

**LES ARCHIVES DE L'INSTITUT
PASTEUR DE TUNIS**

Revue de publication semestrielle
fondée en 1906 par Charles Nicolle

ISSN 0020-2509

COMITE DE REDACTION

Professeur Hechmi LOUZIR : Président
Dr. Mohamed ELAYEB : Editeur en chef
Dr. Abdeljelil GHRAM : Responsable de la publication
Dr. Ridha BARBOUCHE: Membre
Dr. Ikram GUIZANI: Membre
Dr. Afif BEN SALAH: Membre
Dr. Helmi MARDASSI: Membre
Dr. Sonia ABDELHAK: Membre
Melle Imen FATHALLAH : Secrétaire de rédaction

Prix de l'abonnement par an :
Étranger : 25 U.S.\$
Tunisie : 20 Dinars

Pour les échanges et services, s'adresser au
Secrétariat de Rédaction des Archives,
Institut Pasteur de Tunis,
13, Places Pasteur, BP 74,
1002 Tunis-Belvédère
Tél : 71 783 022 - Fax: 71 791 833

PICTURA

12, rue 8366 - Immeuble « Les Chalets »
1073 - Tunis Monplaisir
Tél : 71 788 077 - Fax : 71 786 027
Email : pictura@pictura.com.tn

Les Journées Franco- Tunisiennes de Parasitologie

*« Protistes d'intérêt médical et vétérinaire : de la dispersion
environnementale à la prise en charge clinique »*

Institut Pasteur de Tunis
Tunis, 11 et 12 novembre 2010

COMITE D'ORGANISATION

PRESIDENTE

Aïda Bouratbine (Institut Pasteur de Tunis)

PRESIDENTS D'HONNEUR

Hechmi Louzir (Institut Pasteur de Tunis)

Marie Laure Dardé (Société Française de Parasitologie)

SECRETAIRE GENERAL

Karim Aoun (Institut Pasteur de Tunis)

MEMBRES

Philippe M. Loiseau (Société Française de Parasitologie)

Loïc Morin (Groupement des protistologues de Langue Française)

Philippe Grellier (Groupement des protistologues de Langue Française)

Eliane Coeffier (Réseau International des Instituts Pasteur)

Hichem Ben Hassine (Institut Pasteur de Tunis)

Marc Thellier (Paris)

Pierre Marty (Nice)

COMITE SCIENTIFIQUE

Aïda Bouratbine (Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie)

Ali Ayadi (Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie)

Francis Derouin (Université Paris 7, France)

Gérard Duvallet (Université Montpellier III, France)

Geneviève Bricheux (Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand, France)

Geneviève Milon (Institut Pasteur de Paris, France)

Mohamed-Aziz Darghouth (E.N.M.V. , Sidi Thabet, Tunisie)

Moncef Ben Saïd (Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie)

Oum Kalthoum Ben Hassine (Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie)

Taoufik Ben Chaabane (Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie)

SOMMAIRE

Programme	3
Conférences	11
Communications orales	24
Communications affichées.....	51

REMERCIEMENTS

Le Comité d'Organisation des Journées Franco-Tunisiennes de Parasitologie remercie pour leur soutien dans l'organisation de cette manifestation

- Le Ministère de la Santé Publique
- Le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique
- L'Institut Pasteur de Tunis
- La Société Française de Parasitologie
- Le Groupement des Protistologues de Langue Française
- Le Réseau International des Instituts Pasteur
- L'Institut Français de Coopération (IFC)
- Le Laboratoire de Recherche LR 05SP03
- La Société Tunisienne de Pathologie Infectieuse

Les Partenaires

- MERAL
- TUNISAIR
- LDBIO
- R-BIOPHARM
- BIO-RAD
- MAGHREB MEDICAL MAINTENANCE
- BIGENE
- BIO-INSTRUMENTS
- PFIZER
- HTDS
- BIOCARE
- BIOPARTNERS
- AGBL AFRIQUE
- ADWYA
- INTERVET-SHERING PLOUGH
- WAFA LAB
- BOUATTOUR EQUIPEMENTS ET SERVICES
- VWR
- GARCIN-BACTINYL

Et Général Services, Hôtel BELVEDERE et hôtel ARIHA

COMITE D'ORGANISATION LOCAL

A. Bouratbine, K. Aoun, H. Ben Hassine, I. Fathallah, A. Rhim, E. Siala, R. Ben Abdallah, I. BenSghaier, S. Hajjem, S. Triki, H. Ghorbel, H. Ben Fraj, A. Labbaoui, O. Souissi, M. Mousli, D. Laouini, M. Chenik, S. Khayat, A. Rekaya, M. Ziadi, J. Tiouiri, R. Abdelmalek, I. Bourayou, M. Soumri, S. Gharbi, I. Mejri, M. Mensi, M. Zitouni, M. Jabeur, H. Louzir.

PROGRAMME

PROGRAMME

MERCREDI 10/11/2010

15h-18h : Inscription

JEUDI 11/11/2010

8h-9h : Inscription

9h-10h: Ouverture par Monsieur le Ministre de la Santé Publique

10H-10H30: PAUSE CAFÉ

Session 1 : Epidémiologie des leishmanioses

Modérateurs: Ali Ayadi, Jean Pierre Dedet, Boussad Hamrioui

10h30-10h50: *Leishmania killicki* Rioux, Lanotte et Pratlong, 1986 [Kinetoplastida : Trypanosomatidae]: mise au point systématique
Jean Antoine Rioux et coll, Faculté de Médecine Montpellier, France.

10H50 -11H00 : DISCUSSION

11h-11h10 : Les leishmanioses en Algérie: Etat actuel

Zoubir Harrat, Service d'Eco-épidémiologie Parasitaire, Institut Pasteur d'Algérie

11h10-11h20 : La diversité génétique et la structure de la population de *Leishmania. infantum* au Maroc par le typage des microsatellites

Meryem Lemrani et coll, Département de Recherche, Institut Pasteur du Maroc

11h20-11h30 : Actualités sur la distribution géographique des espèces de *Leishmania* en Tunisie : à propos de l'identification iso- enzymatique de 690 souches isolées entre 1998 et 2007

Najoua Haouas et coll, Laboratoire de Parasitologie- Mycologie (99UR/08-05), Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie

11H30-11H45 : DISCUSSION

Session 2: Paludisme d'importation

Modérateurs: Taoufik Ben Chaabane, Pierre Marty, Zoubir Harrat

11h45-11h55 : Epidémiologie du paludisme d'importation en France Métropolitaine en 2009

Eric Kendjo et coll, Centre National de Référence du Paludisme, Paris, France

11h55-12h05 : Paludisme d'importation à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat : données épidémiologiques (2000 – 2009)

Badre Eddine Lmimouni et coll, Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mobammed V, Rabat, Maroc

12h05-12h15 : Profil épidémiologique et clinique du paludisme d'importation en Tunisie

Mobamed Chabed et coll, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie

12h15-12h25 : Epidémiologie du paludisme d'importation grave en France métropolitaine, tendances évolutives dans la période 1996 à 2009

Marc Tbellier M et coll, Centre National de Référence du Paludisme, Paris, France ; AP-HP, Groupe hospitalier Pitié –Salpêtrière, Paris, France

12H25-12H45 : DISCUSSION

12H45-14H : PAUSE DÉJEUNER

Session 3 : Paludisme- Leishmanioses, Interactions « Parasites- Hôtes »

Modérateurs: Hechmi Louzir, Geneviève Milon, Philippe Grellier

14h-14h20: Is there an arms race involving salivary peptides of sand fly vectors of zoonotic visceral leishmaniasis?
Paul D. Ready, Department of Entomology, Cromwell Road, Natural History Museum, London SW7 5BD, U.K.

14H20-14H-30: DISCUSSION

14h30-14h40 : Caractérisation des protéines salivaires de *Phlebotomus papatasi*, cibles de la réponse immunitaire cellulaire chez les individus naturellement exposés
Maha Abdeladhim et coll, Laboratoire d'Immunologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

14h40-14h50 : Etude de l'immunogénicité d'une nouvelle Rab-GTPase de *L. major* au cours de la leishmaniose chez l'homme et évaluation de son potentiel vaccinant dans le modèle expérimental murin
Rym Chamakh-Ayari et coll, Equipe « Interactions Parasite-Hôte et caractérisation de biomolécules parasitaires à visées vaccinale et thérapeutique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

14H50-15H: DISCUSSION

15h00-15h20 : Rétention splénique des globules rouges parasités par *Plasmodium falciparum*, ou la mécanique subtile du paludisme
Pierre Buffet et coll, Service de Parasitologie-Mycologie Hôpital Pitié-Salpêtrière & UMRs945 INSERM – UPMC (Université Paris 6), Paris, France.

15H20 - 15H -30 : DISCUSSION

15h30 - 15h40 : *Plasmodium falciparum* : rôle essentiel de la GTPase Rab7 au cours de son développement intra-érythrocytaire
Fethia Ben Rached et coll, Institut Cochin, Inserm U1016, Paris, France

15h40 -15h50 : Trafic et maturation de l'aminopeptidase PfA-M1 de *Plasmodium falciparum*
Cissé Sow et coll, FRE3206 CNRS/MNHN, Département Régulations, Développement, Diversité Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

15H50-16H: DISCUSSION

16H-16H30: PAUSE CAFÉ

Session 4: Communications libres - Parasitoses vétérinaires, Entomologie

Modérateurs: Mohamed Aziz Darghouth, Gerard Duvallet, Allal Dakkak

16h-30 -16h40 : Etude de la diversité génétique de l'orthologue du gène Bm86 chez l'espèce de tique *Hyalomma detritum*
Mourad Ben Said et coll, Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, Sidi Thabet, Tunisie

16h40-16h50 : Augmentation de la prévalence de la leishmaniose canine en milieu urbain, Alger, Algérie
Khatima Ait-Oudbia et coll, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie

16h50-17h : Actualités entomologiques dans le Sud-Est de la France : *Aedes albopictus*, *Cimex lectularius*, *Pyemotes ventricosus*.
Pascal Delaunay et coll, Service de Parasitologie-Mycologie, Hôpital de l'Archet, CHU de Nice, France

17H-17H15: DISCUSSION

17h15-17h25 : Diffusion et caractérisation moléculaire des isolats de *Giardia duodenalis* chez les chiots de chenil en Italie Centrale
Giulia Morganti et coll, Dip. Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Sez. Parassitologia – Facoltà di Medicina Veterinaria – Perugia, Italie.

17h25-17h35 : Infection d'origine phycéique dans la mammite bovine en Belgique
Paul Emile Lagneau, Association Régionale de Santé Animale, Mons, Belgique

17h35-17h45 : Caractérisation moléculaire de souches de *Prototheca* isolées de cas de mammite bovine
Abdessattar Aouay et coll, Université de Mons Hainaut (UMH), Belgique

17H45 – 18H : DISCUSSION

Session 5: Communications libres – Divers (Salle de conférence, bâtiment Recherche)

Modérateurs: Oum Kalthoum Ben Hassine, Loïc Morin, Francis Derouin

16h30-16h40 : Etude de l'infestation parasitaire de la palourde
Hedia Attia-El Hili et coll, Institut National des Sciences et Technologies de la mer, Tunisie

16h40-16h50 : Etude expérimentale de l'interaction *Giardia lamblia* – bactéries lactiques
Marie-Agnès Travers et coll, Muséum National d'Histoire Naturelle, FRE 3206 CNRS, Paris Cedex 05, France

16h50-17h : Nouvelle espèce, *Kudoa azevedoia* (Myxosporaea: Multivalvulida) parasite des ovocytes de *Trachurus trachurus* (Teleostéen: Carngidae).
Lamjed Mansour et coll, Unite de recherche de Biologie Ecologie et Parasitologie des Organismes aquatiques, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie

17H-17H15: DISCUSSION

17h15-17h25 : Recherche de nouveaux moyens de lutte contre *Nosema ceranae*, une microsporidie parasite émergent de l'abeille *Apis mellifera*
Hicham El Alaoui et coll, Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Clermont-Ferrand, France

17h25-17h35 : Essais de vaccination anti-tique *Hyalomma detritum*: résultats préliminaires
Yosr Galai et coll, Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Tunis et Laboratoire d'immunologie, Institut Pasteur de Tunis

17h35-17h45 : Annotation fonctionnelle des gènes de *Plasmodium falciparum* : nouveaux outils bio-informatiques développés par le consortium PlasmExplore

Isabelle Florent et coll, FRE3206 CNRS/MNHN, Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes, Adaptation des Protozoaires à leur Environnement, Paris Cedex 05, France

17H45-18H: DISCUSSION

VENDREDI 12/11/2010

Session 6 : Toxoplasmose congénitale, Epidémiologie et Diagnostic

Modérateurs: Moncef Ben Saïd, Marie-Laure Dardé, Fatma Bachi

8h45 - 9h05 : La toxoplasmose congénitale ; 100 ans après Charles Nicolle !

François Peyron, Service de parasitologie, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

9H05-9H15 : DISCUSSION

9h15-9h25 : Evaluation du risque de contamination alimentaire par *Toxoplasma gondii* : vers de nouveaux moyens de détection

Isabelle Villena et coll, Faculté de Médecine et CHU (Hôpital Maison Blanche), Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Reims, France

9h25-9h35h : Production et caractérisation d'un antigène chimérique pour le développement d'un outil de diagnostic sérologique de la toxoplasmose

Nouba Chabed et coll, LR05SP03, Equipe « Biomarqueurs et Biotechnologie du diagnostic », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

9H35-9H45 : DISCUSSION

9h45-9h55 : Toxoplasmose congénitale: bilan du Centre National de Référence (Algérie)

Fatma Bachi et coll, Service Biologie Parasitaire, Institut Pasteur d'Algérie

9h55-10h05 : Toxoplasmose congénitale: bilan de 6 ans d'activité au Laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis

Rym Ben Abdallah et coll, Laboratoire Parasitologie- Mycologie, LR 05SP03, Institut Pasteur de Tunis

10h05-10h15 : Toxoplasmose congénitale en France : bilan de trois années de fonctionnement du système de surveillance.

Isabelle Villena et coll, Centre National de Référence de la Toxoplasmose, France

10H15-10H30: DISCUSSION

10H30-11H : PAUSE CAFÉ

11h-11h15 : *Distinguished Parasitologist Award of the World Federation for Parasitology: Pr René Houin.*

Session 7 : Protozooses digestives, Epidémiologie, Carcinogénèse

Modérateurs : Rached Azaiez, Isabelle Desportes, Isabelle Villena

11h15-11h35: Protistes, écologie microbienne et nouveaux enjeux pour la gestion des eaux

Y Levi, UMR 8079 « Ecologie, systématique, évolution » Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry (Paris Sud), France.

11H35-11H45 : DISCUSSION

11h45-11h55 : Les parasitoses intestinales chez les sujets infectés par le VIH hospitalisés à Kinshasa, République Démocratique du Congo

Roger Wumba et coll, Université de Kinsbasa, République Démocratique Congo

11h55-12h05 : Prévalence du portage parasitaire intestinal chez l'enfant scolarisé à Tiznit (Maroc)

Zobra Lemkhente et coll, Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat, Maroc

12h05-12h15 : Cryptosporidiose chez les sujets infectés par le VIH en Tunisie : Facteurs de risque et symptomatologie clinique associés aux différentes espèces de cryptosporidies.

Rym AbdelMalek et coll, Service des Maladies Infectieuses, Hôpital la Rabta, Tunis et LR 05SP03 Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

12H15-12H30 : DISCUSSION

12h30-12h40 : La néoplasie digestive induite par *Cryptosporidium parvum* chez la souris SCID est-elle un phénomène souche- dépendant ?

Gabriela Certad et coll, Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL), Institut Pasteur de Lille, France

12h40-12h50 : *Cryptosporidium parvum* induit-il un adénocarcinome intestinal invasif chez l'hôte immunodéprimé?

Sadia Benamrouz-Hamraoui et coll, Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL), Institut Pasteur de Lille, France

12H50 - 13H : DISCUSSION

13H-14H : PAUSE DÉJEUNER

Session 8 : Leishmanioses, Traitement et molécules à visée thérapeutique

Modérateurs: Fakher Kanoun, Philippe Loiseau, Karim Aoun

14h-14h20: Des quinolones pour le traitement des leishmanioses

Alain Fournet, Laboratoire de Pharmacognosie, UMR217, IRD, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry, France

14H20-14H30: DISCUSSION

14h30-14h40 : Mécanismes d'interaction de la sitamaquine avec *Leishmania donovani*

Philippe Loiseau et coll, Groupe Chimiothérapie Antiparasitaire, UMR 8076 CNRS, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry, France

14h40-14h50 : Effet de 6-mercaptopurine, Cytosine arabinofuranoside, Azathiopurine, et 5-fluorouracil sur *Leishmania donovani* et *Leishmania infantum*.

Samira Azzouz et coll, Laboratoire de Parasitologie et Mycologie médicale, ISPB- Université Lyon1, France

14h50-15h : Caractérisation fonctionnelle de la protéine disulfide isomérase de *Leishmania* (LmPDI) et identification de nouvelles molécules à visée thérapeutique

Nouredine Ben Khalaf et coll, Laboratoire d'Immunologie Vaccinologie et Génétique Moléculaire (LIVGM), Institut Pasteur de Tunis

15H-15H15 : DISCUSSION

15h15-15h25 : Traitement de la leishmaniose cutanée en Tunisie

Rym Benmously Mlika, Service de dermatologie Hôpital Habib Thameur, Tunis et LR 05SP03 Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

15h25-15h35 : Le traitement des leishmanioses en France : proposition d'un référentiel consensuel

Jean Pierre Dedet et coll, CNR Leishmania, Montpellier, France

15h35-15h45 : Fréquence de l'amplification de gènes de résistance chez *Leishmania*

Charles Mary et coll, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie. Hôpital de la Timone, Marseille, France

15H45-16H : DISCUSSION

16H-16H30 : PAUSE CAFÉ

Session 9 : Protozooses digestives : *Blastocystis* sp.

Modérateurs: Aïda Bouratbine, Eric Viscogliosi, Geneviève Bricheux

16h30-16h40 : Séquence complète du génome nucléaire de *Blastocystis* sp, un straménoptile parasite de l'homme

Michael Roussel et coll, Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Clermont-Ferrand France

16h40-16h50 : Epidémiologie moléculaire du protiste parasite *Blastocystis* dans le pourtour méditerranéen

Meloni D et coll, Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CII), Institut Pasteur de Lille, France

16H50-17H : DISCUSSION

17h-17h10 : Mise au point d'une méthode de détection de *Blastocystis* par PCR quantitative sur des échantillons de selles. Application au cours d'une étude prospective chez des patients atteints d'hétopathies malignes.

Philippe Poirier et coll, Clermont Université, Université d'Auvergne, JE 2526, Evolution des bactéries pathogènes et susceptibilité de l'hôte, Clermont-Ferrand France

17h10-17h20 : Post-génomique du parasite *Blastocystis* sp. : Identification de cystéine-protéases secrétées et potentiellement impliquées dans la pathogénie.

Ivan Wawrzyniak et coll, Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, Clermont-Ferrand France

17H20-17H30 : DISCUSSION

17H30 : CLÔTURE DES JOURNEES

CONFERENCES

LEISHMANIA (LEISHMANIA) KILLICKI RIOUX, LANOTTE ET PRATLONG, 1986 [KINETOPLASTIDA : TRYPANOSOMATIDAE]. MISE AU POINT SYSTÉMATIQUE

PAR JEAN ANTOINE RIOUX

J-A RIOUX ¹, G LANOTTE ¹, F PRATLONG ¹, C RAVEL ¹, G PAGES ¹, J DEPAQUIT ², P BASTIEN ¹

¹ Faculté de Médecine Montpellier ;

² Faculté de Pharmacie Reims.

E-mail : j.a.rioux@wanadoo.fr

A l'heure où certains systématiciens suggèrent de « réviser » le genre *Leishmania*, il nous paraît utile de rappeler les circonstances de la description d'un taxon phénétique leishmanien à l'aide des caractères enzymatiques. *L. killicki* est pris comme exemple de la démarche. Au début des années 80, un zymodème nouveau, MON-8, était identifié par électrophorèse (MLEE, 15 enzymes) à partir de 29 souches isolées de leishmanioses cutanées humaines du Sud-tunisien. La méthode phénétique (alias taxonomie numérique, similitude globale) permettait de situer MON-8 dans le complexe *L. tropica*. Toutefois, dans la plupart des phénogrammes, MON-8 se trouvait en position marginale par rapport aux autres UTO du complexe. Cette disposition était confirmée par l'analyse factorielle des correspondances. Bien plus, la technique des centres mobiles positionnait MON-8 entre les complexes *L. tropica* et *L. infantum*, et la technique agglomérative à liens complets le rattachait au rameau *donovani-infantum*. Enfin, avec la méthode descendante utilisant le moment d'ordre 2 d'une partition, MON-8 se plaçait au sein du complexe *L. infantum*. En 1986, l'ensemble de ces observations nous amenait à décrire un binôme nouveau pour la science : *Leishmania (Leishmania) killicki* (souche onomatophore : MHOM/TN/80/LEM904). Par la suite, *L. killicki* allait donner son nom à une grappe bien individualisée du complexe phénétique *L. tropica*. En effet, dans les phénogrammes, MON-8 se trouvait associé à MON-71 (Yémen), MON-119 (Kenya), MON-301 (Algérie), MON-137 (Egypte, Israël, Jordanie) et MON-265 (Israël, Jordanie). Récemment cette disposition était confirmée par l'utilisation de 10 séquences codantes réparties au hasard dans le génome nucléaire de *L. tropica* : sept grappes s'individualisaient, dont l'une incluait MON-8. Dès lors, à l'instar de nombreux binômes leishmaniens, *L. killicki* peut être considéré comme un phénon spécifique « nominal », c'est à dire dénué, a priori, de toute connotation éco-épidémiologique, chorologique ou évolutive. Cette façon de concevoir MON-8 (UTO non-évolutive et non-chronistique) et ses caractères (indépendance et neutralité des électromorphes), conduit à considérer la nouvelle espèce comme une simple entité nomenclaturale, stable au plan génétique (homéostasie de longue durée) et neutre vis à vis des pressions de sélection. En définitive, en attendant une meilleure connaissance des mécanismes de spéciation (clonalité vs sexualité) et de phylogénèse (ancêtre commun vs échanges géniques au sein d'un réseau), il nous semble prudent de maintenir cette position.

IS THERE AN ARMS RACE INVOLVING SALIVARY PEPTIDES OF SANDFLY VECTORS OF ZONOTIC VISCERAL LEISHMANIASIS?

PAR PAUL D. READY

Department of Entomology, Cromwell Road, Natural History Museum, London SW7 5BD, U.K.

E-mail: P.Ready@nhm.ac.uk

Several authors have suggested that arms races occur between parasitic *Leishmania* (Protozoa, Trypanosomatidae) and their mammalian hosts or natural vectors, haematophagous adult females of phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae). Certainly, arms races should be considered when developing vaccines for controlling the transmission of *Leishmania* species causing a spectrum of visceral and cutaneous leishmaniasis in the Mediterranean region, Latin America, Africa and Asia.

Female sandflies counteract host responses to capillary damage by pumping saliva into their haemorrhagic feeding pools, and some of the diverse salivary peptides help to control *Leishmania* infections (Th1-type cell mediated immunity) or exacerbate them (Th2-type CMI) (Belkaid et al., 1998; Collin et al., 2009). Therefore, specific salivary peptides have been used for the experimental vaccination of mice, to protect against Old World *Leishmania major* by stimulating either a humoral response that neutralized the exacerbation of the infection, e.g. maxadilan from the neotropical vector *Lutzomyia longipalpis* (Morris et al., 2001), or a cellular response that killed parasites at the site of the bite, e.g. PpSP15 from the natural vector *Plebotomus papatasi* (Valenzuela et al., 2001; Oliveira et al., 2008). The choice of salivary peptide for vaccination will also depend on its geographical variation in a sandfly species and its rate of change in response to selection pressures from hosts or parasites.

Arms races may be caused by positive directional selection or balancing selection. My team has investigated the role of selection on sandfly salivary peptides, using for a first model the natural variation of apyrase (E.C.3.6.15) in *Plebotomus ariasi*, which is one of the European vectors of *Leishmania infantum* (Mahamdallie & Ready, submitted). This parasite causes zoonotic visceral leishmaniasis not only in the Mediterranean region but also in Latin America. Sandfly apyrase is an anti-platelet haemostatic factor, which we targeted because it is a vaccine candidate and its structure-function is known. Also, it is a low copy-number gene, and so we were able to design primers for scoring its genotypes in individual sandflies by using the PCR Amplification of Specific Alleles technique followed by cycle sequencing. The detection of contemporary positive selection or balancing selection requires the use of a variety of tests (e.g. Fu & Li's D, Tajima's D), many of which do not distinguish between recent selection and neutral demographic variation. In general, recent population expansions and selective sweeps mimic signals of directional selection, and population declines and sub-divisions mimic balancing selection. Therefore, we targeted *P. ariasi*, because demographic variation in apyrase could be identified by reference to neutral markers (Mahamdallie et al., 2010). We characterized several natural populations of this sandfly, because selection may not always be detectable throughout the range of a species.

No test provided support for positive directional selection, balancing selection or selective sweeps affecting apyrase in a range of populations of *P. ariasi* associated with both geographical and environmental variation in Europe. The geographical pattern of genetic variation was consistent with neutral demographic processes, mainly regional isolation and isolation-by-distance resulting from multiple genetic divergences and population expansions during late Pleistocene glacial cycles.

We also applied to apyrase tests (PAML branch models and the McDonald-Kreitman test) that are appropriate for detecting older selection. These tests were based on a well-supported phylogeny of apyrase genes of all but one of the Mediterranean vectors of *L. infantum* in the subgenus *Plebotomus* (*Larrousius*). Positive

directional selection was identified only once, associated with an ancient gene duplication event, following which positive selection is frequent but not inevitable.

It is concluded that the apyrase of *P. ariasi* is not currently in an arms race with this sandfly's vertebrate hosts or parasitic *L. infantum*. Therefore, strong positive selection or balancing selection on apyrase should not hinder its use in developing a vaccine against leishmaniasis. The control of leishmaniasis by a Th1-type CMI response stimulated by salivary peptides has been experimentally demonstrated for only two natural vector-parasite combinations, namely Old World *P. papatasi* transmitting *L. major* to inbred mice (Kamhawi et al., 2000; Valenzuela et al., 2001) and neotropical *L. longipalpis* transmitting *L. infantum* to its reservoir host, the domestic dog (Collin et al., 2009). Such studies help the rational design of vaccines but, in parallel, an empirical approach to screening for vaccine candidates might be necessary because of the complexity of the interactions among the three types of organism in each transmission cycle. For zoonotic visceral leishmaniasis, the appropriate model involves the domestic dog. The vaccination of this primary reservoir host is most likely to control not only a major veterinary problem but also human leishmaniasis, both in Europe and in Latin America (Ready, 2010).

ACKNOWLEDGEMENTS : This research was funded by EU grant GOCE-2003-010284 EDEN. It does not necessarily reflect the views of the European Commission. I thank my colleagues Dr Shazia Mahamdallie and Prof. Bernard Pesson for their invaluable contributions.

REFERENCES:

- Belkaid, Y., Kamhawi, S., Modi, G., Valenzuela, J., Noben-Trauth, N., Rowton, E., Ribeiro, J. & Sacks, D. L.** (1998) Development of a natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effects of vector saliva and saliva preexposure on the long-term outcome of *Leishmania major* infection in the mouse ear dermis. *J. Exp. Med.* **188**, 1941-1953.
- Collin, N., Gomes, R., Teixeira, C., Cheng, L., Laughinghouse, A., Ward, J. M., Elnaïem, D. E., Fischer, L., Valenzuela, J. G. & Kamhawi, S.** (2009) Sand fly salivary proteins induce strong cellular immunity in a natural reservoir of visceral leishmaniasis with adverse consequences for *Leishmania*. *PLoS Pathogens*, **5**, e1000441. (doi: 10.1371/journal.ppat.1000441)
- Kamhawi, S., Belkaid, Y., Modi, G., Rowton, E. & Sacks, D.** (2000) Protection against cutaneous leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. *Science* **290**, 1351-1354.
- Mahamdallie, S.S., Pesson, B. & Ready, P.D.** (2010) Multiple genetic divergences and population expansions of a Mediterranean sandfly, *Phlebotomus ariasi*, in Europe during the Pleistocene glacial cycles. *Heredity* doi: 10.1038/hdy.2010.111.
- Mahamdallie, S.S. & Ready, P.D.** (2010). No contemporary arms race involving the sandfly salivary peptide apyrase: implications for vaccination against zoonotic visceral leishmaniasis. *Proceedings of the Royal Society London series B*, submitted.
- Morris, R. V., Shoemaker, C. B., David, J. R., Lanzaro, G. C. & Titus, R. G.** (2001). Sandfly maxadilan exacerbates infection with *Leishmania major* and vaccinating against it protects against *L. major* infection. *J. Immunol.* **67**, 5226-5230.
- Oliveira, F., Lawyer, P. G., Kamhawi, S. & Valenzuela, J. G.** (2008) Immunity to distinct sand fly salivary proteins primes the *anti-Leishmania* immune response towards protection or exacerbation of disease. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2**, e266. (doi: 10.1371/journal.pntd.0000226)
- Ready, P.D.** (2010) Leishmaniasis emergence in Europe. *Eurosurveillance* **15**: pii=19505.
- Valenzuela, J. G., Belkaid, Y., Garfield, M. K., Mendez, S., Kamhawi, S., Rowton, E. D., Sacks, D. L. & Ribeiro, J.M.** 2001 Toward a defined anti-*Leishmania* vaccine targeting vector antigens: characterization of a protective salivary protein. *J. Exp. Med.* **194**, 331-342.

RETENTION SPLENIQUE DES GLOBULES ROUGES PARASITES PAR *PLASMODIUM FALCIPARUM*, OU LA MECANIQUE SUBTILE DU PALUDISME

PAR PIERRE BUFFET

I SAFEUKUI ², S BILIGUI ¹, G DEPLAINE ^{1, 2}, V BROUSSE ³, S PERROT ², F JEDDI ¹, A NDOUR ¹, M THELLIER ¹, M DANIS ¹, D MAZIER ¹, O PUIJALON ², P DAVID ², G MILON ², P BUFFET ¹

¹ Service de Parasitologie-Mycologie Hôpital Pitié-Salpêtrière & UMRs945 INSERM – UPMC (Université Paris 6), Paris, France,

² Unité d'Immunologie moléculaire des Parasites, Institut Pasteur, Paris, France,

³ Service de pédiatrie et Centre National de Référence de la Drépanocytose, Hôpital Necker, Paris, France.

E-mail: pierre.bufferet@psl.apbp.fr

A l'homéostasie, la rate épure le sang des globules rouges peu déformables qu'il contient. Nous avons exploré le devenir des globules rouges parasités par *Plasmodium falciparum* dans un modèle de rate humaine isolée-perfusée.¹ Comme attendu, la totalité des formes matures a été rapidement éliminée de la circulation. Une partie des globules rouges parasités par des formes jeunes a été toutefois aussi retenue dans ce modèle expérimental. L'analyse histologique en fin de perfusion a montré leur accumulation en amont des fentes inter endothéliales très étroites de la pulpe rouge splénique selon un processus probablement mécanique.² Ce processus influence sans doute la cinétique des premiers jours de l'infection du sujet non immun, et détermine peut-être en partie la forme clinique observée (neuropaludisme ou anémie).^{3, 4} Plus récemment nous avons pu reproduire cette rétention mécanique dans un nouveau système de filtration *in vitro* qui sépare, sans hémolyse, les globules rouges peu déformables (chauffés, parasités, ou sphérocytes), des globules rouges normaux. La perception mécanique des globules rouges parasités par la rate influence donc la pathogenèse de nombreuses maladies héréditaires ou acquises du globule rouge, paludisme compris. Des applications thérapeutiques sont envisagées.

REFERENCES :

- 1- Buffet PA, Milon G, Brousse V, et al. (2006) ; *Ex vivo* perfusion of human spleens maintains clearing and processing functions. *Blood*. **107**(9):3745-3752.
- 2- Safeukui I, Correas JM, Brousse V, et al. (2008) Retention of *Plasmodium falciparum* ring-infected erythrocytes in the slow, open microcirculation of the human spleen. *Blood*. **112**(6):2520-2528.
- 3- Buffet PA, Safeukui I, Milon G, Mercereau-Puijalon O, David PH. (2009) Retention of erythrocytes in the spleen: a double-edged process in human malaria. *Curr Opin Hematol*. **16** (3):157-164.
- 4- Buffet PA, Safeukui I, Deplaine G, et al. (2010) The pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria in humans: insights from splenic physiology. *Blood*. [Epub ahead of print].

LA TOXOPLASMOSE CONGÉNITALE ; 100 ANS APRES CHARLES NICOLLE !

PAR FRANÇOIS PEYRON.

Service de parasitologie. Hôpital de la Croix Rousse. Lyon

E-mail : françois.peyron@chu-lyon.fr

En 1908 à l'institut Pasteur de Tunis Charles Nicolle rapportait la première observation de *T. gondii*.

Plus de 100 après, dans ces mêmes murs, il est symbolique de faire le bilan de cette découverte.

La découverte de Nicolle et celle presque simultanée de Splendore ne suscita pas d'intérêt clinique mais plutôt un débat purement taxonomique.

En 1912 lors d'un congrès à Paris que Splendore fit cette remarque étonnante pour nous en 2010 « Il ne faudra pas être surpris si, dans l'avenir, cette maladie est observée chez l'homme ». Ce n'est qu'en 1938 que Wolf et Cowan publièrent la première observation de toxoplasmose congénitale.

Depuis, *T.gondii* et la toxoplasmose ont suscité de très nombreux travaux en immunologie, biologie moléculaire en épidémiologie et en clinique.

Actuellement que connaissons nous de la toxoplasmose congénitale ?

Plein de choses répondra le fondamentaliste, tant nos connaissances en biologie moléculaire et en immunologie ont évolué.

Que répondra le clinicien ? Que des progrès importants ont été réalisés en terme de diagnostic sérologique, que la PCR sur liquide amniotique et l'échographie de morphologie fœtale permettent un diagnostic ante natal précis. Mais qu'en matière de traitement de la toxoplasmose congénitale en ante et post natal nous sommes encore trop empiriques. Au niveau mondial, nous n'avons pas d'attitude consensuelle sur le dépistage systématique de la maladie chez les femmes enceintes ni sur la prise en charge thérapeutique de l'affection.

Que reste-il à faire ?

Beaucoup de chose. Sans être exhaustif, nous devons concentrer nos efforts sur 4 domaines

Santé publique :

Chaque pays doit évaluer la séroprévalence des femmes en âge d'avoir un projet parental, déterminer le nombre de séroconversions et l'incidence de la toxoplasmose congénitale. Ces études permettront d'apprécier le poids de la toxoplasmose dans la société et de la classer en terme de priorité par rapport aux autres maladies. En l'absence d'efficacité démontrée du traitement, la prévention primaire est capitale. Pour être efficaces, les mesures préventives devront se focaliser sur les principales sources d'infection.

Les modes de contaminations ne sont pas parfaitement connus et varient selon les régions. Les programmes de prévention devront donc être adaptés en fonction de la répartition du parasite dans l'environnement et des habitudes alimentaires.

La question du dépistage systématique n'est pas résolue en terme d'efficacité et de coût, il n'existe pas de solution universelle et chaque pays doit prendre une décision adaptée à sa situation. Quelque soit la décision prise, des programmes d'information et de prévention doivent être instaurés couvrant également les autres infections dangereuses pour le fœtus.

Physiopathologie :

La présentation clinique de la maladie est variable, et les facteurs prédictifs de l'apparition de lésions mal connus. Des travaux récents ont montré l'existence de souches sud américaines à virulence élevées et génétiquement différentes des souches européennes. La comparaison de génomes pourrait permettre de mieux comprendre les facteurs de virulence. L'étude des antigènes et la nature de la réponse immunitaire qu'ils provoquent chez l'homme seront une bonne approche pour l'obtention d'un vaccin.

Diagnostic biologique :

D'importantes innovations ont été apportées dans ce domaine. Actuellement il existe de très nombreuses troupes disponibles de sensibilités différentes contribuant à une hétérogénéité des résultats. Une standardisation des méthodes est indispensable, ainsi qu'une définition précise de termes comme toxoplasmose aiguë ou chronique pour pouvoir comparer les résultats.

L'utilisation des protéines recombinantes en sérologies ira croissant dans les années à venir permettant une qualité antigénique constante. Leur valeur immunologique respective et surtout leurs modalités d'utilisation en particulier la détermination des associations optimales nécessitera des études à grandes échelles portant sur des prélèvements bien documentés.

Clinique :

Comment définir la morbidité de la maladie ?

L'expression clinique de l'affection est la résultante de facteurs dépendants du parasite et de l'hôte encore méconnus.

L'hydrocéphalie, une micro ou macrophthalmie, des signes neurologiques, le retard des fonctions cognitives sont des marqueurs patents, heureusement rares, de la gravité de la maladie. L'absence de signes cliniques à la naissance n'est pas un état définitif car ces lésions peuvent apparaître tardivement, jusqu'à 20 ans dans notre expérience. Il est donc difficile d'évaluer le statut clinique car il peut varier avec le temps. De plus, la comptabilisation des sujets porteurs de lésions rétiniennes par rapport aux sujets indemnes ne correspond à rien en terme de qualité de vie. Nous avons récemment démontrés que la topographie des lésions observées au fond d'œil n'était pas prédictive de la fonction oculaire chez les adultes porteurs de toxoplasmose congénitale. Il convient là encore d'harmoniser la nomenclature et de définir de façon précise une toxoplasmose grave, bénigne ou infra clinique.

Au plan thérapeutique, l'efficacité des traitements ante et post natal n'a pas été démontrée. Les études européennes récentes ont clairement prouvé la nécessité de conduire des études randomisées. Cette année en France 2 études de ce type ont débuté :

-Toxogest évaluera l'efficacité du traitement ante natal.

