



HAL
open science

La Trypanosomose Américaine ou Maladie de Chagas : état des lieux d'une maladie négligée, lutte antivectorielle et nouvelles perspectives thérapeutiques

Marine Lafargue

► **To cite this version:**

Marine Lafargue. La Trypanosomose Américaine ou Maladie de Chagas : état des lieux d'une maladie négligée, lutte antivectorielle et nouvelles perspectives thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. 2014. dumas-01010238

HAL Id: dumas-01010238

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01010238v1>

Submitted on 19 Jun 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BORDEAUX

U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2014

Thèse n°17

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par **LAFARGUE Marine**

Née le 29 Septembre 1986 à DAX

Le 14-03-2014 à Bordeaux

**La Trypanosomose Américaine ou Maladie de Chagas :
Etat des lieux d'une maladie négligée, lutte antivectorielle et
nouvelles perspectives thérapeutiques**

Directeur de thèse

Monsieur Gilbert HAUMONT

Jury

Monsieur G. HAUMONT	Maître de Conférences	Président
Madame M. MAMANI MATSUDA	Maître de Conférences	Juge
Monsieur F. OSORIO-PEREZ	Médecin – Praticien Hospitalier	Juge

Remerciements

A mon directeur de thèse

Monsieur le Professeur Gilbert Haumont

Maître de conférences à l'Université de Bordeaux

Vous avez aimablement et spontanément accepté de m'aider dans la réalisation de ma thèse. Je vous remercie pour vos conseils, votre disponibilité, votre savoir, votre gentillesse et vous prie de croire en mon profond respect.

A mon Jury de thèse

Madame Maria Mamani Matsuda

Maître de conférences à l'Université de Bordeaux

Monsieur Francisco Osorio Perez

Docteur en Médecine interne et Maladie infectieuses

Je vous remercie infiniment à tous les deux d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et de me faire le plaisir et l'honneur d'assister à ma soutenance.

A ma famille et à mon entourage

A celui à qui je pense tous les jours et qui est parti trop tôt mon papa adoré, Jean-Georges Lafargue, qui aurait j'en suis certaine énormément apprécié participer à cette soutenance.

Si je suis là où j'en suis aujourd'hui c'est en partie grâce à toi, tu m'as donné la possibilité de faire des études et de réussir dans la vie,

A ma maman Dominique Lafargue, ma sœur Julie Lafargue, et ma grand-mère Ginette Maria, mes trois petites « femmes » adorées, je vous remercie de votre soutien avisé et de l'amour dont vous me faites part au quotidien, à Christophe mon beau-frère,

A Clement, mon chéri, pour tout l'amour qu'il me donne, à sa maman Patricia, et à son papa Eric,

A tous ceux qui ne sont plus là aujourd'hui et qui me manquent tous les jours (papi Jacques, papi Albert, mamie Bobo, tonton Jean Claude, tonton Patrick...). Je sais que de là ou vous êtes vous êtes tous très fiers de moi,

A mes oncles; tantes et à tous mes ami(e)s, vous êtes les meilleurs qu'on puisse avoir,

A Emilie Verdeun, mon acolyte du cursus des longues études de pharmacie, tu as été là dans tous les moments bons comme mauvais et tu m'as fait le plaisir de m'aider dans la relecture de cette thèse.

Table des Matières

ABREVIATIONS.....	7
INTRODUCTION.....	9
1. LA TRYPANOSOMOSE AMERICAINE CHEZ L'ETRE HUMAIN.....	11
1.1. Découverte	11
1.2. Epidémiologie	13
1.3. Le parasite: <i>Trypanosoma cruzi</i>	15
1.3.1. Morphologie	15
1.3.2. Reproduction	19
1.4. Le vecteur	19
1.5. Le cycle de vie de <i>T. cruzi</i>	19
1.6. Clinique.....	22
1.6.1. La phase aiguë	22
1.6.2. La phase indéterminée	23
1.6.3. La forme chronique	24
1.6.4. La pathogénèse	27
1.7. Modes de transmission	28
1.7.1. La transmission vectorielle	29
1.7.2. La transmission par transfusion sanguine.....	29
1.7.3. Transmission par transplantation d'organes	29
1.7.4. Transmission au cours de la grossesse	29
1.7.5. Autres modes de transmission	30
1.8. Diagnostic.....	31
1.8.1. Les méthodes directes.....	31
1.8.2. Les méthodes indirectes.....	33
1.8.3. Les tests de diagnostic rapide	34
1.8.4. Diagnostic de la maladie de Chagas congénitale.....	34
2. VECTEUR ET LUTTE ANTIVECTORIELLE.....	36
2.1. Le vecteur	36
2.1.1. Morphologie	37
2.1.2. Aspects biologiques et comportementaux des triatomes.....	39
2.1.3. Principales espèces vectrices de <i>T. cruzi</i> chez l'homme	40

2.2. La lutte antivectorielle	44
2.2.1. Programmes intergouvernementaux	44
2.2.2. Les indicateurs	46
2.2.3. Améliorations des habitations et des conditions de vie	46
2.2.4. L'élimination par voie chimique	47
3. THERAPEUTIQUE DE LA MALADIE DE CHAGAS	54
3.1. Les traitements actuels et leurs limites	54
3.1.1. Le traitement préventif	54
3.1.2. Le traitement antiparasitaire	54
3.1.3. Le traitement symptomatique	63
3.2. Recherche, développement et perspectives de nouveaux traitements ou vaccins	65
3.2.1. Relance de la production et de la recherche	65
3.2.2. Stratégie adoptée et traitements médicamenteux prometteurs	69
3.2.3. Les vaccins à l'étude.....	77
CONCLUSION	84
BIBLIOGRAPHIE.....	86

Liste des Tableaux

Tableau 1-1 - Sensibilité des méthodes de diagnostic selon le stade clinique ⁽³⁾	33
Tableau 2-1 - Tribus et genres actuels au sein des Triatominae ⁽²⁷⁾	37
Tableau 2-2 - Insecticides utilisés pour les traitements à effet rémanent ⁽³⁶⁾	49

Liste des Figures

Figure 1-1 - Carlos Justiniano Ribeiro Chagas (1879-1934) ⁽¹⁾	11
Figure 1-2 - Chagas au chevet de Bérénice	12
Figure 1-3 - L'institut Oswaldo Cruz à Rio de Janeiro	12
Figure 1-4 - Prévalence de la Maladie de Chagas dans le monde	14
Figure 1-5 - Flux migratoires en provenance d'Amérique Latine ⁽⁴⁾	15
Figure 1-6 - Principales structures et organites observés dans la forme épimastigote de <i>T. cruzi</i> au microscope électronique (A:2D, B:3D) ⁽¹⁰⁾	16
Figure 1-7 - Forme trypomastigote de <i>T. cruzi</i> au microscope après coloration de Giemsa dans le sang chez une souris	18
Figure 1-8 - Différentes formes de <i>T. cruzi</i>	19
Figure 1-9 - Cycle de vie de <i>T. cruzi</i>	20
Figure 1-10 - Formes métacycliques de <i>Trypanosoma cruzi</i> (métacyclogénèse <i>in vitro</i>)	21
Figure 1-11 - Observation d'un Chagome ⁽¹³⁾	22
Figure 1-12 - Signe de Romaña vu de face	23
Figure 1-13 - Cardiomégalie et ECG révélateur d'une cardiomyopathie chagasique ⁽¹⁵⁾	25
Figure 1-14 - Dilatation et épaissement de la paroi du côlon sigmoïde et du rectum (A) ⁽¹⁷⁾	26
Figure 1-15 - Formes trypomastigotes circulantes de <i>T. cruzi</i> observées après coloration de May-Grünwald Giesma	31
Figure 2-1 - Schéma représentatif d'un triatome	38
Figure 2-2 - Stade nymphaux et adultes de <i>Rhodnius prolixus</i>	40
Figure 2-3 - <i>Triatoma infestans</i> ⁽¹³⁾	41
Figure 2-4 - <i>Panstrongylus megistus</i> ⁽¹³⁾	41
Figure 2-5 - <i>Triatoma brasiliensis</i>	42
Figure 2-6 - <i>Rhodnius prolixus</i> ⁽¹³⁾	42
Figure 2-7 - <i>Triatoma dimidiata</i>	43
Figure 2-8 - Rancho: Habitation précaire et propice à la transmission de la THAM ⁽¹³⁾	47
Figure 2-9 - Toit de paille favorable à la colonisation par les triatomes ⁽¹³⁾	47
Figure 3-1 - Molécule de nifurtimox	55
Figure 3-2 - Lampit [®] conditionnement ⁽³⁸⁾	55
Figure 3-3 - Molécule de benznidazole	58
Figure 3-4 - Conditionnement du benznidazole	58
Figure 3-5 - Une jeune patiente avec son traitement en Bolivie 2006 ⁽⁴⁰⁾	61
Figure 3-6 - Un jeune malade ⁽⁴⁰⁾	63
Figure 3-7 - Problème de production locale au Chaco Paraguay 2012 ⁽⁴⁰⁾	66
Figure 3-8 - Forme pédiatrique du benznidazole – LAFEPE ⁽⁴⁰⁾	67

Figure 3-9 - Remise du prix Sanofi Conicet à Buenos Aires.....	68
Figure 3-10 - Stratégies adoptées ces dernières années (DNDi) ⁽⁴⁶⁾	70
Figure 3-11 - Molécule d'allopurinol	71
Figure 3-12 - Molécule d'itraconazole	72
Figure 3-13 - Molécule de posaconazole	73
Figure 3-14 - Molécule de ravuconazole	74
Figure 3-15 - Molécule de canthin-6-one	76

ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ANSM	Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé
ANVISA	Agence nationale de vigilance sanitaire
ApoA	Apolipoprotéine A
ALT	Alanine aminotransférase
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
BENEFIT	Benznidazole evaluation for interrupting trypanosomiasis
BHI	Brain heart infusion
CD	Cluster de différenciation
CDC	Center for disease control
CE	Conformité européenne
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DNDi	Drugs for neglected diseases initiatives
ECG	Electrocardiogramme
EFS	Etablissement Français du Sang
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESA	Enzyme strip essay
FDA	Food and drug administration
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
IFI	Immunofluorescence indirecte
IFN	Interféron
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
INCOSUR	Initiative du cône Sud
INGEBI	Institut de recherches en ingénierie et biologie moléculaire
INSERM	Institut national de la santé et de la recherche
IRD	Institut de recherche et de développement
HAI	Hemagglutination inhibition assay
LCR	Liquide céphalo-rachidien
LIT	Liver infusion tryptose
MSF	Médecins sans frontière
NECT	Nifurtimox-eflornithine combination therapy
NIAID	National institute of allergic and infectious diseases
NO	Oxyde nitrique
OMS	Organisation mondiale de la santé
OPS	Organisation panaméricaine de la santé
PCR	Polymerase chain reaction
RIPA	Radio-immunoprécipitation
SNC	Système nerveux central
TDR	Test de diagnostic rapide
TESA	<i>T. cruzi</i> excreted secreted antigen
THAM	Trypanosomose humaine américaine
TLR	Recepteur toll-like
TNF	Tumor necrosis factor

TNI	Troponine cardiaque
<i>Trypanosoma cruzi</i>	<i>T. cruzi</i>
TSA	Transialidase
USA	United States of America
VIH	Virus immunodéficience humaine
WHO	World health organization
XD	Xénodiagnostic

INTRODUCTION

Découverte en 1909 par Carlos Chagas, la Trypanosomose Américaine ou Maladie de Chagas est une maladie parasitaire provoquée par l'agent étiologique *Trypanosoma cruzi*, un kinétoplastidé flagellé appartenant à la famille des Trypanosomatidae.

Cette maladie s'est progressivement répandue dans toute l'Amérique Latine où elle constitue aujourd'hui un grave problème médico-social pour les pays touchés.

La transmission vectorielle de la maladie à l'homme se fait par les déjections des insectes vecteurs, les triatomes, et est indéniablement liée aux conditions de vie précaires des individus touchés.

Bien que la trypanosomose soit physiquement invalidante et sa létalité indéniable (plus d'un million de Latino-Américains sont actuellement porteurs du parasite et beaucoup en mourront à moins d'une avancée significative sur le plan scientifique ou politique), elle n'est plus perçue de nos jours comme un problème majeur de santé publique.

L'une des raisons pourrait être que la maladie de Chagas affecte principalement des communautés humaines vulnérables vivant sous le seuil de pauvreté.

Cette situation a récemment conduit l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à classer cette parasitose parmi les maladies dites « négligées ».

Par maladies « négligées » on entend toutes maladies qui frappent les populations et les pays les plus pauvres de la planète, et pour lesquelles il n'existe pas de traitement disponible suffisamment efficace.

Les populations touchées sont démunies et ne représentent pas un marché suffisamment solvable pour que les grands groupes pharmaceutiques s'intéressent au développement, à la fabrication ou à la distribution de traitements susceptibles d'enrayer de telles maladies.

Devant les difficultés de mise au point de nouveaux traitements contre la maladie de Chagas, la stratégie de lutte qui reste privilégiée à ce jour est fondée sur le contrôle des insectes vecteurs qui permet l'interruption durable de la transmission de *Trypanosoma cruzi*.

A ce jour seulement deux traitements ayant une efficacité discutable et de nombreux effets indésirables sont disponibles sur le marché. Parmi les 850 nouveaux médicaments ou vaccins autorisés ces dernières années entre 2000 et 2011, seulement 4% (environ 37) concernaient les maladies dites « négligées ». Plus que jamais le besoin se fait sentir de mettre au point de nouvelles thérapies pour ce genre de maladies et en particulier pour la Maladie de Chagas.

Nous allons voir néanmoins que l'effort collectif dans la relance de la production industrielle et de la recherche ces dernières années permet d'espérer raisonnablement dans un futur proche la mise au point de nouvelles thérapies dans le but de traiter cette parasitose complexe.

Partie I

La Maladie



1. LA TRYPANOSOMOSE AMERICAINE CHEZ L'ETRE HUMAIN

1.1. Découverte

La Trypanosomose Humaine Américaine ou Maladie de Chagas fut découverte en 1909 par Carlos Justiniano Ribeiro Chagas (1879-1934), un médecin et infectiologue Brésilien, diplômé en 1903 de la faculté de médecine de Rio de Janeiro suite à une thèse sur le paludisme. ⁽¹⁾⁽²⁾

Figure 1-1 - Carlos Justiniano Ribeiro Chagas (1879-1934) ⁽¹⁾



Cet homme occupa par ses découvertes une place vraiment à part dans l'histoire de la médecine tropicale. Aujourd'hui élevé au rang de héros national au Brésil, Carlos Chagas fut pourtant violemment critiqué par ses confrères lors de son vivant.

En 1907, il est envoyé par l'institut Oswaldo-Cruz dans la petite ville de Lassance (Minas Gerais) pour combattre un début d'épidémie de Malaria parmi les travailleurs affectés à la construction de la ligne de chemin de fer reliant Belo Horizonte à Priapora.

Il y reste les deux années suivantes et observe rapidement la curieuse infestation des maisons rurales par un insecte hématophage appelé alors « barbeiro ».

C'est en s'intéressant à ces insectes et en commençant à les disséquer qu'il isola de l'intestin de l'un d'eux un protozoaire flagellé, il supposa qu'il s'agissait soit d'un parasite de l'insecte soit d'un stade intermédiaire du cycle de vie d'un parasite de vertébrés.

La forte présence de l'insecte vecteur dans les habitations et sa capacité à « mordre » les humains laissa à penser, selon Carlos Chagas, que le parasite pourrait être la cause de maladies humaines.

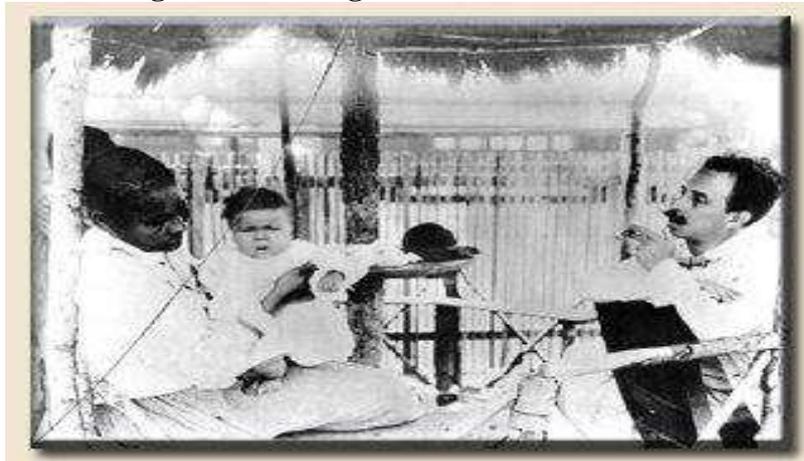
Il s'intéressa par la suite de plus près à la santé des habitants des maisons infestées par les triatomes, et remarqua une altération générale de la santé des individus au sein de ces populations. Plus particulièrement les enfants présentaient un tableau clinique très particulier et inconnu à l'époque avec des épisodes de fièvre, une anémie sévère, une splénomégalie, des œdèmes et une adénopathie.

