survenant chez les patients immunodéprimés. Elle se présente essentiellement comme une pneumopathie. Les localisations extrapulmonaires sont rares. Elle fut à l'origine de la découverte du Sida. La pneumocystose se voit également en cas de cancers, des greffes de cellules souches hématopoïétiques, des transplantations d'organes, ou des maladies de système.

1-ÉPIDEMIOLOGIE

Différentes espèces du genre *Pneumocystis* sont retrouvées chez les mammifères, *P. jirovecii* étant l'espèce humaine. On décrit deux formes:

- les asques (kystes) matures, ovoïdes ou sphériques, mesurent 4 à 7 µm de diamètre ; en forme de ballon dégonflé caractéristique ;
- les formes trophiques ou trophozoïtes (équivalents des spores), très variables en forme et en taille (environ 2 µm), étroitement liés aux cellules épithéliales pulmonaires de type I

Le cycle de *P. jirovecii* n'est pas complètement élucidé. La contamination serait par voie aérienne. De plus, la transmission interindividuelle de *P. jirovecii* par voie aérienne est désormais admise chez l'Homme. Elle peut être à l'origine de «cas groupés» ou d'épidémies dans les services hospitaliers accueillant des patients immunodéprimés (transplantés rénaux).

2-CLINIQUE :

2-1- Pneumocystose chez le nourrisson et l'enfant

- Infections chez le nourrisson prématuré ou malnutri : Rares ; elles survenaient chez des nourrissons âgés de 2 à 3 mois après une incubation longue. Apparaissaient progressivement une tachypnée et une cyanose péri-orale traduisant une détresse respiratoire généralement sans toux ni fièvre. Le taux de mortalité était de 25 % en l'absence de traitement.

- Infections chez le nourrisson immunodéprimé non infecté par le VIH : Elles surviennent chez des porteurs de déficits immunitaires congénitaux. Le début est brutal avec dyspnée, toux sèche et fièvre. La mortalité est de 100% sans traitement.

2-2- Pneumocystose chez l'adulte immunodéprimé

- Infections chez l'adulte infecté par le VIH : elle se traduit par une triade classique d'apparition progressive : fièvre, toux sèche et dyspnée. L'auscultation pulmonaire est normale au début. La radiographie pulmonaire montre un infiltrat interstitiel diffus bilatéral à prédominance hilare. Le scanner thoracique retrouve un aspect en « verre dépoli ». L'étude des gaz du sang montre le plus souvent une hypoxémie. Le diagnostic est aisé chez un patient infecté par le VIH présentant une pneumopathie avec un taux de CD4 bas (moins de 200/mm³ et/ou inférieur à 15 %).
- Infections chez l'adulte immunodéprimé non infecté par le VIH : elle est plus aiguë et évolue plus vite vers l'insuffisance respiratoire. La mortalité est de 40 %.

3-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE:

L'étude du lavage bronchiolo-alvéolaire est le meilleur examen. Celle des crachats induits peut être proposée. Le diagnostic repose sur l'examen microscopique direct après coloration des prélèvements biologiques par la coloration argentique ou le bleu de toluidine (colore bien la paroi des asques regroupés en amas). La coloration au Giemsa est indispensable pour mettre en évidence les ascospores (au nombre de huit au maximum, disposés en rosette). Par ailleurs, des anticorps monoclonaux spécifiques marqués à la fluorescéine permettent de repérer aisément le champignon. La PCR, permet de détecter de faibles quantités de *P. jirovecii*

4-TRAITEMENT :

Le traitement de première intention repose essentiellement sur le cotrimoxazole (triméthoprim et sulfaméthoxazole) (Bactrim®),

5-PREVENTION :

Pour les patients infectés par le VIH, elle doit être envisagée dès que les CD4 sont inférieurs à 200/mm³: cotrimoxazole *per os* (1 comprimé de Bactrim® par jour). Les patients infectés par *P. jirovecii* doivent être isolés des patients réceptifs.

LES CANDIDOSES

Pr HAYET Sellami

OBJECTIFS :

Connaître l'épidémiologie des candidoses
Diagnostiquer et prendre en charge les candidoses

1-DEFINITION

Les *Candida* sont des levures, micro-organismes endogènes ou exogènes, dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisants locaux ou généraux.

2-EPIDEMIOLOGIE

2-1- Agents pathogènes:

- Genre *Candida* : Levures de morphologie variée qui se reproduisent toutes par bourgeonnement. Levures non capsulées, non pigmentées. Certaines produisent du pseudomycélium ou du vrai mycélium (*Candida albicans*)
- *Candida albicans* : Principale levure impliquée en pathologie humaine. Levure commensale du tube digestif et des cavités naturelles de l'homme.
- *Candida glabrata* : Commensale des voies génito-urinaires et de l'intestin
- Autres :
 - Candida tropicalis* : Saprophyte de la nature (sol, eau, céréales)
 - Candida parapsilosis* : Levures commensales de la peau

2-2- Facteurs de risque:

Ce sont des levures opportunistes: elles vont profiter du dysfonctionnement immunitaire ou d'autres facteurs favorisants pour provoquer des candidoses.

- Pour les formes cutanéomuqueuses, les facteurs locaux (macération, irritations...) sont souvent prédominants. Mais les facteurs généraux doivent aussi être pris en considération : diabète, grossesse, surcharge pondérale,

âges extrêmes, certaines atteintes de l'immunité cellulaire en particulier au cours du SIDA, corticothérapie et antibiothérapie à large spectre.

- Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (patients de réanimation, immunodéprimés, chirurgie digestive lourde, toxicomanes par voie intraveineuse...). Les patients de réanimation sont donc particulièrement à risque en raison d'une pression antibiotique importante et d'une rupture des barrières de protection favorisant l'entrée de microorganismes (cathéters veineux centraux, ventilation mécanique).

