

Congrès conjoint

**Société Française de Parasitologie**

**Société Française de Mycologie Médicale**

*21, 22 et 23 Mai 2014, Reims*

---

**Le Comité d'Organisation remercie vivement  
les Laboratoires et Sociétés suivantes :**

**ABBOTT**

**ADEMTECH**

**AIRINSPACE**

**ASTELLAS**

**BIO EVOLUTION**

**BIOMERIEUX**

**BIORAD**

**BRUKER**

**ELITECH France**

**GILEAD**

**LAUNCH DIAGNOSTICS**

**LD BIO Diagnostic**

**MERIAL**

**MSD**

**PFIZER**

**SFR CAP-SANTE**

**SOVEDIS AQUATABS-COOPER**

Congrès conjoint

**Société Française de Parasitologie**

**Société Française de Mycologie Médicale**

*21, 22 et 23 Mai 2014, Reims*

---

**Organisation du congrès**

**Contact SFMM**

Pr Jean-Pierre Gangneux

**Contact SFP**

Pr Pascal Boireau

**Comité scientifique**

Dr Dominique Aubert

Pr Jérôme Depaquit

Dr Marie-Lazarine Poulle

Dr Dominique Toubas

Pr Isabelle Villena

Pr Pascal Boireau (SFP)

Pr Gilles Dreyfuss (SFP)

Pr Dominique Chabasse (SFMM)

Pr Jean-Pierre Gangneux (SFMM)

**Comité d'organisation local**

Dr Dominique Aubert

Dr Cathy Chemla

Pr Jérôme Depaquit

Dr Sandie Escotte

Dr Alexandre Mzabi

Dr Dominique Toubas

Pr Isabelle Villena

# CONGRES DE LA SOCIETE FRANCAISE DE PARASITOLOGIE (SFP)

*Congrès inscrit au DPC sous le N° de programme : 32261400001*  
*SFP : Organisme n° 3226 de l'OGDPC*

**Mercredi 21 Mai 2014**

## **9h00 - 9h30 : Accueil des participants**

**Dr M. Molinari** : Bureau de la Présidence de l'URCA

**Pr J.P. Eschard** : Doyen de la Faculté de Médecine

**Pr J.M. Millot** : Doyen de la Faculté de Pharmacie

**Dr P. Boireau** : Président de la SFP

## **9h30 - 11h15 Session « Parasitoses et dissémination dans l'environnement »**

**Modérateurs** : *Dr A. Simon, Pr L. Favennec (Université Rouen)*

## **9h30 - 10h15 : Conférence invitée « Circulation et contamination des parasites dans l'environnement »**

Dr A. Simon (Faculté vétérinaire, Université de Montréal)

## **10h15 - 11h05 : Communications sur le thème**

**10h15 - 10h25 : Contamination des sols et eaux par *Toxoplasma gondii* : variations  
spatiales et temporelles dans quatre communes françaises**

GILOT - FROMONT E., GOTTELAND C., LIMPALAËR L., AUBERT D., POULLE M.L.,  
DUPUIS E., FORIN - WIART M.A., RABILLOUD M., DARDE M.L., VILLENA I.

**10h25 - 10h35 : Bioaccumulation de *Toxoplasma gondii* par la moule zébrée (*Dreissena  
polymorpha*) : application pour la surveillance des milieux aquatiques**

PALOS LADEIRO M., KERAMBRUN E., BIGOT - CLIVOT A., VILLENA I.,  
AUBERT D., GEFFARD A.

**10h35 - 10h45 : Détection et caractérisation moléculaire d'isolats de *Cryptosporidium* sp.  
provenant du Nord-Liban**

OSMAN M., EL SAFADI D., BENAMROUZ S.

**10h45 - 10h55 : Développement d'une méthode standardisée de détection de  
*Cryptosporidium*, *Giardia* et *Toxoplasma* dans les matrices alimentaires**

LA CARBONA S., AUBERT D., HOUSSIN M., GARGALA G., DUMETRE A., GUYOT  
K., FAVENNEC L., CAZEAUX C., TRAVAILLE E., VILLENA I.

**10h55 - 11h05 : Evaluation de la prévalence de *Toxoplasma gondii* dans les viandes  
porcines produites en France : Plan de Surveillance 2013**

BLAGA R., DJOKIC V., PERRET C., AUBERT D., GEERS R., DUCRY T., DURAND B.  
VILLENA I., BOIREAU P.

**11h05 - 11h15 : Questions - Débats sur le thème**

***11h15 - 11h45 : Pause café ; visite des Stands et des Posters***

**11h45 - 12h45 : Session « Helminthiases »**

**Modérateurs : Pr J. Dupouy-Camet (Université Paris V), Dr P. Boireau (ANSES)**

**11h45 - 11h55 : Le Monogène qui a perdu ses pinces**

JUSTINE J.L., RAHMOUNI C., GEY D., SCHOELINCK C., HOBERG E.P.

**11h55 - 12h05 : Parasitisme en milieu aquatique : Relations Amphibiens - Mollusques**

PATRELLE C., JOUET D., DELORME D., PORTIER J., FERTE H.

**12h05 - 12h15 : De nouvelles espèces hôtes, des parasites oubliés, de nouveaux agents zoonotiques? A propos de deux observations récentes.**

FERTE H., NINIO C., HESSEMAN M., FOIS R., DELHORME T., YOUINOU A., PHILIPPE L., CLERINO K., JOUET D.

**12h15 - 12h25 : Evaluation du rôle du chat dans la transmission d'*E. multilocularis* en milieu rural**

UMHANG G., FORIN - WIART M.A., HORMAZ V., CAILLOT C., BOUCHER J.M., POULLE M.L., BOUE F.

**12h25 - 12h35 : Etude des effets d'une régulation des populations de renards sur la présence du parasite *E. multilocularis* autour de Nancy.**

COMTE S., UMHANG G., RATON V., BOUCHER J.M., CAILLOT C., FAVIER S., HORMAZ V., BOUE F., COMBES B.

**12h35 - 12h45 : Anguillulose maligne en fin de grossesse : guérison par Ivermectine injectable à usage vétérinaire**

DECONDE LE BUTOR C., POMARES C., COLLOMP R., MALEZIEUX A., SAINT PAUL M.C., DELLAMONICA J., QUEYREL - MAURANNE V., MARTY P.

**12h45 - 13h30 : Session « Entomologie médicale et infections à transmission vectorielle I »**

**Modérateurs : Pr J. Depaquit et Pr N. Léger (Université Reims Champagne Ardenne)**

**12h45 - 13h15 : Conférence invitée: "Les Phlébotomes cavernicoles"**

Pr N. Léger

**13h15 - 13h30 : Questions-Débat**

***13h30 - 14h30 : Repas***

## **14h30 - 16h : Session « Entomologie médicale et infections à transmission vectorielle II »**

**Modérateurs :** *Pr J. Depaquit et Pr N. Léger (Université Reims Champagne Ardenne)*

**14h30 - 14h40 : Borréliose de Lyme: Surveillance du vecteur *Ixodes ricinus* en Alsace en 2012 et 2013**

GOLDSTEIN V., JAULHAC B., GEORGE J.C., ZILLIOX L., DELENA C., FERQUEL E., BOULANGER N.

**14h40 - 14h50 : Détermination de la persistance de *Bartonella henselae* chez *Ctenocephalides felis*.**

BOUHSIRA E., LIENARD E., JACQUIET P., BOULOUIS H., FRANC M.

**14h50 - 15h00 : Investigation moléculaire de 40 espèces de *Culicoides* Latreille (Diptera : Ceratopogonidae) à travers trois continents**

AUGOT D., MATHIEU B., BARRIEL V., DELECOLLE J.C., ZAPATA MENA S., SMOLIS S., SLAMA D., RANDRIANAMBININTSOA F., TRUEBA G., RAHOLA N., DEPAQUIT J.

**15h00 - 15h10 : Les *Culicoides* : revue des techniques d'identification et intérêt en épidémiologie**

HADJ - HENNI L., DEPAQUIT J., AUGOT D.

**15h10 - 15h20 : Variation génétique des populations de punaises de lit (*Cimex lectularius*) en France métropolitaine**

AKHOUNDI M., CANNET A., KENGNE P., BRENGUE C., IZRI A., BERENGER J.M., MARTY P., FONTENILLE D., DELAUNAY P.

**15h20 - 15h35 : Données actuelles du CNR sur le Paludisme en France en 2013**

HOUZE S., PRADINES B., MUSSET L., THELLIER M.

**15h35 - 15h45 : Prise en charge de la gale humaine dans la région PACA - Est**

HERISSE A.L., CHIAVERINI C., HUBICHE T., DEL GIUDICE P., LACOUR J.P., MARTY P., DELAUNAY P.

***15h45 - 16h30 : Pause café ; visite des Stands et des Posters***

## **16h30 - 17h30 : Session « Infections à Protozoaires I »**

**Modérateurs** : Pr S. Houzé (Université Paris V), Pr H. Pelloux (Université Grenoble)

**16h30 - 16h40 : Les Foyers de Leishmaniose du Sud de la France : Étude génotypique des souches de *Leishmania infantum***

POMARES C., JEDDI F., PRATLONG F., BANULS A.L., HIDE M., PIARROUX R., MARTY P.

**16h40 - 16h50 : La leishmaniose viscérale infantile en Tunisie : Facteurs de pronostic, évolution sous traitement et apport de la qPCR dans la prise en charge**

AOUN K., HABBOUL Z., AISSI W., BENHELEL K., BENSGHAIER I., BOUZAIENE A., BOURATBINE A.

**16h50 - 17h00: Epidemic outbreak of cutaneous leishmaniasis in Kohat, Khyber Pakhtunkhawa Province, Pakistan : First molecular characterization of *Leishmania* species**

KASBARI M., HUSSAIN M., AYAZ S., ANEES M., RAVEL C., BERRICH M., BOIREAU P.

**17h00 - 17h10 : Lorsque l'enfant paraît ... ou l'histoire d'une infection congénitale solognote improbable**

DESOUBEAUX G., MAAKAROUN – VERMESSE Z., LANOTTE P., CHAUSSADE H., PEREZ SIMARRO P., LAULIER D., BAILLY E., SUC A.C., GUENNOC A.M., DE TOFFOL B., GOUDEAU A., BERNARD L., PARIS L., LABARTHE F., CHANDENIER J.

**17h10 - 17h20 : Suivi de l'efficacité thérapeutique des accès palustres : attention aux splénectomies !**

HOUZE S., BLANC V., DEVELOUX M., ARGY N., THELLIER M.

**17h30 - 18h30: Assemblée Générale de la SFP**

***18h30 : Départ pour la visite et dîner de gala au Domaine Pommery.***

**Jeudi 22 mai 2014**

**8h30 – 9h30 : Session « Infections à Protozoaires II »**

**Modérateurs : Pr ML. Dardé (Université Limoges), Pr P. Marty (CHU Nice)**

**8h30 - 8h40 : Etude des interactions entre *Blastocystis* et la flore bactérienne fécale. Quel lien avec le syndrome de l'intestin irritable ?**

POIRIER P., NOURRISSON C., SCANZI J., PEREIRA B., WAWRZYNIAK I., CIAN A., VISCOGLIOSI E., LIVRELLI V., DAPOIGNY M., DELBAC F.

**8h40 - 8h50 : Blastocystose au Sénégal : Etude des cas diagnostiqués au CHNU de Fann de 2011 à 2013**

SOW D., SYLLA K., DIENG T., TINE R.C., NDIAYE M., FAYE B., NDIAYE J.L., GAYE O., DIENG Y.

**8h50 - 9h00 : Evaluation de l'efficacité d'un collyre de polyhexaméthylène biguanide dans un modèle de kératite à *Acanthamoeba polyphaga* chez le rat**

GUEUDRY J., C HUMBERT., RAZAKANDRAINIBE R., LE GOFF L., FRANCOIS A., MURAINÉ M., FAVENNEC L.

**9h00 - 9h10 : Toxoplasmose congénitale, faut-il craindre les lésions oculaires ?**

PEYRON F., RABODONIRINA M., WALLON M.

**9h10 - 9h20 : Toxoplasmose congénitale : étude rétrospective de 187 cas diagnostiqués au CHRU de Montpellier de 1985 à 2010**

BADAQUI B., ALBABA S., STERKERS Y., ISSERT E., AGOSTINI C., PICOT M.C., BOULOT P., BASTIEN P., PRATLONG F.

**9h20 - 9h30 : Le locus Toxo1 contrôle la résistance vis-à-vis de *T. gondii* via le senseur intracellulaire Nlrp1a et l'induction de pyroptose**

CAVAILLES P., FLORI P., PAPAPIETRO O., BIZANZ C., LAGRANGE D., PILLOUX L., MASSERA C., CRISTINELLI S., JUBLOT D., CESBRON – DELAUW M.F.

**9h30 - 11h15 : Session « Nouvelles technologies  
d'étude en parasitologie »**

**Modérateurs : Dr C. Schaeffer (Université Strasbourg), Dr S. Tomavo (CNRS, Lille)**

**9h30 - 10h15 : Conférence invitée : Protéomique en Parasitologie : développements techniques, applications, perspectives.**

Dr C. Schaeffer (Institut Pluridisciplinaire H Curien, Université Strasbourg), Dr S. Tomavo (CNRS Lille)

## **10h15 -11h15 : Communications sur le thème**

**10h15 - 10h25: MST COST Action CM1307 Targeted chemotherapy towards diseases caused by endoparasites**

DAVIOUD - CHARVET E., LOISEAU P.

**10h25 - 10h35 : Caractérisation des parasites dans les produits de la pêche : développement de méthodes d'identification et prévalence**

SEESAO Y.

**10h35 - 10h45 : Apport du séquençage de nouvelle génération dans l'identification de marqueurs moléculaires chez *Plasmodium falciparum*, exemple de la résistance aux dérivés de l'artémisinine**

ARIEY F., WITKOWSKI B., BEGHAIN J., LANGLOIS A.C., BERRY A., BARALE J.C., BENOIT – VICAL F., MERCEREAU PUIJALON O., MENARD D.

**10h45 - 11h05 : Nouvelles Technologies en lutte anti - vectorielle**

BOUYER J.

## **11h05 - 11h15 : Questions - Débats sur le thème**

***11h15 - 11h45 : Pause café ; visite des Stands et des Posters***

## **11h45 - 12h45 : Session « Interaction Hôtes-Parasites »**

**Modérateurs : Pr E. Candolfi (Université Strasbourg), Pr JL. Justine (Museum Histoire Naturelle)**

**11h45 - 11h55 : Des naphtoquinones antipaludiques consommant le NADPH dans une cascade rédox miment les effets de déficiences en glucose - 6 - phosphate déshydrogénase - une nouvelle stratégie pour diminuer le développement parasitaire**

DAVIOUD - CHARVET E., BIELITZA M., BELORGEY D., ELHABIRI M., EHRHARDT K., DEREGNAUCOURT C., ARESE P., LANZER M.

**11h55 - 12h05 : Etude de l'efficacité des antipaludiques sur les souches de *Plasmodium falciparum* isolées à Thiès (Sénégal)**

NDIAYE D., NDIAYE M., NDIAYE J.L., FAYE B., KOITA O.A., NWAKANMA D., WIRTH D.F., VOLKMAN S., KROGSTAD D.

**12h05 - 12h15 : Import des ARNt exogènes par les sporozoïtes de *Plasmodium***

MAHMOUDI N., BOUR T., KAPPS D., BARGIERI D., MENARD R., FRUGIER M.

**12h15 - 12h25: IL - 6: A new target for the treatment of ocular toxoplasmosis recurrence**

CANDOLFI E., ROCHET E., BOURCIER T., PFAFF A.



**12h25 - 12h35 : Importance de l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4 dans le processus de résistance à l'infection filarienne**

PIONNIER N., BROTON E., KARADJIAN G., VALLARINO – LHERMITTE N., NIEGUITSILO A., HEMON P., AKNIN M.L., BACHELERIE F., MARTIN C.

**12h35 - 12h45 : *Haemoproteus iwa* associé aux frégates du Pacifique (*Fregata minor*) dans les îles de l'Ouest de l'Océan Indien**

BASTIEN M., JAEGER A., LE CORRE M., TORTOSA P., LEBARBENCHON C.

**12h45 - 13h30 : Clôture de la SFP (P. Boireau)**

Remise des prix de thèse 2013

Journal de la Société : Actualités (Pr JL. Justine)

***13h30 - 14h30 : Repas***

# CONGRES DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MYCOLOGIE MEDICALE

*Congrès inscrit au DPC sous le N° de programme : 34641400001*  
*SFMM : Organisme n° 3464 de l'OGDPC*

**Jeudi 22 mai 2014**

## **14h30 - 14 h45 : Discours d'accueil**

Pr L. Martiny, Vice-Président de l'Université Champagne-Ardenne  
Pr J.P. Gangneux, Président de la SFMM

## **14h45 - 16h45 : Session I** **« Interactions Hôte - Champignons »**

**Modérateurs : Pr B. Dupont, Pr D. Poulain**

## **14h45 - 15h30 : Conférence**

**"Quelques décades de recherches sur *Candida albicans* : de surprises en surprises"**

POULAIN D., Université de Lille 2, CHU Lille

## **15h30 - 16h45 : Communications sur le thème**

**15h30 - 15h45 : Mannose Binding Lectin modulates intestinal inflammation and *Candida albicans* colonization in mice**

CHOTEAU L., DUBUQUOY L., TAKAHASHI K., COLOMBEL J.F., POULAIN D., JOUAULT T., SENDID B., JAWHARA S.

**15h45 - 16h00 : Modifications de la paroi au cours de la maturation des conidies chez *Pseudallescheria boydii***

GHAMRAWI S., RENIER G., SAULNIER P., CUENOT S., ZYKWINSKA A., DUTILH B.E., THORNTON C., FAURE S., BOUCHARA J.P.

**16h00 - 16h15: Molecular cloning and functional characterization of *Pneumocystis carinii* MnSOD**

KHALIFE S., STANDAERT-VITSE A., GANTOIS N., JAKOBCZYK H., CHABÉ M., POTTIER M., DEI - CAS E., DABBOUSSI F., HAMZE M., ALIOUAT E.M., ALIOUAT C.M.

**16h15 - 16h30 : Etude de la colonisation par *Pneumocystis carinii* en fonction du degré d'immunodépression dans un modèle naturel de transmission aérienne du microchampignon**

KHALIFE S., CHABE M., GANTOIS N., AUDEBERT C., POTTIER M., DABBOUSSI F., HAMZE M., HLAIS S., ALIOUAT-DENIS C.M., ALIOUAT E.M.

16h30 - 16h45 : **Modèle *in vivo* et *ex vivo* de colite inflammatoire chez le rat BN et LEW**  
FLORI P., BAZUS L., COURBON G., DEVOS M., CHENEVIER E., RABERIN H.,  
CAVAILLES P., ROBLIN X.

**16h45 - 17h15 : Pause, Visite des Stands**

## **17h15 - 18h30 : Session II**

### **Communications libres**

**Modérateurs : Pr JP. Gangneux, Pr F. Symoens**

17h15 - 17h30: **Evaluation of the risk of fungal colonization/infection in patients with cystic fibrosis : an international prospective study comparing the performance of media for mycological culturing MucoFong International Project (MFIP)**

TOUATI K., FAURE - COGNET O., CORNET M., BOTTEREL F., DANNAOUI E., MORIO F., LEPAPE P., GRENOUILLET F., FAVENNEC L., LE GAL S., NEVEZ G., BORMAN A., SAEGEMAN V., LAGROU K., GOMEZ E., CARO-LUIS M., CANTON R., CAMPANA S., BUZINA W., CHEN S., MEYER W., ROILIDES E., SIMITSOPOULOU M., MANSO E., CARIANI L., BIFFI A., FISCARELLI E., RICCIOTI G., SENDID B., PIHET M., BOUCHARA J.P., DELHAES L.

17h30 - 17h45 : **Identification des réservoirs du complexe *Scedosporium apiospermum* au Maroc**

MOUHAJIR A., ZOUHAIR R., ANGEBAULT C., JACOB S., GIRAUD S., BOUABID R., BOUGNOUX M.E., BOUCHARA J.P.

17h45 - 18h00 : **Etude de la formation de biofilm par *Candida albicans* et de la résistance du biofilm à l'amphotéricine B**

BENDJELLOUL M., BOUCHERIT K., BOUCHERIT - OTMANI Z., ANSELME - BERTRAND I.

18h00 - 18h15 : **Etude rétrospective sur les dermatophytoses sévères chez les patients transplantés d'organe**

LANTERNIER F., ROUZAUD C., SCEMLA A., LORTHOLARY O.

18h15 - 18h30 : **Etude rétrospective nationale sur les infections à *Candida* du système nerveux central**

CHAUSSADE H., BERNARD L., CAZALS X., LORTHOLARY O., LANTERNIER F.

**18h30 - 19h15 : Assemblée Générale de la SFMM**

**20h00 : Diner de gala, Palais du Tau**

## **Vendredi 23 mai 2014**

08h30 - 09h00 : Accueil des participants

### **09h00 - 10h30 : Session III**

#### **«Perspectives biologiques en Mycologie médicale»**

**Modérateurs : Dr M.E. Bournoux, Dr S. Ranque**

#### **Conférences**

**Apport du séquençage à haut débit en mycologie médicale**

BOTTEREL F., Hôpital Henri Mondor, Créteil

**Apport du séquençage à haut débit à la compréhension des mécanismes impliqués dans l'évolution du génome de *Candida albicans***

BOUGNOUX M.-E., Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

**MALDI-ToF en mycologie : du microscope au numérique**

RANQUE S., NORMAND A.C., CASSAGNE C., GAUTIER-AVELLAN M., L'OLLIVIER C., HENDRICKX M., PIARROUX R. , CHU La Timone, Marseille

**10h30 - 11h00 : Pause café, Visite des stands**

### **11h00 - 12h45 : Session IV**

#### **Communications libres**

**Modérateurs : Dr M. Gari, Pr J. Chandenier**

**11h00 - 11h15 : Fongémies et temps d'incubation (TDI) : analyse de 1741 épisodes**

PAUGAM A., ANCELLE T., LORTHOLARY O., BRETAGNE S., FMSG (French Mycology Study Group)

**11h15 - 11h30 : Etude multicentrique prospective française de l'utilisation des antifongiques en Onco-Hématologie en 2013 : l'étude AFHEM**

GANGNEUX J.P., EL CHEIKH J., CAILLOT D., YAKOUB AGHA I., MICHALLET M.

**11h30 - 11h45 : Epidémie de pneumonies à *Pneumocystis jirovecii* chez les greffés rénaux : avez-vous pensé à la salle d'attente ?**

BAJOLET O., TOUBAS D., NOEL N., WYNCKEL A., NEVEZ G.

**11h45 - 12h00 : Nouvelle méthode de typage moléculaire de *Pneumocystis jirovecii* par analyse de marqueurs microsatellites**

GITS-MUSELLI M., MENOTTI J., GUIGUE N., HAMANE S., BRETAGNE S., ALANIO A.

**12h00 - 12h15 : L'histoplasmose : une maladie animale sous-estimée en Europe ?**

GUILLOT J., FANTINI O., GIER S., GANTOIS N., CHABE M., CHERMETTE R., PIN D.

**12h15 - 12h30 : Identification directe par spectrométrie de masse des levures présentes dans les hémocultures: quand le 'fait maison' équivaut à la trousse commerciale**

BONNET I., KHERRAF Z.E., BIDART M., PELLOUX H., BERGER F., CORNET M., MAUBON D.

12h30 - 12h45 : **Endophtalmie aspergillaire post-traumatique : A propos d'un cas observé au CHU de Reims**

MZABI A., LARRE I., GARCIA T., COHEN R., BOULAGNON-ROMBI C., GAUDIN A., DEPAQUIT J., DUCASSE A., VILLENA I., TOUBAS D.

**12h45 - 13 h20 : Visite des posters et des stands**

**13h30 - 14h30 : Repas**

## **14h30 - 17h : Session V « Champignons pathogènes émergents »**

**Modérateurs : Pr C. Hennequin, Dr A. Paugam**

**14h30 - 16h00 : Conférences**

**Les levures opportunistes émergentes**  
BOUALEM S., CHU Lille

**Actualités sur *Trichosporon*, un basidiomycète émergent**  
HENNEQUIN C., Hôpital St Antoine, Paris

**Champignons filamenteux en émergence**  
MACHOUART M., DEBOURGOGNE A., DORIN J., CHU Brabois, Vandoeuvre-les-Nancy

**16h00 - 17h00 : Communications sur le thème**

16h00 - 16h10 : ***Candida africana* : un agent fongique commun des vaginites candidosiques à Libreville, Gabon**  
ANDEME S., BENMOSTEF A., CHEVALIER A., BOUYOU-AKOTET M., BAILLY E., KOMBILA M., CHANDENIER J., HENNEQUIN C.

16h10 - 16h20 : **Infections fongiques à champignons dématiés chez deux patients transplantés rénaux**  
GUITARD J., WYPLOSZ B., FRANCES C., LAZURE T., CALLARD P., SENGHOR Y., DAHANE N., HENNEQUIN C., ANGOULVANT A.

16h20 - 16h30 : **Phaeohyphomycose cérébrale à *Cladophialophora bantiana* chez un enfant guyanais**  
JACOB S., PEIPOCH L., MIOSSEC C., HOCHEDÉZ P., HAMLAT A., DESBOIS N.

16h30 - 16h 40 : **Fongémie à *Arthrographis kalrae* chez une patiente atteinte de mucoviscidose**  
DENIS J., SABOU M., DEGOT T., LETSCHER - BRU V.

16h40 - 16h50 : **Premier cas de phaeohyphomycose cérébrale due à *Neoscytalidium dimidiatum* en Martinique**  
MIOSSEC C., JACOB S., MANZO N., FERGE J.L., MOLINIE V., ROZE B., DESBOIS N.

**17h00 : Fin du Congrès**

# COMMUNICATIONS AFFICHEES EN PARASITOLOGIE

1. **Evaluation de l'infestation par *Echinococcus granulosus* chez les chiens de fourrière canine de la région d'Alger : Examen ante et post mortem**  
GHALMI Farida, ZEBIRI E., SEKAT N.
2. **Epidémie de leishmaniose cutanée à Tipasa (Algérie)**  
BENDJABALLAH - LALIAM A., IZRI A., ANDRIANTSOANIRINA V., DURAND R., HAMRIOUI B.
3. **Parasitoses intestinales chez les patients V.I.H positifs en milieu urbain de Yaoundé**  
ESSOLA J.K., SAME EKOBO A., NKOA T., KOUANFACK C., FOSSO S.
4. **Diagnostic moléculaire de la toxoplasmose disséminée sur le sang circulant: sang total ou couche leucocytaire ? Etude en modèle murin**  
BRENIER-PINCHART M.P., CAPDEROU E., BERTINI R.L., BAILLY S., FRICKER-HIDALGO H., MURAT J.B., TOUAFÉK F., BASTIEN P., PELLOUX H.
5. **Freezing and storage at minus 20°C provides adequate preservation of *Toxoplasma gondii* DNA for retrospective molecular analysis**  
DELHAES L., FILISETTI D., BRENIER – PINCHART M.P., PELLOUX H., YERA H., DALLE F., STERKERS Y., VARLET-MARIE E., TOUAFÉK F., CASSAING S., BASTIEN P.
6. **Les tiques Ixodidés : Identification et prévalence chez le bovin dans la région d'Alger**  
AMANZOUGAGHENE N., AZZAG N., BITAM I., CHINA B., GHALMI F.
7. **Étude épidémiologique sur l'infection par *Babesia* sp. chez le chien dans la région d'Alger**  
GHALMI F., ELAHAM Y., FERNANE F.
8. **Tests de chimiosensibilité de souches de *Toxoplasma gondii* à la pyriméthamine**  
MZABI A., ESCOTTE – BINET S., DOLIWA C., AUBERT D., VILLENA I.
9. **Capillariose et hydatidose hépatiques probables chez un adolescent du bas Empire inhumé à Amiens (France).**  
DUPOUY - CAMET J., MOWLAVI G., KACKI S., MOBEDI I., MAKKI M., HARANDI M.F., NADDAF S.R.
10. **Intérêt de l'introduction du scotch test anal dans le contrôle parasitologique des manipulateurs de denrées alimentaires en Tunisie**  
SIALA E., JEMEL S., BOUBAKER S., BEN ABDALLAH R., BEN ABDA I., ZALLEGUA N., BOULEHMI N., BEN SGHAÏER I., AOUN K., BOURATBINE A.
11. **Prévalence du portage des cryptosporidies et des microsporidies chez les manipulateurs de denrées alimentaires dans la région de Tunis (Tunisie)**  
SIALA E., ABID Z., BEN ABDALLAH R., BEN ABDA I., BOUBAKER S., ZALLEGUA N., BOULEHMI N., BEN SGHAÏER I., AOUN K., BOURATBINE A.

12. **Evaluation de la trousse IamTM Diasorin® pour le diagnostic moléculaire et le suivi des infections à *Toxoplasma gondii***  
VARLET - MARIE E., STERKERS Y., BASTIEN P.
13. **Caractérisation et validation multicentrique d'une gamme standard pour la détection de *Toxoplasma gondii* destinée aux techniques d'amplification de l'ADN**  
VARLET - MARIE E., STERKERS Y., MORELLE C., BRENIER – PINCHART M.P., CASSAING S., DALLE F., DELHAES L., FILISETTI D., PELLOUX H., TOUAFEK F., YERA H., BASTIEN P.
14. **Photo Quizz : Une étrange adénopathie chez une jeune patiente du Maine et Loire**  
PIHET M., GIRAUD J.M., DE GENTILE L., MORIO F., SCHMITT F., LAVERGNE R.A., LE PAPE P., CHABASSE D.
15. **Caractérisation d'un nouveau Rhabdiasidae du genre *Chabirenia* chez le saurien *Ctenonotus ferreus* de Marie Galante (Guadeloupe)**  
LHERMITTE - VALLARINO N., BELS V., PLACIDE M.A., BAIN O., MARTIN C.
16. **Diversité génétique de *Toxoplasma gondii* à partir de prélèvements paraffinés d'abcès cérébraux de 20 patients immunodéprimés : l'expérience de l'hôpital Paris - Lariboisière**  
CAZORLA A., POLIVKA M., GRENOUILLET F., AJZENBERG D.
17. **Premier cas avéré de méningite à éosinophiles à *Angiostrongylus cantonensis* en Guadeloupe**  
DARD C., PILOQUET J.E., QVARNSTROM Y., HARROIS D., HEBERT J.C., MATTERA D.
18. **La légine australe, *Dissostichus eleginoides*, un nouvel hôte pour *Pseudoterranova cattani***  
GAY M., BOURGAU O., JEROME M., VERREZ – BAGNIS V.
19. **Examen direct *versus* culture au cours du diagnostic de la leishmaniose cutanée dans la région d'Annaba**  
BELDI N., MANSOURI R.
20. **Caractérisation du risque de contamination parasitaire des terrains maraichers par *Echinococcus multilocularis*, *Toxocara* sp et *Toxoplasma gondii***  
BASTIEN M., COMBES B., UMHANG G., COMTES S., RATON V., BOUE F., POULLE M.L.
21. **Etude du portage de *Toxoplasma gondii* dans les viandes d'origine chevaline importées en France**  
BLAGA R., PERRET C., AUBERT D., DUCRY T., GEERS R., THOMAS M., VILLENA I., BOIREAU P.

22. **Prévalence et identification de Microsporidies parasites de la lotte, *Lophius piscatorius***  
GAY M., VERREZ – BAGNIS V., THEBAULT A., BOURGAU O., SEESAO Y., COS I., LE FUR B., BRUZAC S., JEROME M., ALIOUAT-DENIS C.
23. **Optimisation d'une méthode pour la détection de protozoaires chez des invertébrés aquatiques du littoral**  
HANI Y., PALOS LADEIRO M., LA CARBONA S., DUPUIS E., BIGOT A., VILLENA I., AUBERT D.
24. **Interprétation de la charge parasitaire placentaire évaluée par PCR temps réel dans les toxoplasmoses pergravidiques**  
FOUDRINIER F., AUBERT D., CHEMLA C., DUPUIS E., MARNEF F., CORNIC S., GEERS R., VILLENA I.
25. ***Echinococcus multilocularis* screening of dog populations in France, a multiscale approach revealing inappropriate deworming practices**  
COMTE S., UMHANG G., RATON V., HORMAZ V., BOUCHER J.M., FAVIER S., COMBES B., BOUE F.
26. **Analyse coûts-bénéfices *ex ante* de l'éradication d'une population de *Glossina palpalis gambiensis* dans la zone des Niayes, Sénégal**  
BOUYER F., SECK M., DICKO A., SALL B., LO M., VREYSEN M., CHIA E., BOUYER J., WANE A.
27. **Ecoépidémiologie de la leishmaniose viscérale au Maroc (2009-2012)**  
BOUAZIZI AMRANI L., NAOUI H., NHAMMI H., LAAMRANI EL IDRISSE A., LMIMOUNI B.E.
28. **Infections à *Trichomonas vaginalis* : Comparaison de trois méthodes diagnostiques**  
DAMIANI C., DUHIN M., EL MOUNTASSIR Z., MONGE A.S., TOTET A., AGNAMEY P.
29. **La chimioprévention du paludisme saisonnier au Sénégal : de la recherche à l'action**  
NDIAYE J.L., NDIAYE Y., BA M., FAYE B., NDIAYE D., TINE R., CISSE B., MILLIGAN P., GAYE O.
30. **Détection des protozoaires pathogènes *Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis* et *Toxoplasma gondii* dans des moules bleues (*Mytilus edulis*) ; bioaccumulation et élimination des oocystes de *C. parvum* par les moules en microcosme.**  
GARGALA G., HUMBERT C., LE GOFF L., AUBERT D., GUYOT K., HOUSSIN M., DUMETRE A., LA CARBONA S., VILLENA I., FAVENNEC L.]
31. **Un procédé innovant d'irradiation par lumière UV pulsée efficace sur l'infectivité des oocystes de *Cryptosporidium parvum* à la surface de framboises expérimentalement contaminées.**  
GARGALA G., LE GOFF L., BERTRAND H., AUBERT D., VILLENA I., AGOULON A., ORANGE N.



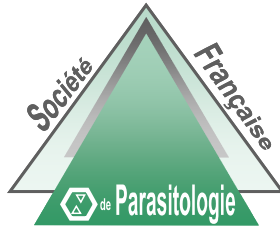
32. **Mise en place de l'avidité Lecolier au laboratoire de Parasitologie - Mycologie de l'hôpital Bichat - Claude Bernard**  
JACQUELINE M., MIGNOT T., ARGY N., HOUZE S.
33. **Caractérisation des protéines immunoréactives d'*Echinococcus multilocularis* pour le développement de biomarqueurs de suivi de l'échinococcose alvéolaire**  
ANELLI M., ROGNON B., KNAPP J., VALOT B., RICHOU C., POROT C., VUITTON D.A., GRENOUILLET F., MILLION L.
34. **Recherche des anticorps spécifiques dans le fluide oral : Application au diagnostic de certaines parasitoses**  
BOURATBINE A., BEN - ABID M., CHAHED N., BEN SGHAIER., GALAÏ Y., MOUSLI M., AOUN KARIM
35. **Evaluation des biomarqueurs de la résistance chez *Plasmodium falciparum* dans la surveillance des ACTs**  
COJEAN S., BEJAOUI M., HUBERT V., MOISANT C., MARECHAL C., ARGY N., CLAIN J., PRADINES B., HOUZE S.
36. **Dynamique de population et probabilités d'infection chez le chat domestique : Quelles implications dans la contamination environnementale par *Toxoplasma gondii* en milieu rural ?**  
SIMON J.A., FORIN-WIART M.A., GOTTELAND C., LELU M., GILOT-FROMONT E., POULLE M.L.
37. **Quelle place pour les nouveaux tests diagnostiques pour le suivi thérapeutique de l'accès palustre ?**  
AUGE C., ARGY N., HUBERT V., DEVISME C., HOUZE S.
38. **Myiases cutanées autochtones des plaies : A propos de trois cas observés au CHU de Reims**  
MZABI A., TOUBAS D., LAMBERT D., FARKAS R., ALBERT O., CHEMLA C., BERNARD P., FERNANDES M., VILLENA I., DEPAQUIT J.
39. **Validation de la PCR diagnostique temps réel Fast Track pour le diagnostic du paludisme**  
ARGY N., MOISANT C., HUBERT V., HOUZE S.
40. **Evaluation de l'activité leishmanicide de composés : Comparaison de 3 tests aux sels de tetrazolium**  
PREVOT G., GINOUVES M., CARME B., COUPPIE P.
41. **Mise en place d'un programme d'évaluation externe de la qualité pour la sérologie *Echinococcus***  
ROUSSEL S., GRENOUILLET F.E., DEMONMEROT F., SCHERER – DIDIER E., MILLION L., GRENOUILLET F.
42. **Utilisation des parasites pour l'évaluation de l'impact des pêcheries côtières sur les populations du serran *Serranus scriba* (Pisces, Téléostéen)**  
CHAABENE A., NEIFAR L.

43. **Evaluation d'un test immunochromatographique pour le diagnostic sérologique de l'échinococcose kystique**  
MOREAU E., ZAIT H., GRENOUILLET F.E., HAMRIOUI B., GRENOUILLET F.
44. **Toxoplasmose expérimentale chez le rat Lewis : un modèle de résistance, une approche génétique vers le gène**  
FLORI P., CAVAILLES P., PAPAPIETRO O., BIZANZ C., LAGRANGE D., PILLOUX L., MASSERA C., CRISTINELLI S., JUBLOT D., CESBRON - DELAUW M.F.
45. **Présence d'une infection canine par *Echinococcus granulosus* en Corse ?**  
BOUE F., GRECH - ANGELINI S., MAESTRIANI O., BOUCHER J.M., HORMAZ V., RICHOMME C., UMHANG G.
46. **Contrôle externe de qualité de la détection de *Cryptosporidium* spp.: L'expérience du réseau national Crypto-Anofel**  
KAPEL N., RABODONIRINA M., MENOTTI J., PINEL C., GARGALA G., DEROUIN D., FAVENNEC L. et les membres du réseau national Crypto-Anofel
47. **Prévalence élevée de *Giardia duodenalis* chez les agneaux du bassin de Roquefort et de la région Rhône Alpes**  
RAZAKANDRAINIBE R., LEGOFF L., BAREILLE S., GILLES GARGALA G., FAVENNEC L.

## COMMUNICATIONS AFFICHEES EN MYCOLOGIE

- 1. Lung mycobiota from patients with cystic fibrosis: Recent updates and links with other microbial communities**  
NGUYEN DO NGOC L., DASSONEVILLE R., CHABE M., GANTOIS N., PREVOTAT A., PEREZ T., WALLAERT B., AUDEBERT C., GOFFART A., VISCOGLIOSI E., DELHAES L.
- 2. Evaluation de l'exposition fongique domiciliaire chez des patients atteints de mucoviscidose**  
PRICOPE D., DENEUVILLE E., FRAIN S., CHEVRIER S., GANGNEUX J.P.
- 3. Les moisissures dans l'habitat picard : Caractérisation de la contamination et évaluation des risques sanitaires**  
LE GAL S., DEFFONTAINE M., DAMIANI C., OBJOIS T., SAUVAGE A., TAILLAINT S., BENABES B., POPIN E., NEVEZ G., TOTET A.
- 4. Diversité de *Pneumocystis jirovecii* en Guyane**  
LE GAL S., BLANCHET D., DAMIANI C., MERLE C., VIRMAUX M., GUILLOT G., ABBOUD P., TOTET A., CARME B., NEVEZ G.
- 5. Identification moléculaire d'agents pathogènes fongiques à partir de fragments biopsiques**  
AIT-AMMAR N., GUITARD J., GONIN J., BROCHERIOU I., HENNEQUIN C.
- 6. Données cliniques, histopathologiques et moléculaires d'une série de mucormycoses**  
CARZOLA A., ALANIO A., JOUVION G., KANTELIP B., MILLON L., WASSEF M., BRETAGNE S., GRENOUILLET F., CHRETIEN F.
- 7. Comparaison du dosage du galactomannane (GM) et de la culture mycologique dans différentes fractions du lavage bronchoalvéolaire (LBA)**  
BONNAL C., SAINTENOY G., SITTERLE E., FOULET F., MAITRE B., BOTTEREL F.
- 8. Apport de la PCR et du séquençage au diagnostic de sinusite fongique : à propos de 42 cas diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Rennes**  
GANGNEUX J.P., COMACLE P., CHEVRIER S., RUAUX C., JEGOU F., ROBERT-GANGNEUX F.
- 9. Les otomycoses : étude épidémiologique et mycologique au CHU Saadna Abdenour de Sétif**  
MERADJI A., ZEROUG S., TOUABTI A.
- 10. Profil comparatif de la flore candidosique rencontrée dans deux centres hospitaliers de Tunis : Service de Réanimation médicale et Service de greffe de moelle osseuse**  
KALLEL A., HAKMOUNI H., FAKHFAKH N., BELHAJ SALAH N., BADA N., BEN LAKHAL S., BEN OTHMAN T., BELHADJ S., KALLEL K.

11. **Etude de souches de *Candida non albicans* isolées de cathéters au CHU d'Oran : Identification et sensibilité aux antifongiques**  
BENDJELLOUL M., BOUCHERIT K., BOUCHERIT - OTMANI Z.
12. **Sensibilité *in vitro* à l'amphotéricine B de 96 souches de *Candida* isolées au CHU Avicenne et à l'Hopital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat**  
IKEN M., NAOUI H., BOUMHIL L., LMIMOUNI B.E.
13. **Profil épidémiologique des teignes inflammatoires recensées à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis**  
ALLOUI D., BOUCHEKOUA M., TRABELSI S., CHEIKHROUHOUS., KHALED S.
14. **Profil épidémiologique et mycologique des dermatomycoses chez le patient diabétique : Etude menée sur 3 ans au CHU Charles Nicolle de Tunis**  
BOUCHEKOUA M., ALLOUI D., TRABELSI S., CHEIKHROUHOUS., KHALED S.
15. **Les dermatophyties dans la région de Tunis : Etude épidémiologique, clinique et mycologique (2006 - 2013)**  
SIALA E., ABID Z., BEN ABDALLAH R., BEN ABDA I., BOULEHMI N., ZALLEGAN., AOUN K., BOURATBINE A.
16. **Aspects épidémiologiques des mycoses superficielles observées dans la région de Tunis**  
JAOUADI T., FAKHFAKH N., KALLEL A., BADA N., BELHAJ SALAH N., BELHADJ S., KALLEL K.



**Sociétés Française de PARASITOLOGIE**

# **Communications orales**

21 et 22 mai 2014

## **Circulation et contamination des parasites dans l'environnement**

SIMON Audrey,  
Université de Montréal

Dans leur cycle de vie, la voie de transmission environnementale est importante pour de nombreux parasites. Leur capacité à produire une quantité massive de stades libres qui peuvent survivre aux conditions environnementales pendant de longues périodes constitue une menace importante et constante pour la santé publique. Pour prévenir et gérer les risques sanitaires, il est donc essentiel de mieux comprendre les différentes stratégies de contamination et de circulation des parasites dans l'environnement. À travers l'exemple de la contamination d'un environnement arctique par le protozoaire zoonotique *Toxoplasma gondii*, cette présentation illustrera la complexité des différents aspects de la circulation des parasites dans l'environnement. Cet exemple permettra également de souligner la pertinence de considérer les processus de dissémination sur de multiples échelles spatio-temporelles, dans un contexte écosystémique. Les impacts potentiels de la mondialisation, des modifications d'utilisation du territoire et du réchauffement climatique global sur la circulation parasitaire dans l'environnement seront présentés, et en particulier les « nouveaux » défis et opportunités en termes de transmission que ces changements occasionnent. Des exemples de problématiques parasitaires zoonotiques au Canada seront utilisés en guise d'illustration. Cette présentation conclura sur les différents obstacles associés à l'étude de la circulation des parasites dans l'environnement et sur quelques outils et approches nécessaires pour répondre à ces obstacles dans un contexte de changements anthropiques.

## **Contamination des sols et eaux par *Toxoplasma gondii* : Variations spatiales et temporelles dans quatre communes françaises**

GILOT - FROMONT Emmanuelle <sup>1</sup>, GOTTELAND C. <sup>2</sup>, LIMPALAËR L. <sup>2</sup>, AUBERT D. <sup>2</sup>,  
POULLE M.L. <sup>2</sup>, DUPUIS E. <sup>2</sup>, FORIN – WIART M.A. <sup>2</sup>, RABILLOUD M., <sup>3</sup>, DARDE M.L.  
<sup>4</sup>, VILLENA I. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Université de Lyon, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Villeurbanne, VetAgro SUP, Marcy l'Etoile, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, EA 3800, SFR CAP - Santé FED 4231, 51 rue Cognacq-Jay, 51095 Reims Cédex, France.

<sup>3</sup> Université Lyon 1

<sup>4</sup> INSERM UMR1094, Tropical Neuroepidemiology, Université Limoges, School of Medicine, Institute of Neuroepidemiology and Tropical Neurology, CNRS FR 3503 GEIST, Limoges, France

La phase environnementale est essentielle dans le cycle de *Toxoplasma gondii* car les oocystes survivent jusqu'à plusieurs années dans l'environnement et peuvent s'y disséminer largement. L'hétérogénéité de la contamination environnementale explique une part importante des variations du risque d'infestation des hôtes intermédiaires. Cette contamination dépend elle - même de la combinaison de plusieurs facteurs: fréquence et localisation des événements de contamination par les félins, caractéristiques physico - chimiques des matrices (sol, eau), mouvements des oocystes du fait du lessivage, du transport et de la concentration par les animaux transporteurs et survie de ces oocystes. En tenant compte des informations précédemment recueillies sur l'infection des hôtes intermédiaires et définitifs, nous proposons plusieurs hypothèses pour expliquer les variations locales de la contamination environnementale par les oocystes de *T. gondii* dans l'eau et le sol en milieu rural. Dans le sol, nous attendons des variations du niveau de contamination en fonction, d'une part, de la densité locale des populations de chats et du mode d'utilisation de l'espace par les chats et, d'autre part, du couvert végétal et de la pente qui expliquent la diffusion et la survie des oocystes. Nous proposons également un modèle de variation saisonnière du niveau de contamination environnementale, qui prédit une contamination maximale en fin d'hiver et minimale en fin d'été. Pour tester ces hypothèses, le niveau de contamination du sol et de l'eau a été mesuré dans quatre communes françaises, de façon ponctuelle dans le sol (dans trois communes situées dans des régions contrastées) et au fil du temps sur une période de huit mois pour l'eau (dans deux communes des Ardennes). Les prélèvements récoltés ont été prétraités puis analysés à l'aide de PCR en temps réel, en réalisant 4 réplicats pour chaque prélèvement de sol. Les fréquences de contamination obtenues étaient élevées : 29% des 243 prélèvements de sol effectués à Briquenay (Ardennes) montrent au moins un puits PCR positif. Dans ce village où l'habitat est regroupé, la contamination est plus fréquente dans le centre du village que dans la périphérie. Le niveau de contamination du sol est de 29% à Aimargues (Gard, n = 100) et atteint 46% à Saint - Just Chaleyssin (Isère, n = 96). Dans ces deux communes où l'habitat est étalé, le niveau de contamination varie avec l'altitude : la contamination est plus fréquente et plus intense dans les zones les plus basses. Il varie aussi significativement en fonction de la distance au village et du couvert végétal : la contamination est plus élevée dans les zones loin des habitations et sous couvert végétal. Le suivi de la contamination de l'eau dans les communes de Boulton aux bois et Briquenay (Ardennes) montre que 44% des 191 prélèvements réalisés montrent au moins un puits PCR positif. La proportion de prélèvements positifs est élevée de janvier à avril (61%) puis diminue de mai à août (aucun prélèvement positif, n = 24) et elle dépend aussi des conditions météorologiques. Ces résultats montrent que la contamination environnementale par *T. gondii*, très répandue, est très hétérogène dans l'espace et au fil du temps. Les informations apportées sont essentielles pour comprendre dans quels sites et à quelles périodes le risque d'infestation est maximal pour les hôtes intermédiaires et l'homme.

**Bioaccumulation de *Toxoplasma gondii*  
par la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) :  
application pour la surveillance des milieux aquatiques**

PALOS LADEIRO M.<sup>1</sup>, KERAMBRUN E.<sup>1</sup>, BIGOT - CLIVOT A.<sup>1</sup>, VILLENA I.<sup>2</sup>,  
AUBERT D.<sup>2</sup>, GEFFARD A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR\_I 02 INERIS-URCA-ULH SEBIO, Unité Stress Environnementaux et Biosurveillance des Milieux Aquatiques, Université De Reims Champagne Ardenne, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Campus Du Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, EA 3800, SFR CAP - Santé FED 4231, 51 rue Cognacq-Jay, 51095 Reims Cédex, France.

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire qui pose d'importants problèmes de santé publique, notamment chez les femmes enceintes non immunisées. *T. gondii* peut survivre durant de longues périodes dans l'environnement grâce à sa forme résistante d'oocyste. De récentes études montrent que le toxoplasme se retrouve également dans le compartiment aquatique qui peut représenter une voie de contamination. La détection de *T. gondii* dans l'eau permet difficilement l'évaluation et le suivi du niveau de contamination des milieux, en lien principalement avec les phénomènes de dilution et le comportement des oocystes en fonction des caractéristiques physico - chimiques du milieu.

*Dreissena polymorpha* est un bivalve d'eau douce très utilisé dans les études écotoxicologiques. Elle est considérée comme une espèce sentinelle, tolérante aux pollutions, capable de filtrer et d'accumuler les contaminants de façon représentative de la qualité des milieux. La dreissène apparaît également capable d'accumuler des contaminants biologiques tels que les pathogènes et notamment *T. gondii*. Dans ce contexte, deux expérimentations complémentaires, en conditions contrôlées de laboratoire et in situ, ont été mises en place afin de préciser l'utilisation potentielle de *D. polymorpha* comme support biologique pour quantifier/rechercher *T. gondii* dans un objectif d'évaluation et de suivi de la qualité sanitaire des milieux aquatiques.

Les objectifs des expérimentations au laboratoire étaient de (i) mettre en évidence la capacité des dreissènes à accumuler le toxoplasme et de (ii) localiser leur présence dans l'organisme (organotropisme). Pour ceci, une exposition de 21 jours à une concentration de 1 000 oocystes de *T. gondii* par dreissène et par jour suivie d'une phase de 14 jours de dépuración a été réalisée. Les dreissènes ont été prélevées et disséquées à T0, 1, 7, 14 et 21 jours durant la phase d'exposition et à T28 et 35 jours durant la phase de dépuración. Les organes considérés sont l'hémolymph, les muscles, la glande digestive, les branchies, le manteau et le reste des tissus (principalement la gonade et le pied). Les résultats révèlent la capacité de la dreissène à bioaccumuler *T. gondii* de façon temps - dépendante et préférentiellement dans le manteau et l'hémolymph. De plus, l'ADN du toxoplasme est encore détecté dans les tissus de mollusque après 2 semaines de dépuración.

Une biosurveillance active à l'aide d'encagement des dreissènes a été réalisée pour l'expérimentation *in situ*, permettant ainsi de maîtriser le temps d'exposition des organismes. Les sites d'intérêts représentent des stations d'épuration des eaux usées (STEP) de 5 grandes villes de Champagne - Ardenne et de Picardie. Des cages ont été placées en amont et en aval des stations pendant 1 mois. Les résultats révèlent la présence d'ADN de toxoplasme dans les tissus de certaines dreissènes sur 3 des sites en aval des STEP. Ces résultats restent préliminaires mais soulignent la possible utilisation des dreissènes comme organismes bioindicateurs de la contamination par *T. gondii* des eaux continentales.



## Détection et caractérisation moléculaire d'isolats de *Cryptosporidium* sp. provenant du Nord Liban

OSMAN M.<sup>1</sup>, EL SAFADI D.<sup>1,2</sup>, BENAMROUZ S.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Lille, Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL), Inserm U1019, UMR CNRS 8204, Université Lille Nord de France, Lille, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Microbiologie Santé et Environnement, Centre AZM pour la Recherche en Biotechnologie et ses Applications, Université Libanaise, Tripoli, Liban

<sup>3</sup> Ecologie et Biodiversité, Faculté Libre des Sciences et Technologies de Lille, Université Catholique de Lille, Lille, France

Le genre *Cryptosporidium* (Alveolata : Apicomplexa) comprend des espèces qui infectent le tractus gastro - intestinal ou respiratoire d'un grand nombre de vertébrés y compris l'homme. Ces espèces sont à l'origine d'une maladie opportuniste et cosmopolite, la cryptosporidiose. Celle - ci peut provoquer des diarrhées en général auto - résolutive chez les patients immunocompétents mais pouvant devenir chroniques, voire létales, chez les sujets immunodéprimés, notamment sidéens. Les espèces infectant le plus fréquemment l'homme sont *C. parvum*, infectant aussi les bovins et *C. hominis*. A l'instar de la plupart des pays en développement, le Liban est très touché par les parasitoses intestinales. Cependant, aucune information n'est disponible concernant la situation de la cryptosporidiose dans ce pays. Les études d'épidémiologie moléculaire ont souvent aidé les chercheurs à clarifier les facteurs de risque de transmission à l'homme de micro - organismes pathogènes. C'est pourquoi une étude a été menée visant à déterminer la prévalence et la nature de la diversité génétique du parasite chez l'homme et les bovins. Pour ce faire, un examen microscopique suivi d'une détection moléculaire par PCR nichée ciblant le gène de l'ARNr 18S a été réalisé sur des selles de patients et de bovins originaires du Nord - Liban. Cette étude a permis de mettre en évidence une prévalence de la cryptosporidiose de 9.2% chez des patients symptomatiques, de 10% chez des écoliers et de 7,8% chez des bovins. Deux espèces ont été identifiées dans cette population Libanaise : *C. hominis* (73% des isolats) et *C. parvum* (27%) alors que chez les bovins trois espèces ont été détectées : *C. andersoni* (50%), *C. bovis* (33%) et *C. parvum* (17%). L'étude du polymorphisme génétique des isolats de *C. hominis* et *C. parvum* réalisée à l'aide du marqueur gp60, nous a permis d'identifier trois génotypes de *C. hominis* : IbA10G2, IaA18R3 et IdA19 chez l'homme et deux génotypes de *C. parvum*, IIaA15G1R1 et IIaA15G2R1 chez l'homme comme chez les bovins. Ces derniers sont des génotypes à transmission zoonotique très répandue dans le monde. Nous pouvons ainsi conclure que bien que la prédominance de l'espèce *C. hominis* laisse présager un mode de transmission plutôt anthroponotique, les résultats du génotypage ne permettent pas d'exclure une transmission zoonotique. Ces résultats constituent les premières données épidémiologiques concernant la cryptosporidiose au Liban.

## **Développement d'une méthode standardisée de détection de *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Toxoplasma* dans les matrices alimentaires**

LA CARBONA S.<sup>1</sup>, AUBERT D.<sup>2</sup>, HOUSSIN M.<sup>3</sup>, GARGALA G.<sup>4</sup>, DUMETRE A.<sup>5</sup>, GUYOT K.<sup>6</sup>, FAVENNEC L.<sup>4</sup>, CAZEAUX C.<sup>1</sup>, TRAVAILLE E.<sup>3</sup>, VILLENA I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Actalia Sécurité Des Aliments, Villers Bocage, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, EA 3800, SFR CAP - Santé FED 4231, 51 rue Cognacq-Jay, 51095 Reims Cédex, France

<sup>3</sup> Labeo Frank Duncombe, Caen, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, EA 3800, Université de Rouen, France

<sup>5</sup> Aix - Marseille Université, UMR MD3 Infections Parasitaires, Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, Marseille, France

<sup>6</sup> Institut Pasteur de Lille, EA 3609 Ecologie du Parasitisme, Lille, France

Les protozoaires *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. et *Toxoplasma gondii* sont des agents pathogènes majeurs chez l'homme et les animaux. Les kystes de *Giardia* et les oocystes de *Cryptosporidium* et *Toxoplasma* sont excrétés en grandes quantités dans les selles des hôtes infectés et peuvent conserver leur pouvoir infectieux pendant plusieurs mois dans les sols et dans les eaux. Les matières premières en contact avec de l'eau ou des sols contaminés présentent particulièrement un risque élevé de contamination. Si les données concernant les capacités de résistance de ces parasites dans l'environnement sont disponibles, leur prévalence et leur comportement dans les matrices alimentaires complexes sont mal connus en raison de l'absence de méthodes de détection standardisées. Dans ce contexte, le consortium ANR Protofood a été mis en place afin de développer une stratégie complète permettant l'extraction, la détection et la caractérisation de *Giardia*, *Cryptosporidium* et *Toxoplasma* dans les matrices alimentaires, ainsi qu'une IMS spécifique de *Toxoplasma*. Les systèmes de PCR en temps réel spécifiques sélectionnés ont permis d'atteindre des limites de détection et de quantification d'un parasite sur des suspensions de cellules. Sur les matrices alimentaires, la méthode développée a conduit à des limites de détection de 15 kystes de *Giardia* et de respectivement 10 et 50 à 70 oocystes de *Cryptosporidium* et *Toxoplasma*. La RT - PCR a également été mise en œuvre en tant que méthode alternative prometteuse aux expériences in vivo pour traiter les questions de viabilité. Les méthodes ont été ensuite utilisées pour étudier la persistance des trois parasites à la surface des légumes pendant le stockage et ont permis de montrer qu'ils sont toujours présents et viables après 8 jours à 4 °C. Ces nouveaux outils ouvrent de nouvelles perspectives dans l'évaluation des risques liés à ces pathogènes émergents dans le domaine alimentaire notamment par des études de prévalence dans les différentes matrices alimentaires potentiellement à risque et d'évaluation de l'efficacité des procédés industriels.