-Toscane évaluera l'efficacité d'un traitement post natal de 3 mois versus 1 an.

D'autre part nous avons démontré les grandes variabilités des concentrations sérique de sulphadoxine et de pyriméthamine chez les enfants malgré un ajustement de la dose en fonction du poids et une standardisation de la prise des médicaments. Des études pharmacocinétiques sont indispensables pour juger de l'efficacité d'un traitement.

En thérapeutique la grande innovation serait une molécule active sur les kystes.

Dans certaine situation clinique, en particulier en cas d'immunodépression, l'éradication des kystes parasitaire serait souhaitable. Si dans le domaine du SIDA la prévention des récives est bien est bien codifiée, il n'en est pas de même pour d'autres immunodépression comme c'est le cas pour les greffés de moelle ou les patients sous anti-TNF.

En conclusion, quelque soit la politique adoptée concernant la surveillance des femmes enceintes ; contrôle mensuel, trimestriel ou à la demande, il faut se souvenir que l'interprétation des sérologies et la détermination de la date de l'infection par rapport à la conception est parfois délicate pour le biologiste et le médecin. Cette incertitude est génératrice d'angoisse pour les futurs parents qui iront chercher une information non validée parmi les nombreuses sources (journaux, internet) qu'ils pourront consulter. La désinformation alarmiste qui s'en suivra aura un effet néfaste et pourra dans certain cas déboucher sur une interruption de grossesse non justifiée. Il est important que chaque pays crée dans le cadre du programme de santé mère/enfant un réseau de laboratoires référents ou chaque prélèvement d'interprétation délicate puisse être adressé. Dans chaque centre hospitalier, un clinicien référent pour la toxoplasmose pourra rapidement recevoir les parents et les informer des techniques de diagnostic ante natal, des différentes possibilités thérapeutiques et l'évolution de la maladie chez l'enfant.

Cent ans après la découverte de *T. gondii* des progrès immenses ont été fait mais des zones d'ombre non moins importantes persistent.

PROTISTES, ECOLOGIE MICROBIENNE ET NOUVEAUX ENJEUX POUR LA GESTION DES EAUX

PAR YVES LEVI

Université Paris sud 11, Faculté de Pharmacie, UMR 8079 « Ecologie, systématique, évolution », Univ. Paris sud
11-CNRS-AgroParisTéCh
5 rue J.B. Clément, 92290 Chatenay-Malabry, France.

E-mail : yves.levi@u-psud.fr

La présence de protistes dans la chaîne trophique des eaux est un élément très important qui, bien que mieux étudié ces dernières décennies, reste encore à explorer. Classés dans les catégories de pathogènes, d'opportunistes, de « chevaux de Troie » ou encore de régulateurs de biofilms, les protistes figurent de plus en plus fréquemment dans les cibles de désinfection à atteindre pour maintenir la qualité des eaux destinées à la consommation humaine jusqu'aux robinets des consommateurs. Les enjeux sanitaires et économiques sont majeurs et bouleversent de grands domaines de la gestion de la qualité des eaux.

Le réchauffement des eaux au sein des unités de production d'électricité conduit à l'apparition de masses de biofilms considérables induisant notamment la libération de *Naegleria* dans les ressources. Le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France a fixé une concentration limite de 100 *N. fowleri* par litre en aval des centrales en se basant sur une hypothèse de distribution dans l'eau selon une loi propre aux particules et un volume d'inhalation égal à 10 millilitres. Le risque de contracter une maladie lors d'une baignade a donc été ainsi estimé à 10⁻⁹ pour une concentration d'une amibe par litre et à 7,8.10⁻⁷ pour une concentration de 50 amibes par litre. L'atteinte de ce seuil a conduit dans le passé à la fermeture d'une usine de production nucléaire à la mise en œuvre d'unités de traitements par rayonnements ultraviolets et l'injection de chloramines au lieu de chlore accompagné d'un suivi analytique rigoureux.

L'épidémie de cryptosporidiose à Milwaukee (USA), en 1993, a marqué par son ampleur dans un pays développé qui pensait disposer de technologies considérées comme efficaces pour la prévention des risques microbiologiques. Depuis cette période tous les acteurs de la production de l'eau ont du revoir leurs stratégies, élaborer des filières de potabilisation sur des concepts de multibarrières et mettre en œuvre des Plans de sauvegarde de la qualité (Water Safety Plans). Des évaluations quantitatives des risques ont été structurées en se basant sur des dénombrements d'oocystes sans véritablement connaître la part viable et infectieuse des éléments dénombrés. A cette occasion, les laboratoires d'analyse ont du développer des protocoles analytiques et les unités de désinfection ont été contraintes de changer leurs standards pour affronter des oocystes résistants. Le chlore impuissant a fait place à l'ozonation mais avec des risques de production de bromates. L'usage des rayonnements ultraviolets se développe ainsi dans de nombreuses unités comme actuellement pour l'alimentation de la ville de New York (USA).

Protéger la production d'eau de consommation humaine des contaminants des ressources est un élément majeur mais les protistes sont naturellement très présents dans les réseaux de distribution.

Qu'ils aient résisté tout ou partiellement aux désinfections ou qu'ils se développent en tant que maillon de l'écosystème naturel des canalisations, leur présence est avérée dans les sédiments de réservoirs d'eau potable, dans l'eau en circulation et à l'interface fluide matériaux avec les biomasses fixées ou biofilms.

Si les risques sanitaires directs ne sont pas encore assez évalués, il se pose clairement l'important problème du comportement dit de « Cheval de Troie » parfaitement illustré dans la prolifération de *Legionella pneumophila*. La croissance intra-amibienne des légionelles est largement décrite et sa contribution au risque de légionellose affirmée mais l'écologie des amibes dans les réseaux d'eau chaude est mal connue. En conséquence, les procédures de désinfection des réseaux depuis toujours axées sur les risques bactériens vont sans

doute devoir orienter leurs objectifs vers les protistes. La problématique s'étend et concerne maintenant d'autres risques infectieux (chlamydia, mycobactéries, mimivirus...).

Il est donc intéressant de constater que de grands investissements technologiques sont rendus nécessaires pour la protection de la santé des consommateurs vis-à-vis des risques liés à la présence de protistes dans les eaux alors que le niveau de connaissance du domaine est à développer. Les stratégies de désinfection exigent que des progrès soient accomplis dans l'évaluation des conditions de protection, de survie et de développement des protistes dans les ressources en eaux destinées à la production d'eau de consommation humaine et dans les réseaux de distribution.

DES QUINOLEINES POUR LE TRAITEMENT DES LEISHMANIOSES

PAR ALAIN FOURNET

A FOURNET ¹, P LOISEAUT ², B FIGADÈRE ²

¹ Laboratoire de Pharmacognosie, UMR217, IRD, Faculté de Pharmacie, rue J. B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry cedex, France ;

² Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et Chimiothérapie Antiparasitaire, UMR 8076 CNRS, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud, rue J. B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry cedex, France

E-mail : alain.fournet@ird.fr

Les leishmanioses sont des parasitoses dont certaines formes sont mortelles en l'absence de traitement, en particulier la leishmaniose viscérale. Les médicaments classiques sont très toxiques et difficiles à utiliser car administrables par voie parentérale (antimoniés, amphotéricine B liposomale). L'efficacité des traitements existants est remise en question par leur toxicité et l'apparition de chimiorésistance.

L'activité antileishmanienne d'une famille d'alcaloïdes, les quinoléines, a été identifiée à partir d'une étude ethnobotanique réalisée en Bolivie par l'IRD avec des tradipraticiens. Une équipe de chercheurs de l'IRD, du CNRS, et de l'Institut Pasteur a poursuivi les études sur cette famille chimique en synthétisant une bibliothèque d'environ 140 molécules pour lesquelles les essais biologiques chez la souris ont permis de confirmer leur efficacité thérapeutique sur la leishmaniose viscérale expérimentale (*L. infantum* et *L. donovani*), notamment lorsqu'elles sont administrées par voie orale. Ces molécules ont fait respectivement l'objet de dépôts de brevet, aux noms conjoints de l'IRD et du CNRS en 2001.

La miltéfosine, récemment mise sur le marché, est active par voie orale, mais l'obtention aisée de clones de *Leishmania donovani* résistants à ce médicament laisse penser à une émergence probable et rapide de la chimiorésistance à la miltéfosine sur le terrain. Il est par conséquent nécessaire et urgent de disposer de nouvelles molécules actives par voie orale, suffisamment stables pour un emploi en milieu tropical et de faible coût pour une utilisation dans les pays en voie de développement. Les connaissances accumulées depuis une quinzaine d'années nous permettent maintenant de choisir le candidat médicament à partir d'une étude comparative parmi les deux molécules les plus prometteuses.

Les caractéristiques pharmaceutiques de développement du candidat-médicament ont été déterminées par comparaison de leur activité biologique et des avantages par rapport à la miltéfosine. Quatre tâches spécifiques ont été développées pour répondre à cet objectif :

- 1- *Optimisation de la développabilité pharmaceutique des composés et choix des formulations pour la comparaison des activités in vivo.* Le choix de la forme physique vise une utilisation sous forme de comprimés, forme la mieux adaptée à une utilisation en zone d'endémie. Une caractérisation de cette forme physique a été effectuée avant de définir les formulations recommandées pour les voies orale et intraveineuse.
- 2- Détermination comparative de l'efficacité *in vivo* des trois composés seuls par rapport à la seule molécule de référence sur le marché (miltéfosine) Les profils d'activité antileishmanienne des formulations ont été comparés sur un modèle de leishmaniose viscérale expérimentale afin d'apprécier quelle est la molécule la plus efficace sur un modèle animal reconnu par rapport à la miltéfosine, médicament de référence.
- 3- Comparaison des profils pharmacocinétiques préliminaires des composés Les profils et les paramètres pharmacocinétiques des trois molécules ont été comparés sur modèle animal afin d'en appréhender la

biodisponibilité comparative par voie orale et par voie intraveineuse. Une étude *in vitro* du métabolisme hépatique des trois quinoléines a été réalisée qui a permis d'identifier leurs métabolites de phases I et II. Cette étude a été complétée par une identification des cytochromes P450 impliqués dans leur métabolisme. Les résultats de cette étude nous ont permis de :

1. proposer des systèmes chromatographiques capables de séparer les 3 quinoléines ainsi que leurs métabolites hydroxylés ;
2. développer des méthodes de préparation de l'échantillon, par extraction solide/liquide, applicables à leur dosage dans les milieux biologiques (sang total, plasma et urines)
3. déterminer certains paramètres physicochimiques de ces quinoléines (pK, solubilité, coefficient de partage octanol / eau) et de
4. préciser le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques, notamment l'albumine.

Ces développements analytiques ont été réalisés dans le cadre des travaux de thèse d'université de Melle Julie Desrivot, soutenue le 26 juin 2007 à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry.

Les résultats obtenus après administration intraveineuse chez le rat montrent une décroissance en 2 étapes. La première, très rapide, d'une demi-vie de quelques minutes correspond à la distribution, la fixation aux protéines et aux éléments figurés du sang (hématies, notamment) ainsi qu'à la captation tissulaire. La seconde, nettement plus lente correspond à la phase d'élimination. Les paramètres pharmacocinétiques (demi-vie, volume de distribution) sont en cours d'acquisition.

Après administration orale, la fraction détectée dans le sang est très faible. Ce résultat est sans doute lié à une forte captation hépatique de premier passage « *first-pass effect* ». Cependant, le composé reste très actif à la dose administrée, ce qui suggère la présence d'un métabolite actif.

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre de la thèse en cotutelle de Melle Nashira Campos Viera (Brésil).

- 4- *Données préliminaires de toxicité* La toxicité des trois molécules a été étudiée *in vitro* et *in vivo* sur les mêmes modèles afin de compléter l'argumentaire décisionnel quant à la molécule à faire rentrer en développement.

LIRD et la fondation DNDi (Drugs for Neglected Diseases initiative) engagée dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments contre les maladies négligées ont récemment conclu un accord de collaboration pour identifier et développer ces nouveaux candidats médicaments prometteurs contre la leishmaniose viscérale, la maladie de Chagas et la maladie du Sommeil.

REFERENCES

Brevet

- Brevet n° PCT/FR2002/000140 du 17/01/2001 : **Fakhfakh M., Figadère I B., Fournet A., Franck X., Hocquemiller R., Prina E.** "Quinoléines substituées pour le traitement des co-infections à protozoaires et à rétrovirus".
- 1- Enquêtes ethnopharmacologiques sur le terrain et sélection des plantes.
 - **Fournet A., Hocquemiller R., Gantier J. C.** (1995) Combattre la leishmaniose: une enquête ethnopharmacologique en Bolivie. *La Recherche*, **36**, 221-224.
- 2- Evaluation *in vivo* des quinoléines d'origine naturelle sur les leishmanioses expérimentales (*L. donovani*, *L. amazonensis*)
 - **Fournet A., Gantier J. C., Gautheret A., Leysalles L., Munos M. H., Mayrargues J., Moskowitz H., Cavé A., Hocquemiller R.** (1994) The activity of 2-substituted quinoline alkaloids in BALB/c mice infected with *Leishmania donovani*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **33**, 537-544.
 - **Fournet A., Ferreira M. E., Rojas de Arias A., Torres de Ortiz S., Fuentes S., Nakayma H., Schinini A., Hocquemiller R.** (1996) *In vivo* efficacy of oral intralesional administration of 2-substituted quinolines in experimental caused by *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **40**, 2447-2451.

-
- 3- Hémissynthèse et caractérisation d'une bibliothèque 140 dérivés de PRO
- **Fakhfakh M. A., Franck X., Duret P., Fournet A., Hocquemiller R., Figadère B.** (2001) Expeditive preparation of 2-substituted quinolines. *Tetrahedron Letters*, **42**, 3847-3850.
 - 4- Evaluation de l'activité *in vitro* sur les formes promastigotes et amastigotes de *L. infantum* et *L. donovani*.
- **Fakhfakh M. A., Fournet A., Prina E., Mouscadet J. F., Franck X., Hocquemiller R., Figadère** (2003) Synthesis and Biological Evaluation of Substituted Quinolines : Potential Treatment of Protozoal and Retroviral co-Infections. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **11**, 5013-5023.
 - 5- Evaluation comparative *in vivo* sur la leishmaniose viscérale expérimentale (*L. infantum* et *L. donovani*)
- **Nakayama H., Loiseau P. M., Bories C., Torres de Ortiz S., Schinini A., Rojas de Arias A., Fakhfakh M. A., Franck X., Figadère B., Hocquemiller R., Fournet A.** (2005) Oral efficacy of 2-substituted quinolines in experimental murine cutaneous and visceral leishmaniases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49**, 4950-4956.
 - 6- Mise au point des techniques de dosage en milieu biologique
- **Desrivot J., Moussa F., Fournet A., Champy P., Figadère B., Herrenknecht C.** (2007) Development of a High-Performance Liquid Chromatographic and solid phase extraction method for the determination of antileishmanial 2 substituted quinolines and metabolites in rat plasma. *Journal of Chromatography B*, **854**, 230-238.
 - 7- Etude de biodisponibilité, réactivité vis à vis des composants du sang (protéines, hématies) et stabilité *in vitro* et *in vivo*.
- **Desrivot J., Edlund P. O., Svensson R., Baranczewski P., Fournet A., Figadère B., Herrenknecht C.** (2007) Metabolism of 2-substituted quinolines with antileishmanial activity studied *in vitro* with liver microsomes, hepatocytes and recombinantly expressed enzymes analyzed by LC/MS. *Toxicology*, **235**, 27-38.

COMMUNICATIONS ORALES

Session 1 : EPIDEMIOLOGIE DES LEISHMANIOSES

C1- LES LEISHMANIOSES EN ALGERIE: ETAT ACTUEL

HARRAT Z

Service d'Eco-épidémiologie Parasitaire, Institut Pasteur d'Algérie, Algérie.

E-mail : zharrat@pasteur.dz

En Algérie, quatre formes cliniques de leishmanioses sévissent à l'état endémo-épidémique, elles se répartissent en trois formes cutanées : La leishmaniose cutanée du sud à *Leishmania major*, c'est la forme épidémique avec plus de 8000 cas /an en moyenne. La leishmaniose cutanée du nord à *L. infantum*, affecte environ 400 personnes par an. Enfin, la leishmaniose cutanée à *L. killicki (L. tropica)*, signalée pour la première fois, en 2005, à Ghardaia (sud algérien). La forme viscérale, dont le pronostic reste grave, sévit dans la partie nord du pays. Des cas sporadiques sont toujours signalés dans les oasis sahariennes et dans le massif central du Hoggar. Devant l'ampleur et l'étendue de la maladie enregistrées en 2005, un programme national de lutte contre les leishmanioses a été lancé en 2006. Les résultats obtenus sont très satisfaisants au vu de la réduction notable de l'incidence de la maladie qui est passée de 30227 cas (93,61 cas/100.000hab) en 2005 à 6764 cas (20,22 cas/100.000hab) en 2007. En 2008 et 2009 le nombre de nouveaux cas s'est stabilisé autour de 8000. L'auteur décrit les principaux caractères épidémiologiques et parasitologiques de la maladie et dresse le bilan de la campagne de lutte.

C2- LA DIVERSITE GENETIQUE ET LA STRUCTURE DE LA POPULATION DE *L. INFANTUM* AU MAROC PAR LE TYPAGE DES MICROSATELLITES

HAMDI S ¹, AMRO A ², SCHÖNIAN G ³ ET LEMRANI M ¹.

¹ *Département de Recherche, Institut Pasteur du Maroc;*

² *Faculty of Pharmacy, Al-Quds University, Jerusalem, Palestine;*

³ *Cbarité Universitätsmedizin, Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Berlin, Germany.*

E-mail : meryem.lemrani@pasteur.ma

Leishmania infantum est l'agent causal de la leishmaniose viscérale dans au nord du Maroc. Elle touche principalement les enfants de moins de 5 ans, avec une incidence de 152 cas / an. Nous avons étudié le polymorphisme génétique et la structure de la population de 55 souches de *L. infantum* isolées à partir des chiens et des humains infectés dans différents foyers endémiques au nord du Maroc. Pour cela, on a utilisé l'approche de typage moléculaire par analyse des microsatellites (MLMT). Le concept de cette technique est basé sur l'analyse de la variation de taille de 14 marqueurs de microsatellites indépendants pour chaque souche. Les profils MLMT des souches marocaines ont été comparés aux profils de 10 souches tunisiennes, 10 souches algériennes et 21 souches européennes appartenant ou non au zymodème MON-1 Européen. L'approche Bayésienne (Bayesian model-based) a été adoptée pour l'analyse statistique des résultats. Les résultats trouvés montrent l'existence de deux sous-populations : La sous-population A composée de 25 souches Marocaines regroupées avec toutes les souches de type MON-1 européen. La sous-population B composée de 25 souches marocaines regroupées avec les souches tunisiennes et algériennes du zymodème MON-1. La présence de ces deux sous-populations co-existantes dans des zones endémiques marocaines permet de mettre la possibilité de deux scénarios sur l'introduction de *L. infantum*: de l'Europe vers le Maroc ou l'inverse; du Maroc vers les

pays voisins d'Afrique du Nord ou l'inverse. Ces scénarios sont soutenus par la présence des deux sous population A et B au Maroc. Le flux des gènes a été observé entre les sous-populations A et B, ainsi cinq souches mixtes des génotypes A / B indiquent la recombinaison possible entre les deux populations.

C3- ACTUALITES SUR LA DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DES ESPECES DE LEISHMANIA EN TUNISIE : A PROPOS DE L'IDENTIFICATION ISOENZYMATIQUE DE 690 SOUCHES ISOLEES ENTRE 1998 ET 2007

HAOUAS N ¹, BABBA H ¹, CHAKER E ², GORCII M ¹, AOUN K ³, CHARGUI N ¹, KALLEL K ², BOURATBINE A ³, MESSAADI AKROUT F ⁴, KECHAOU W ⁴, BEN SAID M ⁵, PRATLONG F ⁶, DEDET J.P ⁶, MEZHOUH H ¹ ET AZAIEZ R ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie (99UR/08-05), Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie

² Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU La Rabta Tunis,

³ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie,

⁴ Laboratoire de Parasitologie, Centre d'Hygiène de Sfax,

⁵ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EPS Farbat Hached, Sousse, Tunisie,

⁶ Laboratoire de Parasitologie, Centre National de Référence des Leishmania, Montpellier, France.

E-mail : najoua.b@laposte.net

Une série de 690 souches de *Leishmania*, provenant des foyers tunisiens de leishmanioses cutanée et viscérale, isolées entre 1998 et 2007 ont été caractérisées par méthode isoenzymatique. Ces souches ont été obtenues de cas de leishmaniose humaine (n=590 isolats) et canine (n=100 isolats) provenant de 22 gouvernorats parmi les 24 de la Tunisie. Trois complexes et cinq zymodèmes ont été trouvés dont deux espèces strictement dermatotropes (*L. major* et *L. killicki*) et une viscéro-dermatrope (*L. infantum*). *Leishmania major* avec le seul zymodème MON-25 est l'espèce la plus isolée des cas de leishmaniose cutanée du Centre et de Sud avec une extension vers les foyers du Nord. *Leishmania killicki* zymodème MON-8, initialement découverte au Sud Est tunisien montre des extensions vers différents microfoyers du Sud Ouest, Centre et Nord. Les trois zymodème MON-1, MON-24 et MON-80 du complexe *Leishmania infantum* ont été identifiés aussi bien des cas de Leishmaniose viscérale humaine que de leishmaniose cutanée. La majorité des souches de *L. infantum* sont localisées au Nord du pays avec quelques extensions vers le centre et de sud de la Tunisie. Tous les isolats de leishmaniose canine appartiennent au seul zymodème MON-1 de *Leishmania infantum*. Les modifications de la distribution géographique de ces différents zymodèmes exigent des enquêtes épidémiologiques plus poussées afin de déterminer leurs causes et pouvoir gérer l'évolution spatiale et temporelle des leishmanioses en Tunisie.

Session 2 : PALUDISME D'IMPORTATION

C4- EPIDEMIOLOGIE DU PALUDISME D'IMPORTATION EN FRANCE MÉTROPOLITAINE EN 2009

KENDJO E ^{1, 2, 3, 10}, THELLIER M ^{1, 2, 3, 4}, HOUZÉ S ^{1, 5, 6}, PARZY D ^{1, 9}, PRADINES B ^{1, 8}, BUFFET P ^{1, 2, 3, 4}, TAUDON N ^{1, 9}, HOUZÉ P ^{1, 5}, DURAND R ^{1, 6, 7}, LE BRAS J ^{1, 5, 6}, DANIS M ^{1, 2, 3, 4} ET LES CORRESPONDANTS DU RÉSEAU DU CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE DU PALUDISME POUR LA FRANCE MÉTROPOLITAINE.

-
- ¹ Centre National de Référence du Paludisme, Paris, France ;
 - ² Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, France ;
 - ³ INSERM, UMRS 945, Paris, France ;
 - ⁴ AP-HP, Groupe hospitalier Pitié -Salpêtrière, Paris, France ;
 - ⁵ Université Paris Descartes-Paris 5, France ;
 - ⁶ AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France ;
 - ⁷ AP-HP, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ;
 - ⁸ Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaires-Unité de Recherche pour les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, UMR 6236, Institut de Recherche Biomédicale des Armées-Antenne de Marseille, France ;
 - ⁹ UMR-MD3, Pharmacologie et Thérapeutique, Université de la Méditerranée Aix-Marseille II, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Marseille, France ;
 - ¹⁰ Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen, Tübingen, Germany.

E-mail : eric.kendjo@upmc.fr

Les cas de paludisme diagnostiqués en France métropolitaine sont colligés et analysés au Centre National de Référence du paludisme à partir des données transmises par un réseau de correspondants. En 2009, le CNR du paludisme a enregistré 2200 cas de paludisme en France métropolitaine (3991 estimés), dont 1 cas autochtone probable. La région Ile-de-France demeure au 1er rang avec 51,1% des cas déclarés. Le pic épidémiologique mensuel des cas se situe entre juillet et septembre. *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae* sont identifiés respectivement dans 81,4%, 8,5%, 5,3% et 2,2% des cas alors que 1,4% sont infectés par plus de 1 espèce et que l'espèce est indéterminée pour 1,1%. Les formes cliniques sont pour 89,3% des accès simples, 8,6% des accès graves, 1,9% des formes asymptomatiques et 0,2% des PVE. Les pays de contamination sont majoritairement situés en Afrique subsaharienne (92 %). Une prise de chimioprophylaxie est alléguée par 29% des patients. Cinquante cas sont signalés chez les femmes enceintes. On note une diminution des cas estimés de paludisme d'importation d'environ 5% par rapport à 2008. Le nombre de cas de paludisme grave est en augmentation mais la létalité reste stable autour de 0,3% (7 décès en 2009).

C5- PALUDISME D'IMPORTATION A L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES (2000 – 2009)

LMIMOUNI B ¹, EL WARTITI MA ¹, ENNEFFAH W ¹, EL MELLOUKI W ¹ ET THELLIER M ².

¹ Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat, Maroc.

² Service de Parasitologie Mycologie, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France.

E-mail : badre_lmimouni@yahoo.com

Au Maroc, depuis la neutralisation du dernier foyer de *Plasmodium vivax* en 2004, seuls sont enregistrés des cas de paludisme d'importation, provenant dans la majorité des cas d'Afrique subsaharienne. Nous rapportons une étude prospective qui s'est déroulée du 1er Janvier 2000 au 15 Novembre 2009 à l'Hôpital Militaire d'Instruction (HMI) Mohammed V de Rabat. Tous les patients avec une demande de recherche de *Plasmodium* dans le sang ont été inclus. Les données sont collectées de manière prospective sur une fiche standardisée. La saisie informatique des données est réalisée avec le logiciel Microsoft® Excel 2007. Les analyses statistiques sont effectuées avec le logiciel SPSS Base pour Windows version 10. Cent quarante cinq des 958 patients inclus dans l'étude (15,1%) sont diagnostiqués positifs à *Plasmodium spp.* . Quatre vingt quatre (84%) sont marocains, le sex-ratio H/F est de 19,71 et la moyenne d'âge est de 34 ans. Les pays concernés sont classés en zone

3 dans 92% des cas. La chimioprophylaxie est absente, non adaptée ou mal suivie dans 87% des cas, et la protection physique non appliquée dans 56% des cas. *Plasmodium falciparum* est à l'origine de la majorité des accès. Sur le plan clinique, nous avons retrouvé 123 accès simples, 19 accès graves et 3 cas de paludisme viscéral évolutif. Aucun décès n'est enregistré dans la période d'étude. Cette étude nous a permis de décrire les caractères épidémiologiques du paludisme d'importation à l'HMI Mohammed V de Rabat, et d'identifier un certain nombre de problèmes en matière de diagnostic, de prophylaxie, de traitement.

C6- PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE ET CLINIQUE DU PALUDISME D'IMPORTATION EN TUNISIE

CHAHED MK ¹, BEN ALAYA-BOUAFIF N ², BELLALI H ², BETTAIEB J ¹, EL BEZ H ², AYARI L ² ET ACHOUR N ².

¹ *Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie ;*

² *Observatoire National des maladies nouvelles et émergentes, Tunis, Tunisie.*

E-mail : nissafbenalaya@pasteur.rns.tn

En Tunisie on continue à enregistrer des cas importés de paludisme depuis 1979 date du dernier cas autochtone. L'objectif de cette étude est de décrire les caractéristiques épidémiologiques et cliniques du paludisme d'importation en Tunisie durant la période 2002-2007. Il s'agit d'une étude nationale exhaustive rétrospective auprès de toutes les structures de diagnostic, de prise en charge et de déclaration du paludisme utilisant un questionnaire standardisé rempli à partir des fiches de déclaration des cas de plusieurs structures. Un total de 317 cas de paludisme a été recensé. L'âge médian était 25.0 ans (21-30) pour les Africains, 38.0 ans (235-455) pour les Africains du Nord, 385 ans (30.75-385) pour les Tunisiens et 39.0 (26-43) pour les Européens ($p < 10^{-3}$). L'espèce la plus prédominante était *P. falciparum* avec 216 cas (72.5%) et la région la plus fréquente d'acquisition de l'infection était l'Afrique. Dans notre étude les informations relatives à la chimio-prophylaxie étaient partiellement disponibles et 34% des individus infectés parmi les tunisiens n'avaient pas utilisé de chimio-prophylaxie. Cette étude a mis en évidence une hétérogénéité marquée dans le type et la disponibilité des données de base telles que la chimioprophylaxie utilisée, le statut du voyageur, le pays d'origine de l'infection et des informations sur l'évolution et le décès, qui ont rarement été collectés en dépit des recommandations et des propositions d'établissement de rapports standardisés par les autorités nationales. La mise en place d'un système de surveillance active basée sur un formulaire standardisé de collecte des données contribuerait à estimer l'incidence, à identifier les groupes à risque et à mieux évaluer le risque de ré-émergence du paludisme en Tunisie.

C7- EPIDEMIOLOGIE DU PALUDISME D'IMPORTATION GRAVE EN FRANCE METROPOLITAINE, TENDANCES EVOLUTIVES DANS LA PERIODE 1996 A 2009

THELLIER M ^{1, 2, 3, 4}, BUFFET P ^{1, 2, 3, 4}, KENDJO E ^{1, 2, 3, 10}, HOUZÉ S ^{1, 5, 6}, PARZY D ^{1, 9}, PRADINES B ^{1, 8}, TAUDON N ^{1, 9}, HOUZÉ P ^{1, 5}, DURAND R ^{1, 6, 7}, LE BRAS J ^{1, 5, 6}, DANIS M ^{1, 2, 3, 4} ET LES CORRESPONDANTS DU RESEAU DU CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DU PALUDISME POUR LA FRANCE METROPOLITAINE

¹ *Centre National de Référence du Paludisme, Paris, France ;*

² *Université Pierre et Marie Curie-Paris6, Paris, France ;*

³ *INSERM, UMRS 945, Paris, France ;*

⁴ *AP-HP, Groupe hospitalier Pitié –Salpêtrière, Paris, France ;*

⁵ *Université Paris Descartes-Paris5, Paris, France ;*

⁶ *AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France ;*

⁷ *AP-HP, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ;*

-
- ⁸ *Unité de Recherche en Biologie et Epidémiologie Parasitaires-Unité de Recherche pour les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes, UMR 6236, Institut de Recherche Biomédicale des Armées-Antenne de Marseille, Marseille, France ;*
- ⁹ *UMR-MD3, Pharmacologie et Thérapeutique, Université de la Méditerranée Aix-Marseille II, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Marseille, France ;*
- ¹⁰ *Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen, Tübingen, Germany.*

E-mail : marc.tbellier@psl.apbp.fr

En France métropolitaine, le nombre de cas de paludisme grave dus à *Plasmodium falciparum* a été multiplié par 2 entre 1996 et 2009. Dans la même période, la létalité globale du paludisme reste stable (entre 0,3 et 0,4 %) et la létalité des accès graves diminue. Un certain nombre de phénomènes sont susceptibles de rendre compte de cette évolution : i/ une modification de la proportion des classes d'âge touchées par ces accès, avec une augmentation marquée de la part des sujets de plus de 60 ans ces 3 dernières années ii/ une baisse significative et régulière, de plus de 60% en 1996 à moins de 30% en 2009, de la proportion de personnes alléguant une prise de chimioprophylaxie au cours du voyage en zone d'endémie palustre et iii/ une augmentation significative de la proportion des accès graves dans la population des sujets d'origine africaine qui passe de 30% à 54% avec une diminution en miroir du nombre de ces accès chez les caucasiens. L'augmentation constatée, du nombre et de la proportion, des accès graves dans le paludisme d'importation en France métropolitaine est un phénomène inquiétant qui doit être surveillé et expliqué pour orienter les actions de lutte spécifiques.

Session 3 : PALUDISME-LEISHMANIOSES, PHYSIOPATHOLOGIE ET INTERACTIONS « PARASITES- HÔTES »

C8- CARACTERISATION DES PROTEINES SALIVAIRES DE PHLEBOTOMUS PAPTASI, CIBLES DE LA REPONSE IMMUNE CELLULAIRE CHEZ LES INDIVIDUS NATURELLEMENT EXPOSES

ABDELADHIM M ¹, BEN AHMED M ¹, SAKKOUHI R ¹, VALENZUELA J ², MARZOUKI S¹, BEL HADJ HMIDA N ³, BEL HADJ HMIDA N ¹, BEN HASSOUNA N ³ ET LOUZIR H ^{1,4}.

¹ *Laboratoire d'Immunologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ;*

² *Vector Molecular Biology Section ; NIAID, NIH, Maryland, USA ;*

³ *Service d'épidémiologie médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ;*

⁴ *Laboratoire d'Immunologie, de Vaccinologie et de Génétique Moléculaire, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.*

E-mail : melika.benabmed@pasteur.rns.tn

Les travaux réalisés chez la souris indiquent que la l'induction d'une réponse immune cellulaire contre la salive du phlébotome, vecteur de la leishmaniose, pourrait protéger contre l'infection leishmanienne. Chez l'homme, peu de données sont disponibles. Nous avons récemment démontré que la réponse cellulaire développée contre la salive de *Phlebotomus papatasi* est médiée, chez l'homme, par les lymphocytes T CD₈ producteurs d'IL-10. Lorsque les effets de l'IL-10 sont bloqués, l'activation de lymphocytes T CD₄ de type Th1 est révélée. L'activation de cette population est d'une grande importance puisqu'elle pourrait être associée à la protection contre l'infection leishmanienne. Le but de ce présent travail a été d'identifier les protéines salivaires activant les différentes sous-populations lymphocytaires sus-citées. Deux approches de fractionnement des protéines salivaires ont été utilisées ; l'une se basant sur le poids moléculaire après séparation par ultra-

centrifugation sur des filtres Amicon et l'autre se basant sur l'hydrophobicité des protéines par chromatographie en phase reverse. Ces deux approches nous ont permis d'obtenir des données complémentaires. En effet, l'analyse des fractions de différents poids moléculaires montre que l'induction de l'IFN-g dans les cellules T CD4+ n'est obtenue que par la fraction > 30kD. Pour les 36 fractions obtenues par chromatographie en phase reverse, nos données indiquent que l'IL-10 est induite essentiellement par les fractions allant de 20 à 36 alors que celle de l'IFN-g n'est pas systématisée. La caractérisation plus précise de la nature de ces fractions est actuellement en cours. Des études préliminaires semblent identifier l'adénosine comme cible potentielle de la réponse des cellules CD8+ producteurs de l'IL-10.

C9- ETUDE DE L'IMMUNOGENICITE D'UNE NOUVELLE RAB-GTPASE DE *L. MAJOR* AU COURS DE LA LEISHMANIOSE CHEZ L'HOMME ET EVALUATION DE SON POTENTIEL VACCINANT DANS LE MODELE EXPERIMENTAL MURIN

CHAMAKH_AYARI R ¹, GARNAOUI A ¹, AOUN K ², MARKIKOU W ¹, BOURATBINE A ² ET CHENIK M ¹.

¹ Equipe « Interactions Parasite-Hôte et caractérisation de biomolécules parasitaires à visées vaccinale et thérapeutique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ;

² LR 05SP03, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : rymchamakhpast@yahoo.fr

La protéine Rab-GTPase appartenant à la superfamille Ras des GTPases, a été caractérisée dans notre laboratoire comme étant impliqué dans la virulence et hautement spécifique du parasite *L. major* d'où son appellation LmlRab (*L. major* large Rab). Nous avons testé l'immunogénicité des protéines recombinantes LmlRab ainsi que sa partie carboxyl-terminale divergente (LmlRabC) chez des individus immuns à la leishmaniose et dans le modèle murin. Les deux protéines LmRab et LmRabC, sont capables d'induire de façon spécifique des réponses prolifératives (IS>2) avec production d'IFN γ , chez des individus immuns à la LC ou à la LV. Le potentiel vaccinant de LmlRab a été évalué chez la souris sensible BalbC, trois lots de souris (n=6) ont été utilisés : lot 1 : la protéine LmlRab associé à un adjuvant CpG, deux lots contrôles, lot 2 : CpG seul et lot 3 : PBS seul. L'estimation du pouvoir protecteur de la protéine après infection expérimentale par *L. major*, a été évaluée par mesure du diamètre des lésions de façon hebdomadaire pendant 12 semaines post-challenge. Nous avons montré que la protéine LmlRab était capable de conférer une protection totale aux souris sensibles. Ces résultats montrent que la protéine LmlRab pourrait être considérée comme candidat vaccin potentiel.

C10- *PLASMODIUM FALCIPARUM* : RÔLE ESSENTIEL DE LA GTPASE RAB7 AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT INTRA-ERYTHROCYTAIRE

BEN RACHED F, TALABANI H, GILBERGER URT, LACROIX C, MÉNARD R, MERCKX A, PAUGAM A ET LANGSLEY G.

Institut Cochin, Inserm U1016.

E-mail : fathia.ben-rached@inserm.fr

Lors de son cycle de développement, *Plasmodium* agent du paludisme, envahit les globules rouges provoquant ainsi la phase symptomatique de la maladie. Cette localisation intracellulaire rend cruciale, pour le parasite, la mise en place d'un transport vésiculaire afin d'importer les nutriments nécessaires à son développement et d'exporter les métabolites toxiques à sa survie. Notre recherche concerne la GTPase Rab7 une des protéines-clés de la régulation du trafic vésiculaire. Chez les eucaryotes Rab7 régule le trafic vésiculaire vers

les organites de dégradation. Nous avons démontré par l'inactivation du gène parasitaire *rab7* que l'expression de cette protéine était indispensable à son développement intra-érythrocytaire. Nous pensons qu'un des rôles essentiels de Rab7 est lié à son implication dans la maturation de l'autophagosome, responsable de la dégradation d'organites sub-cellulaires. Nous avons confirmé cette hypothèse par la mise en évidence d'une co-localisation de Rab7 et Atg8 (marqueur de l'autophagosome) chez *Plasmodium*. Nous avons également pu démontrer récemment que Rab7 est phosphorylée par la protéine kinase A dépendante de l'AMP cyclique et que cette phosphorylation pourrait jouer un rôle sur l'interaction de Rab7 avec ses protéines effectrices. Ces résultats permettront d'envisager que la protéine Rab7 de *Plasmodium* puisse être considérée comme une nouvelle cible thérapeutique.