Il observa que la plupart des symptômes régressaient spontanément mais que certains des sujets conservaient des séquelles cardiaques.

En Janvier 1909, Carlos Chagas fut appelé pour soigner une fillette de deux ans Bérénice qui présentait une fièvre grave, des œdèmes, une anémie et une hépato-spléno-adénomégalie. En

examinant une goutte de sang de cette fillette à l'état frais, il trouva de nombreux trypanosomes, diagnostiquant ainsi le premier cas de Trypanosomose Humaine Américaine (THAM). Carlos Chagas appela par la suite ce micro organisme flagellé *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en hommage à Oswaldo cruz. ^{(1) (2)}

Figure 1-2 - Chagas au chevet de Bérénice



Source : <http://revistapesquisa.fapesp.br/fr/2013/05/16/chagas-6/> (consulté le 22 Novembre 2013)

Figure 1-3 - L'institut Oswaldo Cruz à Rio de Janeiro



Source : http://www.cocsite.coc.fiocruz.br/areas/dad/pesquisa_01janeiro04.htm (consulté le 22 Novembre 2013)

Fait unique dans l'histoire de la médecine, il découvrit donc successivement en moins de dix mois à l'âge de 29 ans le vecteur d'un nouvel agent pathogène, l'agent pathogène lui-même, son réservoir animal et enfin la maladie humaine dont il est responsable.

Par la suite, ce premier cas de Trypanosomose Humaine Américaine à *T. cruzi* ou Maladie de Chagas fut publié quasi simultanément au Brésil dans la Revista Brasil Medico, en France dans le Bulletin de la Société de pathologie exotique et en Allemagne dans les Archiv für Schiffs-und Tropenhygiene.

Dès lors Carlos Chagas et ses collègues de l'institut Oswaldo-Cruz ont mené les recherches épidémiologiques et médicales sur *T. cruzi* et sur la maladie.

Chagas a décrit la maladie humaine et le cycle biologique de *T. cruzi*.

Cependant, il commit quelques erreurs parmi lesquelles il a toujours cru, à tort, que la transmission vectorielle se faisait par le rostre (piqûre) du vecteur et non par les déjections contaminées, ce qui fût mis en évidence par la suite par Emile Brumpt en 1912.

La plupart des scientifiques de l'époque ignoraient les recherches de Chagas.

Bien que proposé deux fois, en 1913 et 1921, Chagas ne reçut jamais le prix Nobel.

Ce n'est que depuis les années 1940 que la maladie de Chagas est reconnue comme une maladie grave et très répandue en Amérique Latine. ⁽¹⁾⁽²⁾

1.2. Epidémiologie

Après avoir relaté la découverte de cette maladie, il est maintenant important de mettre en avant son épidémiologie et sa répartition à travers le monde.

Nous allons voir que bien que cette maladie touche tout particulièrement l'Amérique Latine, elle se retrouve désormais dans d'autres pays.

Selon l'OMS, la THAM ou maladie de Chagas est d'un point de vue mondial la troisième maladie tropicale humaine par son importance, après le paludisme et les schistosomes.

Considérée comme endémique dans 21 pays d'Amérique Centrale et du Sud, la maladie s'étend du Mexique à l'Argentine (Figure 1-4). ⁽³⁾⁽¹²⁾

Toujours selon l'OMS, on estime qu'environ 10 millions de personnes dans le monde sont touchées par la maladie avec une mortalité d'environ 14 000 personnes chaque année.

Approximativement 100 millions de personnes vivent actuellement avec le risque d'être infectées par *T. cruzi*.

Si la prévalence de la maladie a considérablement baissé depuis 2000 en Amérique Latine, du fait d'initiatives internationales (amélioration du contrôle de la transmission vectorielle du parasite, dépistage des donneurs de sang dans les établissements public), la Bolivie reste toujours un pays très touché, avec environ 20% de sa population infectée par le parasite.

La maladie est une menace permanente pour presque 25% de la population d'Amérique Latine.

L'infection est présente dans toute l'Amérique Latine mais les symptômes et les caractéristiques épidémiologiques sont variables d'un foyer d'endémie à l'autre.

Il y a une grande variabilité de la prévalence, des modes de transmission, caractéristiques parasitologiques, lésions anatomopathologiques, vecteurs, et des espèces d'hôtes. La maladie de Chagas est liée aux conditions socio-économiques précaires. Cette maladie existera donc tant qu'il y aura des habitations favorables à la pullulation des vecteurs, la migration humaine, et une urbanisation incontrôlée en Amérique Latine. ⁽³⁾

On la nomme parfois le nouveau « Sida des Amériques ».

La maladie s'est peu à peu répandue aux Etats-Unis, Canada, Australie, Japon, Espagne et Portugal où les immigrants Latins Américains, ne sachant pas qu'ils sont infectés peuvent transmettre l'infection à d'autres personnes à travers la transfusion sanguine ou d'autres modes de transmission tels que la transplantation d'organes infectés ou la transmission materno-fœtale (Figure 1-5).

La prévalence dans les pays non endémiques a été estimée à environ 300 000 individus infectés aux Etats-Unis, 5 500 au Canada, 80 000 en Europe, 3000 au Japon et 1500 en Australie. ⁽⁴⁾⁽⁵⁾

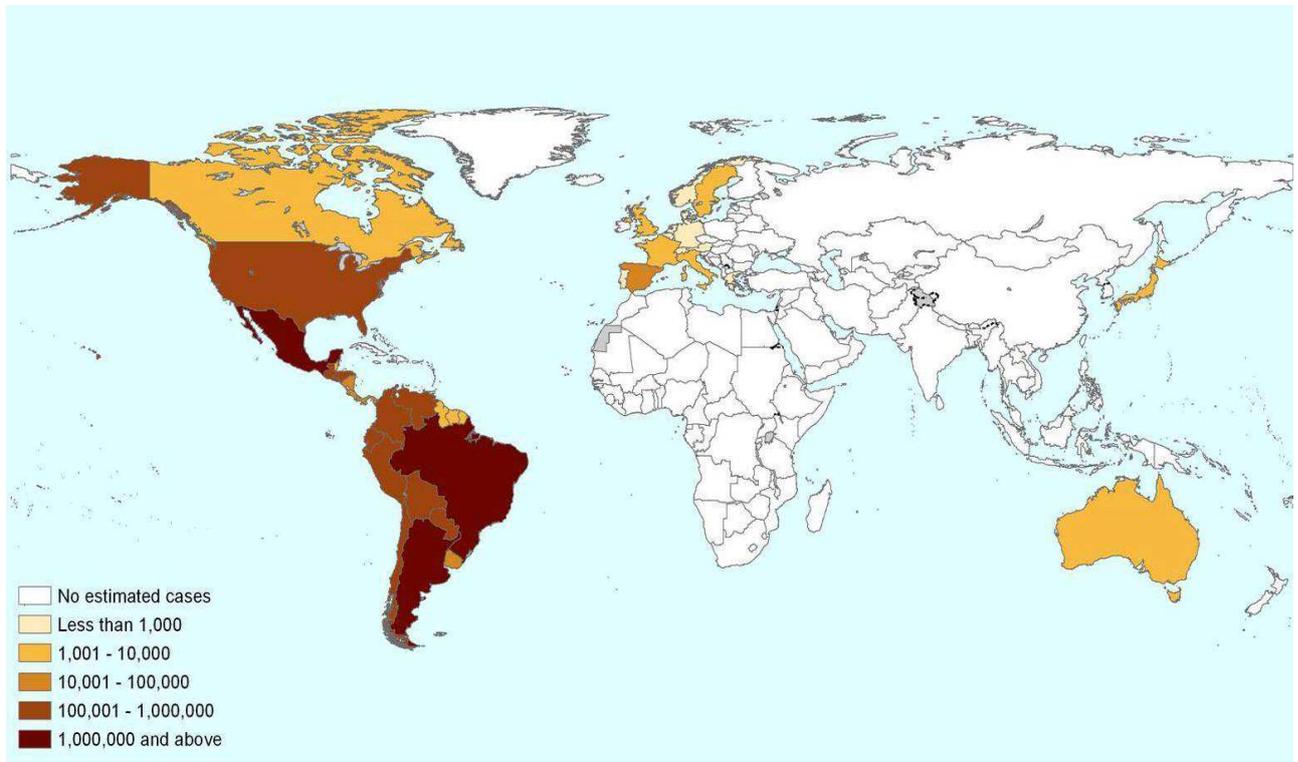
En Suisse, de 1979 à 2011, 258 personnes ont été diagnostiquées positives à *T. cruzi* ⁽⁶⁾ et différents systèmes de contrôles systématiques sur les femmes enceintes et les donneurs de sang d'origine latino-américaines sont en place depuis 2008.

En France, depuis 2007, tous les donneurs de sang ayant séjourné en Amérique Latine sont systématiquement dépistés par l'établissement Français du sang (EFS). ⁽⁷⁾

Entre 2004 et 2006, 9 cas importés y ont été diagnostiqués.

L'émergence de la maladie de Chagas dans ces pays non endémiques montre la nécessité de la mise en place de mesures bien précises empêchant la transmission de la maladie.

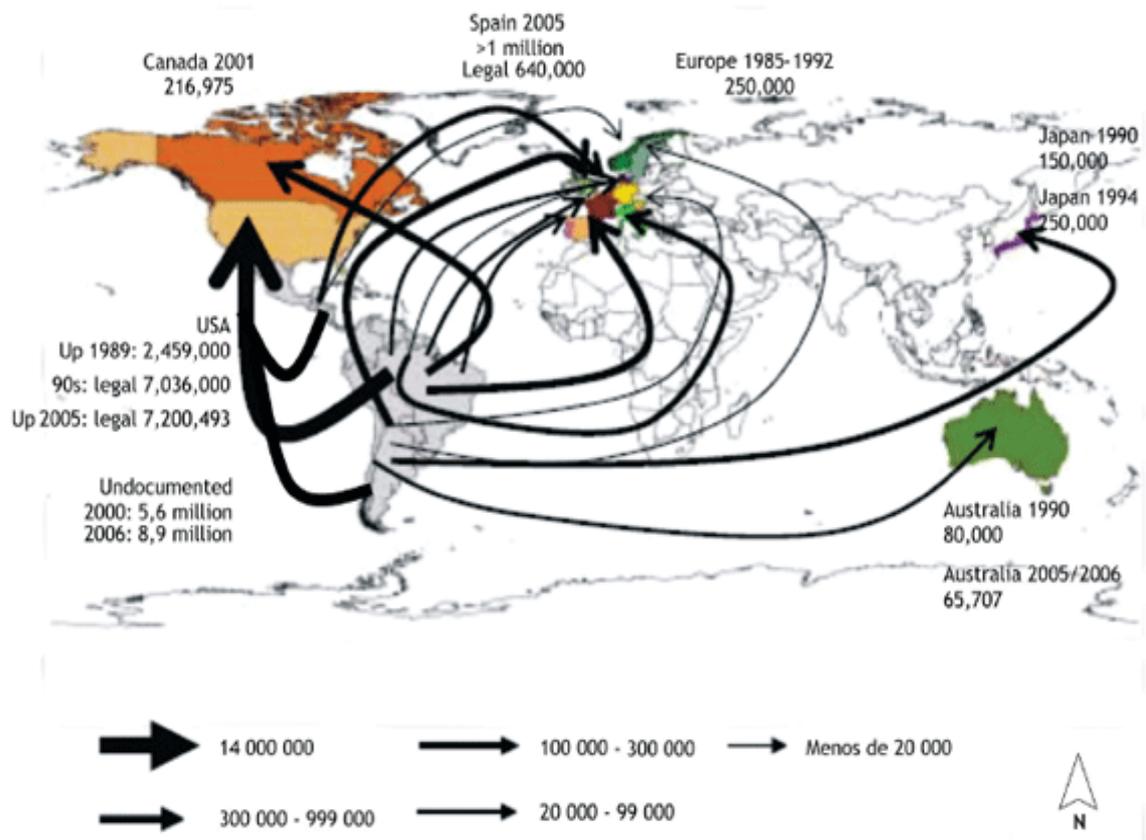
Figure 1-4 - Prévalence de la Maladie de Chagas dans le monde



Sources:

1. OPS/HDM/CD/425-06 Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas.
2. Gueri-Guttenberg RA, Grana D.R., Giuseppe Ambrosio, Milei J. Chagasic cardiomyopathy: Europe is not spared! *European Heart Journal* (2008); 29: 2587-2591.
3. Schmunis, G. A. Epidemiology of Chagas Disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 102(Suppl. I): 75-85, 2007.
4. De Ayala A.P, Pérez-Molina J.A, Norman F., and López-Vélez R. Chagasic cardiomyopathy in immigrants from Latin America to Spain. *Emerging Infectious Disease* Volume 15, Number 4—April 2009.
5. According to the numbers of immigrants registered for 2007 in the website of the Japanese Ministry of Justice and estimated seroprevalence for non endemic countries according to Paricio-Talayero J.M. Vigilancia epidemiológica de la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas en tres maternidades de la Comunidad Valenciana. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26(10):609-13.

Figure 1-5 - Flux migratoires en provenance d'Amérique Latine ⁽⁴⁾



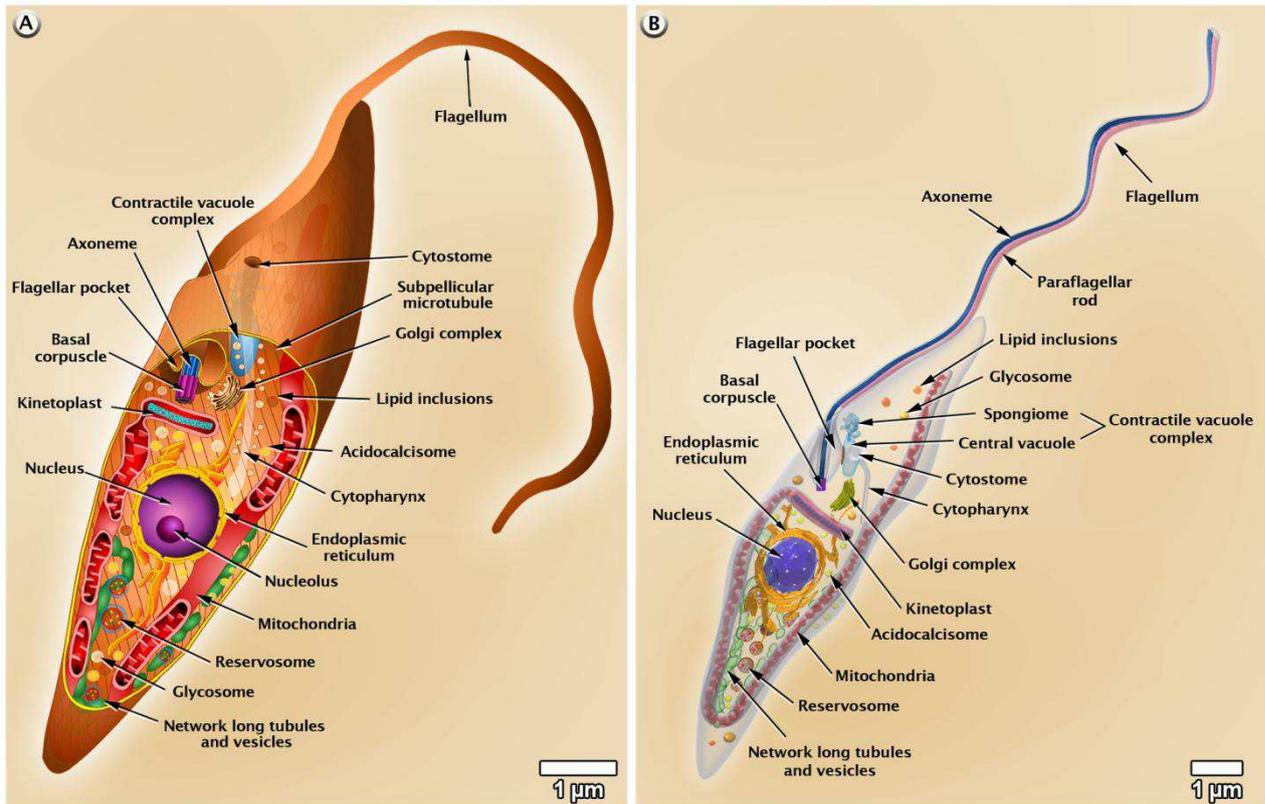
1.3. Le parasite: *Trypanosoma cruzi*

La maladie de Chagas est avant tout une maladie parasitaire dont l'agent responsable est *Trypanosoma cruzi*. Nous allons voir en détail sa morphologie et son mode de reproduction.