## **Evaluation de la prévalence de *Toxoplasma gondii* dans les viandes porcines produites en France : plan de surveillance 2013**

BLAGA R.<sup>1</sup>, DJOKIC V.<sup>1,2</sup>, PERRET C.<sup>1,2</sup>, AUBERT D.<sup>2</sup>, GEERS R.<sup>2</sup>, DUCRY T.<sup>1</sup>,  
DURAND B.<sup>1</sup>, VILLENA I.<sup>2</sup>, BOIREAU P.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Université Paris - Est, Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons - Alfort, UMR BIPAR, Maisons - Alfort, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Centre National de Référence de la Toxoplasmose, Centre de Ressources Biologiques Toxoplasma, CHU Reims EA 3800, SFR CAP - Santé, Université Reims Champagne - Ardenne, Reims, France

L'un des facteurs de contamination de l'homme par *Toxoplasma gondii* est l'ingestion de kystes tissulaires présents dans la viande consommée crue ou peu cuite. La viande porcine, par sa potentielle richesse en kystes tissulaires et par son mode de consommation cru, sous forme de charcuterie, représente une source majeure pour la contamination humaine. Or, bien que la France soit parmi les premiers pays producteurs et consommateurs de viande porcine de l'UE, aucune enquête d'ampleur nationale n'avait été réalisée sur le territoire français. C'est pourquoi un plan de surveillance « toxoplasmose porcine » mené de février à décembre 2013 a été élaboré, visant à estimer la séroprévalence dans les populations porcines abattues issues d'élevages plein air et hors sol, en prenant en compte trois classes d'âge : porcelet, charcutier et reproducteur. Un échantillon de 1549 prélèvements a été collectés dans XX abattoirs, des 8 régions qui produisent collectivement 90% de la production annuelle nationale. Un titrage des anticorps spécifiques contenus dans le fluide musculaire extrait du cœur par la technique d'agglutination directe (ADHS) a été effectué sur tous les prélèvements. Pour les échantillons de fluides s'étant révélés séropositifs, un bio - essai par inoculation à la souris du lysat obtenu après digestion trypsique du cœur a été pratiqué. L'enquête a permis de mettre en évidence une prévalence de 3% pour les porcins ayant été élevés dans un système hors - sol tandis que la prévalence chez les porcins élevés en plein air est de 6.3%. Cette séroprévalence est significativement corrélée à l'âge des animaux mais n'est pas corrélée à la région/département d'abattage ou de naissance. 41 isolats ont été obtenus avec un parasite viable et transmissible à un nouvel hôte. Les souches sont de génotype II. Ce résultat majeur illustre la possibilité de transmission de la toxoplasmose via la viande porcine.

## Le Monogène qui a perdu ses pinces

JUSTINE J.L.<sup>1</sup>, RAHMOUNI C.<sup>1</sup>, GEY D.<sup>1</sup>, SCHOELINCK C.<sup>1</sup>, HOBERG E.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Muséum National d'Histoire Naturelle

<sup>2</sup> USDA

Les ectoparasites sont confrontés à un défi quotidien : rester attachés à leurs hôtes. Les Monogènes *Polyopisthocotylea* s'attachent généralement à la surface des branchies des poissons à l'aide de structures hautement spécialisées, les pinces sclérifiées. Dans la description originale de l'espèce de Protomicrocotylidae *Lethacotyle fijiensis*, il y a 60 ans, les pinces ont été considérées comme absentes, mais peu de spécimens étaient disponibles et cette observation a été plus tard mise en question. En outre, les genres au sein de la famille Protomicrocotylidae ont des pinces soit du type « Gastrocotylidae », soit du type « Microcotylidae » ; cela rendait perplexes les systématiciens parce que ces types de pinces sont caractéristiques de groupes majeurs et distincts. La découverte d'une autre espèce, nouvelle, du genre *Lethacotyle*, nous a permis d'explorer la nature des structures de fixation chez les Protomicrocotylidae. Une nouvelle espèce, *Lethacotyle vera*, a été décrite des branchies de *Caranx papuensis*, une carangue de Nouvelle - Calédonie. Elle se distingue de *Lethacotyle fijiensis*, la seule autre espèce du genre, par la longueur des épines copulatrices mâles. Des séquences de l'ADNr 28S ont été utilisées pour construire un arbre, dans lequel *Lethacotyle vera* était groupée avec d'autres Protomicrocotylidae. L'identité du poisson hôte a été confirmée par des barcodes COI. Nous avons constaté que les Protomicrocotylidae ont des structures spécialisées associées à leur organe de fixation, telles que des volets latéraux et des stries transversales, qui ne sont pas connues chez d'autres Monogènes. Nous avons donc émis l'hypothèse que les pinces, chez les Protomicrocotylidae, ont été perdues de manière séquentielle au cours de l'évolution, ce qui a coïncidé avec le développement d'autres structures de fixation. Pour tester cette hypothèse, nous avons calculé la surface des pinces et du corps de 120 espèces de Monogènes *Gastrocotylinae*, à partir de descriptions publiées. Le plus bas rapport de la surface des pinces sur la surface du corps était chez les Protomicrocotylidae. Nous concluons que les pinces des Protomicrocotylidae sont des organes vestigiaux, et que la présence de pinces du type « Microcotylidae » et du type plus simple « Gastrocotylidae » dans la même famille sont des étapes dans une séquence évolutive, qui a conduit à l'absence de ces attributs chez les espèces de *Lethacotyle*. Je terminerai cet exposé par des remarques sur les anciennes notions de « simplification » des parasites.

## **Parasitisme en milieu aquatique : Relations Amphibiens - Mollusques**

PATRELLE C.<sup>1</sup>, JOUET D.<sup>1</sup>, DELORME D.<sup>2</sup>, PORTIER J.<sup>1</sup>, FERTE H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EA4688 USC Anses « Vecpar », Faculté de Pharmacie, Université de Reims Champagne-Ardenne, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims Cedex, France.

<sup>2</sup> ONCFS – Réserve du Der - Site de Chantecoq

Comprendre les liens entre les changements environnementaux, l'émergence de la maladie chez l'homme et les populations d'espèces sauvages représentent un des plus grands défis pour les écologues et parasitologues. Bien qu'il y ait un intérêt considérable pour les microparasites chez les amphibiens et les conséquences qui peuvent en résulter, très peu de recherches abordent ces questions pour les macroparasites.

C'est dans ce contexte que nous menons depuis plusieurs années au sein de notre équipe une étude visant à observer les parasites présents dans les organismes aquatiques, et plus précisément chez les amphibiens et les mollusques. Un échantillonnage exhaustif de ces deux groupes a été réalisé sur plusieurs sites (étangs et mares) nous permettant d'étudier leurs relations au sein de plusieurs systèmes parasitaires. Pour les amphibiens, plusieurs stades ont été collectés, allant du têtard libre âgé de deux semaines à l'adulte reproducteur. L'isolement des parasites chez les amphibiens a été fait par dissection complétée par une technique de Baermann modifiée, tandis que les mollusques ont été soumis à des tests d'émission pour l'obtention des cercaires. L'identification taxonomique de chaque amphibien, mollusque et parasite a été réalisé en se basant sur des critères morphologiques et/ou sur des analyses moléculaires (domaines de l'ADNr D2 et ITS2, et ADN mitochondrial).

Nous présentons ici nos résultats préliminaires qui semblent indiquer une helminthofaune non totalement partagée entre les différentes espèces d'Amphibiens, des différences en termes de prévalence et de taux d'infestation en fonction des espèces mais aussi des compléments d'informations pour certains cycles de trématodes.

## **De nouvelles espèces hôtes, des parasites oubliés, de nouveaux agents zoonotiques? A propos de deux observations récentes**

FERTE H. <sup>1</sup>, NINIO C. <sup>2</sup>, HESSEMAN M. <sup>3</sup>, FOIS R. <sup>4</sup>, DELHORME T. <sup>5</sup>, YOUINOU A. <sup>2</sup>, PHILIPPE L. <sup>2</sup>, CLERINO K. <sup>4</sup>, JOUET D. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> EA 4688 "Vecpar" UFR de Pharmacie, Université de Reims Champagne-Ardenne

<sup>2</sup> Laboratoire Départemental d'Analyses du Morbihan

<sup>3</sup> Laboratoire Vétérinaire Départemental du Doubs

<sup>4</sup> Laboratoire Vétérinaire Départemental de l'Isère

<sup>5</sup> Fédération Départementale des Chasseurs du Morbihan

En médecine humaine, dans la majorité des cas d'anguillulose le parasite incriminé est *Strongyloides stercoralis*, plus rarement *S. fülleborni*. Si le risque zoonotique a été évoqué ou est controversé pour certaines espèces inféodées aux animaux de rente, qu'en est-il pour d'autres espèces identifiées chez des hôtes faisant partie maintenant de la faune sauvage présente sur le territoire national ?

Si les « boules d'eau » sont bien connues au niveau de la cavité abdominale, adhérentes au niveau du péritoine ou incluses au niveau de certains organes comme le foie chez les lagomorphes ou chez les ongulés (principalement chez les ruminants), la présence de cysticerque au niveau des masses musculaires reste plutôt anecdotique chez les Cervidés. Récemment ces parasites ont été isolés chez un chevreuil et comparés à des observations plus anciennes. A partir de notre collection de matériel acquise dans le cadre de nos activités au sein du réseau de surveillance de la faune sauvage, il nous a été possible rétrospectivement d'identifier le parasite adulte et l'un des hôtes définitifs potentiels sur le territoire national. Ces deux observations de parasites, dont l'incidence en médecine humaine ou même vétérinaire n'est pas qualifiée de majeure, ont pour but de montrer un autre volet de la parasitologie trop rapidement ou partiellement oublié.

## **Evaluation du rôle du chat dans la transmission d'*E. multilocularis* en milieu rural**

UMHANG G.<sup>1</sup>, FORIN - WIART M.A.<sup>2</sup>, HORMAZ V.<sup>1</sup>, CAILLOT C.<sup>1</sup>, BOUCHER J.M.<sup>1</sup>, POULLE M.L.<sup>2</sup>, BOUE F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ANSES LRFSN, LNR Echinococcus spp., Unité de Surveillance et d'éco - épidémiologie des animaux sauvages

<sup>2</sup> URCA CERFE, Laboratoire PROTAL, EA 3800

*Echinococcus multilocularis* est un parasite responsable d'une zoonose grave l'échinococcose alvéolaire. L'Homme se contamine essentiellement par ingestion accidentelle d'œufs émis dans les fèces de l'hôte définitif principal, le renard qui héberge le stade adulte sous forme de vers dans son intestin. Les micromammifères infestés par le stade larvaire sont les hôtes intermédiaires de ce cycle parasitaire sylvatique. Toutefois des carnivores domestiques tels que le chien et le chat peuvent être infestés. Très peu de données sont disponibles sur la prévalence de l'infection par *E. multilocularis* chez le chat. Les résultats d'infestations expérimentales ont amenés à le considérer comme ayant un rôle insignifiant dans la transmission du parasite et d'une importance minime pour la santé publique du au faible nombre de vers qui se développent et à l'absence de confirmation de l'infectiosité des œufs produits. En milieu rural où la population féline est élevée, les prévalences vulpines atteignent 50%. Dans ce contexte, nous avons cherchés à évaluer le rôle potentiel du chat dans la transmission d'*E. multilocularis* sur deux communes hyperendémiques des Ardennes (prévalence locale de 53% chez les renards). Au total, 30 intestins de chats victimes d'accidents et 322 fèces ont été collectées sur le terrain.

L'analyse par SSCT des intestins a permis de mettre en évidence des vers immatures d'*E. multilocularis* chez deux chats (7%). Le même profil microsatellite EmsB des vers a été obtenu chez les deux chats et il correspond à un profil précédemment identifié uniquement dans cette dans cette région. L'analyse des fèces par PCR en temps réel suivie d'une confirmation par pyroséquençage a permis de déterminer une prévalence féline de 2% pour *E. multilocularis*.

Les prévalences d'*E. multilocularis* évaluées chez le chat après analyse des fèces et des intestins apparaissent similaires. Elles sont plus élevées que celles classiquement estimées (<1%) même si une prévalence intestinale de 4% avait déjà été obtenu pour la seule donnée Française enregistrée pour le chat. Comparativement à l'infestation du renard, la proportion du chat infesté reste insignifiante en raison du niveau de la contamination environnementale et de part le faible nombre de vers et d'œufs produits. Si le contact direct est plus important avec le chat qu'avec le renard, la contamination humaine est à nuancer. En effet, les chats ayant un régime alimentaire entièrement basé sur la prédation (sans apport de nourriture anthropique) sont rarement en contact avec l'homme, cependant, ces animaux peuvent être une source de contamination humaine indirecte notamment par la défécation dans des endroits fréquentés par l'homme comme les potagers.

## **Etude des effets d'une régulation des populations de renards sur la présence du parasite *E. multilocularis* autour de Nancy**

COMTE S.<sup>1</sup>, UMHANG G.<sup>2</sup>, RATON V.<sup>1</sup>, BOUCHER J.M.<sup>2</sup>, CAILLOT C.<sup>2</sup>, FAVIER S.<sup>1</sup>, HORMAZ V.<sup>2</sup>, BOUE F.<sup>2</sup>, COMBES B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Entente de Lutte Interdépartementale contre les Zoonoses (ELIZ)

<sup>2</sup> Anses, Nancy

Si la présence du parasite *Echinococcus multilocularis* en France n'est plus une surprise, l'augmentation de son aire de répartition et des prévalences vulpines décrites montre que cette zoonose représente une menace grandissante pour la santé publique.

Le classement, en France, du renard comme une espèce nuisible repose entre autres sur des arguments sanitaires. Ce fut notamment le cas en 2006 où, suite à la découverte de renards porteurs du parasite sur le territoire de l'agglomération de Nancy, la destruction des renards fut demandée par la communauté urbaine. Profitant de ce contexte favorable, un protocole de régulation des populations de renards a été proposé sur quatre ans (2008 - 2012) afin d'évaluer son impact sur la présence du parasite en zone périurbaine.

Dans la moitié nord de la zone d'étude (rayon de 20km autour de la ville de Nancy), dévolue à la régulation, un effort de prélèvements particulier a été demandé. Dans la moitié sud, zone témoin, aucune modification des pratiques cynégétiques n'a eu lieu. Tous les renards tués ont été ramenés au laboratoire de l'Anses - Nancy. Le sexe, le poids, l'âge et le nombre de cicatrices placentaires ont été enregistrés. Chaque année, des comptages nocturnes au phare étaient effectués pour suivre l'évolution démographique des populations dans les deux zones. En parallèle, d'octobre à avril, un prélèvement homogène était réalisé sur l'ensemble de la zone d'étude. Une recherche de vers adultes d'*E. multilocularis* était alors effectuée (méthode SSCT) sur les intestins ainsi récoltés permettant de suivre l'évolution de la prévalence chez le renard sur les deux zones.

Au total, 884 renards ont été récoltés dans la zone nord de l'étude. Malgré cet effort important, aucune baisse des populations n'a pu être obtenue. En revanche, là où la prévalence est restée stable en zone témoin (42.0%,  $p=0.980$ ), elle a fortement varié dans la zone régulée. Après une légère baisse la première année (de 39.7% à 29.0%,  $p=0.375$ ), la prévalence a significativement augmenté pour dépasser largement les niveaux de départ (55.4%,  $p=0.047$ ). Aucune modification de la structure de population (âge, sex - ratio, poids, reproduction) n'a pu être mise en évidence.

Néanmoins, la régulation n'ayant pas été homogène sur l'ensemble de la zone d'étude, il a été possible de définir un foyer plus fortement régulé. Les premières comparaisons tendent à montrer une plus forte amplitude de variation de prévalence dans ce foyer, cette dernière y atteignant 65.2% à la fin de l'étude. On y retrouve également une plus forte proportion de juvéniles (moins de 10 mois) que dans le reste de la zone régulée et la zone témoin. Ces derniers sont connus pour être plus sensibles au parasite et présentent souvent des charges parasitaires plus élevées que les renards adultes.

Ces résultats montrent que non seulement il est difficile de réduire les populations de renards sur un grand territoire, mais que les effets de telles campagnes peuvent avoir des répercussions négatives pour la santé publique en favorisant la présence de parasites intestinaux. Des solutions alternatives devraient être privilégiées à l'avenir.



## **Anguillulose maligne en fin de grossesse : Guérison par Ivermectine injectable à usage vétérinaire**

DECONDE LE BUTOR C.<sup>1</sup>, POMARES C.<sup>1,2</sup>, COLLOMP R.<sup>3</sup>, MALEZIEUX A.<sup>4</sup>, SAINT PAUL M.C.<sup>5</sup>, DELLAMONICA J.<sup>6</sup>, QUEYREL-MAURANNE V.<sup>4</sup>, MARTY P.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie-Mycoologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, France

<sup>2</sup> Université de Nice Sophia Antipolis, INSERM U1065, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, C3M, Nice, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Soins Pharmaceutiques et de Santé Publique, Pôle Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, France

<sup>4</sup> Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, France

<sup>5</sup> Laboratoire Central d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, France

<sup>6</sup> Réanimation Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, France

Mme K, 32 ans, enceinte de 30 semaines d'aménorrhée (SA) est admise le 04/10/2013 dans le service de gynécologie du CHU de Nice pour douleurs abdominales, vomissements, asthénie et anorexie évoluant depuis une semaine. Elle est originaire du Burkina Faso. Son dernier séjour dans son pays natal date de 2008. Cette patiente est connue pour une hépatite B chronique active diagnostiquée en 2007, traitée par Viread®. Une anguillulose a été diagnostiquée sur biopsie duodénale et traitée par Albendazole en Janvier 2012.

A l'admission elle est apyrétique, présente des contractions utérines et signale une perte de poids de 5kg en une semaine. Il n'y a pas de syndrome inflammatoire biologique. Un lavement est administré et permet la reprise du transit et l'atténuation des douleurs abdominales. L'absence d'étiologie et l'amélioration symptomatique autorisent le retour à domicile. Cependant, le soir même elle consulte aux urgences gynécologiques du CHU de Nice pour contractions utérines avec anomalies du rythme cardiaque fœtal nécessitant un accouchement par césarienne en urgence le 17/10/2013 à 32SA.

Devant la persistance des douleurs abdominales, une fibroscopie est réalisée le 23/10/2013 en Médecine Interne. Elle met en évidence une duodénite nécrosante et la présence d'adultes, de larves et d'œufs de *Strongyloides stercoralis*. Un scanner abdominal révèle une gastroparésie et un aspect d'occlusion grêlique. Un traitement par Ivermectine per os est débuté, mais 24h après la patiente présente un syndrome de lyse avec détresse respiratoire nécessitant un transfert en réanimation le 26/10/2013.

A l'entrée en réanimation, la patiente est dyspnéique avec une désaturation à 85%, un tirage inspiratoire et des crépitations bilatéraux à l'auscultation. Un scanner thoracique élimine une embolie pulmonaire. Sur le plan digestif, l'abdomen est tendu, douloureux en état occlusif. La pose d'une sonde naso - gastrique ramène 950ml d'un liquide brun contenant de nombreuses larves rhabditoïdes d'anguillule. La stase gastrique et le syndrome occlusif empêchent la diffusion du traitement per os. Le pronostic vital de cette patiente étant engagé, il est décidé, avec l'accord de son conjoint, d'instaurer un traitement par Ivermectine injectable, forme habituellement d'indication vétérinaire (bovine) : la patiente recevra 3 injections SC de 10mg les 2, 3 et 4/11/2013. L'amélioration de la symptomatologie est rapide avec une régression des signes pulmonaires puis digestifs. La reprise du transit permet le retour à la forme per os de l'Ivermectine : 3mg/j. Devant ce tableau d'anguillulose maligne sans facteur de risque apparent autre que l'immunodépression relative induite par la grossesse, une sérologie HTLV1 est prescrite et s'avère positive. L'obtention de 2 examens parasitologiques des selles négatifs les 8 et 12/11/2013 permettent l'arrêt du traitement le 15/11/2013. Une surveillance parasitaire hebdomadaire des selles avec technique de Baermann a été instaurée pendant un mois afin de prévenir une éventuelle récurrence. Celles - ci ont toujours été négatives jusqu'à la dernière le 06/04/2014 soit presque 6 mois après le traitement par Ivermectine injectable.

Au total, si l'association anguillulose maligne - HTLV1 est connue, il n'a pas été retrouvé par une revue de la littérature, de cas d'anguillulose maligne déclenchée en fin de grossesse. De plus, l'efficacité de l'Ivermectine injectable est à retenir devant tout tableau d'occlusion intestinale.

## **Les phlébotomes cavernicoles**

LEGER N., DEPAQUIT J.

USC VECPAR, ANSES - LSA, EA 4688, SFR Cap Santé, Université de Reims Champagne - Ardenne, UFR Pharmacie, Reims, France

L'étude de la faune hypogée est toujours pleine d'enseignements aussi bien pour le systématique (descriptions d'espèces nouvelles, individualisation de plésiomorphies) que pour l'épidémiologiste (incrimination de vecteurs potentiels et de réservoirs de virus), notamment dans les régions de forte endémicité telles que Madagascar et le tracé oriento-australasien. Nous présentons ici le résultat de nos piégeages dans ces deux régions, nos réflexions sur l'origine des espèces (une vingtaine de n.sp.) et des genres de Phlébotomes que nous y avons décrits depuis une quinzaine d'années ainsi que les conséquences sur la paléontologie et la cladistique des Phlébotominae.

## **Borréliose de Lyme : Surveillance du vecteur *Ixodes ricinus* en Alsace en 2012 et 2013**

GOLDSTEIN V.<sup>1</sup>, JAULHAC B.<sup>2</sup>, GEORGE J.C.<sup>2</sup>, ZILLIOX L.<sup>2</sup>, DELENA C.<sup>2</sup>,  
FERQUEL E.<sup>3</sup>, BOULANGER N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EA 7290: Virulence Bactérienne Précoce

<sup>2</sup> CNR Borrelia

<sup>3</sup> Institut Pasteur

La borréliose de Lyme est une pathologie transmise par la tique dure du genre *Ixodes* spp. En Alsace, zone particulièrement endémique, le stade nymphal de la tique *I. ricinus* est le plus à risque pour l'Homme dans la transmission de cette maladie. L'évaluation du risque de borréliose de Lyme en Alsace passe par l'analyse de la densité en nymphes qui est la stase la plus à incriminer dans la transmission.

En 2012, les sites de collecte ont été choisis en fonction de leur localisation géographique, de l'activité humaine qui s'y déroule ou selon des données bibliographiques mentionnant l'intérêt du site pour la surveillance vectorielle. Nous avons ainsi sélectionné 18 sites différents à travers l'Alsace, afin de définir des zones à risque en fonction des biotopes (zone de plaine et d'altitude) et en fonction de l'activité humaine (zone de loisirs, zone de travail forestier, zone péri-urbaine). Nous avons aussi prélevé dans les cantons de Guebwiller et de Munster car ce sont les deux cantons les plus endémiques pour la borréliose de Lyme selon les données disponibles de 2003-2004 (CNR Borrelia, Institut Pasteur de Paris).

Les tiques collectées en 2012 sur l'ensemble de l'Alsace (n=2784) ont été traitées pour la recherche de *Borrelia burgdorferi sensu lato* avec amplification du gène fla B par technologie de PCR en temps réel, fla B étant une cible commune à toutes les espèces de *B. burgdorferi sensu lato*. Les pourcentages d'infection des nymphes à *B. burgdorferi* s. l. ont été comparés entre les sites de collecte grâce à un test du Chi2 ou un test exact de Fisher. La densité des nymphes en 2012 était de 22 nymphes/100m<sup>2</sup>, 90% des sites avait une densité inférieure à 122 nymphes/100m<sup>2</sup>. Le taux moyen d'infection des nymphes en Alsace était de 6,6 %. Les taux variaient de 4,5% à 13,6%.

En 2013, des sites péri-urbains et des sites plus éloignés des zones urbaines ont été collectés de façon mensuelle. De plus, afin de comparer les sites prélevés par l'Institut Pasteur de Paris en 2003-2004, les sites de Dannemarie, Guebwiller et Munster ont été prélevés à nouveau en 2013 avec la même méthodologie que celle employée à l'époque. Les résultats montrent que le pic d'activité des *I. ricinus* se produit en mai-juin. La comparaison des densités 10 ans après montrent que pour certains mois et certains sites, la densité en nymphes en 2013 est statistiquement plus faible que celles obtenues en 2004. L'analyse montre aussi que les sites à proximité du continuum urbain ont des densités en nymphes inférieures à celles observées pour les sites non péri-urbains. L'analyse des données de 2013 montrent aussi que des facteurs environnementaux comme la température au sol et l'hygrométrie au sol sont des paramètres importants pour le comportement de recherche d'hôte par les tiques.

## Détermination de la persistance de *Bartonella henselae* chez *Ctenocephalides felis*

BOUHSIRA E., LIENARD E., JACQUIET P., BOULOUIS H., FRANC M.

ENVT-Service de Parasitologie

*Ctenocephalides felis* est une espèce de puce cosmopolite parasitant majoritairement les carnivores domestiques. Elle est vectrice de nombreux agents pathogènes zoonotiques dont *Bartonella henselae*, bactérie intracellulaire facultative et agent responsable de la Maladie des Griffes du Chat. La transmission de cette bactérie entre chats et du chat à l'homme se fait principalement par le biais des déjections de puces contaminées.

Un système de gorgement sur membrane d'un premier nourrisseur contenant du sang contaminé par *B. henselae* a permis d'obtenir des puces *C. felis* infectées par cette bactérie. Puis, les puces ont été nourries sur un deuxième nourrisseur contenant du sang indemne de bartonelles. La persistance de cette bactérie chez les puces et son excrétion dans les déjections ont été suivies par PCR quantitative pour toute la durée de survie des puces sur le nourrisseur artificiel contenant le sang sain. Dans ces conditions expérimentale, l'ADN de *B. henselae* a été détecté dans les puces et leurs fèces pendant les 13 jours de survie des puces.

## Investigation moléculaire de 40 espèces de *Culicoides* Latreille (Diptera : Ceratopogonidae) à travers trois Continents

AUGOT D.<sup>1</sup>, MATHIEU B.<sup>2</sup>, BARRIEL V.<sup>3</sup>, DELECOLLE J.C.<sup>2</sup>, ZAPATA MENA S.<sup>4</sup>,  
SMOLIS S.<sup>1</sup>, SLAMA D.<sup>5</sup>, RANDRIANAMBININTSOA F.<sup>6</sup>, TRUEBA G.<sup>4</sup>, RAHOLA N.<sup>7</sup>,  
DEPAQUIT J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> USC VECPAR, ANSES - LSA, EA 4688, SFR Cap Santé, Université de Reims Champagne - Ardenne, UFR Pharmacie, Reims, France

<sup>2</sup> Institut de Parasitologie et de Pathologie Tropicale de Strasbourg, EA7292, Université de Strasbourg, France

<sup>3</sup> Muséum National d'Histoire Naturelle, Département d'Histoire de la Terre, UMR 7207, France

<sup>4</sup> Microbiology Institute, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador

<sup>5</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, 99UR/08 - 05, Département de biologie clinique, Faculté de Pharmacie de Monastir, Tunisia

<sup>6</sup> Faculté des Sciences, Département de Biologie Animale, Université d'Antananarivo, Madagascar

<sup>7</sup> MIVEGEC, IRD 224, CNRS 5290, CIRMF, Université Montpellier 1, Université Montpellier 2, Montpellier, France

Les *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) sont impliqués dans la transmission de plusieurs pathogènes. En santé humaine, ils sont les vecteurs notamment de filaires, de virus comme Oropouche. En sante vétérinaire, ils sont vecteurs de nombreuses maladies animales, comme la fièvre catarrhale ovine, la peste équine, la maladie hémorragique des cervidés ou le virus Schmallenberg. Le genre *Culicoides* comprend près de 1400 espèces dans le Monde, classées en 39 sous genres, en groupe d'espèces et en espèces non groupées. La classification actuelle est exclusivement typologique basée sur des ressemblances morphologiques sans aucune considération phylogénétique. Nous présentons ici la première étude phylogénétique du genre *Culicoides*. Les 40 taxons étudiés, appartenant à 13 sous-genres et 5 groupes non classés, capturés en Equateur, en France, au Gabon, à Madagascar et en Tunisie, ont été identifiés sur la base de caractères morphologiques et une étude moléculaire a été effectuée en utilisant deux marqueurs : le gène cytochrome C oxydase I de l'ADN mitochondrial et les domaines divergents D1 et D2 de la sous - unité 28S de l'ADN ribosomal. L'analyse moléculaire a été faite en concaténant les deux marqueurs. Il ressort que les sous-genres *Avaritia*, *Culicoides*, *Haematomyidium*, *Hoffmania*, *Monoculicoides* et *Remmia* sont monophylétiques tandis que le sous-genre *Oecacta* apparaît paraphylétique. La grande distribution géographique et l'importance économique des espèces vectrices d'agent pathogènes soulignent le besoin de clarifier la systématique du groupe.

## **Les *Culicoides* :** **Revue des techniques d'identification et intérêt en épidémiologie**

HADJ - HENNI L., DEPAQUIT J., AUGOT D.

Usc Vecpar, ANSES - LSA, EA 4688, SFR Cap Santé, Université de Reims Champagne - Ardenne, UFR Pharmacie, Reims, France.

Les *Culicoides* sont de petits moucheron généralement hématophages de 0,5 à 4 mm de long. Leur cycle de développement comprend plusieurs stades : œuf, quatre stades larvaires et les adultes. Environ 1400 espèces ont été décrites. Le genre est distribué dans le Monde entier à l'exception de l'Antarctique, du niveau de la mer jusqu'à 4200 m d'altitude (au Tibet). Seulement une petite proportion des espèces de *Culicoides* transmet des agents pathogènes. Parmi ces agents, les plus importants affectent la santé animale : virus de la fièvre catarrhale ovine, de la peste équine, de la maladie hémorragique des cervidés, d'Akabane, de l'encéphalite équine et Schmallenberg. D'autres, tel le virus Oropouche touchent l'Homme: La détermination des espèces du genre *Culicoides* repose essentiellement sur des critères morphologiques comme les taches alaires, les palpes (et leurs fossettes sensorielles), les antennes (et leurs sensilles coeloconiques), ...etc.

Notre exposé relate les différentes techniques d'identification des espèces en fonction de leurs contraintes (rapidité ou chronophagie, coût) actuelles (examen à la loupe binoculaire, analyses morphométriques et microscopiques, biologie moléculaire,) en présentant les limites et les avantages de chacune en systématique et en épidémiologie. La place et le développement des nouvelles techniques (MALDI - TOF) et morphométrie alaire sont discutés.

# Variation génétique des populations de punaises de lit (*Cimex lectularius*) en France métropolitaine.

AKHOUNDI M.<sup>1</sup>, CANNET A.<sup>2</sup>, KENGNE P.<sup>3</sup>, BRENGUE C.<sup>3</sup>, IZRI A.<sup>4</sup>, BERENGER J.M.<sup>5</sup>, MARTY P.<sup>1,2</sup>, FONTENILLE D.<sup>3</sup>, DELAUNAY P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie-Mycologie, Hôpital de l'Archet, Centre Hospitalier Universitaire de Nice. France

<sup>2</sup> Inserm U1065, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, Université de Nice - Sophia Antipolis, France

<sup>3</sup> UMR - MIVEGEC (Maladies Infectieuses et Vecteurs), IRD, 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France

<sup>4</sup> Service de Parasitologie - Mycologie, Hôpital Avicenne, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Bobigny, France

<sup>5</sup> URMITE, Faculté de Médecine, Aix Marseille Université, France

**Introduction** La punaise de lit (*Cimex lectularius*) est un insecte hématophage, vivant quasi exclusivement au dépend de l'homme. Depuis les années 1990, il est observé une recrudescence des nuisances liées à cet insecte au niveau mondial. La France et ses villes touristiques ne sont pas épargnées. Bien que son rôle vectoriel ne soit pas encore clairement démontré, l'inconfort physique et psychologique dû à ses piqures est un véritable problème de santé publique. On assiste à l'augmentation de la propagation de ces punaises de lit dans les logements privés ou publics, riches ou pauvres, sans que l'on puisse avoir des explications précises sur la dynamique des populations. La connaissance des flux de gènes pourraient permettre de mieux cerner les processus de dispersion. Face à cette situation, le CHU de Nice, dans le cadre d'un PHRC, a capturé des punaises dans différentes villes de France puis en collaboration avec l'IRD, a mis en place une étude sur la génétique de population de cet insecte.

## Objectifs

- Analyser la structure génétique des populations de *C. lectularius*
- Evaluer la capacité de dispersion et les éventuelles sources de ré - infestation à travers la France.

Cette étude a été réalisée sur 300 individus provenant 18 sites de collecte principalement sur Nice, Aix en Provence et Bobigny. Dix locus microsatellites ont été analysés à l'aide des différents logiciels de génétique de population (GDA, Genepop, FSTAT...).

## Résultats

- Un écart par rapport aux attentes de Hardy - Weinberg n'a été observé que pour trois locus dans tous les échantillons de la population (probablement en raison de la présence d'allèles nuls).
- Le nombre moyen d'allèles par locus variait de 3 à 11 avec une moyenne de 8.1.
- L'hétérozygotie était élevée pour toute la population, avec une moyenne de  $HE=0.621$ ,  $HO=0.172$ .
- La comparaison par paire de  $F_{st}$  entre les 18 populations variait de 0.1 à 0.67 (moyenne=0.52) avec un niveau statistiquement significatif ( $p>0.05$ ).

## Conclusion

- Le présent travail suggère que la population de Nice et des autres villes ont chacune une unité de reproduction.
- Considérant la situation géographique des différents endroits de collecte, il semble peu probable que les punaises de lit se dispersent de proche en proche.
- Ces premiers résultats de la « corrélation spatiale des analyses » indiqueraient qu'il existe une structuration détectable par la distance entre les villes de France.
- Cette étude, encore en cours, est la première à aborder la dynamique d'infestation de *C. lectularius* dans des bâtiments par des marqueurs haute résolution (marqueurs microsatellites) en France.

## Données actuelles du CNR sur le Paludisme en France en 2013

HOUZE S.<sup>1</sup>, PRADINES B.<sup>2</sup>, MUSSET L.<sup>3</sup>, THELLIER M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> CNR du Paludisme, AP-HP Hôpital Bichat, Paris

<sup>2</sup> CNR Paludisme, IRBA, Marseille

<sup>3</sup> CNR Paludisme, Institut Pasteur, Cayenne

<sup>4</sup> CNR Paludisme, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris

En 2013, le CNR du paludisme a collecté 2171 cas de paludisme en France métropolitaine, ce qui conduit à estimer le nombre total de cas à 4100 annuels, soit une augmentation de 14% par rapport à 2012. Les cas sont essentiellement contractés en Afrique sub - saharienne (96%). L'espèce *P. falciparum* est l'espèce majoritaire (88%) suivie par *P. ovale*. L'augmentation des cas est due pour partie à plus de cas en provenance de certains pays africains : cette épidémiologie est fortement influencée par les conditions géo - politiques locales qui incitent ou non les voyages à destination de ces pays. Le nombre de cas en provenance des Comores reste faible. Le nombre de cas graves continue de progresser (+2%) mais le nombre de décès reste stable, 10 en 2013. Les recommandations du HCSP sur l'emploi de l'artésunate comme traitement de première intention sont bien suivies.

Les données sur l'évolution des chimiorésistances de *P. falciparum* confirment les recommandations de chimioprophylaxie avec l'ensemble du continent africain dans le groupe 3. Les cas observés sont dans la quasi - totalité des cas en relation avec le non - respect des recommandations prophylactiques. L'analyse des données des CI50 obtenues in vitro et des marqueurs moléculaires de résistance n'a pas mis en évidence d'arguments pour une diminution des sensibilités aux thérapeutiques antipaludiques actuelles, que ce soit l'association atovaquone - proguanil ou les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA). L'association atovaquone - proguanil reste le premier traitement prescrit pour le traitement des accès palustres simples, suivie par les CTA en deuxième position.

Les rares cas d'échecs thérapeutiques rapportés au CNR après traitement par atovaquone - proguanil sont associés à l'émergence d'un isolat résistant à l'atovaquone, ce qui contre - indique l'utilisation de ce traitement pour la prise en charge de l'échec thérapeutique. Le CNR du paludisme remercie l'ensemble de ses correspondants dont l'implication permet l'obtention des données présentées.



## **Prise en charge de la gale humaine dans la région PACA - Est.**

HERISSE A.L.<sup>1</sup>, CHIAVERINI C.<sup>1,2</sup>, HUBICHE T.<sup>3</sup>, DEL GIUDICE P.<sup>3</sup>, LACOUR J.P.<sup>2</sup>, MARTY P.<sup>2</sup>, DELAUNAY P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hôpitaux Pédiatriques de Nice CHU - Lénval

<sup>2</sup> Hôpital l'Archet 2 Nice

<sup>3</sup> Hôpital CHI Fréjus-St Raphaël

La gale est une parasitose cutanée contagieuse et cosmopolite due à *Sarcoptes scabiei hominis*. A l'heure actuelle, de nombreux cas sont rapportés dans la région Provence Alpes Côte d'Azur Est (PACA Est) notamment dans les collectivités (crèches, écoles, lycées, maison de retraite, etc).

Une étude épidémiologique observationnelle prospective multicentrique dans les Centres Hospitaliers de Nice et Fréjus - St Raphaël a été réalisée pendant six mois (novembre 2012 à mai 2013).

Son objectif principal a été de décrire les différentes causes d'échec thérapeutique de la gale dans la population pédiatrique.

L'objectif secondaire a été d'évaluer les facteurs de risque favorisant cet échec.

Chacun des 50 enfants inclus a été suivi au minimum un mois, pour évaluer la réponse thérapeutique. Les inclusions ont été réalisées par six médecins, tous spécialistes de la gale.

Le suivi des patients à J30 puis à J60 permet de guérir 75% des patients. Les 25% restants se partagent en 15% de patients non compliant aux recommandations et 10% de perdus de vue.

Notre étude montre que les causes d'échec thérapeutiques de la gale sont : le jeune âge (moins de 4 ans), l'inobservance thérapeutique, le cas source inconnu, les gales compliquées (eczéma, impétigo) et les familles avec parents séparés. L'entourage proche supérieur à 4 personnes, le nombre de personnes symptomatiques supérieur à 2, la précarité et le jeune âge (moins de 4 ans) sont les principaux facteurs de risque d'échec thérapeutique quel que soit la situation initiale de prise en charge du patient.

Le suivi des patients consultant pour gale à un mois est nécessaire pour optimiser la prise en charge. Les traitements du cas index et de l'entourage proche sont indissociables pour obtenir la guérison, aspects thérapeutiques trop souvent négligés par le patient et le médecin.

## **Les foyers de leishmaniose du sud de la France : étude génotypique des souches de *Leishmania infantum***

POMARES C.<sup>1</sup>, JEDDI F.<sup>2</sup>, PRATLONG F.<sup>3</sup>, BANULS A.L.<sup>4</sup>, HIDE M.<sup>4</sup>, PIARROUX R.<sup>2</sup>,  
MARTY P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Université de Nice Sophia Antipolis, INSERM U1065, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, C3M, Nice, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU Timone, UMR MD3 Aix - Marseille, Université, Marseille, France

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

<sup>4</sup> Montpellier Université 1, UMR MIVEGEC (CNRS 5290/IRD 224/UM1/UM2), Montpellier, France

<sup>5</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU Timone, UMR MD3 Aix - Marseille, Université, Marseille, France

La leishmaniose à *Leishmania infantum*, endémique dans le Sud de la France, a pour principales victimes les chiens. Chez l'homme, le portage asymptomatique, la leishmaniose viscérale (LV), beaucoup plus rarement la leishmaniose cutanée (LC) et cutané - muqueuse (LCM) sont les expressions cliniques retrouvées. Dans la région Provence Alpes Côte d'Azur, deux foyers se différencient au plan éco - épidémiologique (le foyer provençal et le foyer des Alpes - Maritimes) alors que les hôtes et les vecteurs impliqués dans le cycle sont identiques. Le zymodème MON - 1 est le plus fréquemment retrouvé et ne permet pas de mettre en évidence de différences entre les souches. Afin de comparer les populations, les génotypes des souches issues de ces 2 foyers ont été étudiés par les microsatellites. Ainsi, les différences et les échanges génétiques entre les populations de souches ont été analysés.

Deux cent soixante-treize souches isolées entre 1978 et 2011 ont été génotypées avec 86 souches isolées au CHU de Marseille, 187 souches isolées au CHU de Nice. Les données épidémiologiques connues à ce jour retrouvent : 89 souches de LV du sujet VIH positif, 69 souches de LV sans facteur de risque retrouvé, 53 souches de LV de l'enfant, 12 souches de LC, 4 souches de LCM, 10 souches de LV sur un terrain immunodéprimé autre que VIH. Des souches isolées de porteurs asymptomatiques (9 souches), 19 souches de chiens et 1 souche de chat ont aussi été étudiées.

Les souches conservées à la cryobanque du Centre National de Référence des Leishmanies (CNRL) ont été remises en culture. L'ADN a été extrait par le QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen®). Les PCR ont été réalisées avec la Taq Polymerase Roche (Roche Diagnostics, France). Le génotypage a été effectué en utilisant 12 marqueurs microsatellites : LIST7021 ; LIST7026 ; LIST7031 ; LIST7033 ; Li22 - 35 ; Li45 - 24 ; Li71 - 5/2 ; LiBTa ; LiBTG ; Rossi2 ; TubCA ; LIST7025. Les profils microsatellites ont été analysés avec le logiciel GeneMapper (Applied Biosystems) et les données ont été analysées par les logiciels Fstat et Genetix.

Pour les 273 souches étudiées, 119 génotypes différents ont été retrouvés. Pour les souches issues du foyer des Alpes - Maritimes 67 génotypes différents ont été mis en évidence et pour les souches issues du foyer provençal 52 génotypes différents ont été retrouvés. Pour le foyer provençal, 1 seul génotype est commun à plus de 5 souches, tandis que pour le foyer des Alpes - Maritimes 9 génotypes sont communs à plus de 5 souches. Sur l'ensemble des génotypes, les foyers des Alpes - Maritimes et provençal ont seulement 5 génotypes en commun et il existe une différenciation génétique importante entre les souches issues du foyer provençal et des Alpes - Maritimes ( $F_{st} = 0.2167$  avec  $p = 0.01667$ ). L'étude de la différenciation génétique des souches issues du foyer des Alpes - Maritimes et du foyer provençal ne retrouve pas de différence génétique dans le temps entre 1978 et 2011. On observe aussi très peu d'échanges génétiques entre les souches issues de ces 2 foyers ( $N_m = 0.90$ ).

Si les 2 foyers étudiés sont différents en termes d'environnement associé au risque de transmission de leishmaniose, ils sont aussi très différents quant aux populations de souches qui y sont transmises. Il existe une grande stabilité dans le temps de ces 2 foyers et l'on constate qu'ils sont indépendants l'un de l'autre car il n'y a très peu d'échanges génétiques entre ces 2 foyers.

## **La leishmaniose viscérale infantile en Tunisie : Facteurs de pronostic, évolution sous traitement et apport de la qPCR dans la prise en charge**

AOUN K.<sup>1</sup>, HABBOUL Z.<sup>2</sup>, AISSI W.<sup>1</sup>, BENHELEL K.<sup>2</sup>, BENSGHAIER I.<sup>1</sup>,  
BOUZAIENE A.<sup>2</sup>, BOURATBINE A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Tunis

<sup>2</sup> Hôpital de Kairouan

La leishmaniose viscérale infantile (LVI) est un problème de santé important en Tunisie à cause d'une morbidité et d'un coût élevés. L'objectif de ce travail est d'en étudier les facteurs de pronostic, l'évolution sous Antimoniote de Méglumine (MA) ainsi que l'apport de la PCR quantitative dans le diagnostic et la prise en charge.

Deux cent treize patients ont été recrutés à l'hôpital régional de Kairouan entre 2004 et 2012. L'âge a varié de 2 mois à 13 ans (médiane de 18 mois). Les signes cliniques étaient dominés par la splénomégalie (97,6%), la fièvre (85,9%) et l'hépatomégalie (46%). L'anémie (89,7%), la thrombopénie (80,3%) et l'accélération de la VS (78,5%) étaient les principales perturbations biologiques associées.

La sensibilité du myélogramme était de 85,3% (116/136). Celle de la PCR en temps réel sur le sang (ciblant l'ADN kinétoplastique) de 100% (142/142) ; Les charges parasitaires ont varié de 12 à 494300 p/ml. La culture sur milieu NNN était positive dans 68,1% des cas (64/94). Les 58 isolats identifiés correspondaient tous à *Leishmania infantum*.

Le suivi sous MA a permis de répartir les patients en guéris (n=193), «résistants» (n=4), rechutes après amélioration initiale (n=5) et décès (n=11 dont 2 avant traitement; 5,2%). Les facteurs associés au mauvais pronostic étaient le jeune âge (p=0,05), le syndrome hémorragique (0,002), l'anémie profonde (0,015), la thrombopénie sévère (0,003) et la cytolysé hépatique (0,023).

Une PCR de fin de traitement a été pratiquée chez 92 patients. Elle a montré une baisse fortement significative de la CP (supérieure à 99% chez 96,6% patients; p<0,001) devenant nulle chez 41 patients. Dans 4 cas d'échec thérapeutique, la CP n'a que faiblement baissé ou est restée élevée malgré une chute conséquente.

L'amélioration du pronostic de la LVI passerait par la réduction des délais de diagnostic souvent à l'origine de tableaux clinico-biologiques graves. La qPCR est doublement utile dans la prise en charge; Elle simplifie et améliore le diagnostic tout en offrant un critère objectif de suivi de l'efficacité du traitement.

# **Epidemic outbreak of cutaneous leishmaniasis in Kohat, Khyber Pakhtunkhawa Province, Pakistan : First molecular characterization of *Leishmania* species**

KASBARI M.<sup>1</sup>, HUSSAIN M.<sup>2</sup>, AYAZ S.<sup>2</sup>, ANEES M.<sup>2</sup>, RAVEL C.<sup>3</sup>, BERRICH M.<sup>1</sup>,  
BOIREAU P.<sup>1</sup>

1 ANSES, Laboratoire de Santé Animale, Maisons - Alfort, France

2 Kohat University of Science and Technology, Kohat, Pakistan

3 CNR Leishmania, Université de Montpellier, Montpellier, France

Cutaneous leishmaniasis (CL) is endemic in all the four provinces of Pakistan particularly in Khyber Pakhtunkhawa (KPK) province which shares 2300 kms long border with Afghanistan, one of the largest endemic foci of CL in the world. The most CL endemic districts of this province are Kohat and Dir due to presence of afghan refugee camps and large number of internal displaced people (IDPs).

Currently, CL is a major and fast increasing public health problem, both among the Afghan refugees and the local Pakistani population.

Previous data have suggested presence of *L. tropica* on the basis of clinical form of lesions but no confirmation molecular studies were available in this north - western province.

During an epidemic outbreak of anthroponotic cutaneous leishmaniasis (ACL) in Kohat district, a large - scale epidemiologic study was carried out from May 2010 to May 2011 to determine the prevalence and molecular diagnosis of the CL in local population. 26250 individuals were surveyed in 15 different villages of Kohat district. A total of 1359 cases (CL) were identified and 300 skin biopsies and Giemsa stained slides were collected and selected randomly for molecular investigation.

The total prevalence of ACL in local population was found to be 5.17%, with active lesions and scar prevalence of 3.91% and 1.26% respectively. Age wise prevalence was highest in age group 1 to 15 years. The microscopic examination was positive for 193 (64.3%) samples while polymerase chain reaction (PCR) was positive for 254 (84.6%).

*Leishmania* species characterization by ribosomal internal transcribed spacer 1 (ITS1) amplification and subsequent restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis, confirmed the presence of *Leishmania tropica* in 97% of samples but also identified, for the first time, *Leishmania major* in 3% of positive samples.

This study reveals a two - fold increase of CL prevalence within the Kohat district autochthonous population since 2004. Previous ACL interventions in the study areas in Pakistan were funded by the United Nations High Commissioner for Refugees (UNHCR) and mainly focused on Afghan refugees. We here highlight the urgent need of a regional / national leishmaniasis (vectors and reservoirs) control program, not only in refugees or IDPs camps but in all surrounding villages as well. Otherwise, the epidemic could continue its spread through all the country.

## **Lorsque l'enfant paraît ... ou l'histoire d'une infection congénitale solognote improbable**

DESOUTBEAUX G.<sup>1,7</sup>, MAAKAROUN-VERMESSE Z.<sup>2</sup>, LANOTTE P.<sup>3</sup>, CHAUSSADE H.<sup>2</sup>, PEREZ-SIMARRO P.<sup>4</sup>, LAULIER D.<sup>3</sup>, BAILLY E.<sup>1</sup>, SUC A.C.<sup>5</sup>, GUENNOC A.M.<sup>6</sup>, DE TOFFOL B.<sup>6</sup>, GOUDEAU A.<sup>3,10</sup>, BERNARD L.<sup>2,7</sup>, PARIS L.<sup>8</sup>, LABARTHE F.<sup>9</sup>, CHANDENIER J.<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup> CHU de Tours, Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale

<sup>2</sup> CHU de Tours, Médecine Interne et Maladies Infectieuses

<sup>3</sup> CHU de Tours, Bactériologie

<sup>4</sup> OMS

<sup>5</sup> CHU de Tours, Neuropédiatrie et Handicaps

<sup>6</sup> CHU de Tours, Neurologie Adultes

<sup>7</sup> Centre d'Études des Pathologies Respiratoires, INSERM U1100 EA6305, Université François - Rabelais de Tours, Médecine Interne & Maladies Infectieuses, CHU de Tours

<sup>8</sup> Parasitologie - Mycologie, CHU de La Pitié – Salpêtrière

<sup>9</sup> Médecine Pédiatrique, CHU de Tours, Nutrition Croissance & Cancer, INSERM U1069, Université François - Rabelais de Tours

<sup>10</sup> UMR 1282 ISP, INRA de Nouzilly

Nous rapportons le cas d'une trypanosomose africaine congénitale diagnostiquée à 14 mois de vie chez un enfant né en France et ayant toujours vécu en Sologne, conduisant de façon rétroactive au même diagnostic chez la maman.

Devant une hypotonie axiale associée à l'installation d'un retard psychomoteur important dans les premiers mois de vie, des maladies métaboliques, génétiques ou virales ont d'abord été évoquées. Toutes les explorations dans ce sens ont été non contributives. Seule l'imagerie par résonance magnétique a objectivé de larges hypersignaux de la substance blanche fronto - temporale (séquence T2), compatibles avec une leucodystrophie sus - et sous - tentorielle.

Les différentes ponctions lombaires (PL) exploratrices ont montré une méningite biologique (environ 120 leucocytes/mm<sup>3</sup> dont 100 % de lymphocytes), mais toutes les cultures microbiennes sont restées stériles. Visualisées sur la troisième PL, des formes mobiles et allongées ont fait évoquer des trypanosomes. La fixation - coloration au M.G.G. a confirmé l'espèce *Trypanosoma brucei*.

A la suite de cette découverte, l'enquête a révélé que la mère, originaire de République Démocratique du Congo et en France depuis plus de deux ans, présentait depuis son arrivée des signes neurologiques tels que des paresthésies et une aphasie, ainsi qu'un syndrome dépressif majeur et des troubles délirants marqués par des cris stridents spontanés. Les explorations réalisées jusqu'alors n'avaient pas permis de rattacher ces troubles à une entité clinique précise. La mise en évidence de parasites chez l'enfant a donc rendu très probable une transmission verticale survenue pendant la grossesse. Chez la mère, seule la sérologie anti - trypanosome a permis de confirmer le diagnostic (HAI Siemens® à 2048 en inverse de dilution, IFI maison à 1200).

Les deux patients ont été traités pendant 14 jours par l'eflornithine (DMFO). Si la maman présente à 6 mois des signes de récupération quasi - complète, l'évolution clinique de l'enfant paraît très limitée, bien que la normalisation parasitologique et biochimique du liquide céphalo - rachidien (LCR) ait été confirmée dès la première PL de contrôle, deux semaines après la fin du traitement. Un suivi clinico - biologique plus long s'impose chez l'enfant, pour lequel la DMFO a été rapporté comme moins efficace.

Ce dossier souligne l'importance de rechercher avec insistance des trypanosomes dans le LCR de tout sujet ayant séjourné en Afrique, et présentant, de façon aiguë ou chronique, des signes neuropsychiatriques non expliqués.

## **Suivi de l'efficacité thérapeutique des accès palustres : attention aux splénectomies !**

HOUZE S.<sup>1</sup>, BLANC V.<sup>2</sup>, DEVELOUX M.<sup>3</sup>, ARGY N.<sup>4</sup>, THELLIER M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie, CNR du Paludisme, AP-HP Hôpital Bichat, Paris

<sup>2</sup> Laboratoire de Biologie, Centre Hospitalier, Antibes

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie, CHU St Antoine, Paris

<sup>4</sup> Laboratoire de Parasitologie, CHU Strasbourg

<sup>5</sup> Laboratoire de Parasitologie, CNR du Paludisme, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris

Dans le cas des traitements des accès graves par l'artésunate, il est recommandé de faire un suivi rapproché de l'efficacité thérapeutique et de surveiller la diminution de la parasitémie. On a ainsi accès à des prélèvements J1 et J2 alors que les recommandations actuelles dans les autres situations sont de réaliser un premier prélèvement à J3. Dans les 48h qui suivent l'initiation du traitement, on peut observer sur les frottis sanguins et/ou les gouttes épaisses des formes parasitaires altérées par le traitement et dont l'aspect morphologique est spécifique qu'il faut savoir reconnaître : on constate leur disparition sur les prélèvements réalisés 24 heures plus tard en cas d'efficacité thérapeutique.

Si le corps de Jolly, condensation pycnotique d'un résidu d'ADN érythroblastique, est un artefact bien connu des parasitologues pour le diagnostic du paludisme, les parasites pycnotiques qu'il est possible de rencontrer lors des suivis thérapeutiques sont des pièges méconnus. Ces formes parasitaires très rétractées dans le cytoplasme de l'hématie s'observent, en cas de splénectomie. Leur présence doit faire rechercher l'une ou l'autre situation mais ne doit pas être considérée comme synonyme d'un échec thérapeutique. Après la sollicitation du CNR pour donner un avis sur deux cas suspects d'échec thérapeutique dans ce contexte, et devant la perplexité des biologistes confrontés à un cas au laboratoire de l'hôpital Bichat, il apparaît que la reconnaissance microscopique de ces formes doit être encouragée. Des photos illustreront cette présentation.

# Etude des interactions entre *Blastocystis* et la flore bactérienne fécale

## Quel lien avec le syndrome de l'intestin irritable ?

POIRIER P.<sup>1</sup>, NOURRISSON C.<sup>1</sup>, SCANZI J.<sup>2</sup>, PEREIRA B.<sup>3</sup>, WAWRZYNIAK I.<sup>4</sup>,  
CIAN A.<sup>5</sup>, VISCOGLIOSI E.<sup>5</sup>, LIVRELLI V.<sup>6</sup>, DAPOIGNY M.<sup>2</sup>, DELBAC F.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Gabriel Montpied, CHU de Clermont-Ferrand

<sup>2</sup> Service de Médecine digestive et hépato - biliaire, Hôpital Estaing, CHU de Clermont - Ferrand

<sup>3</sup> Délégation à la recherche clinique et innovation, CHU de Clermont - Ferrand

<sup>4</sup> Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Equipe Interactions Hôtes - Parasites, UMR CNRS 6023, Université Blaise Pascal, Clermont - Ferrand

<sup>5</sup> Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL), INSERM U1019, CNRS UMR 8204, Institut Pasteur, Lille

<sup>6</sup> Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, UMR INSERMU1071 USC - INRA 2018, Université d'Auvergne, Clermont - Ferrand

**Introduction.** Ces dernières années, de nombreux travaux portant sur le rôle des parasites dans l'homéostasie intestinale ont émergé. Qu'ils soient protecteurs ou possiblement à l'origine de pathologies chroniques, les parasites intestinaux entretiennent un dialogue étroit avec leur hôte, et probablement avec le microbiote intestinal. De récentes études épidémiologiques menées en Asie, au Moyen-Orient ou encore en Amérique du Sud ont rapporté de fortes prévalences de *Blastocystis* sp. chez des patients souffrant du Syndrome de l'Intestin Irritable (SII). Cliniquement, les patients atteints de cette colopathie chronique fonctionnelle souffrent de douleurs abdominales associées à des modifications de la consistance des selles. Ainsi, ces patients sont classés en SII - C (constipation), SII - D (diarrhée), SII - M (mixte) ou en SII non classable. La physiopathologie du SII est multifactorielle et se caractérise entre autre par une dysbiose.

**Objectifs.** Afin d'apporter des données dans une population occidentalisée et de mieux comprendre les fortes prévalences de *Blastocystis* chez les patients SII, nous avons mené une étude prospective au CHU de Clermont - Ferrand de juin 2012 à juillet 2013. Nous avons voulu explorer les possibles modifications de flore associées à la présence du parasite en quantifiant par PCR quantitative 8 groupes bactériens chez les patients SII - C et contrôles, parasités ou non par *Blastocystis* (*Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Desulfovibrio*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum* et *Faecalibacterium prausnitzii*).