C11- TRAFIC ET MATURATION DE L'AMINOPEPTIDASE PFA-M1 DE *PLASMODIUM FALCIPARUM*

SOW C ¹, AZIMZADEH O ², NYALWIDHE J ³ ET FLORENT I ¹.

¹ FRE3206 CNRS/MNHN, Département Régulations, Développement, Diversité Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France;

² Fachbereich Biologie, Parasitologie, Philipps-Universität, Marburg, Germany;

³ Department of Microbiology and Molecular Cell Biology, George L Wright Centre for Biomedical Proteomics, Eastern Virginia Medical School, Norfolk, VA, USA.

E-mail : sow@mnhn.fr

L'aminopeptidase Pfa-M1 de *Plasmodium falciparum* est considérée comme une cible potentielle pour lutter contre le paludisme puisque des inhibiteurs spécifiques de cette enzyme peuvent bloquer le développement du parasite. Codée par un gène en copie unique, elle présente une activité optimale à pH 7,4 et pourrait être impliquée dans la dégradation de l'hémoglobine et/ou la réinvasion du globule rouge. Elle existe sous trois formes, p120 la forme précurseur qui contient un peptide signal, p96 la forme intermédiaire et p68 la forme maturée. Nous étudions le trafic et la localisation de Pfa-M1 dans le parasite. Par le biais d'études biochimiques et par microscopie à fluorescence, nous avons localisé les formes p120 et p96 dans la vacuole parasitophore et la forme p68 à l'intérieur du parasite. Cela suggère qu'après synthèse au niveau du réticulum endoplasmique, p120 est envoyée dans la vacuole parasitophore où elle est maturée en p96 puis retourne dans le parasite où elle est retrouvée sous forme p68. Pour valider notre modèle, nous étudions l'effet d'inhibiteurs bloquant l'endocytose ou le trafic vésiculaire sur l'adressage de Pfa-M1. Nous avons également généré des plasmides permettant l'expression de diverses longueurs de Pfa-M1 fusionnées à la GFP afin d'étudier ses signaux d'adressage. Notre objectif est d'étudier l'effet de combinaisons d'inhibiteurs de l'activité enzymatique et du trafic de Pfa-M1 sur le développement du parasite.

Session 4 : COMMUNICATIONS LIBRES-PARASITOSES VÉTÉRINAIRES, ENTOMOLOGIE

C12- ETUDE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DE L'ORTHOLOGUE DU GÈNE *Bm86* CHEZ L'ESPÈCE DE TIQUE *HYALOMMA DETRITUM*

BEN SAID M ¹, GALAI Y ¹; MHADBI M ¹, NIJHOF A. M ², GHARBI M ¹ ET DARGHOOUTH M.A ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire;

² Utrecht Centre for Tick-borne Diseases (UCTD), Faculty of Veterinary Medicine.

E-mail : bensaidmourad83@yahoo.fr

La protéine recombinante Bm86 est une glycoprotéine intestinale issue de la tique *Boophilus microplus* utilisée dans un vaccin anti-tique commercial. La diversité génétique du gène Hd86, l'orthologue du gène Bm86 exprimé chez *Hyalomma detritum* a été analysée sur sept spécimens de tiques adultes de l'espèce *Hyalomma detritum* collectés dans 3 zones bioclimatiques de la Tunisie. Cette analyse révèle une importante variation entre trois protéines orthologues de *B. microplus* (Bm86 Australie, Bm86 Mozambique et Bm95) utilisées dans des essais de vaccination et celles correspondantes aux isolats de *H. detritum*, soit respectivement de 35,93 à 36,09%, de 39,94 à 40,25% et de 40,42 à 40,54%. Cette diversité est très probablement à l'origine du défaut d'efficacité du rBm86 (Mozambique) contre *H. detritum*. Cette étude révèle par ailleurs une diversité de 1,47% entre une protéine Hd86 recombinante isolée en 2006 sur un spécimen de *H. detritum* et utilisée dans un essai vaccinal et les séquences correspondants aux spécimens de tiques collectées en 2009. Les données de l'étude phylogénétique et de l'analyse des sites antigéniques montrent que la protéine Hd86 est identique au sein de la même population de l'espèce *H. detritum* et qu'elle semble être conservée entre les spécimens de différentes populations de cette espèce.

C13- AUGMENTATION DE LA PRÉVALENCE DE LA LEISHMANIOSE CANINE EN MILIEU URBAIN, ALGER, ALGERIE

AIT-OU DHIA K ¹, LAM P, LESCEU S, HARRAT Z, HAMRIOUI B, DEDET JP ET PRATLONG F.

¹ Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie.

E-mail : k.aitoudhia@gmail.com

Une enquête épidémiologique a été menée chez les chiens dans la wilaya d'Alger. Cette enquête a permis d'une part, d'actualiser le niveau de séroprévalence de l'infection de la leishmaniose canine, d'évaluer les facteurs de risque associés à la recrudescence de l'infection, et d'identifier les espèces de *Leishmania* en cause. D'autre part, elle a aussi permis d'évaluer la différence de sensibilité de celles-ci aux molécules anti-leishmaniennes et ainsi de mieux comprendre le risque lié au processus de sélection et de transmission de souches résistantes. Des échantillons de sérum ont été prélevés sur 1.810 chiens et testés par trois techniques IFI, ELISA et WB. Les souches ont été identifiées par analyse isoenzymatique. La séroprévalence globale était de 25,03%. Deux zymodèmes ont été identifiés : *L. infantum* MON-1 et *L. infantum* MON-281. L'étude de la sensibilité *in vitro* d'isolats aux deux principales formes de l'antimoine et à l'amphotéricine B démontre que les souches les moins sensibles appartiennent au zymodème *L. infantum* MON-281.

C14- ACTUALITES ENTOMOLOGIQUES DANS LE SUD-EST DE LA FRANCE *Aedes albopictus*, *Cimex lectularius*, *Pyemotes ventricosus*.

DELAUNAY P ¹, DEL GIUDICE P ², BLANC-AMRANE V ³, IZRI A ⁴, PÉRIN Y ⁵,
CHOSIDOW O ⁶ ET MARTY P ¹.

¹ Service de Parasitologie–Mycologie, Hôpital de l'Archet, CHU de Nice ;

² Unité des Maladies Infectieuses et Dermatologie, CHI Fréjus Saint-Raphaël ;

³ Fédération de Biologie, Centre Hospitalier d'Antibes–Juan les Pins ;

⁴ Laboratoire de Parasitologie–Mycologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ;

⁵ Entente Interdépartementale de Démoustication Montpellier ;

⁶ Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil.

Avec le concours de la Direction Générale de la Santé, l'Institut National de Prévention et d'Éducation pour la Santé, les Agences Régionales de Santé, l'Institut National de Veille Sanitaire, les Centres Nationaux de Références des Arboviroses et le Conseil Général des Alpes Maritimes.

E-mail : delaunay.p@chu-nice.fr

Aedes albopictus est communément appelé moustique tigre. *A. albopictus* est en expansion mondiale, favorisée par les transports internationaux des pneus usagés. En France métropolitaine, il s'est définitivement installé : Alpes-Maritimes (2004), Haute-Corse (2006-2007), Var (2007), Bouches du Rhône (2009) et Alpes de Haute-Provence (2010). Suite aux épidémies de chikungunya à la Réunion (2006) et en Italie (2007), le ministère de la Santé a élaboré, en 2006, un plan national anti-dissémination du chikungunya et de la dengue décrivant, entre autres, une conduite à tenir, pour les patients suspects de ces arboviroses au retour d'une zone tropicale. Fin août 2010, 2 cas de dengues autochtones ont été mis en évidence à Nice puis 2 semaines plus tard, 2 cas de chikungunya autochtones à Fréjus. Cette organisation de surveillance a permis de mettre en évidence précocement ces 4 cas et de mettre en place des désinsectisations localisées pour en bloquer l'expansion. ***Cimex lectularius***, ou punaise de lits, est un insecte hématophage inféodé à l'Homme. Sa piqûre nocturne et indolore se traduit par une éruption cutanée prurigineuse. Capable de se déplacer ou d'être transportée par l'Homme, elle envahit préférentiellement les lieux à forte densité humaine et à haute fréquentation. La punaise de lits fuit la lumière la journée, se cachant dans la literie et tous les recoins sombres d'un habitat, et devient active la nuit. La symptomatologie est une série de 5 à 15 lésions maculopapulaires sur les parties découvertes de la peau. Se débarrasser des punaises de lits dans un lieu infesté est difficile. Outre la nuisance constituée par les lésions dermatologiques, la punaise des lits a été soupçonnée d'être un vecteur de maladies infectieuses, soit au cours de la piqûre, soit par simple transport passif. A ce jour, l'ensemble des arguments de la littérature reste insuffisant pour démontrer la transmission effective d'un quelconque agent infectieux par la punaise des lits. ***Pyemotes ventricosus*** : En 2006, une épidémie de dermatite évoquant des piqûres d'arthropodes d'étiologie inconnue avec des caractéristiques inhabituelles (lésions prenant un aspect de trajet linéaire « en comète ») était décrite. En 2007, suite à de nouveaux cas, la présence de *P. ventricosus*, acarien de 200 microns, parasite d'insectes du bois, était mis en évidence au domicile de certains patients. *P. ventricosus*, parasite l'insecte *Anobium punctatum* (coléoptère parasite du bois) et est à l'origine chez l'homme d'une maculo-papule prurigineuse avec parfois, des lésions « en comète ». L'examen au microscope confocal d'une vésicule peut révéler la présence de cet acarien. Cet arthropode était connu au début du siècle pour causer des épidémies de dermatites prurigineuses, chez des sujets manipulant du bois. Il s'agit d'une ectoparasitose estivale émergente, très probablement sous-estimée, sévissant dans le sud de la France. Conclusion : l'entomologie médicale, discipline longtemps négligée a connu durant ces 20 dernières années une perte de spécialistes. Ces derniers cas sont la preuve de l'importance de cette discipline maintenant redevenue indispensable.

C15- DIFFUSION ET CARACTERISATION MOLECULAIRE DES ISOLATS DE *GIARDIA DUODENALIS* CHEZ LES CHIOTS DE CHENIL EN ITALIE CENTRALE

MORGANTI G, VERONESI F ET PIERGILI FIORETTI D.

Dip. Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Sez. Parassitologia – Facoltà di Medicina Veterinaria – Perugia, Italie.

E-mail : morganti.giulia@alice.it

Les objectifs de cette étude concernent ; i) la détermination de la prévalence de *Giardia duodenalis* chez les chiots résidents dans des chenils d'Italie centrale, ii) la définition des facteurs de risque associés à l'infection et ii) la caractérisation génotypique des isolats pour définir leur potentiel zoonotique. L'étude a été réalisée sur 127 chiots logés dans trois niches situés en Italie Centrale. Des échantillons de fèces ont été soumis à une Immunofluorescence directe (IFD) pour rechercher les antigènes de *G. duodenalis*. Les échantillons positifs ont été testés par PCR pour amplifier des fragments ciblant les gènes 16S-rRNA et β -jardin. *G. duodenalis* a été identifié chez 49 animaux; les chiots présents dans l'établissement depuis plus de 21 jours se sont révélés plus sensibles aux infections que les autres, ainsi que ceux présents dans le box où il y avait plusieurs animaux. Parmi les 49 échantillons positifs à l'IFD 36 isolats ont été amplifiés; 30 appartenaient à l'Assemblage D, 4 au type C et 2 ont montré une infection mixte (A-1, D). Malgré la faible incidence du génotype zoonotique, les implications pour la santé publique doivent être considérées en raison du fait que les chiots sont la catégorie préférentiellement confiée à des familles.

C16- INFECTION D'ORIGINE PHYCEIQUE DANS LA MAMMITE BOVINE EN BELGIQUE.

LAGNEAU PE.

Association Régionale de Santé Animale, Mons, Belgique.

E-mail : paulemilelagueau@arsia.be

La mammite bovine due à l'algue achlorophylle du genre *Prototheca* reste une infection rare. Ces dernières années, nous assistons à une augmentation sensible de ce type d'infection en Belgique. Contrairement aux infections bactériennes, cette mammite n'a aucune répercussion sur l'état général de l'animal. Une mammite protothéciale doit être suspectée lorsqu'il y a absence de réponse aux traitements habituels, une chute de la production de lait avec peu ou pas de modification lactée et un très mauvais résultat lors du comptage des cellules somatiques du lait. L'identification des protothèques se base sur l'aspect des colonies en culture («yeast-like»), sur quelques caractéristiques biochimiques et sur l'examen microscopique qui révèle des cellules typiques: ovales, réniformes et contenant un certain nombre d'endospores. *Prototheca zopfii* var II est l'espèce majoritaire dans ce genre d'infection mais on peut également retrouver l'espèce «blaschkae». A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement valable de cette mammite et c'est pourquoi les mesures de prévention sont déterminantes. Il est absolument nécessaire de renforcer les mesures d'hygiène à tous les niveaux de l'exploitation laitière et de bien sélectionner le désinfectant efficace pour maîtriser cette infection particulière. L'application stricte de toutes ces mesures est le seul moyen d'éradiquer efficacement cet agent opportuniste.

C17- CARACTERISATION MOLECULAIRE DE SOUCHES DE PROTOTHECA ISOLEES DE CAS DE MAMMITE BOVINE

AOUAY A, BELAYEW A, CUVELIER P, LAGNEAU P-E ET MULLENDER C.

Université de Mons Hainaut (UMH), Belgique.

E-mail : abdessattar.aouay@yahoo.fr

Prototheca zopfii est une algue microscopique incolore responsable de mammite bovine. Sur la base de l'analyse du gène de l'ARN ribosomal 18S, trois génotypes sont décrits au sein de cette espèce. Pour les différencier, une méthode récente permet le diagnostic de ces génotypes au moyen de l'amplification du rDNA par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP). Sur les trente souches de *Prototheca* isolées de mammite bovine provenant d'exploitations différentes, vingt-sept appartenaient au génotype 2 et trois au génotype 3. La PCR-RFLP permet une identification rapide et précise des génotypes de l'espèce « *zopfii* ».

Session 5 : COMMUNICATIONS LIBRES – DIVERS

C18- ETUDE DE L'INFESTATION PARASITAIRE DE LA PALOURDE

ATTIA-EL HILI H, AL AMRI D, BEN SALAH C, AYARI W, BEN AMOR NAIMA ET DARDOUR H.

Institut National des Sciences et Technologies de la mer, Tunisie.

E-mail : bedia.attia@instm.rnrt.tn

Dans le cadre du Réseau National de Surveillance des Mollusques Bivalves, Un suivi de l'infestation parasitaire de la palourde *Ruditapes decussatus* à *Perkinsus sp.* (protozoaire, Apicomplexa) au niveau de treize zones de production a été effectué depuis l'année 2004. La technique de dépistage utilisée est l'histologie, les prélèvements sont effectués deux fois par an, en hiver et en été. Les résultats obtenus ont montré chez les individus infestés, la présence de réactions inflammatoires parfois très prononcées organisées sous forme de granulomes dans les tissus conjonctifs notamment des branchies. L'étude de l'évolution temporelle des prévalences au niveau de certaines zones de production a montré souvent des différences non significatives avec une tendance à l'augmentation en période hivernale. Cette variation est indépendante de la taille, du sexe, du stade de maturité sexuelle et de la taille de la palourde. L'étude moléculaire préliminaire de certains individus prélevés d'une zone très infestée, la lagune de Bizerte, a montré un profil de restriction identique à *Perkinsus olseni* et ceci après digestion par Rsa 1 et Hinf 1.

C19- ETUDE EXPERIMENTALE DE L'INTERACTION GIARDIA LAMBLIA - BACTERIES LACTIQUES

TRAVERS M.A, GRELLIER P ET FLORENT I.

Muséum National d'Histoire Naturelle, FRE 3206 CNRS, Paris Cedex 05, France.

E-mail : travers@mnhn.fr

Giardia lamblia est un protozoaire flagellé parasite responsable de malabsorption intestinale et de diarrhée chez de nombreux mammifères, ayant un impact vétérinaire et en santé publique très important. Le nombre croissant de cas de giardiose liés à la contamination de l'eau potable, l'importance des effets secondaires des traitements disponibles contre *Giardia*, ainsi que l'émergence de souches résistantes aux médicaments disponibles, justifient pleinement la recherche de traitements alternatifs. Les mécanismes liés à la pathogénie de *Giardia* restent encore énigmatiques, mais la flore microbienne de l'hôte apparaît y jouer un rôle important. Dans ce contexte, notre laboratoire s'intéresse à l'interaction entre *Giardia* et des bactéries lactiques issues de la flore intestinale qui pourraient, via la sécrétion de molécules, contrôler la croissance du parasite. Afin de décrypter les mécanismes moléculaires associés à l'effet inhibiteur de facteurs sécrétés par différentes bactéries lactiques, nous avons initié un projet visant à (1) identifier et caractériser biochimiquement le (les) produit(s) bactériens capables de bloquer la prolifération de *Giardia* (2) étudier la conservation de ces molécules anti-parasitaires au sein des bactéries lactiques ; et (3) déterminer les effets de ces molécules sur la physiologie du parasite.

C20- NOUVELLE ESPECE, *KUDOIA AZEVEDOIA* (MYXOSPOREA: MULTIVALVULIDA) PARASITE DES OVOCYTES DE *TRACHURUS TRACHURUS* (TELEOSTEEN: CARNGIDAE).

MANSOUR L ^{1,2}, CHOURABI K ¹ ET BEN HASSINE O.K ¹.

¹ *Unité de recherche de Biologie Ecologie et Parasitologie des Organismes aquatiques, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire 2092 El Manar Tunis, Tunisie ;*

² *Département des Sciences de la Vie, Faculté des Sciences de Gabes, Cité Riadh, Zirig 6072 Gabès*

E-mail : Lamjed.mansour@gmail.com

Les myxosporidies appartenant au genre *Kudoa* comptent plus de 60 espèces presque entièrement à tropisme musculaire. Nous rapportons une nouvelle espèce *Kudoa azevedoia* sp. n. (Myxosporaea: Multivalvulida) parasites intraovocytaires du chinchard, *Trachurus trachurus* (Téléostéen: Carngidae), en provenance des côtes tunisiennes. La caractérisation structurale et ultrastructurale réalisée sur des spores fraîches montre une forme quadrangulaire avec quatre cellules valvaires de dimensions égales caractéristique du genre *Kudoa*. La phylogénie moléculaire basée sur le séquençage partielle de la petite sous unité de l'ADNr montre une ségrégation de cette myxosporidie de toutes les autres espèces du genre *Kudoa*. L'homologie la plus forte a été observée avec l'espèce *K. quadricornis* (95%) ce qui justifie son statut d'une nouvelle espèce que nous appelons *Kudoa azevedoia* sp.n. Le parasite n'a été observé que chez des individus femelles atteints la maturité sexuelle. Chez ces femelles, le parasite induit une hypertrophie des ovocytes qui se trouvent transformées en plasmodies plypso-raux. La prévalence chez les individus ayant atteint la taille de la maturité sexuelle varie de 0% à 80% selon les saisons et le site de collecte. Ce travail vient compléter la liste des espèces myxosporidiennes parasites de *Trachurus trachurus* rencontrées dans d'autres aires de sa répartition (Atlantique et Méditerranée).

C21- RECHERCHE DE NOUVEAUX MOYENS DE LUTTE CONTRE *NOSEMA CERANAE*, UNE MICROSPORIDIE PARASITE EMERGENT DE L'ABELLE *APIS MELLIFERA*

EL ALAOUÏ H ^{1,2}, POINCLoux D ^{1,2}, DIOGON M ^{1,2}, SAUTEL F3, TEXIER C ^{1,2}, BLOT N ^{1,2}, VIDAU C ^{1,2}, VIGUÈS B ^{1,2}, AUSSEIL F ³ ET DELBAC F ^{1,2}.

¹ *Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, BP 10448, F-63000 CLERMONT-FERRAND ;*

² *CNRS, UMR 6023, LMGE, F-63177 AUBIERE ;*

³ UMS CNRS Pierre Fabre 2646 et 2597, Institut des sciences et Technologies de Médicament, 31 432 Toulouse, France.

E-mail : bicham.el_alaoui@univ-bpclermont.fr

Des pertes massives de colonies d'abeilles domestiques (*Apis mellifera*) sont observées dans le monde entier, ce qui est très préoccupant du fait du rôle important des abeilles en tant que pollinisateurs. Actuellement, la plupart des scientifiques supposent que ces dépeuplements de ruches ont une origine multifactorielle qui impliquerait notamment les pesticides agricoles et des agents pathogènes. La microsporidie *Nosema ceranae*, responsable d'une maladie intestinale appelée nosérose, est fréquemment rencontrée chez les abeilles entraînant des pertes dans les colonies. Les objectifs de notre étude consistent à mettre en place de nouveaux traitements pour lutter contre la nosérose. En effet, la seule molécule utilisée pour le traitement et/ou la prévention de la nosérose (Fumidil B = fumagilline) est désormais interdite en Europe. Nous évaluons l'effet antiparasitaire de différents extraits naturels (microalgues et plantes) sur un modèle microsporidien (*Encephalitozoon cuniculi*) produit en culture cellulaire pour un criblage à haut débit et sur des abeilles infestées par *N. ceranae* pour les produits issus du premier crible les plus intéressants. De façon plus ciblée nous testons également des polysaccharides issus de micro- et macro-algues sur leur capacité à inhiber l'invasion de cellules par *E. cuniculi*. En effet, des glycoprotéines parasitaires sont probablement impliquées dans les processus d'adhésion via des glycoconjugués présents à la surface des cellules-hôtes.

C22- ESSAIS DE VACCINATION ANTI-TIQUE *HYALOMMA DETRITUM* : RESULTATS PRELIMINAIRES

GALAÏ Y ¹, JEDIDI M ¹, BEN SAÏD M ¹, CANALES M ², GHARBI M ¹, MHADHBI M ¹, SASSI L ¹, NIJHOF A ³, JONGEJAN F ³, DE LA FUENTE J ² ET DARGHOUTH MA ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Tunis et Laboratoire d'immunologie, Institut Pasteur de Tunis ;

² Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC, Ronda de Toledo, Ciudad Real, Spain ;

³ Utrecht Centre for Tick-borne Diseases (UCTD), Department of Infectious Diseases and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.

E-mail : yours.galai@pasteur.rms.tn

Au Maghreb, la tique *Hyalomma detritum* est le vecteur du protozoaire *Theileria annulata*, agent d'une grave maladie des bovins, la theilériose tropicale. L'efficacité de la glycoprotéine intestinale Bm86 dans la vaccination contre la tique *Boophilus microplus*, a motivé l'évaluation de cette approche à d'autres espèces de tique. La protéine recombinante Hd86 (rHd86), homologue du Bm86 chez *H. detritum*, a été produite dans un vecteur d'expression *Pichia pastoris*. Des veaux Holstein (n=5) ont reçu trois injections à 0, 4 et 7 semaines de 100 mg de rHd86. Un groupe de veaux témoins (n=5) a reçu uniquement l'adjuvant. Deux semaines après la dernière injection, chaque veau a été infesté avec 25 femelles et 25 mâles de *H. detritum* et 1000 larves. Les paramètres biologiques suivants ont été mesurés: rendement en nymphes et en adultes, poids des femelles, poids des œufs et leur fertilité. Une réduction importante (59 %) du nombre des nymphes récoltées des veaux vaccinés a été notée après vaccination. Cependant, aucun effet n'a été observé sur les tiques adultes. Le vaccin Hd86 est significativement actif contre les seuls stades juvéniles de la tique *H. detritum*.

C23- ANNOTATION FONCTIONNELLE DES GENES DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* : NOUVEAUX OUTILS BIO-INFORMATIQUES DÉVELOPPÉS PAR LE CONSORTIUM PLASMOEXPLORE

FLORENT I ¹, MARÉCHAL E ², GASCUEL O ³ ET BRÉHÉLIN L ³.

¹ FRE3206 CNRS/MNHN, *Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes, Adaptation des Protozoaires à leur Environnement, Paris Cedex 05, France.*

E-mail : florent@mlbn.fr

La lutte contre *Plasmodium falciparum*, l'espèce responsable de 90 % des formes mortelles du paludisme chez l'Homme, a pris une nouvelle direction avec la publication de son génome en 2002. Cependant, les espoirs de faire émerger de nouveaux «candidats de vaccins» ou des «cibles de nouveaux médicaments» ont été déçus par le faible nombre de gènes qui ont pu être annotés sur le plan fonctionnel - moins de 40 %, au moment de la publication de son génome, juste au-delà de 50 %, 8 ans plus tard. Ce gain de 10 % de connaissances résulte des efforts menés par toute la communauté scientifique dans plusieurs directions dont : la production de profils transcriptomiques et protéomiques au cours du développement du parasite et en réponse à des traitements médicamenteux ou stressants, l'étude protéomique de compartiments subcellulaires, le séquençage d'une diversité d'espèces proches du genre *Plasmodium* et dans le genre *Plasmodium* (permettant des comparaisons au niveau de génome entiers) ainsi que le séquençage de nombreuses souches de *P. falciparum* (permettant d'accéder au polymorphisme des gènes). Mais, en parallèle de cette production de données biologiques expérimentales, le développement d'outils bioinformatiques originaux adaptés aux spécificités de *P. falciparum* est rapidement apparu comme une priorité, face aux limitations rencontrées avec les outils classiques, utilisés pourtant avec succès sur d'autres génomes. C'est ce défi que le consortium PlasmExplore, lancé en 2007, s'est proposé de relever. La communication portera sur les améliorations aux méthodes classiques et les développements de méthodes originales nouvelles que le consortium PlasmExplore a mis en œuvre.

Session 6 : TOXOPLASMOSE CONGÉNITALE, ÉPIDÉMIOLOGIE ET DIAGNOSTIC

C24 - ÉVALUATION DU RISQUE DE CONTAMINATION ALIMENTAIRE PAR *TOXOPLASMA GONDII* : VERS DE NOUVEAUX MOYENS DE DÉTECTION

VILLENA I ¹, AUBERT D ¹, THOMAS M ², BLAGA R ² ET BOIREAU P ².

¹ *Faculté de Médecine and CHU (Hôpital Maison Blanche), Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Reims, France ;*

² *Laboratoire National de Référence « Parasites transmis par l'alimentation », AFSSA LERPAZ, Maisons-Alfort, France.*

E-mail : ivillena@chu-reims.fr

La toxoplasmose une zoonose cosmopolite dont la prévalence est variable selon les pays, transmise principalement par contamination alimentaire à partir des kystes de *T. gondii* contenus dans la viande ou des oocystes présents dans les végétaux ou l'eau de consommation. Il est cependant difficile d'estimer les risques sanitaires et économiques réels représentés par l'alimentation et la part de chaque denrée dans la transmission. La prévalence des protozoaires contenus dans l'alimentation est méconnue notamment par absence de méthodes de détection normalisées et du fait d'un manque de données sur le comportement des parasites dans les

différentes matrices alimentaires même si leur résistance à diverses substances ou procédés de fabrication est bien documentée. Afin de renforcer les connaissances sur le risque de contamination lié à la consommation de viande en France, nous avons mené avec l'AFSSA et la DGAL deux enquêtes sur le portage de *T. gondii* chez les ovins et les bovins. Parallèlement, nous avons mis en place un programme de recherche sur la détection des trois principaux protozoaires transmis par l'alimentation (*Cryptosporidium*, *Giardia* et *Toxoplasma*) en partenariat avec divers laboratoires académiques et des industriels de l'alimentation. Le but est de développer une stratégie commune de détection de ces parasites en particulier sur les végétaux et les mollusques.
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments DGAL : Direction Générale de l'Alimentation.

C25- PRODUCTION ET CARACTERISATION D'UN ANTIGENE CHIMERIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT D'UN OUTIL DE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA TOXOPLASMOSE

CHAHED N, BOURATBINE A ET MOUSLI M.

LR05SP03, Equipe « Biomarqueurs et Biotechnologie du diagnostic », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : mobamed.mousli@pasteur.rns.tn

La sérologie toxoplasmique est largement utilisée en pré-natal ou en anténatal pour définir le statut immunologique des parturientes vis-à-vis de la toxoplasmose. Les antigènes employés pour les tests sérologiques *in vitro* sont des mélanges plus ou moins complexes, mal connus, non purifiés, la standardisation est délicate et présente un risque de réactions croisées avec d'autres parasitoses. Dans ce travail, nous avons cherché à concevoir une nouvelle immunochimie basée sur les conjugués immuno-enzymatiques recombinants en utilisant le génie génétique comme moyen de fusion entre les deux entités protéiques : l'antigène SAG1 de *Toxoplasma gondii* et la phosphatase alcaline bactérienne. Cette protéine de fusion chimérique a été produite dans un système d'expression bactérien, directement dans la fraction périplasmique sous la forme soluble. Une fois produite, l'activité de la phosphatase alcaline et la fonction de reconnaissance sérologique de ce conjugué, ont pu être testés par Dot-Blot, Western-Blot et ELISA. Les premiers résultats ont montré que la protéine de fusion recombinante (SAG1-PhoA) est bifonctionnelle et permet une détection des anticorps anti-Toxoplasmose en une seule étape, sans l'usage d'un anticorps secondaire, et présente une bonne sensibilité et spécificité de manière équivalente à d'autres tests de références.

C26- TOXOPLASMOSE CONGENITALE: BILAN DU CENTRE NATIONAL DE REFERENCE (ALGERIE)

BACHI F, GOURBDJI E, TAOURIRT L, BOUDHANE L ET LAZIZI L.

Service Biologie Parasitaire, Institut Pasteur d'Algérie.

E-mail : fbachi2002@yahoo.fr

La prévention de la toxoplasmose congénitale passe par une législation et une bonne prise en charge des séroconversions toxoplasmiques ou des toxoplasmoses évolutives au cours d'une grossesse. En effet, dès que l'atteinte maternelle est confirmée, un diagnostic anténatal est décidé. Ce diagnostic anténatal se fait par une amniocentèse avec inoculation à la souris du liquide amniotique ou recherche du parasite par PCR. Si le diagnostic anténatal est positif le traitement de la gestante devra changer obligatoirement et la rovamycine est remplacée par le fansidar. A l'accouchement, le gynécologue devrait adresser au laboratoire le placenta et le sang du cordon pour une recherche du parasite et 10 jours après un prélèvement de sang de la mère et du nouveau né pour un diagnostic séro-immunologique comparé. Les auteurs se proposent de rapporter le bilan

du Centre National de Référence Toxoplasmose à travers 21 cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués entre Janvier 2002 et Septembre 2010. Durant cette période le CNR Toxoplasmose a fait 43895 sérologies toxoplasmiques dont 142 concernaient des couples mère/enfant, 04 diagnostics anténatals par la recherche de *Toxoplasma gondii* dans le liquide amniotique et 72 recherches du parasite à partir du placenta dans le cadre d'un diagnostic néonatal. Sur les 142 couples mères/enfants, 21 cas de toxoplasmose congénitale ont été confirmés. Dans deux cas le diagnostic a été posé par inoculation du placenta à la souris BalbC et 19 cas par Western Blot. Une étude de ces dossiers est faite sur le plan épidémiologique, clinique et biologique.

C27- TOXOPLASMOSE CONGENITALE: BILAN DE 6 ANS D'ACTIVITE AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

BEN ABDALLAH R, SIALA E, BOUGHATTAS S, SOUISSI O, MAATOUG R, AOUN K ET BOURATBINE A.

Laboratoire Parasitologie-Mycologie, LR 05SP03, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : ismail_rym@yahoo.fr

Nous rapportons le suivi de 141 parturientes ayant fait une primo-infection toxoplasmique au cours de la grossesse. Le diagnostic anténatal et post natal a été assuré chez 98 couples mère-enfant. Vingt deux femmes ont eu uniquement un diagnostic anténatal et 21 n'ont pas eu d'amniocentèse alors leur nouveau né avait bénéficié d'un suivi sérologique. Le diagnostic anténatal a été basé sur la recherche de l'ADN toxoplasmique au niveau du liquide amniotique par PCR TaqMan ciblant le gène B1 et le gène cryptique « Rep 529 pb ». Le bilan sérologique néonatal a comporté la recherche des IgG et des IgM par ELISA, la recherche des IgM par ISAGA et l'étude des profils comparés mère-enfant en Western blot. Chez le premier groupe de 98 parturientes, 2 PCR étaient positives, les 2 nouveau-nés étaient cliniquement indemnes à la naissance. La toxoplasmose congénitale a été diagnostiquée sur le seul diagnostic post natal chez 5 parmi les 96 nouveau-nés pour qui l'amniocentèse à la recherche d'ADN toxoplasmique était négative. Trois avaient une chorioretinite à la naissance. Neuf PCR étaient positives chez les femmes qui n'ont bénéficié que du diagnostic anténatal. Six de ces femmes ont subi une interruption thérapeutique de grossesse et 3 ont été perdues de vue. Chez le 3^{ème} groupe de mères n'ayant pas eu d'amniocentèse, 7 bébés avaient un bilan sérologique évocateur de toxoplasmose congénitale à la naissance. L'analyse génotypique multi-locus de 11 liquides amniotiques a montré que 6 échantillons avaient des génotypes recombinants type I/III, 1 génotype type I, 2 génotypes recombinants type I/II et les 2 restants avaient un mixage de souches I/II et I/III.

C28- TOXOPLASMOSE CONGENITALE EN FRANCE : BILAN DE TROIS ANNEES DE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME DE SURVEILLANCE.

VILLENA I, CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DE LA TOXOPLASMOSE, RESEAU DE SURVEILLANCE TOXOSURV

Faculté de Médecine and CHU (Hôpital Maison Blanche), Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Reims, France.

E-mail : ivillena@chu-reims.fr

La toxoplasmose est généralement une infection bénigne lorsqu'elle est contractée chez l'immunocompétent. Cependant, en cas de transmission materno-fœtale secondaire à une infection acquise en cours de grossesse, *Toxoplasma gondii* peut entraîner une infection congénitale sévère avec avortement, mort in utero, lésions neurologiques ou oculaires. Pour prévenir cette infection congénitale, la France a instauré depuis 1978 un programme national de dépistage de la toxoplasmose chez les femmes enceintes sans évaluation de ce pro-

gramme depuis. En particulier, nous ne disposons pas de données valables sur le nombre annuel de cas au niveau national, ni sur la sévérité de la maladie à la naissance alors que la séroprévalence chez les femmes enceintes diminue régulièrement depuis 30 ans. En 2006, l'Institut National de Veille Sanitaire et le Centre National de Référence de la Toxoplasmose ont recommandé l'instauration d'un système de surveillance basé sur un réseau de laboratoires en charge du diagnostic de cette affection. Ce réseau nommé « Toxosurv » comprend 50 laboratoires incluant l'ensemble des laboratoires du CNR additionné de laboratoires privés volontaires pour participer. Depuis 2007, les laboratoires notifient les cas de toxoplasmose congénitale diagnostiqués annuellement via une base administrée par le CNR fournissant ainsi pour la première fois des données nationales actualisées.

Session 7 : PROTOZOSES DIGESTIVES, EPIDEMIOLOGIE ET CARCINOGENESE

C29- LES PARASIToses INTESTINALES CHEZ LES SUJETS INFECTES PAR LE VIH HOSPITALISES A KINSHASA, REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE DU CONGO

WUMBA R ¹, LONGO-MBENZA B ², MANDINA M ², OUDIO WOBIN T ¹, BILIGUI S ⁴, BRETON J ⁴ ET THELLIER M ³.

Université de Kinshasa, Faculté de Médecine, Département de Médecine Tropicale, Service de Parasitologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, INSERM, Université Pierre et Marie Curie.

E-mail : rogerwumba@yahoo.fr

Afin de déterminer la prévalence et le spectre étiologique des infections parasitaires intestinales chez les sujets Sida hospitalisés à Kinshasa, RDC, une étude prospective, transversale et observationnelle a été réalisée dans les 4 principaux hôpitaux. De novembre 2006 à septembre 2007, un échantillon de selles a été collecté chez 175 patients hospitalisés, âgés de plus de 15 et au stade Sida. Le diagnostic d'espèce des microsporidies a été porté par une technique d'immunofluorescence utilisant des anticorps monoclonaux et la PCR. Le principal diagnostic ayant motivé l'hospitalisation était la diarrhée infectieuse pour 87 patients (49,7 %). Les taux de prévalence des PIO étaient de 9,7 %, 5,1 %, 1,7 % et 0,6 % pour respectivement *Cryptosporidium sp.*, *Enterocytozoon bienersi*, *Isospora belli* et *Encephalitozoon intestinalis*. Si l'on considère les 87 patients diarrhéiques séparément, les taux de prévalences étaient alors de 12,6 %, 4,6 %, 3,4 % et 1,1 %. Les autres PI observés étaient *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* dans 9 cas (5,1 %), *Ascaris lumbricoides* dans 7 cas (4,0 %), *Giardia intestinalis* dans 3 cas (1,7 %), des ankylostomides dans 2 cas (1,1 %), et *Trichiuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* et *Schistosoma mansoni* chez un patient chacun (0,6 %).

C30- PREVALENCE DU PORTAGE PARASITAIRE INTESTINAL CHEZ L'ENFANT SCOLARISE A TIZNIT (MAROC)

LEMKHENTE Z, ERRAMI M, NAOUI H ET LMIMOUNI B.

*Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, BP.1018, Hay Riad, Rabat, Maroc.
E-mail : lemkbentezobra@yahoo.fr*

Les parasitoses intestinales restent très fréquentes chez l'enfant. L'objectif de ce travail est de déterminer la prévalence de l'infestation intestinale chez l'enfant dans la ville de Tiznit et de fournir les données épidémiologiques de transmission les plus pertinentes qui autoriseraient à lancer un programme de lutte. Nous rappor-

tons les résultats d'une étude prospective qui a intéressé les enfants scolarisés de la ville de Tiznit sur une période de 6 mois sans aucun critère de sélection. Chaque écolier a bénéficié d'un examen parasitologique des selles avec un examen direct à l'état frais et un examen après concentration. Durant la période d'étude, 442 enfants scolarisés ont été inclus, 96 enfants (46 filles et 50 garçons) du milieu urbain et 346 (153 garçons et 193 filles) du milieu rural. La recherche de parasite était positive chez 287 enfants soit une prévalence globale de 67,21 %. Dans notre série la prévalence des parasites intestinaux est significativement plus grande en milieu rural qu'en milieu urbain avec respectivement 73,7% et 43,47%. La moitié des enfants parasités est approvisionnée à partir d'eau de « metfia » (56,4%), ce qui illustre l'association statistique significative du portage parasitaire chez l'enfant à Tiznit et la salubrité d'eau de boisson. Les protozoaires habituellement commensaux sont majoritaires dans notre série avec une prévalence 52,42%, *Blastocystis hominis* est le plus fréquemment isolé soit une prévalence 23,41%. *Entamoeba histolytica* et *Giardia intestinalis* occupent respectivement la 1^{ère} et la 2^{ème} place parmi les protozoaires pathogènes avec une prévalence respective 20,6% et 16,86%. L'association parasitaire est notée dans 140 cas soit une prévalence 31,67%. Conclusion : Les résultats de cette enquête montrent la proportion très élevée des enfants parasités à Tiznit et témoignent en premier lieu d'importants problèmes d'hygiène et de distribution d'eau potable auxquels il apparaît essentiel d'opposer rapidement les principales mesures de prévention.

C31- CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES SUJETS INFECTES PAR LE VIH EN TUNISIE : FACTEURS DE RISQUE ET SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE ASSOCIES AUX DIFFERENTES ESPECES DE CRYPTOSPORIDIES

ABDELMALEK R ^{1,2}, ESSID R ¹, AISSA S ², BEN ABDA I ¹, AOUN K ¹, BEN ALAYA N ³, BEN CHAABANE T ² ET BOURATBINE A¹.

¹ LR 05SP03 Institut Pasteur de Tunis ;

² Service des Maladies Infectieuses, Hopital la Rabta, Tunis,

³ Observatoire National des Maladies Emergentes, Tunisie.

Il s'agit d'une étude prospective ayant concerné 108 patients, adultes infectés par le VIH, 56 hommes et 52 femmes qui ont bien voulu répondre à un interrogatoire et donner un échantillon de selle pour analyse parasitologique. Les données de l'interrogatoire concernaient l'origine géographique, la présence d'animaux dans l'entourage, les habitudes culinaires et sexuelles, la symptomatologie clinique et la prise de thérapie anti-rétrovirale. Le taux de CD₄₊ et la charge virale ont été notés pour tous les patients. La recherche de *Cryptosporidium* sp a été entreprise par l'examen microscopique des frottis de selles colorées par la méthode de Ziehl Nielsen modifiée et par la recherche de l'ADN parasitaire par PCR nichée. Le diagnostic d'espèce a été porté sur l'analyse des profils de restriction des produits d'amplification. Parmi les 108 patients, 37 présentaient une diarrhée, parmi eux 27 avaient une diarrhée chronique. Dix neuf échantillons de selles étaient positifs par PCR, parmi lesquels 12 étaient positifs en microscopie. *C. parvum* a été identifié dans 12 échantillons, dont 6 positifs à l'examen microscopique. *C. hominis* a été trouvé dans 6 échantillons, dont 5 positifs à l'examen microscopique et *C. meleagridis* dans 2 cas dont un positif à l'examen microscopique. La présence de *C. hominis* était statistiquement associée au sexe féminin ($p < 0,05$), à un taux de CD₄ très bas (taux moyen de 18/mm³) et à une diarrhée chronique (les 5 cas). La présence de *C. parvum* était statistiquement associée à un taux de CD₄ bas (taux moyen de 55,8/mm³), une charge virale élevée (moyenne de 1200400 copies d'ARN/ml) et une diarrhée chronique (9 échantillons sur 12). *C. meleagridis* n'était pas associé à un facteur de risque particulier ou à la diarrhée.

C32- LA NOPLASIE DIGESTIVE INDUITE PAR CRYPTOSPORIDIUM PARVUM CHEZ LA SOURIS SCID EST-ELLE UN PHENOMENE SOUCHE-DEPENDANT ?

CERTAD G ¹, BENAMROUZ-HAMRAOUI S ², GUYOT K ¹, MOURAY A ³, CHASSAT T ³, DELAIRE B ⁴, PINON A ⁵, SITJA-BOBADILLA A ⁶, ALVAREZ-PELLITERO P ⁶, DEI-CAS E ^{1,7} ET CREUSY C ⁴.

¹ *Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CILL), Institut Pasteur de Lille, Inserm U1019, CNRS UMR 8402, Université Lille Nord de France ;*

² *Laboratoire Environnement et Santé, FLST, Université Catholique de Lille, Université Lille Nord-de-France ;*

³ *Plateau d'Expérimentation Animale, Institut Pasteur de Lille, France ;*

⁴ *Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Groupe Hospitalier de l'Université Catholique de Lille, France ;*

⁵ *Unité de Sécurité Microbiologique, Institut Pasteur de Lille, France ;*

⁶ *Instituto de Acuicultura de Torre la Sal, Ribera de Cabanes, Castellón, Espagne ;*

⁷ *Service d'Parasitologie-Mycologie, CHRU de Lille, Université Lille Nord-de-France, France.*

E-mail : gabriela.certad@pasteur-lille.fr

Nous avons récemment décrit chez un modèle de souris SCID traitée à la dexaméthasone (SCID-D), l'induction d'adénocarcinomes digestifs par *Cryptosporidium parvum*. Afin de déterminer la capacité d'autres espèces et isolats à infecter et à induire des néoplasies gastro-intestinales chez le même modèle, les souris SCID-D ont été inoculées par voie orale avec des oocystes viables de différentes espèces et souches de *Cryptosporidium*. Nous avons noté que ces souris sont réceptives à l'infection par *C. parvum* (souches IOWA et TUM1) et par *C. muris* (souche RN66) et sont non susceptibles aux espèces *C. hominis* et *C. molnari*. Par contre, seul *C. parvum* s'est avéré capable d'induire des néoplasies intra-épithéliales de haut grade et des adénocarcinomes intestinaux. La souche TUM1 s'est montrée particulièrement agressive en induisant une infection fulminante ainsi qu'un développement rapide de lésions néoplasiques. Nous pouvons donc conclure : 1. que la pathogénicité de protistes du genre *Cryptosporidium* présente des variations importantes en fonction des espèces et des souches; 2. que le modèle souris SCID-D permet de mettre en évidence des différences marquantes du pouvoir pathogène d'espèces et souches de *Cryptosporidium*; 3. que la néoplasie gastro-intestinale induite par *C. parvum* n'est pas un processus lié à une souche parasitaire donnée.

C33- CRYPTOSPORIDIUM PARVUM INDUIT-IL UN ADENOCARCINOME INTESTINAL INVASIF CHEZ L'HÔTE IMMUNODEPRIME ?

BENAMROUZ-HAMRAOUI S ^{1,2}, CERTAD G ¹, GUYOT K ¹, MOURAY A ³, CHASSAT T ³, DELAIRE B ⁴, CONSEIL V ², PRAET M ⁵, CUVELIER C ⁵, DEI-CAS E ⁶ ET CREUSY C ⁴.

¹ *Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CILL), Institut Pasteur de Lille, Inserm U1019, CNRS UMR 8402, Université Lille Nord de France ;*

² *Laboratoire Environnement et Santé, FLST, Université Catholique de Lille, Université Lille Nord-de-France ;*

³ *Plateau d'Expérimentation Animale, Institut Pasteur de Lille, France ;*

⁴ *Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Groupe Hospitalier de l'Université Catholique de Lille, France ;*

⁵ *Academic Department of Pathology, Ghent University, Ghent, Belgium ;*

⁶ *Service d'Parasitologie-Mycologie, CHRU de Lille, Université Lille Nord-de-France, France.*

E-mail : sadia.benamrouz@icl-lille.fr

Cryptosporidium parvum induit des adénomes avec des néoplasies intestinales digestives intra-épithéliales de bas et haut grade ainsi que des adénocarcinomes in situ chez les souris SCID traitées à la dexaméthasone

(SCID-D). Afin d'étudier la progression éventuelle de cette néoplasie en adénocarcinome invasif, des souris SCID-D ont été infectées avec 100000 oocystes de *C. parvum* et euthanasiées après un suivi prolongé au-delà de 84 jours post infection (limite de suivi lors des expérimentations précédentes). Des analyses histopathologiques associées à la détection immuno-histochimiques de la réticuline, de la cytotkeratine et de l'alpha actine lisse ont été effectuées. Il a été observé dans la région iléo-caecale des animaux, la présence d'adénomes contenant un grand nombre de parasites. Ces lésions néoplasiques ont montré la présence d'une desmoplasie et de bourgeons de cellules tumorales envahissant le chorion de la muqueuse. En plus de ces éléments histologiques caractéristiques des adénocarcinomes invasifs, les différentes colorations et marquages ont mis en évidence d'autres signes d'invasion, à savoir une membrane basale discontinue, la présence de cellules épithéliales au niveau du stroma et enfin une interruption de la muscularis mucosa. En conclusion, le processus néoplasique induit par *C. parvum* semble progresser vers l'adénocarcinome invasif en passant par différents stades d'évolution.

Session 8 : LEISHMANIOSES : TRAITEMENT ET MOLECULES À VISEE THERAPEUTIQUE

C34- MECANISMES D'INTERACTION DE LA SITAMAQUINE AVEC *LEISHMANIA DONOVANI*

COÏMBRA ES, LIBONG D, COJEAN S, SAINT-PIERRE-CHAZALET M, CHAMINADE P ET LOISEAU P.M.

Groupe Chimiothérapie Antiparasitaire, UMR 8076 CNRS, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud 11, 92290-Châtenay-Malabry, France.

E-mail : philippe.loiseau@u-psud.fr

La sitamaquine est une amino-8-quinoléine en cours de développement au stade clinique phase II pour ses propriétés antileishmaniennes par voie orale. L'étude de son mode d'action passe par une connaissance de sa mécanistique d'accumulation et de localisation intracellulaire. Ainsi l'accumulation de la sitamaquine chez *Leishmania donovani* n'implique pas de transporteur, mais une diffusion selon un gradient électrique, initiée par une interaction électrostatique avec les têtes polaires anioniques des phospholipides puis une interaction hydrophobe entre les chaînes grasses des phospholipides et le noyau quinoléine. L'accumulation intracellulaire de la sitamaquine est rapide, stérol-indépendante et sa localisation essentiellement cytosolique. Par contre, l'efflux de sitamaquine est énergie-dépendant puisque la concentration intracellulaire est augmentée trois fois en l'absence de glucose et l'efflux est inhibé en absence d'énergie. Une analyse RMN du proton des lipides mobiles montre que la sitamaquine n'affecte pas le trafic lipidique chez *L. donovani*. Une étude protéomique en cours précisera les cibles préférentielles de la sitamaquine.

Reference: Coïmbra et al., 2010. Mechanism of interaction of sitamaquine with Leishmania donovani. Journal of Antimicrobial Agents, in press.

C35- EFFET DE 6- MERCAPTOPURINE, CYTOSINE ARABINOFURANOSIDE, AZATHIOPURINE, ET 5 FLUOROURACIL SUR *LEISHMANIA DONOVANI* ET *LEISHMANIA INFANTUM*.

AZZOUZ S ET PETAVY A.F.

Laboratoire de Parasitologie et Mycologie médicale, ISPB-Université Lyon1, Paris.

E-mail : samira.azzouz@recherche.univ-lyon1.fr

Les leishmanioses menacent 350 millions de personnes dans le monde avec plus de 1 million de nouveaux cas chaque année. Cette parasitose est devenue dans certains pays un problème sanitaire d'urgence, surtout que les traitements existants sur le marché sont coûteux, et ont développés des résistances. Dans ce travail nous avons étudié l'effet de la 6- mercaptopurine, la Cytosine, l'Azathiopurine, et le 5 fluorouracil sur les formes promastigotes et amastigotes de *L. donovani* et *L. infantum*. Nous avons utilisé le glucantime, l'allopurinol et l'amphotéricine B comme témoins. Nous avons étudié l'effet antiprolifératif sur les deux formes du parasite et les changements ultrastructuraux sur la forme intracellulaire. La cytotoxicité a été étudiée sur les macrophages, cellules hôtes du parasite, et sur des cellules épithéliales. L'IC50 a été calculé, Les résultats obtenus montrent une basse cytotoxicité des 4 produits sur les 2 lignées. L'effet antiprolifératif des 4 produits a été étudié par microscopie optique. L'Azathiopurine, et le 5 fluorouracil ont montré un effet antiprolifératif important. En microscopie électronique, une importante vacuolisation du cytoplasme et une altération des membranes nucléaire et mitochondriale ont été observées sur la forme amastigote du parasite.

C36- CARACTERISATION FONCTIONNELLE DE LA PROTEINE DISULFIDE ISOMERASE DE *LEISHMANIA* (LMPDI) ET IDENTIFICATION DE NOUVELLES MOLECULES A VISEE THERAPEUTIQUE

BEN KHALAF N ¹, DEMUYLDER G ², RATNAM J ³, KEAN-HOOI ANG K ³, ARKIN M ³, LOUZIR H ¹, MCKERROW J ² ET CHENIK M ¹.

¹ *Laboratoire d'Immunologie Vaccinologie et Genetique Moléculaire (LIVGM), Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.*

E-mail : noureddine.ben.khalaf@gmail.com

Les moyens de lutte contre les leishmanioses sont très limités. Aucun vaccin à usage humain ou vétérinaire n'est disponible et les médicaments sont pour leurs pluparts toxiques, coûteux et plusieurs cas de résistance aux traitements ont été rapportés. Le développement de nouvelles approches chimio-thérapeutiques constitue une priorité pour lutter contre la maladie. C'est dans ce contexte, que nous avons entièrement caractérisé un facteur de virulence de *Leishmania*, la Protein Disulfide Isomerase (LmPDI). Cet enzyme appartient à la famille des thioredoxines et par analogie avec les membres de cette famille, elle pourrait intervenir dans le repliement correct des protéines néo-synthétisées via la formation, la rupture et l'isomérisation des ponts disulfures. Dans cette étude, nous avons tout d'abord démontré que la LmPDI constitue une cible idéale pour le développement de drogues anti-leishmaniennes. Ensuite, nous avons montré que la LmPDI possède les activités oxydo-reductase et chaperonne. Enfin, nous avons réalisé sur des plaques à 384 puits un criblage à haut débit utilisant une banque de 1920 composés chimiques. Fait intéressant, ce criblage a permis d'identifier des molécules capables d'inhiber les activités enzymatiques de la LmPDI et la multiplication des parasites au sein des macrophages infectés.

C37- TRAITEMENT DE LA LEISHMANIOSE CUTANEE EN TUNISIE

BENMOUSLY MLIKA R.

Service de dermatologie Hôpital Habib Thameur, Tunis et LR 05SP03, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : rym.benmously@rns.tn

Les leishmanioses cutanées sont des affections parasitaires fréquentes dans notre pays. Leur pronostic est bon et le préjudice est essentiellement esthétique. En revanche, la prise en charge thérapeutique se heurte à quelques difficultés en raison du caractère endémo-épidémique de l'affection et des effets indésirables de certaines molécules. En Tunisie, le traitement de référence de la leishmaniose cutanée est le Glucantime® (circulaire n°84/ 92 Direction des Soins de Santé de Base). La voie intra-lésionnelle est réservée aux malades porteurs de moins de 5 lésions. La voie générale est réservée aux malades présentant des lésions d'un diamètre supérieur à 4 cm et à ceux qui ont plus de 5 lésions. Cette thérapeutique est efficace, néanmoins, des effets indésirables parfois graves ont récemment été rapportés. La prise en charge de la leishmaniose cutanée en Tunisie se heurte en effet à quelques problèmes en rapport avec la toxicité des dérivés antimoniés notamment chez le sujet âgé, aux localisations particulières (cutanéomuqueuses,..), en cas de contre-indication, d'intolérance ou d'échec des dérivés de l'antimoine. D'autres thérapeutiques peuvent également être utilisées telles que la cryothérapie qui a l'avantage d'être d'un maniement facile et non coûteuse mais douloureuse et il n'existe de pas de protocole national standardisé de son usage au cours de la leishmaniose cutanée. Les dérivés azolés, accrédités de succès dans les leishmanioses cutanées à *Leishmania major* posent essentiellement un problème de coût dans notre pays.

C38- LE TRAITEMENT DES LEISHMANIOSES EN FRANCE : PROPOSITION D'UN REFERENTIEL CONSENSUEL

BUFFET P, ROSENTHAL E, GANGNEUX P, LIGHTBURN E, COUPPIÉ P, MARTY P ET DEDET J.P.

CHU Paris, CHU Nice, CHU Rennes, HIA Marseille, CH Cayenne, CNR Leishmania.

E-mail : parasito@univ-montp1.fr

Le traitement des leishmanioses est difficile, avec des options multiples. A l'occasion d'une journée thématique de la Société de Pathologie exotique, un groupe d'expert a formulé un référentiel consensuel pour la prise en charge thérapeutique des principales formes de leishmanioses pouvant être diagnostiquées en France. Le traitement proposé pour la leishmaniose viscérale (LV) repose sur l'amphotéricine B liposomale (AMBL), selon un schéma différent chez le sujet immunocompétent (5 mg/kg à de J1 à J4 chez l'adulte, et 10 mg/kg à J1 et J2 chez l'enfant) et chez le patient VIH immunodéprimé (30 à 40 mg/kg en dose totale pour le traitement d'attaque, et AMBL ou antimoniates de méglumine (AM) en prophylaxie secondaire). Leishmaniose cutanée (LC) à *L. major* : l'abstention thérapeutique avec surveillance possible ; petit nombre de lésions : AM intra-lésionnel + cryothérapie ; lésions plus nombreuses : fluconazole oral. LC à *L. tropica* et *L. infantum* : AM intralésionnel + cryothérapie. LC à *L. guyanensis* : iséthionate de pentamidine 4 mg/kg/j x 3 sur 5 jours, ou 7 mg/kg unique IM. Leishmaniose à *L. braziliensis* : AM 20 mg SbV/kg/j IV ou IM x 20 jours (LC) ou 28 jours + pentoxyfilline (forme muqueuse). Ces propositions devraient faciliter la standardisation du traitement des leishmanioses en France.

C39- FREQUENCE DE L'AMPLIFICATION DE GENES DE RESISTANCE CHEZ LEISHMANIA

MARY C ¹, FARAUT F ¹, DENIAU M ², DEREURE J ³, AOUN K ⁴, RANQUE S ¹ ET PIARROUX R ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie. Hôpital de la Timone, Marseille, France ;

² UMR 956, UPVM, Hôpital Henri Mondor, Créteil France ;

³ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie Montpellier, France ;

⁴ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : cmary@ap-bm.fr

De nombreux mécanismes de résistance des leishmanies aux dérivés organométalliques ont été décrits *in vitro*, en particulier l'amplification de gènes codant pour des transporteurs ATP dépendants ou concourant à une synthèse accrue de trypanothione. Par contre, nous disposons de très peu de données concernant la fréquence de ce mécanisme au sein des isolats cliniques. Le but de notre travail a été de mettre au point des tests de quantification relative pour les gènes MDR1, PGP A, DHFR, GSH et PTR1 afin de tester l'existence dans la nature et d'apprécier la fréquence de souches, isolées de malades atteints de leishmaniose viscérale, présentant une amplification significative. Quatre vingt dix isolats ont été testés, provenant de 46 sujets atteints de leishmaniose viscérale dont 16 étaient co-infectés par le VIH. Le gène MDR1 était amplifié chez 65% des primo-isolats, la fréquence de l'amplification étant nettement moindre pour les autres gènes étudiés (5% pour PGP A et DHFR et 3% pour GSH et PTR1). Les caractères étudiés sont stables. Ces résultats préliminaires seront complétés en intégrant d'autres gènes de résistance, en étudiant leur niveau d'expression et en recherchant une éventuelle corrélation avec les résultats thérapeutiques notamment dans le Maghreb, où émergent des résistances cliniques.

Session 9 : PROTOZOSES DIGESTIVES : BLASTOCYSTIS

C40- MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DETECTION DE BLASTOCYSTIS PAR PCR QUANTITATIVE SUR DES ECHANTILLONS DE SELLES. APPLICATION AU COURS D'UNE ETUDE PROSPECTIVE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'HEMOPATHIES MALIGNES.

POIRIER P ^{1,2,3,4}, WAWRZYNIAK I ^{2,3}, ALBERT A ⁴, EL ALAOU H ^{2,3}, DELBAC F ^{2,3} ET LIVRELLI V ^{1,4}.

¹ Clermont Université, Université d'Auvergne, JE 2526, Evolution des bactéries pathogènes et susceptibilité de l'hôte, CLERMONT-FERRAND ;

² Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, CLERMONT-FERRAND ;

³ CNRS, UMR 6023, LMGE, F-63177 AUBIERE ;

⁴ CHU Clermont-Ferrand, Service Bactériologie Mycologie Parasitologie, F-63003 Clermont-Ferrand.

E-mail : ppoirier@chu-clermontferrand.fr

Blastocystis est un protiste intestinal cosmopolite, dont 9 sous-types (ST) sont retrouvés chez l'Homme. Son implication en pathologie humaine reste discutée, mais la compréhension de son épidémiologie est limitée par l'absence de méthodes de détection performantes. Nous avons développé un outil de diagnostic par PCR

quantitative (qPCR) sur selles, permettant la quantification et le sous-typage du parasite. Nous avons comparé cette approche par qPCR à l'examen microscopique direct des selles (DLM) ainsi qu'à la coproculture xénique *in vitro* (XVIC) lors d'une étude prospective chez 94 patients atteints d'hétopathies malignes et 92 patients immunocompétents. Comparativement à la qPCR, la sensibilité des méthodes classiques s'est montrée médiocre (DLM, 29% ; XVIC, 52%), certainement due à leur faible capacité à détecter les formes kystiques et certains sous-types parasitaires. La prévalence globale de *Blastocystis* dans les populations étudiées est de 14,5% par qPCR, dont 4% de patients symptomatiques. Étonnamment, nous avons observé une forte prévalence du ST4 (63%) et retrouvé deux sous-types habituellement rencontrés en Asie (ST6 et ST7). En conclusion, cet outil de diagnostic sensible et quantitatif devrait permettre d'envisager de larges études épidémiologiques et ainsi de mieux comprendre la survenue de syndromes digestifs chez certains porteurs de *Blastocystis*.

C41- EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DU PROTISTE PARASITE *BLASTOCYSTIS* DANS LE POURTOUR MEDITERRANEEN

MELONI D, SOUPPART L, SANCIU G, MOUSSA H, BOOROM K, DELHAES L, POIRIER P, EL ALAOUI H, DEI-CAS E, FIORI PL, DELBAC F, DI CAVE D ET VISCOGLIOSI E.

Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Institut Pasteur de Lille, Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents, Inserm U1019, CNRS UMR 8402, Université Lille Nord de France, Lille France ; Department of Biomedical Sciences, Division of Experimental and Clinical Microbiology, University of Sassari, Sassari, Italy; Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Cairo University, Egypt ; Blastocystis Research Foundation, Corvallis, USA ; LMGE, CNRS UMR 6023, Université Blaise Pascal, Aubière France ; Department of Public Health and Cell Biology, University of Rome Ter Vergata, Rome, Italy.

E-mail : dionigia09@botmail.it

Blastocystis est un protiste parasite du tube digestif de nombreux hôtes. Il est d'ailleurs le parasite le plus fréquemment retrouvé dans les selles humaines et serait associé à des troubles digestifs. Il présente de plus une très large diversité génétique puisque plus d'une dizaine de sous-types ont été caractérisés au niveau moléculaire. Compte tenu de son importance potentielle en santé publique, une étude épidémiologique a été menée dans différents pays du pourtour méditerranéen (France, Egypte et Italie). Des selles positives pour *Blastocystis* ont été collectées et le sous-type des isolats a été déterminé par amplification à l'aide d'amorces spécifiques puis séquençage d'un fragment d'environ 600 pb du gène de l'ARNr 18S. Dans la population française analysée, nous avons identifié les sous-types 1, 2, 3, 4 et 7 avec une prédominance nette du sous-type 3. Cette même prédominance est observée en Egypte et Italie. Nous avons également identifié, dans ces populations, plusieurs cas de co-infection par deux sous-types différents. Un cas intéressant de co-infection par 4 sous-types a aussi été mis en évidence. Pour le moment, et au moins dans la série d'isolats collectés en France, il n'y a pas d'élément en faveur d'une corrélation significative entre sous-type génétique et pathogénicité.

C42- SEQUENCE COMPLETE DU GENOME NUCLEAIRE DE *BLASTOCYSTIS SP.*, UN STRAMENOPILE PARASITE DE L'HOMME

ROUSSEL M^{2,3}, DENOEUDE F¹, NOEL B¹, WAWRZYNIAK I^{2,3}, DA SILVA C¹, DIOGON M^{2,3}, VISCOGLIOSI E^{4,5,6,7}, BROCHIER-ARMANET C^{8,9}, COULOUX A¹, POULAIN J¹, SEGURANS B¹, ANTHOUARD V¹, TEXIER C^{2,3}, BLOT N^{2,3}, POIRIER P^{2,3}, NG GEOK CHOO¹⁰, TAN KSW¹⁰, ARTIGUENAVE F¹, JAILLON O¹, AURY JM¹, DELBAC F^{2,3}, WINCKER P¹, VIVARÈS CP^{2,3} ET EL ALAOUI H^{2,3}.

¹ Genoscope (CEA) and CNRS UMR 8030, 91057 Evry, France, and Université d'Evry, 91057 Evry, France ;

² Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement-Clermont-Ferrand, France ;

³ CNRS, UMR 6023, LMGE, F-63177 Aubière, France ;

⁴ Center for Infection and Immunity of Lille, Institut Pasteur de Lille, F-59019 Lille Cedex, France ;

⁵ Inserm U1019, F-59000 Lille Cedex, France ;

⁶ CNRS UMR 8402, F-59021 Lille Cedex, France;

⁷ University Lille-Nord de France, F-59000 Lille Cedex, France ;

⁸ CNRS UPR9043, Institut de Microbiologie de la Méditerranée, Marseille, France ;

⁹ Université de Provence, Aix-Marseille I, Marseille, France ;

¹⁰ Laboratory of Molecular and Cellular Parasitology, Department of Microbiology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore.

E-mail : michael.roussel@univ-bpclermont.fr

Blastocystis sp., fréquemment rencontré dans le tractus gastro-intestinal, est un straménopile parasite de l'homme. Ce microorganisme, parfois responsable de désordres digestifs aigus, pourrait conduire à des syndromes chroniques tels que le syndrome de l'intestin irritable. Des études épidémiologiques ont pu mettre en évidence 9 sous-types chez l'homme, mais sans corrélation directe avec les symptômes rencontrés. Le séquençage du génome d'un isolat sous-type 7 de *Blastocystis* a permis de montrer d'abondants réarrangements génomiques et de caractériser le plus petit génome de straménopile séquencé à ce jour (18,8 Mb). L'acquisition de nombreux gènes par transferts horizontaux est également une caractéristique majeure de ce génome. Bien qu'évoluant en anaérobiose, *Blastocystis sp.* possède des organites originaux (mitochondrion-like organelles, MLO), renfermant un génome circulaire et dans lesquels on retrouve des voies métaboliques classiques aux mitochondries mais avec une chaîne respiratoire et un cycle de Krebs incomplets. L'analyse *in silico* du sécrétome du parasite révèle la présence de gènes codant notamment pour des protéases qui pourraient avoir un effet délétère sur la physiologie de l'hôte. Toutes ces données permettent d'ouvrir plusieurs pistes intéressantes dans l'étude des interactions entre *Blastocystis sp.* et son hôte, et ainsi de mieux comprendre la physiopathologie de ce parasite.

C43- POST-GENOMIQUE DU PARASITE *BLASTOCYSTIS SP.* : IDENTIFICATION DE CYSTEINE PROTÉASES SECRÉTÉES ET POTENTIELLEMENT IMPLIQUÉES DANS LA PATHOGENIE.

WAWRZYNIAK I ^{1,2}, POIRIER P ^{1,2,3,4}, ROUSSEL M ^{1,2}, DELBAC F ^{1,2}, TEXIER C ^{1,2} ET EL ALAOUI H ^{1,2}.

¹ Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, CLERMONT-FERRAND ;

² CNRS, UMR 6023, LMGE, F-63177 AUBIERE

³ Clermont Université, Université d'Auvergne, JE 2526, Evolution des bactéries pathogènes et susceptibilité de l'hôte, CLERMONT-FERRAND ;

⁴ CHU Clermont-Ferrand, Service Bactériologie Mycologie Parasitologie, F-63003 Clermont-Ferrand.

E-mail : ivan.wawrzyniak@univ-bpclermont.fr

Blastocystis sp. est un parasite eucaryote unicellulaire anaérobie présent dans le tractus intestinal de l'homme. Bien que longtemps considéré comme commensal, ce parasite est désormais considéré comme pouvant être impliqué dans des syndromes digestifs aigus ou chroniques comme le syndrome de l'intestin irritable. L'objectif de ce travail est d'identifier des acteurs moléculaires potentiellement impliqués dans l'interaction hôte-pathogène. Ainsi des analyses *in silico* des données génomiques de *Blastocystis sp.* nous ont permis d'identifier vingt deux protéases potentiellement secrétées. Vingt d'entre elles sont des cystéines protéases appartenant aux familles C13 et C1 (classification MEROPS) connues pour jouer un rôle dans les phénomènes de pathogénie chez de nombreux parasites intestinaux. A l'aide de tests enzymatiques en milieu liquide, nous décrivons, pour la première fois, dans les surnageants de culture de *Blastocystis sp.* une activité protéasique principalement de type cystéine protéase. Une cathepsine de type B (320 acides aminés) et une légumaine (397 aa) ont été identifiées par zymogrammes sur gel de gélatine et spectrométrie de masse. La présence d'un site potentiel de clivage de la cathepsine par la légumaine suggère un phénomène de trans-activation entre ces deux enzymes secrétées. Celles-ci pourraient jouer un rôle important dans les interactions avec l'hôte.

COMMUNICATIONS AFFICHEES

P1 : LES LEISHMANIOSES TEGUMENTAIRES A *LEISHMANIA INFANTUM* DU SUD DE LA FRANCE, ETUDE RETROSPECTIVE 1998 - 2007.

PRATLONG L ¹, PRATLONG F ¹, BESSIS D ², MARTY P ³, DEL GIUDICE P ⁴, FARAUT F ⁵ ET DEDET J P ¹.

¹ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CNRL, CHRU de Montpellier, UMR 2724 (CNRS-UMI-IRD) ;*

² *Service de Dermatologie, CHRU de Montpellier ;*

³ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Nice ;*

⁴ *Service de Dermatologie, CHU de Fréjus-St Raphaël ;*

⁵ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Marseille, France.*

E-mail : f-pratlong@chu-montpellier.fr

Dans le Sud de la France, zone endémique de leishmanioses, la seule espèce responsable des cas autochtones est *Leishmania infantum*. Si la leishmaniose viscérale y est relativement fréquente (212 cas sur 240 déclarés sur 10 ans), la leishmaniose cutanée (LC) est sporadique, la leishmaniose muqueuse (LM) exceptionnelle. L'objectif de ce travail est de réaliser une étude rétrospective sur 10 ans des cas de leishmanioses tégumentaires autochtones déclarées au Centre National de Référence des *Leishmania* (CNRL), du point de vue épidémiologique, clinique et thérapeutique. Ce travail a eu pour base les fiches de déclarations de cas faites au CNRL de 1998 à 2007. Les LC et LM représentent respectivement 9,2% (22 /240) et 2,5% (6/240) des leishmanioses. Elles proviennent des foyers : Pyrénées-Orientales, Cévennes, Provence, Alpes-Maritimes. La LC reste sporadique. Si elle est présente dans tous les foyers, son niveau maximal d'endémicité est retrouvé dans les Cévennes. La LM demeure exceptionnelle. Le traitement de la LC par voie systémique reste fréquemment employé : 10 cas sur 22. Sept cas ont été traités par voie locale et cinq ont guéri sans traitement. Les LM ont été traitées par voie systémique. L'évolution des leishmanioses tégumentaires est favorable, avec la guérison de la majorité des patients en quelques mois. Les LC et LM restent des formes mineures. Au cours des 10 dernières années, une très grande diversité de prise en charge thérapeutique des patients, avec des traitements parfois lourds, a été mise en évidence. C'est pourquoi depuis 2006, une structure de conseil thérapeutique téléphonique aux médecins a été mise en place par le CNRL, pour améliorer et uniformiser la prise en charge des patients.

P2 : CARACTERISTIQUES CLINICO-EPIDEMIOLOGIQUES DE LA LEISHMANIOSE CUTANÉE DU SUD- EST TUNISIEN (GOVERNORAT DE TATAOUINE)

BOUSSLIMI N ¹, AOUN K ¹, BEN ABDA I ¹, BEN ALAYA N ², RAOUANE M ³ ET BOURATBINE A ¹.

¹ *LR 05SP03, Laboratoire de Parasitologie, Institut Pasteur de Tunis Tunisie ;*

² *Observatoire National des maladies nouvelles et émergentes, Tunisie ;*

³ *Direction Régionale de la Santé de Tataouine, Tunisie.*

E-mail : nguétari@gmail.com

Afin d'étudier les formes de leishmaniose cutanée (LC) sévissant au Sud-Est tunisien, le diagnostic d'espèce des leishmanies a été réalisé chez 66 patients originaires des délégations Nord du gouvernorat de Tataouine. L'ADN parasitaire a été extrait directement à partir de sérosités prélevées au niveau des lésions cutanées (n=66) et également à partir de promastigotes obtenus à partir de cultures (n=12). L'identification d'espèce a été réalisée en utilisant la PCR-RFLP ciblant la région ITS1 ainsi que le typage iso-enzymatique. *L. tropica* et *L. major* ont été identifiés respectivement dans 31 cas (47%) et 35 cas (53%). Les cas de LC dus à *L. tropica* étaient géographiquement dispersés sur plusieurs villages alors que ceux dus à *L. major* étaient regroupés

dans les nouveaux quartiers du village de Ghomrassen. Les lésions causées par *L. tropica* étaient le plus souvent uniques (83,8%) et situées au niveau de la face (55,8%) alors que les celles dues à *L. major* étaient plutôt multiples (57,1%, $p < 0,001$) et localisées aux membres (83,7%, $p < 0,001$). Pour les 2 espèces, la plupart des lésions sont apparues entre juin et septembre. Cependant la majorité des LC ayant débuté entre Février et Mai étaient causées par *L. tropica* (83,3%, $p < 0,01$) De plus, le délai entre l'apparition des lésions et la consultation était plus long pour les LC dues à *L. tropica* que pour celles causées par *L. major* ($p < 0,05$)

Référence; Bousslimi et al, *Epidemiologic and clinical features of cutaneous leishmaniasis in Southern Tunisia*, Am. J. Trop. Med. Hyg., 2010, (sous presse).

P3 : ETUDE DE 71 CAS DE LEISHMANIOSE VISCERALE DIAGNOSTIQUES AU CHU MUSTAPHA D'ALGER ENTRE 1998 ET 2009.

ZAIT H, FERHANI Y, ACHIR I ET HAMRIOUI B.

CHU Mustapha d'Alger, Algérie.

E-mail : bouria.zait@yaboo.fr

Le but de ce travail est d'étudier les aspects épidémiologiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques de la leishmaniose viscérale (LV). Il s'agit d'une étude rétrospective à propos de 71 cas diagnostiqués au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha d'Alger sur une période de onze ans (1998-2009). L'incidence annuelle a varié de 3 à 12 cas. Une prédominance des cas en hiver (35,2%) et au printemps (36,6%) a été constatée. Les régions les plus touchées étaient celles endémiques du Nord du pays (74,6%) et plus rarement celles steppiques à climat aride ou semi-aride (8,4%). Comme attendu, l'écrasante majorité de notre effectif était infantile (88,7%) ; l'adulte n'est pas cependant épargné (11,2%). Le sex-ratio M/F est de 1,5. Les principaux signes cliniques observés sont : la splénomégalie (83%), la fièvre (77,4%), l'hépatomégalie (57,7%) et la pâleur (43,6%). Les anomalies biologiques prédominantes sont : l'anémie (56,3%), la thrombocytopenie (33,8%) et la leucopénie (28,1%). La confirmation du diagnostic a été apportée principalement par la mise en évidence de formes amastigotes de *Leishmania* dans les frottis de moelle osseuse (85,9% des cas). La sérologie par immunofluorescence indirecte était positive dans 76% des cas ; Elle a permis de retenir le diagnostic dans 10 cas (14%) où la moelle osseuse était négative. Le N-méthylglucamine (Glucantime®) a été prescrit chez 70,4% des patients. Il a été substitué par l'amphotéricine B deoxycholate (Fungizone®) chez 4 patients ayant présenté des effets secondaires ou une stibio-résistance. Quatre décès (5,6%) ont été enregistrés.

Les résultats de notre série révèlent un profil épidémiologique, clinique et thérapeutique classique de la LV. Une baisse de la demande du diagnostic parasitologique de la maladie a été constatée ces dernières années ; Elle s'expliquerait plutôt par une meilleure couverture et prise en charge sanitaire des patients dans les wilayas d'origine qu'à une réelle baisse du nombre de cas.