1.3.1. Morphologie

T. cruzi est un organisme eucaryote unicellulaire faisant parti de l'ordre des Kinétoplastidae et de la famille des Trypanosomatidae (Figure 1-6).

Figure 1-6 - Principales structures et organites observés dans la forme épimastigote de *T. cruzi* au microscope électronique (A:2D, B:3D) ⁽¹⁰⁾



T. cruzi présente les caractéristiques d'une cellule eucaryote : une membrane plasmique, une membrane nucléaire, un réticulum endoplasmique, et un appareil de Golgi.

Il possède un seul flagelle sortant d'une dépression soutenue par deux corps basal et parabasal situés à l'intérieur de la cellule. La taille du flagelle peut varier de 2 à plus de 20 µm au cours de cycle de vie du parasite. Le moteur du flagelle est un complexe axonémal, qui est lié à l'intérieur de la cellule à une structure semi cristalline appelée tige paraflagellaire. Cette dernière soutient l'axonème du flagelle, augmente sa rigidité, et joue un rôle important dans la motilité de la cellule. La partie externe du flagelle est entourée d'une membrane de stérol et de sphingolipides, et possède des protéines qui ne diffusent pas vers d'autres domaines de la membrane plasmique. Le site où le flagelle s'insère dans le corps cellulaire s'appelle la poche flagellaire et semble impliquée dans l'absorption des nutriments par la cellule. ⁽⁸⁾

Il y a une seule mitochondrie qui s'étale tout le long de la cellule sous forme de tube, de cercle, ou d'un réseau de tubes anastomosés. Une partie bien distincte de cette mitochondrie, le kinétoplaste, contient de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

Celui-ci est relié au corps basal du flagelle par des structures filamenteuses et va donc migrer avec ce dernier au cours des différents changements morphologiques du trypanosome.

Le kinétoplaste est toujours positionné perpendiculairement au corps basal.

T. cruzi compartimentalise la glycolyse dans des vésicules entourées d'une membrane : les glycosomes, stocke des minéraux dans des structures appelées acidocalcisomes, et séquestre des molécules lipidiques dans des vésicules nommées réservoirs. ⁽⁹⁾

Le cytosquelette de ce trypanosome est inhabituel et est constitué de microtubules, sans microfilaments ou filaments intermédiaires. Le corps basal est le seul centre de microtubules organisé de *T. cruzi*, ce qui signifie qu'il ne possède pas de centrioles, et les étapes de la mitose sont donc confinées à l'intérieur du noyau grâce à un fuseau de microtubules provenant de structures mal définies au niveau de la membrane nucléaire.

Les différentes morphologies du trypanosome sont conditionnées par un corset de microtubules presque plaqué au niveau de la face interne de la membrane plasmique.

T. cruzi va adopter différentes morphologies suivant les contraintes des divers environnements dans lesquels il se retrouve au cours de son cycle de vie parasitaire. ⁽⁸⁾

De ce fait on va distinguer plusieurs formes (Figure 1-8) que ce parasite va prendre au cours de son cycle de vie : la forme trypomastigote pourvue d'une membrane ondulante animée par le flagelle, la forme épimastigote et la forme amastigote.

1.3.1.1. Forme trypomastigote - chez les mammifères (Figure 1-7, Figure 1-8)

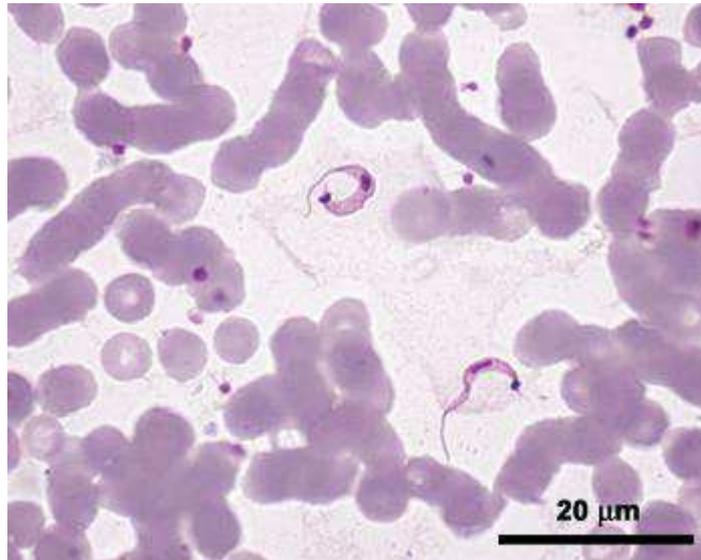
La forme trypomastigote (forme adulte) se trouve dans le sang des mammifères infectés.

Elle possède un corps en forme de fuseau avec un noyau, un flagelle, une membrane ondulante sur un côté, une mitochondrie et un kinétoplaste.

Il existe deux formes :

- ❖ L'une courte et trapue ou en forme de C, avec ou sans flagelle ; et
- ❖ L'autre fusiforme et allongée avec une longueur de 20 µm et quelque peu courbée. Le flagelle part de la partie postérieure et s'allonge sur la longueur du corps cellulaire en s'accolant au protoplasme, définissant ainsi une membrane ondulante. Ensuite, le flagelle devient libre à la partie antérieure du trypanosome. Le noyau est central, plus ou moins sphérique, et se teint en rouge-pourpre avec la coloration de Giemsa. La mitochondrie s'étale sur toute la longueur de la forme trypomastigote. Proche de l'origine du flagelle, il y a un grand kinétoplaste qui se teint en pourpre (plus foncé que le noyau) avec la coloration de Giemsa. Le kinétoplaste est une partie intégrale de la mitochondrie géante (Figure 1-7).

Figure 1-7 - Forme trypomastigote de *T. cruzi* au microscope après coloration de Giemsa dans le sang chez une souris



Source : http://www.fiocruz.br/chagas_eng/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=69 (consulté le 22 Novembre 2013)

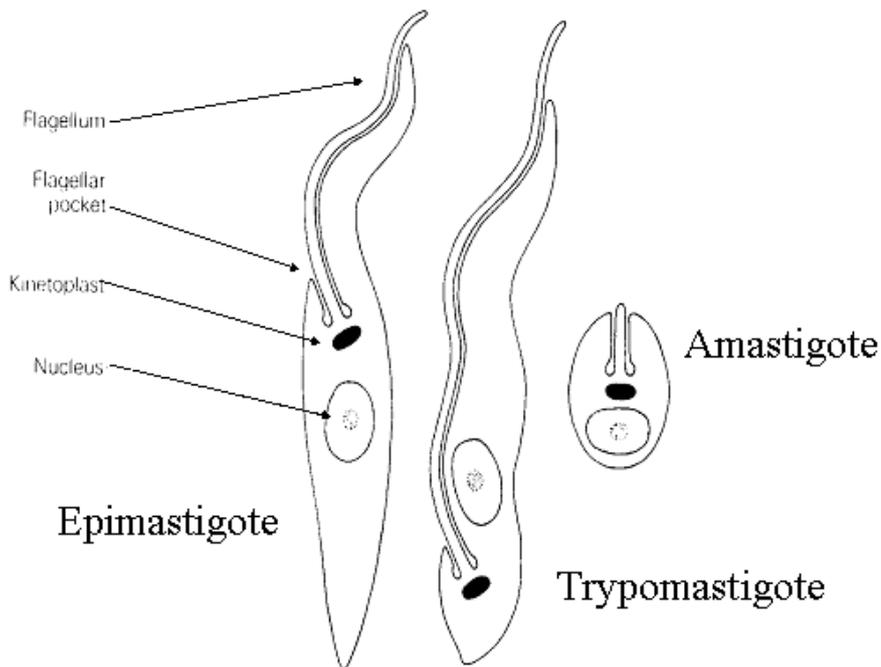
1.3.1.2. Forme épimastigote - seulement chez les Triatominae (Figure 1-8)

C'est une forme allongée qui possède un corps basal en avant du noyau et une membrane ondulante beaucoup plus courte que celle de la forme trypomastigote.

1.3.1.3. Forme amastigote - chez les mammifères (Figure 1-8)

C'est une cellule ovoïde, avec un grand noyau et un corps parabasal, mais sans flagelle libre. La structure de base est la même que celle de la forme trypomastigote.

Figure 1-8 - Différentes formes de *T. cruzi*



Source : http://dna.kdna.ucla.edu/parasite_course-old/cruzi_files/subchapters/morphology%20and%20life%20cycle.htm (consulté le 22 Novembre 2013)

1.3.2. Reproduction

La division cellulaire est longitudinale et binaire (les deux cellules filles sont morphologiquement identiques). Il n'y a pas de reproduction sexuelle. ⁽¹¹⁾

La recombinaison de caractères génétiques par division cellulaire n'est pas possible. Le manque de recombinaison fait qu'il apparaît des souches morphologiquement identiques.

1.4. Le vecteur

Les insectes vecteurs de *T. cruzi* sont les triatomes.

Ils appartiennent à la sous famille des Triatominae au sein de la famille des Reduviidae définie par son caractère hématophage et ses adaptations morphologiques nécessaires à la recherche d'hôte et à la nutrition.

Ces insectes occupent diverses niches écologiques. En milieu sauvage, ils sont associés aux nids, terriers, creux d'arbres ou encore aux palmiers alors qu'en milieu domestique ils colonisent les structures péri-domiciliaires et l'intérieur des maisons dans les coins obscurs, les fissures de murs ou encore les toits de chaume.

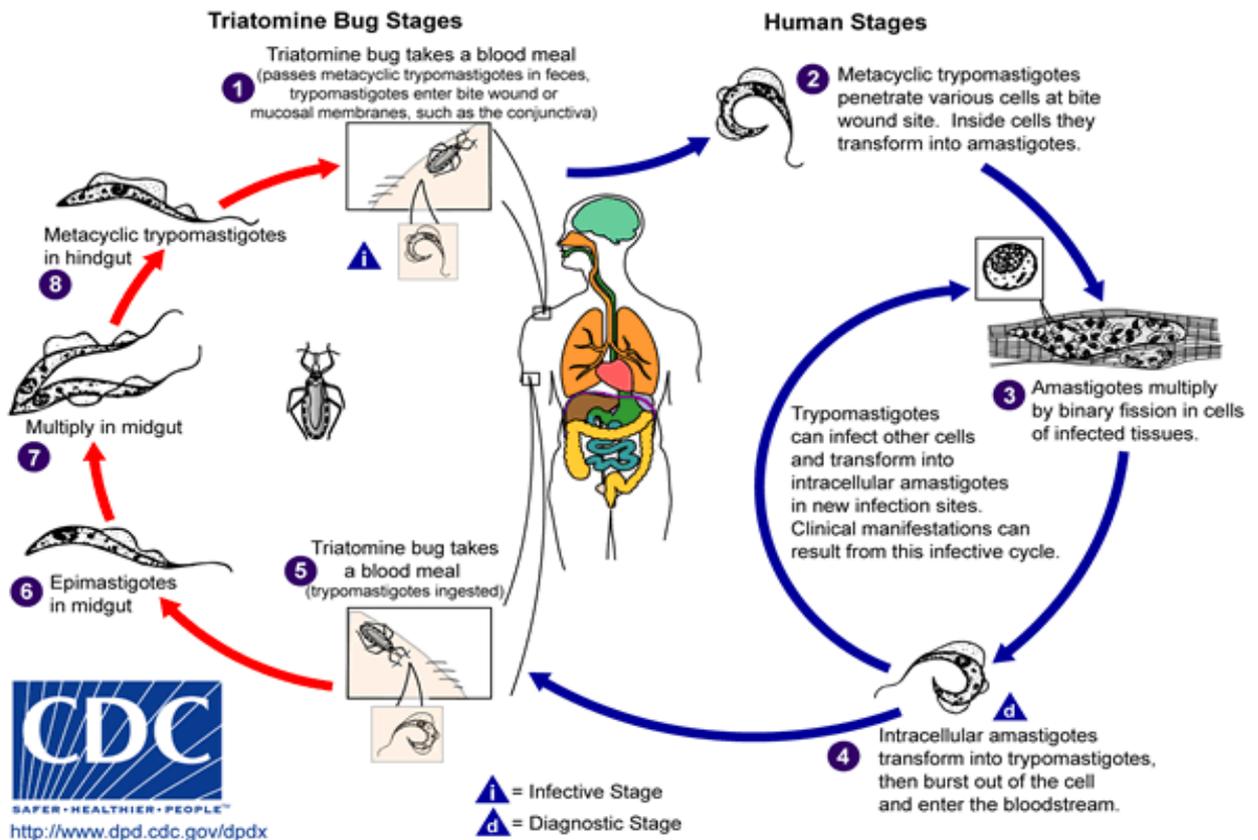
Nous verrons ce vecteur plus en détail en deuxième partie (section 2.1) au moment d'évoquer l'importante lutte antivectorielle mise en place contre la maladie de Chagas.

1.5. Le cycle de vie de *T. cruzi*

Maintenant que nous connaissons tous les acteurs de la Maladie de Chagas nous allons pouvoir comprendre son cycle biologique décrit dans le paragraphe ci-dessous.

Le cycle de *T. cruzi* est complexe, avec différents stades de développement à l'intérieur du triatome et des mammifères hôtes décrits dans la Figure 1-9 ci-dessous. ⁽⁸⁾

Figure 1-9 - Cycle de vie de *T. cruzi*



La survie de *T. cruzi* dépend du succès du déroulement de son cycle parasitaire.

T. cruzi est absorbé par les triatomes lorsqu'ils piquent une victime, humaine ou animale contaminée par *T. cruzi* sous sa forme trypomastigote circulant dans le sang.

Les formes trypomastigotes se différencient en formes épimastigotes au niveau de l'estomac de l'insecte et se multiplient sous cette forme par division binaire longitudinale au niveau de son intestin riche en nutriments.

Les formes épimastigotes vont adhérer aux microvillosités formées par les cellules épithéliales digestives du triatome et ainsi maintenir le développement d'une population qui infeste l'insecte à vie.

Une partie des formes épimastigotes migre au niveau du rectum du triatome où l'appauvrissement en sucre de l'environnement conduit à un allongement du corps cellulaire et du flagelle.

Par celui-ci, les formes épimastigotes s'attachent à la cuticule cireuse du rectum et se différencient en trypomastigotes métacycliques suite à une étape complexe de métacyclogénèse.

Durant celle-ci, d'importants changements morphologiques et biologiques interviennent chez le parasite, avec un arrêt de son cycle cellulaire, un changement de son antigénicité, une diminution de son activité mitochondriale et d'acquisition de son infectivité pour les hôtes vertébrés.

La manière dont ces événements sont précisément coordonnés reste encore non étudiée à ce jour.

Figure 1-10 - Formes métacycliques de *Trypanosoma cruzi* (métacyclogénèse *in vitro*)



Source : http://www.fiocruz.br/chagas_eng/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=69 (consulté le 11 Décembre 2013)

Les formes trypomastigotes métacycliques constituent donc la forme infestante du parasite et sont excrétés du triatome dans ses fèces lorsque celui-ci défèque durant son repas sanguin (Figure 1-9). Les formes trypomastigotes métacycliques infectieuses contenues dans les déjections des triatomes pénètrent à l'intérieur de l'hôte par le point de piqûre, les lésions cutanées ou les muqueuses.

L'insecte pique souvent près des muqueuses (du visage notamment et des yeux) et la victime se contamine en grattant l'endroit de la piqûre, mettant ainsi en contact la plaie due à la piqûre de l'insecte et les fèces infectées.

A l'intérieur de l'hôte, les formes trypomastigotes envahissent les cellules dans lesquelles elles perdent leur flagelle et se différencient en formes amastigotes intracellulaires.

Les formes amastigotes se multiplient par fission binaire protégées à l'intérieur d'une vacuole.

Au bout de quelques temps, une haute densité intracellulaire d'amastigotes conduit à un épuisement des réserves énergétiques dans le cytoplasme de la cellule hôte qui aboutit à une différenciation des amastigotes en trypomastigotes.