**Résultats.** 56 sujets SII (40 SII - C, 9 SII - D, 4 SII - M et 3 SII non - classés) et 56 sujets contrôles ont été recrutés. La différence de prévalence de *Blastocystis* entre l'ensemble des sujets SII (13/56 ; 23,2%) et contrôles (9/56 ; 16,1%) n'était pas significative. En revanche, cette prévalence était significativement plus élevée ( $p=0,02$ ) chez les hommes SII (7/19 ; 36,8%) que chez les hommes contrôles (1/21 ; 4,8%). On retrouvait les mêmes résultats au sein du sous - groupe SII - C avec une prévalence plus élevée chez les hommes SII - C que chez les hommes contrôles (41,7% versus 4,8% ;  $p<0,01$ ). Les quantifications bactériennes ont été réalisées au sein du sous - groupe SII - C pour limiter la variabilité liée au type de SII. Les résultats chez les sujets SII - C non parasités versus contrôles non parasités étaient cohérents avec les données de la littérature. On retrouvait notamment une diminution des bifidobactéries ( $p<0,001$ ) et de *F.prausnitzii* ( $p<0,01$ ) associée à une augmentation des *Bacteroides* ( $p<0,001$ ). Chez les hommes SII - C, la présence de *Blastocystis* était associée à une plus forte diminution des bifidobactéries ( $p<0,01$ ). Au sein du groupe contrôle, chez les hommes parasités versus non parasités, on retrouvait une diminution des bifidobactéries ( $p<0,001$ ) associée à une diminution de *F.prausnitzii* ( $p=0,001$ ).

**Conclusion.** La nature du lien entre la prévalence de *Blastocystis* et le sexe masculin reste à éclaircir. A notre connaissance, il s'agit des 1ères données mettant en évidence une association entre la présence d'un parasite intestinal et des modifications de la flore bactérienne commensale. La diminution de bactéries « bénéfiques » comme les bifidobactéries et *F.prausnitzii* pourrait constituer un terrain favorable à l'implantation de *Blastocystis*.

## **Blastocystose au Sénégal : étude des cas diagnostiqués au CHNU de Fann de 2011 à 2013**

SOW D.<sup>1</sup>; SYLLA K.<sup>1</sup>, DIENG T.<sup>1</sup>, TINE R.C.<sup>1</sup>, NDIAYE M.<sup>1</sup>, FAYE B.<sup>1</sup>, NDIAYE J.L.<sup>1</sup>, GAYE O.<sup>1</sup>, DIENG Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie - Mycologie, Faculté de médecine, UCAD, Dakar Sénégal

**Introduction** : *Blastocystis hominis* est un protozoaire intestinal connu depuis longtemps. Il est cosmopolite et vit dans le côlon. Il fait encore l'objet de nombreuses controverses en ce qui concerne son pouvoir pathogène et son caractère éventuellement opportuniste. L'objectif général de ce travail était de collecter des informations sur la blastocystose en milieu hospitalier au Sénégal.

**Matériel et Méthodes** : Nous avons réalisé une étude rétrospective de Mars 2011 à Septembre 2012 et une étude prospective de Novembre 2012 à Juin 2013. Notre population d'étude était constituée par tous les patients reçus au laboratoire pour un examen parasitologique des selles et ayant présenté *Blastocystis hominis* dans les selles. La collecte des données a été faite à partir des registres d'analyse du laboratoire et les données ont été saisies sur Excel.

**Résultats** : Au total, 106 cas positifs ont été recensés sur 2209 selles examinées soit une prévalence globale de 4,8%. L'âge moyen était de 27,8 ans. Les femmes (49,1%) étaient plus représentées que les hommes (43,4%). Les patients présentaient des signes cliniques dans 32,1% des cas et les symptômes étaient dominés par la diarrhée (13,3%) et les douleurs abdominales isolées (5,6%). Les patients infectés par *B. hominis* seul représentaient la majorité des cas avec 70,8% de la population d'étude. Les coïnfections avec *Entamoeba coli* (16%) et *Endolimax nana* (8,5%) étaient les plus fréquentes. Les patients infectés par *Blastocystis hominis* seul (85,2%) étaient plus symptomatiques que ceux présentant une coïnfection (14,7%) avec une différence significative. Sur le plan microscopique, la forme vacuolaire (27,4%) était plus fréquente que la forme granulaire (15,1%).

**Conclusion** : A l'heure actuelle, il est prématuré de se prononcer pour ou contre la pathogénicité de *B. hominis* même si les récentes études tendent à le décrire plus comme un opportuniste qu'un agent pathogène. Toutefois nous recommandons au personnel de laboratoire de le rechercher systématiquement et de le signaler aux cliniciens pour une meilleure prise en charge des patients.



## **Evaluation de l'efficacité d'un collyre de polyhexaméthylène biguanide dans un modèle de kératite à *Acanthamoeba polyphaga* chez le rat**

GUEUDRY J., C HUMBERT., RAZAKANDRAINIBE R., LE GOFF L., A FRANCOIS., MURAINÉ M., FAVENNEC L.

EA 3800, Université de Rouen, Rouen, France

Le but de cette étude est, dans le cadre d'un programme européen concernant les médicaments "orphelins" (ODAK) de comparer l'efficacité de différentes concentrations de chlorhydrate de polyhexaméthylène biguanide (PHMB) à celle de l'association de référence de PHMB (0,02 %) avec la propamidine dans un modèle expérimental de kératite à *Acanthamoeba polyphaga* chez des rats mâles Sprague-Dawley (5 semaines, environ 150 g)

Des trophozoïtes de l'isolat d'origine humaine *Acanthamoeba polyphaga* ont été cultivés en milieu PYG à 30°C et, le jour de l'inoculation de la cornée, préparés en suspension à une concentration de  $10^7$ /ml. Sous anesthésies générale et locale, un microlitre de la suspension contenant  $2 \times 10^4$  parasites a été injecté dans la couche stromale de la cornée gauche exposée par une micro-incision au scalpel. Un microlitre de milieu de culture stérile a été injecté dans la cornée droite utilisée comme témoin. Chaque semaine, une injection sous-conjonctivale d'une solution de betaméthasone est ensuite effectuée dans chaque œil.

Les rats ont été répartis en groupes de 6 animaux traités localement 4 fois par jour par une goutte de collyres contenant respectivement du PHMB (0,02 %, 0,04 %, ou 0,06 % ou une combinaison de PHMB (0,02 %) et de propamidine (0,1 %) . Six animaux témoins ont été traités de façon similaire avec le véhicule du collyre.

Les rats ont été examinés cliniquement au jour 7 post-infection (PI), et plus tard chaque semaine jusqu'au jour 28 PI, et les lésions cornéennes ont été classées du grade 0 (pas de lésions), au grade 3 (selon Polat et al 2014). A la fin des expériences (jour 28 PI), les épithélium cornéens des animaux euthanasiés ont été cultivés et analysés par PCR (sondes AcanthF900, AcanthR1100 et AcanthP1000 selon Qvarnström et al, 2006), à la recherche de parasites, et les globes oculaires examinés histologiquement .

Les résultats préliminaires de l'évaluation clinique et des détections du parasite dans les cornées par cultures et PCR sont compatibles avec une efficacité des collyres de PHMB aux concentrations de 0,04 %, ou 0,06 % de PHMB sur la kératite amibienne expérimentale du rat, comparable à celle de l'association de référence PHMB (0.02%) + propamidine. Des études complémentaires sont en cours afin de déterminer la concentration optimale de PHMB dans ce modèle.

## **Toxoplasmose congénitale, faut-il craindre les lésions oculaires ?**

PEYRON F., RABODONIRINA M., WALLON M.

Institut de Parasitologie et Mycologie médicale. Hôpital de la Croix Rousse. Hospices Civils de Lyon

En France, la toxoplasmose congénitale est le plus souvent infra clinique à la naissance, mais expose au risque de survenue de lésions oculaires et, essentiellement, de rétinoblastomes. Cette éventualité imprévisible est angoissante pour les parents et les patients qui sont souvent non ou mal informés sur les conséquences fonctionnelles de telles lésions.

Le but de cette communication est de préciser la fréquence de survenue de ces lésions oculaires et leur impact à long terme sur la vision.

Tous les patients que nous présentons avaient une infection congénitale prouvée et étaient suivis à notre consultation. La majorité d'entre eux avaient bénéficié d'un traitement ante et post natal.

Une première étude a porté sur 477 patients infectés. Le suivi médian était de 10, 5 années (6 mois - 22 ans). Cent quarante deux (29.8%) sujets avaient au moins une lésion oculaire au moment de leur dernière visite. Dans 98 cas (69%), la lésion était monoculaire. Quarante - quatre patients présentaient des lésions bilatérales. Aucun cas de baisse sévère de la vision n'a été constaté. Dans 50% des cas, la première lésion avait été diagnostiquée après l'âge de 3 ans et dans 10%, après 12.5 ans. Quarante - huit (33.8%) des patients ont présenté au moins une récurrence (n=5), une nouvelle lésion (n=34) ou les 2 (n=9). Une infection maternelle précoce, une prématurité, la présence de lésions extra oculaires étaient des facteurs de risque pour la survenue de rétinoblastome.

L'impact sur la vision est difficile à apprécier uniquement au vu de la localisation des lésions par rapport à la macula. Dans une autre étude, nous avons évalué la fonction visuelle à l'aide du questionnaire VF 18 chez 102 adultes porteurs d'une toxoplasmose congénitale. Soixante d'entre eux (58%) présentaient des lésions oculaires. La fonction visuelle était très légèrement abaissée : score global moyen de 97% (IC 95% : 95 - .8 - 98.8). La qualité de vie a été évaluée par le questionnaire PGWBI. Le score global était de 74.7, comparable au score attendu dans la population contrôle. La question du suivi de ces patients n'est pas résolue. On peut concevoir un suivi ophtalmologique systématique jusqu' à l'âge 5 ans quand l'enfant devient capable de verbaliser l'apparition de troubles oculaires. Cette attitude nous paraît inadaptée pour évaluer l'impact de cette maladie chronique dont l'évolution est encore mal connue. Récemment, nous avons observé que la grossesse est un facteur de risque de récurrence de rétinoblastome.

Cette absence d'information sur l'évolution à long terme n'est pas cohérente dans un pays qui a instauré un suivi systématique des femmes enceintes. De plus, interrogés sur l'opportunité d'une surveillance systématique, 98% des patient adultes l'estimaient utile et 92% rassurante.

En conclusion, la toxoplasmose congénitale est une affection infra clinique le plus souvent, mais qui dans un tiers des cas, peut se présenter comme une affection ophtalmologique chronique d'évolution imprévisible. L'impact des lésions sur la fonction visuelle est heureusement limité. Ces informations rassurantes doivent être communiquées aux parents et aux patients. Un suivi oculaire régulier est souhaité par les patients.

## **Toxoplasmose congénitale : étude rétrospective de 187 cas diagnostiqués au CHRU de Montpellier de 1985 à 2010**

BADAOU B. <sup>1</sup>, ALBABA S. <sup>1</sup>, STERKERS Y. <sup>1</sup>, ISSERT E. <sup>2</sup>, AGOSTINI C. <sup>3</sup>, PICOT M.C. <sup>3</sup>, BOULOT P. <sup>4</sup>, BASTIEN P. <sup>1</sup>, PRATLONG F. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Département de Parasitologie - Mycologie, CHRU de Montpellier, Montpellier

<sup>2</sup> Département Pédiatrie néonatale et Réanimation, CHRU de Montpellier, Montpellier

<sup>3</sup> Département d'Information Médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier

<sup>4</sup> Département de Gynécologie Obstétrique, CHRU de Montpellier, Montpellier

La toxoplasmose congénitale (TC) est due à la contamination transplacentaire du fœtus par *Toxoplasma gondii* à la suite d'une primo - infection maternelle. Les formes cliniques couvrent un large spectre allant de formes sévères à des formes infracliniques, les plus fréquentes. En France, cette fœtopathie est considérée comme un problème majeur de santé publique. Le diagnostic de la TC est multidisciplinaire, reposant sur des examens biologiques (parasitologiques et sérologiques), cliniques et paracliniques.

Les cas de TC diagnostiqués au CHRU de Montpellier de 1985 à 2010 ont été recensés. Les critères de diagnostic positif en période prénatale, néonatale et postnatale étaient biologiques (détection du parasite dans le liquide amniotique, le placenta et le sang de cordon par PCR et/ou inoculation à la souris, détection d'IgG, IgM et/ou IgA spécifiques dans le sang de cordon et/ou du nouveau - né), paracliniques (échographie, IRM, échographie transfontanellaire, radiographie du crâne) et clinique (fond d'œil). Les fœtus issus d'interruptions médicales de grossesse (IMG) et de mort fœtale in utero (MFIU) ont été inclus dans l'étude.

Cette étude rétrospective a recensé 187 toxoplasmoses congénitales. Parmi ces cas, 162 enfants sont nés (87%), 22 IMG ont été pratiquées (12%) et 3 MFIU sont survenues (1%). La période diagnostique est connue pour 184 cas : 77 (42%) ont été dépistés grâce au diagnostic prénatal (DPN), 89 (48%) par le diagnostic néonatal (DNN) et 18 (10%) lors du suivi postnatal de l'enfant. Les formes infracliniques ont représenté 86% des cas (120 enfants, 1 IMG) alors que les formes patentes ont concerné 14% des cas (16 enfants, 3 IMG, 1 MFIU; 50% sévères, 50% modérées).

Pour le DPN, la sensibilité de la PCR sur liquide amniotique a été évaluée à 79% sur l'ensemble de la période, avec une sensibilité de la PCR ciblant l'élément répété REP529 égale à 90% et celle ciblant le gène B1 à 80%.

Pour le DNN parasitologique et sérologique : (i) la détection du parasite dans le placenta (sensibilité de la PCR : 82%; de l'inoculation à la souris : 56%) est un argument fort d'infection fœtale même si elle ne permet pas à elle seule le diagnostic de TC, (ii) la présence du parasite dans le sang de cordon affirme la TC avec une sensibilité de la PCR égale à 42%, (iii) la sensibilité de détection des IgM seules sur sang de cordon est de 66%, celle des IgA seules est de 55%, et la recherche couplée des IgM et des IgA augmente les performances du DNN sérologique avec une sensibilité de 71%.

Cependant, l'absence de détection du parasite et des IgM et/ou IgA à la naissance n'exclut pas l'atteinte fœtale d'où la nécessité d'un suivi postnatal qui est particulièrement intéressant dans le diagnostic des toxoplasmoses infracliniques d'enfants contaminés tardivement. Dans notre étude, le suivi postnatal a permis de diagnostiquer 18 cas pour lesquels ni le DPN ni le DNN n'auraient permis de poser le diagnostic (DPN négatif (n=4) ou non réalisé/manquant (n=14); DNN non concluant (n=5 placentas positifs seuls) ou négatif (n=11) ou manquant (n=2)). Cette étude illustre la complémentarité du DPN, du DNN et du suivi sérologique postnatal dans le diagnostic d'une toxoplasmose congénitale. De plus, il reste nécessaire d'associer ces éléments biologiques aux examens paracliniques et cliniques.

## **Le locus Toxo1 contrôle la résistance vis - à - vis de *T. gondii* via le senseur intracellulaire Nlrp1a et l'induction de pyroptose**

CAVAILLES P.<sup>1</sup>, FLORI P.<sup>2</sup>, PAPAPIETRO O.<sup>3</sup>, BIZANZ C.<sup>1</sup>, LAGRANGE D.<sup>3</sup>,  
PILLOUX L.<sup>1</sup>, MASSERA C.<sup>1</sup>, CRISTINELLI S.<sup>1</sup>, JUBLOT D.<sup>1</sup>,  
CESBRON-DELAUW M.F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CNRS, UMR 5163, Institut Jean Roget, Université Joseph Fourier, Grenoble

<sup>2</sup> GIMAP, EA 3064, F - 42055 Saint - Etienne

<sup>3</sup> UMR Inserm, U1043, Université de Toulouse

L'immunité naturelle ou la résistance aux pathogènes met en jeu des spécificités génétiques de l'hôte. Nous avons localisé la région du génome responsable de la résistance à la toxoplasmose chez le rat LEW. Située sur le chromosome 10, cette région – le locus Toxo1 – contrôle la dissémination du parasite au niveau de la barrière intestinale. En effet, chez le rat LEW, les cellules hématopoïétiques sont capables d'éradiquer le parasite dans les 2 premiers jours après infection. Cette étude montre que les macrophages, dans lesquels le parasite cherche à se multiplier, restreignent leur prolifération et se « suicident » en induisant ainsi la mort rapide du parasite. Cette mort cellulaire présente tous les aspects d'une pyroptose (production d'espèces radicalaires de l'oxygène, activation de la Caspase - 1, sécrétion d'Interleukine 1 -  $\beta$  ). Cette induction de mort cellulaire est contrôlée par la voie Nlrp1a/Caspase - 1. Or, le gène Nlrp1a appartient au fameux locus Toxo1 ! Ce qui lui confère donc le statut de gène de résistance. Cependant Nlrp1a ne suffit pas à expliquer totalement la résistance du rat LEW. En effet le blocage de la voie de la voie Nlrp1a/Caspase - 1 permet d'inhiber la mort des parasites intracellulaires et des macrophages, confirmant l'implication de l'inflammasome, sans toutefois restaurer la prolifération du parasite, ce qui suggère l'existence d'une combinaison de mécanisme de résistance contrôlée par le locus Toxo1. D'autres facteurs sont donc encore à découvrir. Ces données représentent de nouvelles perspectives vers l'identification d'un mécanisme majeur de l'immunité innée qui protège contre la toxoplasmose. La découverte du gène (ou des gènes) impliqué(s) dans la résistance à l'infection pourrait permettre le développement d'outils pour la prévention de la toxoplasmose tant en médecine humaine que vétérinaire (identification d'individus naturellement résistants et stratégies thérapeutiques).

### **Références**

Sergent et al., Infect Immun 2005

Cavailles et al., PNAS 2006

Cavailles et al., PLOS Pathogens 2014

## **Protéomique en Parasitologie : Développements techniques, applications, perspectives.**

SCHAEFFER-REISS C.<sup>1</sup>, TOMAVO S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> CNRS – Uds – UMR 7178 – Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC), Strasbourg

<sup>2</sup> CNRS , Lille

L'analyse protéomique est devenue, grâce au progrès de la spectrométrie de masse, un outil très puissant pour l'étude des protéomes. L'identification des protéines devient de plus en plus rapide et, surtout, plus détaillée. Le potentiel de l'analyse protéomique dans l'étude des parasites n'est plus à démontrer [1], confirmant ainsi sa place en tant qu'outil complémentaire mais aussi incontournable pour l'identification des protéines et la détermination ultérieure de leurs fonctions par les approches de biologie cellulaire et de génétique.

Cette présentation a pour objectif de montrer, à travers l'étude de deux parasites (*Plasmodium* et *Toxoplasma*) comment les outils de l'analyse protéomique permettent de répondre à des questions biologiques relatives aux interactions parasites/hôtes.

Une série d'applications illustrera que les méthodologies de l'analyse protéomique permettent (1) d'identifier les protéines en interaction, (2) de déterminer leurs modifications post-traductionnelles (glycosylation, clivages protéolytiques), (3) de réaliser des analyses protéomiques différentielles, et (4) de quantifier simultanément plusieurs dizaines de protéines grâce à des méthodes ciblées et des peptides de synthèse marqués aux isotopes stables (LC-SRM).

A travers ces exemples, nous verrons que ces problématiques biologiques ont chaque fois nécessité la mise en place et le développement de méthodologies adaptées, comme par exemple la détermination des extrémités N-terminales des protéines pour la correction/vérification de codons start [2] ou pour une étude approfondie des activités protéolytiques. Cette dernière méthodologie est particulièrement adaptée pour déterminer les processings subis par des protéines parasitaires exportées dans la cellule hôte.

Enfin, nous illustrerons deux exemples d'études protéomiques qui ont guidé la mise en place d'études de biologie cellulaire et de génétiques inverses qui ont permis de démontrer que des réseaux de protéines du système de type endolysosomal est essentiel au transport des protéines, à la biogenèse des organites apicaux, lesquels sont responsables de l'invasion de l'hôte et à la virulence chez *T. gondii*.

### **Références :**

[1] Wastling et al. (2012) *Parasitology*, 139, 1103-1118.

[2] Gallien et al. (2009) *Genome Res*, 19, 128-135.

## **MST COST Action CM1307 Targeted chemotherapy towards diseases caused by endoparasites**

DAVIOUD - CHARVET E.<sup>1</sup>, LOISEAU P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Bioorganique et Médicinale, UMR 7509 CNRS-Université de Strasbourg, European school of Chemistry, Polymers and Materials (ECPM), France

<sup>2</sup> Groupe Chimiothérapie Antiparasitaire, UMR 8076 CNRS Université Paris - Sud 11, Châtenay - Malabry, France

Advances in the chemotherapy against human and animal parasitic diseases remain limited largely because drug candidates have low specificity and show poor in vivo bioavailability. The Action aims at uniting scientists with different backgrounds to create synergistic interactions paving the way for antiparasitic drug discovery for diseases caused by protozoa and helminths.

The scientific aim is to bundle together the identification and validation of parasite drug targets based on the established genomes, medicinal chemistry including structure - based drug design, crystallography, bioinformatics, and drug targeting using chemical and nanotechnological approaches to improve drug performance. Also, rational assessment of the potential of natural product and other compound libraries will be used to identify new leads. Crucially, the Action will create an unprecedented combined forum for human health scientists and veterinarians, because of the enormous unmet needs in treating human and animal parasitic diseases and due to methodological homogeneity of their drug design strategies. The most promising compounds and formulations will be tested in established infection models before further preclinical and clinical development with emphasis on drug safety.

Expected benefits include intensified cooperations between Academia and Industry. This will be achieved through focused conferences, networking, a dedicated website and training schools for state - of - the - art technologies.

Philippe Loiseau (philippe.loiseau@u-psud.fr), chair of the COST Action CM1307  
Elisabeth Davioud - Charvet (elisabeth.davioud@unistra.fr), MC member for France and STSM coordinator

Description, Parties, and Management Committee are provided by the Actions directly via e - COST:[http://www.cost.eu/domains\\_actions/cmst/Actions/CM1307?](http://www.cost.eu/domains_actions/cmst/Actions/CM1307?)

## **Caractérisation des parasites dans les produits de la pêche : Développement de méthodes d'identification et prévalence**

SEESAO Y.

ANSES - Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

De nombreux parasites infestent fréquemment les poissons comestibles sous toutes les latitudes. Parmi eux, les genres *Anisakis*, *Contracaecum* et *Pseudoterranova*, membres de la famille des Anisakidae, sont des nématodes dont les larves sont présentes chez de nombreuses espèces de poissons et céphalopodes. Ces larves peuvent induire chez l'homme des pathologies digestives et/ou allergiques. En France, la consommation des produits de la pêche, surtout crus ou peu cuits est en augmentation. Ces deux constats nous ont poussés à mieux définir l'impact des parasites de poisson sur la santé des consommateurs et à définir des stratégies de prévention efficaces pour améliorer la sécurité sanitaire des produits de la mer. Pour pallier au peu de données recensées sur la distribution des Anisakidae en France, l'un des axes de l'action Fish - Parasites (ANR - 10 - ALIA - 004) est d'identifier et de collecter des données de prévalence des Anisakidae. Le plan d'échantillonnage des espèces de poisson a été établi suite à une analyse de type risk ranking exploitant les données de consommation des poissons en France et des données de prévalence des Anisakidae issues de la littérature. L'identification moléculaire de ces parasites est basée sur l'amplification d'un locus génétique polymorphe constitutif du gène COX2. Mille six cent soixante quinze poissons appartenant à 15 espèces provenant de l'Atlantique nord - est (Golfe de Gascogne), mer d'Irlande, mer Méditerranée, Manche et mer du Nord ont été analysés. Les nématodes ont été isolés des filets, de la cavité corporelle, du foie et du tube digestif. En dessous de onze nématodes par organe, l'identification est réalisée sur la base du séquençage Sanger d'un fragment du locus COX2. Lorsqu'un organe contient onze nématodes ou plus, leurs ADNs sont extraits en pool. Une PCR au locus COX2 nouvellement mise au point nous a permis d'obtenir une librairie qui a été séquencée à haut - débit (HTS) sur la plateforme PGM de Ion Torrent (Life Technologies). Nous avons mis en place un pipeline d'analyse automatisé accessible sous Galaxy. Les séquences nucléotidiques obtenues sont ainsi comparées à une banque de séquences de référence constituée pour les besoins de l'étude. L'identification moléculaire permet in fine de déterminer la fréquence des taxons de nématodes contaminant un organe de poisson.

Les résultats préliminaires de prévalence globale des nématodes infestant les 1675 poissons échantillonnés sont les suivants : 46,75% des poissons sont exempts de nématodes, 32,98% des poissons sont infestés par les nématodes dans les viscères, 2,58% présentent des nématodes uniquement dans les filets et 17,68% présentent des nématodes à la fois dans les filets et les viscères. Le premier run HTS a permis d'identifier 8305 nématodes provenant de 92 organes (filet, foie et cavité corporelle) de 11 espèces de poisson. Les nématodes ont été identifiés à 93,8% comme appartenant au genre *Anisakis*. Cependant, 6,2% des séquences restent non identifiées et correspondent potentiellement à de nouveaux sous - types ou de nouvelles espèces. Ces données de fréquence permettront : (i) d'évaluer la répartition des différentes espèces de parasites dans les organes des poissons et (ii) d'analyser le poids de certaines variables, telles que l'espèce de poisson, sa taille, la zone et la période de pêche, sur la distribution des Anisakidae dans les poissons afin d'envisager des moyens de prévention du risque.

# **Apport du séquençage de nouvelle génération dans l'identification de marqueurs moléculaires chez *Plasmodium falciparum*, exemple de la résistance aux dérivés de l'artémisinine**

ARIEY F.<sup>1</sup>, WITKOWSKI B.<sup>2</sup>, BEGHAIN J.<sup>3</sup>, LANGLOIS A.C.<sup>3</sup>, BERRY A.<sup>4</sup>, BARALE J.C.<sup>3</sup>, BENOIT-VICAL F.<sup>4</sup>, MERCEREAU PUIJALON O.<sup>3</sup>, MENARD D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur Unité GGIV

<sup>2</sup> Institut Pasteur du Cambodge

<sup>3</sup> Institut Pasteur de Paris

<sup>4</sup> Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse

<sup>5</sup> CNRS, Université de Toulouse

Jusqu'à aujourd'hui, l'analyse des gènes parasites impliqués dans la résistance se faisait au coup par coup (gène par gène pour les gènes connus) ou à l'aide de puces permettant d'explorer une partie du bagage génétique des parasites. Ces méthodologies ne sont pas adaptées à une recherche de nouveaux marqueurs dont nous avons besoin pour les résistances aux artémisinines ou à une comparaison précise des parasites au niveau d'un pays, d'une région ou d'un continent. Il faut pouvoir obtenir une information exhaustive sur tous les gènes des parasites et ne laisser aucune zone d'ombre sur le plan génétique.

Ces dernières années, le séquençage des génomes à haut débit, une méthodologie d'une puissance sans précédent, est devenu disponible à des coûts raisonnables. Ce séquençage (que l'on appelle Next Generation Sequencing, NGS) fournit la totalité de l'information génétique d'un individu. Il devient donc possible pour nous de caractériser en une seule expérience les 5298 gènes des 14 chromosomes de *P. falciparum*. Une fois la séquence du génome de chaque parasite obtenue, une analyse bioinformatique poussée permet de comparer le bagage génétique des parasites présentant tel ou tel phénotype.

C'est cette approche qui nous a permis d'identifier un marqueur de résistance aux dérivés de l'artémisinine au Cambodge. Sur la base de cet exemple nous souhaitons présenter l'apport de ce nouveau type d'analyse pour la recherche d'autres associations genotype/phénotype.



## Nouvelles Technologies en lutte anti - vectorielle

BOUYER J.  
CIRAD

L'impact toxique et écotoxique des insecticides, le développement des résistances chez les vecteurs, et l'invasion de nouveaux territoires par des vecteurs exotiques entraînent une demande sociétale croissante de techniques de lutte anti - vectorielle alternatives. L'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments) a d'ores et déjà interdit plus de 75% des matières actives en Europe, alors que le plan Ecophyto 2018 (Plan national santé environnement) prévoit une réduction de 50% du volume des produits phyto - sanitaires utilisés en France entre 2009 et 2018, y compris pour les produits à usage non - agricole.

Pour répondre à cette demande, de nouvelles technologies sont en pleine émergence, comme l'utilisation de mâles stérilisés par irradiation (Technique de l'Insecte Stérile ou TIS), transgéniques, ou portant des symbiontes modifiés ou encore l'auto - dissémination d'analogues de l'hormone juvénile chez les insectes. L'utilisation de ces technologies repose sur des développements méthodologiques importants, notamment dans les domaines de la géomatique et de l'aéronautique (lâchers aériens d'adultes refroidis par des machines automatiques ou Chilled Adult Technique). De plus, elles doivent être mise en œuvre suivant le paradigme de la gestion intégrée à l'échelle des populations totales (Area - Wide Integrated Pest Management), en tenant compte des impacts socio - économiques et environnementaux à long terme des interventions.

Nous présenterons ces technologies, et utiliserons le projet d'éradication des glossines au Sénégal pour illustrer une partie d'entre elles. Nous présenterons également un nouveau concept de lutte contre le moustique tigre, *Aedes albopictus*, reposant sur une combinaison de la Technique de l'Insecte Stérile à l'auto - dissémination de pyriproxifène et baptisé « boosted SIT ».

**Des naphtoquinones antipaludiques consommant le NADPH  
dans une cascade rédox miment les effets de déficiences  
en glucose-6-phosphate déshydrogénase-  
Une nouvelle stratégie pour diminuer le développement parasitaire**

DAVIOUD - CHARVET E.<sup>1</sup>, BIELITZA M.<sup>2</sup>, BELORGEY D.<sup>2</sup>, ELHABIRI M.<sup>2</sup>,  
EHRHARDT K.<sup>2,3</sup>, DEREGNAUCOURT C.<sup>4</sup>, ARESE P.<sup>5</sup>, LANZER M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Bioorganique et Médicinale, UMR 7509 CNRS - Université de Strasbourg, European school of Chemistry, Polymers and Materials (ECPM), France

<sup>2</sup> Laboratoire de Chimie Bioorganique et Médicinale, UMR 7509 CNRS - Université de Strasbourg, European school of Chemistry, Polymers and Materials (ECPM), France

<sup>3</sup> Department of Infectiology, University of Heidelberg, Germany

<sup>4</sup> Muséum National d'Histoire Naturelle, FRE 3206 CNRS, Paris cedex 05, France

<sup>5</sup> Department of Oncology, University of Torino, Italy

La grande similarité entre les effets induits par les mutations génétiques en glucose - 6 - phosphate déshydrogénase (G6PD), qui confèrent chez les populations une protection vis - à - vis des accès palustres sévères du paludisme, et ceux induits par une « tête de série » 3 - benzyl - ménadione (benzylMDP - TM29), [1,2] ou le bleu de méthylène, [2,3] montre qu'une nouvelle stratégie de conception de molécules antipaludiques est possible. Les activités antipaludiques induites dès le stade anneau jeune, par ces molécules douées de potentiel redox, se traduisent par des effets phénotypiques (formes pycnotiques) chez l'érythrocyte infecté par *P. falciparum*. La bioactivation redox à l'origine de l'activité antipaludique de la naphtoquinone P - TM29 met en jeu les partenaires - cibles suivants : l'équilibre redox maintenu par le flux de NADPH dans les réductions catalysées par les glutathion réductases du globule rouge infecté par *P. falciparum*, et le catabolisme de l'hémoglobine (Hb). Le(s) mécanisme(s) d'action de la tête de série P - TM29 implique(nt) une cascade de réactions redox gouvernée par le flux de NADPH, au cours de laquelle sont observées la réduction de la metHb en oxyHb, [4,5] la formation de ferrylHb, et de dépôts d'Hb dénaturée (appelée hémichrome). Ces transferts d'électrons en flux continu entraînent ainsi le gaspillage du NADPH, la libération de métabolites toxiques de la 3 - benzyl - ménadione parente, et des catabolites de l'Hb comme l'hémichrome, qui freinent le développement parasitaire dans la cellule - hôte. Sous - forme dénaturées, ces Hbs de type hémichrome sont connues pour accélérer la sénescence des globules rouges, leur élimination rapide par phagocytose par les macrophages humains, [6] ce qui freine le développement de l'infection palustre sévère (paludisme cérébral).

En conclusion, la découverte et le développement de molécules à activité redox ouvrent des perspectives sur une meilleure compréhension de la pathophysiologie du paludisme en relation avec la prédisposition génétique des populations, et le développement de futures stratégies de conception de molécules antipaludiques.

## Références

- [1] Müller, T., Johann, L., Jannack, B., Brückner, M., Lanfranchi, D. A., Bauer, H., Sanchez, C., Yardley, V., Deregnaucourt, C., Schrével, J., Lanzer, M., Schirmer, R. H., Davioud - Charvet, E. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 11557 - 11571.
- [2] Ehrhardt, K., Davioud - Charvet, E., Ke, H., Vaidya, A. B., Lanzer, M., Deponte, M. Antimicrob. Agents Chemother. 2013, 57, 2114 - 2120.
- [3] Blank, O., Davioud - Charvet, E., Elhabiri, M. Antiox. Redox Signal. 2012, 17, 544 - 554.
- [4] Belorgey, D., Lanfranchi, D. A., Davioud - Charvet, E. Curr. Pharm. Des. 2013, 19, 2512 - 2528.
- [5] Johann, L., Lanfranchi, D. A., Davioud - Charvet, E., Elhabiri, M. Curr. Pharm. Des. 2012, 18, 3539 - 3566.
- [6] Gallo, V., Schwarzer, E., Rahlfs, S., Schirmer, R. H., van Zwieten, R., Roos, D., Arese, P., Becker, K. PLoS One 2009, 4:e7303.

## **Etude de l'efficacité des antipaludiques sur les souches de *Plasmodium falciparum* isolées à Thiès (Sénégal)**

NDIAYE D.<sup>1</sup>, NDIAYE M.<sup>1</sup>, NDIAYE J.L.<sup>1</sup>, FAYE B.<sup>1</sup>, KOITA O.A.<sup>2</sup>, NWAKANMA D.<sup>3</sup>, WIRTH D.F.<sup>4</sup>, VOLKMAN S.<sup>4</sup>, KROGSTAD D.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie et de Mycologie, FMPO, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

<sup>2</sup> University of Science, Technologies and Techniques, Bamako, Mali

<sup>3</sup> Medical Research Council Unit, Fajara, The Gambia

<sup>4</sup> Harvard School of Public Health, Boston, MA, USA

<sup>5</sup> Tulane School of Public Health and Tropical Medicine, New Orleans, LA

**Introduction** Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique en Afrique, touchant surtout les enfants et les femmes enceintes. Le traitement antipaludique est un composant essentiel des programmes nationaux de contrôle du paludisme, mais la résistance aux antipaludiques continue d'anéantir ces efforts de contrôle du paludisme. Dans le but de prévenir et de limiter les effets liés à la chimiorésistance, il sera essentiel de surveiller l'efficacité des antipaludiques. Le contrôle efficace et l'élimination du paludisme requièrent des évaluations couplant le suivi thérapeutique des patients, l'étude de la chimiosensibilité des antipaludiques au laboratoire et l'analyse du polymorphisme génétique des souches de *Plasmodium falciparum*. Nous avons utilisé ces trois approches combinées pour évaluer l'efficacité thérapeutique du Coartem utilisé dans le traitement du paludisme simple au Sénégal.

**Méthodologie** Cette étude s'est déroulée durant la saison de transmission du paludisme en 2011, 2012 et 2013 à Thiès. Après consentement éclairé, les patients âgés entre 2 et 15 ans, atteints d'accès palustre simple à *Plasmodium falciparum* ont été recrutés pour un suivi clinique et parasitologique de 42 jours. Un prélèvement de sang veineux est réalisé pour l'étude de la chimiosensibilité ex vivo par Dapi Assay, et l'étude des marqueurs moléculaires par la technique du High Resolution Melting (HRM).

**Résultats** Au total près de 196 patients ont été sélectionnés et suivis jusqu'à J42. Nous avons obtenu un taux d'efficacité thérapeutique de près de 99%. Cependant nous avons noté l'apparition de la résistance au Coartem corrélée à une baisse de la sensibilité *ex vivo* des CTA aux antipaludiques et une augmentation du taux de souches mutantes au niveau des gènes *pfmdr*, *dhfr* et *dhps*.

**Conclusion** Ces résultats montrent que le Coartem reste efficace dans le traitement de l'accès palustre simple à *P. falciparum* au Sénégal, cependant une surveillance renforcée des antipaludiques est nécessaire avec l'apparition des premières souches résistantes au Coartem.

## Import des ARNt exogènes par les sporozoïtes de *Plasmodium*

MAHMOUDI N.\*<sup>1</sup>, BOUR T\*.<sup>1</sup>, KAPPS D.<sup>1</sup>, BARGIERI D.<sup>2</sup>, MENARD R.<sup>2</sup>, FRUGIER M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Architecture et Réactivité de l'ARN, Université de Strasbourg, CNRS, IBMC, 15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg Cedex, France

<sup>2</sup> Malaria Biology and Genetics Unit, Institut Pasteur 25 - 28 rue du docteur Roux, 75015 Paris, France

\* co - premier auteur

Le paludisme reste un problème majeur de santé publique, notamment en Afrique subsaharienne avec environ 200 millions de cas chaque année (1). *Plasmodium*, le parasite responsable du paludisme, est transmis par un moustique anophèle, qui injecte dans la peau de l'hôte des sporozoïtes (forme infectieuse du parasite). Les parasites migrent jusqu'au foie puis infectent les hépatocytes, où ils se multiplient sous la forme de schizontes hépatiques. Au cours de cette phase du stade hépatique, la transformation du sporozoïte en schizontes s'accompagne d'échanges de petites molécules telles que les acides aminés et les nucléotides entre la cellule hôte et le parasite (2). Nous avons identifié une protéine caractérisée par un domaine de liaison aux ARNt chez *Plasmodium falciparum*. Le gène codant pour cette protéine est présent uniquement dans les génomes des Apicomplexa. Nous avons montré que cette protéine est localisée à la surface du sporozoïte, suggérant une interaction hôte - parasite particulière conduisant potentiellement à l'entrée des ARN de transfert (ARNt) de l'hôte dans le parasite. Nous avons donc caractérisé cette protéine et montré qu'elle participe effectivement à l'import d'ARNt exogènes dans le sporozoïte. Jusqu'à présent, le trafic d'ARNt avait été mis en évidence uniquement entre les organites d'une même cellule (noyau, mitochondries et chloroplastes chez les plantes). Cette interaction hôte - pathogène inédite sera discutée quant à son implication éventuelle pour le développement ultérieur des sporozoïtes ainsi que dans d'autres stades de développement du parasite.

### Références

1 - WHO. World Malaria Report 2011. (World Health Organization, Geneva, 2011).

2 - Olszewski, K. L. et al. Host - parasite interactions revealed by *Plasmodium falciparum* metabolomics. *Cell Host Microbe* 5, 191 - 199 (2009).

## **IL - 6: A new target for the treatment of ocular toxoplasmosis recurrence**

CANDOLFI E.<sup>1</sup>, ROCHET E.<sup>1</sup>, BOURCIER T.<sup>2</sup>, PFAFF A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Parasitologie et Pathologie Tropicale, Université de Strasbourg

<sup>2</sup> Service d'Ophtalmologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Ocular toxoplasmosis (OT), caused by *Toxoplasma gondii*, is a major cause of visual impairment worldwide. It is responsible for 30 - 50% of posterior uveitis with an estimated 800,000 cases in France. The principal danger is the life - time risk of recurrence, the reactivation of parasites in scarred lesions, occurring in both congenital and acquired OT. Current treatment neither eliminates the parasite from the retina, nor reduce the risk of reactivation. The underlying physiopathological mechanisms are still unknown, mainly due to a lack of an appropriate mouse model.

We established a murine model of recurrence through in situ reinfection. Two strains of mice with different susceptibility were evaluated to get insight into protective and pathological responses: the outbred Swiss - Webster and the inbred C57BL/6 strains. Mice were intraperitoneally infected with cysts of the avirulent type II PRU strain, representative of most human infections in Europe and North America and intraocularly reinfected 4 weeks later with tachyzoites of the same strain. Ocular parasite load and immune regulator transcripts were quantified. We also performed histological analyses as well as cellular cytokine localizations. Finally, multiplex protein assay in aqueous humor allowed us to identify key cytokines and chemokines in our model.

We observed a substantial ocular parasite load and a breakdown of retinal organization at day 7 post - reinfection in C57BL/6 mice. None of this was observed in Swiss - Webster mice. In C57BL/6 mice, retinal damage was associated with a significant increase of IFN -  $\gamma$ , IL - 6, SOCS3 and the inflammatory chemokines MIP - 1 $\beta$ , MCP - 1 and RANTES. By means of neutralizing antibodies, we confirmed the protective role of IFN -  $\gamma$  and the detrimental role of IL - 6 for parasite elimination and retinal integrity.

In summary, we have established a useful model of OT recurrence, which allowed us to identify protective and pathological immune response patterns. The study of cellular and molecular mechanisms of this host - pathogen interaction is in progress. Our results are a step towards identification of specific targets for clinical intervention which will reduce the risk and consequences of reactivation in patients.

Grant support: Berthe Fouassier, Fondation de France; Fondation de la Recherche Médicale; PHRC 3964

## Importance de l'axe de signalisation CXCL12/CXCR4 dans le processus de résistance à l'infection filarienne

PIONNIER N.<sup>1</sup>, BROTTIN E.<sup>2</sup>, KARADJIAN G.<sup>1</sup>, VALLARINO-LHERMITTE N.<sup>1</sup>,  
NIEGUITSILO A.<sup>1</sup>, HEMON P.<sup>3</sup>, AKNIN M.L.<sup>2</sup>, BACHELERIE F.<sup>2</sup>, MARTIN C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 7245 MCAM MNHN-CNRS ; Muséum National D'histoire Naturelle ; 61 Rue Buffon  
Cp52 ; 75005 Paris ; France

<sup>2</sup> UMR-S996 INSERM - LabEx LERMIT, Cytokines, Chemokines and Immunopathology, 32  
rue des Carnets, 92140 Clamart, France

<sup>3</sup> Plateforme Histologie PHIC UnivSud IFR - 141 IPSIT Faculté de Pharmacie ; 92296  
Châtenay - Malabry ; France

Les filarioses (filarioses lymphatiques, onchocercose, loase) sont des maladies chroniques affectant 200 millions de personnes dans le monde. Malgré des efforts considérables pour limiter leur impact, le développement de résistances aux traitements et l'absence de macrofilaricides justifient la recherche de nouvelles approches thérapeutiques. C'est l'objectif de notre étude réalisée in vivo dans un modèle murin bien établi de filariose reposant sur la filaire *Litomosoides sigmodontis*. Cette étude s'inscrit dans la droite ligne de nos récents résultats qui montrent que la chimiokine CXCL12 et son récepteur CXCR4 participent aux mécanismes de résistance à l'infection chez la souris [1], suggérant que cet axe de signalisation constitue une cible thérapeutique potentielle. Afin de déterminer plus précisément son rôle dans la progression de l'infection filarienne, nous avons utilisé une nouvelle lignée de souris récemment développée dans notre laboratoire qui modélise un syndrome humain d'immunodéficience rare nommé WHIM causé par une mutation gain de fonction de CXCR4. Les « souris WHIM » reproduisent la profonde neutro - lymphopénie observée chez les patients et montrent une thymopoièse ainsi qu'un développement altéré des lymphocytes B et une désorganisation de l'architecture des ganglions lymphatiques [2], qui pourraient leur conférer une susceptibilité plus grande à l'infection. A l'inverse, nos résultats montrent que le succès parasitaire dans ces souris se trouve fortement diminué de plus de 70% comparativement aux souris contrôles. Nos premières observations suggèrent un recrutement cellulaire plus important dans la peau des « souris WHIM » suggérant une réponse locale plus efficace de l'hôte à *L. sigmodontis*. De plus, dans les 15 jours suivant l'infection, se développe dans les « souris WHIM » une neutrophilie significative qui normalise le nombre de neutrophiles circulants et ce parallèlement à la lymphopénie qui reste inchangée tout au long de l'infection. Des analyses sont en cours afin d'identifier les mécanismes cellulaires qui sous - tendent cette réponse de l'hôte dépendante de l'axe CXCL12/CXCR4 en réponse à l'infection filarienne et en particulier de caractériser le rôle des neutrophiles.

### Références

- [1] Bouchery, T., Dénécé, G., Attout, T., Erhard, K., Lhermitte - Vallarino, N., Hachet - Haas, M., Galzi, J.L., Brottin, E., Bachelerie, F., Gavotte, L., Moulia, C., Bain, O. and Martin, C. (2012) The chemokine CXCL12 is essential for the clearance of the filaria *Litomosoides sigmodontis* in resistant mice. Plos One 7(4):e34971.
- [2] Balabanian, K., Brottin, E., Biajoux, V., Bouchet - Delbos, L., Lainey, E., Fenneteau, O., Bonnet, D., Fiette, L., Emilie, D. and Bachelerie F. (2012) Proper desensitization of CXCR4 is required for lymphocyte development and peripheral compartmentalization in mice. Blood 119(24): 5722 - 30.

## ***Haemoproteus iwa* associé aux frégates du Pacifique (*Fregata minor*) dans les îles de l'Ouest de l'Océan Indien.**

BASTIEN M.<sup>1</sup>, JAEGER A.<sup>2</sup>, LE CORRE M.<sup>2</sup>, TORTOSA P.<sup>1</sup>, LEBARBENCHON C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centre de Recherche et de Veille sur les Maladies Émergentes dans l'Océan Indien (CRVOI), GIP CYROI, 2 Rue Maxime Rivière, 97491 Sainte Clotilde, Ile de la Réunion

<sup>2</sup> Laboratoire d'Ecologie Marine (ECOMAR FRE3560 INEE - CNRS), Université de La Réunion, 15 avenue René Cassin, 97477 Saint Denis, Ile de la Réunion

La présence de parasites sanguins du sous - genre *Haemoproteus* a été démontrée chez les oiseaux marins, en particulier chez les Suliformes. Ce parasite est transmis par une mouche hippobosque du genre *Olfersia* et il a récemment été suggéré une forte spécificité entre ce vecteur et son hôte vertébré. Dans la présente étude, nous avons mesuré la prévalence d'infection par des *Haemoproteus* chez des Suliformes et des mouches hippobosques de deux îles océaniques de l'Ouest de l'Océan Indien : Europa et Tromelin. Au total, 209 échantillons sanguins ont été collectés sur des Frégates du Pacifique (*Fregata minor*), des fous masqués (*Sula dactylatra*) et des fous à pieds rouges (*Sula sula*) ainsi que 41 mouches hippobosques prélevées directement sur les oiseaux. Les échantillons provenant de 17 frégates et d'une mouche, collectés sur Europa et testés par PCR pour la présence de parasites *Haemoproteus*, se sont révélés positifs. Les séquences partielles au locus cyt b révèlent un haplotype unique pour les différents échantillons positifs. Cet haplotype est identique à un haplotype d'*Haemoproteus iwa* rapporté chez des frégates de l'Océan Pacifique et des Caraïbes. Nous avons également détecté un *Plasmodium* chez une frégate d'Europa sans pour autant avoir pu en déterminer l'espèce par des analyses phylogénétiques. Dans cette étude, nous avons mis en évidence la transmission de parasites sanguins chez les oiseaux marins de l'Ouest de l'Océan Indien et suggérons que les migrations entre les Océans Pacifique et Indien pourraient favoriser la dispersion à large échelle d'*Haemoproteus iwa* dans les populations de frégates.



**Sociétés Française de  
MYCOLOGIE MEDICALE**

**Communications orales**

22 et 23 mai 2014



## QUELQUES DECADES DE RECHERCHES SUR *CANDIDA ALBICANS* : DE SURPRISES EN SURPRISES

POULAIN Daniel

Université de Lille 2, Unité INSERM 995 Équipe 2, CHRU Lille

Les dernières décades ont fermement établi l'importance de l'incidence des candidoses qu'elles soient vaginales, oro - pharyngées, en association avec le SIDA, ou encore systémiques, en association avec les progrès médico - chirurgicaux en milieu hospitalier avec, dans ce dernier cas, une mortalité directement attribuable insoupçonnée. Ces constats ont abouti à des investissements financiers industriels et académiques considérables. Le séquençage du génome de *Candida albicans* –second organisme séquencé après la cellule eucaryote modèle *Saccharomyces cerevisiae* – fut déterminant dans l'essor de recherches, amplifié par les progrès technologiques et l'évolution des connaissances en biologie cellulaire, biochimie, immunologie et physiopathologie. Nombre de dogmes ont été remis en question et continuent de l'être. Surprenant, est sans doute le terme le plus approprié pour décrire cet organisme banal que nous hébergeons.

Nous voudrions, lors de ce bref exposé rapporter un certain nombre de surprises que les recherches translationnelles sur cette levure nous ont réservées des aspects fondamentaux à la biologie clinique. Plus que des facteurs de virulence, longtemps recherchés, c'est d'abord à une plasticité - permettant à *C. albicans* de s'adapter aux conditions imposées ou permises par l'hôte - que ce microbe doit son rang d'opportuniste majeur. La plasticité s'exprime au niveau génomique par des processus de recombinaison, de conjugaison atypique et un cycle sexué récemment découvert. En aval des machineries transductionnelle, traductionnelle et post - traductionnelle cytoplasmiques, c'est la paroi, interface réactionnelle avec l'hôte sain ou malade qui représente l'effecteur sophistiqué. Les sources d'étonnement y abondent, depuis le « détournement » des fonctions d'ancrage membranaire des glycosylphosphatidyl inositol, aux protéines mimant les substrats enzymatiques endogènes, aux glycolipides excrétés au contact des cellules et susceptibles d'induire leur apoptose. La complexité atteint son apogée pour les processus de glycosylation, avec des glycosyltransférases répondant aux moindres variations des conditions environnementales et qui, selon la nature du sucre ajouté, vont complètement changer la perception de la levure par le système immunitaire. Si l'on commence à mieux comprendre le contrôle des candidoses par l'immunité innée, notamment grâce aux mutations conduisant aux candidoses chroniques, de nouveaux champs d'investigation s'ouvrent concernant les relations entre *C. albicans* et une réponse inflammatoire exacerbée comme dans le cas de la maladie de Crohn et des syndromes de reconstitution immunitaire. L'effet systémique des molécules relarguées par les *Candida* est et reste un domaine d'investigation des plus riches. Les progrès des analyses physico - chimiques et notamment de la spectrométrie de masse nous réservent encore des découvertes sur ces interfaces moléculaires, dont le champ est accessible aux laboratoires de mycologie clinique.

# MANNOSE BINDING LECTIN MODULATES INTESTINAL INFLAMMATION AND *CANDIDA ALBICANS* COLONIZATION IN MICE

CHOTEAU Laura<sup>1</sup>, DUBUQUOY Laurent<sup>2</sup>, TAKAHASHI Kazue<sup>3</sup>, COLOMBEL Jean - Frédéric<sup>4</sup>, POULAIN Daniel<sup>1,5</sup>, JOUAULT Thierry<sup>1</sup>, SENDID Boualem<sup>1,5</sup>, JAWHARA Samir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Lille 2, Unité INSERM 995 Équipe 2

<sup>2</sup>Unité Inserm 995, Equipe 1

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA

<sup>4</sup>Department of Gastroenterology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA

<sup>5</sup>CHRU Lille

**Introduction:** Mannose binding lectin (MBL) is a soluble lectin of innate immune system that activates the lectin complement pathway and enhances phagocytosis of microorganisms by leukocytes. MBL can recognize different patterns on the surface of different pathogens including *Candida albicans*. This pathogenic yeast is an immunogen for anti - *Saccharomyces cerevisiae* antibody (ASCA), markers of Crohn's disease (CD). Clinically, CD patients are more frequently colonized by *C. albicans* than healthy subjects. Furthermore, CD patients with low or deficient MBL serum levels are associated with high ASCA levels. The aim of our study is to explore the effect of MBL on *C. albicans* colonization and intestinal inflammation in murine model.

**Material and methods:** C57BL/6 (wild-type) mice and MBL Knock - out (KO) mice were administrated by gavage  $10^7$  *C. albicans* at day 1 and given 1.5% dextran - sulfate sodium (DSS) - induced colitis during 2 weeks. Mortality, clinical, histological, and colonization scores were determined in mice.

**Results:** In the absence of DSS treatment, *C. albicans* colonization was higher in MBL KO mice for 7 days than wild - type mice. In contrast, there was no difference in the clinical and histological scores in both WT and MBL KO mice. After the addition of DSS, *C. albicans* CFUs (colony forming unit) were significantly greater in stomach and colon of MBL KO mice than those of wild - type mice. This high *C. albicans* colonization in the gut was associated with dissemination of *C. albicans* in the kidneys and the lungs of MBL KO mice and this finding was not observed in wild - type mice. Both colonization with *C. albicans* and DSS treatment led to a worsening of the clinical and histological scores in MBL KO mice compared to wild-type mice. *C. albicans* colonization associated with colonic inflammation increased the expression of pro - inflammatory cytokines in MBL KO mice compared to wild - type mice.

**Conclusion:** Altogether, MBL plays a crucial role in the innate immune system in providing immune protection against *C. albicans* colonization as well as maintaining intestinal homeostasis. Analyses of the anti yeast antibodies and circulating yeast polysaccharides are ongoing. The cellular mechanisms responsible for the colonization by *C. albicans* in case of MBL deficiency will be explored to explain the phenomenon.

## MODIFICATIONS DE LA PAROI AU COURS DE LA MATURATION DES CONIDIES CHEZ *PSEUDALLESCHERIA BOYDII*

GHAMRAWI Sarah<sup>1</sup>, RENIER Gilles<sup>1,2</sup>, SAULNIER Patrick<sup>3</sup>, CUENOT Stéphane<sup>4</sup>,  
ZYKWINSKA Agata<sup>4</sup>, DUTILH BAS E.<sup>5</sup>, THORNTON Christopher<sup>6</sup>, FAURE Sébastien<sup>7</sup>,  
BOUCHARA  
Jean-Philippe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>L'UNAM Université, Université d'Angers, Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène,  
EA 3142, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU, Angers, France

<sup>3</sup>L'UNAM Université, University d'Angers, INSERM U646, France

<sup>4</sup>L'UNAM Université, Université de Nantes, Institut des Matériaux Jean Rouxel (IMN),  
France

<sup>5</sup>Centre for Molecular and Biomolecular Informatics, Radboud University Medical Centre,  
Nijmegen, The Netherlands

<sup>6</sup>Department of Biosciences, University of Exeter, Exeter, UK

<sup>7</sup>L'UNAM Université, INSERM U694, Angers, France

*Pseudallescheria boydii* se situe au deuxième rang parmi les champignons filamenteux colonisant les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose. Cependant, très peu d'informations sont disponibles concernant ses mécanismes pathogéniques. Il est communément admis que l'infection est initiée par l'inhalation des conidies. Ici, nous avons étudié les modifications dynamiques de la paroi sporale en fonction de l'âge des cultures. La charge électro négative de surface des conidies et l'hydrophobicité de la surface cellulaire augmentent avec l'âge des cultures, suggérant des modifications dans la composition biochimique de la paroi. Deux composants de paroi connus pour leur rôle dans la virulence chez d'autres moisissures opportunistes ont alors été investigués. Le taux de mélanine, qui peut influencer les propriétés de surface, a été évalué par spectrophotométrie UV-visible après extraction à partir de conidies provenant de cultures d'âge variable. De même, les spores ont été directement examinées par résonance électronique paramagnétique (EPR) qui permet d'estimer la production de radicaux libres à partir des intermédiaires de synthèse de la mélanine. Parallèlement à la diminution de l'intensité du signal en EPR qui suggère une polymérisation progressive de la mélanine, on constate une augmentation de la teneur en mélanine avec l'âge des cultures. Ceci est confirmé à l'aide de concanavaline A marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine (Con A-FITC) qui reconnaît les résidus mannose de surface. Les spores provenant de cultures d'âge variable réalisées en présence ou non d'inhibiteurs de synthèse de la mélanine, sont incubées en présence de Con A-FITC et l'intensité de fluorescence en surface des spores est ensuite évaluée par cytométrie en flux. Ces expériences montrent que le blocage de la synthèse de la mélanine se traduit pour les spores matures par une fixation accrue de la Con A-FITC. Parallèlement, nous avons examiné la surface des spores en microscopie de force atomique, mais nous n'avons jamais observé de rodlets. L'ensemble de ces résultats montrent que la paroi sporale est une structure hautement dynamique. Les rhamnomannanes qui sont impliqués dans la reconnaissance des conidies par les cellules immunitaires via le TLR4, sont progressivement masqués par la polymérisation de la mélanine et son accumulation en surface des spores, ce qui leur permet d'échapper aux systèmes de défense de l'hôte. Par ailleurs, ce processus de maturation des conidies devra être pris en compte lors d'études visant à élucider les mécanismes pathogéniques du champignon. Ces expériences devront en effet être réalisées dans des conditions parfaitement standardisées, notamment quant à l'âge des cultures, de manière à éviter toute interférence de variations dans les concentrations relatives des polysaccharides de paroi et de composants masquant ces molécules immunogènes comme la mélanine.