P4 : EPIDEMIOLOGIE DE LA LEISHMANIOSE VISCERALE DANS LE GOUVERNORAT DE KAIROUAN, TUNISIE (2004-2008)

RKHAMI O, HABBOUL Z, KEBAILI R, BOUZAYENE A, BOURATBINE A, AOUN K & AMRI F.

Service de Pédiatrie, Hôpital de Kairouan, LR 05-SP 03 et Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : zakiababboul@yaboo.fr

La leishmaniose viscérale (LV) est émergente en Tunisie avec une incidence en augmentation et une distribution géographique en extension. Une actualisation des caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques de la maladie est réalisée sur les données de 133 cas recrutés entre 2004 et 2008 au Service de Pédiatrie de l'Hôpital de Kairouan. La LV se confirme une affection de la petite enfance avec 94,6% des cas âgés de moins de 5 ans. Une extension vers les délégations du centre et du Sud du gouvernorat est observée. La fièvre est rapportée par tous les cas et objectivée à l'hospitalisation chez 72,2% d'entre eux. La splénomégalie a été palpée chez 97,7% des cas. Les anomalies de la NFS sont constantes: l'anémie (Hémoglobine < 9 g/dl ; 86,6%), la leucopénie (< 4000/mm³ ; 46,6%) et la thrombopénie (< 100000/mm³ ; 67,7%). La VS était supérieure à 100 chez 39,5% des patients et les γ globulines augmentées chez 42,4% d'entre eux. L'identification des isolats obtenus confirme l'émergence dans la région du zymodème *Leishmania infantum* MON-24 (30,3%). La confrontation des valeurs de certains paramètres (délais de diagnostic, taille de la splénomégalie, mortalité) à celles de séries antérieures révèle une amélioration de la prise en charge des cas. Des efforts restent cependant à faire pour réduire davantage les délais de diagnostic (36 jours en moyenne) et le taux de létalité (5,3%). Les facteurs associés à un mauvais pronostic étant l'hémorragie ($p < 0,01$), la stibio-intoxication (0,017), la leucopénie ($p = 0,038$), l'anémie profonde ($Hb < 6g/dl$, $p = 0,047$) et l'élévation des transaminases hépatiques.

P5 : EMERGENCE DE SOUCHES *L. MAJOR* RESISTANTES AU N-METHYL GLUCAMINE EN ALGERIE.

BENCHERIFA S, EDDAIKRA N, BELKHODJA S, ZIDANE GHARBI A, ZAIDI H, AOUADI H, GARNI R ET HARRAT Z.

Service d'Eco-épidémiologie Parasitaire, Institut Pasteur d'Algérie.

E-mail : bencherifas@yahoo.com

La leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) est largement répandue dans les régions steppiques et sahariennes de l'Algérie. En 2005, 3027 nouveaux cas ont été enregistrés dont 90% dus à *Leishmania major*. Le N-méthyl glucamine (Glucantime®) est le médicament de première intention pour le traitement des leishmanioses en Algérie. Une étude antérieure a fait état de la non réponse de cas de LCZ à ce médicament. Cependant, et malgré sa toxicité, il est toujours utilisé au cours de la LCZ dans notre pays avec des non réponses de plus en plus signalées. Le but de cette étude est d'évaluer la sensibilité *in vitro* de 18 souches de *L. major*, 13 obtenues de lésions actives de LCZ et 5 isolées de rongeurs gerbillidés *Psammomys obesus* (4) et Merions shawi (1), hôtes réservoirs du parasite. Les monocytes humains THP1 ont été utilisés pour le test de sensibilité *in vitro*. Les cellules ont été stimulées avec le Phorbol Myristate Acetate (PMA), puis infectées par les promastigotes des souches à tester selon un rapport parasites/macrophages de 10/1. Après 24h d'incubation à 37°C, des lavages ont été effectués pour débarrasser le milieu des promastigotes libres. Le Glucantime® a été ajouté à quatre concentrations (15, 30, 45, et 60 $\mu g/ml$). Les chambres de culture sont ensuite incubées pendant 48 heures. Après ce délai, du Glucantime frais, aux mêmes concentrations, est ajouté. Les lames sont incubées pendant 72 h supplémentaires. A la fin du test, les lames sont fixées et colorées au Giemsa. Pour chaque concentration de Glucantime®, le nombre des leishmanies survivantes dans 100 cellules Thp1, est comparé au témoin cultivé dans les mêmes conditions sans Glucantime®. Les résultats sont reportés sur une échelle semi-logarithmique pour extrapoler la DI50.

Sur les 18 souches testées, 9 (50%) ont montré un DI50 supérieur au témoin contrôle. Une forte corrélation est observée entre la clinique et les valeurs de sensibilité *in vitro*. Parmi les 9 souches résistantes, 2 obtenues à partir de rongeurs sauvages ont montré une résistance primaire au N-méthyl glucamine.

Cette étude confirme la résistance *in vitro* d'isolats de *L. major* algériens au Glucantime®. Ce résultat préliminaire incite à compléter les investigations et envisager des alternatives thérapeutiques plus efficaces et moins toxiques.

P6 : PRODUCTION D'UNE PROTEINE DE FUSION COLORIMETRIQUE RECOMBINANTE LINJ 16.1750/PHOSPHATASE ALCALINE: APPLICATION POUR LE SERODIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE

HAMMAMI I ET MOUSLI M.

LR05SP03, Equipe « Biomarqueurs et Biotechnologie du diagnostic », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : mobamed.mousli@pasteur.rns.tn

La recherche d'anticorps spécifiques anti-leishmanies reste très utilisé au cours des leishmanioses viscérales. Les techniques sérologiques font appel à des antigènes constitués de parasites entiers ou d'extraits brutes. Leurs sensibilités et leurs spécificités sont variables d'un lot à l'autre. Il est souvent recommandé d'utiliser des protéines pures à partir d'un micro-organisme parasite ce qui n'est pas une tâche facile et le coût réel de la préparation est élevé. Grâce au développement des technologies de l'ADN recombinant, il est possible de produire des antigènes recombinants dans des systèmes d'expression hétérologues, en grande quantité, avec des degrés de pureté très élevés tout en préservant les activités biologiques initiales. Dans ce travail, nous avons cherché à concevoir un nouveau réactif chimérique basé sur les conjugués immuno-enzymatiques recombinants en utilisant le génie génétique comme moyen de fusion entre les 2 entités protéiques: le domaine de répétition de l'antigène Linj16.1750 (D1-Linj) de *Leishmania infantum* et la phosphatase alcaline bactérienne. Cette protéine de fusion a été produite dans *E. coli*, directement dans la fraction périplasmique sous la forme soluble. Une fois exprimé, l'activité de la phosphatase alcaline et la fonction de reconnaissance sérologique de ce conjugué, ont pu être testées. Les premiers résultats montrent que la protéine de fusion recombinante (D1Linj-PhoA) est bi-fonctionnelle et permet une détection rapide des anticorps anti-leishmanie par Dot-Blot en une seule étape et présente une sensibilité et une spécificité comparables aux modèles de références

P7 : APPORT DE LA PCR-RFLP DANS LE DIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE CUTANEE DANS LA REGION DE SFAX

CHEIKHROUHOU F, GHARBI Y, MAKNI F, NEJI S, SELLAMI H, MASMOUDI A, MARRECHCHI S, TURKI H, BOUDAYA S ET AYADI A.

Laboratoire de Parasitologie mycologie CHU Habib Bourguiba Sfax, Service de dermatologie vénéréologie Chu Hédi Chaker Sfax, Tunisie.

E-mail : fatima_cheikbroubou@yahoo.fr

L'objectif de ce travail a été de déterminer l'apport de la PCR-RFLP dans le diagnostic des leishmanioses cutanées (LC) diagnostiquées dans le laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Habib Bourguiba de Sfax sur une période de 4 ans (2006-2009). L'identification moléculaire a été faite par PCR-RFLP directement à partir de prélèvement de sérosités au niveau de la lésion. Nous avons utilisé une paire d'amorces (LITSRI5.8S) ciblant la région ITS1 et la nucléase de restriction Hae III pour la digestion des produits PCR.

Nous avons colligé 167 cas de LC. L'âge moyen était de 29 ans. 85% des patients provenaient de la région de Sfax (Délégations rurales 63,4% et centre ville 36,6%). L'identification moléculaire par PCR pratiquée sur 60 échantillons (30 positifs et 30 négatifs par examen parasitologique) a été concordante avec l'examen direct dans 98,3%. Elle a permis de redresser le diagnostic dans un cas où l'examen direct a été négatif alors que la lésion, évoluant depuis plus d'un an, a été évocatrice de leishmaniose. L'analyse des profils par RFLP a permis d'identifier *Leishmania major* pour 30 prélèvements et *L. killicki* pour un cas originaire de Libye. Les gouvernorats du centre et du sud ouest de la Tunisie demeurent plus touchés par la LC zoonotique due à *L. major*. Le centre ville de Sfax jusque là relativement épargné, a été assez fortement concerné témoignant de l'exten-

sion de la transmission de la maladie. La PCR-RFLP a confirmé que *L. major* est l'espèce en cause de nos cas de leishmaniose. *L. killicki* est décrite en Libye sur les massifs montagneux de Djebel Neffoussa.

P8 : INTERET DE LA PCR EN TEMPS REEL DANS LE DIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE VISCERALE SEVISSANT DANS LE FOYER DE CONSTANTINE

MIHOUBI I ¹, HAFIRASSOU N ², MONBRISON F ³, PICOT S ³, BERCHI S ¹ ET LOUADI K ¹.

Université Mentouri de Constantine. Algérie.

E-mail : miboubii@yaboo.fr

La leishmaniose viscérale (LV) constitue un problème de santé publique aussi bien dans le monde qu'en Algérie. Environ 350 millions de personnes sont exposées au risque avec une incidence de 500 000 cas par an dont 90% concentrés en Inde, Népal, Bangladesh, Soudan et Brésil. La LV est causée par différents complexes dont *Leishmania donovani* dans le sub-continent indien et en Afrique de l'Est (LV anthroponotique) et *L. infantum* dans le bassin méditerranéen. La LV est fréquente dans le nord des 3 pays du Maghreb. En Algérie, elle s'étend sur toute la partie nord au niveau des étages bioclimatiques humide et sub-humide. On dénombre environ 400 nouveaux cas par an. Dans le foyer de Tizi Ouzou qui reste très actif, la maladie est responsable de 6% de décès. Le diagnostic de la LV repose sur des techniques de routine : examen direct (ED), culture et sérologie, qui en raison de plusieurs facteurs, peuvent manquer de sensibilité. La biologie moléculaire, plus rapide et plus sensible, a montré son apport dans le diagnostic de la LV. Le but de cette étude est de démontrer l'apport de la Polymerase Chain Reaction en temps réel (RT-PCR) dans le diagnostic de la LV en comparant ses résultats avec ceux de l'ED. Les résultats obtenus montrent que la PCR présente une sensibilité de 53% contre 23% pour la microscopie.

P9 : INTERET DE LA PCR EN TEMPS REEL ET DE LA PCR-RFLP POUR L'IDENTIFICATION DES ESPECES RESPONSABLES DE LEISHMANIOSES CUTANÉES EN TUNISIE.

BEN ABDAI ^{1,2}, DE MONBRISON F ², BOUSSLIMI N ¹, AOUN K ¹, BOURATBINE A ¹ ET PICOT S ².

¹ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie et (LR 05 SP 03), Institut Pasteur de Tunis ;*

² *Service Paludisme, Parasites du sang et Mycologie Médicale, Hospices Civils de Lyon, France.*

E-mail : benabda.imen@botmail.fr

En Tunisie, les leishmanioses cutanées (LC) sont des parasitoses endémiques. Elles sont causées par 3 espèces *Leishmania (L.) major*, *L. infantum*, et *L. killicki (L. tropica MON-8)*. Pour identifier ces espèces, le typage iso-enzymatique reste la référence mais il s'agit d'une méthode longue et nécessitant une culture du parasite. Pour palier à ces problèmes, les techniques de biologie moléculaire sont de plus en plus utilisées. L'objectif de notre travail est d'évaluer la PCR en temps réel (RT-PCR) et la PCR-RFLP pour l'identification des espèces de *Leishmania* responsables de LC en Tunisie. L'ADN a été extrait de 27 prélèvements cutanés dont l'examen direct a mis en évidence des formes amastigotes. La PCR-RFLP a été effectuée à l'Institut Pasteur de Tunis, Tunisie et la RT-PCR au Service Paludisme-Parasites du Sang, Lyon, France en utilisant respectivement des amorces ciblant la région ITS-1 et l'ADN kinétoplastique. Les 3 espèces *L. major*, *L. infantum*, et *L. tropica* ont été identifiés par les 2 techniques. L'identification des espèces a été obtenue dans 81,5% (22/27 échantillons)

par RT-PCR et dans 96, 3 % (26/27) par PCR-RFLP. Les résultats sont concordants dans 70% des cas (19/27) et correspondent aux résultats du typage iso-enzymatique ou du séquençage. La PCR RFLP et la RT-PCR peuvent être une alternative au typage iso-enzymatique pour l'identification des espèces de Leishmanie à partir de prélèvements cutanés.

P10 : EXPLORATION PHYLOGENETIQUE DES POPULATIONS DE RONGEURS DU GENRE *PSAMMOMYS* (RESERVOIRS DE *LEISHMANIA MAJOR*) EN TUNISIE.

AYARI C, CHAOUCH M, DRISS M, CHAMKHI J ET BENABDERRAZAK S.

Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaire, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

E-mail : souba.benabderrazak@pasteur.rns.tn

Pour le genre *Psammomys*, il est généralement admis, sur toute son aire de répartition, que ce genre n'est représenté que par une seule espèce : *P. obesus* (Cretzschmar, 1828). Cependant, d'autres auteurs ont décrit, sans le confirmer, une seconde espèce en Libye (Thomas 1925), *P. vexillaris*, ainsi qu'une sous espèce en Algérie, *P. v. edusa*. En Tunisie, Cockrum et al (1977) aurait capturé et décrit 3 spécimens de *P. vexillaris* dans la région de Tozeur. Les travaux de BenHamou et al (2006) ont confirmé l'existence de *P. vexillaris* dans la région de Faouar. L'objectif de ce travail est de déterminer la structure des populations de ces rongeurs en Tunisie, basée sur des données biochimiques (iso-enzyme) et moléculaires (séquençage d'un gène mitochondrial: le cytochrome b). Les résultats de ces travaux nous permettent d'affirmer que les 2 espèces occupent des étages bioclimatiques différents. *P. obesus* se rencontre dans le centre et le sud du pays alors que *P. vexillaris* a une distribution strictement septentrionale ; ces deux espèces pouvant cependant vivre en sympatrie. Elles sont morphologiquement et phénotypiquement différentes mais restent toutefois difficilement distinguables. La compréhension du mécanisme de la relation hôte-parasite et son rapport avec l'apparition des zoonoses est d'une importance capitale, et constitue la base de la détermination des zoonoses vectorielles. Ceci exige une détermination taxinomique exacte de l'hôte, du parasite et du vecteur. Par conséquent, l'enquête éco-épidémiologique relative à la structure des populations du système réservoir est une condition sine qua non pour la définition de stratégies efficaces de prévention, de contrôle et de lutte.

P11 : ETAT ACTUEL DE LA LEISHMANIOSE CANINE A MONASTIR : IMPACT DU CHIEN DE CHASSE DANS L'EMERGENCE DE LA MALADIE

CHARGUI N ¹, JAOUADI K ¹, GORCII M ^{1,2}, HAOUAS N ¹, LAABIDI S ², ARAOUD S ², KALBOUSI F ², MEZHOUD H ¹ & BABBA H ¹.

¹ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie. 99 -UR/08-05- Monastir ;*

² *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie à l'EPS Fattouma Bourguiba- Monastir, Tunisie.*

E-mail : najla_cb@yahoo.fr

Le chien constitue l'unique réservoir de la leishmaniose viscérale en Tunisie qui est en continuelle extension du Nord vers le centre et sud du pays. L'étude de la leishmaniose canine s'avère nécessaire pour suivre la prévalence de cette maladie dans les foyers classiques et la détection de nouveaux foyers. Nous avons cherché la leishmaniose chez 66 chiens de chasse collectés dans différentes délégations de Monastir. Des techniques biologique et moléculaire ont été utilisées pour le diagnostic de la leishmaniose (IFI, PCR). Au total, dix échantillons étaient positifs par au moins une technique. L'ADN leishmanien a été détecté et identifié chez

sept chiens par méthode moléculaire (PCR et SSCP). En effet, seul *L. infantum* a été identifié chez les chiens dont trois était asymptomatiques. Ainsi, nous retenons une prévalence de 15% qui est relativement élevée dans une région qui a resté longtemps indemne de cette maladie. Cet état est du à la fois aux changements climatiques qui favorisent la multiplication du phlébotome mais surtout aux mouvements de chiens de chasse dans des zones d'endémie où ils peuvent être infectés et transmettre la maladie à d'autres chiens et aussi à l'homme et peut aller jusqu'à créer un nouveau foyer de leishmaniose.

P12 : LEISHMANIA INFANTUM MON-80 EN TUNISIE

CHOUHI E ¹, ALOUI D ¹, BENIKHLEF R ², BEN SGHAIER I ¹, KALLEL A ¹, AMRI F ³, BOUFADEN I ⁴, BEDOUI K ⁴, HARRAT Z ², BOURATBINE A ¹ ET AOUN K ¹.

¹ LR 05-SP-03, Laboratoire de Parasitologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ;

² Service d'Eco-épidémiologie Parasitaire, Institut Pasteur d'Alger, Algérie ;

³ Service de Pédiatrie, Hôp Régional de Kairouan, Tunisie ;

⁴ Service Vétérinaire et d'Hygiène alimentaire, Ministère de l'Intérieur, Tunisie.

E-mail : emirachouibi@yaboo.fr

Leishmania (L.) infantum MON-80 est considéré comme un zymodème rare au sein du complexe *L. infantum*. Il a été incriminé dans des cas sporadiques de leishmaniose viscérale (LV) et leishmaniose cutanée (LC) dans le bassin méditerranéen; Il semblerait cependant plus fréquent en Tunisie. Ce travail rapporte les résultats de l'identification iso-enzymatique, selon la méthode de Rioux et al, de 202 isolats de *L. infantum* collectés au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'IPT. Ces isolats proviennent de 83 patients atteints de LV, 20 cas de LC et 99 chiens. *L. infantum* MON-80 a été identifié dans 13 cas soit une proportion globale de 6,4%. Les prévalences respectives au cours des 3 pathologies sus citées sont de 9,6% (LV), 10% (LC) et 3% (*L. canine*). *L. infantum* MON-80 se confirme un zymodème non exceptionnel en Tunisie. Il est également identifié pour la 1^{ère} fois chez le chien qui en serait le réservoir.

P13 : SUCEPTIBILITE IN VITRO DES SOUCHES DE L. INFANTUM (MON-1 AND MON-281) ISOLEES EN MILIEU URBAIN D'ALGER AUX 2 PRINCIPALES FORMES D'ANTIMONIES (SBV AND SBIII) ET A L'AMPHOTERICINE B

AÏT-OUDHIA K, GAZANION E, SERENO D, OURY B, PRATLONG F, DEDET JP ET LACHAUD L.

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie.

E-mail : k.aitoudbia@gmail.com

La sélection de souches de *Leishmania* résistantes aux antimoniés pourrait poser un véritable problème de santé publique, principalement due au fait de leur transmission à l'homme. Dans ce contexte un aperçu de la sensibilité aux antimoniés de 24 souches de *L. infantum* isolées de chiens, appartenant à deux zymodèmes différents (MON-1 et MON-281) et n'ayant subi aucune pression médicamenteuse a montré que les souches de *L. infantum* les moins sensibles aux antimoniés appartiennent toutes au zymodème MON-281 qui est relativement rare. Nos données fournissent des preuves que la présence de souches de *L. infantum* a sensibilité réduite aux antimoniés circulent dans la région du grand Alger et ceci en l'absence de pression thérapeutique. Ainsi, lors de la mise en oeuvre de campagne de traitement des chiens par les antimoniés, il faudra tenir compte des risques d'échec au traitement lié à la transmission de souches appartenant au zymodème MON-281.

P14 : CARACTERISATION MOLECULAIRE DE DEUX ESPECES APPARENTEES DE PHLEBOTOME: *PHLEBOTOMUS CHABAUDI* CROSET, ABONNENC ET RIOUX 1970 ET *P. RIOUXI* DEPAQUIT, KILLICK-KENDRICK ET LEGER 1998.

BOUDABOUS R ¹, BOUNAMOUS A ^{2,3}, JOUET D ², DEPAQUIT J ², AUGOT D ², FERTÉ H ², BERCHI S ⁴, COULOUX A ⁵, VEUILLE M ⁶ ET BABBA H ¹.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Pharmacie. 99-UR/08-05- Monastir, Tunisie.

E-mail : rajaboudabous@yahoo.fr

En Tunisie, la leishmaniose est devenue un problème de santé publique. En effet, trois espèces de *leishmania* coexistent sous des caractéristiques écologiques particulières et causent la leishmaniose viscérale et cutanée humaine. Elle est transmise par toute une série d'espèces de phlébotomes classées dans les sous-genres *Phlebotomus*, *Larrousius* et *Paraphlebotomus*. Les espèces phlébotomiennes du même sous-genre se confinent le plus souvent, dans des aires géographiques bien limitées. Ces espèces se caractérisent par la difficulté de distinguer les femelles du même sous-genre surtout lorsqu'elles coexistent dans une même aire géographique. En effet, en Tunisie dans le sous-genre *Paraphlebotomus* Theodor, 1948 et pour les femelles de *P. chabaudi* Croset, Abonnenc & Rioux, 1970 et *P. riouxi* Depaquit, Killick-Kendrick & Léger, 1998, le diagnostic morphologique spécifique est difficile voire même impossible entre ces espèces affines. Ces femelles sont des vecteurs suspectés de *Leishmania killicki* Rioux, Lanotte & Pratlong, 1986 dans plusieurs foyers en Tunisie. Dès lors, l'identification précise des femelles de *P. riouxi* et de *P. chabaudi* s'avérait nécessaire par un éventuel typage moléculaire. Dans la présente étude, nous avons essayé d'évaluer les fragments des gènes codant pour la sous-unité oxydase I du cytochrome C (COI) et celui codant pour le cytochrome b (Cyt b) comme marqueurs de référence pour l'identification de *P. chabaudi* et *P. chabaudi* par (PCR-RFLP).

P15 : ETUDE DE LA DIVERSITE DE LA FAUNE PHLEBOTOMIENNE DANS LE FOYER DE LEISHMANIOSE CUTANEE A *LEISHMANIA KILLICKI* (*L. TROPICA* MON-8) DU SUD-EST TUNISIEN

TABBABI A ¹, RHIM A ¹, AOUN K ¹, GHRAB J ¹, MAHAMDALLIE S ², MARTIN O ², RAOUANE M ³, READY P ² ET BOURATBINE A ¹.

¹ LR 05SP03, Laboratoire de Parasitologie, Institut Pasteur de Tunis ;

² Molecular Systematics Laboratory, Dept. Entomology, Natural History Museum, London ;

³ Direction régionale de la Santé Publique de Tataouine, Tunisie.

E-mail : tabbabiabmed@gmail.com

L'objectif de l'étude est d'étudier la diversité des espèces phlébotomiennes du foyer de leishmaniose cutanée à *Leishmania killicki* (synonyme *L. tropica* MON8) du Sud-Est tunisien. Durant les deux saisons estivales 2009 et 2010, 1557 phlébotomes ont été capturés par des pièges de type CDC dans différents sites anthropisés, semi-naturel et naturel de la région de Ghomrassen, Tataouine. L'identification d'espèce a été entreprise sur l'examen morphologique des échantillons. L'étude morphologique de 21 spécimens de *P. chabaudi* / *P. riouxi* a été complétée par une étude du polymorphisme moléculaire de deux marqueurs mitochondriaux (cytochrome b). Les identifications moléculaires ont montré la présence exclusive de *P. riouxi*. L'étude de la répartition de la faune phlébotomienne en fonction des sites et des habitats montre une condensation quantitative dans les abris d'animaux et une condensation qualitative dans le site semi-sauvage, sauvage, l'intra et l'extra habitation. Quatre espèces du sous genre *Paraphlebotomus* ont été identifiées morphologiquement. *Phlebotomus sergenti* était l'espèce dominante en intra-habitation alors que l'espèce *P. riouxi* était l'espèce dominante dans les biotopes de goundis.

P16 : LA LEISHMANIOSE CUTANEE CHRONIQUE A *L. KILLICKI* DANS LE FOYER ÉMERGENT DE METLAOUI : ETUDE DE LA POPULATION PHLEBOTOMIENNE ET DE SA PREFERENCE TROPHIQUE

CHAARA D ¹, JAOUADI K ¹, HAOUAS N ¹, GORCII M ¹, KIDAR A ², TLIJANI S ³ ET BABBA H ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie code 99UR/08-05, Faculté de Pharmacie, 5000 Monastir, Tunisie ;

² Service dermatologie, Hôpital Régional de Gafsa, Tunisie ;

³ Direction de Soins de Santé de Base, Gafsa, Tunisie.

E-mail : dbekra.chaara@laposte.net

En Tunisie, la leishmaniose cutanée à *L. killicki* sévissait dans un micro-foyer du Sud-Est. Depuis 2004, cette forme a montré un début d'extension vers d'autres foyers du Sud-Ouest, du Centre et du Nord. Le vecteur et le réservoir de cette espèce sont encore inconnus. Ainsi et afin d'avoir plus de renseignements sur son cycle de transmission, une étude entomologique a été effectuée dans un foyer émergent de Métlouï. Ainsi, 1816 phlébotomes dont 214 femelles gorgés ont été capturés et identifiés morphologiquement. De même et dans le but d'avoir plus de renseignements sur les réservoirs potentiels de *L. killicki*, nous avons étudié les préférences trophiques des phlébotomes femelles gorgés selon le protocole de Haouas et al 2007. Ainsi, nous avons identifié deux genres et sept espèces. *Phlebotomus papatasi* étant la plus dominante (83,91%), suivie de *S. minuta* (12,61%), *S. fallax* (1,7%), *P. sergenti* (1,25%), *S. dreyfussi* (0,33%), *P. cbabaudi* (0,11%), *P. longicuspis* (0,05%). L'analyse du repas sanguin des femelles a permis d'identifier huit espèces de mammifère dont l'*Ovis aries*, *Homo sapiens* et *Bos taurus*. Cette étude a montré une structure de la population phlébotomienne différente de celle du foyer originel avec la présence de *P. sergenti* l'espèce suspectée être le vecteur de transmission de *L. killicki*. L'étude des préférences trophiques doit être complétée par une détection du parasite chez les mammifères identifiés afin de confirmer leur implication dans la transmission de *L. killicki*.

P17 : PHLEBOTOMUS SERGENTI (PARROT, 1917), VECTEUR CONFIRME DE LEISHMANIA KILLICKI EN ALGERIE

BOUBIDI SC ¹, BENALLAL K ¹, BOUDRISSA A ¹, BOUIBA L ¹, BOUCHARB B ², GARNI R ¹, BOURATBINE A ³, RAVEL C ⁴, PECKOVA J ⁵, DVORAK V ⁵, VOTYPKA J ⁵, VOLF P ⁵ & HARRAT Z ¹.

¹ Service d'Eco-Epidémiologie Parasitaire, Institut Pasteur, Alger, Algérie ;

² Service de Prévention, Ghardaïa, Algérie ;

³ Service de Parasitologie et de Mycologie Médicale, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie ;

⁴ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Montpellier, France ;

⁵ Département de Parasitologie, Université Charles de Prague, Faculté de Science, République Tchèque.

E-mail : sboubidi@pasteur.dz

La transmission de la leishmaniose cutanée (LC) causée par *Leishmania killicki* a été étudiée à Ghardaïa (Sud algérien) considérée comme un foyer important de LC depuis l'épisode épidémique de 2005. Dans la présente étude, nous rapportons pour la première fois la preuve que le vecteur de *L. killicki* dans cette région est *Phlebotomus sergenti*. Durant deux saisons, 2008 et 2009, 3717 phlébotomes appartenant à 12 espèces différentes ont été capturés avec des papiers adhésifs et des pièges lumineux CDC. L'étude a été réalisée selon un transect à travers la vallée de Ghardaïa comprenant 3 sites de captures: urbain, rural et sauvage. Les phlébotomes femelles, capturées au niveau du biotope du rongeur Massoutiera mزابي ont été disséquées pour la

recherche du parasite *Leishmania*. Trois sur 74 femelles disséquées de *P. sergenti* (4%) ont été trouvées infectées par des promastigotes de *Leishmania*. L'identification des parasites par PCR-RFLP et le séquençage de sept copies uniques des séquences codantes d'ADN a révélé qu'elles appartenaient à *L. killicki*. La compétence vectorielle de *P. sergenti* pour *L. killicki* a également été confirmée par une infection expérimentale. Nos résultats suggèrent fortement que la leishmaniose cutanée causée par *L. killicki* est une zoonose ayant *P. sergenti* comme vecteur et le Gundi M. mzabi comme réservoirs.

P 18 : PCR-TEMPERATURE GRADIENT GEL ELECTROPHORESIS (TGGE) OF 16 S RDNA GENE FRAGMENTS TO IDENTIFY BACTERIAL FLORA FROM ISOLATED GUT OF PHLEBOTOMINE SANDFLIES (DIPTERA : PSYCHODIDAE)

GUERNAOUI S ¹, GARCIA D ¹, GAZANION E ¹, OUHDOUCH Y ², BOUMEZZOUGH A ³, PESSON B ⁴, FONTENILLE D ¹ ET SERENO D ¹.

¹ UR016 Institut de Recherche pour le Développement BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, Montpellier, France.

E-mail : guernaouis@gmail.com

Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TGGE) based fingerprinting of 16S rDNA PCR fragments was used to assess bacterial composition, in a single isolated sandfly gut. Bacterial content was studied in different life stages of a laboratory-reared colony of *Plebotomus duboscqi* and in a wild caught *P. papatasi* population. Chloroflexi spp. was dominant in the gut of sandflies pre-imaginal stages, although Microbacterium spp. and another yet unidentified bacteria were detected. Interestingly, *Microbacterium spp.* was found in all the adult sandflies gut of both species. This study demonstrates that a major reorganization in the gut bacterial community occurs during metamorphosis of sandflies. It pinpoints that the analysis of bacterial diversity in an individualized sandfly gut is amenable with fingerprinting of 16S rDNA which will be of great help to investigate the behaviour of the *Leishmania*-bacterial community in their ecological context.

P19 : CARACTERISATION FONCTIONNELLE ET IMMUNOLOGIQUE DE NOUVELLES PROTEINES EXCRETEES/SECRETEES DU PARASITE LEISHMANIA

DRINI S, BEN KHALAF N, KHARMACHI H ET CHENIK M.

Equipe interactions parasite- hôtes et caractérisation de biomolécules parasitaires à visée vaccinale et thérapeutique, Institut Pasteur de Tunis.

E-mail : simadrini@hotmail.com

Dans le but d'identifier de nouveaux outils de lutte contre les leishmanioses, nous avons axé notre travail de recherche sur la caractérisation des molécules excrétées/sécrétées par *Leishmania*. En effet, plusieurs études ont démontré chez d'autres pathogènes l'importance de ce type de protéines dans l'identification de nouveaux outils de vaccination, de drogues et de diagnostic. Dans ce travail, nous avons caractérisé 4 nouvelles protéines potentiellement excrétées/sécrétées par *Leishmania* (P15, P23, P74 et P77) en identifiant leurs séquences et fonctions potentielles. Nous les avons ensuite synthétisées dans *E. coli* et purifiées. A l'aide d'anticorps polyclonaux spécifiques de nos protéines recombinantes, nous avons détecté la présence de ces molécules natives aussi bien au stade promastigote qu'amastigote et défini leurs localisations au sein du parasite, par immunoblot et par immunofluorescence respectivement. Nous avons ensuite évalué leur potentiel vaccinant dans le modèle expérimental murin. Dans le modèle murin, deux molécules (P74 et P15) ont été testées. Nous avons démontré que ces protéines exacerbent de façon très significative la maladie chez les souris immunisées puis infectées. Enfin, nous avons analysé au cours de la leishmaniose viscérale humaine la

réponse anticorps induite vis-à-vis des protéines. Ces molécules ne semblent pas constituer des cibles de la réponse humorale.

P20 : ANALYSE DE LA REPOSE IMMUNE INDUITE PAR DES COMPOSANTS DE LA SALIVE DU PHLEBOTOME, CHEZ DES INDIVIDUS VIVANT EN ZONE D'ENDEMICITE POUR *LEISHMANIA MAJOR*

KAMMOUN W¹, GARNAOUI A¹, ABDELADHIM M², BEN SALAH A³, ZHIOUA E⁴
ET LOUZIR H^{1,2}.

¹ *Laboratoire d'Immunologie, Vaccinologie et de Génétique Moléculaire, Institut Pasteur de Tunis ;*

² *Laboratoire d'Immunologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis ;*

³ *Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaire, Institut Pasteur de Tunis ;*

⁴ *Laboratoire d'Ecologie des systèmes vectoriels, Institut Pasteur de Tunis.*

Nous avons analysé les réponses humorales et cellulaires développées en réponse aux GS, chez des individus vivant dans des zones d'endémie pour *Leishmania major* (*L.m*), dans le but d'identifier des corrélations entre profils de réponses immunes et expression clinique de l'infection. La prolifération cellulaire et le dosage de l'IFN γ et de l'IL10 ont été évalués en réponse à une stimulation par des extraits de GS, en présence ou non d'un anticorps anti-IL10, chez 418 individus répartis sur des foyers d'endémies variables au niveau épidémiologique et risque de transmission (foyer ancien (FA), intermédiaire (FI) ou émergent (FE)). Nous avons observé une augmentation du pourcentage d'individus montrant une prolifération positive ainsi que des taux significativement élevés d'IFN γ , en réponse à une stimulation par SGE+anti-IL10, dans FA et FI. L'IL10 n'a pas été détectée. Ces résultats suggèrent la présence d'une réponse cellulaire de type TH2 développée contre les GS chez des individus vivant dans des foyers d'endémie anciens pour *L. major*. L'analyse de la réponse humorale chez 795 individus a montré que la moyenne des DO observée chez les individus vivant en FA et FI était significativement plus élevée par rapport à celle observée chez les individus vivant en FE. Ceci serait probablement le reflet d'expositions répétées aux piqûres de phlébotomes.

P21 : ASPECTS CLINIQUES DU PALUDISME D'IMPORTATION A L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT

EL WARTITI MA¹, THELLIER M², ENNEFFAH W¹, EL MELLOUKI W¹ ET
LMIMOUNI B¹.

¹ *Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat, Maroc ;*

² *Service de Parasitologie Mycologie, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France.*

E-mail : adnane7@yahoo.fr

Le dernier cas de paludisme autochtone ayant été enregistré en 2004. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a inscrit, en mai 2010, le Maroc sur la liste des pays ayant éliminé le paludisme. Cependant, l'intensification des échanges avec l'Afrique subsaharienne (coopération militaire, tourisme, immigration) s'est accompagnée depuis d'une augmentation de l'incidence annuelle des cas de paludisme d'importation. Cet élargissement du réservoir potentiel de parasite associé à la persistance de l'anophélisme pose le problème de la reprise de la transmission autochtone de la maladie. Une étude prospective a intéressé du 1er Janvier 2000 au 15 Novembre 2009 tous les patients avec une demande de recherche de *Plasmodium* dans le sang dans le laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat. Les données sont collectées sur une fiche standardisée comportant également des paramètres démographiques et épidémiologiques. La saisie informatique est réalisée avec le logiciel Microsoft® Excel 2007. Les analyses

statistiques sont effectuées avec le logiciel SPSS Base pour Windows version 10. Cent quarante cinq cas de paludisme ont été répertoriés. Les accès simples (N=123) ont représenté 84,8% des cas, les accès graves (N=19) 13,1% et le paludisme viscéral évolutif (N=3) 2,1%. La fièvre (83,4%) et les troubles digestifs (66,9%) ont été les signes les plus relevés. Comme attendu, *Plasmodium falciparum* a été l'espèce la plus fréquemment identifiée (77,9%).

P22 : PROPHYLAXIE ET PALUDISME D'IMPORTATION A L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT

ENNEFFAH W ¹, EL WARTITI MA ¹, THELLIER M ², EL MELLOUKI W ¹ ET LMIMOUNI B ¹.

¹ Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat, Maroc ;

² Service de Parasitologie Mycologie, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France.

E-mail : emm983@live.fr

Par ses nombreuses interventions en Afrique subsaharienne, l'armée marocaine a acquis une expérience considérable dans la prophylaxie du paludisme. La chimioprophylaxie est bien stratifiée en fonction de la sensibilité du *Plasmodium* aux médicaments dans le pays hôte. En Afrique de l'ouest, en dehors du Nigeria, l'association chloroquine-proguanil est préconisée à raison de 1 cp/j, le jour du départ, pendant le séjour et 4 semaines après le retour. Pour les pays d'Afrique centrale, du sud, de l'est et le Nigeria, deux molécules sont retenues, la méfloquine (250 mg par semaine) ou la doxycycline (100 mg par jour). La protection anti vectorielle par les moustiquaires imprégnées est également recommandée.