3-PHYSIOPATHOLOGIE DES CANDIDOSES INVASIVES :

La présence de levures dans le tube digestif, en particulier *C. albicans*, est un phénomène physiologique (microbiote normal). Les levures s'y maintiennent en cohabitation (interaction) avec les bactéries également commensales du tube digestif. Les étapes conduisant à l'infection passent par une phase de colonisation. Celle-ci est la conséquence de modifications écologiques qui entraînent la multiplication des *Candida* spp. Cette multiplication s'accompagne également de la formation de biofilms, sur le matériel étranger ou sur les muqueuses, rendant la levure moins accessible aux antifongiques. Les traitements anticancéreux (cytolytiques) et les interventions sur le tube digestif altèrent la muqueuse, favorisant le passage des levures à travers cette muqueuse (translocation digestive).

Les levures peuvent également pénétrer par voie exogène, soit à partir de solutés injectables, de cathéters, de sondes ou de matériels implantables, soit à partir des mains du personnel.

Les levures disséminent par voie sanguine et sont à l'origine de lésions (choriorétinite, endocardite, lésion cutanée secondaire à type de folliculite...). Dans la grande majorité des cas, la souche colonisante est la souche infectante.

4-CLINIQUE

4-1- Candidoses superficielles

4-1-1- Candidoses digestives:

4-1-1-1- Candidoses buccales:

Très fréquentes chez le sidéen (50 %). Douleurs, dysphagie, goût métallique.

Formes cliniques: Le muguet ou la candidose pseudomembraneuse; candidose atrophique; candidose pseudotumorale; Perlèche ou chéilite.

4-1-1-2- Candidose oesophagienne

- Fréquente chez le sidéen (14 %) quand CD4 <100/mm³

4-1-1-3- Candidose gastro-intestinale

Sujet immunodéprimé

4-1-2- Candidoses génitales

4-1-2- 1- Candidose vulvo-vaginale

Due à *C. albicans* (80 %) et à *C. glabrata* (10%)

Fréquente (75 % des femmes font un épisode dans leur vie) Candidose vulvo-vaginales récidivantes (plus de 4 épisodes/an)

N'est plus considérée comme une infection sexuellement transmissible

Provoque un prurit vulvaire intense, une dyspareunie, des brûlures, une dysurie

Diagnostic évoqué par la leucorrhée blanche typique (lait caillé, sécrétions caillébotées)

4-1-2- 2- Balanite et balano-posthite

4-1-3- Candidoses cutanées et unguéales

4-1-3-1- Intertrigo à *Candida*

Fissuration du pli, érythème, dépôt blanc jaunâtre, macération

Siège:

- Grands plis : plis sous-mammaires, plis inguinaux, axillaires

-Petits plis : interdigito palmaire et plus rarement interdigitoplaire : fréquent chez les sujets dont les mains sont soumises, de façon répétitive à l'humidité ou aux lavages fréquents (ménagères, coiffeurs et coiffeuses), à des substances sucrées (confiseries), mais aussi à de multiples traumatismes d'origine mécanique.

4-1-3- 2-Onyxis et périonyxis

-Siège : ongles des mains, en très grande majorité (contrairement aux dermatophyties qui envahissent plus volontiers les ongles des pieds).

- Début par l'inflammation du pourtour de l'ongle (périonyxis), douleur modérée, formation d'un exsudat transparent, non purulent.

- L'onyxis à *Candida* fait suite habituellement au périonyxis. Les lésions touchent, au début, la partie proximale, pour gagner ensuite les bords latéraux et distaux de l'ongle.

4-3- Candidoses profondes

4-3- 1- Candidoses systémiques

La candidémie est une candidose systémique définie par la présence d'un *Candida* dans au moins une hémoculture — une seule suffit. Une candidose disséminée correspond à une situation où une levure a été identifiée dans au moins deux sites non contigus, impliquant une dissémination hématogène, bien que les hémocultures soient parfois restées négatives. D'autres termes peuvent être utilisés comme « candidose profonde » ou « candidose invasive ». Leur traitement est identique, mais peut être modulé en fonction des sites anatomiques infectés.

Il n'existe pas de symptomatologie spécifique des fongémies et des infections systémiques à *Candida* spp. Le diagnostic doit être évoqué devant une fièvre persistante sous antibiotiques et accompagnée d'une altération de l'état général.

Les candidémies rapidement dépistées peuvent répondre aux antifongiques et au retrait d'un cathéter. Lorsque le dépistage de la candidémie a été tardif

ou que l'épisode initial est passé inaperçu, il existe un risque important de localisations uni- ou multiviscérales, qui peuvent apparaître au premier plan des semaines après le premier épisode. Malgré une meilleure prise en charge des candidémies et des candidoses systémiques et l'apparition de nouveaux antifongiques, la mortalité reste élevée (plus de 40 %).

Les candidoses systémiques se manifestent aussi par des manifestations cutanées qui résultent de la dissémination hématogène, prenant l'aspect de papulo-pustules uniques ou multiples et siégeant préférentiellement au tronc et aux extrémités.

De même, des manifestations oculaires sont à rechercher systématiquement en cas de candidémies. L'aspect typique réalisé au fond d'œil est celui de nodules rétiens blanchâtres ou jaunâtres et duveteux.

Enfin, d'autres localisations de candidoses disséminées, plus rares, peuvent exister, comme des localisations cardiaques (endocardites avec végétations visibles à l'échographie), ostéoarticulaires (spondylodiscites) ou neurologiques.

4-3-2-Candidose disséminée chronique (candidose hépatosplénique) Cette forme particulière de candidose systémique évolue sur le mode chronique et s'observe essentiellement chez des patients ayant une leucémie aiguë dans les suites d'un épisode de neutropénie liée à la chimiothérapie.

4-4- Autres formes cliniques:

4-4-1- Candidoses cutanées du nouveau-né:

- Les candidoses congénitales :

Correspondent à une infection par voie ascendante du fœtus qui se révèle à la naissance.

Les signes cutanés apparaissent dès les premières heures de vie.

C'est un rash maculo-papuleux étendu qui va évoluer vers des lésions pustuleuses ou vésiculeuses et finalement une desquamation diffuse.

- La dermatite fongique invasive

4-4-2- Candidose génito-fessière du nourrisson

5-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Les prélèvements doivent être faits avant tout traitement antifongique, d'une façon stérile.