## MOLECULAR CLONING AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF *PNEUMOCYSTIS CARINII* MNSOD

KHALIFE Sara<sup>1</sup>, STANDAERT-VITSE Annie<sup>1</sup>, GANTOIS Nausicaa<sup>1</sup>, JAKOBCZYK Hélène<sup>1</sup>, CHABÉ Magali<sup>1</sup>, POTTIER Muriel<sup>1</sup>, DEI - CAS Eduardo<sup>1</sup>, ALIOUAT El Moukhtar<sup>1</sup>, ALIOUAT Cécile - Marie<sup>1</sup>, DABBOUSSI Fouad<sup>2</sup>, HAMZE Mozer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL), INSERM U1019, CNRS UMR 8204, Université Lille Nord de France, Lille, Institut Pasteur de Lille.

<sup>2</sup>Laboratoire de Microbiologie Santé et Environnement, Centre AZM pour la Recherche en Biotechnologie et ses Applications, Université Libanaise, Tripoli, Liban.

*Pneumocystis jirovecii* is an opportunistic fungal micro-organism responsible for severe pneumonia in immunosuppressed patients. Located in the alveolar space, *P. jirovecii* is exposed to oxidative burst from phagocytic alveolar macrophages and neutrophils. Reactive oxygen species (ROS), including superoxide radicals ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and hydroxyl radical ( $OH^{\bullet}$ ), are also produced endogenously as by-products of oxygen metabolism. The resulting oxidative stress is known to be detrimental to cells by promoting protein oxidation, lipid peroxidation, carbohydrates and DNA damages. To counteract this, microorganisms have developed a specific ROS detoxifying system. This includes superoxide dismutases (SOD) that catalyze the disproportionation of  $O_2^{\bullet-}$  to  $O_2$  and  $H_2O_2$ . To date, little is known about the exposure of *Pneumocystis* organisms to ROS and how they protect themselves against oxidative stress. In a previous work, the *Sod2* gene encoding a protein with a putative MnSOD activity was isolated and characterized from *Pneumocystis carinii* (Denis et al. 1998).

In the present study, the MnSOD deficiency of a *Saccharomyces cerevisiae* mutant strain was complemented by introducing a plasmid carrying an inducible version of the *P. carinii Sod2* gene (*PcSod2*). Expression of *PcSod2* revealed that the corresponding MnSOD recombinant protein could complement the growth defect in the mutant yeast strain when cells were exposed to menadione. The presence of a mitochondrial targeting peptide was predicted by N-term sequencing of the *P. carinii* MnSOD protein. The mitochondrial localization was confirmed by immuno-colocalization of the *P. carinii* recombinant MnSOD with the yeast mitochondrial CoxIV protein. These results suggest that *PcSod2* encodes an active MnSOD that is targeted to the mitochondrion. This work increases our understanding of the antioxidant defense mechanisms deployed by the *Pneumocystis* organisms.

### Références :

Denis C. M., Guyot K., Wakefield A. E., Dive D., Dei - Cas E., Camus D. & Odberg - Ferragut C. 1998. Molecular cloning and characterization of a superoxide dismutase (sod) gene in *Pneumocystis carinii*. J. Eukaryot. Microbiol., 45:475–483.

**ETUDE DE LA COLONISATION PAR *PNEUMOCYSTIS CARINII*  
EN FONCTION DU DEGRE D'IMMUNODEPRESSION  
DANS UN MODELE NATUREL DE TRANSMISSION AERIENNE DU  
MICROCHAMPIGNON**

KHALIFE Sara<sup>1</sup>, CHABE Magali<sup>1</sup>, GANTOIS Nausicaa<sup>1</sup>, AUDEBERT Christophe<sup>2</sup>, POTTIER Muriel<sup>1</sup>, DABBOUSSI Fouad<sup>3</sup>, HAMZE Monzer<sup>3</sup>, HLAIS Sani<sup>3</sup>, ALIOUAT-DENIS Cécile-Marie<sup>1</sup>, ALIOUAT El Moukhtar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université Lille 2, Institut Pasteur de Lille, Centre d'Immunité et d'Infection de Lille (CIIL), INSERM U1019, CNRS UMR 8204, Laboratoire de Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Lille, France.

<sup>2</sup>GENES DIFFUSION, Douai, France

<sup>3</sup>Université Libanaise Ecole doctorale des sciences et de Technologie, Centre Azm pour la recherche en biotechnologies et ses applications, Laboratoire de Microbiologie santé et environnement, Tripoli, Liban.

Les *Pneumocystis* spp sont des microchampignons non cultivables en continu qui colonisent par voie respiratoire les alvéoles pulmonaires de nombreux mammifères. Selon le degré d'altération du système immunitaire, les infections à *Pneumocystis jirovecii* peuvent présenter des tableaux cliniques très variés chez l'homme, allant de la colonisation à la forme la plus grave, mortelle sans traitement, la pneumocystose (PPc). Ces infections semblent être en grande partie liées à des déficits majeurs de l'immunité cellulaire se traduisant plus précisément par une diminution du nombre des lymphocytes T CD4 (LTCD4) dont le rôle est de coordonner la réponse inflammatoire responsable de l'élimination de *Pneumocystis*. De même, la forte incidence de la PPc chez les patients atteints du SIDA ou les patients VIH négatifs recevant un traitement immunosuppresseur (*i.e* greffes d'organes) suggère le rôle central des LTCD4 dans la pathogenèse de cette infection, avec une relation inverse entre le taux de LTCD4 et le risque de développer une PPc.

L'objectif de ce travail est de parvenir à une appréciation quantitative du risque de contamination par *P. carinii* en fonction du degré d'immunodépression (ID) du rat exposé. Pour apprécier le niveau d'immunodépression des rats, notre équipe a mis au point des méthodes adaptées pour réaliser une Numération Formule Sanguine puis, par cytométrie en flux, un comptage précis des taux de LTCD4 et LTCD8. Nous avons ensuite développé un modèle animal de transmission naturelle de *Pneumocystis carinii* où des rats nude développant une pneumocystose (appelés « rats donneurs ») sont mis en contact direct avec des rats Sprague Dawley OFA *Pneumocystis* - free (appelés « rats receveurs ») subissant un traitement immunosuppresseur par la dexaméthasone. Chaque lot de rats receveurs reçoit respectivement 0, 0.1, 0.3, et 2 mg/L de dexaméthasone dans l'eau de boisson. Après 2 semaines de contact entre rats donneurs et receveurs, le niveau de colonisation par *P. carinii* des rats receveurs appartenant à chaque lot d'ID est déterminé par comptage au microscope (après coloration au bleu de toluidine O) ou par qPCR ciblant le gène monocopie codant pour la DHFR (Dihydrofolate Reductase) de *P. carinii*, à partir de l'ADN extrait du culot parasitaire.

Cette étude a permis tout d'abord de valider notre modèle d'ID graduelle chez le rat, dans le sens où nous avons réussi à maintenir pendant 4 semaines des taux stables de LTCD4 et LTCD8 circulants pour chaque dose de dexaméthasone testée. Enfin, et pour la première fois dans un modèle expérimental chez le rat, nous avons observé une relation inverse entre le niveau de colonisation par *P. carinii* et le taux de LTCD4 ou LTCD8 circulants. Ces études sur la transmission de *P. carinii* associées aux données pouvant être collectées chez l'homme, apporteront les premiers éléments conduisant à l'appréciation quantitative du risque d'infection aéroportée par *Pneumocystis* en fonction du statut immunitaire de l'hôte.

## MODELE *IN VIVO* ET *EX VIVO* DE COLITE INFLAMMATOIRE CHEZ LE RAT BN ET LEW

FLORI Pierre<sup>1</sup>, BAZUS Lucie<sup>1</sup>, COURBON Guillaume<sup>1</sup>, DEVOS Marie<sup>1</sup>, CHENEVIER Elodie<sup>1</sup>, RABERIN Hélène<sup>1</sup>, CAVAILLES Pierre<sup>2</sup>, ROBLIN Xavier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EA 3064, Faculté de Médecine de Saint - Etienne  
CNRS, UMR 5163, Institut Jean Roget, Université Joseph Fourier, Grenoble

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin, induite par une réaction inflammatoire excessive. Elle résulte de facteurs génétiques et environnementaux. Les colonisations fongiques digestives et le polymorphisme des gènes codant des protéines qui contrôlent l'orientation et la régulation du système immunitaire (SI), comme le récepteur NLRP3 et les protéines de l'autophagie, semblent impliqués dans la pathogenèse de la MC (1). La MC est mimée par la colite inflammatoire (CI) induite par Dextran Sulfate Sodium (DSS) chez le rat. Dans un premier temps et à la suite de nos travaux expérimentaux sur la susceptibilité différentielle des rat BN et LEW à la toxoplasmose (2), nous avons développé, avec ces mêmes rats, un modèle *in vivo* de colite inflammatoire. Comme pour de nombreuses affections (3), les rats LEW (prédisposés à développer des pathologies de type Th1) vont présenter une sensibilité importante à la colite inflammatoire (réponse Th1 exacerbée) contrairement aux rats BN. Dans un second temps, nous avons développé un modèle *ex vivo* sur les macrophages de ces rats sachant que ces macrophages sont des cellules du SI impliquées dans la MC. Nous avons étudié l'induction d'autophagie dans ces macrophages à la suite de différents stimuli, dont le zymosan, mélange de composants des parois des levures. Pour cela, nous avons marqué des autophagosomes par un anticorps anti-LC3 et par lysotracker, puis effectué la lecture par immunofluorescence. Nous avons constaté que le DSS et le zymosan induisent la formation d'autophagosomes de manière importante dans les macrophages des rats BN et très faiblement pour les LW. Ce défaut d'autophagie des macrophages LW est visible dès 4h après stimulation. Le défaut d'autophagie des macrophages LW est, à associer au défaut d'autophagie retrouvé chez les patients atteints de MC. Ce mécanisme d'autophagie permettrait la régulation du SI innée par, notamment, un contrôle de l'inflammation. Nos résultats concernant le zymosan conforte également le rôle potentiel de *C.albicans* dans la MC, et certainement le rôle de NLRP3 dans le déclenchement de la pathologie.

### Références bibliographiques

- (1) Rehaume et al., Trends Immunol, 2010
- (2) Cavailles et al., PLOS Pathogens, 2014
- (3) Bernard et al., Methods Mol Biol, 2010

# EVALUATION OF THE RISK OF FUNGAL COLONIZATION/INFECTION IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS: AN INTERNATIONAL PROSPECTIVE STUDY COMPARING THE PERFORMANCE OF MEDIA FOR MYCOLOGICAL CULTURING MUCOFONG INTERNATIONAL PROJECT (MFIP)

TOUATI Kada<sup>1</sup>, FAURE - COGNET Odile<sup>2</sup>, CORNET Muriel<sup>2</sup>, BOTTEREL Françoise<sup>3</sup>, DANNAOUI Eric<sup>4</sup>, MORIO Florent<sup>5</sup>, LEPAPE Patrice<sup>5</sup>, GRENOUILLET Frédéric<sup>6</sup>, FAVENNEC Loic<sup>7</sup>, LE GAL Solène<sup>8</sup>, NEVEZ Gilles<sup>8</sup>, BORMAN Andrew<sup>9</sup>, SAEGEMAN Veroniek<sup>10</sup>, LAGROU Katrin<sup>10</sup>, GOMEZ Elia<sup>11</sup>, CARO - LUIS Maiz<sup>11</sup>, CANTON R.<sup>11</sup>, CAMPANA Silvia<sup>12</sup>, BUZINA Walter<sup>13</sup>, CHEN Sharon<sup>14</sup>, MEYER Wieland<sup>14</sup>, ROILIDES Emmanuel<sup>15</sup>, SIMITSOPOULOU Maria<sup>15</sup>, MANSO Esther<sup>16</sup>, CARIANI Lisa<sup>17</sup>, BIFFI Arianna<sup>17</sup>, FISCARELLI Ersilia<sup>18</sup>, RICCIOTI Gabriella<sup>18</sup>, SENDID Boualem<sup>1</sup>, PIHET Marc<sup>19</sup>, BOUCHARA Jean - Philippe<sup>19</sup>, DELHAES Laurence<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU Lille, Service de Parasitologie-Mycologie, Université Lille 2, <sup>2</sup>University of Grenoble, <sup>3</sup>University of Paris 12, <sup>4</sup>University of Paris 5, <sup>5</sup>University of Nantes, <sup>6</sup>Besaçon University Hospital, <sup>7</sup>University of Rouen, <sup>8</sup>University of Brest, <sup>9</sup>Health Protection Agency Bristol, <sup>10</sup>University of Leuven, <sup>11</sup>University of Madrid, <sup>12</sup>University of Florence, <sup>13</sup>University of Graz, <sup>14</sup>University of Sydney, <sup>15</sup>University of Thessaloniki, <sup>16</sup>Ancona Hospital, <sup>17</sup>Polyclinic Hospital of Milan, <sup>18</sup>Bambino Children's Hospital Rome, <sup>19</sup>University of Angers

**Background:** The major cause of morbidity and mortality in Cystic Fibrosis (CF) is pulmonary disease; the role of fungal infection is increasingly recognized in this lung impairments.

**Objectives:** The MFIP study aimed (i) to investigate the frequency of fungi isolated in sputum samples from a large CF population, and (ii) to evaluate as well as to compare the performance of different semi - selective media used for mycological culture, in order to propose a standardized protocol of this analysis suitable in conventional microbiological laboratories supporting CF units.

**Patients and Methods:** We investigated a total of 469 sputum samples from patients with CF aged 1 - 67 years, followed - up in 19 centers: 18 Europeans and one Australian. Sputum samples were inoculated on 8 media: Chromogenic medium (CM), YPDA or Sabouraud medium (YPDAS), \*Dichloran - rose Bengal Benomyl agar (DRBBA), \*Sce - Sel+ medium (SSM), \*YPDA plus chloramphenicol at high concentration and cycloheximide (YPDACC), \*B+ medium (BM), Erythritol medium (EM). A 1:10 diluted sputum sample was also incubated at 37°C on YPDA or Sabouraud medium (DIYPDA). Culture media were incubated aerobically at 37°C excepted B+ medium and Erythritol media that were incubated at 30°C for 15 days. Growth fungal species were identified on macroscopic and microscopic morphology.

**Results:** 78% of patients had a positive culture for fungi with a significant difference ( $p<0.001$ ) between the age of patients with positive fungal culture and with negative culture. *Candida albicans* was detected with the highest frequency (47.7%); *Aspergillus fumigatus* was the most frequently isolated filamentous fungus (34.5%). A comparison of different culture media showed: The YPDA was the most sensitive medium for the detection of *Aspergillus* spp, SSM for the detection of *Scedosporium* spp and the B+ medium for the detection of *Exophiala* spp. In addition, B+ - medium seems to be the most sensitive medium (global sensitivity was 67.4%), for the overall detection of fungi from CF sputa. A Chair analysis is under process to identify the best medium combination for following - up fungal pulmonary risk in CF.

**Conclusion:** To our knowledge, MFIP study represents the first trial organized at the international level aiming at sharing and coalescing our experience to investigate fungal risk in CF. *Aspergillus fumigatus* was the most frequently isolated filamentous fungus (34.5%). This fungal frequency was significantly correlated to the patient age ( $p<0.001$ ). According to our statistical analysis based on chair method, a medium combination will be proposed as the first standardized protocol for mycological analysis of CF sputum samples.

## IDENTIFICATION DES RESERVOIRS DU COMPLEXE *SCEDOSPORIUM APIOSPERMUM* AU MAROC

MOUHAJIR Abdelmounaim<sup>1</sup>, ZOUHAIR Rachid<sup>2</sup>, ANGEBAULT Cécile<sup>3</sup>, JACOB Stéphanie<sup>3</sup>, GIRAUD Sandrine<sup>1</sup>, BOUABID Rachid<sup>4</sup>, BOUGNOUX Marie-Elisabeth<sup>3</sup>, BOUCHARA

Jean-Philippe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Groupe d'Etude des Interactions Hôte - Pathogène, EA 3142, Université d'Angers, Angers, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Biotechnologie végétale et de Biologie Moléculaire, Equipe Mycologie, Faculté des Sciences Université Moulay Ismaïl Meknès, Maroc

<sup>3</sup>Hôpital Necker Enfants Malades, Unité de Parasitologie - Mycologie, Paris, France

<sup>4</sup>Département des Sciences du Sol, Ecole Nationale de l'agriculture, Meknès, Maroc

Au cours de la mucoviscidose, le tableau clinique est dominé par les atteintes de l'appareil respiratoire qui conditionnent la qualité de vie des patients. Les altérations de la clairance muco-ciliaire et l'épaississement du mucus bronchique résultant de la mutation du gène CFTR (Cystic Fibrosis transmembrane Conductance Regulator) favorisent en effet le piégeage des bactéries et des spores fongiques inhalées et fournissent un environnement favorable à la croissance des microorganismes. Les voies respiratoires des patients sont donc fréquemment colonisées par des microorganismes, parfois à l'origine de véritables infections respiratoires qui constituent la principale cause de morbidité et de mortalité dans ce contexte. Les bactéries sont de loin les agents les plus fréquents de ces colonisations/infections, mais de nombreux champignons filamenteux peuvent aussi être rencontrés, notamment les espèces du complexe *Scedosporium apiospermum/Pseudallescheria boydii* qui se situent au deuxième rang parmi les champignons filamenteux colonisant l'arbre bronchique. Ces champignons présentent une très faible sensibilité intrinsèque aux antifongiques systémiques actuels, y compris le voriconazole, ce qui renforce l'intérêt de mesures prophylactiques visant à réduire l'exposition aux spores de ces champignons et ainsi le risque de contamination des patients. Cependant, leur écologie et les sources de contamination restent encore mal connues.

Afin d'améliorer les connaissances sur l'écologie des différentes espèces du complexe *S. apiospermum/P. boydii*, 180 prélèvements de terre ont été réalisés dans différents biotopes et différentes villes au Maroc. La présence de ces champignons a été recherchée par mise en culture des échantillons de terre sur trois milieux semi-sélectifs : le milieu dichloran - rose Bengale - chloramphénicol - agar (DRBC) additionné de bénomyl, le milieu Sce - Sel+ et le milieu Scedo - Sélect III développé au laboratoire. Les cultures ont été incubées à 37°C et les identifications ont été réalisées d'après les caractères morphologiques (morphologie macroscopique et microscopique). Parallèlement, différents paramètres physico - chimiques ont été évalués sur les échantillons de sol afin de caractériser l'habitat des espèces du complexe *S. apiospermum/P. boydii*. Dans ce but, les différents isolats obtenus pour ce complexe ont été identifiés par spectrométrie de masse de type MALDI - TOF à partir de cultures pures.

Les résultats obtenus démontrent la présence des espèces du complexe *S. apiospermum/P. boydii* au Maroc, et confirment l'influence des activités humaines sur leur écologie. En effet, 6,6% des sites naturels prélevés (forêts et plages) sont positifs (représentant seulement 4% de l'ensemble des colonies obtenues pour ces champignons), contre 32,5%, 45%, 65% et 80% respectivement pour les espaces verts en milieu urbain, les zones potentiellement polluées par des hydrocarbures, les zones agricoles, et l'habitat intérieur. D'autre part, cette étude confirme la haute sélectivité du milieu Scedo - Sélect III, le complexe *S. apiospermum/P. boydii* représentant 12% des colonies obtenues sur ce milieu alors qu'il représente moins de 4% des colonies obtenues sur géloses Sce - Sel+ ou DRBC - bénomyl.



# ETUDE DE LA FORMATION DE BIOFILM PAR *CANDIDA ALBICANS* ET DE LA RESISTANCE DU BIOFILM A L'AMPHOTERICINE B

BENDJELLOUL Meriem<sup>1</sup>, BOUCHERIT Kebir<sup>2</sup>, BOUCHERIT-OTMANI Zahia<sup>1</sup>,  
ANSELME-BERTRAND Isabelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Université de Tlemcen, Algérie

<sup>2</sup>Centre universitaire de Nâama, Algérie

<sup>3</sup>Faculté de Médecine, Saint - Etienne, France

**Introduction** : La pose d'un cathéter est effectuée chez environ deux tiers des patients hospitalisés (65,3%) pour une durée moyenne de pose de 12,2 jours (médiane = 8 jours) [1]. Ces matériels peuvent être colonisés par certains agents microbiologiques responsables d'infections invasives. Les levures du genre *Candida* représentent la deuxième cause de ces infections sur matériel et sont maintenant clairement associées à la formation d'un biofilm.

**Objectif** : Nous nous proposons d'évaluer *in vitro* la capacité des souches de *Candida* à former un biofilm et celle des antifongiques à traiter ce biofilm.

**Matériel et Méthodes** : Dix souches hospitalières de *Candida albicans* (Ca1 à Ca10) isolées de cathéters ont été évaluées pour la formation de biofilm. La masse cellulaire produite a été quantifiée par deux techniques différentes : coloration par le cristal violet et réduction de sels de tétrazolium (détermination des sCMI). La formation de biofilm à *C. albicans* a été confirmée par microscopie électronique à balayage.

**Résultats et discussion** : Les résultats obtenus par la coloration par le cristal violet révèlent une différence dans la capacité à former un biofilm selon les souches testées. Le biofilm de *C. albicans* Ca4 a une absorbance qui ne dépasse pas 0,01nm, ce qui explique le taux faible du biofilm formé, tandis que 7 autres souches (Ca1, Ca3, Ca5, Ca6, Ca7, Ca8 et Ca9) présentent une formation moyenne de biofilm avec une absorbance qui varie entre 0,01 et 0,05nm. En revanche, on observe une augmentation significative de l'absorbance de la souche Ca10 (0,150nm). Enfin, la souche de *C. albicans* Ca2 se démarque très nettement de Ca10 par une absorbance très significative qui dépasse 1nm.

Les CMI des cellules sessiles (sCMI) des souches Ca2 et Ca10, vis-à-vis de l'amphotéricine B, sont respectivement de 2 et 8 µg/ml. Ces valeurs sont nettement supérieures à celles de leur homologue planctonique (CMI 0,5 µg/ml pour Ca2 ainsi que pour Ca10). Ces résultats révèlent que les levures *C. albicans* dans les biofilms, sont beaucoup plus résistantes que leurs congénères planctoniques.

Par microscopie électronique à balayage, le biofilm à *C. albicans* constitue un réseau dense de blastopores, d'hyphes et de pseudohyphes. Une observation attentive permet de constater la présence d'une fine couche qui s'étale sur la surface du cathéter. Cette couche constitue la matrice extracellulaire du biofilm qui s'est déshydratée suite aux manipulations de fixation nécessaire à l'observation au MEB.

**Conclusion** : Il ressort de notre étude que toutes les souches de *C. albicans* testées présentent une capacité à former des biofilms. La sévérité des infections sur cathéters est liée à la très faible sensibilité des biofilms à l'amphotéricine B, les cellules sessiles de *Candida albicans* (formant des biofilms) étant plus résistantes que leurs congénères planctoniques. Pour compléter cette étude, il serait souhaitable d'évaluer les mécanismes moléculaires qui conduisent à la formation des biofilms à *Candida albicans* afin d'arriver à mettre au point de nouvelles molécules thérapeutiques efficaces contre ces biofilms.

## Référence bibliographique :

[1]. GRINAND N. 2012. Les biofilms à *Candida* spp : Epidémiologie et sensibilité aux antifongiques. Thèse de doctorat, Université de Nantes.

## ETUDE RETROSPECTIVE SUR LES DERMATOPHYTOSES SEVERES CHEZ LES PATIENTS TRANSPLANTES D'ORGANE

LANTERNIER Fanny, ROUZAUD Claire, SCEMLA Anne, LORTHOLARY Olivier  
Hôpital Universitaire Necker Enfants malades

**Etat des lieux** : Les dermatophytes sont des champignons filamenteux de trois genres *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Microsporum* responsables d'infections superficielles : intertrigos, dermatophytoses de la peau glabre, teignes et onychomycoses. Elles sont fréquentes et bénignes dans la population générale. En effet la prévalence des mycoses superficielles est de 20 à 25% à travers le monde et serait en augmentation (1).

Chez les patients transplantés d'organe, la prévalence des dermatophytoses a été évaluée entre 10 et 25% (2). La prévalence ne paraît pas augmentée dans cette population (3). Cependant des formes extensives et/ou invasives sont rapportées chez les patients immunodéprimés. Il peut s'agir de patients transplantés (2) d'organe mais aussi infectés par le VIH (4) ou, plus récemment rapporté, atteints de déficit autosomique récessif en CARD9 (5). L'infection est atypique soit par son caractère extensif soit elle est invasive, ne se limite pas à la couche cornée, mais touche le derme et parfois l'hypoderme, puis peut disséminer. Trois formes de dermatophytose invasive ont été décrites : granulome de Majocchi, dermatophytose profonde du derme et dermatophytose systémique disséminée. Cliniquement la présentation des dermatophytoses sur ce terrain est donc très variable. L'évolution est souvent chronique. Leur prise en charge n'est pas codifiée et ces entités sont mal connues. Elle concerne une population fragile pour laquelle le retard diagnostique peut avoir d'importantes répercussions.

**Objectifs** : Décrire les critères épidémiologiques, cliniques, microbiologiques, anatomopathologiques et la prise en charge des dermatophytoses extensives et/ou invasives (avec atteinte du derme et/ou dissémination) chez les patients transplantés d'organe.

**Méthode** : Étude rétrospective multicentrique en France de 2000 à 2014. Critères d'éligibilité : diagnostic prouvé d'infection invasive (avec atteinte du derme et/ou dissémination) ou extensive à dermatophytes chez un patient transplanté d'organe. Chaque cas sera rapporté selon un questionnaire standardisé.

### Références bibliographiques :

- (1) Havlickova B et al, Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses* 2008; 51(Suppl 4):2 - 15.
- (2) Romero FA et al, Majocchi's granuloma in solid organ transplant recipients. *Transpl. Infect. Dis.* 2011; 13: 424 - 432.
- (3) TülinGüleç A et al, Superficial fungal infections in 102 renal transplant recipients: A case - control study. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2003; 49:187 - 92.
- (4) Muñoz - Pérez MA et al, Extensive and deep dermatophytosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitalis* in an HIV - 1 positive patient. *JEADV*. 2000; 14, 61- 63.
- (5) Lanternier F et al, Deep dermatophytosis and inherited CARD9 deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(18): 1704 - 14.

# ETUDE RETROSPECTIVE NATIONALE SUR LES INFECTIONS A *CANDIDA* DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL

CHAUSSADE Hélène<sup>1</sup>, BERNARD Louis<sup>1</sup>, CAZALS Xavier<sup>2</sup>, LORTHOLARY Olivier<sup>3,4</sup>,  
LANTERNIER Fanny<sup>3,4,5</sup>

<sup>1</sup>Service de Médecine interne et Maladies infectieuses, CHU Bretonneau, Tours

<sup>2</sup>Service de Neuroradiologie, CHU Bretonneau, Tours

<sup>3</sup>Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Necker, Paris

<sup>4</sup>Centre National de Référence Mycologie et Antifongiques (CNRMA), Institut Pasteur, Paris

<sup>5</sup>Laboratoire de Génétique Humaine des Maladies Infectieuses, INSERM U980, Université Paris Descartes, Faculté Necker, Paris

## Introduction

Les candidoses invasives sont la première cause d'infections fongiques invasives en France. Parmi ces infections, les localisations neurologiques sont rares et associées à un pronostic péjoratif. Les données de la littérature reposent sur des séries de cas ou autopsiques. Leurs caractéristiques épidémiologiques et cliniques sont donc peu connues. La prise en charge thérapeutique repose sur des recommandations de faible grade qui ne précisent pas la durée de traitement et n'intègrent pas les nouvelles molécules disponibles. De même, les facteurs de risque restent à préciser à l'image du déficit en CARD9 récemment identifié comme facteur de risque de ces infections (1). En raison de la rareté des localisations cérébrales, il est important de constituer une cohorte rétrospective des infections du SNC à *Candida* spp. à l'échelle nationale.

## Objectifs

Décrire l'épidémiologie, la présentation clinique et neuroradiologique et l'évolution des infections du SNC à *Candida* spp. en France.

Décrire la prise en charge thérapeutique antifongique, neurochirurgicale et le pronostic.

Rechercher une cause immunogénétique chez les patients sans facteur de risque identifié.

## Matériel et méthodes

Étude rétrospective multicentrique nationale en France entre 2007 et 2012.

Critères d'éligibilité : diagnostic d'infection du SNC à *Candida* spp. prouvée selon les critères EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) 2008, infection communautaire ou liée aux soins et survenue après les 28 premiers jours de vie. Chaque cas sera rapporté à l'aide d'un questionnaire standardisé. Il comprendra des rubriques sur : l'épidémiologie, la clinique, les données para - cliniques, biologiques, l'imagerie, l'histologie et la culture de tissu, le traitement antifongique, le traitement neurochirurgical et l'évolution. Les imageries cérébrales initiales et de suivi seront relues après anonymisation selon une grille de lecture pré établie. En l'absence de facteur de risque, proposition de participation au protocole de recherche INSERM C 10 - 14 (Unité de Génétique Humaine des maladies infectieuses, Institut Imagine) ayant pour objectif d'identifier une étiologie immunogénétique à l'infection, en premier lieu un déficit en CARD9.

## Référence bibliographique :

(1) Lanternier F et al. Inherited CARD9 deficiency in otherwise healthy adults with encephalitis caused by *Candida*. Submitted.

## APPORT DU SEQUENÇAGE A HAUT DEBIT EN MYCOLOGIE MEDICALE

BOTTEREL Françoise

Laboratoire de Parasitologie - Mycologie. APHP, DHU VIC

L'utilisation actuelle des technologies haut-débit de séquençage nouvelle génération change les pratiques du paysage scientifique en microbiologie, et notamment en mycologie médicale. Le séquençage à haut débit **HTS** (pour *High-Throughput Sequencing*) aussi appelé **NGS** (pour *Next-Generation Sequencing*) est un ensemble de méthodes apparues à partir de 2005 permettant de séquencer un grand nombre de fragments simultanément à partir de molécules uniques d'ADN. Ces méthodes s'affranchissent des étapes de clonage et de constitution de banques génomiques.

Nous aborderons d'abord le principe commun aux différentes technologies de NGS avant de comparer les intérêts et limites de chacune d'entre elles. Nous aborderons ensuite les applications possibles en mycologie suivies de quelques exemples :

- (i) **approche génomique** permettant, grâce au séquençage d'un génome complet ou d'une portion de génome, d'aborder l'épidémiologie moléculaire des champignons et la détection de facteurs de virulence,
- (ii) **approche de détection des résistances** avec un séquençage « en profondeur » de régions restreintes pour mettre en évidence des variations génétiques très faiblement représentées au sein d'un échantillon,
- (iii) **approche métagénomique** qui étudie la diversité microbienne d'un écosystème dans son ensemble (microbiote) au sein d'échantillons cliniques complexes (selles, prélèvements respiratoires, ...). La métagénomique permet aussi de découvrir des nouvelles séquences, provenant d'espèces non décrites inconnues.

Grâce à ces techniques de séquençage à haut débit, il est donc désormais possible de détecter et de caractériser rapidement des agents pathogènes connus ou émergents, d'observer des infections causées par plusieurs agents pathogènes et de cartographier les populations fongiques et leurs sous-populations. On peut aussi s'interroger sur les différences microbiologiques entre Homme « sain » et « malade » et de progresser dans la physiopathologie et les étiologies de certaines maladies infectieuses. Néanmoins, ces nouvelles technologies nécessitent des évaluations indépendantes et comparatives qui restent à définir selon les besoins de notre discipline afin de répondre à des questions précises avant de passer à une échelle plus large en pratique clinique.

**APPORT DU SEQUENÇAGE A HAUT DEBIT A LA COMPREHENSION  
DES MECANISMES IMPLIQUES DANS L'EVOLUTION DU GENOME  
DE *CANDIDA ALBICANS***

BOUGNOUX Marie- Elisabeth

Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

## MALDI-ToF EN MYCOLOGIE : DU MICROSCOPE AU NUMERIQUE

RANQUE Stéphane<sup>1,2</sup>, NORMAND Anne-Cécile<sup>1</sup>, CASSAGNE Carole<sup>1,2</sup>, GAUTIER-AVELLAN Magali<sup>1,2</sup>, L'OLLIVIER Coralie<sup>1,2</sup>, HENDRICKX Marijke<sup>3</sup>, PIARROUX Renaud<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Parasitologie-Mycologie, APHM, CHU Timone, Marseille, France

<sup>2</sup>Aix-Marseille Université, IP-TPT UMR MD3, Marseille, France

<sup>3</sup>BCCM/IHEM : Scientific Institute of Public Health, Mycology & Aerobiology Section, Bruxelles, Belgique

Depuis cinq ans, la spectrométrie de masse MALDI-ToF a révolutionné la paillasse de microbiologie en améliorant la qualité et la rapidité de l'identification des bactéries et des levures. Mais les systèmes commercialisés se sont heurtés à la complexité de l'identification des champignons filamenteux et leurs bases de données restent incapables d'identifier l'ensemble des champignons analysés en routine dans un laboratoire spécialisé en mycologie. C'est pourquoi, au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Marseille, nous avons mis au point une méthode de construction de spectres de références adaptée à l'identification de champignons filamenteux puis développé une banque de spectres de références en collaboration avec la collection BCCM/IHEM.

Depuis novembre 2011, un spectromètre de masse MALDI-ToF couplé à notre banque de spectres de références est la première ligne d'identification de l'ensemble des champignons analysés en routine au laboratoire. Au bénéfice de la prise en charge des patients, nous avons constaté une diminution de 48h du délai moyen de rendu des résultats. L'identification des levures est performante avec les systèmes commercialisés ; c'est l'amélioration de la précision d'identification des champignons filamenteux, liée à la qualité de notre banque de références, qui bouleverse véritablement nos pratiques. Par exemple : avant le MALDI-ToF nous avons identifié en routine l'espèce de 66.8% de 247 champignons filamenteux, avec une diversité de 16 espèces. Sur ces mêmes isolats, ré-identifiés avec la procédure incluant le MALDI-ToF, nous avons identifié 98.8% des isolats, soit une augmentation de 32% du nombre d'isolats identifiés à l'espèce, avec une diversité de 42 espèces, soit une augmentation d'un facteur 2.6 de la diversité. Il est à noter que déjà 97.6% de ces isolats avaient été identifiés par MALDI-ToF, les restants par séquençage de l'ADN. Parmi les *Aspergillus* l'identification conventionnelle basée sur la morphologie permettait une identification au niveau de la Section. Nous identifions maintenant en routine des espèces comme *A. lentulus* ou *Neosartorya fischeri* dans la section *Fumigati* ; *A. tubingensis* dans la section *Nigri* ; *A. hortai* ou *A. alabamensis* dans la section *Terrei* ; et dans la section *Usti*, ceux que nous identifions comme des *A. ustus* se sont avérés être des *A. calidoustus* ou des *A. puniceus*.

En mycologie, le MALDI-ToF apporte à nos paillasses de routine une précision d'identification des champignons comparable à celle du séquençage de l'ADN. Cette performance nous confronte aux limites de notre expertise mycologique et soulève de nombreuses questions. Quelle signification donner à ces champignons, que nous ne connaissions pas, isolés chez nos patients et dans leur environnement ? Quel accueil réserveront à ces résultats les cliniciens destinataires ? Quelle sera la place du mycologue dans le laboratoire « numérique » de demain ? Quel avenir pour les systèmes d'identification fermés commercialisés actuellement ? De la microscopie à l'analyse de spectres et autres données numériques qui s'échangent à l'échelle planétaire, cette vision de la mycologie de demain semble vertigineuse. Mais faisons confiance aux mycologues-parasitologues pour savoir trouver les bonnes stratégies adaptatives.

# **FONGEMIES ET TEMPS D'INCUBATION (TDI) : ANALYSE DE 1741 EPISODES PAUGAM André<sup>1</sup>, ANCELLE Thierry<sup>1</sup>, LORTHOLARY Olivier<sup>2,3</sup>, BRETAGNE Stéphane<sup>3,4</sup>, FMSG (French Mycology Study Group)**

<sup>1</sup>Laboratoire de Parasitologie – Mycologie, CHU Cochin, Université Paris - Descartes, APHP, Paris

<sup>2</sup>Service de Maladies Infectieuses, CHU Necker, Université Paris - Descartes, APHP, Paris

<sup>3</sup>CNR des Mycoses et des Antifongiques, Institut Pasteur, Paris

<sup>4</sup>Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU St Louis, Université Paris - Diderot, APHP, Paris. CNR des Mycoses et des Antifongiques, Institut Pasteur, Paris

Nous avons analysé les résultats d'une étude prospective provenant de 17 hôpitaux parisiens et de proches banlieues (2002 - 2009). Les critères d'inclusion étaient l'utilisation du même automate d'hémoculture (BacT/ALERT, bioMérieux) et d'un temps de conservation maximal des hémocultures identique (5 jours).

Sur l'ensemble des fongémies (n=1741) les candidémies représentent 95% du total. Le temps moyen d'incubation est de  $2,17 \pm 0,17$  j. Les TDI extrêmes sont  $1,53 \pm 0,26$  j pour *C. tropicalis* et  $2,97 \pm 0,11$  j pour *C. glabrata* ( $p < 0.0001$ ). Selon que le TDI soit  $\leq 2$  j (n=1221) ou  $> 2$  j (n=520) la distribution des espèces est significativement différente pour les principales espèces isolées (tableau ci - dessous).

Fongémies (n= 1741)	TDI $\leq 2$ j (n=1221)	TDI $> 2$ j (n=520)	p
<i>C. albicans</i> (48,79%, n=867)	54.11% (n=662)	39.42% (n=205)	$p < 10^{-6}$
<i>C. tropicalis</i> (8.67%, n=151)	11.41% (n=139)	2.31% (n=12)	$p < 10^{-6}$
<i>C. parapsilosis</i> (10.28%, n=179)	11.25% (n=137)	8.08% (n=42)	$p=0.03$
<i>C. glabrata</i> (16.59%, n=289)	8.86% (n=108)	34.81% (n=181)	$p < 10^{-6}$
<i>C. krusei</i> (3.21%, n=56)	3.99% (n=49)	1.35% (n=7)	$p = 0.002$
<i>Candida</i> spp (6.49%, n=113)	8.07% (n=99)	2.67% (n=14)	$p < 10^{-5}$
<i>Cr. neoformans</i> (3.21%, n=56)	0.88% (n=11)	8.65% (n=45)	$p < 10^{-6}$
<i>Trichosporon</i> spp + <i>Geotrichum</i> spp + <i>Rhodotorula</i> spp (0. 98%, n=17)	0.88% (n=11)	1.1% (n=6)	p : non significatif
Autres levures (0,75%, n=13)	0.40% (n=5)	1.53% (n=8)	$p = 0.02$

Pour les hémocultures détectées après 48h d'incubation le risque d'isolement de *C. glabrata* devient significativement plus élevé. Un traitement préemptif par fluconazole devrait être évité et les échinocandines privilégiées comme le préconisent les dernières recommandations européennes et américaines. Toutefois, l'isolement de *Cryptococcus neoformans*, intrinsèquement résistant aux échinocandines, proche de 10% ne doit pas être négligé.

Par ailleurs, en dehors de l'espèce, nous avons observé, par analyse multivariée, que les délais d'incubation dépassant 2 jours étaient significativement associés à une transplantation d'organe solide, une hospitalisation en réanimation et à la prescription de fluconazole dans les 30 jours précédents la positivité de l'hémoculture. Ce dernier point peut être étendu aux échinocandines. La survenue d'une candidémie sous antifongiques favorisant l'isolement de *C. glabrata* (1) et augmentant le risque d'isoler une souche résistante (2) est de toute manière un élément contre la prescription de cet antifongique.

Ces données soulignent les limites du traitement préemptif et la nécessité d'une identification directe à partir de l'hémoculture et ceci d'autant plus qu'il s'agit d'une détection tardive ( $> 2$  jours d'incubation).

1. Lortholary et al. Recent exposure to capsosfungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia : a prospective multicenter study involving 2,441 patients. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55: 532 – 538

2. Dannaoui E et al. *Candida* spp. with acquired echinocandin resistance, France 2004 - 2010. Emerg Infect Dis, 2012 ; 18 : 86 - 90

## ETUDE MULTICENTRIQUE PROSPECTIVE FRANÇAISE DE L'UTILISATION DES ANTIFONGIQUES EN ONCO-HEMATOLOGIE EN 2013 : L'ETUDE AFHEM

GANGNEUX Jean-Pierre<sup>1</sup>, EL CHEIKH Jean<sup>2</sup>, CAILLOT Denis<sup>3</sup>, YAKOUB AGHA Ibrahim<sup>4</sup>, MICHALLET Mauricette<sup>5</sup>

<sup>1</sup>CHU de Rennes

<sup>2</sup>Institut Paoli Calmette, Marseille

<sup>3</sup>CHU de Dijon

<sup>4</sup>CHU de Lille

<sup>5</sup>CHU de Lyon

**Introduction :** La mortalité associée aux infections fongiques invasives est élevée ( $\geq 40\%$ ), justifiant de mieux comprendre l'utilisation des antifongiques en onco-hématologie où les patients les plus à risque sont pris en charge. L'objectif était d'étudier la fréquence des traitements antifongiques systémiques en pratique de routine et de caractériser la population des patients bénéficiant de cette prescription.

**Patients et méthodes :** Cette étude observationnelle et transversale a été conduite en 2013 dans 24 services d'onco-hématologie (717 lits dont 368 stériles, environ 20% en pédiatrie) durant 5 jours chez des patients hospitalisés atteints d'hémopathie maligne.

**Résultats :** Dans le registre 655 patients ont été inclus. Parmi les 627 patients évaluable, 276 (44%) ont reçu un antifongique durant les 5 jours, en prophylaxie (n=215), traitement empirique (n=30) ou traitement préemptif/curatif (n=40). 494 patients (13% < 18 ans) ont accepté de participer à l'étude. 38% des patients ont été greffés (147 allogreffes et 41 autogreffes) ; 63% ont été isolés en chambre stérile. A l'inclusion, 87% des patients ne présentaient pas d'IFI, 10% avaient une fièvre persistante et 26% présentaient une neutropénie prolongée (> 10 jours) ; 50% des patients recevaient à la fois un traitement antibiotique et un traitement antiviral et 82% recevaient une chimiothérapie et/ou un anticorps monoclonal et/ou un traitement immunosuppresseur. 41% des patients hospitalisés pour leucémies ne recevaient pas de traitement antifongique, 43% recevaient une prophylaxie antifongique, 6% un traitement empirique et 10% un traitement curatif. 68% des patients hospitalisés pour lymphomes/myélome ne recevaient pas de traitement antifongique ; 84% des patients traités l'ont été à visée prophylactique.

**Conclusion :** Près de la moitié des patients hospitalisés en services d'onco - hématologie ont reçu un traitement antifongique systémique au cours de l'étude. Le traitement empirique ne prédomine plus dans les stratégies antifongiques en onco - hématologie, au profit de la prophylaxie y compris chez des patients atteints de pathologies lymphoïdes. Les facteurs associés à la prophylaxie antifongique étaient l'allogreffe (74% des patients), une neutropénie prolongée (65%), une réponse partielle ou complète à la chimiothérapie (56%), et une entrée en secteur stérile (86%).



## **EPIDEMIE DE PNEUMONIES A *PNEUMOCYSTIS JIROVECHII* CHEZ LES GREFFES RENAUX : AVEZ-VOUS PENSE A LA SALLE D'ATTENTE ?**

BAJOLET Odile<sup>1</sup>, TOUBAS Dominique<sup>2</sup>, NOEL Natacha<sup>3</sup>, WYNCKEL Alain<sup>3</sup>, NEVEZ Gilles<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Equipe opérationnelle d'Hygiène Hospitalière, CHU Reims

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Reims

<sup>3</sup> Service de Néphrologie, CHU Reims

<sup>4</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Brest

*Pneumocystis jirovecii* est un ascomycète dont la transmission aérienne interhumaine est possible. Son épidémiologie présente encore de nombreuses inconnues. *P. jirovecii* est responsable de pneumopathies sévères chez les patients immunodéprimés. Parmi ceux-ci, les patients greffés rénaux traités par immunosuppresseurs représentent une population exposée, en particulier s'ils sont lymphopéniques. Ce risque, majeur en période immédiate post-greffe, n'est pas à négliger à distance de la greffe.

Des cas groupés de pneumonies à *P. jirovecii* (PPC) chez les transplantés rénaux (TR), ont été rapportés en France dès la fin des années 1980. Une enquête nationale réalisée en 2012 auprès des CHU français, a recensé 10 centres ayant observé des cas groupés de PPC, dont 9 dans des unités de TR. Dans 5 de ces centres, le génotypage des souches par analyse multi-locus des isolats a mis en évidence une plus faible diversité des génotypes que dans les populations contrôle, suggérant une population fongique identique et une source commune dans ces cas groupés.

Le but de ce travail est de présenter les mesures de prévention prises lors de la survenue de 18 cas groupés de PPC observés chez des patients suivis en consultations par le service de néphrologie du CHU de Reims. L'analyse des parcours de soins, la détection d'ADN de *P. jirovecii* dans les échantillons d'air, la chronologie de survenue des cas de PPC et le nombre important de consultants associé à l'exiguïté de la Salle d'Attente (SA) (15 m<sup>2</sup>) semblaient en faveur d'une transmission du champignon dans la SA. Pour cette raison, nous avons proposé, en plus des précautions de type gouttelettes mises en place au cours de l'hospitalisation des patients, le port de masque chirurgical pour les patients suivis en consultation. Suite à cette mesure, une diminution drastique du nombre de cas de PPC a été observée (absence de cas dans l'année suivante).

En conclusion, la SA recevant des patients TR apparaît comme un lieu à risque de transmission de *P. jirovecii*. Le port de masques chirurgicaux pourrait être proposé aux transplantés rénaux mais aussi aux autres groupes de patients immunodéprimés à risque (patients traités par corticothérapie, chimiothérapies anticancéreuses ou biothérapies) s'ils doivent séjourner en SA, en raison du risque de transmission de *P. jirovecii* à partir de patients présentant une PPC ou une colonisation pulmonaire.

### **Bibliographie**

- Le Gal S. et al, A cluster of *Pneumocystis* infections among renal transplant recipients: Molecular evidence of colonized patients as potential infectious sources of *Pneumocystis jirovecii*, CID, 2012, 54, 7, e62–71.
- Le Gal S. et al, Cas groupés d'infections à *Pneumocystis jirovecii* en milieu hospitalier. Résultats de l'enquête nationale menée auprès d'ANOFEL, SFMM, Novembre 2013.

# NOUVELLE METHODE DE TYPAGE MOLECULAIRE DE *PNEUMOCYSTIS* *JIROVECI* PAR ANALYSE DE MARQUEURS MICROSATELLITES

GITS-MUSELLI Maud<sup>1</sup>, MENOTTI Jean<sup>1,2,3</sup>, GUIGUE Nicolas<sup>1,2</sup>, HAMANE Samia<sup>1</sup>,  
BRETAGNE Stéphane<sup>1,2,3</sup>, ALANIO Alexandre<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie; AP-HP, Groupe Hospitalier Saint-Louis-Lariboisière-Fernand-Widal

<sup>2</sup> Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité

<sup>3</sup> Institut Pasteur, Unité de Mycologie Moléculaire, CNRS URA3012, Paris, France

**Objectifs :** La pneumocystose est une infection pulmonaire opportuniste sévère causée par le champignon ascomycète *Pneumocystis jirovecii* survenant chez des patients immunodéprimés. La transmission aérienne de *P. jirovecii* survient entre individus immunocompétents considérés comme hôte réservoir et hôtes immunodéprimés. De nombreuses épidémies d'infections à *P. jirovecii* ont été rapportées chez des transplantés rénaux ainsi que dans des unités de pédiatrie, soulignant l'importance du développement de méthode de typage moléculaire afin de caractériser l'acquisition nosocomiale. Des techniques de PCR - SSCP ou de typage MLST sont largement utilisées pour différencier les génotypes. Ces méthodes ne permettent pas de détecter les mélanges de façon rapide et efficace.

**Méthodes :** Nous avons profité de la publication récente du séquençage du génome complet de *P. jirovecii* (Cissé et al. mBio 2013) pour développer une méthode de typage moléculaire basée sur l'étude de marqueurs microsatellites, permettant une détection aisée des mélanges de génotypes (de Valk et al. 2005).

A partir de 10 séquences courtes (2 à 4 bases) répétées en tandem définies à l'aide d'outils bioinformatiques, nous avons sélectionné 6 marqueurs. Une collection de 106 prélèvements respiratoires positifs à *P. jirovecii* par PCR (59 LBA et 47 autres prélèvements respiratoires) issus de 91 patients prélevés entre octobre 2010 et novembre 2013 ont ensuite été testés.

**Résultats :** Parmi ces 106 échantillons, un génotype unique a été observé pour 36 prélèvements (34%) correspondant à 34 patients pour lequel nous avons obtenu 24 génotypes distincts. Nous avons de plus observé des mélanges de génotypes avec  $\geq 1$  marqueur/locus dans 72 (68%) échantillons issus de 57 patients, parmi lequel 48 (45.2%) échantillons issus de 34 patients avaient  $\geq 2$  marqueurs/locus. Aucune différence de répartition des génotypes n'a été objectivée en fonction de la charge fongique ou du type de prélèvements respiratoires (LBA ou expectorations induites). L'étude de ces génotypes, corrélées aux données cliniques des patients nous a permis d'identifier un complexe clonal principalement composé de patients transplantés rénaux.

**Conclusion :** Cette méthode de typage basée sur l'étude des microsatellites apparaît comme fiable pour le génotypage de *P. jirovecii*. Nous avons observé une large proportion de mélanges de génotypes, dont la mise en évidence par les techniques usuelles type MLST ou SSCP serait de réalisation difficile et moins sensible.

## Références bibliographiques

Cissé OH, Pagni M, Hauser PM. De novo assembly of the *Pneumocystis jirovecii* from a single bronchoalveolar lavage fluid specimen from a patient. mBio 2012;4:e00428-00412

de Valk HA, Meis JF, Curfs IM, Muehlethaler K, Mouton JW, Klaassen CH. Use of a novel panel of nine short tandem repeats for exact and high-resolution fingerprinting of *Aspergillus fumigatus* isolates. J Clin Microbiol. 2005 Aug;43(8):4112-20.

## L'HISTOPLASMOSE : UNE MALADIE ANIMALE SOUS - ESTIMEE EN EUROPE ?

GUILLOT Jacques<sup>1</sup>, FANTINI Oscar<sup>2</sup>, GIER Stéphanie<sup>3</sup>, GANTOIS Nausicaa<sup>4</sup>, CHABE Magali<sup>4</sup>, CHERMETTE René<sup>1</sup>, PIN Didier<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons - Alfort

<sup>2</sup>VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon, Marcy l'Etoile

<sup>3</sup>Clinique vétérinaire Saint Bernard, Metz

<sup>4</sup>Institut Pasteur de Lille, Laboratoire BDEEP, Lille

L'histoplasmose dite « à petites formes » est due au champignon dimorphique *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Cette mycose opportuniste est décrite chez des mammifères (notamment l'homme, le chien et le chat) aux Etats - Unis (Etats du centre, du Nord et de l'Est), en Amérique centrale et du Sud, en Afrique intertropicale et du Sud, en Asie du sud - est et en Océanie (notamment la Nouvelle Calédonie). Il est classiquement admis que l'histoplasmose « à petites formes » est absente sur le continent européen sauf dans un foyer en Italie (région de l'Emilie - Romagne). En fait, des cas autochtones d'histoplasmose ont été décrits chez des animaux domestiques (deux chats en Italie et en Suisse, des chiens en Italie et un cheval en Allemagne) ou sauvages (des blaireaux en Allemagne, en Autriche et au Danemark) (Eisenberg et al. 2013, Fischer et al. 2013). Par ailleurs, l'ADN d'*H. capsulatum* a été récemment détecté dans les poumons d'une chauve - souris noctule commune (*Nyctalus noctula*) en France (Gonzalez - Gonzalez et al. 2013). Fin octobre 2013, un chat, mâle castré, âgé de 10 ans, sans antécédent pathologique, a été présenté à la consultation du docteur vétérinaire Stéphanie Gier dans la ville de Metz en Lorraine. Ce chat présentait depuis 2 semaines des lésions cutanées ulcérées sur les membres, la face et les lèvres. Aucun signe respiratoire n'avait été signalé et l'état général n'était pas altéré. L'examen histologique a révélé la présence d'un grand nombre de levures de petite taille (3 - 5 µm, PAS positif) dans le cytoplasme des macrophages. La mise en culture (sur milieu de Sabouraud à 37°C à partir de biopsies de peau et de muqueuse buccale) n'a pas permis d'isoler l'agent fongique mais l'amplification génique (d'une partie du gène Hcp100) et le séquençage direct ont conduit à l'identification de *H. capsulatum*. Les propriétaires n'ont pas souhaité qu'un traitement spécifique soit mis en place et le chat a été euthanasié en novembre 2013. L'autopsie n'a pas été réalisée.

En utilisant une technique MLST, Kasuga et al. (2003) ont montré que les isolats d'*H. capsulatum* peuvent être regroupés en 8 clades en fonction de leur origine géographique. La correspondance entre les clades et les variétés traditionnellement décrites (*capsulatum*, *duboisii* and *farciminosum*) n'est pas évidente. Ainsi, le clade eurasiatique inclut - il des isolats qui ont été identifiés comme appartenant à la variété *capsulatum* ou *farciminosum*. En 2013, il a été démontré que l'infection d'un blaireau en Allemagne était due à un isolat présentant un profil génétique identique à des isolats identifiés comme appartenant à la variété *farciminosum*. Des analyses sont actuellement réalisées pour caractériser plus précisément les isolats retrouvés en France (chez le chat et chez la chauve - souris noctule commune) et déterminer s'ils sont également apparentés à la variété *farciminosum*.

### Références bibliographiques

Eisenberg T et al. Med Mycol. 2013; 51:337 - 44

Fischer NM et al. Vet Dermatol. 2013; 24:635 - e158

González - González AE et al. J Zoo Wildl Med. 2013; 44:15 - 20

Kasuga T et al. Mol Ecol. 2003; 12:3383 - 401

# **IDENTIFICATION DIRECTE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE DES LEVURES PRESENTES DANS LES HEMOCULTURES: QUAND LE 'FAIT MAISON' EQUIVAUT A LA TROUSSE COMMERCIALE**

BONNET Isabelle<sup>1</sup>, KHERRAF Zine – Eddine<sup>1</sup>, BIDART Marie<sup>2</sup>, PELLOUX Hervé<sup>1</sup>,  
BERGER François, CORNET Muriel<sup>1</sup>, MAUBON Danièle<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Département des Agents Infectieux. Institut de Biologie et Pathologie du CHU de Grenoble et Université de Grenoble 1

<sup>2</sup>Plateforme Protéomique et Transcriptomique Clinique, Pôle Recherche, CHU de Grenoble et Unité INSERM 1167, Clnatec, Grenoble

Face à une fongémie, le pronostic du patient est directement corrélé au délai de la prise en charge antifongique. Plusieurs espèces fongiques présentent des résistances intrinsèques à certains antifongiques. Une spéciation précoce est donc essentielle afin d'orienter le choix thérapeutique. Cette adaptation rapide du traitement antifongique est également rendue nécessaire par l'émergence de résistances aux antifongiques et par la maîtrise des coûts. L'identification des levures pathogènes par spectrométrie de masse (SM) sur des cultures se révèle à la fois fiable et rapide. Plusieurs équipes ont développé des protocoles d'identification rapide à partir d'un flacon d'hémoculture positive par spectrométrie de masse MALDI - TOF. Cependant, ces protocoles ont été majoritairement élaborés pour l'identification des bactéries. Ils sont basés sur une étape de lyse cellulaire puis de concentration des micro - organismes (Ferroni, JCM, 2010). Les agents lytiques utilisés sont la saponine, le tween, ou le SDS. La société Bruker daltonics propose une méthode d'extraction standardisée avec la trousse commerciale Sepsityper®, évaluée récemment avec succès sur levures (Yan Y, JCM, 2011).

L'objectif de notre étude était de comparer le Sepsityper® à d'autres méthodes de lyse décrites dans la littérature et à une lyse 'maison', pour l'identification directe des levures à partir des bouillons d'hémocultures. Nous avons utilisé un protocole d'hémocultures artificielles avec les milieux de l'automate BACTEC® (Becton Dickinson) : Mycosis IC/F, Aerobic/F ou plus rarement Anaerobic/F. Trente - sept souches ont été testées (11 *C. albicans*, 5 *C. glabrata*, 4 *C. tropicalis*, 4 *C. krusei*, 5 *C. kefyr*, 4 *C. parapsilosis*, 3 *Cryptococcus neoformans*, 1 *C. dublinensis*). Notre étude a été réalisée sur le système proposé par Bruker daltonics composé d'un MALDI - TOF Microflex et du logiciel Biotyper®.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude préliminaire sur 17 souches. Nous avons mis en évidence que le kit Sepsityper® et le protocole 'maison' améliore considérablement la qualité des spectres obtenus à partir des hémocultures positives à levure comparativement aux méthodes de lyse avec la saponine ou le triton. Nous nous sommes donc restreints dans la suite de l'étude à la comparaison Sepsityper® versus protocole 'maison'.

A partir du milieu Mycosis®, le Sepsityper® et le protocole 'maison' ont donné respectivement des identifications exactes, au niveau de l'espèce, pour 10/11 et 8/9 *C. albicans* ; 4/5 et 4/5 *C. glabrata*, 4/4 et 4/4 *C. tropicalis*, 4/4 et 3/3 *C. krusei*, 4/5 et 5/5 *C. parapsilosis*; 5/5 et 3/4 *C. kefyr*, 3/3 et 3/3 *C. neoformans* et 1/1 et 1/1 *C. dublinensis*. Les résultats sur milieux Aerobic/F ou Anaerobic/F ont été également comparables avec les deux méthodes.