L'objectif de cette étude est d'étudier l'attitude prophylactique et thérapeutique et son impact sur les accès palustres ainsi que le coût de cette prise en charge. Il s'agit d'une étude prospective étalée du 1er Janvier 2000 au 15 Novembre 2009 à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat. Elle a intéressé 145 patients avec une demande de recherche de *Plasmodium* dans le sang. Des données démographiques, épidémiologiques, cliniques, biologiques, prophylactiques et thérapeutiques. ont été collectés sur une fiche standardisée. Parmi les sujets, 88,6% (N=109) avaient pris une chimioprophylaxie; celle ci était adaptée à la zone visitée dans 53,7% des cas (N=66), elle était bien suivie dans 17,1% des cas (N=21), et à la fois adaptée et bien suivie chez seulement 13% des patients (N=16). 91,9% des pays visités étaient classés en zone 3 ce qui témoigne de l'importance du risque auquel sont exposés nos militaires et de l'extrême nécessité de respecter les mesures prophylactiques appropriées. La protection physique n'a été appliquée que dans 43,9% des cas (54 cas). L'analyse globale montre que seulement 7,3% (N=9) des sujets de l'étude ont correctement suivi les mesures préventives appropriées.

P23 : ETUDE DE L'EXHAUSTIVITE DE LA NOTIFICATION DU PALUDISME EN TUNISIE PAR LA METHODE DE CAPTURE-RECAPTURE

BEN ALAYA-BOUAFIF N ¹, CHAHED MK ², BETTAIEB J ², BELLALI H ¹, EL BEZ H ¹, AYARI L ¹ ET ACHOUR N ¹.

¹ Observatoire National des maladies nouvelles et émergentes, Tunisie ;

² Faculté de Médecine de Tunis.

E-mail : nissafbenalaya@pasteur.rns.tn

Depuis 1979 date de la dernière transmission autochtone du paludisme, on continue à enregistrer des cas importés, qui ne cessent d'augmenter à la faveur d'un développement croissant du trafic international.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'exhaustivité de la déclaration du paludisme durant la période 2002-2007. Il s'agit d'une étude nationale exhaustive rétrospective auprès de toutes les structures de diagnostic, de prise en charge et de déclaration du paludisme. L'estimation du nombre réel de cas a été faite par la méthode de capture-recapture, qui consiste en croisant les cas recensés par plusieurs sources dans une population à estimer le nombre réel de cas et l'exhaustivité de chaque système. Pendant la période d'étude, un total de 317 cas de paludisme a été recensé: 162 patients (51.1%) originaire de l'Afrique, 113 (35.6%) de la Tunisie, 35 (11.0%) de l'Afrique du Nord et 7 (2.2%) de Europe avec la prédominance de sujets de sexe masculin (87.1 % de tous les cas). Le nombre réel de cas de paludisme estimé par la méthode de capture recapture était de 366.3 (95%CI [335.8-396.8]) avec un pourcentage d'exhaustivité de 63.1% qui a augmenté de 44.8 % pour l'année 2002 à 78.7 % pour l'année 2007. Notre étude a permis de révéler la sous déclaration des cas. Même si la réceptivité de la Tunisie au paludisme est faible actuellement, la vigilance vis-à-vis des cas importés reste recommandée et une bonne réactivité du système de santé permettra d'éviter tout risque de réémergence.

P24 : LE PALUDISME D'IMPORTATION EN TUNISIE : A PROPOS DE 371 CAS

SIALA E, BEN ABDALLAH R, AOUINET A, ALOUI D, ZALLAGA N, AOOUN K ET BOURATBINE A.

Service de Parasitologie Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : emna.siala@rns.tn

Le paludisme sévissait en Tunisie sous une forme endémo-épidémique jusqu'en 1967, date de la mise en place du programme national qui a permis l'arrêt de la transmission locale en 1979. Depuis, seuls des cas d'importation sont répertoriés. Leur incidence annuelle a noté une augmentation régulière atteignant 40 à 60 cas ces dernières années. De 1980 à 2009, 970 cas de paludisme d'importation ont été recensés, parmi lesquels, 371 cas soit 38,2% l'ont été au laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis. Les tunisiens ont représenté 29,9% des cas contre 70,1% d'étrangers essentiellement des ressortissants d'Afrique sub-saharienne. Les professions les plus concernées sont celles d'étudiants (36,4%), coopérants et sportifs. 33,7% des sujets parasités étaient cliniquement symptomatiques. *Plasmodium (P.) falciparum* a été l'espèce la plus fréquente (75%). *P. vivax* et *P. ovale* ont représenté respectivement 12,8% et 8,2% des cas. 15,6% des patients étaient porteurs de gamétocytes. Le paludisme constitue toujours une préoccupation de santé publique en Tunisie. Le pays reste vulnérable et réceptif au risque potentiel de résurgence à cause de la persistance d'Anophèles vecteurs et de l'augmentation des cas importés. La vigilance s'impose principalement par la détection précoce des cas d'infection et l'instauration rapide des traitements adéquats.

P25 : PALUDISME D'IMPORTATION DANS LA REGION DE SOUSSE DURANT LES 14 DERNIERES ANNEES (1997-2010)

SAGHROUNI F, YAACOUB A, KHAMMARI I, GHEITH S, BEN ABDELJELIL J, ACH H, FATHALLAH A ET BEN SAÏD M

Laboratoire de Parasitologie Hôpital Farbat Hached Sousse, Tunisie.

E-mail : sagbrounifatma@yaboo.fr

Notre travail est une analyse rétrospective des aspects épidémiologiques, cliniques et parasitologiques des cas de paludisme d'importation diagnostiqués dans notre laboratoire durant les 14 dernières années (1997-2010). Nous avons colligé 31 cas dont le diagnostic a été confirmé par la mise en évidence de Plasmodium sur le frottis sanguin et/ou la goutte épaisse. L'incidence moyenne a été de 2 cas/an. Les patients étaient principalement des adultes jeunes de sexe masculin (sex ratio de 14,5, moyenne d'âge de 32 ans). Il s'agit d'étrangers dans 64% des cas et de tunisiens ayant séjourné en zones endémiques dans 36% des cas. Le pays présumé de contamination était africain dans 100% des cas. Il s'agit principalement de la Côte d'Ivoire, de la République Démocratique du Congo (ex-Zaïre), de la Guinée et du Bénin. *P. falciparum* était l'espèce dominante et 12,9% des patients étaient porteurs de gamétocytes. L'évolution sous traitement a été favorable dans tous les cas. Le paludisme importé reste rare dans la région de Sousse. Cependant, une grande vigilance reste de mise en vue d'une prise en charge rapide des patients et pour limiter le risque d'une éventuelle reprise de la transmission.

P26 : NEUROPALUDISME AVEC NECROSE DES EXTREMITES

BOURÉE P ¹ ET LE BALEUR A ².

¹ *Unité de Parasitologie,*

² *Service de Chirurgie Viscérale, CHU Bicêtre, Université Paris-XI, France.*

E-mail : patrice.bouree@bct.apbp.fr

Le paludisme, à *Plasmodium falciparum*, est responsable de l'accès pernicieux et de ses conséquences cardio-vasculaires parfois graves. Ainsi, un sujet caucasien de 56 ans, a effectué un séjour au Bénin sans chimio-prophylaxie. Une dizaine de jours après son retour, il a présenté un fièvre et des céphalées, traitées par du paracétamol. Puis, devant l'aggravation de l'état général, il est hospitalisé dans un état de syndrome respiratoire aigu, une insuffisance rénale anurique (nécessitant une dialyse) et une surinfection à pyocyanique. Le frottis sanguin a révélé une parasitémie à *P. falciparum* (1,2%). Sous quinine et traitement symptomatique, l'état général s'est amélioré progressivement. Mais sont apparues des nécroses des extrémités qui ont nécessité des soins de chirurgie vasculaire. La CIVD, survenant dans 5% des neuropaludismes peut entraîner une défaillance viscérale multiple avec souvent un sepsis associé. Les hémorragies sont multiples avec survenue de purpura, et, très rarement, d'ischémie périphérique par thromboses de la microcirculation avec acrocyanose et gangrène ischémique des extrémités, avec un mauvais pronostic fonctionnel.

P27 : ANALYSE FONCTIONNELLE DE LA PROTEINE DISULFIDE ISOMERASE DE *PLASMODIUM BERGHEI*

DEPOIX D, TRAVERS M.A, CUNNINGTON E, MOURAY E ET GRELLIER P.

FRE 3206 CNRS/MNHN Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes ; Equipe: Processus d'adaptation des protozoaires à leur environnement Département RDDM, Muséum National d'Histoire Naturelle. PARIS Cedex 05 France.

E-mail : delphine.depoix@laposte.net

Les protéines disulfide isomérase (PDI) appartiennent à la superfamille des thiorédoxines ; elles participent au repliement des protéines (oxydation, réduction ou isomérisation au niveau des groupements thiols des protéines) et ont également une activité chaperonne. La protéine disulfide isomérase Pf52 de *Plasmodium falciparum* impliquée dans le métabolisme des thiols est exprimée dans les stades érythrocytaires (Florent et al., 2000). Afin de déterminer le caractère essentiel de cette protéine au cours de la phase érythrocytaire, nous avons réalisé une étude fonctionnelle de son orthologue, chez *P. berghei*. Des mutants *P. berghei* PDI-ont été obtenus par délétion ou remplacement du gène codant cette PDI, suggérant que cette protéine n'est pas essentielle à la survie du parasite. Toutefois, la délétion totale du gène ou son interruption perturbe le développement intra-érythrocytaire du parasite. Les mutants présentent un phénotype de virulence atténuée.

P28 : INTERET ET LIMITES DU SYSTEME NUCLISENS EASYMAG POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DES PARASIToses

MARY C ET PIARROUX R.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie. Hôpital de la Timone, Marseille, France.

E-mail : cmary@ap-bm.fr

La biologie moléculaire occupe une place prépondérante dans le diagnostic et l'épidémiologie des parasitoses. L'évolution technique autorise aujourd'hui des déterminations quantitatives ce qui entraîne des contraintes supplémentaires au niveau de l'extraction des acides nucléiques. Nous avons évalué les possibilités qu'offre le système NucliSENS easyMAG (BioMérieux, Marcy L'Etoile) pour une utilisation en routine hospitalière. L'analyse a porté sur la quantification des ADN de leishmanies, d'aspergillus, de levures et d'ADN humain par PCR quantitative après extraction menée sur des échantillons artificiels, composés de quantités contrôlées de parasites et de cellules humaines. Un broyage mécanique des échantillons en tampon de lyse améliore le rendement de l'extraction d'ADN fongique d'un facteur 64 en moyenne ; cette application nécessite peut-être une optimisation. Pour les leishmanies et les cellules humaines le rendement est de l'ordre de 100%, sans digestion préalable jusqu'à des quantités voisines de 100 000 cellules. Dans cette limite, le rendement de l'extraction d'ADN parasite reste constant quelle que soit la densité en cellules de l'hôte. Ce système semble particulièrement adapté aux prélèvements pauci cellulaires et une extraction quantitative est observée jusqu'à des densités de l'ordre de 5 cellules par échantillon. En conclusion, en utilisant un protocole unique et des réactifs génériques, la plateforme NucliSENS easyMAG permet l'extraction automatisée des acides nucléiques et est donc adaptée au diagnostic parasitaire.

P29 : LA FIBRE PARAFLAGELLAIRE ET SON IMPLICATION DANS LES FONCTIONS SENSORIELLES DU FLAGELLE DU TRYPANOSOME

MARANDE W ET KOHL L.

FRE3206 CNRS/MNHN, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France.

E-mail : lkobl@mnhn.fr

Au cours de son cycle de vie, le trypanosome doit s'adapter à des environnements très variés (sang mammifère, intestin et glandes salivaires de la mouche vecteur) et doit être capable de percevoir ces environnements afin d'enclencher les étapes de différenciations adéquates. Nous proposons que le flagelle agisse comme un organe sensoriel qui participe au contrôle des programmes de différenciation. Cette hypothèse est basée (1) sur la découverte récente des fonctions sensorielles des cils et des flagelles dans de nombreux organismes, y compris les protistes et (2) sur les rôles multiples de flagelle du trypanosome (mobilité cellulaire, morphogénèse: contrôle de la taille cellulaire, définition de la polarité, contrôle de l'assemblage d'autres éléments du cytosquelette et participation à la réussite du cycle cellulaire). Les éléments de signalisation identifiés jusqu'ici chez le trypanosome sont localisés majoritairement au niveau soit de la membrane flagellaire, soit de la fibre paraflagellaire, structure extra-axonémale essentielle à la mobilité flagellaire et cellulaire. Nous utilisons un mutant de la fibre paraflagellaire afin de purifier les flagelles et d'identifier des protéines potentiellement impliquées dans la perception de l'environnement du trypanosome.

P30 : STOMOXYS (DIPTERA : MUSCIDAE) : NOUVELLES DONNEES SUR LA SYSTEMATIQUE, L'ÉCOLOGIE ET LE RÔLE PATHOGÈNE.

DSOULI-AYMES N ET DUVALLET G.

UMR 5175 Centre d'Ecologie fonctionnelle et évolutive, Université Paul-Valéry, Route de Mende, 34199 Montpellier Cedex 5, France.

Le genre *Stomoxys* Geoffroy 1762 comprend 18 espèces (Zumpt, 1973), 17 d'entre elles ayant une distribution tropicale et une seule (*S. calcitrans* (L. 1758)) étant cosmopolite. Les stomoxes sont hématophages et représentent une nuisance en raison des piqûres douloureuses, de la prédation sanguine et du rôle vecteur potentiel pour différents pathogènes (virus, bactéries, protozoaires et helminthes). Les virus transmis par les stomoxes comprennent les agents étiologiques de la fièvre porcine africaine, de la fièvre de la Rift Valley, de l'anémie infectieuse des Equidés, des fièvres à virus capripox et probablement de la dermatose nodulaire contagieuse (Lumpy Skin Disease). Plusieurs bactéries ont été identifiées chez les stomoxes : *Bacillus anthracis*, *Enterobacter sakazakii*, *Staphylococcus spp.*, *Anaplasma spp.* et *Escherichia coli*. Les stomoxes sont connus aussi pour transmettre mécaniquement des protozoaires comme *Trypanosoma evansi* et sont suspectés de pouvoir transmettre *Besnoitia sp.* *Stomoxys calcitrans* a aussi été reconnu comme hôte intermédiaire de l'helminthe *Habronema microstoma* chez les chevaux. A cause de leur importance vétérinaire, *S. calcitrans* et *S. niger* Macquart 1851 sont les espèces les plus connues. Pour les autres espèces, très peu de données sont disponibles sur leur biologie et les stades larvaires sont souvent inconnus. Une étude phylogénétique conduite dans notre laboratoire suggère la paraphylie du genre *Stomoxys* en raison de l'inclusion de *Prostomoxys saegerae* dans ce groupe. Les arbres phylogénétiques révèlent la présence de 3 clades distincts, avec une forte composante biogéographique. L'embranchement basal de *S. indicus* suggère une origine en région Orientale du genre *Stomoxys*, vers la fin de l'Oligocène. La divergence moléculaire ancienne estimée à 16,3 millions d'années entre *S. niger niger* et *S. niger bilineatus*, ainsi que des écologies différentes, incitent à élever ces deux sous-espèces au rang d'espèce. L'étude phylogéographique de *S. calcitrans* montre la présence d'une lignée

Orientale séparée de toutes les autres populations. Les indices de diversité montrent l'existence de deux refuges, l'un en région Orientale avec une recolonisation limitée, l'autre probablement en Afrique qui a permis la recolonisation des autres régions. L'expansion des populations de *S. calcitrans* est probablement liée au processus de domestication et/ou aux dernières périodes de glaciation.

P31 : LA DEMODECIDOSE CUTANEE DANS LA REGION DE SFAX : PATHOGENICITE ET ASPECTS CLINIQUES

CHEIKHROUHOU F ¹, NEJI S ¹, MAKNI F ¹, GARGOURI O ¹, SELAMI H ¹, MASMOURI A ², ALOULOU M ¹, TURKI H ² ET AYADI A ¹.

¹ *laboratoire de Parasitologie Mycologie, CHU HABIB BOURGUIBA ;*

² *service de dermatologie vénéréologie, CHU Hédi Chaker, sfax, Tunisie.*

E-mail : nejisourour@yahoo.fr

L'objectif de notre travail a été de rapporter les particularités cliniques des cas de démodécidose cutanée rencontrés dans notre région. Matériel et Méthodes: Nous avons réalisé une étude rétrospective portant sur les cas de démodécidose cutanée diagnostiqués dans notre laboratoire durant une période sur une période de 10 ans (Janvier 2000-Décembre 2009). Devant des lésions suspectes de démodécidose au niveau du visage, le prélèvement des squames a été effectué par grattage à l'aide d'une lame de bistouri. L'examen direct des squames a été fait directement dans l'eau physiologique Une quantification de *Demodex sp* a été effectuée. Le diagnostic a été retenu devant un nombre de Demodex > ou égal à 5 par cm². Observations: nous avons colligé 115 cas de démodécidose du visage. La tranche d'âge la plus touchée était entre 41 et 50 ans. L'âge moyen était de 44 ans. Les femmes étaient légèrement plus concernées (56%) que les hommes. Demodex a été surtout isolés au niveau de lésions érythémateuses et papulo-pustuleuses prurigineuses touchant surtout les joues (22.11%), le front (13.46%) et le nez (11.53%). Le diagnostic a été confirmé sur la richesse de l'examen parasitologique des squames montrant plus de 5 Demodex sp /cm² de squames et la réponse au traitement à base de métronidazole (Flagyl®) pendant 3 mois. Discussion: Actuellement un grand nombre d'arguments plaident pour l'incrimination du *Demodex sp*. dans les dermatoses du visage. Il faut donc sensibiliser les dermatologues à penser à cette affection surtout que la densité du *Demodex sp*. retrouvée par l'examen parasitologique constitue le facteur déterminant dans l'instauration d'un traitement anti-Demodex dont l'efficacité est un argument de plus pour le diagnostic.

P32 : ACTIVITE MOLLUSCICIDE DES ALKALOIDES ET SAPONOSIDES DE SOLANUM NIGRUM VAR. VILLOSUM CONTRE LE MOLLUSQUE GALBA TRUNCATULA

HAMMAMI H 1A, MEZGHANI-JARRAYA R 2A, DAMAK M 2 ET AYADI A 1.

¹ *Laboratoire de Biologie Moléculaire Parasitaire et Fongique, Faculté de Médecine, Sfax ;*

² *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Faculté Des Sciences De Sfax, Tunisie ; a : co-authors.*

Les activités molluscicides des extraits au dichlorométhane, au méthanol et au méthanol-eau des différents organes (feuilles, fruits immatures et fruits mûres) de *Solanum nigrum var. villosum* (morelle velue) ont été testées contre le mollusque gastéropode *Galba truncatula* hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica*. Les résultats ont montré que l'extrait hydrométhanolique (MeOH- H₂O) des fruits immatures était le plus actif contre le mollusque *Galba truncatula* (CI₅₀ = 3.96mg/L) comparativement avec les autres composés testés. Après traitement acido-basique, la fraction de l'extrait méthanolique, isolée à partir des fruits immatures et la plus riche en alcaloïdes, était la plus toxique (CI₅₀ = 1.65mg/L). De plus, les fractions les plus riches en

saponosides des extraits hydrométhanoliques et méthanoliques des fruits immatures ont montré des activités molluscicides intéressantes (CL50 = 6.15mg/L et CL50 = 7.91mg/L respectivement). L'activité molluscicide observée pourrait donc être attribuée à la présence d'alcaloïdes ou de saponosides. Ainsi, les fruits immatures de *Solanum nigrum var. villosum* pourraient être des substrats de choix pour l'activité molluscicide. Selon l'OMS, l'utilisation de ces fractions pourrait s'ajouter à l'arsenal des méthodes de lutte contre les mollusques transmettant la fasciolose dans les pays tropicaux et le tiers monde où la fasciolose est endémique.

P33 : TRICHINILLOSE CEREBRALE A PROPOS D'UN CAS

BENALI A & SISAID N.

Maladies infectieuses, CHU de tiziouzou, Algérie.

E-mail : benlkrim@yahoo.fr

La trichinillose est une parasitose jamais diagnostiquée en kabylie. Nous rapportons un cas de trichinillose cérébrale confirmée par la sérologie et IRM.

P34 : EVOLUTION DES HELMINTHIASES DIGESTIVES DANS LA REGION DE TUNIS

AOUINET A, SIALA E, BEN ABDALLAH R, KEDOUS E, ZALLAGA N, AOUN K ET BOURATBINE A.

Service de Parasitologie Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : aouinet_amira@yahoo.com

La prévalence des helminthiases digestives est très variable selon les pays et les régions, en fonction des facteurs climatiques, des habitudes culinaires et du niveau socio-économique et d'hygiène. Sur 17290 examens parasitologiques des selles réalisés à l'Institut Pasteur de Tunis, entre 1995 et 2009, 2047 soit 11,8% étaient positifs. Parmi les 2407 parasites identifiés, les helminthes ont représenté 6,2%. Il s'agissait essentiellement d'*Hymenolepis* (H.) *nana* (68%) et *Enterobius* (E.) *vermicularis* (23,3%). Strongyloïdes stercoralis et *Taenia saginata* ont été respectivement isolés dans 6% et 2,7% des cas. Aucun cas d'*Ascaris lumbricoides*, de *Trichiuris trichiura* ou d'*Ancylostoma duodenale* n'a été identifié. Ces résultats confirment la nette diminution de la prévalence des helminthes intestinaux dans la région de Tunis. Cependant, cette régression concerne essentiellement les parasites dont la maturation se fait dans le milieu extérieur. En effet, *H. nana* et *E. vermicularis* dont le cycle de transmission est direct demeurent fréquents. Par conséquent, la vigilance doit rester de mise dans la prévention de ces helminthiases en continuant à sensibiliser la population à risque et faciliter l'accès aux traitements appropriés.

P35 : EVOLUTION DES HELMINTHIASES DIGESTIVES (AUTRE QUE L'OXYUROSE) DANS LA REGION DE SOUSSE DURANT LES 12 DERNIERES ANNEES (1987-2009)

SAGHROUNI F, YAACOUB A, BEN ABDELJELIL J, KHAMMARI I, HAMROUNI S, FATHALLAH A ET BEN SAID M.

Laboratoire de Parasitologie Hôpital Farbat Hached Sousse, Tunisie.

E-mail : saghrounifatma@yahoo.fr

Le but de notre travail est d'estimer l'incidence des helminthes digestifs autres que l'oxyure et leur évolution dans la région de Sousse durant les 23 dernières années (1987-2009) selon les données de notre laboratoire. La présence d'helminthes digestifs a été détectée dans 664 selles parmi 66692 selles examinées soit une fréquence de 0,99%. L'évolution de cette fréquence a été marquée par une nette diminution durant la période d'étude. *Hymenolepis nana* était le parasite le plus fréquent représentant près de 79% de l'ensemble suivi par *Taenia saginata* (11,9%), l'anguillule (7,2%) et l'ascaris (1,5%). L'évolution de l'incidence de ces parasites a été marquée par la nette diminution de *H. nana* et la disparition de l'ascaris depuis 1993. Le nombre de selles parasitées par l'anguillule est resté stable avec une moyenne de 2 cas/an. *T. saginata* a présenté une baisse relativement faible ; le nombre de cas passant de 7 en 1987 à 1 en 2006. Aucun cas n'a été diagnostiqué durant les 3 dernières années. La diminution de *H. nana* et la disparition de l'ascaris peuvent être expliquées par l'amélioration des conditions d'hygiène et de la qualité de l'assainissement. Nos résultats confirment la rareté et le caractère sporadique de l'anguillulose en Tunisie.

P36 : PARTICULARITES DU KYSTE HYDATIQUE SUR FOIE DE CIRRHOSE. A PROPOS DE 9 CAS.

MAÀMOURI N, ABDELAALI I, BEN HARIZ F, BELKAHLA N, CHOUAIB S ET BEN MAMI N.

Service de Gastroentérologie B - Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie.

E-mail : nadiamaamouri1939@yahoo.fr

L'hydatidose est une affection endémique en Tunisie. Son association à une cirrhose est rare, exposant à des difficultés d'ordre diagnostique et thérapeutique. Nous rapportons 9 cas de kyste hydatique (KH) développés sur un foie de cirrhose. Il s'agit d'une étude rétrospective colligeant tous les cas de KH développés sur foie de cirrhose et pris en charge dans le service de Gastro-entérologie B de l'hôpital la Rabta entre Janvier 1996 et Septembre 2010. Quatre cent quarante et un patients cirrhotiques étaient pris en charge durant la période de l'étude. Neuf cas de KH étaient colligés (prévalence=2%). Il s'agissait de 5 femmes et de 4 hommes. L'âge moyen était de 62.2 ans. Le diagnostic de KH était concomitant à celui de la cirrhose chez 4 patients. Dans les autres cas, il était découvert à l'échographie abdominale pratiquée dans le cadre d'explorations complémentaires. Quatre patients avaient été précédemment opérés de KH du foie. La cirrhose était décompensée dans un seul cas. Le KH était unique dans 7 cas et multiple chez deux patients. Sa taille dépassait les 10 cm dans 3 cas. Il était de type I (N=3), de type II (N=3), de type IV (N=2), de type V (N=1). Un développement exophytique du kyste était noté chez 3 malades. Quatre patients ont été opérés. Une résection du dôme saillant a été pratiquée dans tous les cas. L'évolution post opératoire était marquée par la survenue d'une péritonite (N=1) et d'une décompensation oedémato-ascitique (N=3). Une récurrence de KH a été notée chez une patiente, après un délai de 4 mois. L'indication chirurgicale a été récusée chez 4 patients en raison de la sévérité de l'hypertension portale (HTP). Le développement d'un KH sur foie de cirrhose est rare. Cette association se distingue par un développement extra-hépatique du kyste du fait de la fibrose. Cette association expose à des difficultés surtout d'ordre thérapeutique en raison de l'HTP et du risque de complications postopératoire.

P37 : APPORT DES SOUS CLASSES D'IgG DANS LE DIAGNOSTIC DE L'HYDATIDOSE

BENABID M, GALAI Y, NOUIRA R, BOURATBINE A ET AOUN K.

Laboratoire de Recherche 05SP03 "Parasitoses émergentes", Service de Chirurgie B, Hôpital Charles Nicolle, Service de Parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie.

E-mail : meriem_benabid@yahoo.fr

Le suivi sérologique post-opératoire de l'hydatidose reste délicat en raison de la persistance, souvent longtemps après l'exérèse chirurgicale, des IgG *anti-Echinococcus granulosus*. Ceci complique le dépistage et la prise en charge précoce des fréquentes récidives. L'objectif de ce travail est l'évaluation des performances diagnostiques de tests ELISA recherchant les sous-classes d'IgG spécifiques chez 34 patients primo-infestés (P) et 34 autres présentant des récidives hydatiques post-chirurgicales (R). L'analyse des résultats ayant été réalisée à l'aide des courbes ROC. Les IgG1 se sont avérées informatives uniquement au cours des primo-infestations hydatiques (Aire sous la courbe (ASC)=0,781 ; $p < 0,001$). Les IgG2 et les IgG4 ont présenté les meilleures performances en terme de sensibilité et de spécificité. Les ASC des IgG2 n'ont pas montré de différence statistique entre les sous groupes P (ASC=0,973) et R (ASC=0,91). Par contre, les IgG4 ont été significativement associées aux récidives (sensibilités respectives 94,1% vs 73,5% ; $Z=2,42$ et $p < 0,001$). L'analyse du profil des sous-classes d'IgG s'avère utile au cours de l'hydatidose. Les IgG1 seraient suggestives de primo-infestations alors que les IgG4 seraient associées aux récidives.

P38 : ETUDE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DES ŒUFS D'ECHINOCOCCUS GRANULOSUS DANS DIFFERENTES REGIONES DE TUNISIE

CHAABANE R, OUDNI-MRAD M, M'RAD S, MEZHOUD H ET BABBA H.

Laboratoire de Parasitologie – Mycologie/ Code 99 –UR/ 08-05, Faculté de pharmacie, 5000 Monastir, Tunisie.

E-mail : raja.chaabane@laposte.net

Le but de ce travail est d'estimer le taux d'infestation des canidés par *Echinococcus granulosus* en Tunisie et d'étudier le polymorphisme génétique intra-spécifique des œufs de ce parasite. Pour cela nous avons prélevé des selles de chien et de renard dans différents gouvernorats de Tunisie. Nous avons récupéré les œufs de parasites par une technique de flottation au saccharose. L'identification moléculaire des œufs d'*E. granulosus* ainsi que l'étude du polymorphisme génétique ont été réalisées par PCR et PCR-SSCP. Au cours de notre travail nous avons observé un taux important de contamination des selles de chiens par des œufs d'*E. granulosus* et l'absence de ce parasite chez le renard. L'étude de la variabilité intraspécifique nous a permis de mettre en évidence un polymorphisme génétique au sein de la lignée ovine G1 pour les séquences répétées EgG1HaeIII. L'analyse par PCR du marqueur Egss1 laisse supposer de l'existence de la lignée G6 des camélidés dans les gouvernorats de Gafsa et de Djerba. Cette importante contamination des selles constitue un risque important d'exposition de l'homme et l'animal à cette parasitose et des études plus approfondies sont nécessaires pour comprendre l'origine et les conséquences de la diversité génétique observée.

P39 : PREVALENCES DES PARASITES DIGESTIFS DU CHIEN DANS DIFFERENTS GOUVERNORATS DE TUNISIE

OUDNI-M'RAD M, CHAABANE R, M'RAD S, MEZHOUD H ET BABBA H.

Laboratoire de Parasitologie – Mycologie/ Code 99 –UR/ 08-05, Faculté de pharmacie, 5000 Monastir, Tunisie.

E-mail : myriam.mrad@gnet.tn

Les canidés peuvent être infestés par différents helminthes du tube digestif dont certains présentent un risque zoonotique pour l'homme. Dans cette étude nous avons tenté de déterminer le taux de contamination des fèces de chiens par des œufs d'helminthes en Tunisie. Nous avons recueillis 369 échantillons de chien dans différents gouvernorats de Tunisie et nous avons concentré les parasites par la technique de flottation au gradient de saccharose. Le produit de flottation a ensuite été étudié par microscopie afin d'identifier les parasites. Au cours de ce travail nous avons observé une contamination des selles de chiens par une large gamme

de parasites intestinaux tels que : *Echinococcus granulosus*, *Hymenolepis diminuta*, *Ankylostoma spp*, *Toxocara spp*, *Toxascaris leonina*, *Acanthocephala*, *Trichuris vulpis*, *Monaezia spp*, *Physaloptera spp*. La prévalence des différents œufs était variable d'un gouvernorat à un autre mais pouvait atteindre des taux très élevé. Cette importante contamination des selles constitue un risque important d'exposition de l'homme et l'animal à des parasitoses pouvant avoir des conséquences graves. Ces résultats sont inquiétants et imposent donc la mise en place d'études plus approfondies sur l'aspect zoonotique et clinique de ces parasites.

P40 : PRATIQUES DE L'IRRIGATION ET EXPOSITION A LA LCZ : LES ENSEIGNEMENTS DU PROJET DE RECHERCHE ONMNE/ATCT/ACRDI*

I. NOUIRI ¹, J. DAABOUB ², N. BEN ALAYA ³ ET M.K.CHAHED ⁴.

¹ Ecole supérieure d'Agriculture du Kef ; Tunisie

² Ministère de la Santé publique ; Tunisie

³ Observatoire National des Maladies Nouvelles et Emergentes ; Tunisie

⁴ Faculté de médecine de Tunis.

E-mail : Mobamed.Chahed@fmt.rnu.tn

La pratique de l'irrigation dans les zones agricoles peut conduire à des nuisances sanitaires qui favorisent une présence simultanée, du vecteur de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) et de l'Homme d'où un risque plus élevé de contracter la maladie. La présente étude a pour objectif principal d'analyser les comportements des agriculteurs en matière d'irrigation pour minimiser leur risque d'exposition aux piqûres du vecteur.

Le risque d'exposition des agriculteurs à *Pblebotomus papatasi* a été calculé par un paramètre «Risque» qui reflète l'importance de la durée de présence simultanée des agriculteurs et du vecteur de LCZ, au niveau de 2 périmètres irrigués (PI); le PI El Hichria et le PI Ouled Mhamed. L'équation (1) formule le paramètre risque :

$$\text{Risque} = \sum_{t=1}^{t=T_{\max}} \sum_{h=1}^{24} \left(\frac{d(t,h)}{d_{\max}} \right) \times \frac{N_{ai}(t,h)}{N_{a\max}}$$

Où T_{\max} : la période de calcul du paramètre risque ; $d(t, h)$: la densité du vecteur de LCZ durant la journée « t » et à l'heure « h » ; d_{\max} : la densité maximale du vecteur de LCZ dans la zone d'étude ; $N_{ai}(t, h)$: le nombre d'agriculteur qui irriguent durant la journée « t » et à l'heure « h » ; $N_{a\max}$: Nombre maximal d'agriculteurs qui peuvent irriguer en même temps. Pour le PI El Hichria, le paramètre «Risque», pour les mois de Juillet et Août 2009, s'élève à 28.6 et 16.7 respectivement, par rapport à un risque maximal égal à 182.9. Pour les agriculteurs du PI Ouled Mhamed, l'activité d'irrigation ne présente aucun risque d'exposition à LCZ car le paramètre «Risque» est nul, aussi bien en Juillet qu'en Août.

Les résultats montrent que le risque d'exposition à la LCZ dépend du programme de gestion des ressources en eau disponibles, des infrastructures hydrauliques et de l'activité du vecteur. L'irrigation n'est pas un facteur déterminant à lui tout seul.

P41: CONGENITAL TOXOPLASMOSIS IN MONOCHORIAL BIAMNIOTIC TWINS: A CASE REPORT AND COMPARISON WITH PUBLISHED DATA

DELHAES L ¹, TITECAT M ¹, ROBIN E ², DUTOIT E ¹ ET SAMUEL NANCHOS ¹.

¹ CHU de Lille ;

² CH de Dunkerque.

E-mail: laurence.delbaes@cbru-lille.fr

We report a case of congenital toxoplasmosis in monochorial biamniotic pregnancy, associated with a distinct twin evolution (one involved, the other safe from infection). This differing fetal response remains an exception for monozygotic twins. It underlines the importance of serological follow-up for determining infant status and adjusting medical management. On the physiopathology side, and after reviewing the literature about congenital toxoplasmosis in twin pregnancy, we discuss the place of genetic factors, behind the important role of placenta.

P42 : SEROPREVALENCE DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LA FEMME ENCEINTE A L'HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT

ENNEFFAH W ¹, GUELZIM K ², MOUSSAOUI D ², LEMKHENTE Z ¹,
EL MELLOUKI W ¹ ET LMIMOUNI B ¹.

¹ Service de Parasitologie Mycologie ;

² Service de Gynécologie obstétrique, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat, Maroc.

E-mail : emm983@live.fr

La toxoplasmose est une zoonose cosmopolite dont la prévalence est très hétérogène selon les pays. Afin de déterminer la prévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte à l'hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat «HMIM V», une enquête séro-épidémiologique prospective a intéressé du 1er Janvier 2007 au 30 Juin 2008 toutes les femmes enceintes consultant au service de Gynécologie-Obstétrique. Les données se rapportant à l'identité, l'âge et l'âge de grossesse ont été portées sur une fiche de renseignement individuelle. Une recherche de l'antécédent sérologique a été effectuée par le logiciel labo serveur version 3.8. Toutes les données ont été saisies sur une base de données Microsoft Office Excel 2007. Chaque patiente a bénéficié d'une recherche qualitative et quantitative d'anticorps IgG, IgM et IgA anti-Toxoplasma gondii dans le sérum, par la technique ELISA. L'avidité des IgG a été déterminée selon les besoins. Quatre mille neuf cent soixante sept (4967) femmes ont été recensées ; L'âge moyen était de 29 ans (extrêmes de 17 et 50 ans), 40% étaient primipares. La 1ère sérologie a été tardive (2ème ou 3ème trimestre) chez 66% d'entre elles. La séro-prévalence de la toxoplasmose a été de 46,3%. Environ une femme sur 2 n'a eu qu'un seul contrôle durant toute la grossesse. Les résultats révèlent que près de 50% des femmes enceintes sont non immunisées et qu'une forte proportion d'entre elles ne réalisent leur première sérologie que tardivement. Une évaluation de l'ampleur du problème de la toxoplasmose congénitale mérite d'être approfondie. Dans tous les cas, une prise en charge plus rigoureuse des femmes enceintes (en ce qui concerne la toxoplasmose) avec des perspectives de réglementation paraît fort utile au Maroc.

P43 : GENOTYPAGE DES SOUCHES TUNISIENNES DE TOXOPLASMA GONDII ISOLEES DANS LE CADRE DE TOXOPLASMOSE CONGENITALE

BOUGHATTAS S, BEN-ABDALLAH R, SIALA E, SOUISSI O, AOUN K ET
BOURTABINE A.

Laboratoire de Parasitologie, LR 05SP03, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

E-mail : sbgb@mail.com

On regroupe sous le nom de toxoplasmose toutes les manifestations cliniques ou biologiques dues au *Toxoplasma gondii*. C'est une parasitose cosmopolite qui touche tous les animaux homéothermes y compris l'Homme. Elle est généralement asymptomatique mais peut engendrer de graves conséquences chez les immunodéprimés et les fœtus contaminés au cours de la grossesse. Dans ce dernier cas les manifestations cliniques sont étroitement liées au moment de la contamination. Néanmoins, il s'avère que la souche du parasite constitue

aussi un majeur facteur influençant la sévérité clinique. C'est dans ce contexte qu'on se propose de typer directement les souches tunisiennes isolées à partir des cas confirmés de toxoplasmose congénitale. L'échantillonnage comporte : un Liquide céphalo-rachidien, deux placentas et 12 liquides amniotiques. L'ensemble a été assujettis à un typage multilocus par PCR-RFLP ciblant 7 marqueurs génétique: 3'SAG2, 5'SAG2, SAG3, GRA6, BTUB, APICO et AK69. L'analyse moléculaire a montré un échantillon porteur de l'allèle de type I au niveau de tous les loci explorés, 13 échantillons recombinants porteurs de différents allèles du type I, II ou III par l'analyse multi-locus et un échantillon de liquide amniotique porteur d'un allèle atypique par BTUB.