5-1- Candidoses superficielles

5-1- 1-Prélèvement

- **Muqueuses** : écouvillons stériles
- **Peau et ongle** : curette tranchante ou un vaccinostyle

5-1- 2- Examen direct

- **Muqueuses:**

Il peut être réalisé à l'état frais dans du sérum physiologique (visualise aussi *Trichomonas vaginalis* dans les sécrétions vaginales, en plus des levures).

- **Peau et ongles** : Nécessité d'utiliser un éclaircissant additionné ou non d'un colorant (solution de potasse 10 à 30 % ; solution de noir chlorazole E). L'examen direct montre des levures de 2- 6 µm, non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral productrices (ex: *C.albicans*) ou non de filaments (ex: *C.glabrata*)

5-1- 3- Culture

- Elle est réalisée sur un tube de milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques et un tube additionné de cycloheximide (Actidione®) qui inhibe les moisissures
- Les cultures poussent en 24 à 48 h (30°C ou 37°C pour les prélèvements de muqueuses), elles sont blanches crémeuses.
- Des progrès importants ont été réalisés par la mise à disposition de milieux chromogènes. Les colonies de levures, normalement blanc crème, sont colorées suivant l'espèce. Ces milieux peuvent aussi identifier et

quantifier les mélanges de levures, particulièrement utiles pour suivre les colonisations des patients à risque.

5-1- 3-1- Identification de la levure

- Test de blastèse (test de filamentation)
- Recherche des chlamydospores, milieux spéciaux
- Etude de l'assimilation des sucres (auxanogramme). Il existe des plaques prêtes à l'emploi API 20C ; ID32C), résultats en 48 à 72 h.
- Spectrométrie de masse : coûteuse, certains laboratoires spécialisés

5-2- Candidoses systémiques

5-2- 1- Hémocultures

- Ensemencer sur milieu de Sabouraud dans les cas cliniques évocateurs.
Le volume du sang recommandé est de 10ml.
- Incubation à 37°C pendant 24 à 48 h (garder les flacons d'hémoculture au moins 15 j. pour les espèces à pousse lente)
- L'hémoculture, qui est un examen clé dans le diagnostic des candidoses systémiques, reste de sensibilité faible (40 à 60 %) malgré le développement des systèmes récents pour améliorer la sensibilité des hémocultures (automates : Bactec, système Isolator [lyse– centrifugation],). Ce qui implique qu'une hémoculture négative n'élimine pas le diagnostic d'une candidose systémique. Cependant, une seule hémoculture positive confirme le diagnostic.

5-2- 2- Prélèvements périphériques

- Au niveau de plusieurs sites : bouche, expectoration, selles, urines, liquide de drainage...
- La quantité de colonies de levures isolées est proportionnelle au risque d'infection (index de Pittet), elle traduit **la colonisation**. La décontamination des sites intéressés évite les infections candidosiques ultérieures.
- la détermination de l'index de colonisation de Pittet : est le rapport entre le nombre de sites positifs et le nombre total de sites prélevés. La détermination de cet index nécessite des prélèvements réguliers d'au moins

cinq sites par patient et cela deux fois par semaine. Le suivi de l'évolution de la colonisation permettra l'identification et le traitement précoce des patients à haut risque.

5-2- 3- Sérodiagnostic

- C'est un complément dans l'étude de la colonisation pour évaluer le risque d'infection,
- Recherche d'une part des anticorps anti-*Candida*
- Recherche de l'antigène circulant
- Leur intérêt est discuté.

5-2- 4- Biopsie

Toutes les lésions accessibles à la ponction ou à la biopsie avec culture et examen anatomopathologique seront prélevées. Les colorations pour rechercher les champignons sont le PAS et l'imprégnation argentique (Gomori- Grocott).

5-2-5- Détection d'acides nucléiques par amplification

5-3 - Interprétation:

Sites stériles (sang; LCR...) :

Toute levure isolée à partir d'un prélèvement profond sans contact avec les muqueuses ou l'air ambiant affirme le diagnostic de candidose profonde

Sites non stérile:

Buccal; trachée; crachats; selles; urines chez des patients sondés: La mise en évidence de *Candida* au niveau de ces sites est insuffisante pour affirmer la pathogénicité de cette levure.

5-4- Etude de la sensibilité aux antifongiques

6-TRAITEMENT

- Préventif : éliminer les facteurs de risque (ou les diminuer).
- Curatif : repose sur les polyènes (Amphotéricine B = Fungizone®) et les

triazolés (fluconazole, itraconazole, voriconazole, caspofungine) pour les mycoses systémiques.

Les candidoses superficielles sont traitées par des imidazolés topiques.

Candidoses systémiques :

Le consensus international est de traiter tout épisode de candidémie, même isolée.

La deuxième recommandation est d'enlever (ou de changer) si possible les cathéters vasculaires. Le traitement, qui doit être entrepris le plus rapidement possible, est de 15 jours après la dernière hémoculture positive.

Il est poursuivi plusieurs semaines en cas de localisations secondaires.

Avant l'identification de l'espèce, les échinocandines (caspofungine, Cancidas®; micafungine, Mycamine®) sont recommandées en première intention. Dès que la levure responsable est identifiée, le traitement doit être réévalué, essentiellement sur les notions de sensibilité habituelle aux antifongiques. Le fluconazole, l'amphotéricine B sous forme lipidique et le voriconazole peuvent être indiqués.