Nos résultats préliminaires montrent que notre protocole 'maison' présente les mêmes performances que le kit Sepsityper® pour l'identification directe des principales espèces de *Candida* spp. et *C. neoformans* à partir des flacons d'hémocultures, dans un délai de résultats de 30 minutes. Le coût de la technique maison a été évalué à 0,025 euros/ réaction contre 5,5 euros TTC pour le kit Sepsityper®, soit 220 fois moins cher. Cette étude doit être complétée par l'étude d'un plus grand nombre de souches et par l'utilisation prospective sur des hémocultures non artificielles. L'impact médico - économique de cet outil sur la prise en charge des patients pourra être évalué dans un second temps.

## ENDOPHTALMIE ASPERGILLAIRE POST-TRAUMATIQUE : A PROPOS D'UN CAS OBSERVE AU CHU DE REIMS

MZABI Alexandre<sup>1</sup>, LARRE Isabelle<sup>2</sup>, GARCIA Tony<sup>2</sup>, COHEN Raphaël<sup>3</sup>, BOULAGNON-ROMBI Camille<sup>4</sup>, GAUDIN Alexandra<sup>1</sup>, DEPAQUIT Jérôme<sup>1</sup>, DUCASSE Alain<sup>2</sup>, VILLENA Isabelle<sup>1</sup>, TOUBAS Dominique<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie - CHU de Reims

<sup>2</sup>Service d'Ophthalmologie - CHU de Reims

<sup>3</sup>Service de Médecine Interne, Maladies Infectieuses, Immunologie Clinique - CHU de Reims

<sup>4</sup>Laboratoire d'Anatomie Pathologique - CHU de Reims

L'endophtalmie fongique post-traumatique est rare en France, à la différence de pays tropicaux comme la Chine et l'Inde (1,2). Elle doit être évoquée devant tout tableau ophtalmologique d'évolution défavorable sous antibiotiques, cette pathologie constituant une urgence thérapeutique. Nous rapportons un cas d'endophtalmie à *Aspergillus* section *fumigati* survenue chez un patient âgé de 36 ans, sans antécédents médicaux particuliers.

Mr X est victime d'un traumatisme de l'œil gauche par branche d'arbre (J0). Il consulte le jour même son médecin traitant qui lui prescrit du Chibro-Cadron<sup>®</sup> (collyre associant dexaméthasone et néomycine) et de la pommade vitamine A. Après 7 jours de traitement local, devant l'absence d'amélioration et des douleurs croissantes de son œil gauche, le patient consulte aux urgences ophtalmologiques du CHU de Reims. L'examen ophtalmologique initial montre un abcès cornéo-limbique avec un œdème périlésionnel et une réaction inflammatoire de chambre antérieure sans hypopion. Devant ce tableau d'abcès cornéen sévère post-traumatique, le patient est hospitalisé : des prélèvements cornéens (grattage) sont réalisés pour examens microbiologiques et un traitement par collyres antibiotiques renforcés est instauré. Les résultats du grattage cornéen sont négatifs, y compris les résultats mycologiques. L'évolution clinique initiale est favorable transitoirement permettant de révéler le caractère transfixiant transcornéen du traumatisme initial et d'évoquer une endophtalmie. Un prélèvement de chambre antérieure de l'œil est alors réalisé au bloc opératoire (J14). La culture mycologique de ce prélèvement est positive à *Aspergillus* section *fumigati*. Le patient est alors mis sous antifongiques par voie générale, associant voriconazole et caspofungine, complété par plusieurs injections intra-vitréennes d'amphotéricine B. L'évolution clinique est malheureusement défavorable et aboutit à une phytose douloureuse de l'œil gauche nécessitant une énucléation 3 mois plus tard.

L'endophtalmie fongique, comme l'illustre notre cas, est de pronostic sombre. Il faut savoir l'évoquer devant tout traumatisme végétal. Dans notre cas, le retard à consulter en ophtalmologie et la corticothérapie locale initiale ont contribué à la sévérité de l'évolution.

*Aspergillus*, champignon filamenteux ubiquitaire, représente l'un des genres les plus fréquemment rencontrés (35 à 40%) dans les endophtalmies fongiques post-traumatiques (1,2). De nombreux autres champignons filamenteux environnementaux peuvent également être impliqués (*Fusarium*, champignons dématiés,...). Seule l'analyse mycologique systématique apporte une documentation formelle.

1 Chongde Long et al. Causative organisms of post-traumatic endophthalmitis: a 20-year retrospective study. BMC Ophthalmology 2014;14:34.

2 Hemavathi et al. Profile of microbial isolates in ophthalmic infections and antibiotic susceptibility of the bacterial isolates: a study in an eye care hospital, Bangalore. J Clin Diagn Res 2014;8:23-25.

## LES LEVURES OPPORTUNISTES EMERGENTES.

SENDID Boualem

Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Inserm U995-2, CHRU de Lille

En dépit de quelques variations liées à l'origine géographique et aux populations de patients étudiées, les espèces de levures les plus fréquemment impliquées en pathologie humaine restent *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* et *Cryptococcus neoformans*. Cependant, l'incidence d'infections déterminées par d'autres levures n'a cessé de progresser pendant ces dernières décennies. Il s'agit notamment de *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. norvegensis*, *C. zeylanoides*, *Pichia anomala*, certaines espèces du genre *Trichosporon*, *Malassezia* et *Rhodotorula*. Les espèces auparavant considérées comme, de simples saprophytes, des contaminants de l'environnement ou encore des levures d'intérêt industriel comme *Candida utilis*, *C. lipolytica*, *Pichia* sp. sont de plus en plus souvent isolées de fongémies, ou rapportées comme agents d'onychomycoses. Ces levures « inhabituelles » infectent principalement des patients soumis à des techniques médico-chirurgicales invasives, des patients présentant un déficit immunitaire, ou encore des prématurés.

Cette évolution est perceptible au travers d'études épidémiologiques de grande envergure (1, 2, 3) mais également au niveau de l'écologie locale propre à chaque établissement, toutes révèlent une progression notable des espèces *non-albicans*.

Parallèlement, l'évolution des techniques d'identification impliquant des séquençages moléculaires ou des techniques de spectrométrie de masse (MALDI-TOF) a permis de mieux discriminer les espèces phénotypiquement et phylogénétiquement proches (4,5). Ces outils ont permis *de facto* de révéler la diversité des espèces responsables d'infections humaines. D'un point de vue thérapeutique, la sensibilité des levures rares est souvent mal définie par les comités d'experts alors que certaines d'entre elles sont résistantes à l'amphotéricine B ou aux antifongiques les plus récents (3).

L'identification de ces espèces et la détermination de leurs sensibilités aux antifongiques constituent un nouveau défi pour les laboratoires de mycologie qui doivent s'équiper des technologies les plus récentes pour concourir à une meilleure prise en charge des patients à haut risque d'infections fongiques invasives.

### Références bibliographiques

1. Azie N *et al.* The PATH (Prospective Antifungal Therapy) Alliance® registry and invasive fungal infections : update 2012. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012 ;73 :293-300.
2. Miceli MH *et al.*, Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*. 2011 Feb;11(2):142-51.
3. Pfaller M. Antifungal drug resistance : mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am J Med*. 2012 ;125 :S3-S13.
4. Linton CJ *et al.* Molecular identification of unusual yeast isolates by large ribosomal subunit gene sequencing : 2 years of experience at the UK mycology reference laboratory. *J Clin Microbiol* 2007 ; 45 : 1152-8.
5. Lacroix C *et al.* Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of *Candida* species. *Clin Microbiol Infect*. 2014 ; 20 :153-8.

## ACTUALITES SUR *TRICHOSPORON*, UN BADISIOMYCETE EMERGENT

HENNEQUIN Christophe

Service de Parasitologie-Mycologie, AP-HP, Hôpital St Antoine, Paris

*Trichosporon* spp sont des basidiomycètes largement répandus dans la nature. La taxonomie des *Trichosporon* a évolué de manière significative avec aujourd'hui au moins 50 espèces, dont une quinzaine a été impliquée en pathologie humaine, regroupées dans 4 clades distincts. *Trichosporon* est reconnu comme l'agent de la piedra blanche, infection superficielle des poils, ainsi que de pneumopathie allergique. Plus récemment, *Trichosporon* a été impliqué en tant qu'agent d'infection fongique invasive chez des patients immunodéprimés, principalement atteints d'hémopathie ou plus rarement de cancer solide ou ayant bénéficié d'une greffe d'organe. Les facteurs de virulence de ces microorganismes sont encore mal connus mais pourraient comprendre leur capacité à former des biofilms et leur production de lipases et de protéases.

Les infections invasives dues à *Trichosporon* représentent un challenge à la fois diagnostique et thérapeutique. En l'absence de test de détection de biomarqueurs spécifiques, le diagnostic repose principalement sur les approches directes d'isolement puis d'identification. Le séquençage de la région des IGS représente la méthode d'identification de référence. Plus récemment des approches de spectrométrie de masse MALDI-TOF ont montré leur intérêt dans cette indication. Cependant du glucorono-xylo-mannane présent dans la paroi de *Trichosporon* peut être détecté en cas d'infection disséminée par les tests de sérodiagnostic de la cryptococcose. De même, il est possible de détecter du  $\beta$ -D-Glucane dans le serum des patients infectés. Sur le plan thérapeutique, peu d'options sont disponibles en raison de la résistance naturelle du genre à la fois au polyènes et aux échinocandines. Les dérivés azolés, fluconazole ou voriconazole, semblent être les molécules de choix.

## CHAMPIGNONS FILAMENTEUX EN EMERGENCE

MACHOUART Marie, DEBOURGOGNE Anne, DORIN Joséphine

Structure de Parasitologie-Mycologie, Département de Microbiologie, CHU Brabois, 54511 Vandoeuvre-les-Nancy.

Depuis quelques décennies, le nombre de patients à risque de développer des infections fongiques invasives est en augmentation. En effet, on note globalement une meilleure survie de ces populations sensibles aux champignons opportunistes, en particulier chez les personnes atteintes de pathologies hématologiques. De nouvelles procédures thérapeutiques sont en cause dans ce taux de survie plus élevé, ainsi que les antifongiques qui peuvent également être prescrits en prophylaxie ou en traitement préemptif. Parallèlement à ces observations, ces patients parfois atteints de maladies sous-jacentes importantes, vivent de plus en plus fréquemment à domicile, dans des environnements dans lesquels on retrouve en permanence des moisissures. Certaines d'entre elles sont bien connues en pathologie comme *Aspergillus* sp. ou *Fusarium* sp. et d'autres ont émergé plus récemment en pathologie, comme les *Scedosporium* sp, ou les Mucorales, ou de manière plus sporadique, comme *Geosmithia argillacea*, récemment renommé *Rasamsonia argillacea* ou *Geotrichum clavatum*. Dans cette présentation, un bilan de la littérature récente fera état de la situation actuelle concernant l'émergence des champignons filamenteux en pathologie humaine, parfois secondaire à l'administration d'antifongiques et posant régulièrement le problème d'une prise en charge difficile. Ces infections fongiques sont en effet fréquemment associées à une forte mortalité du fait d'un diagnostic souvent délicat, d'un arsenal thérapeutique efficace limité ou encore d'une méconnaissance des molécules les plus actives. Les méthodes diagnostiques modernes qui permettent de mettre en évidence ces microorganismes seront envisagées, telles que les outils moléculaires ou la spectrométrie de masse. En effet, le recours à ces techniques permet d'identifier avec une grande précision les champignons au niveau de l'espèce, voire du génotype. Dès lors, des champignons sont nouvellement décrits en pathologie alors qu'ils n'apparaissaient pas auparavant dans la bibliographie scientifique médicale. La notion d'émergence devra donc être considérée avec prudence pour distinguer l'émergence réelle de nouveaux pathogènes fongiques chez l'Homme ou la détection actuelle plus fine de champignons rarement décrits précédemment.



## ***CANDIDA AFRICANA* : UN AGENT FONGIQUE COMMUN DES VAGINITES CANDIDOSIQUES A LIBREVILLE, GABON**

ANDEME Solange<sup>1</sup>, BENMOSTEFamine<sup>2</sup>, CHEVALIER Anne<sup>3</sup>, BOUYOU-AKOTET Marielle<sup>1</sup>, BAILLY Eric<sup>3</sup>, KOMBILA Maryvonne<sup>1</sup>, CHANDENIER Jacques<sup>3</sup>, HENNEQUIN Christophe<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Parasitologie Mycologie, Faculté de Médecine de Libreville, Gabon

<sup>2</sup> Parasitologie-Mycologie, Hôpital St Antoine, Paris, France

<sup>3</sup> Parasitologie-Mycologie, CHU Tours, France

L'épidémiologie de la flore fongique à l'origine de vaginites candidosiques a à notre connaissance, été peu explorée en Afrique centrale. Par ailleurs, *Candida africana*, nouvelle espèce proposée ou simple sous-population de *C. albicans* selon le schéma consensuel de la banque de données MLST, serait particulièrement impliquée dans les infections génitales en Afrique.

Dans ce travail, nous avons identifié par spectrométrie de masse MALDI-TOF les souches isolées de prélèvements vaginaux de 366 femmes ayant consulté pour des symptômes évocateurs de vaginite dans plusieurs centres médicaux de Libreville, au Gabon. Les souches identifiées comme *C. albicans* ont été analysées par technique moléculaire (polymorphisme de taille d'un fragment codant pour le gène HWP1) afin de détecter les isolats correspondant à *C. africana*.

La culture fongique est restée stérile dans 203 cas (55%). Lorsqu'une souche était isolée il s'agissait majoritairement de *C. albicans* (n=134, 82,2%), suivi de *Candida glabrata* (n=24, 14,7%), puis d'autres espèces plus rares (n=9, 5,5%). Un mélange était noté dans 4,9%. Parmi 62 souches de *C. albicans* analysées moléculairement, 9 (14,5%) correspondaient à *C. africana*.

Ces résultats préliminaires montrent que les agents « classiques » responsables de candidoses vaginales sont superposables à ceux isolés dans les pays occidentaux. En revanche, on note au Gabon une prévalence plus importante de *C. africana* que celle rapportée par nos collègues sénégalais (2,7%).

La poursuite de ce travail tentera d'associer *C. africana* à des caractéristiques épidémiocliniques précises.

## INFECTIONS FONGIQUES A CHAMPIGNONS DEMATIÉS CHEZ DEUX PATIENTS TRANSPLANTES RENAUX

GUITARD Juliette<sup>1</sup>, WYPLOSZ Benjamin<sup>2</sup>, FRANCES Camille<sup>3</sup>, LAZURE Thierry<sup>4</sup>,  
CALLARD Patrice<sup>5</sup>, SENGHOR Yaye<sup>1</sup>, DAHANE Naima<sup>6</sup>, HENNEQUIN Christophe<sup>1</sup>,  
ANGOULVANT Adela<sup>6,7,8</sup>

<sup>1</sup>Hôpital St. Antoine, Service de Parasitologie – Mycologie

<sup>2</sup>Hôpital Bicêtre, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales

<sup>3</sup>Hôpital Tenon, Service de Dermatologie

<sup>4</sup>Hôpital Bicêtre, Service d'Anatomie Pathologique

<sup>5</sup>Hôpital Tenon, Service d'Anatomie Pathologique

<sup>6</sup>APHP, Hôpital Bicêtre, Laboratoire de Parasitologie - Mycologie

<sup>7</sup>Université Paris Sud, Faculté de Médecine Le Kremlin - Bicêtre, F - 94276

<sup>8</sup>Université Paris Sud, UMR 8621, Orsay, F - 91405

Les champignons dématiés, habituellement saprophytes de l'environnement, sont des pathogènes opportunistes rares à l'origine d'un éventail de pathologies incluant chromoblastomycoses, mycétomes et phaeohyphomycoses systémiques. Nous présentons 2 cas d'infections sous - cutanées à champignons dématiés chez des patients transplantés rénaux.

**Observation N°1.** Mr. C, 62 ans, d'origine Sénégalaise, est pris en charge pour exploration de nodules cutanés de plus d'un cm du genou droit, apparus un an après une deuxième greffe rénale. La biopsie cutanée réalisée chez ce patient, met en évidence une atteinte dermique et hypodermique avec de nombreuses formations granulomateuses au sein desquelles existent de nombreux filaments mycéliens et des structures levuriformes brunes. L'extraction d'ADN réalisée directement à partir de la biopsie conduit à l'identification d'un champignon proche du genre *Phoma*. Les cultures mycologiques étant négatives après 3 semaines et les lésions étant trop étendues pour une exérèse, il est décidé une abstention thérapeutique. Deux mois plus tard devant l'apparition d'un nouveau nodule, une deuxième biopsie est réalisée. L'examen direct met en évidence des filaments mycéliens mais les cultures en SCG sont négatives. Les prélèvements sont également ensemencés sur des milieux de bactériologie dont un bouillon cœur-cerveille et un Lowenstein-Jensen. Cela permet un mois plus tard l'obtention de cultures suffisantes pour l'identification moléculaire du même champignon.

**Observation N°2 :** Mme L., 62 ans, d'origine Sénégalaise, ayant bénéficié d'une 2ème greffe rénale 3 ans auparavant, consulte pour apparition d'une tuméfaction sous - cutanée de 3 cm, de la face dorsale du pied gauche. L'examen histologique de la cytoponction de la lésion mettait en évidence de nombreux polynucléaires neutrophiles altérés mêlés à quelques histiocytes et des filaments mycéliens septés. Le liquide d'une nouvelle ponction est alors adressée en mycologie où l'examen direct confirme la présence de nombreux filaments mycéliens septés et vésiculeux et où les cultures sur SCG permettent d'isoler un champignon dématié 4 jours plus tard. L'extraction d'ADN ayant échoué, il est identifié morphologiquement un mois plus tard comme *Chaetomium* sp. Une exérèse chirurgicale de la lésion et un traitement par voriconazole ont été réalisés.

**Discussion :** Les infections systémiques à champignons dématiés semblent émerger chez les patients transplantés d'organes solides, en particulier de rein, avec une prévalence ayant doublé au cours de la dernière décennie dans les rares séries rapportés. Les principales localisations sont la peau et les tissus mous (60 - 79%). Les agents étiologiques les plus fréquents appartiennent aux genres *Alternaria* et *Exophiala*, cependant d'autres genres sont rapportés. Le diagnostic mycologique n'est pas aisé en raison de l'isolement et l'identification difficiles y compris en ayant recours à la biologie moléculaire.

## PHAEHYPHOMYCOSE CEREbraLE A *CLADOPHIALOPHORA BANTIANA* CHEZ UN ENfant GUYANAIS

JACOB Stéphanie<sup>1</sup>, PEIPOCH Lise<sup>2</sup>, MIOSSEC Charline<sup>1</sup>, HOCHEDÉZ Patrick<sup>3</sup>, HAMLAT Abderrahmane<sup>4</sup>, DESBOIS Nicole<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Mycologie-Parasitologie, CHU Martinique

<sup>2</sup> Service de Réanimation pédiatrique, CHU Martinique

<sup>3</sup> Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Martinique

<sup>4</sup> Service de Neurochirurgie, CHU Martinique

Les champignons noirs (Dematiaceae) sont présents à l'état saprophyte dans l'environnement, et causent le plus souvent des infections cutanées après inoculation. Plus rarement, ils peuvent aussi être à l'origine de phaeohyphomycoses cérébrales, aussi bien chez des patients immunocompétents qu'immunodéprimés, le plus souvent de très mauvais pronostic. Les principales espèces isolées sont *Cladophialophora bantiana*, *Exophiala dermatitidis* et *Rhinocladiella mackenziei*.

Nous rapportons le cas d'une atteinte cérébrale à multiples abcès fongiques chez un enfant guyanais de 6 ans, originaire d'Apatou, village situé le long du fleuve Maroni (frontière avec le Surinam), sans antécédent médical connu ni contexte de consanguinité.

Transféré en urgence le 04 janvier 2014 au CHU de Martinique pour pose de dérivation ventriculaire externe en raison d'une hypertension intra - crânienne dans un tableau de méningite évoluant depuis 3 semaines et ne cédant pas aux antibiotiques, l'enfant se dégrade progressivement sur le plan clinique et neurologique et l'imagerie révèle la présence de multiples abcès cérébraux para - ventriculaires.

Un examen direct sur un prélèvement peropératoire de LCR réalisé le 07 janvier, adressé au laboratoire de Bactériologie, montrait la présence de filaments mycéliens septés à la coloration de Gram puis au MGG. Après transmission au laboratoire de Mycologie des prélèvements de LCR et de tissus cérébraux abcédés, les cultures sur milieux de Sabouraud chloramphénicol gentamycine +/- actidione ont permis d'isoler en 10 à 15 jours des colonies duveteuses noires, à liseré foncé noir d'aspect brillant et humide. Des colonies similaires ont été retrouvées sur les milieux réalisés pour la recherche de bactéries et de mycobactéries. L'examen microscopique était évocateur de *C. bantiana*, identification confirmée par séquençage effectué par le Centre National de Référence des Mycoses et des Antifongiques (CNRMA).

L'administration de plusieurs lignes d'antifongiques ainsi que les interventions neurochirurgicales répétées n'ont pas permis de traiter l'infection, et l'enfant est rentré en Guyane en soins palliatifs le 10 mars, après plus de 2 mois d'hospitalisation au CHU de la Martinique.

L'investigation étiologique n'a pas retrouvé de déficit immunitaire rare connu chez cet enfant, ayant possiblement été infecté par une souche environnementale de *Cladophialophora bantiana* (notion de traumatisme récent). Le tropisme cérébral de ce champignon dématié, y compris chez l'immunocompétent, a déjà été rapporté dans la littérature, et la plupart des cas ont été d'évolution défavorable.

## FONGEMIE A ARTHROGRAPHIS KALRAE CHEZ UNE PATIENTE ATTEINTE DE MUCOVISCIDOSE

DENIS Julie<sup>1</sup>, SABOU Marcela<sup>1</sup>, DEGOT Tristan<sup>2</sup>, LETSCHER - BRU Valérie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Mycologie Médicale, Plateau Technique de Microbiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg.

<sup>2</sup>Service de Pneumologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

*Arthrographis kalrae* est un champignon filamenteux hyalin ascomycète. C'est un saprophyte de l'environnement, principalement retrouvé dans le sol et le compost. De rares cas d'infections opportunistes à *A. kalrae* ont été décrits : des infections pulmonaires, une endocardite, une sinusite associée à une méningite, trois kératites, une onychomycose et un mycétome. Ces infections touchent autant les immunodéprimés que les immunocompétents.

### Observation :

La patiente, âgée de 19 ans présente une mucoviscidose avec un diabète insulino-dépendant, une insuffisance hépatique et rénale. Elle est colonisée transitoirement par différentes espèces d'*Aspergillus* depuis 1998. Un traitement antifongique au long cours par itraconazole est mis en place en 2005. Depuis mars 2012, elle présente une colonisation respiratoire continue par *A. kalrae* (cultures positives). L'itraconazole est alors remplacé par le voriconazole à 200 mg 2x/ jour en mars 2012. Les taux sériques de voriconazole sont très irréguliers. Une greffe bipulmonaire est réalisée en novembre 2013. Un frottis de bronche réalisé sur le poumon explanté lors de la greffe est positif en culture à *A. kalrae*. A J1 post - greffe, elle est en choc septique. Deux aspirations trachéales, un LBA et une hémoculture prélevés à J1 sont également positifs pour ce pathogène en 48h. L'identification est réalisée sur les caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques sur milieu PCB associés à la spectrométrie de masse par MALDI-TOF. Elle est confirmée par séquençage des régions ITS 1 et 2 de l'ADN ribosomique 5,8S. Les CMI réalisées par E - test sur la souche de l'hémoculture sont : amphotéricine B 0,75 µg/mL, flucytosine > 32 µg/mL, voriconazole 0,125 µg/mL, posaconazole 0,50 µg/mL, fluconazole > 32 µg/mL, micafungine 0,012 µg/mL, caspofungine 0,047 µg/mL. Le voriconazole est arrêté à J3 et remplacé par l'association caspofungine IV 50mg/jour, amphotéricine B liposomale 3m/kg/jour pendant 1 mois puis par l'association caspofungine IV, amphotéricine B en aérosol pendant 10 semaines. Le LBA réalisé à J5 post - greffe est encore positif pour *A. kalrae*. Tous les prélèvements réalisés à partir de J9 sont négatifs pour ce champignon.

Nous rapportons ici le premier cas, à notre connaissance, de fongémie à *Arthrographis kalrae* à point de départ présumé pulmonaire.

## **PREMIER CAS DE PHAEOHYPHOMYCOSE CEREBRALE DUE A *NEOSCYTALIDIUM DIMIDIATUM* EN MARTINIQUE**

MIOSSEC Charline<sup>1</sup>, JACOB Stéphanie<sup>1</sup>, MANZO Norbert<sup>2</sup>, FERGE Jean- Louis<sup>3</sup>,  
MOLINIE Vincent<sup>4</sup>, ROZE Benoit<sup>5</sup>, DESBOIS Nicole<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU de la Martinique

<sup>2</sup>Service de Neurochirurgie, CHU de la Martinique

<sup>3</sup>Service de Réanimation Polyvalente, CHU de la Martinique

<sup>4</sup>Laboratoire d'Anatomopathologie, CHU de la Martinique

<sup>5</sup>Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de la Martinique

Les phaeohyphomycoses cérébrales sont principalement causées par des champignons environnementaux appartenant à l'ordre des Chaetothyriales, les plus fréquents étant *Cladophialophora bantiana*, *Exophiala dermatitidis* et *Rhinocladiella mackenziei*. Il est plus rare d'isoler d'autres champignons dans ce type d'infections, elles - mêmes peu fréquentes.

Nous rapportons le cas d'une femme de 53 ans, hospitalisée en mars 2014 à l'hôpital de Trinité (CHU de la Martinique) dans un contexte de confusion fébrile associée à une aphasie, une hémiparésie de l'hémicorps droit et des convulsions. La patiente a de lourds antécédents médicaux dont un diabète de type 2 et une hépatite C compliquée d'une cirrhose hépatique et d'un carcinome hépatocellulaire. La patiente est dénutrie et en situation de détresse sociale. L'IRM cérébrale retrouve trois lésions intracérébrales dont deux décrites comme de probables abcès cérébraux. La patiente est transférée à J3 en neurochirurgie sur le site de Fort-de-France pour une ablation d'abcès cérébraux.

Des prélèvements peropératoires d'abcès et de pus d'abcès sont envoyés aux laboratoires de Mycologie, de Bactériologie, et d'Anatomopathologie. L'examen microscopique des prélèvements après coloration au MGG, au PAS, coloration de Gomori - Grocott et de Gram, révèle la présence de très nombreux filaments mycéliens septés, ramifiés, de différents diamètres, au sein desquels sont visibles des éléments ronds évocateurs de chlamydospores. L'éclaircissement des prélèvements dans le noir chlorazole permet de voir des filaments hétérogènes, certains fins et hyalins, d'autres plus épais et pigmentés.

Une trithérapie antifongique par AMBISOME®, ANCOTIL®, et SPORANOX® est débutée. La patiente est transférée en réanimation suite à un arrêt cardio - respiratoire dans la nuit suivant l'intervention chirurgicale. Le bilan biologique met en évidence une CIVD. Le scanner cérébral révèle des hémorragies ventriculaires et méningées, un hématome sous - dural, un œdème cérébral et un engagement amygdalaire. La patiente décède à J4 avant qu'une reprise au bloc ne soit possible.

Après 6 jours de culture, nous avons isolé un champignon filamenteux de type Dematiaceae en culture pure. La morphologie nous a permis d'identifier *Neoscytalidium dimidiatum*, identification confirmée par biologie moléculaire. *N. dimidiatum*, antérieurement *Scytalidium dimidiatum*, est un champignon endémique des zones tropicales et subtropicales, connu pour causer des infections superficielles mimant des dermatomycoses. Il est rarement isolé en Martinique (1 à 2 cas par an) contrairement à la forme hyaline, *N. dimidiatum* var *hyalinum*, isolée dans plus de 50% des onychomycoses des pieds. A ce jour, *N. dimidiatum* reste cependant le seul à avoir été isolé de l'environnement. Il est très rarement rapporté comme agent d'infections fongiques invasives. A notre connaissance, seulement 3 cas d'infections cérébrales à *N. dimidiatum* ont été précédemment décrits dans la littérature.

**Communications affichées**

**en**

**PARASITOLOGIE**

# **Evaluation de l'infestation par *Echinococcus granulosus* chez les chiens de fourrière canine de la région d'Alger :**

## **Examen anté et post mortem**

GHALMI Farida<sup>1</sup>, ZEBIRI E.<sup>1</sup>, SEKAT N.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

En Algérie, le chien est le principal réservoir de l'infection à *Echinococcus granulosus* pour les animaux domestiques et pour l'homme (hôtes intermédiaires). Actuellement, il n'existe aucune estimation du taux d'infestation des chiens, alors que la prévalence de l'infestation de l'hôte définitif est l'indicateur le plus fiable du risque potentiel de la transmission de l'hydatidose à l'homme et aux autres animaux (H.I.).

Dans ce travail, nous avons recherché *Echinococcus granulosus* chez 192 chiens de fourrière canine de la région d'Alger. Une étude coproscopique suivie d'une autopsie sur tous les chiens a été réalisée. Les résultats ont montré une prévalence de *Taenia spp* de 14.8% par coproscopie. L'examen post mortem a mis en évidence *Echinococcus granulosus* (ver adulte) chez 21% de chiens.

## Epidémie de leishmaniose cutanée à Tipasa (Algérie)

BENDJABALLAH - LALIAM A.<sup>1</sup>, IZRI A.<sup>2</sup>, ANDRIANTSOANIRINA V.<sup>2</sup>, DURAND R.<sup>2</sup>, HAMRIOUI B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Hôpital De Hadjout, Tipasa, Algérie.

<sup>2</sup> Hôpital Avicenne–Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Bobigny, France

<sup>3</sup> CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

**Résumé :** La leishmaniose cutanée est connue depuis fort longtemps en Algérie.

Elle évolue sous 2 formes : la forme zoonotique qui sévit au sud (due à *L.major* et *L.killicki*), et la forme du nord que l'on retrouve du bassin méditerranéen aux régions montagneuses des hauts plateaux. Cette dernière était jusque - là, imputée uniquement à *L.infantum*. Récemment des études ont démontré que dans certaines villes du nord (Annaba ou Constantine) *L.killicki* avait également été isolé.

Nous avons effectué une étude prospective (janvier 2010 à mars 2014), à partir des 96 patients diagnostiqués positifs au niveau de l'unité de parasitologie mycologie de l'hôpital de Hadjout (ville située à 80km à l'ouest d'Alger, dans la wilaya de Tipasa).

Le but de notre travail est dans un premier temps, d'en savoir un peu plus sur l'épidémiologie de cette maladie à Tipasa.

Dans un second temps, nous avons sollicité la collaboration du CHU Avicenne , afin d'isoler l'espèce mise en cause.

Les résultats ont démontré la présence de *L.infantum* ainsi que *L.killicki* à partir des frottis cutanés.

Même si d'autres études sont en cours d'investigation, nous pouvons déjà conclure que la répartition géographique des leishmanies est en train de subir des variations dans notre pays.



## **Parasitoses intestinales chez les patients V.I.H positifs en milieu urbain de Yaounde**

ESSOLA J.K.<sup>1</sup>, SAME EKOBO A.<sup>2,3</sup>, NKOA T.<sup>2</sup>, KOUANFACK C.<sup>4</sup>, FOSSO S.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Hopital Laquintinie de Douala

<sup>2</sup> Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I ;

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé

<sup>4</sup> Hôpital du Jour de l'Hôpital Central de Yaoundé

Le principal objectif de notre étude était d'établir le profil des parasitoses intestinales chez les sujets V.I.H positifs et de la population générale en zone urbaine de Yaoundé. Notre étude a enrôlé 684 patients dont 384 PVVIH et 300 sujets contact. La prévalence du parasitisme intestinal dans les deux groupes de population était de 42.69%, cependant les sujets contact (57.19%) ont été plus parasités que les PVVIH (31.25%). Les protozoaires ont été plus fréquents chez les sujets VIH (20.05%) notamment *Entamoeba coli* 8.59%, *Entamoeba histolytica* 5.46%, *Blastocystis hominis* 4.42%. Nous avons observé une faible prévalence des opportunistes avec un seul cas d'*Isospora belli*. Le polyparasitisme (présence de 2 à 3 parasites) a été observé chez 4.16% PVVIH. Les parasitoses intestinales ont été moins rencontrées chez des patients ayant des taux de CD4 < 200/mm<sup>3</sup> soit 15.83% ; La prise des ARV diminuait la présence de parasites 43.40% à 22.67%. La fréquence d'*Entamoeba coli* passait de 10.1% en l'absence de traitement ARV à 7.56% chez les PVVIH soumis au traitement, de même *Blastocystis hominis* de 9.4% à 0.89%.

Mots clés : V.I.H, protozoaires, polyparasitisme

# Diagnostic moléculaire de la toxoplasmose disséminée sur le sang circulant: sang total ou couche leucocytaire? Etude en modèle murin

BRENIER-PINCHART M.P.<sup>1</sup>, CAPDEROU E.<sup>2</sup>, BERTINI R.L.<sup>2</sup>, BAILLY S.<sup>2</sup>, FRICKER – HIDALGO H.<sup>2</sup>, MURAT J.B.<sup>2</sup>, TOUAFÉK F.<sup>3</sup>, BASTIEN P.<sup>4</sup>, PELLOUX H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie et Mycologie, CHU de Grenoble et Université Joseph Fourier, Grenoble & Pôle “Biologie Moléculaire” du Centre National de Référence de La Toxoplasmose

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie et Mycologie, CHU de Grenoble et Université Joseph Fourier, Grenoble

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU la Pitié Salpêtrière, Paris & Pôle “Biologie Moléculaire” du Centre National de Référence de la Toxoplasmose

<sup>4</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHRU de Montpellier, Université de Montpellier 1, Montpellier & Pôle “Biologie Moléculaire” du Centre National de Référence de la Toxoplasmose

## Introduction

La toxoplasmose disséminée demeure une infection opportuniste grave chez les patients transplantés d'organe et fréquemment létale chez les patients allo - greffés. Le suivi des patients à risque de réactivation et le diagnostic de cette infection sont réalisés à partir du sang périphérique par biologie moléculaire (Derouin F et al, CMI, 2008; Fricker - Hidalgo H et al, CID, 2009). Cependant, il n'existe pas de véritable consensus sur la fraction du sang à utiliser pour détecter précocement l'ADN des parasites circulants par PCR: plasma, sang total ou couche leucocytaire?

L'objectif de ce travail était de comparer les résultats de PCR de ces 3 types de prélèvements recueillis au cours d'une toxoplasmose murine aiguë expérimentale et de proposer une réponse à cette question.

## Matériels et Méthodes

Des souris SWISS - OF1 ont été infectées par voie intrapéritonéale par 10<sup>4</sup> tachyzoïtes de la souche de type II de *Toxoplasma gondii* (ME49) issus de culture cellulaire (HFF). Six jours après l'infection, les souris ont été sacrifiées et le sang recueilli dans des tubes EDTA après ponction intracardiaque. Différents échantillons (n=56) ont été préparés à partir de ces prélèvements: 200µL de plasma (n=8), 200µL de sang total (ST, n=16) et des couches leucocytaires isolées par centrifugation à partir de 200µL (CL200, n=16), 600µL (CL600, n=8) et 1200µL (CL1200, n=8) de sang total. L'ADN était extrait de ces fractions du sang (QIAmp DNA Mini Kit, Qiagen). Les 56 échantillons issus de 4 expériences identiques et indépendantes ont été analysés par PCR quantitative ciblant la séquence répétée non - codante «rep529» en duplicata (Lightcycler, Roche). Les Crossing - points (Cp) ont été comparés par un test ANOVA à un facteur sur mesures répétées associé à la correction de Tukey ; une régression linéaire a été réalisée sur les Cp des couches leucocytaires. Les Cp >35 ont été considérés comme ayant la valeur 35.

## Résultats

Pour les 8 échantillons de plasma, 4 capillaires sur les 16 analysés étaient négatifs et les Cp fréquemment >35 (7 capillaires/16). Toutes les PCR étaient positives dans les autres échantillons (ST et CL).

La moyenne des Cp des échantillons de plasma étaient de 34,31 +/- 1,03 alors que ceux sur ST, CL200, CL600 et CL1200 étaient de 29,08 +/- 1,63, 30,02 +/- 1,92, 28,31 +/- 1,19 et 27,10 +/- 1,26, respectivement. L'analyse de la CL1200 a donc permis la détection significativement plus précoce de l'ADN du parasite par rapport au ST (p=0,0006). De plus, les Cp étaient significativement d'autant plus précoces que les couches leucocytaires étaient isolées à partir d'un volume de sang élevé (p<0,0001 pour CL1200 vs. CL200 et CL600 vs. CL200). La régression linéaire confirme qu'il existe une corrélation inverse significative entre la charge parasitaire détectée et le volume du sang à partir duquel était isolé la couche leucocytaire (p<0,001).

## Discussion

En modèle murin in vivo, lors de la phase de parasitémie, l'ADN de *T. gondii* est détecté plus précocement dans les extraits des couches leucocytaires isolées de 1200µL de sang que dans ceux isolés de 200µL de sang. L'ADN est beaucoup plus tardivement amplifié à partir du plasma. D'après cette étude, et dans les conditions de celle - ci, l'analyse par PCR d'une couche leucocytaire isolée à partir d'un grand volume de sang (5 à 7mL) constituerait le prélèvement de choix pour le suivi des patients immunodéprimés à risque de réactivation et le diagnostic de toxoplasmose disséminée.

## **Freezing and storage at minus 20°C provides adequate preservation of *Toxoplasma gondii* DNA for retrospective molecular analysis**

DELHAES L.<sup>1</sup>, FILISETTI D.<sup>2</sup>, BRENIER – PINCHART M.P.<sup>3</sup>, PELLOUX H.<sup>3</sup>, YERA H.<sup>4</sup>, DALLE F.<sup>5</sup>, STERKERS Y.<sup>6</sup>, VARLET – MARIE E.<sup>6</sup>, TOUAFÉK F.<sup>7</sup>, CASSAING S.<sup>8</sup>, BASTIEN P.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> CHRU de Lille

<sup>2</sup> CHU de Strasbourg

<sup>3</sup> CHU de Grenoble

<sup>4</sup> CHU de Cochin, Paris

<sup>5</sup> CHU de Dijon

<sup>6</sup> CHU de Montpellier

<sup>7</sup> CHU de la Pitié, Paris

<sup>8</sup> CHU de Toulouse

Nucleic acid - based testing has become crucial for toxoplasmosis diagnosis. For retrospective (forensic or scientific) studies, optimal methods must be employed for DNA long - term storage. We compared *Toxoplasma gondii* detection before and after DNA storage using real time - PCR. No significant differences were found depending on duration or storage conditions at - 20°C or - 80°C.

We therefore propose that DNA extraction of AF be performed promptly after sampling, and followed by DNA storage at least at - 20°C when the *T. gondii* - PCR is delayed. This information should be of value for the molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis and for retrospective scientific studies using DNA extracts as well as forensic studies.

# Les tiques Ixodidés : Identification et prévalence chez le bovin dans la région d'Alger

AMANZOUGAGHENE N.<sup>1</sup>, AZZAG N.<sup>1</sup>, BITAM I.<sup>2</sup>, CHINA B.<sup>3</sup>, GHALMI F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

<sup>2</sup> Université de Bourmerdes

<sup>3</sup> Institut Scientifique de Santé Publique, Belgique

Les tiques (Ixodidae) sont des arthropodes hématophages obligatoires parasitant la quasi - totalité des vertébrés à travers le monde et pouvant piquer l'homme occasionnellement. Leur nuisance majeure est en rapport avec leur capacité de transmission de certains germes pathogènes pour l'homme et les animaux. La connaissance des tiques et de leur biologie permet de comprendre et de mieux cerner l'épidémiologie des maladies transmises, afin de dégager les principes de lutte les plus efficaces. La présente investigation est menée pour identifier les différentes espèces de tiques présentes sur le bovin dans la région d'Alger, de déterminer la prévalence des bovins infestés et étudier certains facteurs de risque potentiels. Pour cela, durant la période s'étalant de mars à décembre 2013, sur un effectif de 200 bovins, 193 tiques réparties en 143 mâles et 50 femelles ont été récoltées et identifiées à l'aide de différentes clés d'identification. La prévalence des bovins infestés avec au moins une espèce de tique était de 18 %. Une analyse des facteurs de risque a montré l'influence de la saison, la localisation géographique et l'état d'hygiène de la ferme. L'identification des tiques a révélé la présence de huit espèces à savoir: *Hyalomma lusitanicum* (68,91%), *Hyalomma marginatum marginatum* (15,02%), *Hyalomma impeltatum* (3,62 %), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (3,1%), *Rhipicephalus sanguineus* (3,1%), *Hyalomma anatolicum excavatum* (2,08%), *Hyalomma detritum detritum* (2,07%) et *Hyalomma marginatum rufipes* (1,03%). Nos résultats ont montré que *Hyalomma lusitanicum* est l'espèce la plus prévalente dans la région d'Alger. Pour la première fois en Algérie l'espèce *Hyalomma marginatum rufipes* est identifiée chez le bovin.

Par ailleurs, un nouveau spécimen du genre *Hyalomma* jamais répertorié en Afrique du Nord a été décrit. Le séquençage moléculaire, plus précisément l'analyse comparative de séquences génomiques (particulièrement celui de gène codant la fraction 12S de l'ADN ribosomale) est en cours de réalisation pour pouvoir l'identifier.

# **Étude épidémiologique sur l'infection par *Babesia* sp chez le chien dans la région d'Alger**

GHALMI F.<sup>1</sup>, ELAHAM Y.<sup>1</sup>, FERNANE F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

La babésiose canine est une maladie parasitaire vectorielle transmise par des tiques dures. Elle représente un important problème de médecine vétérinaire. Les effets de l'infection chez les chiens peuvent aller de la forme subclinique à la forme grave mortelle.

Le présent travail vise à détecter la présence de *Babesia* sp. dans 131 échantillons de sang de chiens de la région d'Alger, par examen microscopique de frottis sanguin et par la technique d'immunofluorescence indirecte pour rechercher les anticorps anti - Babesia.

Sur les 131 chiens analysés, 23 se sont révélés positifs à *Babesia* sp par la méthode du frottis sanguin soit une prévalence globale de 17,55%. Les Immunoglobulines - G (IgG) ont été mises en évidence chez 19,8% (26/131) des chiens prélevés. Le degré de concordance entre la méthode du frottis et le test d'immunofluorescence indirect était bon.

Par ailleurs, l'analyse de certains facteurs de risque potentiels a montré que les facteurs tels la race, la région, le statut vaccinal ou encore la présence de tiques pouvaient être associés significativement ( $p < 0.05$ ) à l'apparition de l'infection par *Babesia* sp chez le chiens dans la région d'Alger.

## Tests de chimiosensibilité de souches de *Toxoplasma gondii* à la pyriméthamine

MZABI A.<sup>1,2</sup>, ESCOTTE – BINET S.<sup>1,2</sup>, DOLIWA C.<sup>1</sup>, AUBERT D.<sup>1,2</sup>, VILLENA I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>. EA 3800, UFR Médecine, SFR CAP - Santé, Université de Reims Champagne - Ardenne, 51 Rue Cognacq - Jay - 51095 Reims Cedex

<sup>2</sup>. Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Centre National de Référence de la Toxoplasmose - Centre de Ressources Biologiques Toxoplasma - Hôpital Maison Blanche, 45 Rue Cognacq - Jay - 51092 Reims Cedex

La toxoplasmose est une zoonose ubiquitaire due à un parasite protozoaire intracellulaire obligatoire : *Toxoplasma gondii*. Généralement bénigne, cette infection peut être à l'origine de formes cliniques sévères, notamment chez le fœtus et chez le sujet immunodéprimé. Les médicaments actifs contre la toxoplasmose sont à l'heure actuelle peu nombreux. Une étude réalisée en 2008 [1] avait permis d'établir les concentrations inhibitrices à 50% (CI50) de la pyriméthamine pour 17 souches de *Toxoplasma gondii*. Ce travail utilisait des cultures cellulaires de type fibroblastique MRC - 5, d'une durée de vie limitée à environ 15 jours. Les cellules Vero, cellules rénales de singe vert d'Afrique, présentent une durée de vie plus importante, rendant leur manipulation plus aisée.

Le but de ce travail était d'adapter le modèle existant sur cellules MRC - 5 aux cellules Vero. Suite à cette transposition de méthode, nous avons testé la sensibilité de la pyriméthamine (molécule majeure dans la prise en charge de la toxoplasmose) sur des souches de génotypes différents et deux souches poussées en résistance à la sulfadiazine [2], dont les sensibilités à la pyriméthamine étaient inconnues.

Toutes les souches testées (n=7) présentent des CI50 concordantes avec les résultats obtenus sur cellules fibroblastiques MRC - 5.

De plus, nos résultats montrent pour les souches résistantes à la sulfadiazine, une "concentration plateau" de pyriméthamine, et un aspect en "double sigmoïde" des courbes de sensibilités (aspect similaire décrit pour certaines souches de *Plasmodium falciparum* pour la méfloquine [3]), suggérant l'existence possible d'une population de toxoplasme de "sensibilité diminuée à la pyriméthamine", population qu'il paraît important d'isoler et d'étudier plus spécifiquement.

[1] Meneceur P, Bouldouyre MA, Aubert D, et al. In vitro susceptibility of various genotypic strains of *Toxoplasma gondii* to pyrimethamine, sulfadiazine and atovaquone. Antimicrob. Agents Chemother. 2008; 52 : 1269 – 1277 .

[2] Doliwa C, Escotte - Binet S, Aubert D, et al. Induction of sulfadiazine resistance in vitro in *Toxoplasma gondii*. Experimental Parasitol. 2013; 133:131 - 136.

[3] Nzila A and Mwai L. In vitro selection of *Plasmodium falciparum* drug - resistant parasite lines. J. Antimicrob. Chemother. 2009; 65:390 - 398.

## **Capillariose et hydatidose hépatiques probables chez un adolescent du bas Empire inhumé à Amiens (France).**

DUPOUY - CAMET J.<sup>1</sup>, MOWLAVI G.<sup>2</sup>, KACKI S.<sup>3</sup>, MOBEDI I.<sup>2</sup>, MAKKI M.<sup>2</sup>, HARANDI M.F.<sup>2</sup>, NADDAF S.R.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Cochin Assistance Publique Hôpitaux De Paris, Université Paris Descartes

<sup>2</sup> Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> PACEA, UMR 5199, Anthropologie des Populations Passées et Présentes, Université de Bordeaux

<sup>4</sup> Department of Parasitology, Pasteur Institute of Iran, Tehran

Deux kystes calcifiés ont été mis au jour dans la tombe d'un adolescent à Amiens (France) lors de la fouille de sauvetage (Inrap) d'une nécropole romaine du bas Empire (III<sup>e</sup> - IV<sup>e</sup> siècles). Plusieurs techniques ont été mises en œuvre pour déterminer la nature de ces calcifications : analyses par rayons X, coupes pétrographiques de la paroi du kyste et examen microscopique du contenu du kyste après réhydratation. Les techniques d'analyses par rayons X (spectrométrie de fluorescence et diffraction des rayons X) ont mis en évidence la présence d'hydroxyapatite compatible avec la nature organique de ces kystes. Leur composition chimique, leur localisation dans l'aire thoraco - abdominale du squelette et l'observation sur une coupe d'une structure lamellée nous ont conduit (malgré l'absence d'observation des crochets caractéristiques) à identifier ces objets comme des kystes hydatiques. Les techniques pétrographiques nous ont également permis d'identifier dans la paroi de ces kystes des œufs de *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica* Bancroft, 1893). La capillariose hépatique n'a jamais été rapportée pour des restes ostéo - archéologiques humains mais n'est pas inattendue compte tenu du bas niveau d'hygiène de certaines populations anciennes. L'identification de parasites tissulaires comme *C. hepaticum* dans des vestiges archéologiques est particulièrement dépendante des conditions de conservation et de taphonomie. Elle doit être interprétée avec circonspection en raison des similitudes morphologiques de ces œufs avec ceux du trichocéphale.

Cette observation serait la première description paléoparasitologique en France à la fois d'une capillariose et d'une hydatidose hépatique chez l'homme.

# Intérêt de l'introduction du scotch test anal dans le contrôle parasitologique des manipulateurs de denrées alimentaires en Tunisie

SIALA E.<sup>1</sup>, JEMEL S.<sup>1</sup>, BOUBAKER S.<sup>2</sup>, BEN ABDALLAH R.<sup>1</sup>, BEN ABDA I.<sup>1</sup>, ZALLEGUA N.<sup>1</sup>, BOULEHMI N.<sup>1</sup>, BEN SGHAIER I.<sup>1</sup>, AOUN K.<sup>1</sup>, BOURATBINE A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

<sup>2</sup> Office des Œuvres Universitaires du Nord

En Tunisie, le contrôle parasitologique des selles chez les manipulateurs de denrées alimentaires (MDA) est primordial. Il vise à dépister et à traiter les individus porteurs de parasites digestifs afin d'éviter leur transmission aux consommateurs. Néanmoins, ce dépistage se base actuellement sur l'examen parasitologique des selles qui ne représente pas la technique spécifique de détection des œufs d'oxyure. Le but de ce travail était d'étudier la prévalence de l'oxyurose chez les MDA et de discuter l'intérêt de l'introduction du scotch - test anal dans le dépistage des parasitoses digestives.

## Patients et Méthodes

Il s'agit d'une étude prospective qui a concerné 312 MDA travaillant dans des restaurants universitaires de la région de Tunis et qui ont été contrôlés au laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis entre octobre 2013 et Février 2014. Chaque individu a eu un examen parasitologique des selles et un scotch - test anal.

## Résultats

Les 312 sujets étudiés ont une moyenne d'âge de  $48,4 \pm 8$  ans. Le sex ratio était de 3,1. Quarante MDA étaient porteurs de parasites intestinaux soit 12,8%. Parmi les sujets parasités, 20 étaient porteurs d'oxyures soit une prévalence de 6,4%. Le diagnostic d'*Enterobius vermicularis* a été fait par le scotch - test anal alors que l'examen parasitologique des selles était négatif dans tous les cas. Tous les sujets porteurs d'oxyure étaient asymptomatiques. Les prévalences des parasites les plus fréquemment rencontrés étaient de 6,1% pour *Blastocystis hominis* et de 1,3% pour *Dientamoeba fragilis*.

## Discussion

La prévalence non négligeable de l'oxyurose chez les MDA, souligne l'intérêt de l'introduction du scotch - test anal dans leur contrôle parasitologique. Cette technique permet de dépister les porteurs d'*Enterobius vermicularis* qui représentent une véritable source de dissémination de ce parasite à transmission directe.



## **Prévalence du portage des cryptosporidies et des microsporidies chez les manipulateurs de denrées alimentaires dans la région de Tunis (Tunisie)**

SIALA E. <sup>1</sup>, ABID Z. <sup>1</sup>, BEN ABDALLAH R. <sup>1</sup>, BEN ABDA I. <sup>1</sup>, BOUBAKER S. <sup>2</sup>,  
ZALLEGUA N. <sup>1</sup>, BOULEHMI N. <sup>1</sup>, BEN SGHAIER I. <sup>1</sup>, AOUN K. <sup>1</sup>, BOURATBINE A. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

<sup>2</sup> Office des Œuvres Universitaires du Nord

Les cryptosporidies et les microsporidies sont des parasites opportunistes qui peuvent être responsable d'une diarrhée bénigne chez les sujets immunocompétents. L'homme se contamine en ingérant les parasites directement infectants dès leur élimination dans les selles. Le but de cette étude était d'étudier la prévalence du portage des microsporidies et des cryptosporidies chez les manipulateurs de denrées alimentaires de la région de Tunis.

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 226 manipulateurs de denrées alimentaires de la région de Tunis ayant bénéficié d'un dépistage des parasitoses digestives dans le laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis entre Octobre 2012 et Juin 2013. Chaque individu a eu un prélèvement de selles qui a fait l'objet d'un examen parasitologique comportant un examen microscopique à l'état frais et après concentration selon la méthode de Ritchie, une coloration de Ziehl - Neelsen modifiée et une coloration de Weber.

Trente six MDA étaient parasités soit une prévalence de 18,3%. Le parasitisme a été dominé par les protozoaires (98%). *Cryptosporidium sp* ont représenté 3,85% des espèces identifiées et ont été retrouvés chez deux individus soit 0,88% des sujets étudiés. Un seul cas de portage de microsporidies a été identifié soit une prévalence de 0,44%. Ces parasites ont représenté 1,92% des espèces diagnostiquées.

La contamination par *Cryptosporidium sp* et par les microsporidies peut être directe ou indirecte par l'intermédiaire de l'eau et des aliments souillés. Par conséquent, le dépistage de ces parasites digestifs s'avère intéressant vu leur grande résistance dans le milieu extérieur et la gravité de l'infection en cas d'immunodépression.

# **Evaluation de la trousse Iam<sup>TM</sup> Diasorin<sup>®</sup> pour le diagnostic moléculaire et le suivi des infections à *Toxoplasma gondii***

VARLET - MARIE E.<sup>1</sup>, STERKERS Y.<sup>1</sup>, BASTIEN P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Chu Montpellier

La toxoplasmose, infection généralement bénigne due à un parasite ubiquitaire nommé *Toxoplasma gondii* peut causer des complications parfois graves chez les femmes enceintes n'ayant pas été au contact du parasite avant leur grossesse et chez les patients souffrant d'immunodépression. Son diagnostic a été considérablement amélioré avec le développement de la technique de la PCR. Néanmoins ce diagnostic moléculaire est encore très dépendant des méthodes propres à chaque laboratoire et souffre d'un manque de standardisation ce qui entraîne de grandes différences en terme de performance entre les différents centres. Un souhait commun des autorités de santé et des microbiologistes serait une plus grande homogénéisation des méthodes et des pratiques ; l'accréditation prochaine des laboratoires d'analyses et la politique de Qualité actuelle, donnent du poids à ces requêtes et le recours à l'utilisation de kits commerciaux apparaît comme une alternative à cette standardisation des méthodes. Malheureusement les différentes trousse commerciales qui sont actuellement sur le marché ne présentent pas toutes des performances supérieures aux méthodes dites « maison ». Une des missions du pôle de Biologie Moléculaire du Centre National de Référence de la Toxoplasmose (CNRT) consiste à inventorier les nouvelles trousse diagnostiques et nouvelles techniques et à évaluer leurs performances par rapport aux méthodes de références afin de pouvoir donner un avis expert aux différents laboratoires nationaux pratiquant ce diagnostic.

L'objectif de cette étude était d'évaluer, les performances de la trousse Iam TOXOPLASMOSIS Q - LAMP QUALITATIVE ASSAY (CE DIV) développée par DiaSorin en comparant ses résultats à ceux obtenus avec la technique de référence du laboratoire de Parasitologie - Mycologie de Montpellier (en routine depuis juillet 2009) . Des standards de référence (liquide amniotique et plasma) négatifs, ou additionnés de tachyzoites de *T. gondii* à différentes concentrations (de 7 to 10exp5 tachyzoites.ml - 1) et des échantillons de patients (10 de liquide amniotique et 30 de sang cryopréservés à - 20°C) ont été testés. Les caractéristiques techniques et le temps de réalisation (de l'échantillon au rendu du résultat) ainsi que les performances globales ont été comparées. Les deux méthodes présentent des résultats hautement comparables, quantitativement et dans la plupart des cas quantitativement.

# **Caractérisation et validation multicentrique d'une gamme standard pour la détection de *Toxoplasma gondii* destinée aux techniques d'amplification de l'ADN**

VARLET - MARIE E.<sup>1</sup>, STERKERS Y.<sup>1</sup>, MORELLE C.<sup>1</sup>, BRENIER – PINCHART M.P.<sup>2</sup>,  
CASSAING S.<sup>3</sup>, DALLE F.<sup>4</sup>, DELHAES L.<sup>5</sup>, FILISETTI D.<sup>6</sup>, PELLOUX H.<sup>2</sup> TOUAFEK  
F.<sup>7</sup> YERA H.<sup>8</sup>, BASTIEN P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Chu Montpellier

<sup>2</sup> CHU Grenoble

<sup>3</sup> CHU Toulouse

<sup>4</sup> CHU Dijon

<sup>5</sup> CHU Lille

<sup>6</sup> CHU Strasbourg

<sup>7</sup> CHU Pitié – Salpêtrière, Paris

<sup>8</sup> CHU Cochin, Paris

Le diagnostic moléculaire de la toxoplasmose repose essentiellement sur des méthodes dites « maison » ; il souffre d'un manque de standardisation des pratiques et d'une grande diversité des méthodes. Cet état de fait est général, y compris dans les pays comme la France où la toxoplasmose congénitale est considérée comme un problème de santé publique et bénéficie d'un programme national de prévention. A ceci s'ajoute le problème de l'hétérogénéité de la détermination de la charge parasitaire dans le liquide amniotique en fonction des centres, qui interdit de fait la mise en application de la corrélation (si elle existe) entre charge parasitaire et sévérité de la maladie.

L'objectif de cette étude multicentrique réalisée dans 8 laboratoires experts du Pôle biologie moléculaire du CNR toxoplasmose est (i) d'évaluer la pertinence d'utiliser une préparation lyophilisée contenant des tachyzoïtes de *T. gondii* comme standard destiné au diagnostic moléculaire de la toxoplasmose (ii) de comparer l'exactitude et la reproductibilité des résultats quantitatifs obtenus par les différents centres avec ce standard de calibration. Ce standard est préparé, qualifié et validé selon des procédures de Qualité. Son évaluation conjointe par le centre préparateur et de manière multicentrique démontre sa stabilité, sa robustesse et sa fiabilité. Il peut être fabriqué facilement et en quantité pour une large diffusion aux trente laboratoires du réseau national du CNR toxoplasmose. A notre connaissance, le standard proposé dans cette étude constitue le premier matériel destiné à contrôler la qualité du rendu de la quantification des charges parasitaires dans le cadre des infections pré - natales à *T. gondii*.