Au total, la PCR-RFLP a révélé un échantillon de type I, 7 de type I/III, 3 de type I/II et un atypique. Pour les 3 échantillons restants, des profils de restriction plus complexes ont été identifiés. Le séquençage a permis de mettre en évidence des superpositions de pics au niveau des positions polymorphes permettant de retenir le diagnostic d'infections mixtes. La comparaison de nos séquences dans la banque des gènes montre une quasi-identité avec les séquences des isolats africains.

P44 : LA TOXOPLASMOSE CHEZ LA FEMME ENCEINTE, DANS LA REGION DE SFAX, TUNISIE

AMRI H, SELLAMI H, CHEIKH-ROUHOU F, GARGOURI L, NEJI S, MAKNI F, GUERMAZI M ET AYADI A.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie CHU H.Bourguiba Sfax Service de gynécologie-obstétrique- CHU bédi cbaker- Sfax, Tunisie.

E-mail : b_sellami@voila.fr

La toxoplasmose demeure une infection impérative à surveiller afin de prévenir une éventuelle toxoplasmose congénitale redoutable par ses séquelles graves. L'objectif de notre travail a été d'analyser les différents aspects épidémiologiques et sérologiques de la toxoplasmose chez la femme enceinte. Il s'agit d'une étude rétrospective concernant les sérologies toxoplasmiques réalisées chez les femmes enceintes et colligées au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie CHU de Sfax sur une période de 15 ans (1994-2008). Le diagnostic a été établi par les techniques : ELISA (IgG et IgM spécifiques) ; IFI (IgT) Test d'avidité IgG Immuno-western blot Résultats: 39,3% des femmes enceintes avaient une immunité antitoxoplasmique, 59,4 % étaient séronégatives, cependant leur suivi n'a été assuré que dans 28,3% des cas. Nous n'avons pas noté de différence statistiquement significative entre un groupe de femmes enceintes d'origine urbaine et d'origine rurale en terme de séroprévalence et de séronégativité. De même, il n'y a pas de différence entre les profils sérologiques avant et après l'Aïd El Kebir. La prévalence de la toxoplasmose congénitale était de 2,2 pour 1000 naissances. Nous avons confirmé le diagnostic de toxoplasmose congénitale dans 17 cas (4 cas de chorioretinite, un cas avec hydrocéphalie et 12 cas de traduction sérologique).

Plus de 50% des femmes étudiées sont séronégatives vis-à-vis de l'infection toxoplasmique et sont ainsi susceptibles d'être contaminées pendant la grossesse. Seulement le tiers de ces femmes a été correctement suivi. Cette insuffisance pourrait expliquer la rareté de la toxoplasmose congénitale dépistée contrastant avec une plus grande fréquence de la toxoplasmose oculaire chez l'adulte.

P45 : LA TOXOPLASMOSE CHEZ LA FEMME ENCEINTE DANS LA WILAYA D'ANNABA

MESSERER L., GOURBJI E, MANSOURI R, BENAÏSSA S ET BACHI F.

Laboratoire de Parasitologie - Mycologie .Faculté de Médecine Annaba, Algérie.

E-mail : leylamesserer@yahoo.fr

La toxoplasmose est une anthroponose largement répandue dans le monde. Elle est due à un protozoaire, *Toxoplasma gondii*. L'infection généralement inapparente chez le sujet immunocompétent. Contractée chez la femme enceinte, elle est susceptible de compromettre le déroulement de la grossesse et d'engendrer de graves fœtopathies. Afin de disposer de données épidémiologiques en Algérie, une enquête a été réalisée dans la wilaya d'Annaba au sein d'une population de femmes enceintes. Le travail s'est étalé sur 4 ans (2006, 2007, 2008, 2009) et a concerné 1028 gestantes suivies pour la Toxoplasmose lors de leur bilan prénatal. Le bilan sérologique a comporté la recherche d'immunoglobulines IgG et IgM par ELISA manuelle ; Le test d'avidité des IgG a été pratiqué pour gestantes dont le taux d'IgG est supérieur à 10UI/ml avec présence des IgM. Cinq couples (mère–enfant) ont eu des profils comparés des IgG et IgM par western blot ; les placentas de ces 5 accouchées ont été inoculés à la souris. Parmi les 1028 femmes enceintes 46,2% présentaient une sérologie toxoplasmose positive et 52% présentaient une sérologie négative dont 41,7 n'ont pas fait l'objet d'un suivi sérologique. Le pourcentage des cas de séroconversion est de 0,1%. Pour les gestantes pour qui les IgG et les IgM étaient positifs avec un indice d'avidité bas compris entre (0,2 et 0,4) l'inoculation des placentas est revenue négative et la comparaison des profils mères–enfants n'était pas en faveur d'une toxoplasmose congénitale. Les titres en IgG de ces nouveaux nés diminuaient au fur et à mesure dans le temps. La gestante qui a fait sa séroconversion lors du septième mois de grossesse et qui présentait un test d'avidité bas (0.02) a été perdue de vue le jour de son accouchement

P46 : TOXOPLASMOSE CEREBRALE AU COURS DU SIDA

YAACOUB A ¹, FATHALLAH A ¹, BEN ABDELJELIL J ¹, DHIB I ¹, BELLASFAR N ², SAGHROUNI F ¹, KHAMMARI I ¹, HAMROUNI S ¹, LTAÏEF A ² ET BEN SAÏD M ¹

¹ Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Farhat Hached-Sousse ;

² Service des maladies infectieuses, Hôpital Farhat Hached- Sousse, Tunisie.

E-mail : yaacoubalia@gmail.com

Le but de notre travail est de rapporter les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, para-cliniques et thérapeutiques des cas de toxoplasmose survenant chez les patients atteints de SIDA. Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur une période de 23 ans (1988-2010). Parmi les 151 patients colligés, 11 ont présenté une toxoplasmose cérébrale, qui était inaugurale dans deux cas. Une toxoplasmose oculaire a été retrouvée chez 2 patients où elle a précédé l'atteinte cérébrale. L'âge de nos patients variait entre 21 et 39 ans avec une moyenne de 30 ans. Une nette prédominance masculine (10M/ 1F) a été notée. Le scanner cérébral était fortement évocateur dans tous les cas, montrant des abcès uniques ou multiples. La sérologie était peu contributive (IgG à un taux faible, absence d'IgM). Le taux de CD4 a varié entre 16 et 67 éléments/mm³ avec une moyenne de 37,66 éléments/mm³. L'évolution sous traitement spécifique à court terme était favorable pour 9 patients, marquée par la persistance de lésions séquellaires chez un patient et le décès d'un dernier patient suite à une hémorragie cérébro-méningée. Une récurrence a été observée chez un patient. Le rôle de la tri-thérapie antirétrovirale est difficile à évaluer en raison de la mauvaise observance dans la plupart des cas.

P47 : CONTRIBUTION DU CHU MUSTAPHA D'ALGER DANS LE SUIVI SEROLOGIQUE DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LES FEMMES ENCEINTES

GUÉCHI N, AIACHE N ET HAMRIOUI B.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU Mustapha, Alger, Algérie.

La primo-infection toxoplasmique au cours de la grossesse peut être transmise au fœtus et entraîner de graves lésions fœtales. L'objectif de cette étude est de déterminer la séro-prévalence de la toxoplasmose chez la

femme enceinte en Algérie (situation méconnue) et d'évaluer la fréquence de la toxoplasmose congénitale. Il s'agit d'une étude rétrospective à propos de 69607 sérums appartenant à 23757 femmes enceintes testés durant la période allant de Janvier 1999 à décembre 2009. Le statut immunitaire vis à vis de la toxoplasmose a été établi par la technique ELISA (IgG et IgM). Le test d'avidité des IgG a aidé à la datation de l'infection. L'ISAGA a été utilisée dans le suivi des nouveau-nés. Le taux de séro-prévalence de la toxoplasmose était faible de 28,2%; 36 femmes (0,15%) ont présenté une toxoplasmose évolutive dont 29 avaient une séroconversion. Parmi les 24 nouveau nés à risque de contamination suivis, une toxoplasmose congénitale a été confirmée chez un seul (chorio-rétinite bilatérale).

48 : PREVALENCE DU PARASITISME INTESTINAL ET CUTANE CHEZ LES RESIDENTS DU CENTRE SOCIAL AIN ATIQ A RABAT

EL WARTITI MA ¹, ENNEFFAH W ¹, EL BOUKHARI S ², BOUCHRIK M ¹, EL MELLOUKI W ¹ ET LMIMOUNI B ¹.

¹ Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mobammed V, Rabat ;

² Centre social Ain Atiq.

E-mail : adnane7@yaboo.fr

L'état de santé des résidents des centres sociaux n'est pas sans poser des problèmes. Le parasitisme intestinal et cutané est très fréquent dans ces institutions. La promiscuité, le manque d'hygiène sont autant de facteurs favorisant ces infections, d'où l'intérêt d'un dépistage systématique par des examens parasitologiques des selles et de la peau. L'objectif de ce travail est d'établir la prévalence et les facteurs favorisant des parasitoses intestinales et ectoparasitoses au centre social Ain Atiq de Rabat. Les résultats permettront d'envisager les moyens efficaces de prévention et de lutte. Il s'agit d'une enquête prospective sur une période de 3 mois (Novembre 2009-Janvier 2010). L'échantillonnage a été fait par tirage au sort aléatoire, sans critères de sélection selon le sexe ou l'âge. Des fiches comportant des données démographiques, cliniques et éventuellement thérapeutiques ont été conçues. Trois prélèvements de selles ont été effectués (J1; J3; J5). A J7 un scotch test anal a été pratiqué systématiquement. Pour chaque prélèvement de selles, un examen macroscopique, un examen direct entre lame et lamelle et 2 techniques de concentration (Willis et Ritchie) ont été réalisés. La recherche des lentes et des sillons cutanés ont été également effectuées. Cent trente deux résidents du Centre social de Ain Atiq ont été inclus. L'âge moyen est de 43 ± 5 ans. Le sex-ratio H/F est de 1,05. La prévalence parasitaire a été plus élevée chez les femmes (73% versus 61%, $p=0,06$). L'examen parasitologique des selles a été positif chez 55 patients (42%). La prévalence des protozoaires a été de 57,7% (71 cas). La prévalence d'*Enterobius vermicularis* a été de 0,03%. Par ailleurs 1 seul cas de gale a été enregistré.

P49 : PARASITOSE INTESTINALE DIAGNOSTIQUEES AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE DU CHU BENBADIS DE CONSTANTINE-ALGERIE DURANT LES ANNEES 2008-2009 ET 2010

ALLOUACHE B, BOULEMAALI I, BOUHOUCHE I, DJBALLAH M ET MOULAHM T

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Constantine, Algérie.

E-mail : badallouach@yaboo.fr

Les parasites intestinaux occupent une place importante dans la pathologie digestive. Chez l'homme, ils se répandent souvent par manque d'hygiène. L'objectif de notre travail est d'établir un bilan rétrospectif de tous les parasites intestinaux diagnostiqués au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU Benbadis de

Constantine sur la période allant du mois de Janvier 2008 à Août 2010. Les résultats préliminaires montrent que les protozoaires viennent en première position des parasites mis en évidence avec *Endolimax nanus* comme espèce la plus fréquente. *Enterobius vermicularis* est le métazoaire le plus rencontré particulièrement chez l'enfant. Le sex ratio est de 0,73.

P50 : LES PARASIToses OPPORTUNISTES DIGESTIVES CHEZ LES PATIENTS INFECTES PAR LE VIH

FATHALLAH A ¹, YAACOUB A ¹, BELLASFAR N ², DHIB I ¹, BEN ABDELJELIL J ¹, SAGHROUNI F ¹ ET BEN SAID M ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Farbat Hached- Sousse ;

² Service des maladies infectieuses, Hôpital Farbat Hached- Sousse, Tunisie.

E-mail : akila.fathallah@rms.tn

Les parasitoses digestives opportunistes (PDO) sont souvent responsables de diarrhées chroniques chez les sujets VIH (+) pouvant entraver leur pronostic vital. L'objectif de notre travail est d'étudier les caractéristiques cliniques, para-cliniques, thérapeutiques et évolutives de ces parasitoses. Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 23 ans (1988- Août 2010), concernant les parasitoses digestives opportunistes diagnostiquées chez les patients atteints de SIDA. Durant cette période 151 sidéens ont subi des examens parasitologiques des selles. Vingt et un ont présenté des PDO soit une prévalence de 13,9%. Il s'agit de 11 femmes et 10 hommes âgés entre 2 et 67 ans, avec une moyenne de 32,7 ans. Sur les 21 patients seuls 4 avaient bénéficié d'une tri-thérapie anti-rétrovirale devenue disponible à partir de Janvier 2000. On a colligé 13 cas de cryptosporidiose (prévalence=8,6%), 4 cas d'isosporose (prévalence=2,6%). La microsporidiose recherchée seulement depuis 1998 a été retrouvée 4 fois, elle était isolée dans 2 cas et associée à une cryptosporidiose dans les 2 autres cas. Le taux de CD₄ a varié entre 23 et 230 éléments/mm³ avec une moyenne de 93 éléments/mm³. La diarrhée était le maître symptôme. L'évolution a été marquée par la survenue de complications : troubles hydroélectrolytiques (6 cas), cholécystite (4 cas), cholangite sclérosante (1cas) ; la récurrence dans 4 cas et le décès par cryptosporidiose dans 1 cas.

P51 : LE PARASITISME INTESTINAL CHEZ LES MANIPULATEURS DE DENREES ALIMENTAIRES DANS LA REGION DE TUNIS

GUIDARA R, KALLEL A, SIALA E, BEN AYED S, BEN ALAYA N, BEN ABDALLAH R, BEN ABDA I, ZALLAGA N, AOUN K ET BOURATBINE A.

Service de Parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

Les manipulateurs de denrées alimentaires (MDA) représentent une source de dissémination parasitaire faisant de leur surveillance une des mesures fondamentale du programme de prévention des parasitoses intestinales. L'objectif de ce travail est d'établir le profil du parasitisme intestinal de cette population à risque. Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 9658 prélèvements de selles pratiqués entre janvier 1998 et décembre 2009 au service de Parasitologie-Mycologie de l'Institut Pasteur de Tunis. Chaque prélèvement a fait l'objet d'un examen microscopique direct et après concentration de Ritchie. Des analyses complémentaires ont été pratiquées au besoin. Une PCR a été effectuée sur 31 selles montrant des formes morphologiques d'*Entamoeba (E.) histolytica/dispar*.

La prévalence globale du parasitisme intestinal des MDA est de 13,2%. Elle est légèrement supérieure à celle de la population générale. Le poly parasitisme est de 14,7%; en rapport probablement avec les modalités de transmission communes des protozoaires. *Endolimax nanus* et *E. coli* ont été les parasites les plus fréquem-

ment mis en évidence (respectivement 33,7% et 18,8% des parasites observées). Parmi les espèces pathogènes ou potentiellement pathogènes, *Dientamoeba fragilis* et *Giardia intestinalis* ont été les plus retrouvées (prévalences respectives 2,4% et 1,2%). *Blastocystis hominis* dont la pathogénicité est encore controversée a représenté 9,8% de l'ensemble des parasites (prévalence de 1,5%). La prévalence d'*E. histolytica/dispar* était de 0,5% ; Aucun des 31 isolats analysés par PCR ne correspondait à *E. histolytica*. Les helminthes ont représenté 7% des parasites identifiés. La surveillance des MDA reste utile pour limiter la circulation des pathogènes intestinaux et réduire le risque de transmission aux consommateurs.

P52 : EVOLUTION DU PARASITISME DUGESTIF DANS LA REGION DE SOUSSE SUR UNE PERIODE DE 23 ANS (1987-2009)

YAACOUB A, SAGHROUNI F, BEN ABDELJELIL J, GHEITH S, HAMROUNI S, FATHALLAH A ET BEN SAID M.

Laboratoire de Parasitologie Hôpital Farbat Hached Sousse, Tunisie.

E-mail : yaacoubalia@gmail.com

Le but de notre travail est d'estimer la fréquence du parasitisme digestif dans la région de Sousse et d'analyser l'évolution de l'incidence des différents parasites à travers l'étude rétrospective des examens parasitologiques des selles (EPS) et des scotch-tests (ST) réalisés dans notre laboratoire durant les 23 dernières années (1987-2009). Durant cette période, nous avons réalisé un total de 66692 EPS dont 19807 (29,7%) étaient positifs et 10234 ST dont 3483 (34%) étaient positifs. Les parasites les plus fréquents étaient des Protozoaires (86,8%) représentés principalement par *Giardia* (24,96%), *Dientamoeba fragilis* (21,25%), *Blastocystis hominis* (19,27%), *Endolimax nanus* (14,5%) et *Entamoeba coli* (9,6%). L'oxyurose était de loin l'helminthiase la plus fréquente (84,1%). Nous avons noté une diminution du parasitisme global. L'évolution des principaux protozoaires a été marquée par la nette diminution de *Giardia* et de *E. histolytica/dispar*. Pour *D. fragilis*, *B. hominis*, *E. nanus* et *E. coli*, la baisse a été nette surtout au cours de la dernière décennie. La diminution du parasitisme digestif dans la région de Sousse peut être expliquée par l'amélioration du niveau de vie de la population et de leurs conditions d'hygiène et par l'amélioration de la qualité de l'assainissement, dans la mesure où la majorité des parasitoses digestives est liée au péril fécal.

P53 : PREVALENCE ET IDENTIFICATION DES ESPECES DE MICROSPORIDIIES INTESTINALES EN TUNISIE

CHABCHOUB N ¹, ABDELMALEK R ^{1,2}, KANOUN F ^{1,2}, ESSID R ¹, MEDDEB B ³, BOURATBINE A ¹, BEN CHAABENE T ² ET AOUN K ¹.

¹ LR05SP03, Equipe « Eco-épidémiologie parasitaire », Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ;

² Service des maladies infectieuses, Hôpital de la Rabta, Tunis, Tunisie ;

³ Service d'Hématologie, Hôp Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

E-mail : tmarnaqla@yahoo.fr

Les données concernant les microsporidioses intestinales (MI) sont restées longtemps fragmentaires en Tunisie. L'avènement récent des techniques moléculaires de détection et d'identifications d'espèces a permis de pallier les insuffisances constatées jusque là. L'objectif de ce travail est de déterminer la prévalence des MI chez les patients à risque et d'identifier les espèces en cause. Des prélèvements de selles ont été collectés chez 173 sujets immunodéprimés (119 infectés par le VIH et 54 atteints d'hétopathies malignes) dans le cadre du

dépistage systématique des infections opportunistes. La recherche de microsporidies a été réalisée par la coloration au Trichrome de Weber et par une PCR utilisant les amorces universelles V1/PMP2. La caractérisation, à l'échelle de l'espèce des isolats obtenus, a été réalisée par des PCRs spécifiques d'espèces et par le séquençage partiel du gène codant pour la SSU ARNr. La prévalence par PCR des MI a été de 14.3% chez les sidéens (contre 6.7% par le trichrome, $p=0.03$), et de 9.3% chez ceux porteurs d'hémopathies malignes. Seuls 10 des 22 sujets infectés avaient des selles diarrhéiques. L'identification d'espèce a concerné 23 échantillons positifs (une double infestation). Elle a révélé l'incrimination de trois espèces *Enterocytozoon bienewisi* (34.8%), *Encephalitozoon intestinalis* (56.6%) et *Enc. Hellem* (4.3%). Ces identifications ont été confirmées pour 18 isolats par le séquençage des amplifiats obtenus en PCR utilisant les amorces V1/PMP2. Les MI se révèlent non exceptionnelles en Tunisie. Contrairement aux séries Nord méditerranéennes, *E. intestinalis* semble davantage incriminé dans la genèse des cas.

P54 : CRYPTOSPORIDIOSE HUMAINE EN FRANCE: RAPPORT DU RESEAU «CRYPTOSPORIDIES ANOFEL» 2006-2009.

RESEAU CRYPTOSPORIDIES – ANOFEL (CORRESPONDANTS : GUYOT K ¹, DEROUIN F ²)

¹ *Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents (BDPEE), Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CHIL), Institut Pasteur de Lille, Inserm U1019, CNRS UMR 8402, Université Lille Nord, France ;*

² *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, hôpital Saint-Louis, Paris, France.*

E-mail : francis.derouin@sls.aphp.fr

La fréquence de la cryptosporidiose humaine reste mal évaluée en Europe, et peu de données épidémiologiques sont disponibles en France. L'objectif de cette étude est de décrire la fréquence et les caractéristiques de la cryptosporidiose en France. Elle a été réalisée par le Réseau «Cryptosporidie ANOFEL» qui, sur la base du volontariat, regroupe 38 laboratoires hospitaliers de parasitologie répartis sur tout le territoire national. De janvier 2006 à décembre 2009, 407 cas de cryptosporidiose ont été notifiés et 364 échantillons ont été collectés. Parmi les cas, 74 ont été observés chez des enfants (18,2%) et 157 chez des patients infectés par le VIH (38,6%). Une saisonnalité des cas a été observée, avec un pic en fin d'été/début d'automne. Le génotypage de 345 isolats a permis d'identifier *Cryptosporidium parvum* chez 168 patients (54,2%), *C. hominis* chez 113 (36,4%), et d'autres espèces chez 29 (15 *C. felis*, 4 *C. meleagridis*, 4 *C. canis*, 1 génotype «lapin» et 1 génotype «*Tamias*» ainsi que 4 nouveaux génotypes différents de *Cryptosporidium*). Cette étude a permis de fournir les premières données relatives à la cryptosporidiose sur l'ensemble du territoire français et constituer la première banque d'isolats de *Cryptosporidium* en France.

P55 : ETUDE DU POLYMORPHISME MOLECULAIRE DES SOUCHES TUNISIENNES DE *C. PARVUM* ET *C. HOMINIS*

ESSID R ¹, GTARI M ², BEN ABDA I ¹, BEN ABDELMALEK R ¹, AOUN K ¹ ET BOURATBINE A ¹.

¹ *LR 05SP03, Institut Pasteur de Tunis ;*

² *Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie.*

E-mail : essidrym@hotmail.com

Cryptosporidium spp. est un parasite intracellulaire souvent responsable de diarrhées chez l'homme et les animaux. Il est composé de plusieurs espèces et sous-espèces qui circulent entre ces deux réservoirs. Les

méthodes moléculaires ont montré une hétérogénéité importante au sein de la même espèce. Ainsi, l'étude de polymorphisme des souches circulantes est importante puisqu'elle permet de mieux comprendre la dynamique de transmission de ce protozoaire, l'épidémiologie et les sources hôtes possibles à l'origine de l'écllosion d'une épidémie. Afin de caractériser cette dynamique de transmission, une analyse de polymorphisme basée sur l'analyse séquentielle du gène codant pour la GP60 et effectuée sur 43 isolats de *C. parvum* (27 humains et 16 animaux) et 13 isolats de *C. hominis* a été effectuée. Les résultats obtenus montrent une variabilité génétique importante des souches tunisiennes au sein des deux espèces. Parmi les populations de *C. parvum*, l'analyse phylogénétique a montré qu'un nombre important de souches était à la fois trouvé chez l'homme et l'animal. Concernant les souches de *C. hominis*, toutes isolées chez l'homme, les isolats trouvés ont été rarement décrits auparavant.

P56 : PHYLOGENIE MOLECULAIRE DES PARABASALIA BASEE SUR DIFFERENTS INDICATEURS MOLECULAIRES.

MANTINI C, NODA S, DALIA-CORNETTE J, INOUE JI, KITADE O, OHKUMA M ET VISCOGLIOSI E

Center for Infection and Immunity of Lille (CILL), Institut Pasteur of Lille Inserm U1019, CNRS UMR 8402 University Lille Nord, France.

E-mail : clea_mantini@hotmail.com

Les Parabasalia constituent un groupe d'eucaryotes unicellulaires complexe et diversifié. Jusqu'à ces dernières années, la systématique de ce groupe était basée sur un nombre restreint de caractères morphologiques permettant de décrire deux grandes classes : les trichomonadines et les hypermastigines. Plus récemment, notre équipe a largement contribué au développement de phylogénies moléculaires essentiellement basées sur la comparaison des séquences d'ARNr 18S. Or, ces phylogénies moléculaires étaient largement en conflit avec la systématique classique. Aussi Adl et al. (2005) proposèrent une nouvelle classification des Parabasalia en 4 ordres : Cristamonadida, Trichonymphida, Spirotrichonymphida et Trichomonadida. Cependant, de nouvelles discordances sont apparues avec l'obtention des séquences d'ARNr 18S pour de nouveaux taxons. Afin de pouvoir proposer à court terme une nouvelle systématique durable des Parabasalia, nous avons obtenu les séquences d'ARNr 18S de taxons d'intérêt de l'ordre des Trichomonadida et de l'ordre des Cristamonadida afin de compléter les phylogénies moléculaires existantes. En parallèle, les séquences d'autres indicateurs tels que la GAPDH, l'actine et le facteur d'élongation, ont été obtenues pour un échantillonnage de taxons représentatif de toute la diversité génétique de ce groupe. Les données obtenues confirment la polyphylie des Calonymphidae, Devescovinidae, Trichomonadida et hypermastigines et la monophylie de l'ordre des Cristamonadida.

P57 : GENOTYPAGE DE *DIENTAMOEBIA FRAGILIS* PAR PCR SEQUENÇAGE

TRABELSI H, CHEIKHROUHOU F, MAKNI F, SELLAMI H, NÉJI S ET AYADI A.

Laboratoire de Parasitologie mycologie CHU Habib Bourguiba Sfax Tunisie.

E-mail : fatima_cheikhrouhou@yahoo.fr

La majorité des auteurs estiment que *Dientamoeba fragilis* est un pathogène entérique à l'origine de symptômes gastro-intestinaux. Les objectifs de cette étude ont été de montrer l'apport des techniques moléculaires dans la détection de *Dientamoeba fragilis* et son génotypage. Notre étude a été réalisée à partir de 14 échantillons de selles qui ont fait l'objet d'observation microscopique à l'état frais, d'une extraction de l'ADN par QIAamp kit et

par la technique CTBA(Cyltrimethylammoniumbromide) suivie d'une amplification. Nous avons utilisé des amorces (DF400 et DF1250) qui ciblent la région ssu rRNA de *D. fragilis*. Les produits de la PCR ont été séquencés et ont fait l'objet d'analyses phylogénétiques. L'observation microscopique à l'état frais des prélèvements a permis de détecter *D. fragilis* dans 85% des cas alors que la PCR a été positive dans 100% des cas. L'analyse phylogénétique a montré que les 14 souches de *Dientamoeba fragilis* ont le même génotype (génotype 1) avec des variations internes entre les souches. Il s'agit d'une première étude tunisienne concernant l'identification moléculaire de *D. fragilis*. La PCR s'est montrée comme étant plus sensible que la microscopie optique. Malgré les variations intergénotypiques observées entre les différentes souches séquencées, le choix d'une autre région autre que la petite sous-unité ribosomale comme marqueur épidémiologique serait intéressant.

P58 : RESISTANCE DE *DIENTAMOEBIA FRAGILIS* AU METRONIDAZOLE, QUELLE ALTERNATIVE THERAPEUTIQUE ?

OUESLATI J, SGHAIER W, CHOUIKHA N, EL CADHI S, SELLAMI A, TRABELSI S ET KHALED S.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie.

E-mail : samira.kbaled@rns.tn

Dientamoeba fragilis (Df) est un protozoaire intestinal cosmopolite. Longtemps rattaché à l'ensemble des amibes, il est actuellement reconnu dans le groupe des flagellés intestinaux et son pouvoir pathogène est confirmé. Nous rapportons une observation à propos d'une patiente porteuse d'une maladie de Crohn qui présente une infection à Df résistante au traitement par le métronidazole. Elle est âgée de 44 ans suivie depuis 2001 pour maladie de Crohn colique. En 2004 elle a eu une amputation abdomino-périnéale et colectomie gauche avec une stomie définitive. Elle consulte en Avril 2010 pour une diarrhée légèrement sanglante. L'examen parasitologique des selles note la présence de formes végétatives de *Df*. La patiente a eu une cure de Flagyl à la dose de 15 g /j en trois prises pendant 10 jours. L'EPS de contrôle fait une semaine après l'arrêt du traitement est resté positif. La patiente a eu deux autres cures de flagyl, de 10 jours chacune, avec persistance de *Df* dans les selles, et s'est posé l'indication d'un autre traitement : Doxycycline, iodoquinol. La résistance de *Df* au métronidazole doit entraîner la prescription d'autres molécules efficaces comme cela a été rapporté par d'autres auteurs.

P59 : GIARDIA INTESTINALIS: PREVALENCE DANS LA REGION DE TUNIS

BOUCHEKOUA M, BELHAJ ALI I, EL CADHI S, CHOUIKHA N, SELLAMI A, TRABELSI S ET KHALED S.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie.

E-mail : samira.kbaled@rns.tn

Giardia intestinalis est un protozoaire flagellé cosmopolite. Les manifestations cliniques de la giardiose sont polymorphes depuis le portage asymptomatique jusqu'à une diarrhée sévère avec malabsorption. L'objectif de ce travail est de déterminer la prévalence de la giardiose dans la région de Tunis et d'étudier ses aspects cliniques et thérapeutiques. Notre étude est rétrospective, portant sur 4697 échantillons de selles colligés sur 5 ans (2005-2009), pour lesquels on a pratiqué un examen microscopique direct et une technique de concentration par la méthode de Ritchie. *Giardia intestinalis* a été isolé dans 78 cas soit 1,66%. La prévalence de la giardiose a été plus élevée chez les enfants (56,4% des cas). Une recrudescence estivale a été rapportée. La symptomatologie clinique a été dominée par des douleurs abdominales, vomissements et perte de poids. Le

traitement a été basé sur le métronidazole. Les contrôles parasitologiques des selles effectués 7 jours après l'arrêt du traitement ont été négatifs.

La giardiose, parasitose cosmopolite, est rapportée avec des fréquences variables selon les pays. Affection liée au péril fécal, elle justifie une meilleure application des moyens de prophylaxie, en particulier traitement et contrôle des eaux usées et traitement systématique des patients infectés.

P60 : L'APPENDICE, RESERVOIR DE *GIARDIA INTESTINALIS*

BOURÉE P ¹, VONS C ², BOUÉ F ² ET BISARO F ².

¹ Unité de parasitologie, Hôpital Bicêtre ;

² Service de chirurgie générale, Hôpital Antoine Béchère, Université Paris-XI.

E-mail : patrice.bouree@bct.apbp.fr

Giardia intestinalis est un protozoaire intestinal cosmopolite, responsable de troubles digestifs avec, parfois, un retentissement sur l'absorption des aliments. Le traitement en est habituellement simple et efficace, mais peuvent exister des «réservoirs» assez difficiles à atteindre. Un patient de 54 ans, atteint d'hypogammaglobulinémie, a consulté pour des diarrhées persistantes. Parmi les explorations à visée étiologique, les examens parasitologiques des selles ont révélé la présence de formes végétatives et de kystes de *G. intestinalis*. Malgré plusieurs traitements par métronidazole, les épisodes de diarrhées ont persisté et les *Giardia* étaient toujours présentes dans les selles. Un foyer biliaire ayant été envisagé, le patient a reçu des cholagogues associés à différents antiparasitaires (albendazole, quinacrine). Devant la persistance de la diarrhée, une cholecystectomie est réalisée puis une appendicectomie. L'examen anatomo-pathologique des pièces n'a retrouvé aucun parasite dans la vésicule ni dans le liquide biliaire, mais en grand nombre dans l'appendice. Après cette appendicectomie, le patient n'a plus présenté de diarrhées, malgré un recul de plusieurs années. Si la vésicule biliaire était connue comme réservoir de *Giardia*, l'appendice peut contenir divers parasites, mais n'était pas répertorié, jusqu'à présent, comme réservoir de *Giardia*, et l'appendicectomie pourra être proposée dans les diarrhées traînantes et résistant aux traitements habituels.

P61 : CARACTERISATION DES METACASPASES CHEZ *TRICHOMONAS VAGINALIS*

MANTINI C, SANCIU G, MELONI D, DALIA-CORNETTE J, WINTJENS R, DROBECQ H, BERTOOUT J ET VISCOGLIOSI E.

Center for Infection and Immunity of Lille (CILL), Institut Pasteur of Lille Inserm U1019, CNRS UMR 8402 University Lille Nord de France.

E-mail : clea_mantini@hotmail.com

Le parasite *Trichomonas vaginalis* est l'agent responsable de la trichomonose humaine, la maladie non virale sexuellement transmise la plus répandue à travers le monde. Il est possible d'induire une forme de mort cellulaire distincte de la nécrose chez ce parasite amitochondrié via l'utilisation de drogues pro-apoptotiques. Plusieurs caractéristiques de cette mort cellulaire sont communes à celles observées pour l'apoptose des métazoaires. Chez *Trichomonas*, nous avons identifié des protéines homologues aux caspases des métazoaires, les métacaspases. Ces protéines, au nombre de 11, possèdent toutes le domaine catalytique peptidase C14 et la dyade histidine-cystéine du site catalytique caractéristiques des caspases. La régulation de l'expression des gènes codant ces protéines semble différente de celle généralement observée pour les gènes de caspases. Les métacaspases produites en système bactérien ont la propriété de s'auto-cliver et présentent une activité endopeptidase arginine ou lysine spécifique tout comme les métacaspases étudiées chez d'autres

organismes. En revanche, celles produites en système eucaryote (*S. cerevisiae* et *T. vaginalis*) semblent ne pas s'auto-cliver mais présente les mêmes caractéristiques enzymatiques. Enfin, une étude préliminaire portant sur leur fonction (ARN anti-sens) montre que deux des métacaspases de *T. vaginalis* seraient impliquées dans la mort cellulaire de ce parasite.

P62 : IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES TRICHOMONADINES CHEZ L'HOMME: LOCALISATIONS INHABITUELLES ET POUVOIR PATHOGENE

MELONI D, MANTINI C, DESOUBEUX G, GANTOIS N, DUBOUCHER C, FIORI PL, DEI-CAS E, DUONG TH ET VISCOGLIOSI E.

Centre d'Infection d'Immunité de Lille, Institut Pasteur de Lille, Biologie et Diversité des Pathogènes Eucaryotes Emergents, Inserm U1019, CNRS UMR 8402, Université Lille Nord de France, Lille, France ; Hôpital Bretonneau, Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropicale, Tours, France; Centre Hospitalier Intercommunal de Poissy/Saint-Germain-en-Laye, Saint-Germain-en-Laye, France ; Department of Biomedical Sciences, Division of Experimental and Clinical Microbiology, University of Sassari, Sassari, Italie.

E-mail : eric.viscogliosi@pasteur-lille.fr

Chez l'homme, quatre espèces de trichomonadines ont été fréquemment décrites : *Trichomonas tenax* (cavité buccale), *Pentatrichomonas hominis*, *Dientamoeba fragilis* (tube digestif), et *Trichomonas vaginalis* (appareil urogénital). Seules *T. vaginalis* et *D. fragilis* étaient reconnues comme pathogènes. De plus, ces trichomonadines étaient toutes considérées, sauf rares exceptions, comme site-spécifiques. Pourtant, plusieurs travaux de notre équipe ont montré que les trichomonadines pouvaient coloniser avec une fréquence importante les poumons de patients atteints de différentes pathologies pulmonaires. Par des techniques moléculaires, pas moins de 7 espèces de trichomonadines ont pu être pour l'instant identifiées chez l'homme dont 6 dans les poumons. Certaines de ces espèces ont probablement une origine animale ce qui pose la question du potentiel zoonotique encore inconnu des trichomonadines. Dans les cas de trichomonose pulmonaire, rien ne permet pour l'instant de confirmer une action délétère des trichomonadines dans les alvéoles. Cependant, plusieurs observations suggèrent un rôle pathogène potentiel de ces parasites dans ces contextes cliniques. En parallèle, une de nos études récentes a démontré le pouvoir pathogène de *P. hominis* surtout chez les enfants. De plus, ce parasite est capable de survivre pour de longues périodes dans l'eau ce qui témoigne de son fort potentiel de transmission par voie oro-fécale.

P63 : PREVALENCE ET INTERET DU DIAGNOSTIC DE L'AMIBIASE EN CAS DE MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

MAAMOURI N ^{1,2}, BEN AYED S ¹, AOUN K ¹, BEN MAMI N ² ET BOURATBINE A ¹.

¹ *LR 05SP03 et Laboratoire de Parasitologie, Institut Pasteur de Tunis ;*

² *Service de gastroentérologie B. Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie.*

E-mail : nadiamaamouri1939@yahoo.fr

Le portage d'amibes *Entamoeba histolytica* / *E. dispar* (*E.h/E.d*) serait plus important chez les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) comparativement à la population générale. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt de la recherche systématique de ces amibes en cas de MICI et d'identifier la technique de référence pour leur détection. Il s'agit d'une étude prospective concernant tous les patients porteur de MICI et suivis au service de gastroentérologie B de l'hôpital la Rabta entre avril 2004 et avril 2007. Un examen microscopique et une PCR à la recherche d'amibes *E.h /E.d* des selles ont été pratiqués chez tous les patients.

L'ADN a été extrait directement des selles en utilisant le kit QIAamp DNA Stool miniKit. L'amplification a ciblé respectivement des fragments d'ADN_r de 145 pb et 133 pb spécifiques d'E.h et d'E.d respectivement.