Sous l'effet du nombre de parasites qu'elle héberge la cellule hôte se lyse ensuite en libérant les formes trypomastigotes qui peuvent infecter les cellules voisines ou atteindre la circulation sanguine périphérique et être potentiellement ingérées par un triatome sain complétant ainsi le cycle parasitaire (Figure 1-9).⁽⁸⁾

1.6. Clinique

La maladie de Chagas est une maladie silencieuse qui se développe en 3 phases qui sont la phase aiguë qui se développe peu de temps après l'infection, la phase indéterminée, et la phase chronique qui elle-même affecte diverses parties de l'organisme.

1.6.1. La phase aiguë

La phase aiguë, généralement asymptomatique, peut toucher des individus de n'importe quel âge. Cependant la majorité des cas sont détectés avant l'âge de 15 ans, plus précisément entre 1 et 5 ans. ⁽¹²⁾

Cette phase démarre quand le parasite pénètre dans l'organisme. Une réaction locale a lieu au point d'entrée du parasite suivie d'un malaise général. En général toutes les manifestations cliniques commencent à disparaître après 4 à 8 semaines, ou parfois moins avec un traitement spécifique.

La piqûre du triatome n'est généralement pas douloureuse ce qui explique que la piqûre n'est pas perçue par les personnes endormies et qu'elles peuvent par conséquent être piquées par plusieurs triatomes à la fois. Les cas d'hypersensibilité à la suite des piqûres sont rares.

Lorsque le parasite pénètre au travers de la peau, l'infection peut se manifester par un chagome, une lésion cutanée érysipéloïde ou pseudofeuronculeuse (Figure 1-11).

Chez l'enfant les chagomes se retrouvent souvent au niveau du cuir chevelu, la contamination s'étant faite par la chute sur la tête de déjections d'insectes vivant dans les palmes des toits. ⁽¹³⁾

Figure 1-11 - Observation d'un Chagome ⁽¹³⁾



Lorsque le trypanosome a pénétré au niveau des muqueuses de l'œil, après une dizaine de jours d'incubation, on peut observer un œdème unilatéral bi-palpébral, rougeâtre et peu douloureux, avec dacryocystite et adénopathies satellites appelé signe de Romana (Figure 1-12). Parfois l'œdème s'étale sur toute l'hémiface. ⁽¹³⁾

Figure 1-12 - Signe de Romãna vu de face



Source : <http://theassassinbug.com/category/chagas-disease/page/2/> (consulté le 22 Novembre 2013)

L'aspect du site d'inoculation aux autres portes d'entrée est moins caractéristique. Il peut y avoir un érysipèle, une tuméfaction de la peau, ou encore un ou plusieurs furoncles ou nodules sous-cutanés. Une adénite régionale peut y être associée.

Dans 90% des cas, en l'absence de chagome ou de signe de Romãna, la phase aiguë passe inaperçue, soit car elle est cliniquement muette soit car elle fait penser à une maladie infantile banale.

Les symptômes généraux sont variés, on peut citer une hépato-spléno-adénomégalie fébrile associée avec des œdèmes et parfois un exanthème. Dans 30% des cas on peut mettre en évidence des anomalies spontanément résolutive à l'électrocardiogramme (ECG).⁽³⁾

Plus le patient est jeune et plus les symptômes seront importants. En effet, chez les enfants de moins de deux ans, la mort par myocardite survient dans 2 à 3% des cas et la mort par méningo-encéphalite peut atteindre 50% des cas.⁽³⁾

1.6.2. La phase indéterminée

Elle démarre environ dans les deux mois suivant l'infection. Elle peut durer de quelques mois à plusieurs dizaine d'années. Dans 67% des cas elle dure toute la vie.

Les individus en phase indéterminée ne présentent aucun symptôme et on ne peut pas prédire l'évolution de l'infection à savoir si elle va rester silencieuse ou bien progresser vers une forme symptomatique.

Ces différences dans l'évolution de la maladie montrent l'importance de la variabilité d'un individu à l'autre dans la réponse à l'infection mais aussi souligne l'importance de l'influence de la souche du parasite. L'évolution de l'infection dépendra de l'équilibre qui se mettra en place entre le système immunitaire de l'hôte et le trypanosome.

Cette phase est tout de même une infection chronique à *T. cruzi*. Le parasite est présent, il se divise, se multiplie, provoque des lésions, et pour preuve ces patients peuvent être victimes à tout moment d'une mort subite d'origine cardiaque sans signes annonciateurs. C'est essentiellement pendant cette phase que l'homme joue le rôle de réservoir de la maladie vis-à-vis de ses semblables et ce rôle est très important.⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾

Ces patients doivent régulièrement se soumettre à des examens afin d'évaluer l'évolution de leur état car environ un tiers d'entre eux vont développer des complications chroniques en moyenne 25 ans après avoir été infectés.

1.6.3. La forme chronique

Dans un tiers des cas la forme indéterminée évoluera vers une pathologie sérieuse dite chronique, pouvant provoquer la mort.

1.6.3.1. La myocardite

C'est l'atteinte la plus étudiée et la plus facile à diagnostiquer. Elle est possible à tous les stades de la maladie, elle domine les complications et rend compte de la majorité des décès.⁽¹⁵⁾

Les symptômes dépendent du degré de l'atteinte cardiaque (déficience cardiaque et/ou présence d'arythmie).

Les premiers signes à apparaître sont souvent des extrasystoles, connues sous le nom de « signe de la batterie » au Brésil.⁽¹³⁾

Les symptômes les plus importants sont : palpitations, étourdissement, syncope, dyspnée, œdèmes et douleur thoracique.

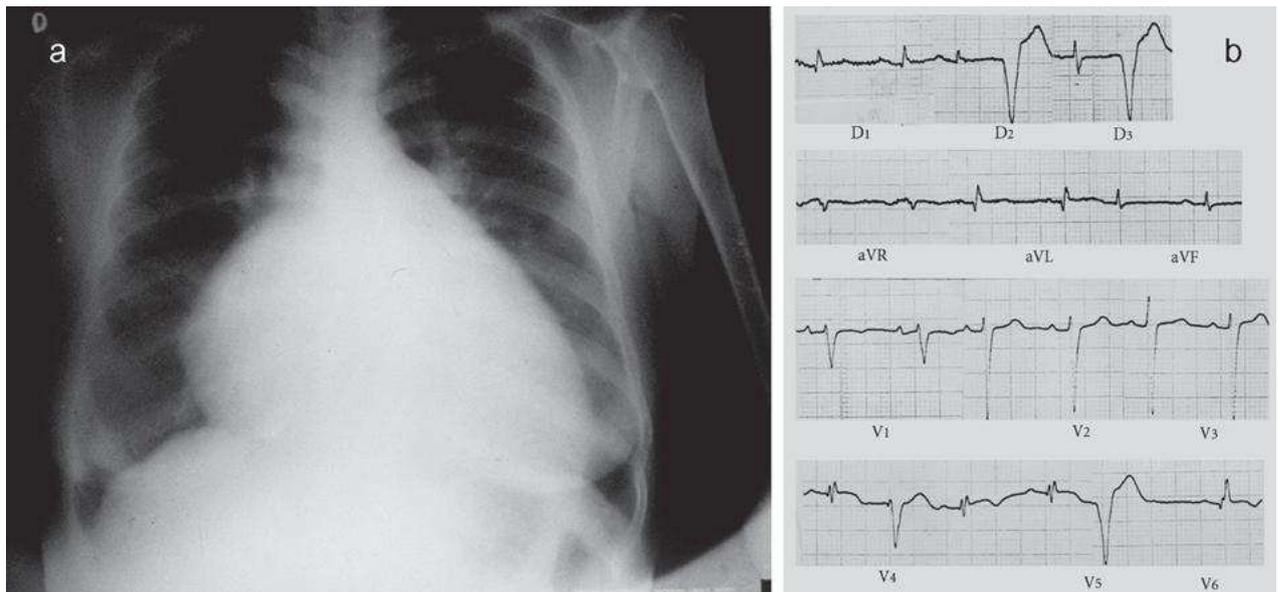
La radiographie thoracique peut montrer une cardiomégalie (Figure 1-13).

L'ECG peut révéler les anomalies typiques de conduction et une arythmie (Figure 1-13).⁽³⁾

Un bloc de branche droit chez un jeune dans une zone d'endémie est très évocateur de la maladie de Chagas. La mort subite chez un sujet apparemment en bonne santé, à la suite d'un effort physique intense ou d'une émotion violente, peut être la première et la dernière manifestation clinique d'une myocardite ayant évolué à bas bruit.

La myocardite est responsable de 25% des cas mortels de la maladie de Chagas chez les personnes âgées de 25 à 44 ans dans les pays d'endémie. Les complications les plus importantes sont l'embolie systémique ou pulmonaire et la mort subite.⁽³⁾

Figure 1-13 - Cardiomégalie et ECG révélateur d'une cardiomyopathie chagasique⁽¹⁵⁾



1.6.3.2. La forme digestive

On l'appelle également le « syndrome méga ». Elle se manifeste chez un peu plus de 10% des malades chroniques par des syndromes méga-organes découlant de l'altération du système nerveux autonome.⁽¹⁶⁾

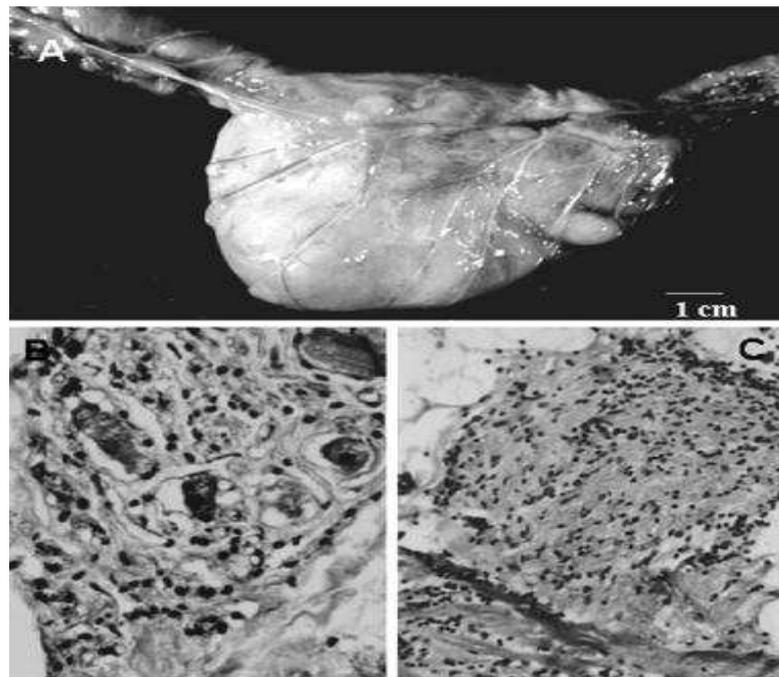
Tous les viscères creux peuvent être atteints avec des perturbations ou une perte de fonction associée ou non à une dilatation de l'organe : estomac, duodénum, jéjunum, vessie, uretère, vésicule et tractus biliaire mais dans la majorité des cas l'œsophage et le côlon.⁽¹³⁾

L'atteinte de l'œsophage (« mal d'engasgo » au Brésil) est caractérisée par l'apparition d'une difficulté de plus en plus marquée à avaler la nourriture solide. En l'absence de traitement, elle peut entraîner la mort par dénutrition ou infections pulmonaires récidivantes secondaires à des phénomènes de régurgitation.

L'atteinte du côlon et du rectum (Figure 1-14) se manifeste par une dilatation du côlon qui perd sa capacité de péristaltisme ce qui entraîne une constipation opiniâtre, une rétention massive de matières fécales et un risque de volvulus.

Le syndrome méga se voit très peu dans les pays du Cône Sud et peut coexister avec les atteintes cardiaques.

Figure 1-14 - Dilatation et épaississement de la paroi du côlon sigmoïde et du rectum (A) ⁽¹⁷⁾



1.6.3.3. Les atteintes neurologiques

Les atteintes neurologiques susceptibles de se développer ultérieurement sont mal connues. Elles touchent environ 10% des chagasiques en phase chronique et se manifestent essentiellement par des névrites sensitivo-motrices. ⁽¹³⁾

Bien que tout le système nerveux puisse être touché (le système nerveux central (SNC), périphérique, et autonome), la maladie de Chagas est fréquemment associée à des lésions du système nerveux périphérique. ⁽³⁾

Les synapses cardiaques du système nerveux autonome montrent une activité en catécholamines et acétylcholinestérase diminuée. Ce qui rejoint la dénervation progressive retrouvée dans la maladie de Chagas et aussi le fait qu'au niveau cardiaque les nerfs sympathiques et parasymphatiques soient endommagés par des infiltrats inflammatoires entourant les neurones et provoquant leur cytolysse. Par conséquent la perte de cellules neuronales est typique dans la maladie de Chagas. ⁽¹⁷⁾

Dans certaines régions d'endémie, des parésies, des signes cérébelleux, des convulsions et des anomalies psychiatriques peuvent se voir. Elles sont la conséquence de lésions du SNC ou de lésions secondaires à une méningo-encéphalite survenue au stade aigu. ⁽³⁾

1.6.3.4. Les formes liées à l'immunodépression ou réactivations

T. cruzi peut se conduire en parasite opportuniste et la survenue de méningo-encéphalites secondaires à une réactivation de l'infection chez les chagasiques chroniques présentant une immunodépression acquise (infection par le VIH, hémopathies malignes) ou induite (greffe de moelle et transplantations) est maintenant bien connue. Ce sont des méningo-encéphalites fébriles et des lésions du SNC se traduisant par la formation de chagomes intracérébraux. Devant ces

chagomes intracérébraux qui ne se voient que lors de réactivations, le diagnostic différentiel avec la toxoplasmose, les lymphomes, les abcès bactériens ou mycotiques se pose tout naturellement.

Lors des réactivations, le cœur est le second organe touché avec risque d'arythmie ou de défaillance cardiaque aiguë. Le tableau de myocardite, isolée ou associée à la méningo-encéphalite, peut se manifester par un tableau d'insuffisance cardiaque globale d'installation brutale ou plus insidieuse, des troubles du rythme ou de la conduction menaçant le pronostic vital, parfois une péricardite évoluant vers un tableau d'insuffisance cardiaque droite.

Des cas de réactivation avec des manifestations cliniques gastriques, péritonéales et cutanées ont été décrits, mais restent exceptionnels. ⁽¹⁸⁾

1.6.3.5. Les formes congénitales

Les nouveaux-nés peuvent présenter les symptômes de la phase aiguë de la maladie de Chagas le mois suivant leur naissance. Ils peuvent présenter également un faible poids corporel, une prématurité, un ictère, une inflammation de la rate et du foie. Cependant, le plus souvent comme lors d'une phase aiguë, les cas sont souvent asymptomatiques. ⁽¹⁶⁾

Les organes les plus atteints sont le cœur, l'œsophage, l'intestin, le cerveau, la peau et les muscles squelettiques. *T. cruzi* peut se retrouver dans la peau, les muscles squelettiques, le cœur et dans l'œsophage du fœtus des mort-nés, et des nouveaux-nés morts peu après la naissance.

Le pronostic est mauvais quand il y a des atteintes du SNC, des signes hémorragiques et gastro-intestinaux ou bien des infections pulmonaires ou urinaires. La mortalité est de 50% chez les enfants prématurés. ⁽³⁾

1.6.4. La pathogénèse

Bien que la pathogénèse de la maladie de Chagas demeure mal connue, deux hypothèses majeures ont été avancées pour l'expliquer :

- L'hypothèse de l'auto-immunité.
- L'hypothèse de la persistance du parasite.

L'élucidation de la pathogénèse de la maladie de Chagas aurait un impact sur le choix d'une stratégie appropriée pour la mise en place de nouveaux traitements.

- ❖ L'hypothèse de l'auto-immunité pourrait provenir soit d'une perte de tolérance du système immunitaire vis-à-vis de ses propres antigènes causée par l'infection chronique à *T. cruzi* ou de lésions tissulaires produites par une réponse immunitaires contre les antigènes de *T. cruzi* suivies d'une réaction croisée contre les composants de l'hôte.

Le rôle de l'immunité cellulaire a été mis en évidence dans le contrôle de l'infection en phase aiguë comme en phase chronique.