## **Photo Quizz : Une étrange adénopathie chez une jeune patiente du Maine et Loire**

PIHET Marc <sup>1</sup>, GIRAUD J.M. <sup>2</sup>, DE GENTILE L. <sup>2</sup>, MORIO F. <sup>3</sup>, SCHMITT F. <sup>4</sup>,  
LAVERGNE R.A. <sup>3</sup>, LE PAPE P. <sup>3</sup>, CHABASSE D. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU d'Angers; L'UNAM Université, Université d'Angers, Groupe d'Etude des Interactions Hôte - Pathogène, EA 3142

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU d'Angers

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU de Nantes ; Département de Parasitologie et Mycologie Médicale, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, EA1155 – IICiMed, Faculté de Pharmacie, Nantes

<sup>4</sup> Service de chirurgie viscérale et urologie pédiatrique, CHU d'Angers

Une jeune fille de 12 ans consulte aux urgences du CHU d'Angers fin janvier 2014, pour une petite masse inguinale gênante à la marche, apparue au début du mois. Elle présente en effet une adénopathie inguinale droite, ainsi qu'un nodule situé en fosse iliaque droite mesurant 15 mm de diamètre, tous deux légèrement sensibles lors de la mobilisation. Cette patiente ne présente pas d'altération de l'état général, l'examen ne révèle pas d'hépatosplénomégalie ni d'autre adénopathie. A l'interrogatoire, on retrouve la notion de griffure de chat au niveau de l'hallux gauche il y a plus d'un an. On note dans son entourage immédiat la présence de deux chiens sans signes cliniques, régulièrement suivis par un vétérinaire. Elle ne rapporte pas de voyage hors de France. L'été précédent, elle a séjourné une dizaine de jours dans le sud - ouest (Bassin d'Arcachon), avec une excursion d'une journée à la frontière espagnole (Col du Somport, Pyrénées - Atlantiques). Au cours de ces vacances, elle aurait présenté une quarantaine de piqûres de moustiques.

Un bilan biologique est réalisé: bilan inflammatoire, numération - formule sanguine, bilan hépatique, sérologies virales (VIH, CMV, EBV), bactériennes (*Bartonella henselae*) et parasitaires (toxoplasmose). Ces examens s'avèrent sans particularité. Deux lignes successives d'antibiothérapie probabiliste sont alors mises en place, mais l'absence de régression des lésions conduit à proposer fin février une biopsie à visée diagnostique.

Au cours de l'intervention, la rupture du nodule situé en fosse iliaque droite laisse échapper "une sorte de long filament fin translucide blanchâtre et atone", que le chirurgien adresse pour identification au laboratoire de parasitologie (figure 1). Le reste de la pièce d'exérèse est envoyée au laboratoire d'anatomopathologie, qui ne met pas en évidence de pathologie tumorale, mais objective un granulome éosinophile et une structure nécrosée évoquant un parasite (figure 2)...

L'identification du "corps étranger" extrait a pu être confirmée par biologie moléculaire. Quel est votre diagnostic ?

## **Caractérisation d'un nouveau Rhabdiasidae du genre *Chabirenia* chez le saurien *Ctenonotus ferreus* de Marie Galante (Guadeloupe)**

LHERMITTE - VALLARINO |N. <sup>1</sup>, BELS V. <sup>2</sup>, PLACIDE M.A. <sup>2</sup>, BAIN O. <sup>1</sup>, MARTIN C. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> MNHN - UMR7245

<sup>2</sup> MNHN - UMR7205

*Ctenonotus* est un genre de sauriens de la famille des Dactyloidae. Les espèces de ce genre se rencontrent aux Antilles et l'espèce *C. ferreus* est endémique de Marie Galante (Guadeloupe). La nématofaune des Dactyloidae a principalement été étudiée sur des sauriens d'Amérique du Sud. Elle est représentée par les 5 ordres de nématodes *Rhabditida*, *Strongylida*, *Ascaridida*, *Oxyurida* et *Spirurida*.

L'analyse de plusieurs *C. ferreus* mâles et femelles capturés à Marie Galante en juillet - août 2011 et 2012 a révélé la présence d'un nématode de la famille des *Rhabdiasidae* du genre *Chabirenia*. Dans ce genre, une seule espèce à ce jour a été décrite, *C. cayennensis*, chez deux espèces de lézards de Guyane, *Ameiva ameiva* et *Cnemidophorus lemniscatus* (famille des Teiidae). Les femelles adultes vivent enroulées en hélice dans la lumière des glandes salivaires de la muqueuse buccale, principalement dans les glandes sublinguales, palatines et infra labiales. Ce genre effectue son cycle parasitaire par parthénogenèse et a une phase libre homogonique. Chez *C. ferreus*, nous décrivons *Chabirenia* n. sp. aux caractères morphologiques (synopse,.....) et biologiques distincts (localisation,...). En particulier, ce nématode est enroulé autour des papilles linguales. Le cycle a été réalisé et présente les mêmes caractéristiques que l'espèce *C. cayennensis*. Par sa localisation il est possible que ce nématode ait un impact sur la prise prandiale de son hôte saurien.

# Diversité génétique de *Toxoplasma gondii* à partir de prélèvements paraffinés d'abcès cérébraux de 20 patients immunodéprimés : l'expérience de l'hôpital Paris - Lariboisière

CAZORLA A.<sup>1</sup>, POLIVKA M.<sup>1</sup>, GRENOUILLET F.<sup>2</sup>, AJZENBERG D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> AP-HP Lariboisière, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

<sup>2</sup> CHRU Besançon

<sup>3</sup> CHU Limoges

*Toxoplasma gondii* est responsable d'encéphalite toxoplasmique chez les sujets sévèrement immunodéprimés. Le génotype de la souche de *Toxoplasma gondii* semble jouer un rôle important dans la sévérité des formes oculaires ou disséminées de l'immunocompétent mais reste à préciser chez l'immunodéprimé, en particulier dans les formes cérébrales, pour lesquelles, les biopsies sont rarement pratiquées et les PCR sériques *Toxoplasma* classiquement négatives. Le but de notre étude est d'estimer la diversité génétique des toxoplasmes chez des patients immunodéprimés à partir de l'ADN directement extrait d'abcès cérébraux inclus en paraffine.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES :** Nous avons recueilli les prélèvements paraffinés d'abcès cérébraux présentant des toxoplasmes identifiés en immunohistochimie reçus entre 1999 et 2012 dans le service de pathologie de l'hôpital Lariboisière, ainsi que l'origine géographique et le statut immunitaire des patients. Une extraction d'ADN a été réalisée avec le kit Nucleospin® Tissue (Macherey Nagel) à partir des blocs paraffinés sélectionnés (autopsie : 5 à 10 coupes de 5µ ; biopsie : un ou deux punches), après déparaffinage au xylène et vibrobroyage avec des billes de céramique (MagnaLyser, Roche). Le génotypage de l'ADN de *Toxoplasma gondii* a été réalisé après amplification par PCR multiplexe de 15 marqueurs microsatellite localisés sur 10 chromosomes différents et électrophorèse sur séquenceur automatique selon un protocole bien établi.

**RÉSULTATS :** 20 patients ont été inclus, âgés de 18,8 à 59,2 ans (âge moyen: 44,2 ans, sex ratio H/F: 9), tous immunodéprimés, majoritairement par infection par le VIH (19/20) et un post - transplantation rénale. Les origines géographiques étaient connues pour 19 patients et étaient variables: France (7), Gabon (1), Ghana (1), Côte d'Ivoire (1), Tchad (2), île Maurice (1) et Maghreb (1).

L'examen histopathologique des prélèvements, issus des biopsies des abcès cérébraux (19) ou d'autopsie (1), montrait une nécrose pseudo - ischémique entourée d'infiltrats lymphocytaires. L'immunohistochimie anti - toxoplasme montrait des tachyzoïtes et/ou bradyzoïtes en quantité variable.

Dans 8 cas, le génotypage de l'ADN toxoplasmique n'a pas été contributif. Les résultats montrent une grande variété de génotypes: 7 cas de génotype II (patients originaires de France, du Maghreb et du Tchad), 1 cas de génotype III (origine du patient inconnue), 1 cas de génotype Africa 1 (patient originaire de Côte d'Ivoire) et enfin 3 cas atypiques (patients originaires de Côte d'Ivoire, du Ghana et de l'île Maurice).

**DISCUSSION :** La diversité génétique de *T. gondii* est variable selon l'origine géographique. Notre étude confirme une étude multicentrique précédente qui montrait que chez l'immunodéprimé, le type II était prédominant en Europe alors que les génotypes atypiques étaient plus fréquents chez des patients nés en dehors de l'Europe, et le génotype Africa 1 chez les patients originaires d'Afrique sub - Saharienne. La distribution des génotypes (type II versus atypiques) n'était pas différente en fonction du type d'immunodépression et de la sévérité clinique.

**CONCLUSION :** Ces résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle le génotype des toxoplasmes chez l'immunodéprimé est lié à l'origine géographique des patients et non à la sévérité ou à la topographie de la présentation clinique. Le génotype parasitaire ne jouerait pas un rôle déterminant dans la physiopathologie de la toxoplasmose chez l'immunodéprimé.

## Premier cas avéré de méningite à éosinophiles à *Angiostrongylus cantonensis* en Guadeloupe

DARD C.<sup>1</sup>, PILOQUET J.E.<sup>2</sup>, QVARNSTROM Y.<sup>3</sup>, HARROIS D.<sup>1</sup>, HEBERT J.C.<sup>2</sup>,  
MATTERA D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Biologie Médicale - Centre Hospitalier de la Basse-Terre (Guadeloupe)

<sup>2</sup> Service de Pédiatrie - CH de la Basse - Terre (Guadeloupe)

<sup>3</sup> CDC/DASH Unit 52 – Atlanta

*Angiostrongylus cantonensis* est un nématode métrastrongylidé parasite des artères pulmonaires du rat, à l'origine de l'angiostrongyloïdose nerveuse, maladie dont l'origine parasitaire a été établie en 1963 par Alicata. Initialement, son berceau est l'Asie du Sud - Est mais il gagne peu à peu du terrain de part la mondialisation. Son cycle parasitaire implique le rat (hôte définitif) et des mollusques particulièrement le gastéropode *Achatina fulica* (hôte intermédiaire) ; l'homme constitue un hôte accidentel à l'origine d'une impasse parasitaire. La clinique se traduit le plus souvent par un syndrome méningé spontanément résolutif, mais des formes méningo - encéphalitiques mortelles ou avec séquelles neurologiques sont parfois décrites en particulier chez les enfants. Au niveau biologique, une hyperéosinophilie sanguine accompagne généralement une pléiocytose avec prédominance de polynucléaires éosinophiles dans le LCR, signant une méningite à éosinophiles. Si quelques tableaux cliniques suspects ont été décrits dans les petites Antilles, aucun cas n'a été confirmé par biologie moléculaire. Nous présentons ici le premier cas d'angiostrongyloïdose nerveuse dans les petites Antilles, diagnostiqué en Guadeloupe et confirmé par PCR sur LCR. L'évolution clinique de la patiente, une enfant de 8 mois, a été favorable sous traitement et aucune séquelle n'est à déplorer. Ce cas impliquant la présence du parasite sur l'île, une analyse environnementale est en cours sur des escargots récoltés en divers endroits du Sud de la Basse - Terre pour rechercher la présence du parasite par PCR et prouver sa circulation en Guadeloupe. Si cette étude confirme la présence d'*A. cantonensis*, d'autres cas similaires seront probablement à déplorer dans les prochaines années dans les petites Antilles.

## La légine australe, *Dissostichus eleginoides*, un nouvel hôte pour *Pseudoterranova cattani*

GAY M.<sup>1</sup>, BOURGAU O.<sup>1</sup>, JEROME M.<sup>2</sup>, VERREZ – BAGNIS V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ANSES

<sup>2</sup> IFREMER

La légine, *Dissostichus eleginoides*, appartenant à la famille des *Nototheniidae*, est un poisson à fort intérêt commercial depuis une vingtaine d'années. Sa chair excellente est proche de celle de la morue charbonnière, *Anoplopoma fimbria*, très prisée des japonais. Sa distribution géographique couvre les eaux australiennes, sud - américaines ainsi que les eaux des Kerguelen et de Crozet.

Les genres *Anisakis*, *Contracaecum*, *Hysterothylacium* et *Pseudoterranova*, membres de la famille des *Anisakidae*, sont des nématodes parasites dont les larves sont présentes chez de nombreuses espèces de poissons et céphalopodes couramment consommés (EFSA 2010). Leur ingestion peut entraîner des pathologies digestives (anisakidose) et allergiques chez l'Homme.

Une larve de nématode a été observée dans un filet de légine. Ce filet provenait d'un lot pêché en juillet 2010 dans la zone Kerguelen (zone FAO 58.5.1). Une identification moléculaire de l'espèce de poisson a été effectuée par séquençage Sanger d'un fragment du gène de la cytochrome oxydase sous - unité 1 (Cox1) amplifié avec les amorces FishF2 (5' - TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC - 3') et FishR2 (5' - ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA - 3') (Ward et al. 2005). Elle a confirmé l'appartenance de l'échantillon à l'espèce *Dissostichus eleginoides*.

Le parasite a été morphologiquement identifié comme appartenant au genre *Pseudoterranova*. Son identification au niveau de l'espèce a été réalisée sur la base du séquençage Sanger d'un fragment du gène de la cytochrome oxydase sous - unité 2 (Cox2) amplifié avec les amorces F - univ - nem (5' - GGT GTT CTT TCT TTT GTT TCT G - 3') et R - univ - nem (5' - ATA AAA CTA TGG TTA GCC CCA C - 3') (Seesao et al., pers. com). Ce parasite a été identifié comme appartenant à l'espèce *Pseudoterranova cattani*.

Dans leurs avis, l'AFSSA (2008) et l'EFSA (2010) recommandaient la collecte de données sur la distribution géographique et saisonnière, la prévalence et l'intensité d'infestation des parasites d'importance en santé publique dans les produits de la pêche. Or, à ce jour, peu de données récentes sont disponibles sur la répartition et la diversité des *Anisakidae* dans les produits de la pêche consommés en France. De plus, malgré son poids économique, la diversité parasitaire chez cette espèce a été principalement décrite à proximité des Iles Malouines (Brown et al. 2013), bien que les pêcheries à proximité des Iles Kerguelen soient importantes. Cette étude est la première description de la présence d'un individu appartenant à l'espèce *Pseudoterranova cattani* chez la légine australe, *Dissostichus eleginoides*.

### Références bibliographiques

AFSSA (2008). Demande d'évaluation du risque relatif à la présence d'anisakidés dans les produits de la pêche et extension de la dérogation à l'obligation de congélation assainissante pour les produits de la pêche dont l'alimentation est maîtrisée ainsi que pour certaines espèces de poissons sauvages saisine 2007 - SA - 0379.

Brown, J., P. Brickle, et al. (2013). The parasite fauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* off the Falkland Islands. *J Helminthol* 87(4): 501 - 509.

EFSA (2010). Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal* 8(4): 1543 (1591 pp.).

Ward, R. D., T. S. Zemlak, et al. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 360(1462): 1847 - 1857.



# **Examen direct *versus* culture au cours du diagnostic de la leishmaniose cutanée dans la région d'Annaba**

BELDIN.<sup>1</sup>, MANSOURI R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU D'Annaba (Algérie)

## **Introduction**

Les leishmanioses sont des anthroponoses causées par des kinétoplastides, flagellés appartenant au genre *Leishmania*.

En Algérie, ce parasite est responsable de 2 formes de leishmaniose: cutanée (LC) et viscérale (LV). La forme cutanée étant la plus répandue. Le diagnostic de la LC se fait habituellement par l'examen direct de sérosités cutanées. La recherche d'anticorps a peu d'intérêt pour la LC car le plus souvent négative. Le recours à la culture se fait le plus souvent dans le cadre de la recherche: c'est une technique laborieuse et difficile à réussir.

## **Objectif**

Ce travail est une étude comparative entre les résultats de l'examen direct et de la mise en culture au cours du diagnostic de la leishmaniose cutanée au laboratoire.

## **Matériel et méthodes**

Un total de 75 patients suspects de leishmaniose cutanée ont été inclus dans cette étude. Les prélèvements ont été réalisés durant les mois de Janvier et de Février 2013. La recherche des formes amastigotes de *Leishmania* sp. a eu lieu dans les sérosités cutanées après coloration au May Grünwald Giemsa (MGG).

Les mises en culture ont été effectuées sur le milieu de référence, NNN, préparé localement au niveau du laboratoire de Parasitologie - Mycologie CHU d'Annaba.

## **Résultats et discussion**

La confirmation de l'infection des patients inclus dans cette étude s'est basée sur la mise en évidence du parasite avec au moins l'une des deux techniques : l'examen direct ou la culture sur milieu NNN.

L'examen direct sur frottis cutanés après coloration au MGG était positif pour 39 patients. Par contre, la culture a donné un nombre plus élevé de positivités : 44 cultures positives au bout de 12 jours maximum.

Contrairement à la littérature, seule la culture nous a permis de donner un diagnostic positif pour 16 patients voire 21,33% des patients reçus. Ce taux élevé de positivité prouve l'efficacité de la mise en culture comme moyen diagnostique au cours de la LC dans le respect des conditions optimales de manipulation.

## **Conclusion**

Les résultats obtenus confirment la contribution de la culture même dans le diagnostic de routine de la LC. Malgré sa lourdeur technique, la culture trouve tout son apport au diagnostic de cette maladie endémo - épidémique.

# **Caractérisation du risque de contamination parasitaire des terrains maraichers par *Echinococcus multilocularis*, *Toxocara sp* et *Toxoplasma gondii***

BASTIEN M.<sup>1</sup>, COMBES B.<sup>2</sup>, UMHANG G.<sup>3</sup>, COMTES S.<sup>2</sup>, RATON V.<sup>2</sup>, BOUE F.<sup>3</sup>,  
POULLE M.L.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> EA38000 PROTAL, 51 rue Cognacq - Jay 51092 Reims Cedex ; URCA

<sup>2</sup> Entente de lutte interdépartementale contre les zoonoses (ELIZ), 54220 Malzéville

<sup>3</sup> ANSES Nancy, Unité de Surveillance Eco - épidémiologique des Animaux Sauvages (SEpiAS),  
54220 Malzéville

<sup>4</sup> CERFE, 5 rue de la héronnière 08240 Boult - aux - bois

*Echinococcus multilocularis* (Em) est un parasite intestinal des renards, des chiens et exceptionnellement des chats dont les œufs sont disséminés dans l'environnement avec les fèces des carnivores infestés. Ce parasite est responsable d'une maladie rare mais fortement invalidante : l'échinococcose alvéolaire. Une autre zoonose, la toxocarose, est provoquée par *Toxocara sp.*, parasite intestinal des renards, chiens et chats. Ces derniers peuvent également être excréteurs de *Toxoplasma gondii*, parasite responsable de la toxoplasmose. Ces deux maladies sont plus fréquentes que la première mais avec des effets moindres sur la santé. Les cas les plus graves peuvent toutefois entraîner des lésions oculaires pour la toxocarose et des avortements ou des malformations fœtales en cas de primo - infection par *T. gondii* chez la femme enceinte. L'échinococcose alvéolaire, la toxocarose et la toxoplasmose ont en commun de pouvoir être contractées suite à l'ingestion accidentelle des œufs ou oocystes des parasites qui en sont responsables. Cette ingestion peut notamment se produire lors de la consommation crue de fruits et légumes cultivés sur un terrain contaminé par des fèces de carnivores parasités. Cette étude a pour objectif d'évaluer et de caractériser le risque de contamination parasitaire humaine lié à la fréquentation des potagers par les carnivores. Elle est conduite dans le nord - est de la France en zone d'endémie d'*E. multilocularis*. Des collectes de fèces de carnivores ont été menées en février et mars 2014 dans 100 terrains maraichers situés dans les Ardennes (région Champagne - Ardenne) et 100 situés en Moselle (région Lorraine). Huit autres sessions de collecte ainsi que des prélèvements de terre seront effectuées au cours des deux prochains hivers. Nous chercherons à identifier les facteurs d'attractivité et d'accessibilité qui expliquent la présence de fèces de carnivores dans les terrains maraichers. De plus, des analyses moléculaires seront réalisées sur les différents prélèvements afin de déterminer les proportions de fèces contaminées et la répartition spatiale des parasites dans les terrains contaminés.

## **Etude du portage de *Toxoplasma Gondii* dans les viandes d'origine chevaline importées en France**

BLAGA R.<sup>1</sup>, PERRETC.<sup>2</sup>, AUBERT D.<sup>3</sup>, DUCRY T.<sup>2</sup>, GEERS R.<sup>3</sup>, THOMAS M.<sup>2</sup>,  
VILLENA I.<sup>3</sup>, BOIREAU P.<sup>2</sup>

1 Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire D'Alfort, Umr Bipar, Maisons-Alfort, France.

2 Université Paris - Est, ANSES, Laboratoire de santé animale de Maisons - Alfort, UMR BIPAR, Maisons - Alfort, France

3 Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Unité Sous Contrat ANSES « épitoxo », CHU Reims EA 3800, SFR CAP - Santé, Université Reims Champagne - Ardenne, Reims, France

La toxoplasmose est un problème de santé publique. La contamination de l'homme par ingestion de kystes tissulaires de *Toxoplasma gondii*, présents dans les viandes peu cuites, est considérée comme prépondérante et les viandes d'origine ovine, porcine et bovine sont principalement incriminées. Récemment la viande importée de cheval a été à l'origine de contaminations humaines à plusieurs reprises entre 2008 et 2010, avec plusieurs cas gravissimes de toxoplasmose. L'identification moléculaire par PCR des souches isolées a révélé la présence d'un génotype atypique canadien et brésilien. Ainsi, les viandes importées pourraient représenter un risque de contamination plus sévère par la présence de génotypes atypiques plus virulents à l'origine de toxoplasmose sévère ou possiblement de recontamination par une souche virulente entraînant une pathologie chez un patient antérieurement immunisé. De ce fait, la présente enquête soumise à la coordination du LNR « Parasites transmis par les aliments », visait à mieux connaître la prévalence de *Toxoplasma gondii* chez une espèce cible, le cheval, et plus particulièrement les chevaux importés du continent américain, ainsi que la caractérisation des génotypes identifiés. Les muscles provenant de 247 carcasses de chevaux importées du continent américain ont été collectés au poste d'inspection frontalier (PIF) de Roissy. Un titrage des anticorps spécifiques contenus dans le fluide musculaire par la technique d'agglutination directe (ADHS) a été effectué sur tous les prélèvements. Pour les échantillons de fluides s'étant révélés séropositifs, une analyse de biologie moléculaire par PCR quantitative a été réalisée sur le produit de lyse obtenu après digestion trypsique du tissu musculaire. La présente enquête a permis de mettre en évidence une séroprévalence brute de 34% ainsi que la présence d'ADN parasitaire sur deux carcasses chevaline, sans pouvoir toutefois relever son génotype en raison d'une quantité limitée d'ADN. Ces résultats confirment le risque potentiel associé à la consommation de viande chevaline importée en France.

## Prévalence et identification de Microsporidies parasites de la lotte, *Lophius piscatorius*

GAY MELANIE <sup>1</sup>, VERREZ – BAGNIS V. <sup>2</sup>, THEBAULT A. <sup>1</sup>, BOURGAU O. <sup>1</sup>, SEESAO Y. <sup>2</sup>, COS I. <sup>3</sup>, LE FUR B. <sup>3</sup>, BRUZAC S. <sup>2</sup>, JEROME M. <sup>2</sup>, ALIOUAT – DENIS C. <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Anses

<sup>2</sup> Ifremer

<sup>3</sup> PFI Nouvelles Vagues

<sup>4</sup> Institut Pasteur de Lille

Les parasites protozoaires et métazoaires infestent fréquemment les poissons comestibles sous toutes les latitudes. Certains parasites de ces poissons ont un potentiel zoonotique reconnu tandis que d'autres parasites provoquent des altérations organoleptiques du poisson ou des produits transformés ayant donc un impact négatif sur les industries de la filière produits de la mer. Malgré ces faits et malgré la réglementation européenne qui impose le retrait de tout produit de la pêche manifestement parasité, des poissons visiblement parasités sont assez fréquemment retrouvés à la vente en Europe. En France, la consommation des produits de la pêche crus ou peu cuits est en augmentation. Pour ces raisons, le projet Fish - Parasites (ANR - 10 - ALIA - 004) propose une réévaluation des dangers rapportés aux parasites de poisson. Ce projet cible des parasites de poissons qui affectent soit la santé des consommateurs (*Anisakidae*, *Diphyllobothriidae*, *Cryptosporidium*), soit la qualité des produits commercialisés.

Les Microsporidies du genre *Spraguea* sont des parasites des tissus nerveux de la majorité des espèces de lotte appartenant au genre *Lophius*. Ces parasites forment des xénomes blanchâtres, visibles à l'œil nu le long de l'arête dorsale. Leur prévalence est élevée et leur observation sur des queues de lotte commercialisées est fréquente. Deux lots de lotte commune, *Lophius piscatorius*, vidées et provenant d'Atlantique Nord - est ont été achetés à un négociant à Boulogne sur Mer. Le premier a été pêché en novembre 2012 et le second en mai 2013. Le premier lot était composé de 30 individus pesant entre 2 et 3,7 kg et mesurant entre 55 et 68 cm. Le deuxième lot était composé de 28 individus pesant entre 2,6 et 4,4 kg et mesurant entre 61 et 79 cm. Les poissons ont été examinés frais et les kystes ont été prélevés le long de l'arête dorsale. Après observation à l'état frais, ils ont été conservés dans de l'éthanol absolu pour les analyses moléculaires. Après extraction d'ADN de kystes provenant de plusieurs individus des 2 lots, un fragment de la petite sous - unité de l'ADN ribosomal a été amplifié à l'aide des amorces SF4m (5'CACCAGGTTGATYCTGCCTRD3') et SR1147m (5'TGTRGTRAICYTCCCGYCAATY3') et séquencé.

La prévalence de kystes de Microsporidies était de 80 % pour le premier lot et de 64 % pour le deuxième. Les séquences obtenues pour 21 individus issus du premier lot et 18 issus du deuxième étaient toutes parfaitement identiques. L'analyse phylogénétique de ces séquences avec des séquences de référence a permis d'identifier ces parasites de la lotte comme étant des *Spraguea lophii*.

Les Microsporidies peuvent être des parasites d'insectes, de poissons, d'oiseaux ou de mammifères. Certaines espèces ont été décrites comme des pathogènes opportunistes chez l'homme. Les membres du genre *Spraguea* sont phylogénétiquement éloignés des genres pathogènes pour l'homme, cependant, à ce jour, aucune donnée n'est disponible quant à leur pouvoir infectieux pour l'homme. Or, leur présence est très fréquente chez les principales espèces de lotte (*L. piscatorius* et *L. budegassa*), poisson à forte importance économique. Outre le risque potentiel en terme de santé publique, la présence visible de ces parasites peut entraîner une diminution de la valeur commerciale de ces poissons ainsi qu'un rejet du produit de la part du consommateur.

# Optimisation d'une méthode pour la détection de protozoaires chez des invertébrés aquatiques du littoral

HANI Y. <sup>1</sup>, PALOS LADEIRO M. <sup>1,2</sup>, LA CARBONA S. <sup>3</sup>, DUPUIS E. <sup>1</sup>, BIGOT A. <sup>2</sup>, VILLENA I. <sup>1</sup> AUBERT D. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 3800, SFR CAP - Santé FED 4231, Hôpital Maison Blanche, 45 Rue Cognacq Jay 51096 Reims, France.

<sup>2</sup> UMR \_ I 02 INERIS - URCA - ULH SEBIO, Unité Stress Environnementaux et biosurveillance des milieux aquatiques, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Campus du Moulin de la Housse BP 1039, 51687 Reims cedex 2, France

<sup>3</sup> ACTALIA Sécurité des Aliments, Villers - Bocage, France

Les zoonoses d'origine alimentaire représentent un véritable challenge pour les autorités sanitaires. Parmi elles, les infections parasitaires sont encore peu étudiées, notamment vis - à - vis du risque sur les mollusques. *Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis* et *Toxoplasma gondii* sont des agents majeurs de par leur capacité à survivre dans des conditions environnementales extrêmes et en interagissant avec les organismes terrestres ou aquatiques. Dans plusieurs études, les mollusques bivalves ont été incriminés pour leur capacité de filtration et d'accumulation de ces trois parasites pouvant ainsi représenter une source de contamination humaine lorsqu'ils sont consommés crus ou peu cuits. A ce jour, il n'existe pas de méthode de détection standardisée pour ces matrices complexes, rendant ainsi difficile l'estimation réelle des niveaux de contamination des mollusques par ces parasites. L'objectif de notre étude est de développer une technique de détection commune pour les trois protozoaires d'intérêt, chez trois mollusques bivalves dont la moule bleue, *Mytilus edulis*, et deux espèces d'huîtres, l'huître creuse, *Crassostrea gigas* et l'huître plate, *Ostrea edulis*. Dans une première partie, plusieurs protocoles de purification ont été testés pour permettre l'extraction des parasites à partir de la chair des mollusques. L'efficacité de 2 enzymes digestives (la trypsine et la pepsine) a été testée dans une phase de digestion des tissus suivie ou non d'une étape de délipidation à l'éther diéthylique. Les résultats obtenus démontrent une plus grande efficacité de la trypsine lorsque celle - ci est associée à l'éther diéthylique. Dans un second temps, des expérimentations de dopage ont été réalisées, au cours desquelles une comparaison entre deux techniques d'extraction d'ADN a été effectuée, l'une à base de billes magnétiques pour capturer les inhibiteurs de PCR, l'autre totalement automatisée pour capturer les acides nucléiques totaux grâce à des particules de silice. Cette dernière a révélé un meilleur rendement de détection de l'ADN des protozoaires dans les chairs de bivalves avec la technique de PCR quantitative en temps réel.

## **Interprétation de la charge parasitaire placentaire évaluée par PCR temps réel dans les toxoplasmoses pergravidiques**

FOUDRINIER F.<sup>1</sup>, AUBERT D.<sup>1,2</sup>, CHEMLA C.<sup>1,2</sup>, DUPUIS E.<sup>1</sup>, MARNEF F.<sup>1</sup>, CORNIC S.<sup>1</sup>, GEERS R.<sup>1</sup>, VILLENA I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Parasitologie Mycologie, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, 45 rue Cognacq Jay, 51092 REIMS Cedex –

<sup>2</sup> Centre National de Référence de la Toxoplasmose, Hôpital Maison Blanche 45 rue Cognacq Jay, 51092 REIMS Cedex

Lors d'une toxoplasmose pergravidique, le placenta joue un rôle de réservoir potentiel de parasites mais réalise néanmoins un filtre retardant voire empêchant la transmission de *Toxoplasma gondii* au fœtus. L'infection placentaire n'est pas un critère formel d'atteinte fœtale, cependant son étude par test d'inoculation à la souris a une valeur prédictive positive élevée d'atteinte contribuant ainsi au diagnostic post - natal de toxoplasmose congénitale, son inconvénient étant un délai de résultat tardif. Le laboratoire de parasitologie du CHU de Reims réalise ce test depuis plusieurs décennies. Actuellement, la biologie moléculaire contribue grandement au diagnostic de la toxoplasmose congénitale et a supplanté le test d'inoculation à la souris pour l'étude du liquide amniotique dans le cadre du diagnostic anténatal de cette affection. Nous avons voulu évaluer l'intérêt de la détection d'ADN toxoplasmique par PCR Temps Réel dans le placenta, alternative à l'inoculation donnant un résultat rapide.

**Patients :** notre étude a porté sur 189 placentas ; 26 toxoplasmoses congénitales ont été diagnostiquées, dont 8 en période anténatale par détection d'ADN toxoplasmique dans le liquide amniotique. Un traitement maternel par spiramycine était mis en œuvre après découverte de la séroconversion sauf pour trois patientes mises sous Pyriméthamine/Sulfadiazine (P/S). Lorsque le dépistage prénatal (DPN) était positif, le traitement P/S s'est substitué à la spiramycine.

**Méthodes :** une fraction de 0,6 mL du broyat de placenta, préparé sous un volume total de 6 mL pour inoculation à six souris, était écartée en deux aliquotes de 0,3 mL : l'une pour PCR à la recherche d'ADN toxoplasmique selon la méthode utilisée au laboratoire, l'autre congelée à -80°C en vue de reprise éventuelle. La PCR a été réalisée en triplicate sur chaque échantillon.

**Résultats :** Pour les 26 placentas correspondant aux enfants atteints, l'inoculation à la souris et la PCR ont été positives ensemble dans 19 cas, et positive isolément chacune dans un cas. Pour les dix patientes sous P/S, six présentaient un placenta positif dans les deux techniques. Pour la PCR, le Cycle Threshold (CT) moyen était de 28,5 [Min 23,6 ; Max 38,18 ; Médiane 28,03]. Pour les 163 placentas correspondant aux enfants non atteints, aucune inoculation à la souris n'a été positive tandis que la PCR a détecté de l'ADN parasitaire dans 28 broyats, avec un CT moyen de 35,9 [Min 28,82 ; Max 39,94 ; Médiane 36,54]. Notre étude confirme que la colonisation du placenta par le toxoplasme révélée par PCR n'est pas synonyme d'infection fœtale. Toutefois, nous proposons une interprétation de la charge parasitaire fonction de la valeur des CT, conduisant à une VPP de 91% pour la PCR et représentant un paramètre de vigilance pour le pédiatre.

## ***Echinococcus multilocularis* screening of dog populations in France, a multiscale approach revealing inappropriate deworming practices**

COMTE S.<sup>1</sup>, UMHANG G.<sup>2</sup>, RATON V.<sup>1</sup>, HORMAZ V.<sup>2</sup>, BOUCHER J.M.<sup>2</sup>, FAVIER S.<sup>1</sup>, COMBES B.<sup>1</sup>, BOUE F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Entente de Lutte Interdépartementale contre les Zoonoses (ELIZ)

<sup>2</sup> Anses, Nancy

Alveolar echinococcosis is a zoonosis of major concern for health authorities in Europe. The life cycle of its parasite *Echinococcus multilocularis* is based on predator - prey interactions, mainly between foxes and rodents. Dogs are also reckoned to be very suitable as definitive host. Due to their close proximity to humans, they represent a high zoonotic risk that should be precisely characterized. During the last decade, we have investigated the presence of *E. multilocularis* in France. Based on a multiple scale approach (Département, middle - size cities and small villages) involving private veterinarians, more than 1800 dog feces were collected in highly endemic areas (40% to 60% of foxes being infected). All samples were analysed by a combination of flotation and PCR techniques. Dog fecal contamination was assessed in five stools resulting in prevalence ranging from 0 to 0.5%, similar to most other West European studies.

For each feces analyzed, a questionnaire was addressed to the dog owner with focus on dog activities and deworming practices. In the high endemic context of our studies, we highlighted a general underestimated risk of contamination of the dogs. This in turn may be the source of inappropriate pattern of anthelmintic treatment with most of the dogs being dewormed only two times a year when they should be treated in a monthly routine. This particular point was even more worrying for owners of hunting dogs which appeared to be significantly more infected than non - hunting dogs.

We assume that most of the dog owners accurately follow the recommendations given by their veterinarians and hunting associations. We consequently recommend that, in highly endemic areas, information should be adapted to prevent dog contamination and avoid human transmission.

## **Analyse coûts - bénéfices ex ante de l'éradication d'une population de *Glossina palpalis gambiensis* dans la zone des Niayes, Sénégal**

BOUYER F.<sup>1</sup>, SECK M.<sup>1</sup>, DICKO A.<sup>1</sup>, SALL B.<sup>2</sup>, LO M.<sup>2</sup>, VREYSEN M.<sup>3</sup>, CHIA E.<sup>4</sup>,  
BOUYER J.<sup>4</sup>, WANE A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA-LNERV)

<sup>2</sup> DSV

<sup>3</sup> IAE

<sup>4</sup> CIRAD

En 2005, le gouvernement sénégalais s'est engagé dans une campagne d'éradication de la population de *Glossina palpalis gambiensis* dans la zone des Niayes (~1000km<sup>2</sup>) dans le cadre de la PATTEC (Pan African Tsetse and Trypanosomosis Eradication Campaign). Le projet est considéré comme une forme d'intensification écologique de la production bovine. La stratégie d'éradication est constituée d'une phase de suppression avec des pièges imprégnés d'insecticide et le traitement épicutané des bovins et d'une phase d'éradication basée sur la technique de l'insecte stérile.

Trois principaux systèmes d'élevage ont été identifiés : un système traditionnel utilisant une race trypanotolérante et deux systèmes « améliorés » utilisant des races plus productives pour une production laitière ou bouchère. Dans les systèmes améliorés, la taille du troupeau était inférieure de 45% et les ventes annuelles des productions lait et viande étaient de €250 (s.d. 513) par tête contre €74 (s.d. 38) dans le système traditionnel ( $p < 10^{-3}$ ). La distribution spatiale des glossines avait un impact très significatif sur la répartition des systèmes de production ( $p = 0.001$ ), avec 34% (s.d. 4%) et 6% (s.d. 4%) d'éleveurs ayant des races améliorées dans les sites sans ou avec glossines respectivement. Les augmentations potentielles des ventes consécutivement à l'éradication des glossines ont été calculées considérant deux scénarios, une hypothèse basse avec un taux annuel de mutation de l'élevage traditionnel vers un élevage amélioré de 2% et une hypothèse plus réaliste avec une augmentation du taux de mutation de 10%, 5 ans après l'éradication. L'augmentation annuelle finale des ventes est estimée à ~€2800/km<sup>2</sup> pour un coût total de la campagne d'éradication atteignant ~€6400/km<sup>2</sup>.

Malgré son coût relativement élevé, l'analyse coût - bénéfice indique que le projet est très rentable, avec un Taux de Rendement Interne (TRI) de 9.8% et 19.1% and des Délais de Récupération du Capital Investi (DRCI) de 18 et 13 ans pour les deux scénarios, respectivement. En plus d'une augmentation des revenus des éleveurs, les bénéfices de l'éradication des glossines incluent une réduction de la pression de pâturage sur les écosystèmes.



## Ecoépidémiologie de la Leishmaniose viscérale au Maroc (2009 - 2012)

BOUAZIZI AMRANI L.<sup>1</sup>, NAOUI H.<sup>1</sup>, NHAMMI H.<sup>2</sup>, LAAMRANI EL IDRISSE A.<sup>2</sup>,  
LMIMOUNI B.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat, Maroc

<sup>2</sup> Ministère de la Santé

La leishmaniose viscérale est une affection hypoendémique à déclaration obligatoire au Maroc où elle constitue un problème de santé publique. Nous présentons les résultats d'une étude épidémiologique sur les cas de leishmaniose viscérale à *L.infantum* recensés au Maroc. L'objectif de cette étude est d'évaluer le profil épidémiologique des cas de leishmanioses viscérales déclarés au Maroc.

Notre travail est une étude transversale rétrospective descriptive des cas de leishmaniose viscérale enregistrés sur une période de quatre ans « 2009 - 2012 » au niveau de la direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies du Ministère de la santé, au service des maladies parasitaires en collaboration avec le laboratoire de parasitologie et mycologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V - Rabat. Sont inclus dans l'étude tous les patients diagnostiqués et déclarés pour une leishmaniose viscérale durant la période choisie sans autres critères de sélection. Les renseignements recueillis sont saisis sur une base de données EXCEL. Les données fournies comportent des informations sur les patients atteints de leishmaniose viscérale, à savoir : le nom, prénom, numéro d'entrée, sexe, âge, région et province d'origine et de déclaration, lieu d'hospitalisation, type et mois de dépistage, année. Durant la période de l'étude, 493 cas sont recensés. L'évolution annuelle de la maladie est passée de 134 cas (27,20%) en 2009 à 113 cas (22,90%) en 2012. La répartition des cas de leishmaniose viscérale, par tranche d'âge et par sexe, montre que 83,40% des patients sont âgés de 1 à 6 ans, et que la prédominance est masculine avec un sexe ratio H/F de 1,09. On remarque que les foyers de LV se cantonnent dans les étages bioclimatiques arides et semi - arides. Les régions subhumides regroupent peu de cas malgré la forte densité en hommes et en animaux susceptibles de jouer le rôle de réservoir. Les cas recensés se répartissent durant les 4 saisons de l'année avec un maximum au printemps, ceci est en rapport avec l'activité du vecteur.

La leishmaniose viscérale est une parasitose qui impose une prophylaxie rigoureuse à tous les niveaux de la chaîne épidémiologique, d'où la nécessité de respecter et suivre la stratégie du programme national de lutte contre cette maladie.

# **Infections à *Trichomonas vaginalis* : comparaison de trois méthodes diagnostiques**

DAMIANI C.<sup>1</sup>, DUHIN M.<sup>1</sup>, EL MOUNTASSIR Z.<sup>2</sup>, MONGE A.S.<sup>3</sup>, TOTET A.<sup>1,4</sup>  
AGNAMEY P.<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicales, CHU Amiens Picardie

<sup>2</sup> Laboratoire du Grand Mozart, Amiens

<sup>3</sup> Centre de Prévention des Maladies transmissibles, CHU Amiens Picardie

<sup>4</sup> Laboratoire PériTox UMR I - 01, UFR de Médecine, Université de Picardie Jules Verne

<sup>5</sup> Equipe théra, LG2A: Laboratoire de Glycochimie, des Antimicrobiens et des Agroressources - FRE - CNRS  
3517 UFR de Pharmacie, Université de Picardie Jules Verne

## **Introduction**

Le CHU Amiens Picardie présente la particularité d'être géographiquement distant du Centre de Prévention des Maladies Transmissibles et du Centre de Gynécologie Obstétrique d'où proviennent la majorité des prescriptions pour la détection de *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*). Dans ce contexte, le délai d'acheminement des échantillons vers le laboratoire peut excéder deux heures et être la cause de résultats faussement négatifs pour la détection de parasites fragiles tels que *T. vaginalis*. Afin d'améliorer le diagnostic biologique des infections par *T. vaginalis* au CHU Amiens Picardie, l'objectif de cette étude a été de comparer trois méthodes diagnostiques : l'examen microscopique après coloration au May - Grünwald Giemsa (MGG), la culture sur milieu de Roiron et la PCR en temps réel.

## **Matériels et Méthodes**

Il s'agissait d'une étude prospective menée du 24 janvier au 22 juillet 2013. Toutes les patientes présentant une symptomatologie gynécologique évocatrice de trichomonose ont été incluses dans l'étude. Pour chacune, trois prélèvements ont été effectués. Un dépôt de glaire cervicale sur une lame porte - objet fixé immédiatement à l'éthanol absolu puis adressé au laboratoire pour être coloré au MGG, un recueil de glaire cervicale à l'aide d'un écouvillon sec déchargé immédiatement dans 2 mL de milieu Roiron (Eurobio) et un recueil de glaire cervicale à l'aide d'un écouvillon sur milieu de transport dédié à la détection du parasite par PCR en temps réel (Kit Dia - TV - 050, Diagenode).

## **Résultats**

Trente - quatre patientes ont été incluses. Pour 33 d'entre elles, les trois méthodes diagnostiques ont été réalisées. La détection par microscopie était négative pour ces 33 patientes. Elle était positive par PCR et culture pour une de ces 33 patientes. Pour la trente - quatrième patiente, seules la microscopie et la PCR ont pu être réalisées. La détection était négative par microscopie et positive par PCR.

## **Discussion**

Malgré un faible échantillonnage, la PCR en temps réel et la culture semblent être des méthodes plus sensibles que la microscopie. Bien que moins coûteuse que la PCR, la culture nécessite de conserver les milieux à - 20°C. Cependant, tous les services de soins ne disposent pas d'un congélateur dédié à la conservation des réactifs. De plus, cette technique nécessite une lecture microscopique sur trois jours avant de rendre un résultat définitif. La PCR en temps réel nécessite un équipement adéquat au laboratoire mais le résultat peut être rendu en 24 heures. Par ailleurs cette technique commerciale et disposant du marquage CE permet de s'assurer de l'absence d'inhibiteurs de PCR et de la qualité du prélèvement grâce aux contrôles d'extraction et d'inhibition introduits lors de l'analyse de chaque échantillon.

## **Conclusion**

En raison de l'éloignement géographique entre les centres préleveurs et le laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicales, la détection de *T. vaginalis* par PCR en temps réel semble être la méthode diagnostique la plus adaptée dans le contexte du CHU Amiens Picardie.

## **La Chimio-prévention du Paludisme Saisonnier au Sénégal : de la Recherche à l'Action**

NDIAYE J.L.<sup>1</sup>, NDIAYE Y.<sup>2</sup>, BA M.<sup>3</sup>, FAYE B.<sup>3</sup>, NDIAYE D.<sup>3</sup>, TINE R.<sup>3</sup>, CISSE B.<sup>3</sup>,  
MILLIGAN P.<sup>4</sup>, GAYE O.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Service de Parasitologie, Université de Thies, Sénégal

<sup>2</sup> Ministère de la Santé et de l'Action Sociale

<sup>3</sup> Service de Parasitologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

<sup>4</sup> London School of Hygiene and Tropical Medicine

La Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS) est une nouvelle stratégie de lutte contre le paludisme chez les enfants de moins de 5 ans recommandée par l'OMS. Des études menées en Afrique sahélienne notamment au Sénégal ont montré que la CPS était très efficace, sûre et pouvait être administrée à grande échelle avec un bon taux de couverture dans les zones où le paludisme est saisonnier.

En 2011, nous avons mené à un essai clinique randomisé dans le sud du Sénégal, pour étudier l'efficacité de la CPS combinée à la prise en charge communautaire (PECC). Les autres objectifs du projet étaient d'évaluer la faisabilité et la tolérance du SMC chez les enfants plus âgés (5 - 9 ans) et pendant une période de 5 mois. Le critère principal était l'incidence du paludisme (fièvre ou des antécédents de fièvre avec un TDR positif).

Les résultats de cette étude ont montré une efficacité protectrice de 82% de la CPS dans les zones CPS+PECC comparée aux zones non CPS. Un impact positif sur l'anémie sévère et la prévalence de la parasitémie palustre a également été retrouvé. Aucune mutation du codon 540 du gène Di hydro ptéorate synthétase synonyme d'une résistance in vivo n'a été retrouvé. La CPS a ainsi été adoptée en 2013 comme politique nationale au Sénégal et a été mise en oeuvre en phase pilote là où le taux d'incidence clinique de paludisme est supérieur à 0,1 par saison de transmission. Il s'agissait des districts de Kédougou, Saraya, Salémata, Dianke Makha, situées dans la partie sud du pays totalisant 53 082 enfants de moins de 10 ans. Cette administration en campagne de masse et combinée à la PECC a eu une couverture de plus de 90% dans cette région.

L'impact de la CPS sur la morbidité et la mortalité dues au paludisme doit être maintenant évalué de même que celui à long terme sur les marqueurs moléculaires de la résistance aux médicaments par des études épidémiologiques (cas - témoins) lors de la mise à échelle dans les 16 districts éligibles à partir de 2014.

# **Détection des protozoaires pathogènes *Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis* et *Toxoplasma gondii* dans des moules bleues (*Mytilus edulis*) ; bioaccumulation et élimination des oocystes de *C. parvum* par les moules en microcosme.**

GARGALA G.<sup>1</sup>, HUMBERT C.<sup>1</sup>, LE GOFF L.<sup>1</sup>, AUBERT D.<sup>2</sup>, GUYOT K.<sup>3</sup>, HOUSSIN M.<sup>4</sup>, DUMETRE A.<sup>5</sup>, LA CARBONA S.<sup>6</sup>, VILLENA I.<sup>2</sup>, FAVENNEC L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Rouen & EA3800, Université de Rouen, 1 rue de Germont, 76031 Rouen Cedex

<sup>2</sup> Université de Reims Champagne - Ardenne, Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, EA3800, Faculté de Médecine, SFR Cap - Santé Fed 4231

<sup>3</sup> Institut Pasteur de Lille, EA 3609 Ecologie du Parasitisme

<sup>4</sup> Laboratoire Frank Duncombe, Route de Rosel, 14000 Caen

<sup>5</sup> Aix - Marseille Université, UMRMD3 Infections Parasitaires, Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, Faculté de Pharmacie

<sup>6</sup> ACTALIA Sécurité des Aliments, 45 rue Cognacq - Jay, 14310 Villers - Bocage

Les protozoaires pathogènes humains *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Toxoplasma* sont retrouvés dans l'eau de mer et des travaux indiquent la capacité des mollusques bivalves marins à les accumuler dans leur chair. Bien que les cas documentés de protozooses causées par l'ingestion de coquillages contaminés sont extrêmement rares, les moules bleues (*Mytilus edulis*) représentent une potentielle voie de transmission. Les méthodes normalisées de détection de ces protozoaires font défaut et notre objectif principal est l'optimisation d'une méthode pour tester les mollusques vis - à - vis de ces trois protozoaires par immunofluorescence directe et/ou PCR quantitative. Pour les 3 protozoaires, le rendement de récupération des (oo)kystes le plus élevé est obtenu par un broyage et une homogénéisation de la chair des moules suivi par un traitement par l'éther éthylique afin d'éliminer les composants mucoïdes/lipidiques de la matrice alimentaire. A partir d'homogénats de moules dopés avec des oocystes, le rendement de récupération des oocystes de *Cryptosporidium parvum* est de 57%. Cette méthode est utilisée pour l'objectif secondaire de notre travail qui est de déterminer la capacité de moules, exposées expérimentalement, en microcosme, aux oocystes, à retenir et/ou à éliminer les oocystes de *Cryptosporidium*. Nous utilisons un système de réservoirs statiques alimentés par une eau à 30ppt de salinité, équipés de bulleurs permettant la circulation de l'eau et contenant les moules. Avec des doses équivalentes à 500 ou 5000 oocystes/moule, nous avons étudié la bioaccumulation des oocystes au cours de l'exposition chronique (pendant 5 jours) et l'élimination des oocystes aux jours 2, 7 et 14 après une exposition aiguë de 2 jours. Pour cela, les moules (chair et eau intervalvaire) et l'eau du réservoir ont été analysées. Confirmant leur énorme capacité à filtrer très rapidement les oocystes dans ces conditions d'exposition (fortes concentrations d'oocystes), la contamination des moules se produit massivement dès les premières heures d'exposition et non pas progressivement au cours de la période de 5 jours de notre expérience. Cette absence d'accumulation progressive est probablement due à la saturation précoce (dans les 24 h) et complète de la chair du mollusque. La diminution rapide, dans le temps, du relargage des oocystes par les moules qui ont été transférées dans de l'eau exempte d'oocystes pourrait être liée à la clairance rapide (dans les 7 jours) des oocystes retenus dans des moules comme on le constate au niveau de la chair et de l'eau intervalvaire. Les résultats de cette étude pourraient avoir une large applicabilité à des moules récoltées dans un but de commercialisation.

# **Un procédé innovant d'irradiation par lumière UV pulsée efficace sur l'infectivité des oocystes de *Cryptosporidium parvum* à la surface de framboises expérimentalement contaminées.**

GARGALA G.<sup>1</sup>, LE GOFF L.<sup>1</sup>, BERTRAND H.<sup>2</sup>, AUBERT D.<sup>3</sup>, VILLENA I.<sup>3</sup>, AGOULON A.<sup>2</sup>, ORANGE N.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU de Rouen & EA3800, Université de Rouen, 1 rue de Germont, 76031 Rouen Cedex

<sup>2</sup> AGRO - HALL, Centre de Ressource Technologique, IUT d'Evreux, 27000 Evreux, France

<sup>3</sup> Université de Reims Champagne - Ardenne, Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, EA3800, Faculté de Médecine, SFR Cap - Santé Fed 4231

<sup>4</sup> Plateforme Technologique d'Evreux, Normandie Sécurité Sanitaire, IUT d'Evreux, 27000 Evreux, France

Les aliments, le plus souvent des produits consommés frais sans cuisson, sont de plus en plus fréquemment impliqués dans la transmission de la cryptosporidiose humaine. La contamination peut se produire pendant la production des aliments, leur transformation ou leur préparation. Les procédés de décontamination ne doivent pas altérer l'aspect frais et la coloration naturelle des aliments, ce qui est le plus souvent incompatible avec une efficacité réelle sur l'infectivité des oocystes. Le traitement par lumière pulsée, qui consiste à soumettre la surface des aliments à des flashes intenses de lumière blanche de large spectre pendant des temps très courts (10 - 6 à 10 - 1 seconde), est un procédé innovant, athermique d'inactivation des microorganismes. Ce procédé s'est révélé efficace sur l'infectivité des oocystes de *Cryptosporidium* dans l'eau mais n'a jamais été testé sur les oocystes présents à la surface des aliments. Notre étude a pour but d'évaluer l'efficacité de ce procédé sur l'infectivité in vivo d'oocystes de *C. parvum* déposés à la surface de framboises. Les framboises ont été choisies parce qu'elles ont déjà été impliquées dans des épidémies à *Cyclospora cayetanensis*, protozoaire proche de *Cryptosporidium*. L'inoculum est composé de cinq dépôts de 10 µL (6 x 10<sup>7</sup> oocystes/ml) à la surface de chaque framboise d'un échantillon total de 60 g. Les framboises sont ensuite irradiées par 4 flashes avec une fluence de 1 J/cm<sup>2</sup> (soit 4 J/cm<sup>2</sup> de fluence totale). L'irradiation utilisée n'a pas d'incidence sur les caractéristiques organoleptiques des framboises. Après élution, les oocystes sont isolés à partir des framboises par séparation immuno - magnétique puis javélinés avant inoculation afin de maximiser leur infectivité. Les oocystes isolés des framboises, irradiées ou non, sont inoculés par voie orale à des souris NMRI non sevrées de 4 - 5 jours. Sept jours après l'infection, les souris sont sacrifiées et le nombre d'oocystes contenu dans leur intestin grêle est évalué individuellement par cytométrie en flux. 3/12 et 12/12 souris sont infectées quand respectivement 10 et 100 oocystes non irradiés sont inoculés. 4/12 et 2/12 souris sont infectées quand respectivement 103 et 104 oocystes irradiés sont inoculés. Le nombre d'oocystes est plus faible chez les animaux inoculés avec 1000 oocystes irradiés (moyenne 92 ± 144/intestin) ou 10 000 oocystes irradiés (38 ± 82/intestin) que chez les animaux inoculés avec 100 oocystes non irradiés (35785 ± 66 221) (p = 0,008). Dans les conditions utilisées, le rayonnement UV pulsé permet donc un abattement de l'infectivité de 2 et 3 log<sub>10</sub> pour un inoculum respectivement de 103 et 104 oocystes. Ces abattements sont comparables à ceux obtenus avec des framboises inoculées avec *Salmonella* et/ou *E. coli* O157:H7. Cette étude pilote indique que la lumière pulsée UV est un mode efficace de décontamination pour les framboises. Pour son application industrielle, ce procédé ne nécessite pas de personnels spécialisés et ne produit pas ou peu de déchets néanmoins il faudra, dans le contexte d'une chaîne de production, adapter la présentation de l'aliment pour optimiser le résultat du traitement.

## Mise en place de l'avidité Lecolier au laboratoire de Parasitologie - Mycologie de l'hôpital Bichat - Claude Bernard

JACQUELINE M.<sup>1</sup>, MIGNOT T.<sup>1</sup>, ARGY N.<sup>1</sup>, HOUZE S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hôpital Bichat - Claude Bernard

Les réactifs de détection des IgM spécifiques de *Toxoplasma gondii* sont de plus en plus sensibles avec le risque de détecter des IgM tardivement après la séroconversion. L'interprétation des sérologies de toxoplasmose prélevées au cours de la grossesse reste délicate dans ce contexte et la datation de l'infection est un challenge quand le premier prélèvement a été fait à un âge avancé de la grossesse. La mesure de l'avidité des IgG anti-toxoplasmiques est un outil précieux pour cette datation, permettant notamment l'exclusion d'une infection toxoplasmique récente chez une femme enceinte présentant des IgG avec une forte avidité. Cette analyse bénéficie de la mise à disposition de nombreux réactifs commerciaux permettant sa détermination sur la plupart des automates ou par l'emploi de kit mettant en œuvre une technique immunoenzymatique. Les spécificités de ces réactifs permettent en général d'exclure une infection datant de plus de 4 mois seulement : ceci permet d'exclure dans plus de 80% des cas une séroconversion récente, qui aurait pu être considérée comme une infection peri-conceptionnelle ou de début de grossesse. Parmi les 20 % restant, il y a les sérums prélevés en fin de grossesse dont l'avidité forte ne permet pas d'exclure une infection de début de grossesse (antérieure de plus de 4 mois avec les méthodes commerciales).

Pour répondre à cette problématique, nous avons évaluée au laboratoire de Parasitologie - Mycologie de l'hôpital Bichat - Claude Bernard, les performances d'une technique manuelle, développée par le Dr Lecolier dans les années 1990 (1) et publiée (2), qui permettrait de dater une séroconversion de plus de 10 mois. Cette avidité manuelle diffère des kits commerciaux habituels par l'utilisation d'une solution d'urée plus concentrée (6 M) que dans les réactifs commerciaux comme agent dénaturant. Les sérums inclus dans l'étude étaient répartis en deux groupes : un groupe de sérums dits de "toxoplasmose ancienne" avec des IgG âgés de plus de 10 mois et un groupe de sérums prélevés au cours du suivi de séroconversions toxoplasmiques. Les index d'avidité des 13 sérums issus du suivi de 5 séroconversions, prélevés moins de 5 mois après la date estimée de la contamination étaient compris entre [0.211 ; 0.249] avec un index moyen de 0,230. En revanche, les index d'avidité des 12 sérums prélevés chez 10 patientes, dont l'infection était antérieure de 10 mois à 9 ans par rapport au sérum testé, étaient compris entre [0.660 ; 0.808] avec un index moyen de 0,734.