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

1-Concernant les levures *Candida albicans*:

- A- sont saprophytes de la peau
- B- la pathogénicité est favorisée par l'humidité et la macération
- C- peuvent entraîner des septicémies
- D- attaquent surtout les ongles des pieds
- E- sont opportunistes

Réponse : B-C-E

A- Faux : *Candida albicans* est commensale du tube digestif

D- Faux : *Candida* attaquent surtout les ongles des doigts et les dermatophytes touchent surtout les ongles des pieds

2-La candidose invasive:

- A - les signes cliniques ne sont pas spécifiques
- B -une seule hémoculture positive à *Candida* permet la confirmation diagnostique
- C -est une urgence médicale
- D- est la mycose la plus fréquente chez le malade neutropénique
- E -se dépiste par la recherche d'anticorps

Réponse :A-B-C

D-Faux : l'aspergillose pulmonaire invasive est la mycose la plus fréquente chez les patients neutropéniques

E- Faux : la recherche d'anticorps pose des problèmes de faux positifs (colonisation, infection) ou de faux négatifs (immunodéprimés)

Pour les malades à risque et puisque les hémocultures manquent de sensibilité, il est recommandé de suivre les patients à risque par la réalisation de prélèvements périphériques réguliers (index de colonisation de Pittet)

LA CRYPTOCOCCOSE

Pr H Ayet Sellami

Objectifs éducationnels:

Savoir diagnostiquer et prendre en charge la cryptococcose

INTRODUCTION

La cryptococcose est une infection ubiquitaire liée à *Cryptococcus neoformans*, une levure encapsulée présente dans l'environnement. Elle se présente le plus souvent sous la forme d'une méningoencéphalite disséminée chez des patients présentant un déficit profond de l'immunité cellulaire, en particulier lors de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Le pronostic de l'infection est lié à l'atteinte méningo-encéphalique et reste sombre malgré la généralisation de l'accès aux antirétroviraux et celle des traitements antifongiques.

1- ÉPIDÉMIOLOGIE

1.1- Agent pathogène

1.1.1- *Cryptococcus neoformans*

Cryptococcus neoformans est l'espèce la plus fréquente en pathologie humaine. Il s'agit d'un champignon ubiquitaire, saprophyte de l'environnement (fientes de pigeons, guano de chauve-souris, sol, écorce d'arbres). La forme observée dans les prélèvements pathologiques humains est une levure ronde de 3 µm à 10 µm de diamètre se multipliant par bourgeonnement, entourée d'une capsule polysaccharidique. Elle pousse bien à 30 °C sur milieu riche mais également à 37 °C.

Il en existe deux variétés historiquement différenciées par sérotypage :

- *C. neoformans* var. *grubii* (sérotype A), cosmopolite
- *C. neoformans* var. *neoformans* (sérotype D), la plus fréquente en Europe.

1.1.2- *Cryptococcus gattii*

Cryptococcus gattii (sérotypes B, C) est la deuxième espèce en termes de fréquence. Cette espèce est responsable de cryptococcoses chez le sujet non

immunodéprimé mais présentant généralement des co-morbidités importantes.

1- 2 - Modes de contamination

La contamination se fait le plus souvent par inhalation de spores ou, exceptionnellement, par inoculation cutanée directe traumatique.

2-PHYSIOPATHOLOGIE

La capsule polysaccharidique est le principal facteur de virulence de la levure. La cryptococcose constitue une infection opportuniste et se développe surtout sur un terrain de déficit immunitaire cellulaire.

Les infections à *C. neoformans* correspondent le plus souvent à ce schéma de réactivation dans les suites d'une infection latente.

Les patients infectés par le VIH dont les CD4 sont inférieurs à 100/mm³ sont les plus à risque. Dans les pays ayant accès aux traitements antirétroviraux hautement actifs, le nombre de cryptococcoses liées au VIH a considérablement diminué, faisant diminuer significativement le nombre global de cryptococcoses. Cependant, l'incidence chez les patients immunodéprimés non-VIH (transplantations, hémopathies, traitements immunosuppresseurs) est en augmentation.

3-CLINIQUE

3-1- Cryptococcose opportuniste à *C. neoformans*

Cette forme se voit chez le patient immunodéprimé (VIH avec CD4 < 100/mm³, transplantés d'organe, hémopathies, traitements immunosuppresseurs). La gravité de l'infection résulte des manifestations neurologiques évoluant sur un mode subaigu ou chronique.

3- 1- 1- Atteinte pulmonaire

Elle peut se présenter sous différentes formes, en particulier comme une pneumopathie interstitielle isolée ou associée à une pleurésie.

3-1- 2 - Atteinte neuroméningée

Le début est insidieux et très progressif, de plusieurs semaines à plusieurs mois, associant des céphalées persistantes, des modifications de l'humeur, avec parfois des signes neurologiques focalisés en rapport avec une atteinte des nerfs crâniens.

Un syndrome méningé plus franc s'installe ensuite, avec des céphalées persistantes dans un contexte fébrile. Les troubles de la conscience apparaissent alors rapidement, conséquence d'une hypertension intracrânienne (pression > 25 cm d'eau). En l'absence de traitement, ces atteintes évoluent vers un coma et le décès du patient.

3- 1- 3- Atteinte cutanée

L'atteinte cutanée peut être primaire par inoculation directe mais résulte le plus souvent d'une dissémination hématogène.

3- 1- 4- Autres atteintes

Tous les tissus peuvent être touchés (os, ganglions, rate, foie, moelle osseuse), conséquence d'une dissémination. La localisation prostatique est fréquente, le plus souvent asymptomatique ; elle constitue un réservoir à l'origine de rechutes.

3- 2 - Cryptococcose à *C. gattii*

La présentation clinique est fréquemment asymptomatique ou paucisymptomatique. Fréquence des lésions focales (cryptococcomes).

4- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Cryptococcus spp. est recherché dans le liquide cébrospinal (ponction lombaire), le sang (hémocultures), les prélèvements respiratoires (expectorations induites, liquide de lavage bronchiolo-alvéolaire), les urines, les exsudats cutanés (frottis mince) et dans les biopsies tissulaires. À noter que, lors de la ponction lombaire, la pression d'ouverture doit être mesurée pour détecter la présence d'une hypertension intracrânienne, élément de très mauvais pronostic.

4-1- Examen direct

L'examen direct recherche la présence de levures capsulées, rondes, parfois bourgeonnantes. Après centrifugation des liquides, un test à l'encre de Chine (liquide cérospinal, hémoculture positive, prélèvement respiratoire, exsudat cutané) permet de révéler la présence de *Cryptococcus* spp. sous la forme de levures entourées d'une capsule mise en évidence en négatif et formant un halo périphérique.