Lors de la phase aiguë, les antigènes parasitaires activent la voie MyD88 de l'immunité innée par l'intermédiaire des récepteurs Toll-like (TLRs) (principalement TLR2 et TLR9) ⁽¹⁹⁾ conduisant à la production de TNF-alpha et interleukine (IL)-12 qui déclenchent

une réponse immunitaire de type Th1, avec production d'interféron (IFN)-gamma par les lymphocytes CD4 et CD8 activés. L'IFN-gamma est nécessaire à l'activation des macrophages et à la production d'oxyde nitrique (NO). En parallèle, des lymphocytes CD8+ et des anticorps lytiques sont impliqués dans le contrôle de l'infection aiguë dans les modèles murins de la maladie. À la phase chronique, des taux élevés de lymphocytes CD4+ et de lymphocytes CD8+ ont été mis en évidence dans le sang périphérique chez le patient présentant une forme dite « indéterminée » ou une forme cardiaque. Les cellules T activées, en particulier des CD8+, sont également une composante majeure de la réponse inflammatoire tissulaire, cardiaque ou digestive. Un taux d'IFN-gamma plus élevé a été retrouvé chez les patients chagasiques traités et guéris comparativement à celui des patients traités non guéris.

Un des mécanismes rendant compte de la progression de la forme indéterminée vers la forme symptomatique cardiaque chez le patient immunocompétent en phase chronique est une réaction inflammatoire sans contrôle et sans aboutissement, documentée par l'augmentation du taux circulant de cytokines pro-inflammatoires (TNF-alpha et IFN-gamma) et une diminution de l'expression de la réponse anti-inflammatoire (IL) 12. ^{(20) (21) (22) (23)}

- ❖ En ce qui concerne la persistance de *T. cruzi* dans les sites spécifiques des tissus de l'hôte, elle entraîne une réaction inflammatoire chronique.

En effet, la rupture des cellules infectées de l'hôte sous l'effet de la division intense des amastigotes et la libération des nouvelles cellules parasites stimulent l'attraction des cellules immunitaires induisant la réaction inflammatoire locale.

Cette théorie est appuyée par le fait que l'administration d'un traitement parasitaire spécifique peut donner des résultats favorables chez des malades au stade chronique. ⁽¹²⁾

Dans les deux cas, la pathologie est basée sur la réponse immunitaire qui provoque une destruction tissulaire cumulative et des signes cliniques.

1.7. Modes de transmission

Il existe plusieurs modes de transmission de la maladie de Chagas détaillés ci-dessous, parmi-eux on peut citer la transmission vectorielle, par transfusion sanguine, par transplantation d'organes, congénitale ou encore d'autres modes de transmission plus rares.

C'est en 1912 que le français Émile Brumpt montra que *T. cruzi* se transmettait par les déjections et non par la piqûre des triatomes comme le soutenait Chagas. ⁽¹⁾

La muqueuse nasale étant beaucoup plus sensible à l'infection que la muqueuse buccale, une transmission par aérosol dans un espace clos, mal aéré et hyper infesté, comme le sont certaines habitations rurales, est possible.

En revanche, en milieu urbain, c'est la transmission congénitale ou par transfusion sanguine qui prédomine.

Les dons d'organes (surtout de rein, mais aussi de cœur et de moelle) ont été à l'origine d'un certain nombre de cas, ainsi que la toxicomanie par voie veineuse.

1.7.1. La transmission vectorielle

La transmission vectorielle est aujourd'hui le principal mécanisme de diffusion de la THAM et fait intervenir les insectes vecteurs hématophages (les triatomes), le parasite (*T. cruzi*) et ses réservoirs (les mammifères), au sein de trois cycles pouvant se chevaucher : sylvatique, péri-domestique et domestique.

Contrairement à d'autres maladies vectorielles, la grande majorité des cas de transmission de la maladie de Chagas a lieu à l'intérieur des habitations humaines où le vecteur de la maladie établit des colonies.

Malheureusement, dans beaucoup de régions d'endémie, les populations humaines n'associent pas la présence des triatomes dans leurs habitations comme un danger.

1.7.2. La transmission par transfusion sanguine

Cette voie de transmission est la principale dans les zones urbaines des pays endémiques et dans les pays non endémiques du parasite.

T. cruzi peut persister dans tous les produits dérivés du sang à 4°C et ce jusqu'à 250 jours.

Le risque de développer une infection chronique à *T. cruzi* après avoir été transfusé par une unité de sang issue d'un donneur infecté est de 10 à 20% et dépend de plusieurs paramètres, notamment la concentration de parasites dans le sang du donneur, la fraction sanguine transfusée et peut être même le génotype du parasite. ⁽²⁴⁾

1.7.3. Transmission par transplantation d'organes

La transmission du parasite est également possible suite à une greffe de moelle osseuse ou d'un organe provenant d'un donneur infecté.

Ce risque de transmission en dehors des régions endémiques a augmenté avec les importantes migrations de populations latino-américaines vers les pays occidentaux.

Le risque est encore plus élevé à cause des traitements immunosuppresseurs utilisés pour prévenir le rejet de l'organe transplanté.

Ce mode de transmission est sans conséquence dans les pays d'endémie car le corps médical a l'habitude d'anticiper ce risque à l'avance et prévenir la maladie par un traitement spécifique. ⁽¹²⁾

1.7.4. Transmission au cours de la grossesse

La transmission materno-fœtale inclut la transmission transplacentaire hématogène prénatale in utero et la transmission périnatale pendant la délivrance, de parasites vivants persistants chez le nouveau-né après sa naissance.

Ce taux de transmission est défini comme étant le nombre de cas congénitaux sur le nombre de femmes enceintes d'un hôpital, d'une région ou d'un pays.

Toutes les femmes enceintes appartenant à une population à risque doivent bénéficier d'un dépistage de la maladie à l'occasion des visites prénatales ou au moment de l'accouchement. Les femmes enceintes infectées doivent bénéficier d'une surveillance renforcée, notamment

échographique, le traitement de la mère comme de l'enfant ne pouvant se faire qu'après l'accouchement. Une enquête sérologique chez les membres de la fratrie doit également être effectuée et en cas d'enfants séropositifs à *T. cruzi* ceux-ci doivent être traités. Après l'accouchement tous les nouveaux-nés de mères séropositives à *T. cruzi* doivent bénéficier d'un diagnostic parasitologique ; la recherche devra être faite sur le sang du cordon et en cas de négativité, elle sera répétée à J3 et à J30. ⁽²⁵⁾

Le risque d'être victime d'une transmission congénitale pour un enfant né d'une mère chagasique est très variable d'une région à l'autre. Certaines études suggèrent que ce risque serait en partie sous la dépendance de facteurs génétiques. Le risque pour un enfant à naître semble aléatoire, l'infection pouvant chez la même mère épargner un premier enfant, frapper le suivant et faire grâce au troisième. L'infection du nouveau-né se manifeste par une forme aigüe de la maladie. L'enfant infecté est souvent asymptomatique mais peut également présenter un syndrome infectieux sévère notamment en cas de co-infection avec le VIH, à l'origine de 2 à 13% de mortalité néo-natale. ⁽¹³⁾

Aucune preuve de transmission par le lait de mères séropositives à *T. cruzi* n'a été rapportée, il n'y a donc pas de contre-indication à l'allaitement maternel. ⁽²⁵⁾

1.7.5. Autres modes de transmission

En zone d'endémie, des transmissions par consommation de nourriture souillée par des déjections de triatomes, ou encore par les déjections ou les urines de certains animaux réservoirs, comme les opossums, ne sont pas exceptionnelles.

L'homme peut aussi s'infecter accidentellement en dépouillant un animal infecté (opossum, tatou, agouti, cobaye) ou en mangeant de la viande crue de chasse parasitée (plusieurs dizaines de cas en Amazonie), ou encore en buvant des jus de fruits de fabrication artisanale dans lesquels se sont noyés des triatomes infectés durant la fabrication de la boisson (une centaine de micro-épidémies de ce type signalées, surtout au Brésil). ⁽¹³⁾

En Juin 2009, dans une école sur la côte de Vargas au Venezuela, du jus de goyave a été à l'origine de 35 cas aigus de Trypanosomose dont 3 mortels. Les infections par voie orale se traduisent souvent en effet par des formes graves, avec un taux élevé de létalité. La pénétration du parasite au niveau de la muqueuse buccale, avec ou sans intervention du vecteur, est un mode d'infection courant chez les animaux domestiques ou sauvages : léchage de fourrure souillée par des déjections de triatomes et surtout prédation d'insectes ou de rongeurs infectés.

Enfin, l'échange de seringues contaminées par *T. cruzi* entre toxicomanes permet la transmission directe du parasite par voie veineuse et concerne principalement les quartiers pauvres des métropoles sud-américaines, mais aussi des accidents d'exposition au laboratoire dont certains chercheurs travaillant sur le parasite ont déjà été victimes.

1.8. Diagnostic

Nous allons voir les différentes méthodes de diagnostic utilisées pour le dépistage de la maladie de Chagas : les méthodes directes, les méthodes indirectes, les tests de diagnostic rapide et pour finir le test de la maladie de Chagas congénitale.

Le but est de tenir compte de toutes les situations qui peuvent se présenter : dépistage des donneurs de sang, diagnostic de sujets en phase chronique, dépistage des femmes enceintes, diagnostic de la maladie de Chagas congénitale et des formes aiguës ou réactivations.

1.8.1. Les méthodes directes

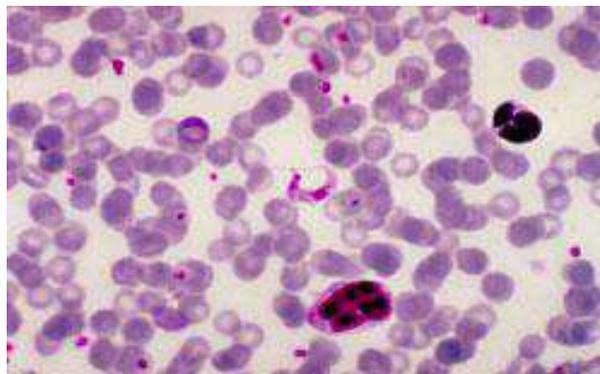
Les techniques parasitologiques conventionnelles permettent le diagnostic des formes aiguës ou réactivations.

Durant la phase aiguë, la parasitémie est élevée, les examens parasitologiques conventionnels suffisent donc à poser le diagnostic.

On peut mettre en évidence directement les formes trypanostigotes circulant dans le sang par examen microscopique du sang à l'état frais, goutte épaisse ou après coloration et fixation du frotti par coloration de May-Grünwald Giesma (Figure 1-15).

La sensibilité de ces tests est élevée si ces examens sont réalisés au moment du pic de parasitémie. ⁽²⁶⁾

Figure 1-15 - Formes trypanostigotes circulantes de *T. cruzi* observées après coloration de May-Grünwald Giesma



Source : <http://www.niaid.nih.gov/about/organization/dmid/success/Pages/K777.aspx> (consulté le 22 Novembre)

Des techniques de concentration doivent systématiquement être associées car elles accroissent l'efficacité de détection d'une parasitémie. On peut citer entre autres la méthode de Strout (double centrifugation) ou la triple centrifugation. Il est nécessaire de centrifuger à petite vitesse pour ne pas lyser les parasites.

Des formes circulantes de *T. cruzi* peuvent également être retrouvées dans le liquide céphalorachidien (LCR) du patient, l'écoulement conjonctival du signe de Romana, ou dans un échantillon de biopsie d'un chagome dilué dans du sérum physiologique.

Passés les deux ou trois premiers mois de l'infection, la parasitémie devient trop faible pour une mise en évidence directe de *T. cruzi* par un examen microscopique direct. Trois techniques peuvent alors être utilisées : le xénodiagnostic (XD), la culture du sang sur milieu de gélose foie-tryptose (liver Infusion tryptose ou LIT) ou gélose cerveau-cœur (brain-heart infusion ou BHI) et la polymérase chain reaction (PCR).

- ❖ Le xénodiagnostic est une méthode ancienne mise au point par Émile Brumpt en 1912 encore utilisée du fait de son efficacité et de sa réalisation facile particulièrement dans les laboratoires spécialisés en zone d'endémie. Son principe est celui d'une culture *in vivo* obtenue en faisant piquer le sujet suspect par un certain nombre de vecteurs d'élevage, donc forcément sains puisqu'il n'y a pas de transmission congénitale de l'infection chez l'insecte. Les quelques variantes qui ont été introduites dans le protocole original portent sur l'espèce, le stade, le nombre d'insectes utilisés, ainsi que sur le temps au bout duquel le parasite est recherché dans les déjections ou l'intestin des triatomes, ainsi que la technique avec laquelle cette recherche est effectuée. Dans la variante dite « artificielle », les insectes, au lieu d'être alimentés directement sur le malade, le sont à travers une membrane fermant une cloche à double corps contenant le sang à tester maintenu à 37°C. ⁽¹³⁾
- ❖ Il est aussi possible d'utiliser les hémocultures. Les milieux liquides tels que le LIT et le BHI énoncés ci-dessus sont utilisés. Au stade chronique, les parasites sont détectés chez 30 à 40% des patients. Les hémocultures répétées avec examens sérologiques sont aussi utilisées pour vérifier une guérison. ⁽³⁾ Les hémocultures sont longues (1 à 3 mois) et lourdes à mettre en œuvre car elles nécessitent un grand nombre de repiquages. Elles en sont que rarement utilisées à des fins diagnostiques.
- ❖ Enfin on peut utiliser la recherche directe de l'ADN du parasite par PCR. La PCR peut avoir un intérêt en complément des techniques conventionnelles, mais il faut qu'elle puisse être réalisée au coup par coup avec un résultat rendu dans les 24 heures suivant la réception de l'échantillon. Elle ne sera donc pas utilisée en routine et sera plutôt réservée lorsque les examens sérologiques ne concluront pas sur l'infection. ⁽²⁶⁾

1.8.2. Les méthodes indirectes

Au début de l'infection, les IgM sont les premiers anticorps anti-*T. cruzi* à apparaître. De ce fait, les IgM spécifiques anti-*T. cruzi* peuvent être détectés dans le sang entre les 2 et 3 premières semaines par examen sérologique.

Au fur et à mesure que l'infection avance, ils sont remplacés par des anticorps IgG. Les concentrations d'IgM totales sont plus élevées chez les patients au stade aigu que chez les personnes non-infectées. Par contre, il n'y a pas d'augmentation des concentrations d'immunoglobulines pendant le stade chronique, à part chez les patients atteints de méga-organs qui peuvent présenter une augmentation des IgA. ⁽³⁾

Les examens les plus utilisés sont l'Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), l'Hemagglutination inhibition assay (HAI), ou l'immunofluorescence indirecte (IFI).

Selon les recommandations en vigueur (OMS, 2002), le diagnostic doit utiliser deux tests de principes différents et de préparations antigéniques différentes. ⁽²⁶⁾

Dans un avenir proche, un nouveau test pourrait apporter la solution : il s'agit du TESA Blot (*T. cruzi* Excreted- Secreted Antigen) en cours d'enregistrement au Brésil (laboratoire BioMérieux) et qui pourrait avoir le marquage CE. Deux autres techniques revendiquent le statut de technique de référence : il s'agit d'un immunoblot recombinant (Innolia) et d'une technique de radio-immunoprécipitation (RIPA). Ces deux techniques ne sont pas commercialisées. ⁽²⁶⁾

Récemment en 2012, un nouveau test de diagnostic *in vitro* a été approuvé par la FDA (Food and Drug Administration), il s'agit de l'*in vitro enzyme strip assay* (ESA) développé par ABBOTT. Il détecte les anticorps de *T. cruzi* de manière qualitative sur plasma ou sérum humain.

Tableau 1-1 - Sensibilité des méthodes de diagnostic selon le stade clinique ⁽³⁾

Méthodes	Type de Laboratoire*	Sensibilité**	
		Stade Aigu	Stade Chronique
<u>Méthodes Directes</u>			
Frottis Sanguin	A/B	<60%	<10%
Goutte Épaisse	A/B	<70%	<10%
Sang Frais	A/B	80 à 90%	<10%
Méthode de Strout	A/B	90 à 100%	<10%
Buffy Coat sur Lame	A/B	90 à 100%	<10%
<u>Méthodes Indirectes</u>			
Xénodiagnostic	B	100%	20 à 50%
Hémoculture	B	100%	40 à 50%

*A = Laboratoires des centres hospitaliers ; B = Laboratoires spécialisés.

**Comparé au xénodiagnostic au stade aigu et à la sérologie au stade chronique

1.8.3. Les tests de diagnostic rapide

Il existe actuellement 9 tests de diagnostic rapide (TDR).