Cette étude sur un effectif limité a permis de valider le seuil d'index égal à 0.500 pour considérer l'infection comme étant antérieure de plus de 10 mois par rapport à la date du prélèvement, comme recommandé par Robert - Gangneux et al. [3]. Il serait utile qu'une société de réactifs développe un coffret commercial avec cette méthodologie pour en faciliter son implantation dans les laboratoires expertisant ces sérums.

1. Lecolier B, Pucheu B. Intérêt de l'étude de l'avidité des IgG pour le diagnostic de la toxoplasmose. Pathol Biol 1993 ; 41 : 155 - 8.
2. Lecolier B, Pucheu B. Comparaison de deux techniques de mesure de l'avidité des IgG pour le diagnostic de la toxoplasmose. Rev Fr Lab 1993 ; 274 : 15 - 8.
3. Robert - Gangneux F, Vieljeuf C, Tourte - Schaefer C, Dupouy - Camet J. Apport de l'avidité des anticorps dans la datation d'une séroconversion toxoplasmique. An. Biologie Clinique 1998; 56 : 586 - 9"

# **Caractérisation des protéines immunoréactives d'*Echinococcus multilocularis* pour le développement de biomarqueurs de suivi de l'échinococcose alvéolaire.**

ANELLI M.<sup>1</sup>, ROGNON B.<sup>1</sup>, KNAPP J.<sup>1</sup>, VALOT B.<sup>1</sup>, RICHOU C.<sup>2</sup>, POROT C.<sup>3</sup>, VUITTON D.A.<sup>4</sup>, GRENOUILLET F.<sup>1</sup>, MILLION L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 6249 Chrono-Environnement, Université de Franche-Comté, Besançon, France ; Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire, Besançon, France

<sup>2</sup> Service d'Hépatologie, Centre Hospitalier Universitaire, Besançon, France

<sup>3</sup> Service de Médecine Nucléaire, Centre Hospitalier Universitaire, Besançon, France

<sup>4</sup> EA 3181, Université de Franche - Comté, Besançon, France

## **Contexte**

L'échinococcose alvéolaire, provoquée par *Echinococcus multilocularis*, est une parasitose chronique extrêmement grave. La prise en charge thérapeutique est à la fois chirurgicale et médicale, par albendazole. Chez les patients non opérables, l'albendazole est potentiellement prescrit à vie. Les critères de décision d'arrêt du traitement reposent actuellement sur l'absence de viabilité parasitaire déterminée par la technique d'imagerie isotopique (TEP/TDM) et par la réponse sérologique vis - à - vis des antigènes recombinants Em18/Em2+. Le développement de nouveaux biomarqueurs de suivi, tels que des anticorps dirigés contre les protéines produites dans le fluide vésiculaire du parasite, pourrait présenter un intérêt pour préciser les critères de décision d'arrêt de traitement par l'albendazole et ainsi améliorer la qualité de vie des patients.

## **Objectif**

Notre objectif est d'identifier des protéines immunoréactives d'intérêt par une démarche impliquant l'analyse protéomique du fluide vésiculaire par l'électrophorèse bidimensionnelle suivie de western blotting comparatif avec des sérums de patients atteints d'échinococcose alvéolaire, répondeurs et non répondeurs à l'albendazole.

## **Matériel et Méthodes**

Le fluide vésiculaire a été extrait de vésicules d'*E. multilocularis* maintenues en culture in vitro avec des hépatocytes de Souris de lignée RH -. Les protéines ont ensuite été précipitées à l'acide trichloroacétique puis purifiées à l'aide du kit SDS - PAGE Clean - Up® kit (GE Healthcare, USA). Après séparation de 120 µg de protéines par électrophorèse bidimensionnelle (IEF : ReadyStrip™ IPG Strips, 11 cm, pH 3–10, Bio - Rad, USA ; SDS - PAGE : Criterion™ TGX Stain - Free™ Precast Gels 4 - 20 %, Bio - Rad, USA) puis western blot 2D, les spots obtenus ont été révélés avec des sérums de patients atteints d'échinococcose alvéolaire répondeurs à l'albendazole (R - ABZ, n=5), et des sérums de patients non répondeurs (NR - ABZ, n=5). Les répondeurs étaient des patients non opérés, traités par albendazole, avec un TEP/TDM négatif et une sérologie Em2+ négative depuis plus de 2 ans. Les non répondeurs étaient des patients non opérés, traités par albendazole depuis plus de 2 ans, avec un TEP/TDM positif et une sérologie Em2+ positive.

## **Résultats**

La comparaison des membranes de western blot incubées avec les sérums R - ABZ et NR - ABZ a permis de repérer les spots présents chez au moins 3 patients répondeurs (et absents chez les non répondeurs), et les spots présents chez au moins 3 patients non répondeurs (et absents chez les répondeurs). Ces spots ont été découpés pour être analysés par spectrométrie de masse (LC - MS/MS).

## **Conclusion**

Cette stratégie doit permettre l'identification de protéines d'intérêt pour le suivi des patients atteints d'échinococcose alvéolaire, et le développement de nouveaux biomarqueurs contribuant à la décision d'arrêt du traitement par l'albendazole.

## **Recherche des anticorps spécifiques dans le fluide oral : Application au diagnostic de certaines parasitoses**

BOURATBINE A.<sup>1</sup>, BEN – ABID M.<sup>1</sup>, CHAHED N.<sup>1</sup>, BEN SGHAIER<sup>1</sup>., GALAÏ Y.<sup>1</sup>, MOUSLI M.<sup>1</sup>, AOUN KARIM<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pasteur de Tunis

La « salive entière » ou fluide oral représente une alternative intéressante au sérum pour la recherche des anticorps (AC) spécifiques. En effet, le prélèvement de ce fluide biologique est non invasif, facile à pratiquer et dénué de risque infectieux. Prélevé par un matériel adapté tel que le dispositif « Oracol », le fluide oral est riche en liquide crévulaire d'où sa richesse en AC. Il peut par ailleurs être conservé plusieurs jours à température ambiante ce qui facilite sa conservation. Le fluide oral présente cependant des inconvénients. Il est en effet très peu chargé en AC comparé au sérum, ce qui nécessite l'utilisation de techniques immunologiques de détection très sensibles. L'objectif de ce travail est de comparer les performances des ELISAs utilisant le complexe Streptavidine - biotine sur des prélèvements salivaires à celles des ELISAs conventionnelles sur sérum dans le diagnostic de la leishmaniose viscérale (LV) et de la toxoplasmose. Pour ce faire, 32 enfants atteints de LV et 35 contrôles endémiques appariés ainsi que 49 femmes séropositives pour la toxoplasmose par le Kit commercial Platelia Toxo IgG et 42 femmes séronégatives ont bénéficiés d'un prélèvement de fluide oral par le dispositif « oracol ». Des ELISA (conventionnelles pour le sérum et amplifiées par le complexe streptavidine - biotine pour la salive) utilisant 2 antigènes recombinants, le rK39 de *Leishmania* et le rSAG1 de *Toxoplasma* ont été optimisées pour le diagnostic de la LV et de la toxoplasmose respectivement. Les tests sur sérums et salives étaient concordants dans 98,5% des cas dans le diagnostic de la LV, avec une sensibilité de 96,8% et une spécificité de 100% pour les prélèvements salivaires. Les tests sur sérums et salives étaient concordants dans seulement 82,4% des cas pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose, avec une sensibilité de 69,4% et une spécificité de 100% pour les prélèvements salivaires.

Ces résultats montrent les bonnes performances des tests salivaires surtout dans le cadre de pathologies évolutives avec la présence de taux élevés d'AC et les limites de ces tests surtout dans la détection d'infections anciennes avec des taux résiduels d'AC.



## **Evaluation des biomarqueurs de la résistance chez *Plasmodium falciparum* dans la surveillance des ACTs**

COJEAN S.<sup>1</sup>, BEJAOU M.<sup>1</sup>, HUBERT V.<sup>1</sup>, MOISANT C.<sup>1</sup>, MARECHAL C.<sup>1</sup>, ARGY N.<sup>1,2</sup>, CLAIN J.<sup>1,2</sup>, PRADINES B.<sup>3</sup>, HOUZE S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CNR Paludisme APHP Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

<sup>2</sup> Université Paris Descartes, Paris 5, UMR 216 IRD, Paris

<sup>3</sup> IRBA, Marseille

Afin de limiter le développement des résistances par *Plasmodium falciparum* aux traitements médicamenteux, les dernières thérapeutiques déployées sont les Artemisinin - based Combination Therapy (ACTs), association d'un dérivé d'artémisinine à demi - vie courte avec un antipaludique (méfloquine, amodiaquine, luméfantrine, pipéraqune, etc.) à demi - vie longue. L'OMS préconise l'utilisation des ACTs au niveau mondial, toutefois cette directive est peut - être menacée par l'émergence de résistances aux molécules employées dans les ACTs, notamment aux dérivés d'artémisinine en Asie du Sud - Est. Ainsi, une menace de la propagation de la résistance aux dérivés d'artémisinine est à craindre car ils sont associés à des molécules présentant des variations de sensibilités séculairement. A cette menace s'ajoute les mouvements de population croissants qui pourraient propager rapidement les parasites résistants, posant un risque dans de nombreux pays où la transmission du paludisme est très importante. En conséquence, si la résistance venait à se propager notamment à l'Afrique subsaharienne, les implications sur la santé publique pourraient être désastreuses, car aucun médicament de remplacement n'est disponible à l'heure actuelle avec le même niveau d'efficacité et de tolérance que les ACTs.

Afin de suivre les recommandations de l'OMS, une surveillance des ACTs et des échecs thérapeutiques au sein du CNR Paludisme a été mise en place afin d'évaluer l'importance de biomarqueurs de résistance déjà répertoriés chez *Plasmodium falciparum* dans les variations de sensibilités aux molécules impliquées dans les ACTs.

Mille cinq cent isolats de paludisme d'importation contractés essentiellement en Afrique sub - saharienne ont été collectés au CNR Paludisme, transmis par les correspondants hospitaliers répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain.

Trois gènes ont été évalués par séquençage ou PCR - RFLP multiplexe :

- le gène K13 codant pour une protéine similaire aux protéines kelch présentant notamment un SNP C580Y impliqué dans les variations de sensibilité aux dérivés d'artémisinine en Asie du Sud - Est (Ariey, 2014),
- le gène PfCRT codant pour un transporteur dont le SNP en position 76 joue un rôle dans les variations de sensibilité à l'amodiaquine et à la luméfantrine (Sisowath et al., 2009 ; Eyase et al, 2013)
- le gène pfmdr - 1 codant pour un autre transporteur. Ce gène est impliqué soit par une amplification du gène soit par un polymorphisme variable. Une variation du nombre de copie de ce gène a été répertoriée dans les changements de sensibilité à la méfloquine couplée ou non à l'artésunate (Price, 2004) à la luméfantrine (Sidhu, 2006) et à la pipéraqune (Veiga, 2012). Le polymorphisme de pfmdr - 1 est très variable, les SNPs ayant un rôle dans la sensibilité ou la résistance aux antipaludiques sont en position 86, 184, 1034, 1042 et 1246. Les résultats n'ont pas montré la présence du SNP en position 580 du gène K13 sur les échantillons testés mais une variation des SNPs de PfCRT et pfmdr1 répertoriés en fonction de la sensibilité des parasites aux antipaludiques employés dans les ACTs. Des études se poursuivre afin de trouver d'autres biomarqueurs plus spécifiques aux ACTs sur le continent Africain.

# **Dynamique de population et probabilités d'infection chez le chat domestique : quelles implications dans la contamination environnementale par *Toxoplasma gondii* en milieu rural ?**

SIMON J.A.,<sup>1</sup>, FORIN – WIART M.A.<sup>1,2</sup>, GOTTELAND C.<sup>1,3</sup>, LELU M.<sup>4</sup>, GILOT – FROMONT E.<sup>3,5</sup>, POULLE M.L.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Université de Reims Champagne Ardenne, Laboratoire PROTAL-EA3800, UFR Médecine, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims, France

<sup>2</sup> Université de Reims Champagne Ardenne, Centre de Recherche et de Formation en Eco - Ethologie, 5 rue de la Héronnière, 08420 Boulton - aux - Bois, France

<sup>3</sup> Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558, 43 Boulevard du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne

<sup>4</sup> National Institute for Mathematical and Biological Synthesis,

<sup>5</sup> University of Tennessee, Knoxville, TN37996, USA

Université de Lyon, Vetagro - Sup campus vétérinaire, 1 avenue du Bourgelat, 69280 Marcy L'étoile, France

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) est un protozoaire responsable de la toxoplasmose, une zoonose répandue à l'échelle mondiale qui constitue un enjeu de santé publique et animale. De récents travaux ont montré que 50 à 80 % des infections humaines peuvent être dues à l'ingestion de la forme libre du parasite présente dans l'environnement (les oocystes). Le chat domestique (*Felis silvestris catus*), hôte définitif du parasite, joue un rôle clé dans la contamination environnementale en excréant, au moment de sa primo - infection, plusieurs millions d'oocystes dans l'environnement.

Afin de comprendre et de prédire la dynamique spatio - temporelle de la contamination environnementale par *T. gondii*, il est nécessaire d'identifier les patrons de dynamique d'infection au sein des populations de chats. Cette dynamique est fonction, d'une part, de la probabilité qu'un individu de devenir infecté qui peut varier au cours du temps et au cours de la vie de l'individu. Elle dépend, d'autre part, de la variabilité temporelle de la proportion d'individus sensibles (i.e. susceptibles de s'infecter) dans la population qui dépend à son tour du taux de renouvellement de la population. Ce sont ces paramètres que nous cherchons à estimer au cours de cette étude.

L'analyse a été conduite à partir d'un jeu de données de captures - marquages - recaptures issues d'un suivi de 5 ans d'une population rurale de chats domestiques évoluant dans une zone de forte endémie pour *T. gondii* (Ardennes). Cette population est composée de chats de propriétaire (nourris ad libitum, libres d'entrer/sortir des maisons) et de chats de ferme (dépendants de la prédation, fidélisés aux bâtiments agricoles). Les résultats montrent que les chats de ferme présentent un taux de renouvellement annuel plus élevé que les chats de propriétaire, du fait notamment d'une plus grande proportion de femelles reproductrices. L'apport annuel de jeunes individus sensibles susceptibles de s'infecter au cours de leur vie, et donc de contribuer à la contamination environnementale, serait par conséquent plus élevé chez les chats de ferme que chez les chats de propriétaire. Cependant, les chats de ferme ayant des probabilités de survie relativement faibles, notamment chez les jeunes  $\leq 6$  mois, la probabilité pour un individu d'excréter avant de mourir dépend du risque d'infection auquel il a été confronté avant l'âge de sa mort.

Le suivi de cette population n'a pas permis, à l'heure actuelle, d'estimer les probabilités d'infection chez les chats en fonction de l'âge puisque seulement 14 primo - infections ont été détectées à partir d'un suivi sérologique réalisé tous les 6 mois. Nous proposons, par conséquent, un nouveau protocole de suivi du statut sérologique des chats de ferme réalisé sur un pas de temps plus rapproché, de leur naissance jusqu'à leur séroconversion. Ces nouvelles données, combinées avec les informations sur la dynamique de population, permettront d'apporter de nouveaux éléments nécessaires à la compréhension et à la prédiction de la dynamique spatio - temporelle de la contamination environnementale par *T. gondii* en milieu rural.

## **Quelle place pour les nouveaux tests diagnostiques pour le suivi thérapeutique de l'accès palustre ?**

AUGE C.<sup>1</sup>, ARGY N.<sup>1</sup>, HUBERT V.<sup>1</sup>, DEVISME C.<sup>1</sup>, HOUZE S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie, CNR du Paludisme, AP - HP Hôpital Bichat, Paris

La définition d'un accès palustre repose encore sur l'observation microscopique des plasmodiums au frottis ou à la goutte épaisse. Différents auteurs proposent de faire évoluer cette définition et d'y inclure les tests de diagnostic rapide (TDR) ou la détection des acides nucléiques par technique de PCR. La persistance de l'antigène PfHRP2 est démontrée sous traitement, ce qui contre - indique l'utilisation de ces TDR dans le suivi de l'efficacité thérapeutique. La PCR a montré sa grande sensibilité dans la détection du parasite, mais comment interpréter un résultat positif isolé au décours d'un traitement antipaludique, sans signe clinique associé.

L'objectif de notre étude était de déterminer les délais de négativité des PCR et des TDR sous traitement antipaludique bien conduit.

Nous avons inclus les prélèvements itératifs de 145 patients diagnostiqués à l'hôpital Bichat pour un accès palustre à *P. falciparum*, traités avec succès par Malarone®, Riamet®, artésunate ou quinine, et qui ont été prélevés dans le cadre des recommandations nationales de suivi de l'efficacité thérapeutique : au total 419 prélèvements ont été inclus dont les prélèvements J0 ayant servi aux diagnostics et les prélèvements réalisés entre J2 et J31. Les techniques mises en œuvre sur tous les prélèvements étaient un frottis et une goutte épaisse, un TDR associant la détection de PfHRP2 et de pLDH et une PCR conventionnelle. Pour tous les patients inclus, nous avons observé une réponse clinique et parasitologique adéquate à J28. La présence de gamétocytes isolés était observée pour 18% des prélèvements à J7 et un prélèvement à J28. La détection de pLDH restait positive pour 10% des prélèvements à J7, mais aucun prélèvement n'était positif à J28 alors que la détection de la PfHRP2 était positive à 82% à J7 et encore 41% des prélèvements à J28. La PCR est négative pour 51% des prélèvements testés à J7 et 84% à J28.

Cette étude a confirmé la persistance de la détection des antigènes plasmodiaux par les TDR au cours du suivi thérapeutique ainsi que la persistance de parasites ou d'ADN circulant après traitement antipaludique en relation avec le seuil de sensibilité de la PCR. Les techniques qualitatives non microscopiques pour le diagnostic du paludisme ne sont pas adaptées au suivi de l'efficacité sauf à adapter les normes des succès thérapeutiques. Cependant, l'intérêt de la mise en œuvre d'une PCR quantitative dans ce contexte reste à évaluer.

## Myiases cutanées autochtones des plaies : à propos de trois cas observés au CHU de Reims

MZABIA <sup>1,2</sup>, TOUBAS D. <sup>1,3</sup>, LAMBERT D. <sup>4</sup>, FARKAS R. <sup>5</sup>, ALBERT O. <sup>1</sup>, CHEMLA C. <sup>1</sup>, BERNARD P. <sup>6</sup>, FERNANDES M. <sup>1</sup>, VILLENA I. <sup>1,2</sup>, DEPAQUIT J. <sup>1,7</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie - Mycologie - Hôpital Maison Blanche, 45 Rue Cognacq - Jay - 51092 Reims Cedex

<sup>2</sup> EA 3800, UFR Médecine, SFR CAP - Santé, Université de Reims Champagne - Ardenne, 51 Rue Cognacq - Jay - 51095 Reims Cedex

<sup>3</sup> CNRS UMR7369, MEDyC, SFR Cap Santé, UFR Médecine, Université de Reims Champagne - Ardenne, 51 rue Cognacq - Jay, 51096 Reims cedex

<sup>4</sup> Service de Médecine Interne, Maladies Infectieuses, Immunologie Clinique - Hôpital Robert Debré - CHU de Reims - Avenue du Général Koenig - 51092 Reims Cedex

<sup>5</sup> Department of Parasitology and Zoology, Faculty of Veterinary Science, Szent Istvan University, Budapest, Hungary

<sup>6</sup> Centre de Référence « Maladies Bulleuses Auto - Immunes » - EA 7319 « Immunodermatologie, cytokines, cancer » - Service de Dermatologie - Hôpital Robert Debré - Avenue du Général Koenig - 51092 Reims Cedex

<sup>7</sup> Université de Reims Champagne - Ardenne, ANSES, EA 4688 - USC « transmission vectorielle et épidémiosurveillance de maladies parasitaires (VECPAR) », SFR CAP - Santé, Faculté de Pharmacie, 51 rue Cognacq - Jay, 51096 Reims Cedex

Les cas de myiases observés en France métropolitaine sont essentiellement des pathologies d'importation. On oppose généralement les myiases obligatoires (dont le parasitisme d'un être vivant est indispensable à leur développement) aux myiases accidentelles (parasitisme non obligatoire).

Nous rapportons ici trois cas de myiases cutanées accidentelles autochtones : deux cas d'infestation par des larves de *Sarcophaga haemorrhoidalis* et un cas par des larves de *Lucilia sp.*

Dans les trois cas, les larves se sont développées sur des tissus cutanés profondément lésés : vascularite très sévère, moignon d'amputation, et cicatrisation post - opératoire difficile. L'identification de *Sarcophaga haemorrhoidalis* fut difficile. Le diagnostic d'espèce par séquençage d'une partie du cytochrome B de l'ADN mitochondrial n'ayant pu aboutir en l'absence de séquences homologues correspondantes dans Genbank (constaté par l'utilisation de BLAST), l'identification a été réalisée par les méthodes diagnostiques morphologiques habituelles.

Notre observation met l'accent sur la difficulté d'identification des espèces impliquées. En l'absence de spécialistes de ces groupes zoologiques, le recours à la biologie moléculaire est tentant, mais un "DNA barcoding" semble incontournable pour enrichir Genbank. Le caractère nosocomial des myiases est à l'heure actuelle peu connu en raison d'une part du faible nombre de cas rapportés, et d'autre part de la méconnaissance des cycles de développement propres à chaque espèce. Au - delà de ces aspects épidémiologiques, l'impact de ces infestations reste à explorer.

Cette présentation a pour objectif de sensibiliser les parasitologues à l'intérêt d'une démarche d'identification précise des espèces impliquées, ce qui permettrait une meilleure connaissance de l'épidémiologie des myiases autochtones.

## Validation de la PCR diagnostique temps réel Fast Track pour le diagnostic du paludisme

ARGY N.<sup>1</sup>, MOISANT C.<sup>1</sup>, HUBERT V.<sup>1</sup>, HOUZE S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie, CNR du Paludisme, AP - HP Hôpital Bichat, Paris

La société Frast Track produit deux coffrets de PCR temps réel pour le diagnostic du paludisme, distribués en France par la société Launch Diagnostics : un coffret pour la détection de *Plasmodium* spp en PCR temps réel multiplexe dont les amorces sont spécifiques d'une séquence commune aux différentes espèces de *Plasmodium* avec un contrôle interne d'inhibition et d'extraction inclus dans le coffret et un coffret pour la détection et la différenciation de quatre espèces de *Plasmodiums* (*P. falciparum* ; *P. ovale* ; *P. malariae* ; *P. vivax*) en PCR temps réel multiplex.

Nous avons étudié les performances (sensibilité et spécificité) des deux coffrets par rapport à la PCR conventionnelle utilisée en routine au CNR1.

Trente - quatre extraits d'ADN génomique ont été analysés avec les deux coffrets et par la PCR conventionnelle dont 5 prélèvements négatifs en microscopie ; 10 prélèvements positifs à *P. falciparum*, 5 prélèvements positifs en microscopie à *P. malariae*, 7 prélèvements positifs en microscopie à *P. ovale*, 6 prélèvements positifs en microscopie à *P. vivax* : les parasitémies étaient comprises entre 16p/μl et 1215000p/μl selon les espèces considérées. Les résultats ont montré une concordance parfaite pour 29 (87,9%) échantillons entre la PCR conventionnelle et les PCR en temps réel. Les discordances étaient 2 prélèvements identifiés à *P. ovale* en microscopie, et en PCR temps réel mais négatif en PCR conventionnelle ; 2 résultats positifs avec une association d'espèce en PCR conventionnelle mais pour lesquels, la PCR différenciation n'a identifié qu'une seule espèce.

Au total, les coffrets produits par Fast Track sont plus sensibles que la PCR conventionnelle pour l'identification de *P. ovale* ; et présentent la même sensibilité que la PCR conventionnelle pour les très faibles charges parasitaires avec l'avantage de la spécificité apportée par la technologie des sondes de révélation de la réaction d'amplification. Les performances pour l'identification spécifique en cas d'associations d'espèces doit être confirmée sur d'autres prélèvements. Le CNR a adopté ces réactifs pour la confirmation de *P. ovale* et l'exclusion d'un diagnostic d'accès palustre.

1. Snounou et al . Mol Biochem Parasitol. 1993; 58: 283 - 92.

## Evaluation de l'activité leishmanicide de composés : Comparaison de 3 tests aux sels de tetrazolium

PREVOT G.<sup>1</sup>, GINOUVES M.<sup>1</sup>, CARME B.<sup>1,2</sup>, COUPPIE P.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Université des Antilles et de la Guyane, Laboratoire d'Épidémiologie des Parasitoses Tropicales EA 3593, Labex CEBA UFR de Médecine, Cayenne, Guyane Française

<sup>2</sup> Laboratoire Hospitalo - Universitaire de Parasitologie et Mycologie, Centre Hospitalier de Cayenne, Guyane Française

<sup>3</sup> Service de Dermatologie, Centre Hospitalier de Cayenne, Guyane Française ; Université des Antilles et de la Guyane

La leishmaniose en Guyane Française est une affection essentiellement cutanée qui constitue un véritable problème de santé publique avec une incidence réelle comprise entre 0,2 et 0,3%. *Leishmania guyanensis*, est l'espèce la plus fréquemment rencontrée en Guyane Française. Le traitement des leishmanioses repose essentiellement sur la chimiothérapie, mais les composés thérapeutiques disponibles présentent des effets secondaires importants (atteintes hépatiques, diabète...) et s'administrent par voie parentérale ou sont relativement coûteux. Certains présentent aujourd'hui une efficacité moindre en raison de l'apparition de résistances chez certaines souches de *Leishmania*. Il n'existe à l'heure actuelle aucun vaccin contre la leishmaniose, ce qui rend nécessaire et urgent la recherche de nouveaux composés ayant une activité leishmanicide.

La recherche de nouveaux médicaments nécessite de disposer de tests efficaces, permettant d'évaluer l'activité leishmanicide d'une molécule ou d'un extrait. Les Microcultures Tetrazolium Assay (MTA), sont des tests colorimétriques utilisant les sels de tetrazolium. Nous avons comparé l'efficacité de 3 sels de tetrazolium, MTT, XTT et WST - 8 sur des promastigotes de *Leishmania* correspondant à différentes espèces. Nous avons ainsi montré que l'efficacité de réduction des sels de tétrazolium dépend de la souche de *Leishmania* testée et du sel de tétrazolium utilisé. *L. guyanensis* représente 90% des souches isolées de patients atteints de leishmaniose cutanée en Guyane Française. La disponibilité d'un test permettant d'évaluer le niveau de sensibilité aux médicaments des souches de *Leishmania* responsables des cas de leishmaniose est une nécessité. Nos travaux ont montré que les tests au MTT et au XTT, les plus largement utilisés, ne sont pas adaptés à l'étude de la sensibilité de *L. guyanensis*. Le WST - 8 est le sel de tétrazolium le mieux métabolisé par *L. guyanensis* et permet ainsi d'obtenir la meilleure sensibilité. De plus, il présente une efficacité satisfaisante dans les tests de sensibilité aux médicaments ou extraits de plantes.

K. Berg, L. Zhai, M. Chen, A. Kharazmi, T. C. Owen , 1994. The use of a water - soluble formazan complex to quantitate the cell number and mitochondrial function of *Leishmania* major promastigotes, *Parasitol.Res.*, Vol. 80, pp. 235 - 239.

F. Denizot, R. Lang , 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *J.Immunol.Methods*, Vol. 89, pp. 271 - 277.

A. Dutta, S. Bandyopadhyay, C. Mandal, M. Chatterjee , 2005. Development of a modified MTT assay for screening antimonial resistant field isolates of Indian visceral leishmaniasis, *Parasitol.Int.*, Vol. 54, pp. 119 - 122.

T. Mosmann , 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J.Immunol.Methods*, Vol. 65, pp. 55 - 63.

N. W. Roehm, G. H. Rodgers, S. M. Hatfield, A. L. Glasebrook , 1991. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT, *J.Immunol.Methods*, Vol. 142, pp. 257 - 265.

H. Wan, R. Williams, P. Doherty, D. F. Williams , 1994. A study of the reproducibility of the MTT test, *J.Mater.Sci.Mater.Med.*, Vol. 5, pp. 154 - 159.

# Mise en place d'un programme d'évaluation externe de la qualité

ROUSSEL S.<sup>1,2</sup>, GRENOUILLET F.E.<sup>1,2</sup>, DEMONMEROT F.<sup>1,2</sup>, SCHERER – D.E.<sup>1,2</sup>,  
MILLION L.<sup>1</sup>, GRENOUILLET F.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centre National de Référence Echinococcose alvéolaire

<sup>2</sup> Centre Collaborateur OMS Echinococcose, Parasitologie - Mycologie, CHRU Besançon

## Contexte

La démarche d'accréditation selon la norme ISO 15189 ou les autres normes internationales (ISO/IEC 17025 ou ISO 9001) est une étape essentielle pour les laboratoires de biologie médicale afin de démontrer leurs compétences et la qualité de leurs prestations analytiques. Elle s'intéresse particulièrement à la qualification initiale et continue de leur personnel, les facteurs influençant les phases pré - analytiques et analytiques, les processus d'assurance qualité, ainsi que la maîtrise de la phase post - analytique. Cette démarche inclut notamment la nécessité, pour chaque examen, de participer à un programme d'échange : contrôle inter - laboratoire (CIL) ou évaluation externe de la qualité (EEQ). L'UKNEQAS organise un programme d'EEQ pour la sérologie échinococcose kystique (EK). Aucun programme d'EEQ n'étant disponible pour la sérologie échinococcose alvéolaire (EA), le Centre National de Référence Echinococcose alvéolaire (CNR - EA) a mis en place un tel programme dès 2013 au niveau français.

## Patients et méthodes

Pour le premier programme d'EEQ (2013), dix laboratoires ont été sollicités par le CNR - EA pour participer. Le choix des participants a été basé soit sur leur forte activité en sérologie Echinococcus (nombre annuel de sérologies effectuées), soit sur le partage avec le CNR - EA des mêmes techniques Elisa commercialisées. Deux sera anonymisés ont été envoyés pour expertise aux participants en mars 2013 (un d'un patient avec EA, un d'un patient EK). La variabilité inter - laboratoire pour les techniques Elisa a été mesurée. Pour le renouvellement de ce programme d'EEQ en 2014, une information au a été effectuée niveau national (ANOFEL) et européen (mailing)

En janvier 2014, deux nouveaux sera (un d'un patient avec EA, un d'un patient sans échinococcose) ont ainsi été adressé à 26 laboratoires, 21 français and 5 européens (deuxième set d'échantillons programmé en septembre 2014).

## Résultats

Le programme 2013 a mis en évidence une forte variabilité analytique avec les techniques Elisa commercialisées communes aux participants (Elisa E.g et Elisa Em2+ Elisa, Bordier, Suisse) avec des coefficients de variation (CV) respectifs de 0,50 (Em2+) et 0,25 (E.g). Trois laboratoires n'ont pas identifié le serum EK comme positif (serum présentant un faible niveau de réactivité avec les techniques de dépistage). Le programme de janvier 2014 a révélé la très grande diversité des techniques utilisées (20 techniques « maison » et 13 commercialisées), complexifiant l'analyse des résultats. Les deux sera ont été correctement analysés par tous les participants. Cette EEQ a été l'occasion d'objectiver le dysfonctionnement d'un même réactif Elisa par deux laboratoires (Elisa Scimedix, Denville, USA), ayant conduit chacun à effectuer une déclaration de réactovigilance auprès de l'ANSM.

## Discussion

Ce travail souligne l'intérêt majeur pour les laboratoires participants des programmes d'EEQ dans la connaissance de leurs propres techniques. Cette EEQ gratuite est organisée par le CNR - EA dans le cadre des ses missions d'expertise et représente un des moyens de garantir la qualité des résultats sérologiques au niveau national. Elle permet également la mise en place d'un réseau européen de laboratoires impliqués dans le diagnostic des échinococcoses.

# Utilisation des parasites pour l'évaluation de l'impact des pêcheries côtières sur les populations du serran *Serranus scriba* (Pisces, Téléostéen)

CHAABENE A., NEIFAR L.

Faculté des Sciences de Sfax

Les parasites représentent un compartiment essentiel des écosystèmes côtiers (Thomas et al., 1997; Zander et al., 2002) et par conséquent peuvent y agir comme des espèces clefs (Thomas et al., 1997) et de bons indicateurs de la biodiversité et de stress environnemental (Cone et al., 1993, Marcogliese & Cone 1996).

Cette étude consiste à évaluer l'impact de deux techniques de pêche côtière utilisées dans le golfe de Gabès: la «Charfia», méthode de pêche traditionnelle, faite de feuilles de palmiers enfoncées dans la vase et le filet trémail, sur la diversité parasitaire du Serran, *Serranus scriba*. L'utilité des parasites en tant que marqueurs biologiques de l'état des stocks du serran est évaluée.

Chez *S. scriba*, cinq ectoparasites ont été récoltés au niveau des branchies et dans la cavité buccale. Il s'agit de trois Copepoda, *Caligus scribae*, *Lernanthropus scribae* et *Anchistrotos laqueus*, un Isopoda, *Gnathia sp.* et un Monogenea, *Protolamellodiscus serranelli*. L'examen du tube digestif a permis de recenser trois endoparasites: des larves de Tetraphyllidea ainsi que deux espèces de Digenea, *Lecithochirium musculus* et *Helicometra fasciata*. Le calcul des indices parasitaires (sensu Bush et al., 1997) des ectoparasites et des endoparasites a montré que *L. scribae* et *H. fasciata* sont plus prévalents chez les poissons pêchés au filet trémail ( $X^2=39,22$ ;  $df=1$ ;  $p<0,001$ ,  $X^2=6,193$ ;  $df=1$ ;  $p<0,05$  respectivement). *Gnathia sp.* et *P. serranelli* sont absents au niveau des poissons pêchés aux «Charfia». La faible prévalence ou l'absence de certains parasites pourrait être expliquée par la petite taille des poissons pêchés aux «Charfia» ( $LT=12\pm4,515cm$ ) en comparant avec la taille moyenne des hôtes pêchés par le filet trémail ( $LT=18\pm3,135cm$ ). La taille des hôtes est l'un des principaux facteurs biologiques qui pourrait avoir une influence directe sur la prévalence des parasites (Bakke et al. (2002), Cable et al. (2002)). L'augmentation de degré du parasitisme en fonction de la taille de l'individu - hôte pourrait être expliquée par la dimension de la surface branchiale et le régime alimentaire. Les transformations dans la conception de «Charfia» présenteraient actuellement une menace pour les poissons des herbiers. La presque totalité de la structure de cette technique est remplacée au cours de ces dernières décennies par d'autres produits tels que le nylon et le PVC (Romdhane, 1998) et la taille des mailles de filet des nasses est de plus en plus petite (Rhouma et Labidi, 2006).

Un suivi biologique de ces captures est nécessaire pour réglementer cette pêche.



# Evaluation d'un test immunochromatographique pour le diagnostic sérologique de l'échinococcose kystique

MOREAU E.<sup>1,2</sup>, ZAIT H.<sup>3</sup>, GRENOUILLET F.E.<sup>1,2</sup>, HAMRIOUI B.,<sup>3</sup> MILLION L.<sup>1,2</sup>  
GRENOUILLET F.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centre National de Référence Echinococcose alvéolaire

<sup>2</sup> Centre Collaborateur OMS Echinococcose, Parasitologie - Mycologie, CHRU Besançon

<sup>3</sup> Parasitologie - Mycologie, CHU Mustapha, Alger

## Contexte

L'échinococcose kystique (EK) est considérée comme une parasitose négligée, endémique dans certains pays en voie de développement. La confirmation sérologique du diagnostic dans ces pays est potentiellement difficile du fait du manque de laboratoires spécialisés et/ou de leur éloignement. Dans ce contexte, les tests immunochromatographiques (ICT) peuvent présenter un intérêt pour le diagnostic rapide et unitaire de l'EK, réalisable sans matériel spécifique. Ainsi, nous avons évalué les performances du test ICT commercialisé Virapid Hydatidosis (Viracell, Spain), basé sur l'antigène 5/B d'E. granulosus (Eg).

## Patients et méthodes

L'ICT Virapid Hydatidosis a été évalué sur deux panels distincts de sera. Le premier panel, rétrospectif, a inclus 224 sera de patients avec pathologie documentée : EK prouvée/probable (94/225; 42,0%), échinococcose alvéolaire (EA) prouvée/probable (25/224 ; 11,2%), autres pathologies parasitaires (43/224), pathologies hépatiques non parasitaires et pathologies auto - immunes (62/224). Le second panel, prospectif, a inclus 115 sera adressés à notre laboratoire pour sérologie Echinococcus (primo - diagnostic uniquement, suivi exclu) sur une période de 4 mois (prévalence EK : 3/115, 2.6% et EA : 12/115; 10.4%). Tous les échantillons ont été analysés en parallèle avec nos réactifs habituels (Hémagglutination Indirecte HAI Fumouze, Levallois - Perret, France ; Eg and Em2+ Elisa Bordier, Crissier, Suisse ; Western Blot Echinococcus LDBioDiagnostic, Lyon, France). Les sensibilité (Se), spécificité (Sp), ratios de vraisemblance positifs et négatifs (LR+, LR - ) ont été déterminés pour chaque test en considérant deux diagnostics potentiels : EK, ou échinococcose sans distinction d'espèce (EA ou EK), et deux stratégies de lecture des ICT (recommandation du fabricant : bande d'intensité faible = négatif ; alternative : bande faible = positif)

## Résultats

En respectant les recommandations du fabricant, l'évaluation du panel rétrospectif a montré les performances suivantes pour le diagnostic des échinococcoses : Se 0,782 ; Sp 0,875 ; LR+ 6,31 ; LR - 0,25. Pour le diagnostic ciblé d'EK, l'ICT a montré des performances moindres en termes de Sp et LR+, respectivement 0,746 and 3,05. Vingt des 25 sérums d'EA ont positivé l'ICT Virapid Hydatidosis. L'ICT a montré des faux positifs avec des sérums de cysticercose (n=2), fasciolose (n=4), cirrhose (n=4), et de maladie de Caroli (polykystose hépatique, n=2).

L'étude du panel prospectif a montré des performances moins satisfaisantes : Se 0,840 ; Sp 0,743 ; LR+ 3,268 ; LR - 0,215, avec une diminution plus marquée de la spécificité si on ne considère plus que le diagnostic ciblé d'EK (Sp 0,638)

La prise en compte des bandes de très faible intensité comme positives diminue les performances diagnostiques du test Virapid Hydatidosis

## Conclusion

Le test Virapid Hydatidosis est un outil intéressant pour le diagnostic unitaire et rapide de l'EK, sur deux panels distincts d'échantillons avec des fréquences très différentes d'EK (42.0% et 2.6%). La réactivité croisée avec les sera d'EA limite l'utilisation de cet ICT pour un diagnostic ciblé d'EK aux zones indemnes d'EA (Maghreb par exemple). Par contre, cette réactivité croisée peut être un avantage pour le screening rapide des échinococcoses en zone de co - endémie EA - EK (telle la Chine). Une évaluation de ce type d'ICT lors de campagnes de terrain en zone de forte endémie d'EK, en parallèle de dépistages échographiques, reste à effectuer.

## **Toxoplasmose expérimentale chez Le rat Lewis : Un modèle de résistance, une approche génétique vers le gène**

FLORI P.<sup>1</sup>, CAVAILLES P.<sup>2</sup>, PAPAPIETRO O.<sup>3</sup>, BIZANZ C.<sup>2</sup>, LAGRANGE D.<sup>3</sup>,  
PILLOUX L.<sup>2</sup>, MASSERA C.<sup>2</sup>, CRISTINELLI S.<sup>2</sup>, JUBLOT D.<sup>2</sup>, CESBRON – DELAUW  
M.F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> EA 3064, Faculté de Médecine de Saint-Etienne

<sup>2</sup> CNRS, UMR 5163, Institut Jean Roget, Université Joseph Fourier, Grenoble

<sup>3</sup> UMR Inserm, U1043, Université de Toulouse

L'utilisation du modèle expérimental rat est particulièrement pertinente pour l'exploration des mécanismes physiopathologiques et immunologiques qui contrôlent la toxoplasmose. Chez cette espèce, nous avons montré (1) qu'il existe des souches de rat « susceptibles » (BN et F344) et une souche de rat (LEW) totalement « résistante » à *T. gondii*. Secondairement (2), nous avons réalisé une dissection génétique. Pour cela nous avons proposé - 1 - l'approche classique par croisement BN x LEW et - 2 - réalisé des lignées congéniques. Grâce à la complémentarité de ces approches nous avons pu prouver qu'1 seul locus, Toxo1, sur le chromosome 10 du rat contrôle totalement cette résistance. Ce locus comprend 29 gènes et correspond à 890 kb.

Afin d'essayer de réduire ce locus et aussi de savoir s'il existe d'autres souches de rats « résistantes » associées à Toxo1, nous avons sélectionné 9 souches de rats différentes pour la réalisation d'une étude haplotypique. Dans un premier temps, nous avons déterminé leur phénotype *in vivo* (sérologie, numération de kystes après gavage de la souche Pru). Parmi les 9 souches de rats que nous avons testées, 5 (LEW, LOU, Wistar F, Wistar Kyoto et BDIX), présentent un phénotype de « résistance » *in vivo*. Les 4 autres (BN, F344, OM, DA) présentent un phénotype de « susceptibilité » *in vivo*. Cette analyse nous a permis de mettre en évidence un bloc haplotypique parfaitement conservé recouvrant le locus Toxo1 au sein des souches résistantes. Il confirme l'importance de cette région dans le contrôle de cette infection et permet de déterminer de manière prédictive la sensibilité de rats répertoriés (Sur « Rat Genome Database »).

Un séquençage complet du locus Toxo1 a été entrepris sur les différentes souches de rats. Ceci a permis d'identifier 4 gènes présentant des polymorphismes partagés par toutes les souches dites résistantes et non par les souches dites sensibles. De plus, il a été montré qu'un des 4 gènes identifiés chez le rat est également associé à la sévérité de la pathologie congénitale chez l'homme et qu'il s'agit de NLRP1a, un senseur intracellulaire (3). En conclusion, cette étude conforte le rôle primordial de Toxo1 et probablement de NLRP1a dans le contrôle de l'issue de la toxoplasmose et ceci chez l'ensemble des rats (4), mais aussi probablement dans la gravité de l'infection congénitale chez l'homme.

(1) Sergent et al., Infect Immun 2005 (2) Cavaillès et al., PNAS 2006 (3) Witola et al., Infect Immun 2011 (4) Cavaillès et al., PLOS Pathogens 2014

## Présence d'une infection canine par *Echinococcus granulosus* en Corse ?

BOUE F.<sup>1</sup>, GRECH – ANGELINI S.<sup>2</sup>, MAESTRIANI O.<sup>2</sup>, BOUCHER J.M.<sup>1</sup>, HORMAZ V.<sup>1</sup>, RICHOMME C.<sup>1</sup>, UMHANG G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ANSES LRFSN, LNR Echinococcus spp., Unité de Surveillance et d'éco - épidémiologie des animaux sauvages

<sup>2</sup> INRA Corte, LRDE

L'hydatidose est une zoonose parasitaire due à l'infestation par le ténia *Echinococcus granulosus*. L'Homme se contamine essentiellement par ingestion accidentelle d'œufs émis dans les fèces de l'hôte définitif principal, le chien qui héberge le parasite adulte. Les animaux de rente (ovin, bovin, porcin, caprin) sont les hôtes intermédiaires qui sont infestés par le stade larvaire du parasite. En France, la Corse est le foyer humain le plus important avec une incidence annuelle de 1.3 cas pour 100 000 comparée à celle de 0.18 pour 100 000 à l'échelle nationale. Lors des enquêtes récentes en abattoirs, seuls les porcs ont été trouvés infectés mais avec une prévalence importante, proche de 5%. Une prévalence similaire a été enregistrée chez les sangliers abattus à la chasse. Les analyses moléculaires ont permis de caractériser le génotype mixte G6/7 d'*Echinococcus canadensis* comme unique responsable de l'infection. Cette espèce parasitaire du complexe *E. granulosus* sensu lato n'est retrouvée qu'en Corse alors que sur le continent on enregistre d'une large distribution d'*Echinococcus granulosus* sensu stricto (G1 - G3).

Une collecte de 250 fèces de chiens a été organisée afin d'établir pour la première fois la prévalence canine d'*E. granulosus* sensu lato en Corse. Un diagnostic moléculaire a ensuite été réalisé afin d'identifier l'espèce du complexe *E. granulosus* s.l. concernée ainsi que la présence d'infection par *Taenia* spp. En parallèle des collectes d'échantillons, un questionnaire a permis d'enregistrer les données sur les activités, l'alimentation et la fréquence de vermifugation des chiens.

Suite aux analyses, nous avons enregistré une prévalence canine d'*E. granulosus* s.l. d'environ 4%. A plusieurs reprises, des chiens d'un même propriétaire ont été observés infectés. Le génotype G6/7 d'*E. canadensis* a été identifié, il correspond au premier diagnostic moléculaire d'*E. granulosus* s.l. chez le chien en France.

Le chien a pu être identifié avec comme hôte définitif du cycle d'*E. canadensis* (G6/7) en Corse suite à l'identification des porcs et des sangliers en tant qu'hôtes intermédiaires. Cela confirme l'existence d'un cycle parasitaire domestique mais pouvant impliquer la faune sauvage. Ces résultats mettent en évidence la faible fréquence de vermifugation (maximum 2 fois par an) des chiens. La prévention auprès des propriétaires pour une vermifugation plus fréquente et une limitation de l'accès aux viscères contaminés devrait permettre de diminuer la présence du parasite. Ce cycle parasitaire a un impact direct, sur la production animale en raison des saisies en abattoirs de foies de porcs qui entrent dans la confection des figatelles, mais aussi d'un point de vue de santé publique confirmé par la forte incidence de l'hydatidose enregistrée en Corse. Cette première enquête concernant principalement des chiens de chasse, de futures enquêtes doivent être menées afin d'évaluer le rôle de la population canine globale de l'île dans la transmission du parasite.

## **Contrôle externe de qualité de la détection de *Cryptosporidium* spp.: L'expérience du réseau national Crypto-Anofel**

KAPEL N.<sup>1</sup>, RABODONIRINA M.<sup>2</sup>, MENOTTI J.<sup>3</sup>, PINEL C.<sup>4</sup>, GARGALA G.<sup>5</sup>,  
DEROUIN D.<sup>3</sup>, FAVENNEC L.<sup>5</sup> et les membres du réseau national Crypto-Anofel

<sup>1</sup> EA 4065, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie -, CHU de Lyon, France,

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie -, APHP, CHU Saint-Louis, Paris, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie -, CHU de Grenoble, France,

<sup>5</sup> EA 3800, Université de Rouen, France

Le réseau national Crypto-Anofel a été créé en 2004 à la demande des autorités de santé publique en vue de fournir des informations sur l'incidence et l'épidémiologie de la cryptosporidiose humaine en France. Afin d'évaluer les performances des méthodes utilisées pour le diagnostic de routine de la cryptosporidiose et l'identification des espèces cryptosporidiennes, le réseau a élaboré un programme d'évaluation externe de qualité (EEQ) dont les résultats pour la période 2004-2012 figurent ci-dessous.

Quatre ensembles de prélèvements consistant chacun en 3 à 5 échantillons fécaux de patients contenant des oocystes de *Cryptosporidium* spp. ont été adressés au laboratoire volontaire du réseau. Pour le diagnostic microscopique, les participants ont été invités à formuler le résultat de la détection comme 1/ positif avec le nombre d'oocystes de *Cryptosporidium* spp. pour 2µl échantillon fécal, ou 2/ négatif. Pour le diagnostic moléculaire par PCR, les participants ont donné le résultat de la détection comme 1/ positif avec identification de l'espèce, ou 2/ négatif.

Pour le diagnostic microscopique, les techniques de coloration de Henriksen - Pohlenz et de Heine ont été utilisées respectivement par 25 et un laboratoire(s). Selon les prélèvements, de 5 à 9 laboratoires ont utilisé une méthode originale de PCR en plus de la microscopie.

Le diagnostic microscopique a été correct pour de 87 à 96% des échantillons témoins négatifs. Pour les échantillons contenant des oocystes de *Cryptosporidium* spp., le diagnostic microscopique a été correct pour > 90 % des échantillons contenant plus de 29 oocystes/2µl. Pour les charges parasitaires faibles (< 5 oocystes /2 µl), le ratio de diagnostics microscopiques corrects a varié entre 61% (2004) et 92% (2012). Les diagnostics moléculaires effectués pour des échantillons contenant < 2 oocystes / 2 µl ont été positifs dans 43 à 100 % selon le laboratoire, alors que l'identification des espèces effectuée par de 2 à 4 laboratoires a donné 100 % de résultats corrects pour la détection des espèces *C. parvum*, *C. hominis* et *C. meleagridis*.

Une amélioration de la performance diagnostique de la méthode de Henriksen-Pohlenz, la plus utilisée, a été observée entre 2004 et 2012 pour les échantillons avec faible charge parasitaire. Globalement, les résultats suggèrent que les performances diagnostiques des méthodes de diagnostic microscopiques et moléculaires utilisées par les différents laboratoires du réseau sont similaires. D'autres études visant à définir des méthodes de consensus pour le diagnostic moléculaire sont encore nécessaires.

## **Prévalence élevée de *Giardia duodenalis* chez les agneaux du bassin de Roquefort et de la région Rhône Alpes**

RAZAKANDRAINIBE R.<sup>1</sup>, LEGOFF L.<sup>1</sup>, BAREILLE S.<sup>2</sup>, GILLES GARGALA G.<sup>1</sup>,  
FAVENNEC L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EA 3800 , Université de Rouen , Rouen France

<sup>2</sup> MSD Santé Animale , Beaucouzé , France

Les enquêtes sur la prévalence de *Giardia duodenalis* chez les agneaux en Europe demeurent très limitées. Le but de cette étude est de documenter la prévalence de l'infection des agneaux par *Giardia* dans 2 régions de France où sont établis un grand nombre d'élevages ovins.

Pour la période de février à mai 2012, 150 échantillons de selles d'agneaux de 30 à 60 jours. provenant de 10 fermes ont été recueillies dans le bassin de Roquefort. Pendant la période d'octobre à décembre 2013, 150 échantillons de selles d'agneaux de même âge ont été collectés dans 10 fermes de la Région Rhône -Alpes (Drôme, Ardèche et Isère). Ces fèces ont été prélevées de façon aléatoire dans le rectum des agneaux. La détection microscopique des parasites a été effectuée sur les fèces après concentration par la méthode de Bailenger.

Dans le bassin de Roquefort, 9/10 fermes comportaient au moins un agneau infecté. Selon l'élevage, le taux de contamination variait de 6 % à 55 %. La prévalence moyenne de l'infection chez les agneaux était de 23,3% (IC95 % [ 16,8 à 30,9 ]). Dans la région Rhône-Alpes, les taux de contamination variaient de 40 % à 87 %, la prévalence moyenne l'infection étant de 60,95 % et tous les élevages comportaient au moins un agneau infecté.

Compte-tenu de la forte prévalence de *Giardia duodenalis* chez les agneaux des deux régions, des études génotypiques comparatives d'isolats d'origine humaine et animales sont en cours en vue de d'investiguer le potentiel zoonotique des isolats de *G. duodenalis*.

**Communications affichées**

**en**

**MYCOLOGIE MEDICALE**

## LUNG MYCOBIOTA FROM PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS: RECENT UPDATES AND LINKS WITH OTHER MICROBIAL COMMUNITIES

NGUYEN DO NGOC Linh<sup>1</sup>, DASSONEVILLE Romain<sup>2</sup>, CHABE Magali<sup>1</sup>, GANTOIS Nausicaa<sup>1</sup>, PREVOTAT Anne<sup>3</sup>, PEREZ Thierry<sup>3</sup>, WALLAERT Benoit<sup>3</sup>, AUDEBERT Christophe<sup>2</sup>, GOFFART Anne<sup>4</sup>, VISCOGLIOSI Eric<sup>1</sup>, DELHAES Laurence<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Pasteur Institute of Lille, Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), Inserm U1019, UMR CNRS 8204

<sup>2</sup> Pegase - Biosciences - Gènes Diffusion, 3595, route de Tournai, BP 70023, 59501 Douai cedex, France

<sup>3</sup> Department of Pneumology - Lille Hospital, Lille 2 University, Lille Cedex, France

<sup>4</sup> Department of Virology - Lille Hospital, Lille 2 University, Lille Cedex, France

<sup>5</sup> Department of Mycology - Lille Hospital, Lille 2 University, Lille Cedex, France

**Background:** Recent studies using culture - independent microbial detection methods (Deep - sequencing) enable exploration of microbial community composition in both healthy and abnormal lungs. These methods reveal that cystic fibrosis (CF) airway bacterial communities are more diverse than previously appreciated and vary in both short - and long - term. Each community has its own composition and evolution, unique and specific to each patient. The microbiota dynamics might account for CF disease outcome especially during acute exacerbations. Furthermore, although fungi and viruses are increasingly recognized as important agents in pulmonary exacerbations, only a limited number of small deep - sequencing studies have focused on viruses and phages, and/or fungi.

Given the polymicrobial nature of pulmonary infections in CF patients and the recent evidence that fungi may be of clinical relevance in the decline of CF lung function, we developed a high - throughput sequencing approach to extensively explore the diversity and dynamics of fungal and prokaryotic populations in CF upper airways. In particular, we explore links between pulmonary acute exacerbation and moulds (such as *Aspergillus fumigatus* and *Scedosporium*), taking into account the context of CF and the polymicrobial nature of airway community.

**Methodology and Principal Findings:** Pyrosequencing (454 FLX) approach was used to address fungal diversity in lung (i.e. lung mycobiota), as previously described. Sputum samples from CF patients with (11 patients) and without (12 patients) pulmonary exacerbation were compared. Moulds, bacteria and respiratory viruses were identified using conventional methods, RT - PCR and deep - sequencing approach. Mycobiota plus bacterial microbiome seem to be correlated to lung function and spirometry values (FEV1). *Candida* and *A. fumigatus* were the major taxa isolated in these studies. Results were analysed taking into account biological characteristics of species (or at least genus) that are able to explain interactions between microorganisms. They were discussed considering exacerbation and clinical features. Our approach (based on Principal component analysis (PCA)) confirmed the important role of *Streptococcus* species in increasing lung microbiota diversity, promoting patient stability, and allowed us to conceptualize such interactions of the CF lung environment.

**Conclusion :** Mycobiota seems to be a dynamic event, part of the overall microbiome, i.e. including bacterial microbiota and virome, plus some potential interaction such as resistosome. We thus interpreted our results to highlight the potential interactions between microorganisms and the role of fungi (such as *A. fumigatus*) in the context of improving survival in CF

## EVALUATION DE L'EXPOSITION FONGIQUE DOMICILIAIRE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE MUCOVISCIDOSE

PRICOPE Daniela<sup>1</sup>, DENEUVILLE Eric<sup>1</sup>, FRAIN Sophie<sup>2</sup>, CHEVRIER Sylviane<sup>3</sup>,  
GANGNEUX Jean-Pierre<sup>3</sup>

<sup>1</sup> CRCM pédiatrique, CHU de Rennes

<sup>2</sup> Association CAPT'AIR Bretagne, CH Dinan

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Rennes

**Introduction** : Les pathologies aspergillaires au cours de la mucoviscidose sont de plus en plus décrites, mais la source d'exposition reste encore peu explorée.

**Objectifs** : Il s'agit d'évaluer l'exposition fongique domiciliaire chez des patients atteints de mucoviscidose et de rechercher une relation entre la charge fongique domiciliaire et la présence de stigmates cliniques et biologiques aspergillaires : colonisation aspergillaire, sensibilisation aspergillaire ou ABPA.

**Méthodes** : 34 patients pouvant réaliser des ECBC, suivis au CRCM de Rennes, consentants, ont bénéficié d'une visite à domicile par un Conseiller Médical en Environnement Intérieur entre mars 2012 et août 2012. Lors de chaque visite, au moins 5 prélèvements de surface à visée mycologique ont été réalisés, par la technique de l'écouvillonnage humide, sur une surface de 10 cm<sup>2</sup> (Gangneux et al., 2002). Le recueil de données cliniques et paracliniques a été réalisé sur une période de 12 mois.

**Résultats** : Parmi les 34 domiciles prélevés, 19 présentaient une contamination par une flore aspergillaire et 12 par une flore non aspergillaire. La répartition des espèces fongiques retrouvée était : *Aspergillus* sp 58,9%, *Penicillium* sp 85,3%, *Cladosporium* 70,6%, Mucorales 32,4%, *Alternaria* 11,8%, *Aureobasidium* 8,9%, *Fusarium* 5,9%, *Rhodotorula* sp 55,9%, et autres levures 58,9%. Le nombre de colonies aspergillaires ne différait pas significativement d'un site de prélèvement à l'autre ( $p=0,251$ ), mais le nombre de colonies non aspergillaires était significativement plus important dans la cuisine ( $p=0,0045$ ).