En cas d'atteinte méningée, le liquide cérospinal est généralement clair, avec une formule mixte ou lymphocytaire (10 à 100 éléments/mm³), une hyperprotéinorachie, une hypoglycorachie. À noter que le liquide cérospinal peut être normal sur le plan cellulaire et biochimique, en particulier chez le patient VIH-positif (CD4 < 100/mm³).

Pour les biopsies, on peut utiliser les colorations au mucicarmin et bleu alcian qui colorent la capsule, alors que le PAS, l'HES et le MGG ne la colorent pas de façon homogène et font apparaître un halo, comme l'encre de Chine à l'état frais.



Fig.1 : Test à l'encre de chine : présence de *Cryptococcus*

4- 2 - Culture et identification

La culture est indispensable pour l'identification de l'espèce sur milieu de Sabouraud, mais sans cycloheximide (Actidione®) auquel le genre *Cryptococcus* est constamment sensible. La levure pousse généralement assez rapidement en 1 à 5 jours. Des souches poussant plus lentement (jusqu'à

3 semaines) peuvent être observées. Les colonies sont d'aspect crémeux à muqueux en fonction des souches et de couleur blanche à beige. L'identification de l'espèce sera confirmée par des galeries biochimiques d'identification ou par spectrométrie de masse.

Le génotypage, comme le sérotypage, permet de distinguer les espèces *C. neoformans* et *C. gattii* et les variétés de l'espèce *C. neoformans* (var. *grubii* ou var. *neoformans*).

4- 3- Détection d'antigène capsulaire

Le test a une utilité dans le liquide cébrospinal, le sérum ou le lavage bronchiolo-alvéolaire et peut être réalisé par différentes méthodes (agglutination au latex, ELISA, test immunochromatographique). Un titre sérique élevé ($> 1/512$ en agglutination latex) est associé à un mauvais pronostic.

5 - TRAITEMENT ET PREVENTION

La cryptococcose neuroméningée de l'immunodéprimé est traitée en trois phases : traitement d'induction, de consolidation et de maintenance. Les traitements qui sont utilisés : Amphotéricine B et 5-fluorocytosine. La forme liposomale est mieux tolérée. Le relais est ensuite pris par le fluconazole. Chez les patients immunodéprimés, particulièrement les patients VIH-sida ayant débuté un traitement antirétroviral, la restauration immunitaire peut être à l'origine d'une réaction inflammatoire inappropriée (IRIS) simulant un échec thérapeutique ou une rechute.

Post-test

1-Concernant *Cryptococcus neoformans*:

- A -est saprophyte du milieu extérieur
- B -est une levure
- C -possède une capsule mucopolysaccharidique
- D -la contamination de l'homme se fait par voie respiratoire
- E- pousse en 24 heures sur milieu Sabouraud

Réponse : A-B-C-D ; E- Faux : *Cryptococcus neoformans* pousse en 3-5 jours et même 3 semaines

2-Le traitement d'une cryptococcose repose sur :

- A- L'amphotéricine B
- B- Fluconazole
- C-5-fluorocytosine
- D-L'albendazole
- E- L'ivermectine

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL),
Campus de Parasitologie-Mycologie.

DERMATOPHYTOSES (OU DERMATOPHYTIES)

Pr Sourour Néji

Objectifs

- 1- Définir les dermatophyties
- 2- Décrire les agents pathogènes
- 3- Préciser les modalités de contamination et les facteurs favorisants
- 4- Préciser les mécanismes physiopathologiques
- 5- Diagnostiquer les différentes formes cliniques
- 6- Préciser les étapes du diagnostic mycologique
- 7- Préciser les principes du traitement

Introduction

Les dermatophyties sont des infections causées par des champignons filamenteux microscopiques qui ont une affinité pour la kératine (épiderme, ongles, poils, cheveux). Ces infections fongiques, également dénommées tinea, se manifestent chez l'Homme et les animaux par des lésions superficielles de la peau et des phanères. Ces mycoses sont des motifs fréquents de consultation en dermatologie.

1 - Épidémiologie

1.1 - Agents pathogènes

Les dermatophytes, champignons microscopiques, appartiennent aux genres ***Trichophyton***, ***Microsporum*** et ***Epidermophyton***. À partir de produits pathologiques, ils se reproduisent sur le milieu spécifique en formant des filaments (mycéliens) et des spores issues d'une reproduction asexuée dénommées conidies (macroconidies et/ou microconidies).

Les principales espèces rencontrées en Tunisie sur la peau et les ongles sont ***T. rubrum***, ***T. mentagrophytes***, ***T. interdigitale***, ***T. violaceum***, ***M. canis***, plus rarement ***T. verrucosum***. Beaucoup de dermatophytes, en

particulier les agents responsables de teignes, sont principalement retrouvés chez des migrants venant de pays ayant un niveau socio-économique faible. Les espèces alors incriminées sont surtout : ***T. soudanense***, ***T. tonsurans***, et ***M. audouinii***.

1 . 2 - Modes de contamination

L'origine de la contamination de l'Homme peut être humaine (espèces anthropophiles : *T. rubrum*, *T. violaceum*, *E. floccosum*...), animale (espèces zoophiles : *M. canis* (chien, chat), *T. mentagrophytes* (lapin, hamster, cochon...), *T. verrucosum* (bovins)...) ou tellurique (espèces géophiles : *M. gypseum*...).

1 . 2 . 1 - Origine humaine

Il s'agit de l'origine la plus fréquente : la contamination se fait par **contact interhumain** (lutteurs, judokas...) ou par l'intermédiaire de **sols souillés par des squames issues de la peau parasitée** (salle de bains, salles de sport, douches collectives, piscines...), mais aussi par des objets divers (peignes, brosses, bonnets, doudous, peluches, tondeuses, vêtements, chaussettes...) pouvant véhiculer les squames contenant les spores ou des filaments infectants.