Quatre vingt huit patients ont fait l'objet de l'étude. Il s'agissait de 54 femmes et de 34 hommes. L'âge moyen était de 38,7 ans (extrêmes de 17 à 73 ans). Le diagnostic de rectocolite hémorragique (RCH), de maladie de Crohn (MC) et de colite inclassable, a été retenu chez respectivement 36 ; 51 et 1 patients. Quarante quatre malades avaient une poussée de la maladie au moment de l'étude: 27 atteints de RCH et 17 Atteints de MC. L'examen microscopique des selles a mis en évidence des formes végétatives d'E.h/E.d chez 2 patients (prévalence de 2,3%) : 1 atteint de RCH et 1 de MC. La PCR était positive dans 11 cas (prévalence de 12,5%): Il s'agissait de 3 patients ayant une RCH (2 en poussée) et de 8 malades ayant une MC (3 en poussée). L'identification d'espèce a conclu à la présence d'E.d dans tous les cas. Conclusion : La PCR se confirme plus sensible pour la détection des porteurs d'amibes. Le portage d'amibes est plus élevé chez les patients atteints de MICI par rapport à la population générale. Il s'agit cependant dans tous les cas de formes non pathogènes d'E.d.

P64 : LES KERATITES AMIBIENNES: IDENTIFICATION PHENOTYPIQUE ET GENOTYPIQUE

NEJI S, MAKNI F, DENDANA F, SELLAMI H, CHEIKHROUHOU F ET AYADI A.

Laboratoire de parasitologie mycologie. CHU Habib Bourguiba Sfax, Tunisie.

E-mail : nejisourour@yahoo.fr

Les kératites amibiennes à *Acanthamoeba* constituent une pathologie relativement rare mais actuellement en expansion à cause du nombre croissant de porteurs de lentilles. Nous avons colligé trois cas de KA chez des porteurs de lentilles de contact avec la notion d'une mauvaise hygiène d'entretien. Les deux premier cas ont présenté des ulcères cornéens bilatéraux et une baisse de l'acuité visuelle. Le troisième cas a consulté pour une conjonctivite. L'examen direct et la culture des prélèvements cornéens et dans les étuis des lentilles ont montré la présence d'*Acanthamoeba* associée à *Fusarium oxysporum* pour le premier cas. L'évolution sous traitement médical pour ce dernier a été marquée par l'extension des lésions ayant nécessité trois kératoplasties. Alors que les deux autres cas ont été rapidement diagnostiqués et jugulés par un traitement médical. L'identification moléculaire par PCR séquençage en utilisant les amorces (AcanF/ AcanR) a montré que nos souches d'*Acanthamoeba* isolées à partir des prélèvements cornéens appartenaient au génotype T4. La kératite amibienne reste une infection au pronostic redoutable dont le traitement est difficile, particulièrement à un stade avancé; pour cette raison, le diagnostic doit être précoce et efficace. La PCR séquençage s'avère une méthode sensible et rapide pour l'identification des *Acanthamoeba* dans les grattages de cornée ou les biopsies.

P65 : CONTRIBUTION DES CHIENS DANS LA TRANSMISSION DE LA COCCIDIOSE EN TUNISIE

CHAABANE R, OUDNI-M'RAD M, M'RAD S, MEZHOUD H ET BABBA H.

Laboratoire de Parasitologie – Mycologie/ Code 99 –UR/ 08-05, Faculté de pharmacie, 5000 Monastir, Tunisie.

E-mail : raja.chaabane@laposte.net

Les Eimeridés font partis des premiers protistes détectés (1674) et le genre *Eimeria* comprend plus de 1300 espèces. Ces parasites, à l'origine de coccidiose, sont responsables de 17% des pertes du cheptel. Le chien est un hôte non réceptif, il ingère les oocystes et les évacue de manière intacte ce qui facilite leur transmission. Au cours de ce travail nous avons tenté de déterminer le taux d'infestation des fèces de chiens par les *Eimeria* afin d'estimer leur contribution à la contamination de l'environnement. Des fèces de chien ont été recueillies

dans différents gouvernorats de Tunisie. La concentration des parasites a été réalisée par une technique de flottation au gradient de saccharose et leur identification morphologique a été assurée par microscopie. Au cours de ce travail, nous avons détecté 17,26% de selles de chiens contaminées par des oocystes d'*Eimeria* qui est la forme infestante pour toutes les espèces hôtes. Même dans les gouvernorats présentant un climat défavorable pour ce parasite nous avons détecté des taux importants d'infestation des selles par les *Eimeria*. Ces résultats sont inquiétants et nécessitent des études plus approfondies pour identifier précisément les espèces d'*Eimeria* circulants en Tunisie.

P66 : DIFFUSION DE *GIARDIA* ET *CRYPTOSPORIDIUM* EN ELEVAGE DE CHINCHILLA EN ITALIE CENTRALE

MORGANTI G ¹, VERONESI F ¹, MORETTA I ¹, MORETTI A ¹, CELIBERTI S ² ET PIERGILI FIORETTI D ¹.

¹ *Dip. Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali ed Alimentari, Sez. Parassitologia, Fac. Medicina Veterinaria – Perugia ;*

² *Freelancer vétérinaire.*

E-mail : morganti.giulia@alice.it

La distribution du chinchilla comme animal de compagnie connaît une importance croissante. Cependant peu de données existent quant aux pathologies qui le caractérisent. L'objectif de cette étude est de recueillir des données épidémiologiques sur l'infection par *Giardia* et *Cryptosporidium*, entéropathogènes opportunistes avec un potentiel zoonotique, au travers d'une étude de prévalence et de génotypage ultérieur. Nous avons examiné un total 71 échantillons de chinchillas de trois troupeaux distincts, d'élevages d'amateurs, du Centre-Sud Italien; des échantillons de fèces ont été prélevés à la recherche de *Giardia* et *Cryptosporidium* par un kit commercial utilisant l'Immunofluorescence Directe (IFD). Les échantillons ont été classés en 3 groupes selon les modes distincts de l'excrétion (1, 2, 3), sur le nombre de kystes/oocystes calculé pour le domaine optique (400X). L'IFD a montré une prévalence globale de l'infection par *Giardia* et *Cryptosporidium* de 52.11% et 5.63% respectivement; 70% des échantillons positifs pour le *Giardia* avaient des patterns d'excrétion de la classe 2 et 3. Les résultats montrent une diffusion élevée de l'infection par le *Giardia*; des études de génotypage sont en cours pour définir les risques pour la santé associés à la manipulation de ces animaux.

P67 : TYPAGE MOLECULAIRE DE SOUCHES DE *CANDIDA ALBICANS* EN NEONATOLOGIE PAR RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)

BEN ABDELJELIL J ¹, SAGHROUNI F ¹, YAACOUB A ¹, KHAMMARI I ¹, GHEITH S ¹, FATHALLAH A ¹, SBOUI H ² ET BEN SAÏD M ¹.

¹ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Farbat Hached Sousse ;*

² *Service de Néonatalogie, CHU Farbat Hached Sousse, Tunisie.*

E-mail : abdeljeliljibene@yaboo.fr

Le but de notre travail est de rechercher une éventuelle transmission nosocomiale de *C. albicans* à l'unité de soins intensifs de Néonatalogie de notre hôpital en utilisant la technique de RAPD. Nous avons analysé 82 isolats obtenus chez 40 nouveau-nés et 7 isolats chez 5 infirmières porteuses d'onxyis des doigts. Nous avons utilisé séparément les oligos CA1 et CA2 comme amorces. Le pouvoir discriminatif (PD) était de 0,86 pour la RAPD-CA1 et de 0,81 pour la RAPD-CA2. La combinaison des profils obtenus avec les deux PCR a permis d'augmenter le PD à 0,92. Près de 66% des isolats collectés chez les nouveau-nés dérivent de 6 groupes de souches génétique-

ment identiques. Cinq pics épidémiques ont été observés. Trois isolats provenant de 2 infirmières se sont révélés identiques à 11 isolats provenant de 6 nouveau-nés. Parmi ces 11 isolats, 3 ont été collectés à partir de 3 cathéters ombilicaux. Les résultats obtenus suggèrent fortement la transmission nosocomiale de *C. albicans* dans notre unité et le transfert des souches du personnel soignant aux patients ; les onyxis des infirmières seraient un réservoir potentiel de souches hospitalières et le matériel médical implantable une voie de transmission.

P68 : APPORT DU HRM (HIGH RESOLUTION MELTING) ET DU MLP (MICROSATELLITE LENGTH POLYMORPHISM) DANS LE GENOTYPAGE DE *CANDIDA ALBICANS*

BEN ABDELJELIL J ¹, SAGHROUNI F ¹, YAACOUB A ¹, GHEITH S ¹, KAMMARI I ¹, FATHALLAH A ¹, BRETAGNE S ², BEN SAÏD M ¹.

¹ *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Farhat Hached Sousse ;*

² *Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Faculté de Médecine Créteil.*

E-mail : abdeljeliljibene@yahoo.fr

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'apport du HRM dans le typage de souches de *C. albicans* isolées en unité de soins intensifs de néonatalogie de notre hôpital. Nous avons analysé 82 isolats provenant de 40 nouveau-nés et 7 isolats provenant de 5 infirmières. Nous avons réalisé une PCR en temps réel pour amplifier le microsatellite CDC3, puis nous avons précisé la taille des amplicons obtenus (MLP) et enfin analysé les courbes de fusion (HRM). Chaque isolat est caractérisé par un profil de 2 allèles. Cinq allèles différents ont été identifiés et leur association a conduit à 7 profils. Soixante neuf (77,5%) de ces isolats se sont révélés hétérozygotes. Le pouvoir discriminatif du MLP est de 0,76. Pour chaque profil obtenu au MLP, une, deux ou trois courbes de fusions ont été observées. La combinaison du MLP et du HRM nous a permis d'identifier 12 génotypes différents avec un pouvoir discriminatif de 0,78. Le HRM nous a permis de différencier certains isolats trouvés identiques selon le MLP. Toutefois, le pouvoir discriminatif des deux techniques combinées reste relativement modeste et ce, en raison de l'étude d'un seul marqueur microsatellite. La reproductibilité de la technique rend possible la comparaison entre laboratoires.

P69 : OSTEOMYELITE BIFOCALE A CRYPTOCCOQUE ET LUPUS ERYTHEMATEUX SYSTEMIQUE : A PROPOS D'UNE OBSERVATION

BELASFAR N ¹, HACHFI W ¹, BEN FREDJ H ², SAGHROUNI F ³, KAABIA N ¹ ET LETAIEF A ¹.

¹ *Service de Maladies Infectieuses ;*

² *Service de Rhumatologie ;*

³ *Laboratoire de Parasitologie. CHU Farhat Hached Sousse-Tunisie.*

La cryptococcose est une infection opportuniste qui s'observe, généralement à un stade avancé de l'infection VIH. En dehors de ce contexte, les maladies inflammatoires rhumatismales, ainsi que les traitements immunosuppresseurs en sont des facteurs prédisposant. Nous rapportons le cas d'une patiente de 23 ans, suivie depuis 11 ans pour lupus érythémateux systémique (LES), sous prednisone à la dose de 7,5 mg/jour depuis 7 ans, qui a présenté une ostéite de l'extrémité supérieure du tibia avec un abcès des parties molles en regard. L'évolution après mise à plat et antibiothérapie, était marquée par une récurrence locale de l'abcès. Quatre mois plus tard, elle est ré-hospitalisée pour un abcès froid du cuir chevelu en regard de l'os pariétal. L'examen mycologique des prélèvements des sécrétions a mis en évidence *Cryptococcus neoformans* dans l'abcès pariétal et au niveau de la plaie en regard de l'extrémité supérieure de tibia. L'antigénémie cryptococcique était positive. L'IRM a montré

un empyème cérébral extra-dural avec une ostéomyélite en regard. La ponction lombaire a montré un liquide céphalorachidien (LCR) pauci-cellulaire hypoglycorachique hyperalbuminorachique mais sans mise en évidence du champignon ni de ses antigènes dans le LCR. Un traitement par fluconazole à la dose 400 mg/jour a été prescrit. Un drainage chirurgical de l'empyème cérébral avec l'extraction du séquestre osseux a été effectué. Avec un recul de 2 mois, sous la même dose de fluconazole, la patiente est asymptomatique avec régression des marqueurs biologiques de l'inflammation. Cette observation se caractérise par la survenue d'une cryptococcose disséminée chez une patiente sous corticoïdes au long cours pour un LES avec une double localisation osseuse. Ainsi, le diagnostic d'une infection fongique est à évoquer devant d'autres terrains d'immunosuppression, en dehors de l'infection par le VIH.

P70 : ISOLATION DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* VAR *NEOFORMANS* CHEZ 2 HIBOUX (*BUBO BUBO*, LINNAEUS 1758) ÉLEVÉS EN CAPTIVITÉ

AGNETTI F ¹, MORETTA I ², CROTTI S ¹, SOLA D ¹, AGOSTINI R ³, TONUCCI F ¹, DANESI P ⁴ ET MORETTI A ².

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Pesaro ;

² Facoltà di Medicina Veterinaria, Perugia ;

³ Asur Marche ZT2, Urbino; ⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova.

E-mail : annabella.moretti@unipg.it

Les oiseaux de proie sont connus pour être porteurs de champignons pathogènes. Le but de cette étude est de décrire l'isolement de *Cryptococcus* à partir des hiboux (*Bubo bubo*) élevés dans un centre de réadaptation des animaux sauvages (Marches, Italie). Deux hiboux, ayant des antécédents de traumatisme des ailes, dyspnée et diarrhée, ont été reçus pour l'autopsie en Janvier 2010. Échantillons pulmonaires, hépatiques et intestinales ont été collectés pour les examens bactériologiques et mycologiques (ont été inoculés en Sabouraud Dextrose Agar et CAFC et incubées à 26°C et 37°C). Levures développées ont été examinées macroscopiquement, puis identifiées par API ID32C (Biomérieux®). Les colonies classées comme *Cryptococcus* étaient caractérisées par un protocole de PCR. Examens bactériologiques des poumons et de foie étaient positifs pour *Mycoplasma spp.* et *Salmonella spp.*, respectivement. Les résultats mycologiques du poumon et du intestin étaient positifs pour *Candida albicans*, *Candida rugosa* et *Cryptococcus humicola*, ce dernier classé comme *Cryptococcus neoformans var. neoformans* par la méthode PCR. Bien que les antécédents médicaux et l'autopsie attestaient une lésion traumatique et une infection bactériologique, les résultats obtenus ont montré la présence de *C. neoformans* et confirment le rôle des oiseaux de proie comme porteurs et diffuseurs de la levure pathogène.

P71 : PREMIER ÉPISODE D'ALLURE EPIDEMIQUE DE DERMATOPHILOSE BOVINE EN BELGIQUE.

LAGNEAU P-E.

ARSIA – Mons, Belgique.

E-mail : paulemile.lagneau@arsia.be

Plusieurs vaches laitières présentent une dermatite exsudative, extensive associée à la formation de croûtes principalement concentrées sur les flancs, le gril costal et la croupe. Les croûtes épaisses de teinte brun-orangé adhérent fortement au niveau de la peau infectée. Après dilacération des croûtes et exposition au CO₂, des colorations et des cultures sont réalisées. En culture, nous observons la présence de colonies rugueuses,

nocardioformes, à bords irréguliers, hémolytiques, jaunes et fortement ancrées dans la gélose. L'examen microscopique révèle des filaments en «voie de chemin de fer» typiques de *Dermatophilus congolensis*. Pour les vaches laitières, le traitement préconisé est basé sur le brossage des lésions à l'aide d'une solution de chlorexidine et sur l'injection par voie intramusculaire de ceftiofur. Les lésions des animaux atteints ont rapidement régressé et nous n'avons pas observé de récurrence. C'est la forme particulière des croûtes en «brosse de peintre» qui nous orienté vers une recherche d'une dermatophilose éventuelle. Longtemps considérée comme une affection des régions tropicales et subtropicales, l'observation de ces nouveaux cas de dermatophilose bovine confirment la distribution mondiale de cette maladie. A notre connaissance, c'est le premier cas d'épisode épidémique de dermatophilose bovine rapporté en Wallonie.

P72 : DERMATOPHYTOSES CHEZ DES CHINCHILLA, ELEVES ET VENDUS EN TANT QUE « PETS »

MORETTI A ¹, MORETTA I ¹, VERONESI F ¹, MORGANTI G ¹, CELIBERTI S ² ET AGNETTI F ³.

¹ *Dip. Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali ed Alimentari, Sez. Parassitologia, Fac. Medicina Veterinaria-Perugia ;*

² *Freelancer vétérinaire ;*

³ *Istit. Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche - Pesaro.*

E-mail : annabella.moretti@unipg.it

Les dermatophytes, champignons epidermotropes et keratinophiliques, revêtent un gros intérêt pour la santé humaine-vétérinaire, l'économique et les aspects sociaux. Les animaux peuvent jouer le rôle de porteurs de lésions, d'infectés latents et de porteurs asymptomatiques. Un pourcentage élevé d'animaux suspectés d'avoir des lésions dermatophytiques (+16/45 au total) dans un élevage de chinchillas (Abruzzes, Italie centrale), élevés et vendus comme animaux de compagnie, a motivé cette étude, avec le but principal de s'entendre sur une définition étiologique et disposer de données supplémentaires, étant donné la rareté des notes bibliographiques sur la question. Trichophyton mentagrophytes, après examen cultural de spécimens cutané-pilaires, était le seul dermatophyte isolé dans les cas suspectés (chez les adultes et les chiots). Parmi les sujets "sains", 8/29 étaient porteurs du même dermatophyte, parmi les restants ont observé des moules surtout du genre *Chrysosporium* et *Cladosporium*. Les animaux négatifs étaient seulement 2/45 (4,4%). Les résultats montrent l'importance de soumettre ces animaux à des tests mycologiques avant de les insérer dans un contexte familiale (pour le potentiel zoonotique) et à effectuer des contrôles dans les élevages. D'autres recherches devraient se concentrer sur l'utilisation de molécules antifongiques sur les animaux infectés (traitements peu connus et souvent empruntés à d'autres espèces).

P73 : DIAGNOSTIC MYCOLOGIQUE DES ONYCHOPATHIES AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE, CHU MUSTAPHA, ALGER

HAINÉ-MADANI K ET HAMRIOUI B.

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Mustapha, Alger, Algérie.

E-mail : ka_haine@yahoo.fr

Les onychomycoses représentent les étiologies les plus fréquentes des onychopathies. Elles sont un des motifs les plus fréquents de demande d'examen mycologiques au sein des laboratoires de mycologie. Notre étude rétrospective du 1er janvier 2000 au 30 avril 2010 a concerné 3489 prélèvements d'ongles. Nous avons noté un

taux global de positivité de 82% d'où l'intérêt d'un examen mycologique devant une onychopathie. L'atteinte des ongles des pieds est la plus fréquente (59% des cas) suivie de celle des mains dans 30% des cas. Dans 11% des cas il y avait une atteinte mixte. Tous les ongles peuvent être touchés à la fois, ceci laisse entendre que les consultations pour onyxis sont souvent tardives. A également été notée une légère prédominance chez les femmes, 56% des cas. La fréquence de l'atteinte augmente avec l'âge des malades. Elle reste rare chez l'enfant de moins de 10 ans, 4% des cas. Les levures occupent la 1^{ere} place des champignons isolés avec *Candida albicans* dans 34% des cas. Les dermatophytes représentent 41% avec une prédominance du *Trichophyton rubrum* dans 43% des cas suivie de *Trichophyton mentagrophytes*.

P74 : DIAGNOSTIC PARASITAIRE ET FONGIQUE DES VULVO-VAGINITES AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE, CHU MUSTAPHA, ALGER

HAINÉ-MADANI K ¹, CHERIF HOSNI M ¹, LAOUDJ M ¹, MOURI MO ² ET HAMRIOUI B ¹.

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Mustapha, Alger Algérie ;

² Laboratoire de mycologie, institut Pasteur d'Algérie.

E-mail : ka_baine@yahoo.fr

C'est une étude rétrospective sur 7 ans du 1^{er} janvier 2001 au 31 décembre 2007, portant sur 2227 prélèvements vulvo-vaginaux reçus au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU Mustapha, pour prise en charge parasitaire et fongique. Nous avons retrouvés : Un taux de positivité global de 26,58%. L'étiologie fongique prédomine avec *Candida albicans* dans 63,37% des prélèvements positifs. L'étiologie parasitaire rare avec *Trichomonas vaginalis* dans 6,08% des prélèvements positifs et *Enterobius vermicularis* chez une femme de 24 ans et deux fillettes de 04ans. Les vulvo-vaginites sont d'étiologies multiples, fongiques, parasitaires, bactériennes et autres, d'où l'intérêt d'un diagnostic fiable pour une meilleure prise en charge thérapeutique.

P75 : ONYCHOMYCOSES: A PROPOS DES CAS DIAGNOSTIQUES AU LABORATOIRE CENTRAL DU CHU HUSSEIN DEY EN 2008-2009

BOUAMAMA M, MEKHALFIA A ET GUECHI Z.

Laboratoire central de biologie, CHU Hussein Dey, Alger, Algérie.

E-mail : mlkbmm@gmail.com

Objectif : Les onychomycoses sont définies comme toute atteinte des ongles par un champignon. Elles englobent des atteintes dues aux dermatophytes, aux levures et aux moisissures. A travers cette étude rétrospective, nous avons voulu souligner l'importance des onychomycoses dans notre pratique quotidienne et identifier les espèces incriminées. Matériel et méthodes : Nous avons réalisé 203 prélèvements de lésions unguéales sur une période de deux années (Janvier 2008 à Décembre 2009). La majorité de nos malades sont des externes, adressés par des médecins dermatologues. Ainsi 114 prélèvements au niveau des ongles des mains et 89 au niveau des ongles des pieds ont été récoltés. Pour chaque prélèvement nous avons réalisé un examen direct et une mise en culture systématique sur milieux usuels de mycologie (Sabouraud Chloramphénicol et Sabouraud Chloramphénicol Actidione). Résultats : Au total 144 prélèvements se sont révélés positifs à l'examen direct et/ou à la culture, soit une fréquence de 71%. Nous avons isolé 119 souches de champignons. Elles se répartissent en 84 souches de levures soit une fréquence de 70%, 32 souches de dermatophytes soit 27% et 3 souches de moisissures soit 3%. Parmi les levures *Candida albicans* est l'espèce la plus isolée (55 fois) soit une fréquence de 65%. Pour les dermatophytes le *Trichophyton rubrum* est la seule espèce incriminée. Les

moisissures ont été isolées dans trois cas chez des patients diabétiques. En ce qui concerne la localisation, pour les levures 82% sont retrouvées au niveau des mains et 18% au niveau des pieds. Les dermatophytes ont été isolés à 86% au niveau des pieds et à 14% au niveau des mains.

P76 : L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *THYMUS VULGARIS*

CHELGHAM I, KHEBRI S, DRIDI S ET ATHAMENA S.

Laboratoire de parasitologie, CHU Batna, Faculté de Médecine, Batna.

E-mail : ikbalchelgham@hotmail.com

Le travail que nous avons réalisé a été consacré à l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne et la sporulation des dermatophytes responsables des mycoses chez l'homme. L'activité inhibitrice a été évaluée sur des souches d'origine hospitalière (CHU Batna) selon la technique de diffusion dans un milieu de culture (gélose de Sabouraud). La concentration minimale inhibitrice a été déterminée par un test de screening avec la méthode de dilution du Principe actif (huile essentielle) dans le milieu de culture. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* testée dans notre travail a une forte activité antifongique contre *Aspergillus Niger* et *Microsporum canis*, cette propriété antifongique offre de grandes possibilités dans le domaine médical.

P77 : LES KERATOMYCOSES DIAGNOSTIQUEES AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE CHU ANNABA, A PROPOS DE 09 CAS

BEN AÏSSA S, MEHRI N, MANSOURI R, MESSERER L ET TOUNSI L

Laboratoire de parasitologie CHU Annaba, Service d'ophtalmologie, faculté de médecine Annaba

E-mail : benaissa_s23@yahoo.fr

Les kératomycoses sont des infections oculaires redoutables, de mauvais pronostic, favorisées par certains facteurs locaux ou généraux plus particulièrement le port continu des lentilles de contact mal entretenues avec notion de microtraumatismes de la cornée, les traumatismes par des corps étrangers tels que les végétaux, ainsi que la notion de Pathologie cornéenne sous jacente. L'objectif de ce travail est d'évaluer la fréquence de cette affection au service d'ophtalmologie CHU Annaba et établir le profil épidémiologique des espèces fongiques en cause. Il s'agit d'une étude prospective, de Janvier 2007 au 31 Décembre 2009, à propos de tous les patients consultants ou hospitalisés au service d'ophtalmologie pour une lésion oculaire résistante aux traitements usuels. Neuf cas de kératomycoses ont été diagnostiquées sur un total de 18 patients et 32 prélèvements réalisés (écouvillons oculaires, grattages cornéens, lentilles de contact et liquide de conservation). La notion de traumatisme oculaire est rapportée dans 30% des cas. Une concordance entre les résultats de l'examen direct et la culture a été observée dans 80% des cas. L'identification d'espèce s'est basée sur les caractères des cultures ; La galerie Auxacolor a été utilisée pour les levures. *Candida albicans* a été isolée chez 7 malades ; il était associé dans 3 cas. Des filamenteux ont été identifiés 6 fois et *Trichosporon sp* chez un seul malade (en association avec le *C. albicans*). L'évolution a été défavorable chez un seul malade avec perte de la fonction visuelle malgré l'efficacité du traitement prouvée par un dernier prélèvement négatif.

P78 : ECOTOXICOGENOMIQUE CHEZ LA PARAMÉCIE : ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DE L'IMPACT DE XENOBIOTIQUES

BOUCHARD P ¹, BONNET J.L ¹, BRICHEUX G ¹, SPERLING L ², ARNAIZ O ² ET COHEN J ²

¹ *Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement, Equipe Ecotoxicologie Microbienne UMR 6023 Université Blaise Pascal Clermont II, AUBIERE ;*

² *Laboratoire Dynamique Cellulaire chez la Paramécie, CNRS - Centre de Génétique Moléculaire - UPR 2167 - 91198 GIF-SUR-YVETTE Cedex.*

E-mail : Philippe.Bouchard@univ-bpclermont.fr

Ce projet propose de développer un nouveau modèle d'étude d'écotoxicologie basé sur l'identification de signatures transcriptomiques d'un organisme eucaryote unicellulaire d'eau douce : la paramécie, après exposition à différents xénobiotiques. Le projet utilise des outils de génomiques moléculaires sur cet organisme sentinelle. L'approche se positionne sur l'étude du niveau de toxicité de contaminants sur un organisme. Elle est ici étendue à un contexte plus général incluant leurs différents mécanismes d'action. Il s'agit ici de déterminer de nouveaux critères bioindicateurs d'effets et/ou d'expositions. Dans un premier temps nous avons validé les conditions de cultures de *Paramecium tetraurelia* permettant de définir et contrôler les tests écotoxicologiques au laboratoire. Par la suite, les conditions d'obtention des transcrits et leur préparation pour l'hybridation des puces ADN pangénomiques ont été mises au point. Les puces *Paramecium* ont été développées conjointement entre le laboratoire « Dynamique cellulaire chez la paramécie » (Centre de génétique moléculaire, Gif/Yvette) et la société Nimblegen. Trois xénobiotiques sont actuellement en cours de test (un fongicide, un herbicide, un ion métallique). Les premiers résultats sont disponibles pour le Tébuconazole (fongicide). La normalisation des données a permis de détecter 19 gènes dont le niveau de transcription est modifié en présence du xénobiotique à des concentrations préalablement déterminées correspondant à la CE50 et NOEC (Non Observed Effect Concentration, 1/10 de la CE50). Les résultats préliminaires montrent ici que le modèle eucaryote unicellulaire paramécie, les conditions de cultures, les protocoles et les analyses statistiques sont robustes pour apprécier la réponse transcriptomique d'une cellule sentinelle à un stress. Nous devons donc désormais aborder des conditions réelles (environnementales) pour répondre aux questions suivantes : a) Quelle est la réponse transcriptomique lors d'une exposition à des stress environnementaux ? b) Existe-t-il une différence de ces réponses selon une exposition, aiguë ou chronique ? Le projet intitulé « développement d'un modèle d'écotoxicogénomique de milieu aquatique perturbé : la paramécie. Recherche de signatures transcriptomiques spécifiques de l'impact de xénobiotiques » est financé suite à l'appel d'offre CNRS EC2CO 2010 (Ecosphère Continentale et Côtière).

P79: STUDY OF A MYXOBOLUS BÜTSCHLI, 1882 (MYXOZOA: MYXOSPOREA) SPECIES FOUND ON THE FINS OF MUGIL CEPHALUS L., 1758 (CATALONIA, SPAIN)

MAÍLLO PA ^{1,2}, SALVADÓ H ^{1,2}, MARQUES A ³ ET GRACIA M P ^{1,2}.

¹ *Laboratorio de Protozoología, Departamento de Biología Animal, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona;*

² *Xarxa de Referència de Recerca i Desenvolupament en Aqüicultura de la Generalitat de Catalunya;*

³ *UMR 5119 Laboratoire Ecosystèmes Lagunaires, Département Biologie, Evolution et Environnement, Université Montpellier II (Sciences et Techniques du Languedoc), Francia.*

During a parasitological study on several species of mullets of aquaculture interest in Catalonia (NW Spain), was detected the presence of a species of *Myxobolus*, affecting *Mugil cephalus* fins. We examined 192 specimens of *Mugil cephalus* captured from a brackish coastal lagoon within the Ebro Delta (l'Encanyissada lagoon). Prevalence was 39.01%. The parasite is described by light and scanning electron microscopy. This species of *Myxobolus* sp. is located in the connective tissue between the fin rays of the host. Plasmodia are small, whitish and have punctate appearance. They are easily detected on the semitransparent tissue of the fins. The spores were spherical in the frontal view. The shell wall of the spore is marked with 10-11 sutural markings. Spores measured (n=30) 8,02 in length and 7,18 in width. Polar capsules are pyriformis and clearly separated, were sometimes unequal, and reach with their posterior end to half length of the spore. The examination by scanning microscopy of spores from these species indicates differentiation in the aspect the position and shape of discharging orifices of polar filament. The discharging orifices situated on both sides of sutural line are elongated. The taxonomical position of this species is discussed.

80- ETUDE DE LA DIVERSITE DES MYXOSPORIDIES COELOZOIQUES CHEZ CINQ ESPECES DE POISSONS CARANGIDES DANS LE GOLF DE GABES

NOURI A ^{1,2}, MANSOUR L ^{1,2} ET BEN HASSINE K ¹

¹ Unité de recherche «Biologie Ecologie et Parasitologie des Organismes aquatiques», Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis ;

² Département des Sciences de la Vie, Faculté des Sciences de Gabes.

E-mail : Lamjed.mansour@gmail.com

Les myxosporidies forment un groupe important de métazoaires microscopiques parasites de poissons aussi bien marins que des eaux douces. Leur action pathologique sur les poissons est non négligeable. En fonction de la nature de l'organe infecté on distingue les espèces coelozoïques et les espèces histozoïques. Les premiers infectent les organes creux (vésicule biliaire, vessie gazeuse), alors que les secondes infectent les tissus et forment généralement des pseudokystes souvent visibles à l'œil nu. Nous avons étudié la faune myxosporidienne chez cinq espèces de carangides ; *Caranx crysos*, *Caranx rhonchus*, *Pseudocaranx dentex*, *Traburus mediterraneus* et *trachurus trachurus* en provenance du Golf de Gabes. Au total huit espèces ont été identifiées dans les vésicules biliaires: quatre espèces du genre *Ceratomyxa*, deux espèces du genre *Leptotheca*, une espèce du genre *Alatospora* et une espèce appartenant au genre *Myxobolus*. Bien que les espèces des trois premiers genres soient essentiellement coelozoïques, ceux du genre *Myxobolus* sont typiquement histozoïques. Les données structurales basées sur les mensurations des spores, l'organisation du plasmodium en comparaison avec les autres espèces décrites des mêmes genres suggèrent qu'au moins cinq espèces sont nouvelles. Des analyses moléculaires sont en cours pour compléter la caractérisation spécifique de ces parasites.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis publient, après acceptation par le Comité de Rédaction, des travaux de sciences biologiques fondamentales ou appliquées concernant le Maghreb et plus particulièrement la Tunisie. Les publications peuvent paraître sous les rubriques suivantes:

I- TRAVAUX ORIGINAUX

A- ARTICLES ORIGINAUX

Articles couvrant tous les domaines de la biologie et plus particulièrement les recherches fondamentales et appliquées relevant des disciplines Pastoriennes. Les articles seront évalués sur leurs qualités scientifiques et leur apport à une meilleure connaissance des systèmes biologiques. Ils ne doivent pas excéder 20 pages dactylographiées.

B- LETTRE A L'EDITEUR

Correspondance critique relative à une publication antérieure des Archives de l'Institut Pasteur de Tunis et faisant éventuellement part de l'expérience personnelle du correspondant. Elle ne doit pas dépasser deux pages dactylographiées.

C- COMMUNICATION BREVE

Note destinée à rapporter un résultat original saillant. Elle ne doit pas dépasser 5 pages dactylographiées.

D- NOTE TECHNIQUE

Actualisation (amélioration, perfectionnement, simplification) d'une technique à la lumière de l'expérience personnelle des auteurs. Elle ne doit pas dépasser deux pages dactylographiées.

II- AUTRES PUBLICATIONS

Mises au point sollicitées par le comité de rédaction des Archives de l'Institut Pasteur de Tunis et apparaissant sous les rubriques suivantes:

A- EDITORIAL

Prise de position sur un sujet d'actualité et d'importance particulière ne dépassant pas deux pages dactylographiées.

B-REVUE GENERALE

Revue faisant le point de l'état des connaissances sur un thème proposé par le Comité de Rédaction. Elle ne doit pas dépasser 15 pages dactylographiées.

III- FORUM

A- NOUVELLES SCIENTIFIQUES

Faits scientifiques saillants apparus dans la littérature et / ou manifestations scientifiques récentes.

B- FAITS

Rapports, compte-rendus... de séminaires et manifestations scientifiques ayant trait particulièrement à la vie Pastorienne.

IV- PRESENTATION GENERALE DES ARTICLES

A- MANUSCRIT

Le texte rédigé en Anglais ou en Français sera dactylographié en double interligne recto sur format A4.

- La page **Une** comportera obligatoirement :
 - Le titre en Français et en Anglais.
 - Un titre abrégé (running title) de 3-4 mots.
 - Les affiliations.
 - L'indication de l'auteur correspondant.
 - Les mots clés en Français et en Anglais.
- La page **Deux** comportera le résumé en Français et en Anglais; ceux-ci ne dépassant pas chacun 15 lignes dactylographiées.
- La page **Trois et Suivantes** comporteront le texte avec les chapitres suivants dans l'ordre :
 - Introduction.
 - Matériel et Méthodes.
 - Résultats.
 - Discussion.
 - Remerciements.
 - Références.

B- ILLUSTRATIONS

Les tableaux seront numérotés en chiffres romain et les figures en chiffres arabes suivant l'ordre de passage dans le texte.

Pour les figures, le sens (haut, bas, droite, gauche) sera indiqué au verso. Seuls les originaux en 3 exemplaires seront acceptés.

C- REFERENCES

Dans le texte, chaque citation sera suivie d'un numéro en exposant, correspondant à celui de la référence citée par ordre d'apparition dans le texte. Les références figureront sur des pages séparées du reste du manuscrit. et selon le modèle ci-dessous, en indiquant:

- Le ou les initiales du prénom des auteurs suivi de leur nom.
- L'année de parution (entre parenthèses).
- Le titre de l'article, le nom de la revue (utilisant les abréviations couramment admises dans Current Contents), du tome en gras, du numéro ainsi que de la première et de la dernière page de l'article.

EXEMPLES

1- J.L. Guénet, H. Jakobo, J.F. Nicolas et F.Jacob (1974). Tératocarcinome de la souris : étude cytogénétique des cellules à potentialité multiple. *Ann. Microbio. Ins. Pasteur*, **125** A, 135-151.

Les Références concernant les ouvrages (monographies, traités, compte-rendus de congrès...) doivent être présentées selon l'exemple suivant :

2- A.T. Stone and J.J.Morgan (1990). Kinetics of chemical transformations in the environment. In *Aquatic chemical kinetics* (Edited by Stumm W.), Chp.1, pp.1-42. Wiley- Interscience, New York.

V- REMARQUES GENERALES

Les manuscrits doivent être adressés en trois exemplaires: 1 exemplaire original et 2 copies d'excellente qualité, et sur disquette ou CD-Rom avec une lettre d'accompagnement au Rédacteur en Chef des Archives de l'Institut Pasteur de Tunis. 13, Place Pasteur, B.P. 74, 1002 Tunis-Belvédère- Tunisie.

La lettre d'accompagnement devra être signée par l'auteur principal indiquant que tous les co-auteurs ont pris connaissance du contenu de l'article, approuvent sa soumission aux Archives de l'Institut Pasteur de Tunis et attestent que le contenu de l'article n'est pas et ne sera pas soumis à une autre revue.

Les articles incomplets et ne respectant pas les recommandations sus-indiquées ne seront pas pris en considération. Les articles soumis ne sont pas retournés. Le Comité de Rédaction se réserve le droit de refuser les textes qui lui seront soumis. Les opinions émises dans les publications n'engagent que la responsabilité de leurs auteurs.

BULLETIN D'ABONNEMENT AUX ARCHIVES DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

OUI, JE DÉSIRES M'ABONNER AUX "ARCHIVES DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS"

NOM :

PRÉNOM :

ADRESSE :

CODE POSTAL : VILLE : PAYS :

TÉLÉPHONE : FAX :

ADRESSE E-MAIL :

- Merci de préciser votre spécialité

SPÉCIALITÉ :

LIEU D'EXERCICE :

FONCTION :

- Souscrire un abonnement aux Archives de l'Institut Pasteur de Tunis pour un an (un volume)

TUNISIE : 20 DT

ETRANGER : 25\$ US

- Joindre le paiement

CHÈQUE A L'ORDRE DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS.

SOUHAITE RECEVOIR UNE FACTURE ACQUITTÉE.

- A retourner à l'Institut Pasteur de Tunis: 13, Place Pasteur, BP 74,
1002 Tunis-Belvédère, Tunisie
Tél. : 71 783 022 - Fax : 71 791 833