Sur le plan clinique, l'exposition domiciliaire aux *Aspergillus* sp. ou à une flore fongique totale (aspergillaire et non aspergillaire) ne différait pas significativement entre les groupes "stigmates aspergillaires présents" et "stigmates aspergillaires absents" ( $p=0,453$ ). En revanche, les patients présentant des stigmates aspergillaires avaient un score de Shwachman significativement plus faible ( $p=0,03$ ) que les patients n'ayant pas de stigmates aspergillaires. Ces patients avaient eu en moyenne significativement davantage de cure d'antibiotiques per os au cours des 12 mois précédents ( $p=0,02$ ). En analyse univariée, les deux groupes ne différaient pas significativement sur les caractéristiques suivantes : âge, sexe, génotype CFTR, terrain atopique, traitement par azithromycine. Seule la proportion de patients ayant été traités par corticoïdes inhalés était significativement plus importante dans le groupe "stigmates aspergillaires présents" ( $p=0,0004$ ).

**Conclusion** : Sur cette série de 34 patients qui mérite d'être élargie, on note une absence de lien évident entre l'exposition domiciliaire et la pathologie aspergillaire des patients atteints de mucoviscidose. Ce résultat doit rendre prudent sur des conseils d'hygiène parfois trop contraignants qui pourraient être donnés aux familles, l'exposition fongique étant également potentiellement importante dans le cadre des activités extra-domiciliaires.



## LES MOISSURES DANS L'HABITAT PICARD : CARACTERISATION DE LA CONTAMINATION ET EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES

LE GAL Solène<sup>1</sup>, DEFFONTAINE Marine<sup>1,2</sup>, DAMIANI Céline<sup>1,2</sup>, OBJOIS Thibaut<sup>1</sup>,  
SAUVAGE Anne<sup>3</sup>, TAILLAINT Sylvie<sup>3</sup>, BENABES Béatrice<sup>4</sup>, POPIN Elisabeth<sup>5</sup>, NEVEZ  
Gilles<sup>6</sup>, TOTET Anne<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Pérیتox UMR - I 01

<sup>2</sup>Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicales, CHU Amiens - Picardie

<sup>3</sup>au nom d'ATMO Picardie

<sup>4</sup>au nom de l'association Journée d'Allergologie en Picardie

<sup>5</sup>Service de Pneumologie, CHU Amiens – Picardie

<sup>6</sup>Université Européenne de Bretagne, Université de Brest, EA3882 - LUBEM, SFR 148

L'humidité est un des défauts les plus fréquents de l'habitat en France et génère une prolifération des moisissures dont les effets allergiques, infectieux et toxiques sur la santé sont documentés. Cependant les données françaises relatives au recensement et à la concentration des moisissures dans l'habitat restent limitées. L'étude FongiPic a pour objectifs de caractériser la contamination fongique dans l'habitat en Picardie et d'évaluer l'impact sanitaire de l'exposition aux moisissures.

Au cours de cette étude prospective, une enquête environnementale a été réalisée dans 20 logements de patients présentant des manifestations allergiques respiratoires pour lesquelles un lien avec l'environnement domestique a été suspecté, et dans 29 logements humides. Cette enquête comporte l'évaluation des paramètres d'ambiance ainsi que l'identification et la quantification des moisissures dans des prélèvements d'air collectés avec le Coriolis  $\mu$  air sampler (Bertin Technologies) dans une pièce saine et une pièce humide. L'identification des moisissures en culture a reposé sur des critères macroscopiques et microscopiques. Les occupants des différents logements ont complété un questionnaire de santé auto - administré. De plus, les éléments de l'anamnèse et les données cliniques ont été recueillis de manière standardisée par un médecin allergologue pour les patients allergiques. Les résultats obtenus dans les deux catégories de logements ont été comparés à l'aide d'un test non paramétrique de Wilcoxon (différence significative si  $p < 0,05$ ).

Vingt-et-un genres de moisissures et levures ont été identifiés, les plus fréquemment isolées appartenant aux genres *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. La concentration fongique totale en Unité Formant Colonie/m<sup>3</sup> d'air (UFC/m<sup>3</sup>) est significativement plus élevée dans les pièces humides (moyenne m=901 ; écart - type standard s=1078,27) que dans les pièces saines (m=432,24 ; s=711), quelle que soit la catégorie de logement. La concentration d'*Aspergillus* spp. est significativement plus élevée dans les logements humides (m=289 ; s=87,85) que dans les logements de patients allergiques (m=64 ; s=87,85).

Cette étude apporte les premiers éléments sur l'exposition aux moisissures domestiques en Picardie à la fois pour des patients allergiques et des occupants de logements humides. La comparaison des logements de patients allergiques et des logements humides avec des logements contrôles, dont l'inclusion est en cours, permettra d'évaluer l'impact sanitaire de cette exposition.

## DIVERSITE DE *PNEUMOCYSTIS JIROVECII* EN GUYANE

LE GAL Solène<sup>1,2</sup>, BLANCHET Denis<sup>3,4</sup>, DAMIANI Céline<sup>5,6</sup>, MERLE Cédric<sup>1</sup>, VIRMAUX Michèle<sup>1</sup>, GUILLOT Geneviève<sup>3,4</sup>, ABOUD Philippe<sup>3,4</sup>, TOTET Anne<sup>5,6</sup>, CARME Bernard<sup>3,4</sup>, NEVEZ Gilles<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Université Européenne de Bretagne, Université de Brest, EA3882 - LUBEM, SFR 148

<sup>2</sup>CHU de Brest, Service de Parasitologie et Mycologie

<sup>3</sup>Université Antilles Guyane, EA 3593, CIC - Epidémiologie Clinique des Antilles et de la Guyane

<sup>4</sup>Centre Hospitalier Général Andrée Rosemon, Cayenne, France

<sup>5</sup>Université de Picardie - Jules Verne, EA 4285 UMI INERIS 01, SFR CAP - Santé

<sup>6</sup>CHU d'Amiens, Service de Parasitologie et Mycologie médicales

**Objectifs** Jusqu'à maintenant l'essentiel des isolats de *P. jirovecii* identifiés du point de vue génotypique en France proviennent du territoire métropolitain alors que les données concernant les caractéristiques génotypiques de *P. jirovecii* en France d'outremer et en particulier de Guyane sont rares. Cette étude rapporte le typage multilocus d'isolats de *P. jirovecii* provenant de patients sidéens vivant dans ce département ultramarin.

**Méthode** Sept patients sidéens suivis à l'hôpital Andrée Rosemon de Cayenne ayant développé une pneumonie à *Pneumocystis* (PPC) ont été inclus dans l'étude. Les sept isolats de *P. jirovecii* correspondant ont été génotypés sur les loci: i) de la dihydroptéroate synthase (DHPS) à l'aide d'une technique de PCR - Restriction Fragment Length Polymorphism technique (RFLP), ii) des "internal transcribed spacer (ITS) 1 et ITS 2" de l'opéron rRNA et du gene codant pour l'ARN de la grande sous unité du ribosome de la mitochondrie de *P. jirovecii* [mitochondrial large sub unit rRNA (mtLSUrRNA)] à l'aide d'une réaction de PCR, de clonage et séquençage.

**Résultats** Un type DHPS sauvage (A165 C171) a été retrouvé chez six patients. Un type DHPS double mutant (G165 T171) a été retrouvé chez le septième patient. Huit haplotypes ITS ont été identifiés: Eg (3 patients), Eu (2 patients), Gg, Eo, No, Ne, Eh, Ea (chacun chez un patient). Cinq patients étaient infectés par un seul haplotype ITS. Un patient était infecté par deux haplotypes ITS différents (Eg, Eu); un autre patient était infecté par quatre haplotypes ITS différents (Eo, No, Ne, Eh) ; ceci étant compatible avec des infections mixtes. Eg est l'haplotype le plus fréquemment rapporté dans le monde y compris en France métropolitaine. Eu a été précédemment rapporté uniquement comme un haplotype peu fréquent en Afrique du Sud. Trois types mtLSUrRNA ont été identifiés: "T85 C248" chez trois patients, "A85 C248" chez trois patients, et "A85 T248" chez un patient. Six patients étaient infectés par un seul type mtLSUrRNA. Un patient était infecté par deux types mtLSUrRNA ("A85 T248", "A85 C248") suggérant à nouveau une infection mixte. Le type "T85 C248" a été reporté comme un type majoritaire à Cuba et au Zimbabwe, et comme un type moins fréquent au Royaume Uni, en Espagne, et en France Métropolitaine.

**Conclusion** La PCP impliquant des mutants DHPS peut survenir en Guyane. Il existe une diversité des haplotypes ITS et mtLSUrRNA dans ce département. Il existe une communauté partielle de types de *P. jirovecii* en France métropolitaine et en Guyane.

# IDENTIFICATION MOLECULAIRE D'AGENTS PATHOGENES FONGIQUES A PARTIR DE FRAGMENTS BIOPSIQUES

AIT-AMMAR Nawel<sup>1</sup>, GUITARD Juliette<sup>2</sup>, GONIN Julie<sup>3</sup>, BROCHERIOU Isabelle<sup>3</sup>,  
HENNEQUIN Christophe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>APHP, Hôpital Ambroise Paré, Service de Microbiologie

<sup>2</sup>APHP, Hôpital Saint-Antoine, Service de Parasitologie-Mycologie

<sup>3</sup>APHP, Hôpital Tenon, Service d'Anatomo-Pathologie

**Objet :** Nous avons évalué, rétrospectivement, l'intérêt de la PCR ciblant les gènes codants pour l'ARN ribosomal pour détecter et identifier les champignons observés dans les fragments tissulaires.

**Matériel et méthodes :** Trente et un échantillons, dont 24 paraffinés et 7 congelés, provenant de patients atteints d'une infection fongique prouvée ont été testés. L'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide de l'automate NucliSens™ easyMAG de Biomérieux après une étape de lyse. Les amplifications ont été réalisées à l'aide de 3 couples d'amorces fongiques universelles (ITS1-ITS4, ITS3-ITS4 et ITS1-ITS2) suivies du séquençage des produits amplifiés par méthode BigDye Ter. Les séquences obtenues ont été comparées à celles disponibles dans GenBank et aux données mycologiques disponibles.

**Résultats :** Au moins un produit d'amplification a pu être obtenu à partir de 22 (71 %) échantillons dont 15 (63 %) paraffinés et 7 (100 %) congelés. Le meilleur taux d'amplification a été obtenu avec le couple d'amorces ITS1-ITS2 (64 %) suivi du couple ITS3-ITS4 (58 %) et enfin le couple ITS1-ITS4 (23 %). Une identification moléculaire a pu être obtenue à partir de 21 fragments soit 14 (58 %) des 24 fragments paraffinés et les 7 (100 %) fragments congelés. Huit des 21 identifications se sont avérées être soit des contaminants soit des commensaux des tissus prélevés alors qu'aucune amplification n'a été obtenue à partir des contrôles négatifs. Des agents fongiques pathogènes aussi bien filamenteux que levuriformes ont pu être identifiés pour 13 échantillons.

**Conclusion :** Cette étude démontre que la PCR panfongique peut être un outil complémentaire, en cas de difficulté d'identification d'agents fongiques responsables de mycose invasive. On préférera les fragments n'ayant pas été formolés et les couples d'amorces visant des fragments courts. L'interprétation des résultats devra tenir compte du site initial de prélèvement. Des travaux complémentaires évaluant différentes techniques d'extraction et d'autres cibles de PCR, restent nécessaires, afin d'améliorer le taux d'identification à partir des fragments tissulaires paraffinés.

## DONNEES CLINIQUES, HISTOPATHOLOGIQUES ET MOLECULAIRES D'UNE SERIE DE MUCORMYCOSES

CARZOLA Arnault<sup>1</sup>, ALANIO Alexandre<sup>2</sup>, JOUVION Grégory<sup>3</sup>, KANTELIP Bernadette<sup>4</sup>, MILLON Laurence<sup>5</sup>, WASSEF Michel<sup>6</sup>, BRETAGNE Stéphane<sup>2</sup>, GRENOUILLET Frédéric<sup>5</sup>, CHRETIEN Fabrice<sup>3</sup>

<sup>1</sup>AP - HP Lariboisière, Service d'anatomie et cytologie pathologiques

<sup>2</sup> Parasitologie - Mycologie, AP-HP Saint-Louis, 75010, Unité de mycologie moléculaire, CNRS URA3012, Centre National de Référence mycoses invasives et antifongiques, Institut Pasteur, 75015, Paris, France

<sup>3</sup> Unité d'histopathologie humaine et expérimentale, Institut Pasteur, 75015 Paris, France

<sup>4</sup> Anatomie et cytologie pathologiques, CHRU Jean Minjoz, 25000 Besançon, France

<sup>5</sup>Parasitologie - Mycologie, CHRU Jean Minjoz, 25000 Besançon, France

<sup>6</sup>Anatomie et cytologie pathologiques, AP - HP Lariboisière, 75475 Paris, France

**Introduction** : Les mucormycoses sont des infections fongiques invasives grevées d'une forte mortalité touchant principalement les sujets immunodéprimés (diabète, hémopathies). Les atteintes rhino - orbito - cérébrales sont les formes les plus fréquentes et les plus redoutables. Le pronostic est fonction de la précocité du diagnostic mycologique et/ou histopathologique afin de mettre en place le traitement chirurgical et antifongique adapté le plus rapidement possible. Le but de notre étude rétrospective multicentrique était de réaliser une description clinique, histopathologique et mycologique d'une série de mucormycoses.

**Matériel et méthodes** : Cette étude rétrospective a inclus les patients avec mucormycose prouvée dans les CHU de Besançon et de Paris Lariboisière depuis le 01/01/1992 et jusqu'au 31/12/2013. Les données cliniques, histopathologiques et mycologiques ont été recueillies. Les lames de l'ensemble des prélèvements ont été relues par deux anatomopathologistes spécialisés en pathologie infectieuse et confirmés par immunohistochimie anti - mucorales.

**Résultats** : Cette étude concernait 34 patients âgés de 13 à 77 ans (âge moyen: 48 ans; ratio H/F: 0,8), tous immunodéprimés (11 diabétiques, 18 hémopathies, 5 ayant une corticothérapie au long cours, 1 patient VIH+, 6 autres causes). Les atteintes étaient de siège ORL pur (n=19), rhinocérébrale (n=2), pulmonaire (n=3), cutané (n=1); 8 cas présentaient une atteinte disséminée (>2 sites non contigus). La relecture des lames confirmait le diagnostic de mucormycose en montrant la présence de larges filaments mycéliens, pauciseptés, branchés à angle droit associés à des images d'angio - invasion et des remaniements nécrotico - hémorragiques ; confirmé par une immunohistochimie anti - mucorale positive (que le matériel fut fixé en formol ou liquide de Bouin). Un cas a été exclu, montrant des filaments pigmentés évoquant une phaeophycomycose avec immunohistochimie anti - mucorales négative. Le diagnostic d'espèce, réalisé sur cultures (n=20) et/ou analyse moléculaire sur tissu frais (n=4) et/ou paraffinée (n=7) a permis d'identifier *Lichtheimia corymbifera* (n=6), *Lichtheimia ramosa* (n=1), *Rhizopus oryzae/arrhizus* (n=11) et *Rhizomucor pusillus* (n=5). Les cas non identifiés sont en cours de typage. Le traitement a consisté en une intervention chirurgicale dans 29 cas associé à un traitement antifongique utilisant une (n=18) ou plusieurs molécules (n=4). La durée de traitement variait entre 0 et 129 jours. La mortalité à 15 jours était de 36 % (12/33) et 19 étaient vivants après un suivi médian de 16,6 mois (1 - 72 mois).

**Conclusion** : L'étude immunohistochimique, sur prélèvements fixés en formol ou en liquide de Bouin, et surtout l'analyse moléculaire, réalisable sur prélèvements paraffinés peuvent être des aides essentielles. Néanmoins, la congélation demeure le matériel le mieux exploitable pour la biologie moléculaire. Le diagnostic repose avant tout sur la collaboration entre mycologues, pathologistes et cliniciens. Le traitement repose sur une exérèse chirurgicale la plus large possible des tissus nécrosés en association à un traitement antifongique prolongé.

**COMPARAISON DU DOSAGE DU GALACTOMANNANE (GM)  
ET DE LA CULTURE MYCOLOGIQUE  
DANS DIFFERENTES FRACTIONS DU LAVAGE BRONCHOALVEOLAIRE (LBA)**

BONNAL Christine<sup>1</sup>, SAINTENOY Gaël<sup>1</sup>, SITTERLE Emilie<sup>1,3</sup>, FOULET Françoise<sup>1,3</sup>,  
MAITRE Bernard<sup>2</sup>, BOTTEREL Françoise<sup>1,3</sup>

1. Laboratoire de Mycologie Parasitologie, Hôpital Henri Mondor, 94000 CRETEIL
2. Service de Pneumologie, Hôpital Henri Mondor, 94000 CRETEIL
3. DHU VIC, Equipe DYNAMYC

Le dosage du GM dans le LBA est un des critères microbiologiques de la classification EORTC des aspergilloses invasives (AI). A l'hôpital Henri Mondor, le LBA est prélevé sur 3 niveaux dans le tractus respiratoire (LBA1, LBA2, LBA3) et complété par une aspiration du LBA (LBAasp). En routine, les cultures mycologiques sont réalisées sur les fractions LBA1, LBA3 et LBAasp et le dosage du GM sur le LBA2.

L'objectif principal de notre étude était de doser le GM dans les différentes fractions du LBA et de corréler le résultat à la culture. L'objectif secondaire était de valider ce choix pour le diagnostic de l'AI.

**Matériels et méthodes :** Les LBA reçus au laboratoire de Mycologie de janvier à juin 2013 ont été inclus prospectivement dans l'étude. Un dosage de GM était effectué sur les différentes fractions du LBA (sous réserve d'une quantité suffisante) et la culture était faite sur le LBA1, LBA3 et LBAasp. Les patients ont ensuite été classés en AI prouvées, probables, possibles et exclues selon les critères EORTC en excluant le dosage du GM dans le LBA.

**Résultats :** au total, 157 patients ont été inclus : 70 avec les 4 fractions et 87 avec au moins une fraction, soit 458 prélèvements : 118 LBAasp, 134 LBA1 et 136 LBA3 mis en culture et 70 LBA2 non cultivés. La culture était positive à *A. fumigatus* dans 25 cas, à *Aspergillus* spp dans 9 cas et à un autre filamenteux dans 18 cas. La culture était négative dans 336 cas. Les moyennes des index de GM des cultures positives était 1,95+/- 2,36 pour *A. fumigatus*, 1,26+/- 1,83 pour *Aspergillus* spp, 0,92+/- 1,72 pour les filamenteux autres et 0,65+/- 1,67 pour les cultures négatives. Seules les moyennes des cultures positives à *A. fumigatus* et des cultures négatives étaient significativement différentes.

La corrélation entre la culture et les index des GM (seuil à 0,5) pour les différentes fractions a été étudiée, les coefficients de corrélation étaient 8,83 (1,65 - 51,6 ; p=0,006) pour LBA1, 7,9 (0,47 - 134 ; p=0,22) pour le LBA3 et 3,53 (1,25 - 10,2 ; p=0,007) pour le LBAasp. Dans ce cas, la sensibilité (Se), spécificité (Sp) du dosage du GM était de 62.5%, 50% et 68% et 84%, 89% et 63% pour le LBA1, LBA3 et LBAasp respectivement. Dans 81/388 cas, il existait une discordance entre les résultats de la culture et le dosage du GM.

Pour les 70 patients avec les 4 fractions, 2 groupes ont été comparés : 1 groupe AI prouvée + probable et 1 groupe AI possible + exclue. La Se du GM dans le LBA étaient de 27%, 27%, 18% et 64% et sa Sp de 81%, 85%, 88% et 54% pour les LBA1, 2, 3 et asp, respectivement.

**Discussion :** Dans notre population de patients, il apparaît que le dosage de GM dans le LBA est corrélé avec la culture pour le LBA1 et le LBAasp mais qu'il reste des discordances. Ces discordances pourraient être dues à des problèmes techniques (centrifugation, conservation du GM dans le prélèvement) ou à des variations d'expression du GM par le champignon (forme conidiale, hyphale ou autre espèce d'*Aspergillus*). Malgré le manque de Se probablement lié au faible nombre de patients étudiés, cette étude nous permet de proposer de réaliser le dosage du GM en parallèle de la culture dans le LBA1.

**APPORT DE LA PCR ET DU SEQUENÇAGE AU DIAGNOSTIC  
DE SINUSITE FONGIQUE : A PROPOS DE 42 CAS DIAGNOSTIQUES  
AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE - MYCOLOGIE DU CHU DE RENNES**

GANGNEUX Jean-Pierre<sup>1</sup>, COMACLE Pauline<sup>1</sup>, CHEVRIER Sylviane<sup>1</sup>, RUAUX Christophe<sup>2</sup>, JEGOU Franck<sup>1</sup>, ROBERT - GANGNEUX Florence<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU de Rennes

<sup>2</sup>Clinique de la Sagesse, Rennes

Les sinusites fongiques chroniques non invasives atteignent le rang de 2ème maladie inflammatoire chronique des pays industrialisés. Deux entités cliniques prédominent : la balle fongique et la sinusite fongique allergique. Le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments tels que les signes cliniques, l'aspect des sinus au scanner, et l'étude histologique et mycologique des prélèvements de sinus réalisés lors d'une intervention chirurgicale à visée thérapeutique. La sensibilité des cultures étant médiocre, l'objet de l'étude a été de mettre au point l'amplification des régions ITS situées dans le gène de l'ADNr, puis le séquençage des champignons mis en évidence dans des prélèvements de sinus envoyés à des fins diagnostiques au laboratoire de mycologie du CHU de Rennes de mai 2010 à avril 2013. Au total, 70 prélèvements, dont 47 (42 patients) étaient positifs à l'examen direct, ont bénéficié d'une PCR ITS1/2. Les cultures mycologiques étaient positives pour seulement 52% des patients avec examen direct positif, tandis que la PCR était positive dans tous les cas. Le séquençage a permis d'identifier le champignon en cause dans 46/47 prélèvements. Une analyse des données cliniques et biologiques a permis de classer les patients selon le type de sinusite et le terrain immunitaire. Une balle fongique a été retrouvée dans 88% des cas, dont 57% étaient d'origine dentaire. *Aspergillus fumigatus* était le champignon le plus souvent identifié (66%), puis *A. nidulans*, *Scedosporium* sp. et *Cladosporium cladosporoides*. Deux patients avec des signes cliniques compatibles et un examen direct négatif ont également eu une PCR positive et un champignon a pu être identifié.

En conclusion, la PCR - séquençage ITS1/2 améliore la sensibilité diagnostique et permet l'identification moléculaire des champignons en cause dans les sinusites fongiques, permettant d'étoffer des données épidémiologiques encore parcellaires.

## LES OTOMYCOSES : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE ET MYCOLOGIQUE AU CHU SAADNA ABDENOUR DE SETIF

MERADJI Assia<sup>1</sup>, ZEROUG Salem<sup>2</sup>, TOUABTI Abderrezak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Parasitologie et Mycologie médicale, CHU Saadna Abdenour, Sétif, Algérie.

<sup>2</sup> Service ORL, CHU Sétif, Algérie

L'otite fongique est une pathologie relativement fréquente. Elle représente selon les études 5 à 10% de l'ensemble des otites externes. Les agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés sont *Aspergillus* et *Candida albicans*.

**Objectif** : Déterminer la prévalence des otites fongiques dans le service d'oto-rhino-laryngologie (ORL) au CHU Saadna Abdenour de Sétif, étudier les facteurs favorisants et identifier les agents étiologiques fongiques.

**Patients et méthodes** : Il s'agit d'une étude prospective d'une durée de 5 mois (février 2013 – Juin 2013) ayant inclus 55 patients présentant une otomycose suspecte cliniquement.

Le prélèvement auriculaire est pratiqué pendant l'examen otoscopique à l'aide d'un écouvillon en coton stérile et sec. Sur chaque spécimen biologique, un examen direct et une culture sur milieu Sabouraud-chloramphénicol et Sabouraud-actidione-chloramphénicol ont été effectués au laboratoire de parasitologie et mycologie médicale du CHU Sétif.

L'identification de l'agent pathogène a été basée sur les critères macroscopiques et microscopiques pour les champignons filamenteux, pour les levures, d'autres tests d'identification basés sur les critères phénotypiques ont été utilisés (test de filamentation, Auxacolor<sup>®</sup> et test de chlamydosporulation). Une fiche de renseignements a été complétée pour chaque patient.

**Résultats** : Sur un total de 55 patients suspects cliniquement d'otites fongiques, seulement 23 patients présentaient une documentation mycologique (examen direct et culture positifs), soit une prévalence de 41,81 %, avec une prédominance masculine (sex-ratio de 1.87). Le symptôme le plus fréquent était le prurit (73 %), suivie par l'otorrhée (69.5 %) et l'otalgie (60 %).

Les espèces les plus fréquemment rencontrées étaient *Aspergillus niger* (43,4%), *Aspergillus flavus* (21,7 %) et *Candida albicans* (21,7 %) avec un seul cas d'association.

**Conclusion** : Bien que souvent évocatrice, la symptomatologie clinique ne permet pas toujours le diagnostic. La prise en charge des otomycoses doit inclure le diagnostic mycologique ainsi que le changement des comportements favorisant leur survenue.

**PROFIL COMPARATIF DE LA FLORE CANDIDOSIQUE RENCONTREE  
DANS DEUX CENTRES HOSPITALIERS DE TUNIS : SERVICE DE  
REANIMATION MEDICALE ET SERVICE DE GREFFE DE MOELLE OSSEUSE**

KALLEL Aïcha<sup>1</sup>, HAKMOUNI Hend<sup>1</sup>, FAKHFAKH Najla<sup>1</sup>, BELHAJ SALAH Najoua<sup>1</sup>,  
BADA Nahed<sup>1</sup>, BEN LAKHAL Salah<sup>2</sup>, BEN OTHMAN Tarak<sup>3</sup>, BELHADJ Slaheddine<sup>1</sup>,  
KALLEL Kalthoum<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU La Rabta, Tunis, Tunisie

<sup>2</sup>Service de Réanimation Médicale, CHU La Rabta

<sup>3</sup>Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis

Les candidoses invasives représentent une cause importante de morbidité et de mortalité en milieu hospitalier chez les patients à risque. Toutefois, les circonstances étiopathogéniques de leur survenue demeurent différentes d'une pathologie sous-jacente à une autre.

Le but de notre travail est de comparer la flore candidosique isolée de deux populations : patients admis au service de Réanimation Médicale du CHU La Rabta et patients hospitalisés dans le service de greffe de moelle osseuse du Centre National de Greffe de Moelle Osseuse (CNGMO).

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 3 ans (Janvier 2011 - Décembre 2013) ayant porté sur 439 et 1160 souches de *Candida* isolées principalement à partir d'écouvillons cutanéomuqueux, d'hémocultures et d'urines provenant de patients hospitalisés respectivement en réanimation médicale et au CNGMO.

Les espèces les plus fréquemment isolées étaient en réanimation médicale, *C. albicans* (61,9%), *C. glabrata* (16,9%) et *C. tropicalis* (10,2%) et au CNGMO, *C. albicans* (45,8%), *C. glabrata* (31,3%) et *C. parapsilosis* (9,3%).

L'analyse des résultats en fonction du site de prélèvement, nous a permis de constater que la proportion d'espèces différait d'une population à une autre. A partir des écouvillons cutanéomuqueux, *C. albicans* a été isolé dans 69,2% de cas en réanimation médicale et dans seulement 47,6% des cas au CNGMO, alors que *C. glabrata* a été beaucoup plus fréquemment isolé au CNGMO (38,2%) qu'en réanimation médicale (15,6%).

Pour ce qui est des hémocultures, *C. parapsilosis* était l'espèce prédominante aussi bien au CNGMO (54,7%) qu'en réanimation médicale (45,4%). Concernant les urines, *C. albicans* était l'espèce la plus fréquemment retrouvée en réanimation médicale (54,5%) suivie de *C. glabrata* (22,3%), alors qu'au CNGMO, *C. glabrata* était de loin l'espèce prédominante (62,2%) suivie de *C. albicans* (31,1%).

En conclusion, cette étude nous a permis de constater que *C. albicans* reste toujours l'espèce la plus fréquemment isolée aussi bien en réanimation médicale qu'au CNGMO, mais son incidence a nettement diminué au dépens d'espèces émergentes non *albicans*, notamment *C. glabrata* et *C. parapsilosis*. Les incidences étaient différentes en fonction de la pathologie sous-jacente et du site de prélèvement. Ainsi une surveillance mycologique est nécessaire chez ces groupes à risque afin de limiter le développement d'un processus invasif local et une éventuelle dissémination hématogène.



# ETUDE DE SOUCHES DE *CANDIDA* NON *ALBICANS* ISOLEES DE CATHETERS AU CHU D'ORAN : IDENTIFICATION ET SENSIBILITE AUX ANTIFONGIQUES

BENDJELLOUL Meriem<sup>1</sup>, BOUCHERIT Kebir<sup>2</sup>, BOUCHERIT - OTMANI Zahia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Tlemcen, Algérie

<sup>2</sup>Centre universitaire de Nâama, Algérie

**Objectifs :** L'incidence croissante des espèces de *Candida* non-*albicans* et le pronostic vital souvent compromis pour les patients atteints de septicémie à *Candida*, fait appel à la connaissance exacte de leur épidémiologie à travers le monde et d'échappement à l'action des antifongiques actuellement utilisés en clinique. Pour cela, nous nous sommes proposés de réaliser une étude épidémiologique des espèces de *Candida* non-*albicans* isolées de cathéters vasculaires et tester leur sensibilité vis-à-vis de deux antifongiques, l'amphotéricine B et la caspofungine.

**Matériel et méthodes :** Notre étude a porté sur une période de huit mois au niveau des services de médecine interne, chirurgie A et néonatalogie du Centre Hospitalo - Universitaire d'Oran (Algérie). Trois cents cathéters veineux périphériques (CVP) ont fait l'objet d'une culture pour déterminer la présence, ou non, d'une colonisation du matériel par les espèces non-*albicans*. Les isolats ont été identifiés par des tests microscopiques et biochimiques : test de blastèse, test de chlamydosporulation, galerie Api Candida (Biomerieux<sup>®</sup>, Marcy l'Étoile, France). L'étude de leur sensibilité aux antifongiques (amphotéricine B et caspofungine) a été réalisée selon la méthode de microdilution décrite en 2008 par Clinical Laboratory Standards Institute M27 - A3 [1] et M27 - S3 [2].

**Résultats :** Les levures autres que *Candida albicans* isolées étaient *Candida parapsilosis* (72,72%), *Candida glabrata* (9,09%) ainsi que *Candida krusei*, (4,54%) *Candida famata* et *Candida lusitanae*.

Le test de sensibilité à l'amphotéricine B a montré que tous les isolats sont sensibles avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de 0,25 à 1 µg/ml. Les CMI obtenues vis-à-vis de la caspofungine varient selon les espèces entre 0,0625 et 1 µg/ml, or chez certaines souches de *C. parapsilosis* la concentration s'élève à 2 µg/ml. De plus, une CMI supérieure à 8 µg/ml observée chez la souche *C. krusei* (Ck1) représente un cas de résistance selon les normes du CLSI où la souche est considérée comme non sensible quand la concentration dépasse 2 µg/ml (seuil critique).

**Conclusions :** Ces résultats sont des constatations de colonisation, celle-ci constituant l'étape précédant l'invasion et l'installation de l'infection nosocomiale. Ceci suggère que les patients sont hospitalisés dans une structure non protégée de la contamination fongique et que par conséquent des mesures prophylactiques doivent être entreprises afin d'éviter l'installation de ces infections chez ces malades.

La caspofungine est au moins aussi efficace que l'amphotéricine B, mais mieux tolérée pour le traitement des infections fongiques invasives.

## Références bibliographiques

- 1 - Clinical and Laboratory Standards Institute M27 - A3, (2008) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard - 3rd edition. Vol. 28 No.14.
- 2 - Clinical and Laboratory Standards Institute M27 - S3, (2008) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; 3rd informational supplement. Vol. 28 No.15

# **SENSIBILITE *IN VITRO* A L'AMPHOTERICINE B DE 96 SOUCHES DE *CANDIDA* ISOLEES AU CHU AVICENNE ET A L'HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT**

IKEN Maryem<sup>1</sup>, NAOUI Hafida, BOUMHIL Laila, LMIMOUNI Badr Eddine

<sup>1</sup>Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital HMI MED V, Rabat, Maroc

## **Introduction**

Les infections invasives à *Candida* sp ont vu leur fréquence augmenter ces dernières années. Elles constituent des complications hospitalières redoutées en raison de leur mortalité et morbidité élevées surtout en réanimation. Les données sur le phénomène de résistance de *Candida* aux antifongiques ne sont pas disponibles dans notre pays. Il est apparu opportun d'établir le profil phénotypique des souches de *Candida* isolées à l'amphotéricine B dans les services de réanimation et d'évaluer le taux de résistance à l'amphotéricine B de ces souches.

## **Méthodologie**

Il s'agit d'une étude prospective qui s'est déroulée au laboratoire de parasitologie et mycologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat. Ont été incluses dans cette étude, toutes les souches de *Candida* issues de prélèvements divers (hémocultures et sites périphériques) provenant de patients hospitalisés dans les services de réanimation. La culture et l'identification des souches de *Candida* étaient faites sur milieu chromogénique (Candi-select 4) et la sensibilité *in vitro* à l'amphotéricine B était réalisée selon la technique de diffusion en milieu gélosé des disques. La lecture est faite après 24h d'incubation à 37°C. Les disques antifongiques de l'amphotéricine B sont fournis avec la dose de 100µg (AB100).

## **Résultats**

Durant la période de l'étude, 96 souches de *Candida* sont incluses. Deux p.cent des prélèvements effectués étaient des hémocultures et 98% étaient des prélèvements de sites périphériques. On note une prédominance de *Candida albicans* (52%) par rapport aux *Candida non albicans* (48%). La répartition des *Candida non albicans* selon l'espèce était : *C.glabrata* (18%), *C. tropicalis* (10,5%), *C .krusei* (6%) et *C. lusitaniae* (2%). A partir des hémocultures, seules les espèces *C. albicans* et *C. glabrata* ont été isolées. L'amphotéricine B avait une excellente activité sur toutes les espèces de *Candida* : la sensibilité se situe autour de 91% alors qu'une résistance de 8,33% a été identifiée. *C. krusei* était constamment sensible à l'amphotéricine B. Les deux souches isolées de *C. lusitaniae* étaient respectivement intermédiaire et résistante.

## **Conclusion**

L'amphotéricine B présente une efficacité sur la majorité des souches de *Candida* analysées dans cette étude. Une surveillance épidémiologique des candidoses est indispensable pour suivre l'évolution du profil de sensibilité aux antifongiques des souches de *Candida*.

## PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE DES TEIGNES INFLAMMATOIRES RECENSEES A L'HOPITAL CHARLES NICOLLE DE TUNIS

ALOUI Dorsaf, BOUCHEKOUA Myriam, TRABELSI Sonia, CHEIKHROUHOU Sarra,  
KHALED Samira

Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Hôpital Charles - Nicolle, Tunis, Tunisie

**Introduction** : Les teignes sont des affections fréquentes, dont le profil épidémiologique ne cesse de changer au cours de ces dernières années. Une recrudescence des teignes inflammatoires a été notée en Tunisie, touchant surtout l'enfant. Chez l'adulte, elles sont rares et se présentent sous forme de sycosis.

Le but de notre étude est de dégager les caractéristiques épidémiologiques - cliniques et mycologiques des teignes inflammatoires dans le nord du pays.

**Méthodes** : Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au laboratoire de Parasitologie – Mycologie de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis sur une période de 4 ans (2010–2013) et portant sur tous les cas de teignes inflammatoires. Les critères d'inclusion étaient un aspect clinique de kérion associé à un prélèvement mycologique positif (examen direct et/ou culture).

**Résultats** : Durant la période d'étude, nous avons recensé 17 cas de teignes inflammatoires, soit 17,5% des teignes de cuir chevelu confirmées. L'âge des patients allait de 15 mois à 20 ans. La tranche d'âge la plus touchée était celle des enfants âgés de moins de dix ans (82%), avec une nette prédominance masculine. Douze de nos patients (70 %) avaient une origine rurale. La notion d'élevage ou de contact avec les animaux était notée dans tous les cas. Les animaux les plus représentés étaient les bovins suivis des chats et des lapins en troisième position. L'atteinte du cuir chevelu était la plus fréquente (16 cas). Un seul cas de sycosis a été observé, chez un patient âgé de 20 ans. L'association avec une épidermophytie circinée a été notée dans cinq cas. L'examen mycologique direct était positif dans 15 cas. La culture n'a pas poussé dans trois cas, en raison d'un traitement antifongique prescrit avant le prélèvement. Les espèces isolées étaient *Trichophyton verrucosum* (neuf cas), *T. mentagrophytes* (trois cas), *Microsporum canis* et *Trichophyton erinacei* dans un seul cas chacun.

**Discussion** : Notre étude a permis de constater l'augmentation du nombre de cas diagnostiqués des teignes inflammatoires dans la région. Conformément à la littérature, une prédominance infantile et masculine des teignes inflammatoires a été notée.

*T. verrucosum* était l'espèce la plus fréquente, suivie de *T. mentagrophytes*. Cela peut être expliqué par la modification du comportement de la population tunisienne avec l'augmentation de la compagnie des animaux qui restent la principale source de contamination.

**Conclusion** : Cette étude montre la recrudescence en Tunisie, des teignes inflammatoires dues aux dermatophytes zoophiles dominée par l'espèce *T. verrucosum*.

**PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE ET MYCOLOGIQUE  
DES DERMATOMYCOSES CHEZ LE PATIENT DIABÉTIQUE :  
ETUDE MENEES SUR 3 ANS AU CHU CHARLES NICOLLE DE TUNIS**

BOUCHEKOUA Myriam, ALOUI Dorsaf, TRABELSI Sonia, CHEIKHROUHOU Sarra,  
KHALED Samira

Laboratoire de Parasitologie - Mycologie Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Introduction** : Le diabète est une maladie chronique dont l'évolution peut être émaillée de diverses complications infectieuses telles que les dermatomycoses. Il est admis que le diabète est un facteur favorisant et aggravant de ces mycoses superficielles en raison de l'immunodépression sous-jacente, d'où l'intérêt du diagnostic mycologique de ces affections.

**Objectif** : Etudier le profil épidémiologique et mycologique des dermatomycoses chez les patients diabétiques.

**Méthodes** : Notre étude, transversale, a été réalisée au laboratoire de Parasitologie - Mycologie de l'Hôpital Charles Nicolle de Tunis durant une période de 3 ans (Janvier 2011 - Décembre 2013). Elle a porté sur les prélèvements mycologiques effectués au niveau de la peau et/ou des phanères chez des patients diabétiques. Le diagnostic mycologique s'est déroulé en 4 étapes : prélèvement, examen direct, culture et identification.

**Résultats** : Parmi les 378 patients diabétiques adressés au laboratoire, une dermatomycose a été diagnostiquée chez 298 patients (78,8%). Le sex - ratio était de 0,87. Leur moyenne d'âge était de 57 ans. Le diabète était de type II dans 66,4%. L'ancienneté moyenne du diabète était de 11 ans. Les onychomycoses représentaient la forme clinique la plus fréquente (61,9%), suivies des intertrigos inter - orteils (18,1%). Les épidermophyties circinées étaient plus rares (1,7%) ainsi que les teignes et le pityriasis versicolor, rencontrés chacun uniquement dans un cas.

Le pied a représenté la principale localisation des mycoses (83,4 %) avec une prédominance de l'atteinte des ongles suivie de l'intertrigo inter - orteils.

Les agents étiologiques responsables étaient les dermatophytes dans 78,8%, les levures dans 19,1% et les moisissures dans 2,1% des cas, toutes localisations confondues.

Au niveau des ongles des pieds, ce sont essentiellement les dermatophytes qui ont été isolés avec prédominance de *Trichophyton rubrum* alors que les onyxis des mains étaient essentiellement d'origine candidosique. Les atteintes des plis, dominées par les intertrigos inter-orteils, ont été essentiellement dues à *Trichophyton rubrum*, alors qu'au niveau des grands plis, les levures ont été les plus incriminées. Les épidermophyties circinées ont été toutes dues à *Trichophyton rubrum*.

**Conclusion** : Les dermatomycoses sont fréquentes chez le patient diabétique, notamment les atteintes du pied qui peuvent constituer une porte d'entrée pour les infections bactériennes. Le diagnostic mycologique est indispensable devant toute suspicion pour confirmer l'étiologie fongique, guider la conduite thérapeutique et connaître l'origine de l'infection afin d'éviter la réinfestation.

## **LES DERMATOPHYTIES DANS LA REGION DE TUNIS : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE, CLINIQUE ET MYCOLOGIQUE (2006 - 2013)**

SIALA Emna, ABID Zied, BEN ABDALLAH Rym, BEN ABDA Imène, BOULEHMI Nada,  
ZALLEGA Najet, AOUN Karim, BOURATBINE Aida  
Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

En Tunisie, les dermatophyties constituent un motif de consultation fréquent. L'actualisation du profil épidémiologique de ces mycoses superficielles est toujours utile en raison des modifications des habitudes de vie. Le but de cette étude était d'étudier le profil clinique et mycologique des dermatophyties dans la région de Tunis.

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 3073 examens mycologiques de la peau et des phanères effectués au Laboratoire de Parasitologie Mycologie de l'Institut Pasteur de Tunis entre 2006 et 2013. Les prélèvements provenaient de 2432 patients. Pour chaque prélèvement, un examen direct et une culture sur milieu Sabouraud avec et sans actidione ont été réalisés. L'identification des dermatophytes a été basée sur l'étude des caractères microscopiques et macroscopiques des cultures.

Parmi les examens mycologiques réalisés, 993 cultures étaient positives soit 32,31% des cas. Les dermatophytes représentaient 74,72% des champignons identifiés. *Trichophyton rubrum*, responsable de 77,09% des dermatophyties, était l'espèce prédominante, suivi par *Microsporum canis* (14,15%), *Trichophyton interdigitale* (2,83%) et *Trichophyton violaceum* (2,02%). *Trichophyton mentagrophytes* et *Microsporum audouini* ont été identifiés dans respectivement, 1,48% et 1,61% des cas. Les onychomycoses représentent 50% des dermatophyties, suivies par les atteintes cutanées (35%) et les teignes du cuir chevelu (15%). Cette étude montre l'augmentation régulière de la fréquence des atteintes dermatophytiques, qui représentaient 62,29% des mycoses superficielles en 2006 et qui est de 84,21% en 2013. L'incidence des dermatophyties est donc en augmentation dans notre pays. Elle serait liée aux modifications des conditions socio - économiques et des habitudes de vie. *Trichophyton rubrum* demeure l'agent étiologique prédominant.

## ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES DES MYCOSES SUPERFICIELLES OBSERVEES DANS LA REGION DE TUNIS

JAOUADI Taha, FAKHFAKH Najla, KALLEL Aïcha, BADA Nahed, BELHAJ SALAH Najoua, BELHADJ Slaheddine, KALLEL Kalthoum  
Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, CHU La Rabta, Tunis, Tunisie

Les mycoses superficielles constituent un motif de consultation non négligeable en pratique médicale courante. Le profil épidémiologique de ces mycoses n'est jamais définitif, il subit constamment des variations liées aux modifications de l'environnement et au développement socio - économique.

Le but de ce travail est de déterminer les caractéristiques épidémiologiques et le profil étiologique actuel des mycoses superficielles rencontrées dans la région de Tunis.

Il s'agit d'une étude rétrospective ayant porté sur 9273 prélèvements mycologiques de la peau et des phanères réalisés au laboratoire de Parasitologie - Mycologie, du CHU La Rabta de Tunis, durant une période de six ans (Janvier 2008 - Décembre 2013) chez des patients adressés des différents dispensaires de la région de Tunis. Les patients sont âgés d'un mois à 85 ans avec un sexe ratio H/F de 0,76.

Les ongles des orteils (n=3693) et les cheveux (n=1707) sont les prélèvements mycologiques les plus fréquents. Le diagnostic de mycose a été confirmé dans 59,6% des cas, avec une prédominance des onychomycoses des pieds (50,8%), celles des mains (16,9%) et les teignes du cuir chevelu (13,2%). Pour 24,8% de ces mycoses, seul l'examen direct était positif, alors que dans 8,1% la culture était positive et l'examen direct était négatif.

*Trichophyton rubrum* représente l'agent étiologique principal, toutes mycoses confondues (62,7%), suivi par *Microsporum canis* (11,6%) et *Candida albicans* (10,7%).

Les teignes du cuir chevelu sont principalement dues à *Microsporum canis* (66,4%) et *Trichophyton violaceum* (31,8%), *Candida albicans* est le principal agent responsable des mycoses des ongles des mains (54,6%), alors que *Trichophyton rubrum* est de loin le principal agent étiologique des mycoses de la peau glabre et des onychies des pieds.

En conclusion, mise à part la recrudescence spectaculaire de *Microsporum canis* dans la genèse de teignes du cuir chevelu, cette étude nous a permis de constater une stabilité de la situation épidémiologique de cette pathologie dans la région de Tunis par rapport aux études antérieures.

# *Liste des participants*

AGNAMEY	Patrice	agnamey.patrice@chu-amiens.fr
AISSAOUI	Ilham	lolaparasito@yahoo.fr
AIT AMMAR	Nawel	nawel.ait-ammar@apr.aphp.fr
ALIOUAT	El Moukhtar	elmoukhtar.aliouat-3@univ-lille2.fr
ALOUI	Dorsaf	dorsaf_aloui@yahoo.fr
ANELLI	Mathilde	mathilde.anelli@gmail.com
ANGOULVANT	Adela	adela.angoulvant@bct.aphp.fr
AOUN	Karim	karim.aoun@pasteur.rns.tn
AUBERT	Dominique	daubert@chu-reims.fr
AUGOT	Denis	denis.augot@anses.fr
BACHI	Fatma	fbachi2002@yahoo.fr
BADAOUI	Bouchra	bouchra.badaoui@hmn.aphp.fr
BASTIEN	Matthieu	bastien.matth@gmail.com
BELDI	Nadia	beldinadia@hotmail.fr
BELHADJ	Slaheddine	slah.belhadj@topnet.tn
BENDJABALLAH-LALIAM	Amina	slaheddine.belhadj@rns.tn
BENDJELLOUL	Meriem	amina688@yahoo.fr
BENZINEB	Hayet	doc.meri@hotmail.fr
BERRY	Antoine	hayetbenzineb@yahoo.fr
BEYLS	Nicolas	berry.a@chu-toulopuise.fr
BIGOT-CLIVOT	Aurélie	nicolas.beyls@bordier.ch
BLAGA	Radu	aurelie.bigot@univ-reims.fr
BOIREAU	Pascal	rblaga@vet-alfort.fr
BOTTEREL	Françoise	pascal.boireau@anses.fr
BOUAZIZI AMRANI	Laïla	francoise.botterel@hmn.aphp.fr
BOUCHEKOUA	Meriam	amrani_laila@hotmail.fr
BOUCHENE	Zahida	myriambouchehoua@gmail.com
BOUE	Franck	bouchene_z@hotmail.com
BOUGNOUX	Marie-Elisabeth	franck.boue@anses.fr
BOUHSIRA	Emilie	marie-elisabeth.bougnoux@nck.aphp.fr
BOULANGER	Nathalie	e.bouhsira@envt.fr
BOUYER	Fanny	nboulanger@unistra.fr
BOUYER	Jérémy	carabus@orange.sn
CANDOLFI	Ermanno	bouyer@cirad.fr
CHABASSE	Dominique	candolfi@unistra.fr
CHALABI	Asma	dochabasse@chu-angers.fr
CHANDENIER	Jacques	chalabiasma@live.fr
CHAUSSADE	Hélène	chandenier@med.univ-tours.fr
CHAUVIN	Pamela	helene.chaussade@univ-tours.fr
CHEMLA	Cathy	pam_chauvin@yahoo.fr
CHERMETTE	René	cchemla@chu-reims.fr
CHINA	Bernard	rchermette@vet-alfort.fr
CHOTEAU	Laura	bchina@wiv-isp.be
COJEAN	Sandrine	laurachoteau86@gmail.com
COMBES	Benoit	sandrine.cojean@u-psud.fr
COMTE	Sébastien	benoit.combes@e-l-i-z.com
CONTET AUDONNEAU	Nelly	sebastien.comte@e-l-i-z.com
CORNET	Muriel	n.contet-audonneau@chu-nancy.fr
CREPIN	Brigitte	mcornet@chu-grenoble.fr
CURAT	Christine	brigitte.crepin@bio-rad.com
DAMIANI	Céline	ccurat@accifr.com
DAMIENS	Sébastien	damiani.celine@chu-amiens.fr
DANNAOUI	Eric	sebastien_damiens@bio-rad.com
		eric.dannaoui@egp.aphp.fr

DARDÉ	Marie Laure	marie-laure.darde@chu-limoges.fr
DAVIOUD-CHARVET	Elisabeth	elisabeth.davioud@unistra.fr
DEBRUYNE	Monique	mdebruyne@lab-cerba.com
DEFFONTAINE	Marine	marine.deffontaine@gmail.com
DELAUNAY	Pascal	delaunay.p@chu-nice.fr
DELHAES	Laurence	laurence.delhaes@pasteur-lille.fr
DENIS	Julie	juliedenise.pharma@gmail.com
DEPAQUIT	Jérôme	jerome.depaquit@univ-reims.fr
DESBOIS	Nicole	nicole.desbois@chu-fortdefrance.fr
DESOUBEAUX	Guillaume	guillaume.desoubes@univ-tours.fr
DJIMDE	Abdoulaye	adjimde@icermali.org
DJOKIC	Vitomir	vitomir.djokic@anses.fr
DREYFUSS	Gilles	gilles.dreyfuss@unilim.fr
DUPONT	Bertrand	bertrand.dupont12@orange.fr
DUPOUY-CAMET	Jean	jean.dupouy-camet@cch.aphp.fr
DUVALLET	Gérard	gerard.duvallet@univ-montp3.fr
ELOY	Odile	oeloy@ch-versailles.fr
ESCOTTE	Sandie	sandie.escotte@univ-reims.fr
ESSOLA EPSE ETAMBA		
BISSAYA	Josiane Kikie	jokiessola@yahoo.fr
FAVENNEC	Loic	loic.favennec@chu-rouen.fr
FERTE	Hubert	hubert.ferte@univ-reims.fr
FEUILHADE DE CHAUVIN	Martine	martinefeuilhade@yahoo.fr
FLORI	Pierre	Pierre.Flori@univ-st-etienne.fr
FOUDRINIER	Frédérique	ffoudrinier@chu-reims.fr
FRANC	Michel	m.franc@envt.fr
FRANCOIS	Nadine	nadine.francois@chru-lille.fr
GAILLARD	Philippe	labo.villeneuve@wanadoo.fr
GANGNEUX	Jean-Pierre	jean-pierre.gangneux@univ-rennes1.fr
GANTOIS	Nausicaa	nausicaa.gantois@pasteur-lille.fr
GARGALA	Gilles	gilles.gargala@univ-rouen.fr
GARI-TOUSSAINT	Martine	gari-toussaint.m@chu-nice.fr
GAY	Mélanie	melanie.gay@anses.fr
GHALMI	Farida	fghalmi@yahoo.fr
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	emmanuelle.gilotfromont@vetagro-sup.fr
GRAWEY	Isabelle	isabelle.grawey@ch-colmar.fr
GUIGUEN	Claude	claud.guiguen@univ-rennes1.fr
GUILLOT	Jacques	jguillot@vet-alfort.fr
HADJ HENNI	Leila	leila.hadj-henni@univ-reims.fr
HAMANE-LAGHOUATI	Samia	samia.hamane@sls.aphp.fr
HAMROUNE	Zohra	hamrounezohra@yahoo.fr
HANI	Younes	haniyounes@hotmail.fr
HENNEQUIN	Christophe	christophe.hennequin@upmc.fr
HOuze	Sandrine	sandrine.houze@bch.aphp.fr
HUMBERT	Cédric	cedric.humbert@univ-rouen.fr
IRIART	Xavier	iriart.x@chu-toulouse.fr
IZRI	Arezki	arezki@avc.aphp.fr
JACOB	Stéphanie	stephaniejg.jacob@gmail.com
JACQUIET	Philippe	p.jacquiet@envt.fr
JOuet	Damien	damien.jouet@univ-reims.fr
JUSTINE	Jean-Lou	justine@mnhn.fr
KARAOUZENE	Mouna	mkaraouzene@yahoo.fr
KASBARI	Mohamed	mohamed.kasbari@anses.fr
KAUFFMANN	Catherine	c.lacroix@chu-poitiers.fr
KHALIFE	Sara	sarsoura_k88@hotmail.com
LA CARBONA	Stéphanie	s.lacarbona@actalia.eu
LACROIX	Claire	clacroix.myco@gmail.com



LAWTON	Philippe	philippe.lawton@univ-lyon1.fr
LE GAL	Solène	solene.le.gal@u-picardie.fr
LE GOFF	Laetitia	laetitia.legoff@univ-rouen.fr
LECHAT	Sylvie	slechat@ch-charleville-mezieres.fr
LEHRTER	Véronique	veronique.lehrter@univ-reims.fr
LEPOUTRE	Xavier	xavier.lepoutre@ch-roubaix.fr
LIENARD	Emmanuel	e.lienard@envt.fr
LMIMOUNI	Badre Eddine	b.lmimouni@um5s.net.ma
LOHMANN	Caroline	lohmannc@ch-mulhouse.fr
MACHOUART	Marie	m.machouart@chu-nancy.fr
MARTIN	Anne-Pascaline	anne-pascale.bouleau@etudiant.univ-reims.fr
MARTIN	Coralie	cmartin@mnhn.fr
MARTY	Pierre	marty.p@chu-nice.fr
MAUBON	Danièle	DMaubon@chu-grenoble.fr
MENARD	Sandie	sandie.menard@inserm.fr
MENOTTI	Jean	jean.menotti@sls.aphp.fr
MERADJI	Assia	assia.meradji@yahoo.fr
MICHEL	Annie	amichel@hopital-saint-joseph.fr
MOERAU-BENAOUDIA	Farida	farida.moreau@ch-troyes.fr
MORIO	Florent	florent.morio@chu-nantes.fr
MOUMENI	Houcem	housmoum@yahoo.fr
MZABI	Alexandre	amzabi@chu-reims.fr
NEVEZ	Gilles	gilles.nevez@chu-brest.fr
NGUYEN DO NGNOC	Linh	nguyendongoclinh@gmail.com
NZENZE-AFENE	Solange	andeme.solange@yahoo.fr
OSMAN	Marwan	marwanosman.edst@yahoo.com
PALOS LADEIRO	Mélissa	melissa.palos@etudiant.univ-reims.fr
PATRELLE	Cécile	cecile.patrelle@gmail.com
PAUGAM	André	andre.paugam@cch.aphp.fr
PELLOUX	Hervé	hpelloux@chu-grenoble.fr
PERSAT	Florence	florence.persat@chu-lyon.fr
PESSON	Bernard	bernard.pesson@wanadoo.fr
PEYRON	François	francois.peyron@chu-lyon.fr
PIONNIER	Nicolas	npionnier@mnhn.fr
POIRIER	Philippe	ppoirier@chu-clermontferrand.fr
POMARES	Christelle	pomares.c@chu-nice.fr
POULAIN	Daniel	dpoulain@univ-lille2.fr
POULLE	Marie-Lazarine	marielazarine.poulle@cerfe.com
PRATLONG	Francine	f-pratlong@chu-montpellier.fr
PREVOT	Ghislaine	ghislaine.prevot@guyane.univ-ag.fr
QUINTALLET	Angélique	angelique.quintallet@merck.com
RANQUE	Stéphane	stephane.ranque@mail.ap-hm.fr
RATON	Vincent	vincent.raton@e-l-i-z.com
RAZAKANDRAINIBE	Romy	romy.razakandrainibe@univ-rouen.fr
RIOU	Mickael	mickael.riou@tours.inra.fr
ROBERT	Raymond	raymond.robert@univ-angers.fr
ROUZAUD	Claire	c.rouzaud@gmail.com
SABOU	Marcela	amsabou@unistra.fr
SAUTOUR	Marc	msautour@u-bourgogne.fr
SCHAEFFER-REISS	Christine	christine.schaeffer@unistra.fr
SCHOELINCK	Charlotte	schoelinck@mnhn.fr
SEESAO	Yuwalee	yuwalee.seesao@anses.fr
SEMMANI	Malika	hanine1980@yahoo.fr
SENDID	Boualem	bsendid@univ-lille2.fr
SIALA	Emna	emnasiala99@gmail.com
SIMON	Audrey	audrey.simon@umontreal.ca
SIMON	Julie	julie.rabeisensimon@gmail.com

SOW  
SPALENKA  
STANDAERT  
SYMOENS  
TOMAVO  
TOTET  
TOUATI  
TOUBAS  
UMHANG  
VARLET-MARIE  
VILLARD  
VILLENNA

Doudou  
Jérémy  
Annie  
Françoise  
Stan  
Anne  
Kada  
Dominique  
Gerald  
Emmanuelle  
Odile  
Isabelle

doudsow@yahoo.fr  
jeremy.spalenka@etudiant.univ-reims.fr  
annie.standaert-2@univ-lille2.fr  
f.symoens@skynet.be  
stan.tomavo@pasteur-lille.fr  
totet.anne@chu-amiens.fr  
kada.touati@yahoo.fr  
dtoubas@chu-reims.fr  
gerald.umhang@anses.fr  
emmanuelle.varlet@univ-montp1.fr  
ovillard@unistra.fr  
ivillena@chu-reims.fr