1 . 2 . 2 - Origine animale

La contamination se fait par **contact direct** (caresses) ou **indirect** (poils laissés sur un fauteuil, par exemple) avec un **animal de compagnie** (chien, chat, cochon d'Inde...) ou d'élevage (chevaux, bovins...). Ces animaux peuvent être porteurs de lésions (épidermophyties chez le chat, le chien..., dartres chez les veaux) ou porteurs sains sans lésion apparente. Les petits rongeurs sauvages peuvent aussi véhiculer des spores jusqu'à l'environnement humain par l'intermédiaire des animaux domestiques.

1 . 2 . 3 - Origine tellurique

La contamination peut se produire à la suite d'un traumatisme d'origine tellurique : plaies souillées de terre enrichie en kératine animale (poils, plumes, sabots, carapaces d'insectes...), contenant le champignon.

2 - Physiopathologie

Le dermatophyte pénètre dans l'épiderme à la faveur d'une **excoriation cutanée** parfois minime. De là, **la spore** du champignon émet des **filaments qui progressent de façon centrifuge** dans l'épiderme et créent une lésion arrondie d'aspect érythémato-squameux avec bordure nette, nommée épidermophytie circinée (*tinea corporis*).

Au niveau des plis (petits et grands plis), le dermatophyte détermine un intertrigo fréquent au niveau du pied (intertrigo interdigitoplantaire, ou *tinea pedis*).

Les poils et les cheveux peuvent être attaqués par un dermatophyte, l'envahissement se faisant à partir de l'ostium folliculaire avec une propagation du mycélium descendant vers le bulbe. Les cheveux envahis se cassent facilement, ce qui entraîne la chute des cheveux (teignes ou *tinea capitis*).

Pour les ongles (onychomycose ou *tinea unguium*), le champignon pénètre le plus souvent par la partie distale et progresse vers la matrice par la tablette inférieure; parfois, l'attaque se limite au niveau de la tablette superficielle de l'ongle (leuconychie).

3 - Clinique

Les dermatophytes déterminent essentiellement des lésions de la peau glabre appelées *tinea corporis* ou épidermophyties circinées ou intertrigos. Les lésions du cuir chevelu sont appelées également *tinea capitis* ou teignes tondantes, teignes inflammatoires dont les **kérions** ou teignes faviques plus rarement. Les lésions des poils (folliculites, sycosis) et des ongles dénommées *tinea unguium* (onychomycose) sont également très fréquentes. D'autres rares entités cliniques sont décrites comme la maladie dermatophytique et la folliculite dermatophytique (Lésion inflammatoire pileaire). Ils sont aussi à l'origine de réactions allergiques à distance, dénommées dermatophytides.

3 . 1 - Lésions de la peau glabre

3 . 1 . 1 - Dermatophyties circinées (*tinea corporis*)

La lésion, dénommée aussi épidermophytie circinée, débute par une zone érythémateuse, souvent prurigineuse, qui s'étale et forme un anneau bien limité, avec une zone centrale claire d'aspect cicatriciel et une périphérie inflammatoire, recouverte de squames et de petites vésicules (figure 1) — d'où la dénomination ancienne, aujourd'hui obsolète, d'« herpès » circiné.



**Fig. 1. Dermatophytie circinée (*tinea corporis*) du menton
à *Microsporum canis*.**

La confluence de plusieurs lésions crée un placard polycyclique.

Il existe d'autres localisations : atteintes **palmaires** (hyperkératose) ou **plantaires**, simulant un eczéma.

3 . 1 . 2 - Intertrigos

Les intertrigos sont des lésions des plis qui siègent surtout au niveau des orteils avec prurit (« pied d'athlète ») (*tinea pedis*), des plis inguinaux ou cruraux (*tinea cruris*) (figures 2 à 4). La bordure inflammatoire en périphérie des lésions caractérise l'atteinte dermatophytique, qui est souvent asymétrique par rapport au pli. L'érythrasma, infection cutanée des plis à *Corynebacterium minutissimum*, est un diagnostic différentiel. Dans ce cas, la lumière de Wood met en évidence une fluorescence rouge corail.



Fig. 2. Intertrigo axillaire à *Epidermophyton floccosum*.



Fig. 3. Intertrigo inguinal à *Trichophyton rubrum*



Fig. 4. Intertrigo interdigitoplantaire à dermatophyte (pied d'athlète).

3 . 2 - Lésions du cuir chevelu : teignes, ou tinea capitis

3 . 2 . 1 - Teignes tondantes

On distingue deux formes.

Teignes tondantes microsporiques

Dues à des *Microsporum* (*M. canis* et *M. audouinii* surtout), elles sont à **grandes plaques d'alopécie** squameuses, avec des cheveux cassés courts, peu ou pas inflammatoires, bien limitées d'un à plusieurs centimètres de diamètre (figure 5). Ces teignes régressent habituellement à la puberté.

Elles sont de **fluorescence verte en lumière ultraviolette** (lampe de Wood).



Fig. 5. Teigne tondante à grandes plaques (teigne microsporique).

Teignes tondantes trichophytiques

Dues à des *Trichophyton* anthropophiles (*T. violaceum*, *T. soudanense* et *T. tonsurans*), elles sont à **petites plaques d'alopecie**, squameuses, parfois peu visibles, pouvant secondairement fusionner pour former de grandes plaques mal limitées (figure 6). Ces teignes peuvent se voir chez l'adulte, préférentiellement chez la femme. Elles ne sont pas fluorescentes à la lampe de Wood. Elles sont **contagieuses**.



Fig. 6. Teigne tondante à petites plaques (teigne trichophytique).

3 . 2 . 2 - Teignes suppurées

Les teignes suppurées, plus rares, se présentent comme des placards ronds du cuir chevelu, très inflammatoires, de plusieurs centimètres de diamètre et surélevés (**kérion**) (figure 7). L'évolution est spontanément régressive en quelques mois. Elles sont dues surtout aux **dermatophytes d'origine animale** (*T. mentagrophytes*, *T. verrucosum*) ou **tellurique** (*M. gypseum*), parfois aussi à certains anthropophiles (*T. violaceum*). Ces teignes suppurées se voient surtout chez l'enfant et la femme adulte. Les

teignes suppurées, non fluorescentes à la lumière de Wood, sont peu ou pas contagieuses. Une alopecie définitive est exceptionnelle.