Parmi ces tests, seul le Stat-Pak est validé. Il s'agit d'un test immunochromatographique, utilisant des antigènes recombinants et permettant de détecter des IgG. Il est utilisable sur sérum et sang complet. Ce test a fait preuve d'une sensibilité autour de 94% et d'une spécificité de 99% et peut donc être utilisé en dépistage.

Il faut garder en tête qu'il y a tout de même un risque d'avoir des faux négatifs ; de plus la sensibilité actuelle n'apparaît pas suffisante pour un test de diagnostic unique.

Cependant, après amélioration, ces TDRs pourraient trouver leur place dans différentes situations de dépistage et/ou de diagnostic. ⁽²⁶⁾

1.8.4. Diagnostic de la maladie de Chagas congénitale

Le dépistage doit se faire en couplant deux tests de principes différents basés sur des antigènes natifs ou recombinants (ELISA ou/et IFI).

Les TDRs sont efficaces en dépistage, ils devront être utilisés au moment de l'accouchement si le dépistage n'a pas été fait pendant la grossesse.

Le parasite doit être recherché à la naissance dans le sang du cordon et les 3^{ème} et 30^{ème} jours au moins après la naissance dans le sang de l'enfant. Un test sérologique à neuf mois après disparition des anticorps naturels sera également effectué. ⁽²⁵⁾

Partie II

Vecteur et lutte antivectorielle



2. VECTEUR ET LUTTE ANTIVECTORIELLE

2.1. Le vecteur

Pour comprendre cette lutte antivectorielle qui à elle seule représente le meilleur moyen de lutte contre la maladie, il est indispensable de voir plus en détail son vecteur énoncé plus tôt en partie 1.4.

Nous allons donc voir leur morphologie, leurs aspects biologiques et comportementaux, et les principales espèces vectrices de *T. cruzi*.

Les triatomes, punaises qui appartiennent à la sous famille des Triatominae au sein de la famille des Reduviidae constituent le vecteur de la maladie de Chagas.

Les Reduviidae se divisent en 24 sous familles mais seuls les Triatominae possèdent un régime hématoophage qui les distingue, avec certains caractères morphologiques associés, des autres Reduviidae qui sont des prédateurs arthropodes.

Bien que les Triatominae soient hématophages, leurs ancêtres étaient des prédateurs comme les autres Reduviidae. Les Triatominae sont distribués principalement en Amérique Latine jusqu'aux USA.

Les Triatominae comptent 136 espèces groupées en 18 genres et formant 6 tribus (Tableau 2-1) mais seulement 5 espèces jouent un rôle important dans la transmission de la maladie de Chagas en milieu domestique. ⁽²⁷⁾

Les triatomes se sont vus attribuer divers noms vernaculaires par les populations vivant en contact avec eux tels que vinchuca, barbeiro, pito, chirimacha ou encore kissing bug ou assassine bug aux USA.

Les espèces sylvatiques vivent dans les terriers d'animaux, tandis que les espèces dites domestiques habitent les recoins sombres, humides et peu aérés des maisons et des étables, dans les fissures des murs, entre les planches de bois ou les briques, ou dans les toits de chaume.

Les Triatominae sont des insectes aux mœurs nocturnes et le repas sanguin s'effectue sur une personne endormie. La piqûre est indolore mais peut provoquer une réaction cutanée d'hypersensibilité. ⁽²⁷⁾

Tableau 2-1 - Tribus et genres actuels au sein des Triatominae ⁽²⁷⁾

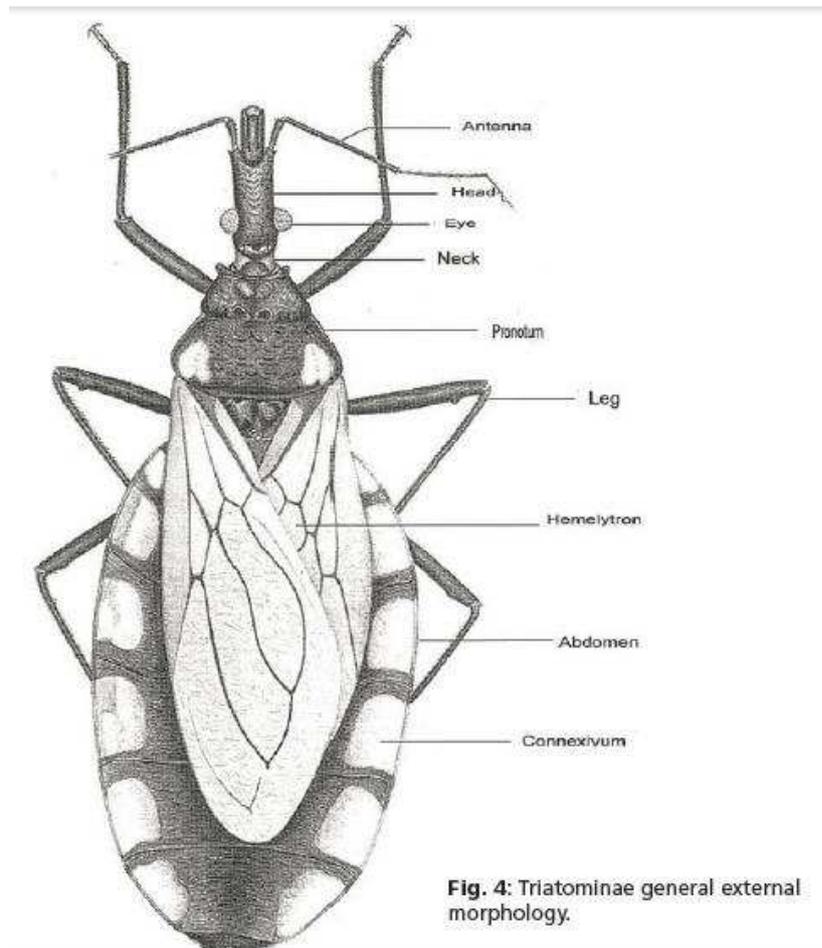
Tribus	Genres	Nombre d'espèces
Alberproseniini	<i>Alberprosenia</i>	2
Bolboderini	<i>Belminus</i>	6
	<i>Bolbodera</i>	1
	<i>Microtriatoma</i>	2
	<i>Parabelminus</i>	2
Cavernicolini	<i>Cavernicola</i>	2
Linshcosteini	<i>Linshcosteus</i>	6
Rhodniini	<i>Psammolestes</i>	3
	<i>Rhodnius</i>	16
Triatomini	<i>Dipetalogaster</i>	1
	<i>Eratyrus</i>	2
	<i>Hermanlenticia</i>	1
	<i>Meccus</i>	6
	<i>Mepraia</i>	2
	<i>Panstrongylus</i>	13
	<i>Nesotriatoma</i>	3
	<i>Paratriatoma</i>	1
	<i>Triatoma</i>	67

2.1.1. Morphologie

Contrairement aux nymphes, les adultes possèdent des ocelles, des ailes et des organes génitaux externes bien développés (Figure 2-1).

Ils possèdent une gouttière longitudinale sur le prosternum qui reçoit le rostre divisé en trois segments. Le premier segment est courbé, à convexité supérieure, ce qui donne une impression de tête allongée. Les yeux et les antennes sont proportionnellement de grande taille. De couleur brune à noire avec des colorations orangées sur les élytres, les triatomes mesurent entre 1 et 3 cm de long. La plus grande espèce de triatome se nomme *Dipelogaster maximus* et peut atteindre 4.4 cm de long pour une largeur abdominale de 1.5 cm alors que la plus petite espèce, *Alberprosenia goyovargasu* ne mesure que 0.5 cm de long. ⁽²⁷⁾

Figure 2-1 - Schéma représentatif d'un triatome



Source : http://www.landesmuseum.at/pdf_frei_remote/DENISIA_0019_1095-1116.pdf (consulté le 29 Novembre 2013)

2.1.1.1. Les pièces buccales

Il a souvent été dit à tort que les triatomes mordent leur hôte alors qu'en réalité elles piquent la peau de l'hôte et sucent le sang. La tête dispose d'une grande mobilité au moyen d'un cou reliant au thorax. Elle est de forme convexe et en moyenne trois fois plus longue que la largeur des yeux. Les pièces buccales de type piqueuses suceuses sont formées d'un labium enserrant les mandibules et maxilles.

Elles sont projetées en avant quand le triatome pique. Au repos, elles sont ramenées sous l'insecte, dans l'axe de symétrie du corps et leurs extrémités se logent dans un sillon placé entre la première paire de pattes.

Les pièces buccales pénètrent dans la couche superficielle cutanée. Puis, les maxilles pénètrent dans un vaisseau sanguin où ils s'accrochent. Les extrémités des deux maxilles sont de morphologie différente. L'un est croché ; l'autre est barbelé. Ils se glissent, l'un sur l'autre en suivant un trajet courbé dans les tissus. Ils contiennent deux anticoagulants.

Les deux mandibules barbelées droite et gauche se trouvent de chaque côté des deux maxilles. Les maxilles forment un canal dans lequel passe le repas sanguin.

2.1.1.2. Glandes salivaires

Il y a deux glandes salivaires, une de chaque côté de la partie antérieure du tube digestif. Les substances sécrétées par les glandes salivaires servent à faciliter la digestion du sang, l'écoulement du sang à travers le tube digestif, et à situer les maxillaires dans les vaisseaux sanguins de l'hôte.

2.1.1.3. Tube digestif

Le tube digestif est divisé en deux parties : antérieure (gésier) et postérieure (intestin).

L'intestin est un tube spiralé divisé en deux parties : antérieure (rôle sécrétoire : sécrétion des enzymes digestives) et postérieure (rôle d'absorption).

2.1.1.4. Ailes

Les triatomes possèdent deux paires d'ailes. Les ailes antérieures associées au mésothorax sont nommées hémélytres du fait qu'elles soient coriaces à leur base et membraneuses aux extrémités. Les ailes postérieures sont des appendices du métathorax couvertes au repos par l'hémélytre, et entièrement membraneuses. L'innervation des deux paires d'ailes est uniforme chez les triatomes.

2.1.2. Aspects biologiques et comportementaux des triatomes

2.1.2.1. Cycle biologique

Le cycle biologique des triatomes se compose de 5 stades larvaires auxquels il faut à chaque fois un repas sanguin pour passer au stade suivant puis au stade adulte (Figure 2-2).

Un triatome adulte peut vivre une à deux années selon l'espèce. Une femelle pond environ 10 œufs par semaine soit entre 500 et 1000 au cours de sa vie. Ceux-ci éclosent au bout de 18 à 28 jours pour libérer une nymphe de premier stade.

A tous les stades du développement (y compris le stade adulte) pour les deux sexes, ils se nourrissent sur des hôtes vertébrés et sont donc susceptibles d'être infectés par *T. cruzi*.

La durée du cycle peut varier de quelques mois (*Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans*) à plus d'une année (*Triatoma dimidiata*, *Panstrongylus megistus*, *Dipetalogaster maximus*) en fonction de la fréquence et de l'opportunité des repas sanguins, de la densité de population mais aussi des conditions de température et d'humidité du milieu. ^{(28) (29)}

Les triatomes passent la plus grande partie de leur vie cachés dans leurs abris (terriers, crevasses, nids d'animaux). Leur activité nocturne est caractérisée par deux phases, une à la tombée de la nuit et une à l'aube. Le premier pic d'activité sert à trouver un hôte vertébré, le deuxième, à trouver un abri pour la journée. Durant la journée, ils sont soumis à une phase d'akinésie (ils sont généralement agglomérés les uns aux autres) et présentent un phototropisme négatif jusqu'à la tombée de la nuit où ils quittent leur refuge pour se nourrir. Les comportements de reproduction, oviposition et dispersion ont aussi lieu durant ces phases nocturnes (scotophase).

Figure 2-2 - Stade nymphaux et adultes de *Rhodnius prolixus*



Source : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Triatominae> (consulté le 25 Novembre 2013)

2.1.2.2. Dispersion des Triatominae

La dispersion des triatomes peut être active ou passive :

❖ Active

Le mécanisme principal de la dispersion active chez les triatomes est le vol. Il est le principal mécanisme impliqué pour les déplacements de longues distances et s'effectue uniquement par les individus pourvus d'ailes c'est-à-dire les adultes. Étant donné que les nymphes ne possèdent pas d'ailes leur déplacement actif se fait à pied. ⁽³⁰⁾

❖ Passive

La dispersion passive peut être facilitée par les hôtes vertébrés à petite échelle ⁽³¹⁾ ou par le mouvement des populations humaines lors de leurs migrations. Les populations domiciliées sont supposées avoir réalisé des migrations passives grâce à leur grande adaptation aux humains et aux hôtes domestiques. ⁽³²⁾

Les Triatomes se font transporter à l'intérieur des affaires humaines (valises, meubles, etc.). ⁽³⁰⁾

2.1.3. Principales espèces vectrices de *T. cruzi* chez l'homme

Toutes les espèces de triatomes sont potentiellement vectrices de *T. cruzi*, mais la transmission à l'homme requiert des conditions bien précises que peu d'espèces remplissent. Pour être un vecteur effectif de la THAM, le triatome doit posséder les caractéristiques suivantes :

- ❖ Pouvoir s'adapter à l'environnement humain,
- ❖ Posséder un haut degré d'anthropophilie,
- ❖ Avoir un laps de temps de défécation court une fois que le repas sanguin a commencé,
- ❖ Une distribution géographique large. ⁽³⁰⁾

Seulement 5 espèces possèdent ces critères : *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Panstrongylus megistus* dans les pays du cône sud et *Rhodnius prolixus* et *Triatoma dimidiata* au Nord et en Amérique Centrale. Leurs principales caractéristiques sont présentées ci-dessous.

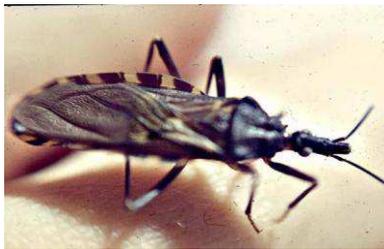
2.1.3.1. *Triatoma infestans*

Triatoma infestans est le vecteur par excellence pour l'infection humaine.

C'est le vecteur le plus important de la partie sous-équatoriale de l'Amérique du Sud et l'espèce domiciliaire la plus répandue.

En plus de son haut degré d'anthropophilie, cette espèce se nourrit plus vite et plus abondamment que les autres, sa colonie grandit donc plus rapidement et va déplacer les autres espèces qui pourraient vivre dans une même habitation. Cette espèce de triatome se trouve être la plus ancienne à s'être adaptée à l'environnement de vie humain et donc la première à avoir développé une anthropophilie quasi-exclusive. ⁽³³⁾

Figure 2-3 - *Triatoma infestans* ⁽¹³⁾

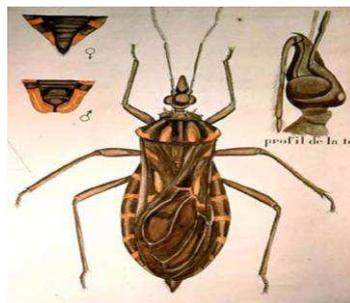


2.1.3.2. *Panstrongylus megistus*

P. megistus est une espèce requérant une humidité au-dessus de 60% pour sa reproduction, ce qui limite sa distribution. L'évolution de sa distribution au Brésil est très importante à connaître pour des raisons épidémiologiques. ⁽³⁾

Il est aussi présent dans de petits foyers domiciliaires au Paraguay et Argentine.

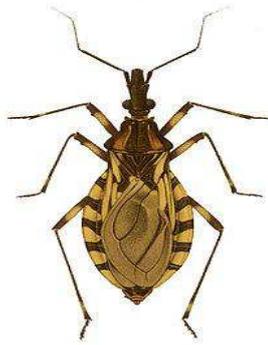
Figure 2-4 - *Panstrongylus megistus* ⁽¹³⁾



2.1.3.3. *Triatoma brasiliensis*

T. brasiliensis est souvent sujet à l'infection à *T. cruzi*. C'est le vecteur le plus important des régions arides et semi-arides de la partie nord-est du Brésil. ⁽³⁾

Figure 2-5 - *Triatoma brasiliensis*



Source : http://en.wikipedia.org/wiki/Triatoma_brasiliensis (consulté le 22 Novembre 2013)

2.1.3.4. *Rhodnius prolixus*

Au sein du genre, les espèces sont principalement arboricoles à l'exception de *Rhodnius prolixus*, principalement domiciliée qui est le vecteur principal de la maladie de Chagas au Venezuela, en Colombie et dans certains pays d'Amérique Centrale. Cette espèce s'est domiciliée en passant des palmiers aux toits des huttes construits en feuilles de palmes. ⁽³⁰⁾

Il est très important de noter que cette espèce peut vivre aussi bien en milieu sauvage que domestique.