Fig. 7. Teigne inflammatoire (kérion).

3 . 2 . 3 - Teignes faviques, ou favus

Les teignes faviques dues à *T. schoenleinii* sont devenues aujourd'hui **exceptionnelles en Europe**. Elles se présentent au départ comme une petite croûte jaunâtre friable centrée par un cheveu, qui, en grandissant et en fusionnant, prend **l'aspect d'un godet**, sorte de dépression en cupule remplie de **croûtes jaunes soufrées** — *favus* signifie « rayon de miel » —, dégageant une odeur de souris (figure 9). Les cheveux malades sont fluorescents (vert-jaune) sur toute leur longueur à la lampe de Wood. **Contrairement aux autres teignes, l'alopecie est définitive**. La teigne favique est contagieuse.



Fig. 9. Teigne favique (*Trichophyton schoenleinii*).

3 . 3 - Lésions des poils

Le plus souvent chez l'homme, elles sont situées sur la **barbe** ou la **moustache (sycosis)**, mais aussi sur les poils du thorax et des membres, déterminant des **folliculites inflammatoires**, douloureuses, fréquemment surinfectées (figures 10).



Fig. 10. Sycosis de la barbe.

3 . 4 - Lésions des ongles : onyxis ou onychomycoses, ou tinea unguium

C'est le motif de consultation le plus fréquent en dermatomycologie. Les atteintes concernent surtout les **ongles des pieds**. L'aspect habituel est l'**onychomycose distolatérale** touchant le bord libre de l'ongle formant une tache jaunâtre qui s'étend vers la matrice (figure 11). L'ongle s'épaissit, devient dur et s'effrite par la table inférieure. D'autres aspects peuvent être observés: **leuconychie superficielle** (l'ongle est attaqué en surface au niveau de la tablette supérieure), **onychomycose proximale** (l'ongle est attaqué au niveau de la matrice), **onychomycodystrophie totale** (l'ongle est totalement détruit).



*Fig. 11. Onychomycose distolatérale de l'orteil à **Trichophyton rubrum**.*

3 . 5 - La maladie dermatophytique

C'est une dermatophytose cutanéoviscérale, chronique, de la peau et des phanères avec des localisations secondaires dermohypodermiques, ganglionnaires, viscérales dues à des dermatophytes et survenant sur un terrain particulier. Elle est rencontrée surtout dans les pays du Maghreb où elle est supposée se transmettre sur un mode héréditaire autosomique récessif. Un déficit de l'immunité cellulaire pourrait expliquer la chronicité et les nombreux échecs thérapeutiques au cours de cette maladie.

3 . 6 - Dermatophytides (dyshidrose d'origine dermatophytique)

Il s'agit de **réactions allergiques** (hypersensibilité immédiate) à expression cutanée qui se produisent à distance du foyer dermatophytique. Elles sont dues à la libération dans le sang de substances allergisantes provenant du métabolisme du dermatophyte. Les lésions simulent souvent un eczéma qui, aux mains (rarement aux pieds), prend l'**allure d'une dyshidrose** (éruption cutanée prurigineuse et vésiculeuse, évoluant vers la desquamation).

L'examen direct et la culture d'un prélèvement réalisés à ces niveaux restent stériles, incitant à rechercher à distance une lésion dermatophytique.

4 - Diagnostic biologique

4 . 1 - Prélèvement

Le diagnostic biologique repose sur un prélèvement de qualité, en zone active des lésions (**en périphérie**), réalisé par un spécialiste (dermatologue ou mycologue) **à distance de toute thérapeutique locale ou générale** (15 jours pour la peau, 2 mois pour un ongle). Pour le cuir chevelu, la lampe de Wood peut aider à déterminer s'il s'agit d'une teigne microsporique.

4 . 2 - Diagnostic mycologique

4 . 2 . 1 - Examen direct

Il est réalisé à partir des squames cutanées, des fragments de phanères. Le

dermatophyte se présente sous la forme de filaments mycéliens cloisonnés (arthrospores) (figure 12).



Fig. 12. Examen direct de squames cutanées avec arthrospores

Dans les cheveux, l'envahissement du champignon permet de préciser le **parasitisme pilaire**. On distingue ainsi :

- **le type trichophytique** (figure 13) : les spores sont à l'intérieur du cheveu (endothrix, pas de fluorescence), ce qui oriente d'emblée vers une origine anthropophile.
- **le type microsporique** (figure 14) : les spores sont présentes à l'intérieur et à l'extérieur du cheveu (endo-ectothrix, fluorescence verte) ; l'origine peut être anthropophile, géophile ou zoophile.
- **le type favique** (figure 15) : les filaments sont uniquement intrapilaires (endothrix, faible fluorescence vert-jaune) ; ce type est typiquement anthropophile.
- **le type microïde** (figure 16) : Il ressemble au type microsporique (endo-ectothrix). Mais la gaine de spores externes, peu compacte, se dissocie en chaînettes de spores donnant un aspect en "collier de perles". Cet aspect se rencontre dans les teignes inflammatoires dues à *T. mentagrophytes*.
- **le type mégasporique** (figure 17) : Il ressemble beaucoup au type microïde (endo-ectothrix)., mais les spores sont beaucoup plus grosses et mesurent en moyenne 4 à 5 µm de diamètre. Cet aspect est caractéristique de *T. verrucosum*.

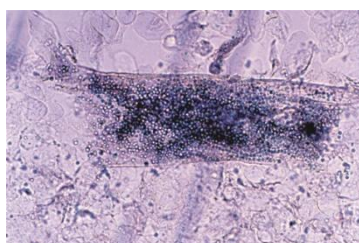


Fig. 13. Teigne de type trichophytique, *Trichophyton violaceum*

(examen direct).



Fig. 14. Teigne de type microsporique, *Microsporum canis* (examen direct).

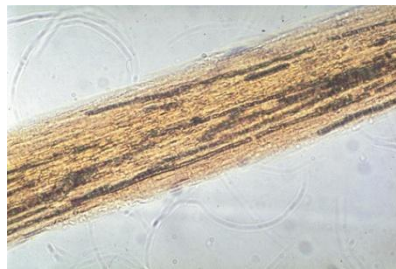


Fig. 15. Teigne favique, *Trichophyton schoenleinii* (examen direct).

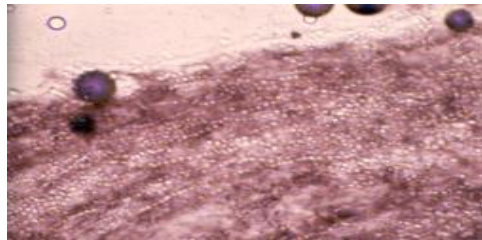


Fig. 16. Teigne de type microïde , *Trichophyton mentagrophytes* (examen direct).



Fig. 17. Teigne de type mégasporique , *Trichophyton verrucosum* (examen direct).

Le rendu immédiat de l'examen direct est fondamental. C'est sur ces résultats (filaments mycéliens arthrosporés, parasitisme pileaire) que le traitement antifongique est institué.

4 . 2 . 2 - Culture et identification

La mise en culture des prélèvements est réalisée sur des géloses de Sabouraud additionnées de cycloheximide (Actidione®) qui inhibe les moisissures et incubées entre 25 °C et 30 °C. Le temps de pousse est d'1 à 3 semaines. L'identification repose sur l'examen macroscopique (couleur, texture) de la colonie et sur l'examen microscopique (aspect des filaments et des conidies). Le délai de rendu d'une identification d'espèce à partir d'une culture de dermatophyte est généralement de 7 à 21 jours. Les techniques de biologie moléculaire et de spectrométrie de masse peuvent permettre un diagnostic plus rapide. La connaissance de l'espèce permet de préciser l'origine de la contamination.

5 - Traitement et prévention

5 . 1 - Traitement curatif

Il doit être réalisé **après le prélèvement mycologique**, dès la connaissance de l'examen direct.

5 . 1 . 1 - Teignes

La prise en charge associe un traitement local et général :

- **par voie locale** : application biquotidienne d'un antifongique imidazolé (pommade, gel, lotion) ; il est souvent nécessaire de raser les cheveux autour des lésions et de défaire les nattes.
- **par voie générale** : griséofulvine (Griséfuline®) *per os* 15 à 20 mg/kg par jour pendant 6 à 8 semaines ou terbinafine (Lamisil®) *per os* 250mg/j par jour pendant 3 à 4 semaines.

La griséofulvine est contre-indiquée en cas de grossesse, de porphyrie, de lupus, de prise d'anticoagulant, d'œstrogènes et de barbituriques. La numération-formule sanguine doit être surveillée tous les mois. Les effets secondaires, assez rares (éruptions, troubles digestifs), sont réversibles.

En cas de teignes inflammatoires et suppurées, il peut être rajouté une antibiothérapie et des corticoïdes. Le traitement chirurgical, trop souvent pratiqué devant une suspicion d'abcès, n'est pas justifié.

Des mesures doivent être associées : pour les teignes anthropophiles, il faut rechercher un contact infestant dans l'entourage familial ou scolaire et le traiter. En cas de teigne zoophile, l'animal source de contamination doit être également recherché et traité.

5 . 1 . 2 - Lésions de la peau glabre et des plis

Le traitement peut être :

- **par voie locale** : topiques antifongiques (crème, lotion, gel ou poudre) azolés (kétoconazole, éconazole...) ou terbinafine (Lamisil®) ou cyclopiroxolamine ou tolnaftate... ; le choix de la formulation se fera en fonction du caractère suintant ou non de la lésion ;
- **par voie générale** (en cas de lésions très étendues) : griséofulvine ou terbinafine ou itraconazole ou fluconazole.

5 . 1 . 3 - Onychomycoses

Le traitement est fonction de l'intégrité de la matrice :

- **sans atteinte matricielle** : le traitement peut rester **local**, avec une préparation antifongique en vernis : amorolfine (Locéryl®, 1 application/semaine) ou ciclopirox (Mycoster®, solution filmogène, 1 application/jour) pendant 3 à 6 mois. L'avulsion chimique peut être utile avec une association azolé (bifonazole) et urée (Amycor-Onychoset®, Onyset®). Un traitement concomitant des espaces interdigitoplantaires (ou palmaires) est nécessaire pour éviter toute réinfection.
- **avec atteinte matricielle** : au **traitement local** précédemment cité il est nécessaire d'associer un **traitement par voie générale**. La **terbinafine** (Lamisil® ou ses génériques) est la molécule de choix à raison, chez l'adulte, de 1 comprimé par jour pendant 3 mois (onyxis des mains) à 6 mois (onyxis des pieds). Une surveillance hépatique et hématologique est nécessaire. En cas d'intolérance (urticaire, troubles digestifs, hépatite et perte du goût) et de

contre-indication (grossesse, allaitement), **l'itraconazole** et éventuellement **le fluconazole**, du fait de leur bonne tolérance, peuvent être utilisés.

5 . 2 - Prévention

La prévention est fondée sur la maîtrise de la source de contamination et la reprise rapide du traitement en cas de récurrence. 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. L'éviction scolaire n'est plus systématique.

Evaluation :

Concernant les dermatophytes :

- A. *Epidermophyton floccosum* est une espèce zoophile
- B. *Microsporum canis* est souvent transmis par le chat
- C. *Trichophyton rubrum* est responsable de teignes inflammatoires du cuir chevelu
- D. *Trichophyton mentagrophytes* est responsable d'épidermophyties de la peau glabre
- E. *Microsporum canis* est responsable de teignes tondantes

Réponse : B-D-E

Concernant les dermatophytes :

- A. Ce sont des champignons kératinophiles
- B. Ce sont des champignons unicellulaires
- C. Ce sont des champignons kératinolytiques
- D. Ce sont des champignons opportunistes
- E. L'humidité et les microtraumatismes favorisent leur développement

Réponse : A-C- E