Il est donc le vecteur le plus important de *T. cruzi* pour une grande partie d'Amérique Latine.

Figure 2-6 - *Rhodnius prolixus* ⁽¹³⁾



2.1.3.5. *Triatoma dimidiata*

T. dimidiata est un vecteur domiciliaire important dans les pays de la côte pacifique, du Pérou jusqu'à la partie sud du Mexique et pénètre dans les montagnes de l'Amérique Centrale. Il préfère un climat sec mais pas trop chaud. Tout comme *R. prolixus* cette espèce peut vivre dans des environnements sylvatiques, péri-domestiques et domestiques.

Figure 2-7 - *Triatoma dimidiata*



Source : http://www.educhagas.com.ar/galeria_imagenes.html (consulté le 22 Novembre 2013)

2.1.3.6. Autres

Bien que le contact des espèces sylvatiques avec l'homme et ses animaux domestiques ne soit que potentiel, il faut envisager la possibilité d'une future occupation de niches péri-domestiques et domestiques par pratiquement n'importe laquelle de ces espèces. La colonisation de l'habitat humain par d'autres espèces doit donc être anticipée, particulièrement lorsque l'homme crée de nouvelles niches écologiques en colonisant des zones auparavant sauvages, ou lors de la libération de niches écologiques suite à une désinsectisation (pas nécessairement contre les triatomes, mais aussi contre les insectes d'autres maladies vectorielles transmissibles).⁽³³⁾

2.2. La lutte antivectorielle

La lutte antivectorielle correspond à la lutte contre la transmission vectorielle donc contre son insecte vecteur vu précédemment le triatome. Cette lutte s'effectue au quotidien et toutes les mesures doivent être mises en place pour un contrôle optimal de la maladie.

Nous allons donc voir les différents programmes intergouvernementaux créés au cours de ces dernières années, les indicateurs utilisés, l'amélioration des conditions de vie et des habitations des populations et pour finir la lutte par voie chimique au moyen d'insecticides.

La transmission vectorielle intra-domiciliaire est le principal mode de transmission de la maladie de Chagas. On conçoit donc que la stratégie de lutte qui reste privilégiée soit fondée sur le contrôle des insectes vecteurs qui permet l'interruption durable de la transmission de *T. cruzi*.

En général la stratégie repose dans les zones d'endémie par une lutte chimique antivectorielle, une amélioration de l'habitat et une éducation sanitaire des populations. La prévalence de l'infection a diminué dans les pays qui ont appliqué ces mesures de façon suivie.

2.2.1. Programmes intergouvernementaux

Plusieurs grands programmes multinationaux sont coordonnés par l'organisation panaméricaine de la santé (OPS) afin de lutter contre la maladie de Chagas.

On peut citer l'initiative du cône Sud (INCOSUR (Argentine, Bolivie, Chili, Paraguay et Uruguay) créé en 1991), l'initiative des Pays andins (Colombie, Équateur, Pérou et Venezuela en 1997), l'initiative des pays d'Amérique centrale (Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua et Panama) et l'initiative amazonienne (pays faisant partie du Bassin Amazonien).

Ces initiatives intergouvernementales ont largement contribué à éliminer les deux espèces principales de vecteurs domiciliés *Triatoma infestans* et *Rhodnius prolixus* dans certains pays et à diminuer la charge globale de la prévalence de 16-18 millions de personnes infectées dans les années 1990 à environ 9 millions aujourd'hui. ⁽³³⁾

La mortalité annuelle serait aujourd'hui inférieure à 50 000 cas. Plusieurs régions du Brésil et certains pays du Cône Sud (Chili, Uruguay) ont même été déclarés libres de transmission.

INCOSUR a travaillé sur la diminution de la transmission de *T. cruzi* en éliminant les vecteurs domestiques en particulier *Triatoma infestans*, sur le dépistage des donneurs de sang afin de diminuer le risque transfusionnel mais aussi sur la surveillance des mères infectées et le dépistage des nouveau-nés suivi par un traitement spécifique de ces mêmes nouveau-nés infectés. Les mêmes actions ont été adoptées par les pays d'Amérique Centrale, les pays Andins et plus récemment en 2004 par les pays du Bassin Amazonien.

Plus précisément une stratégie en 3 phases a été mise en place par de nombreux pays et gouvernements :⁽³³⁾

- ❖ La première phase consiste en une élimination de toutes les populations domestiques de triatomes existants. Elle fait appel à un ou deux traitements insecticides mis au point pour traiter toutes les maisons infectées par *Triatoma infestans* ou *Rhodnius prolixus* ou ciblant seulement d'autres maisons infectées par d'autres vecteurs.
Il a également été mis en place l'organisation de réseaux de surveillance basés sur les communautés. Chaque membre se doit de reporter la présence d'infestations domestiques résiduelles ou nouvelles à un poste local de bénévoles qui devra le déclarer aux autorités de santé locales qui procèderont alors à une confirmation entomologique et à l'obtention d'un accord écrit du propriétaire de l'habitation pour intervenir au moyen d'insecticides. Cette première phase a également pour but une amélioration et une standardisation des donneurs de sang avec suivi clinique et conseil pour les individus infectés par *T. cruzi*.
- ❖ La deuxième phase de ce plan d'action renforce la première avec un maintien et soutien des réseaux de surveillance basés sur les communautés avec des interventions sélectives menées par les autorités de santé locales. Elle tend au développement de ces réseaux basés sur les communautés en tant que système de surveillance général relié aux infrastructures de santé des localités (principalement les hôpitaux). Il y aura la mise en place d'un examen parasitologique du sang de tous les cas fébriles pour le dépistage des nouvelles infections à *T. cruzi* et leur traitement spécifique immédiat. Pour finir cette phase repose sur un encouragement des équipes universitaires sur le terrain pour mener à bien des projets de recherche visant à évaluer les progrès du système de contrôle de la maladie et à étudier la biologie des vecteurs non domiciliés dans les régions qui y sont exposées.
- ❖ La dernière phase repose sur le développement d'une base de données nationale sur la surveillance de la maladie utilisant les techniques de géolocalisation, avec une déclaration obligatoire de tous les nouveaux cas d'infection et de toutes les populations de triatomes domestiques, péri-domestiques et sylvatiques détectées. Enfin il y aura un encouragement du développement des forces de déploiement rapide constituées de professionnels hautement qualifiés capables d'intervenir en urgence pour éradiquer le vecteur dans n'importe quelle région du pays.

Ceci est un peu utopique et ne tient pas compte de plusieurs paramètres limitants dans la mesure où toutes ces phases ne sont pas encore respectées. En effet, seule la phase 1 est avancée dans la plupart des pays et seul un petit nombre de pays notamment le Brésil et quelques pays d'Amérique centrale respectent la phase 2. La phase 3 n'a encore été mise en place dans aucun pays.⁽³³⁾

On peut dire que 20 ans après la mise en place de programmes de lutte en Argentine, le taux de séropositivité à *T. cruzi* des jeunes de 18 ans a diminué de manière significative et le nombre de nouveaux cas aigus signalés a décliné. La transmission vectorielle a été interrompue dans l'Etat de Sao Paulo, au Brésil depuis le milieu des années 70. En dix ans (de 1976 à 1986), on a observé, pour la totalité du Brésil, une réduction de 74% du nombre de municipalités infestées par *T. infestans*.⁽³⁴⁾

2.2.2. Les indicateurs

2.2.2.1. Entomologiques

- ❖ Taux d'infestation (pourcentage avec vecteurs) pour :
 - Chaque unité domiciliaire (maison et environs),
 - Maison,
 - Environs (zone péri-domiciliaire),
 - Localité.
- ❖ Nombre de maisons et de localités soumises à une lutte antivectorielle chaque année. ⁽³⁵⁾

Ces données permettent d'évaluer la situation entomoépidémiologique sur le terrain et d'identifier les habitations devant être traitées.

Elles permettent aussi d'évaluer l'efficacité du traitement insecticide quelques mois plus tard.

2.2.2.2. Cliniques

- ❖ Incidence de la maladie de Chagas (formes aiguës),
- ❖ Prévalence sérologique par groupes d'âge,
- ❖ Prévalence sérologique parmi les donneurs de sang. ⁽³⁵⁾

2.2.2.3. Parasitologiques

- ❖ Taux d'infection à *Trypanosoma cruzi*,
- ❖ Nombre de cas identifiés à partir de donneurs de sang,
- ❖ Nombre de cas avec une sérologie positive selon l'âge, le sexe, le mois et les techniques de diagnostic. ⁽³⁵⁾

2.2.3. Améliorations des habitations et des conditions de vie

Les conditions de vie des populations touchées sont précaires avec un manque d'hygiène, des mouvements migratoires fréquents, un salaire bas ou inexistant accompagné d'un niveau d'éducation restreint, une non utilisation d'insecticides et des habitations propices à la pullulation des triatomes.

La maladie de Chagas est donc une des maladies les plus étroitement liées à la pauvreté. Dans les parties rurales de l'Amérique Latine, la plupart des habitations humaines sont mal construites ou couvertes de matière qui sert de gîte pour les triatomes (Figure 2-8, Figure 2-9). La nature des matériaux de construction ainsi que l'environnement de vie riche en animaux domestiques sont propices à la colonisation domiciliaire des triatomes. L'amélioration des conditions de vie des populations et des habitations est donc une mesure considérée comme des plus efficace et indispensable pour lutter contre la maladie de Chagas.

L'accent est donc mis sur le nettoyage des habitations, le remplissage des fissures avec de la boue fraîche pour condamner leur accès aux triatomes, le changement des matériaux de constructions, notamment les matières végétales (bois, paille, feuilles de palmiers), ainsi que l'aménagement de zones de vie distinctes pour les habitants et leurs animaux.

Le changement des matériaux et des méthodes de construction paraît simple mais se confronte aux traditions et à l'identité culturelle de certaines populations mais aussi à leurs conditions socio-économiques qui limite leur accès aux matériaux de construction qui empêcherait la colonisation de leurs habitations par les triatomes.

Figure 2-8 - Rancho: Habitation précaire et propice a la transmission de la THAM ⁽¹³⁾

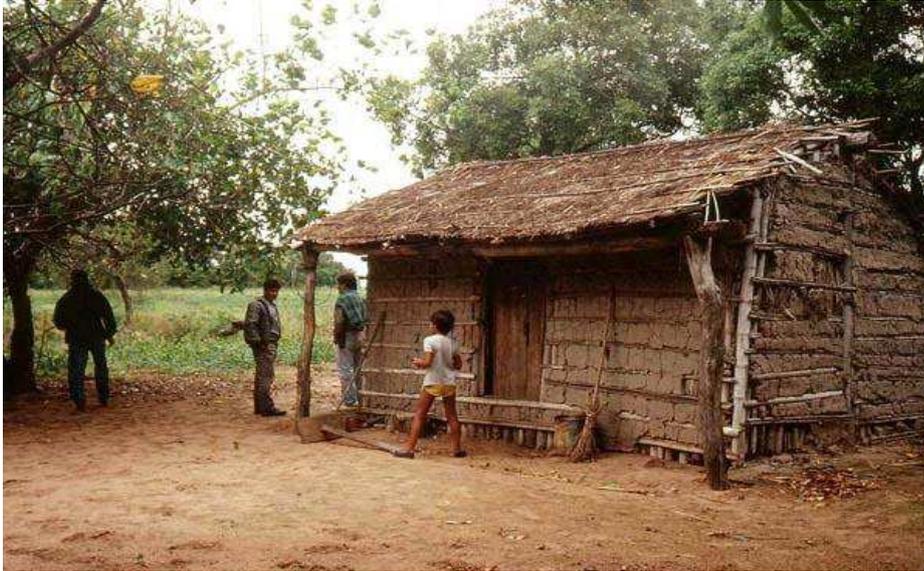


Figure 2-9 - Toit de paille favorable à la colonisation par les triatomes ⁽¹³⁾



2.2.4. L'élimination par voie chimique

2.2.4.1. Les insecticides et molécules utilisées

La lutte insecticide est un outil essentiel contre la maladie de Chagas. En effet à côté du domaine strictement médical, les insecticides constituent le principal recours des hygiénistes dans la lutte contre les insectes nuisibles.

En Amérique du sud, le traitement des murs est devenu le moyen le plus important de détruire les triatomes vecteurs de la maladie de Chagas.

Les insecticides utilisés pour éliminer les triatomés sont les mêmes que ceux employés contre d'autres insectes vecteurs dans des maladies humaines telles que le paludisme ou encore la maladie du sommeil (Trypanosomose Africaine) qui sévit en Afrique.

❖ Les organochlorés

Parmi les insecticides on peut citer les substances organo-chlorées avec le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), mis au point au cours de la deuxième guerre mondiale. Le DDT fut le premier insecticide à être doté d'une activité prolongée, c'est-à-dire avoir un effet rémanent.

On s'aperçut peu après, qu'une fois pulvérisé sur les murs et les plafonds d'une habitation, cet insecticide continuait à tuer les insectes pendant plusieurs mois. Comme il est bon marché, très efficace, qu'il a une bonne persistance et qu'il est relativement sans danger pour l'Homme, on continue à l'utiliser pour traiter les murs à l'intérieur des habitations. Toutefois, l'apparition d'une résistance et les restrictions imposées à son utilisation dans un certain nombre de pays ont conduit à lui substituer d'autres insecticides d'un prix de revient plus élevé.

En novembre 1993, un groupe d'étude de l'OMS a examiné la question de l'usage du DDT pour combattre les maladies à transmission vectorielle. Il a conclu que le DDT pouvait être utilisé pour la lutte antivectorielle à condition de prendre des précautions de manipulation.

❖ Les organophosphorés

Ses substances ont progressivement été remplacées au cours des années 1970 par les organophosphorés.

Ils ont pris de l'importance en tant que produits de remplacement lorsqu'il est apparu que certaines espèces de vecteurs étaient devenues résistantes au DDT. Les plus couramment utilisés sont le malathion et le fénitrothion. Ils sont plus chers que le DDT et leur rémanence est moindre. Chez l'homme, en cas d'absorption de particules par inhalation, ingestion ou contact cutané lors des pulvérisations, il y a réduction de l'activité d'une enzyme présente dans le tissu nerveux, la cholinestérase.

Les intoxications graves se manifestent par des signes tels que crampes et faiblesses musculaires suivies de crises de convulsions. Le malathion est le moins cher des organophosphorés et le moins dangereux de tous s'il est produit selon les normes de l'OMS. On l'utilise couramment en pulvérisations à effet rémanent pour la lutte contre le paludisme et la maladie de Chagas. Il est quelquefois mal accepté par les personnes dont on traite l'habitation en raison de son odeur désagréable, de plus il est inflammable.

Le fénitrothion est plus toxique pour l'Homme que le malathion. Comme dans le cas du malathion, une exposition répétée peut faire baisser le taux de cholinestérase dans les tissus nerveux. L'action toxique du fénitrothion sur les insectes s'exerce non seulement par contact, mais encore par la voie aérienne et peut durer jusqu'à deux mois après l'épandage. Le fénitrothion est souvent actif contre les insectes nuisibles qui sont devenus résistants au malathion.

❖ Les carbamates

On peut également citer les carbamates tels que le bendiocarbe et le carbofos qui bien que très efficaces, sont d'usage restreint du fait de leur toxicité élevée et de leur coût. Le propoxur quant à lui a une action toxique qui s'exerce par la voie aérienne et peut subsister jusqu'à deux mois à l'intérieur et à proximité des habitations où il a été pulvérisé. On l'utilise là où se manifeste une résistance aux organochlorés et aux organophosphorés.

❖ Les pyréthrinoides de synthèse

On utilise désormais massivement les pyréthrinoides de synthèse, dérivés des pyréthrines naturelles.

Dans ce groupe figurent les insecticides à effet rémanent les plus récents. La perméthrine, la deltaméthrine, la lambda-cyhalothrine, la cyperméthrine et la cyfluthrine ont fait l'objet d'essais d'épandage en pulvérisations murales. On les emploie dans les cas où les vecteurs sont résistants aux autres groupes d'insecticides. Les pyréthrinoides sont modérément dangereux et dans les conditions normales, ils ne présentent pas de risque pour les pulvérisateurs et les occupants des habitations traitées. ⁽³⁶⁾

Tableau 2-2 - Insecticides utilisés pour les traitements à effet rémanent ⁽³⁶⁾

Insecticide	Dose (g/m ²)	Durée d'efficacité (mois)	Action insecticide	Classe de sécurité de la matière active ^a
Organochlorés				
DDT	1-2	6 ou plus	contact	DM
lindane	0,2-0,5	3 ou plus	contact	DM
Organophosphorés				
malathion	1-2	1-3	contact	DF
fénitrothion	1-2	1-3 ou plus	contact, VA	DM
pirimiphos-méthyl	1-2	2-3 ou plus	contact, VA	DF
Carbamates				
bendiocarbe	0,2-0,4	2-3	contact, VA	DM
propoxur	1-2	2-3	contact, VA	DM
Pyréthrinoides				
alphacyperméthrine	0,03	2-3	contact	DM
cyfluthrine	0,025	3-5	contact	DM
cyperméthrine	0,5	4 ou plus	contact	DM
deltaméthrine	0,05	2-3 ou plus	contact	DM
lambda-cyhalothrine	0,025-0,05	2-3 ou plus	contact	DM
perméthrine	0,5	2-3	contact, VA	DM

^a DM = danger modéré; DF = danger faible; VA = voie aérienne.

Concernant les caractéristiques d'un bon insecticide à effet rémanent on peut citer les suivantes :

- ❖ Une forte toxicité pour les insectes visés. Les insecticides perdent leur efficacité si les insectes visés acquièrent une résistance. De temps à autre, il faut capturer des insectes et vérifier si des signes de résistance commencent à se manifester. Si c'est le cas, on devra utiliser un autre insecticide vis-à-vis duquel il n'y a pas de résistance croisée.

- ❖ Une longue durée sur une surface donnée. L'insecticide doit conserver une forte toxicité pendant une période suffisamment longue pour que l'on ne soit pas obligé de procéder à des retraitements trop fréquents, qui sont coûteux et longs.
- ❖ L'innocuité pour l'Homme et les animaux domestiques. Les produits ne doivent présenter aucun danger pour les opérateurs, les occupants et les animaux qui pourraient être accidentellement contaminés pendant ou après le traitement.
- ❖ L'acceptabilité pour les occupants. Certaines formulations conviennent moins bien que d'autres parce qu'elles dégagent une odeur ou laissent subsister des dépôts inesthétiques sur les murs.
- ❖ Une stabilité pendant le stockage et le transport ; bonne miscibilité à l'eau ; pas d'agressivité vis-à-vis du matériel d'épandage.
- ❖ Un bon rapport coût-efficacité. Dans le calcul du coût, il faut tenir compte du mode d'application de l'insecticide, de sa dose et du nombre de traitements annuels. ⁽³⁶⁾

2.2.4.2. Présentation et Méthode d'utilisation

On épand rarement les insecticides à l'état pur. En règle générale, ils sont présentés en formulations spéciales adaptées aux exigences des différentes méthodes d'application. Les insecticides à effet rémanent se présentent habituellement sous forme de poudres dispersibles dans l'eau, de concentrés émulsionnables ou de concentrés pour suspension.

Dans la plupart des pays, pour les pulvérisations à l'intérieur des habitations, ce sont les poudres dispersibles qui sont les plus efficaces. Cela tient au fait que cette formulation est celle qui convient le mieux aux surfaces poreuses telles que les murs de briques ou de torchis. Les particules d'insecticide sont relativement grosses et l'absorption relativement faible.

Les poudres dispersibles dans l'eau ont également l'avantage d'être plus légères et plus faciles à transporter que les concentrés émulsionnables. On peut les préemballer pour un usage plus commode sur le terrain et leur toxicité pour l'Homme est moindre.

Les concentrés pour suspension conviennent également aux surfaces rugueuses, mais des précautions sont à prendre lors de la formulation afin d'éviter l'agglutination des matières solides au fond du récipient. Par ailleurs, comme il s'agit d'un produit liquide, il nécessite l'emploi de récipients relativement coûteux et une manipulation prudente afin d'éviter tout déversement accidentel.

Cependant toutes les surfaces ne conviennent pas aux pulvérisations d'insecticides : les murs de terre ou de torchis non crépis sont très absorbants et pompent l'insecticide présent sur la surface.

Certains murs de terre contiennent des substances qui augmentent le pH, provoquant la décomposition rapide de certains insecticides. Les toits de chaume ou de fascines offrent de nombreuses caches où les insectes peuvent se reposer sans risquer d'être atteints par les insecticides. Les surfaces qui se prêtent le mieux aux pulvérisations sont celles qui ne sont pas absorbantes, comme les surfaces en bois dur ou les surfaces peintes. ⁽³⁶⁾

Des nouvelles formulations ont été développées, il s'agit de cartouches fumigènes en pot et des peintures incorporant des formulations permettant une libération prolongée d'insecticide.

Les formulations fumigènes ont été développées en Argentine et introduites sur le marché en 1994.⁽³⁷⁾

Elles sont composées d'une cartouche jetable contenant un mélange fumigène solide et un flacon en plastique. Le solide fumigène contient de la bêta-cyperméthrine incorporée à un mélange assurant la stabilité de l'insecticide pour éviter sa dégradation chimique ou thermique durant sa combustion fumigène. La chaleur produite lors de la combustion provoque la fusion du flacon plastique et la libération de dichlore et de la bêta-cyperméthrine sous forme de vapeur gazeuse.

Bien que les formulations fumigènes aient été initialement conçues pour être utilisées pendant la phase de surveillance de la maladie, leur succès en situation critique a pu être démontré.

D'autre part, l'utilisation de cartouches fumigènes permet de réduire les coûts du programme de lutte contre le vecteur et crée des opportunités pour une plus large participation de la communauté à risque dans la lutte contre la maladie de Chagas.

Selon une analyse de Tomoko Fujisaki et Michael Reich, l'usage des fumigènes a contribué à la diminution de la prévalence de la maladie en Argentine depuis 1991.

En ce qui concerne les peintures insecticides, beaucoup de formulations à usage prolongé, pour la plupart formées de polymères organiques ont été développées et testées au Brésil.

Des essais sur le terrain avec une peinture sous forme d'émulsion de malathion et d'acétate de polyvinyle ont montré une efficacité prolongée de cette méthode. La stabilité et l'adhérence des substrats de la peinture sont un avantage par rapport aux autres formulations conventionnelles car elles préservent une activité insecticide plus longtemps notamment au niveau péri-domestique.⁽³⁷⁾

2.2.4.3. Les problèmes de résistance aux insecticides

La résistance résulte à la fois de l'usage de l'insecticide et de la pression sélective très forte exercée sur la population d'insectes.⁽³⁶⁾

Lorsqu'une résistance apparaît, le choix d'un produit de remplacement dépend du mécanisme selon lequel cette résistance se développe, de ce que l'on sait de la sensibilité des insectes, du rapport coût-efficacité du produit et de la possibilité de se le procurer. L'idéal serait d'opter pour une stratégie qui permette d'utiliser chacun des produits disponibles le plus longtemps possible.

Le DDT a été l'insecticide le plus couramment utilisé et on peut encore s'en servir lorsque les vecteurs ne lui sont pas résistants.

En cas de résistance au DDT, les premiers insecticides auxquels on pense sont en général les organophosphorés, notamment le malathion. Si les insectes que l'on veut combattre sont devenus résistants au malathion, on pourra passer au fénitrothion, qui est plus cher et plus dangereux ou bien au pirimiphos-méthyl, également plus coûteux.

Les carbamates constituent également une alternative coûteuse. Si les insectes sont résistants à tous les types d'insecticides, on se tourne en principe vers les pyréthrinoïdes. Ces insecticides sont en principe moins dangereux si on les utilise aux doses recommandées. Pour obtenir des renseignements sur l'efficacité des différents insecticides dans les conditions locales, on peut s'adresser aux services sanitaires ou à des centres de recherches locaux qui comptent des spécialistes de la lutte antivectorielle parmi leur personnel.⁽³⁶⁾

On a ainsi signalé des cas de résistance naturelle des vecteurs du genre *Rhodnius* aux carbamates, mais la résistance à d'autres insecticides (comme les pyréthroides) n'a jusqu'ici constitué qu'un phénomène de laboratoire sans beaucoup d'impact sur les programmes opérationnels. Il faudra veiller à une sélection correcte des produits insecticides pour les pulvérisations. Actuellement un réseau inter-pays de laboratoire (RELCOT) suit la résistance parmi les vecteurs. ⁽³⁵⁾



Partie III

Les traitements actuels, les avancées thérapeutiques et perspectives futures : quel avenir pour la maladie de Chagas



3. THERAPEUTIQUE DE LA MALADIE DE CHAGAS

3.1. Les traitements actuels et leurs limites

3.1.1. Le traitement préventif

Il n'existe pas de traitement préventif contre la maladie de Chagas. Bien que de nombreux essais soient réalisés, aucun vaccin n'a pu être développé à ce jour. La lutte antivectorielle reste la méthode la plus efficace pour prévenir la maladie.

La difficulté de la mise au point d'un vaccin est due à la variabilité antigénique des trypanosomes. En effet chaque parasite est constitué d'une mosaïque d'antigènes. Certains antigènes sont exprimés à tous les stades évolutifs de la maladie, d'autres, au contraire sont spécifiques d'un stade donné.

Les trypanosomes sont capables d'exprimer des variantes antigéniques résultant de réarrangement génomique.

L'induction d'une réponse mémoire protectrice nécessiterait un antigène candidat non polymorphe, immunogène et protecteur, ce qui est difficile à isoler chez *T. cruzi* dans ce contexte de variabilité antigénique importante.

Pourtant la vaccination serait une arme de choix car elle compléterait les moyens de luttés actuels et de plus l'administration d'un vaccin est moins contraignante que la mise à disposition immédiate de médicaments efficaces dans les régions les plus reculées.

La mise en œuvre d'une stratégie vaccinale contre la maladie de Chagas bénéficierait de différents facteurs tels qu'une délivrance efficace de vaccins à une proportion importante d'enfants vivants dans les zones d'endémie et la communauté internationale pourrait prendre en charge le coût des vaccins dans les pays les plus pauvres.

Ces avantages potentiels rendent les vaccins particulièrement attractifs. Ils pourraient devenir le principal moyen de protection contre la maladie chez les habitants de nombreuses régions d'endémie mais aussi des voyageurs.

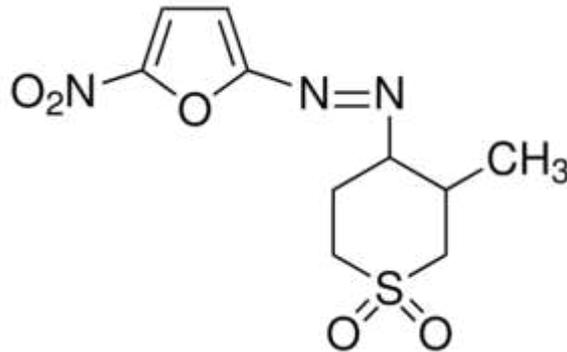
Nous verrons plus tard dans cette thèse que l'espoir de mise au point d'un vaccin n'est pas impossible dans un futur proche.

3.1.2. Le traitement antiparasitaire

Depuis les années 1960, le traitement spécifique emploie deux médicaments trypanocides : le Nifurtimox (Lampit[®], Bayer) et le Benznidazole (Rochagan[®] ou Radanil[®], Roche). Nous allons voir en détail ces deux traitements, leurs limites et leurs nombreux effets secondaires.

3.1.2.1. Le Nifurtimox (Lampit®) ⁽³⁸⁾

Figure 3-1 - Molécule de nifurtimox



Mode d'action et pharmacocinétique

Mis sur le marché en 1967 par le laboratoire Bayer, le nifurtimox est une 5-nitrofuran [3-méthyl-4-(5'-nitrofurfuridène-amine) tétrahydro-4H-1,4-thiazine 1,1-dioxyde] (Figure 3-1).

Le métabolisme du nifurtimox conduit à la formation d'un métabolite radical nitro-anion réagissant avec les acides nucléiques du parasite et à la production d'anions superoxydes et de peroxyde d'hydrogène, toxiques pour le parasite d'autant plus que la molécule inhibe la trypanothione réductase, enzyme antioxydante de défense spécifique du parasite. Le nifurtimox est bien absorbé dans le tractus gastro-intestinal, après administration orale et le pic sérique est atteint en 2 heures.

La molécule est rapidement et très fortement métabolisée par le foie qui réalise une nitroréduction impliquant les enzymes du cytochrome P450 et la P450 réductase. Cette forte métabolisation explique sans doute les taux faibles de nifurtimox dans le sérum chez les volontaires sains après administration d'une dose de 15 mg/kg. Il n'existe pas de variabilité interindividuelle suggérant un contrôle génétique du métabolisme.

L'élimination est rénale, toutefois, seule 5% est excrétée sous forme native. La demi vie d'élimination est d'environ 3 heures et est augmentée chez l'insuffisant rénal.

Figure 3-2 - Lampit® conditionnement ⁽³⁸⁾



Schéma posologique

Les schémas posologiques recommandés par l’OMS sont les suivants :

- ❖ Traitement de la phase aiguë : chez les sujets de moins de 40 kg, il sera utilisé 10-12 mg/kg/jour. Pour les sujets de 40 kg et plus, la posologie sera de 8 mg/kg/jour, en 2 à 3 prises quotidiennes pendant 30 ou 60 jours.
- ❖ Traitement de la phase chronique : 8-10 mg/kg/jour en 3 prises quotidiennes pendant 60 à 90 jours.
- ❖ Traitement de la maladie de Chagas congénitale : 10-15 mg/kg/j (demi-dose chez les nouveau-nés de faible poids de naissance ou prématuré) en 2 prises quotidiennes pendant 60 jours.

Toutefois, dans la monographie de la spécialité, Bayer préconise des posologies différentes selon l’âge du patient, à prendre en 3 à 4 prises :

- ❖ chez l’enfant de moins de 10 ans : 15 à 20 mg/kg/jour,
- ❖ chez l’enfant de 11 à 16 ans : 12,5 à 15 mg/kg/jour,
- ❖ chez l’adulte (> 17 ans) : 8 à 10 mg/kg/jour.

En phase aiguë, la durée de traitement est de 90 jours et de 120 jours en phase chronique.

La séronégativité et la disparition des manifestations cliniques sont retrouvées chez deux tiers des patients traités en phase aiguë. L’efficacité du traitement est conditionnée par sa précocité. Les résultats très variables dans le traitement de la phase chronique, le faible nombre d’essais cliniques randomisés et contrôlés, ainsi que la difficulté d’évaluation de l’efficacité font qu’il n’existe pas de réels consensus sur la prise en charge du patient en phase chronique.

Concernant les critères de guérison, il est préférable d’utiliser la négativité du xénodiagnostic (des réduves saines nourries par le sang du patient suivie d’une recherche des trypanosomes 20 jours plus tard) ou la négativité de la PCR. En effet, la séroconversion sérologique pouvant prendre plusieurs années, il n’est pas recommandé d’utiliser la négativité de la sérologie comme critère d’efficacité.

De plus les sérologies sont fréquemment négatives chez les patients immunodéprimés. En France, le Nifurtimox est disponible sous Autorisation Temporaire d’Utilisation (ATU) nominative sous le nom de Lampit® qui se présente sous la forme de comprimés dosés à 120 mg, conditionnés en flacons de 100 comprimés.

Après accord de l’Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des Produits de Santé (ANSM), le produit peut être obtenu par l’intermédiaire des CDC (Centers for Disease control) ou de l’OMS.

Effets indésirables et précautions d’emploi

Les effets indésirables les plus fréquemment observés sont gastro-intestinaux (nausées, vomissements, douleurs abdominales) et neuromusculaires (excitabilité, trémulation des muscles, somnolence, hallucinations).

Quelques cas de convulsions ont été décrits. La fréquence des effets gastro-intestinaux diminue si la prise se fait pendant ou après les repas. Le fractionnement des doses en 3 à 4 prises par jour diminue l'apparition des effets indésirables. La durée prolongée des traitements, associée à ces effets indésirables, est responsable d'un problème majeur d'observance surtout chez l'enfant âgé et adulte et de l'arrêt du traitement par le prescripteur.

L'apparition d'une neuropathie périphérique, doit faire penser à arrêter le traitement.

Des essais à long terme sur des rats à des posologies très élevées n'ont montré aucun effet carcinogène. Toutefois, une étude cytogénétique réalisée sur des lymphocytes d'enfants traités par nifurtimox a mis en évidence une incidence de lymphomes 13 fois supérieure chez les enfants traités.

Des leucopénies résolutive à l'arrêt du traitement peuvent survenir après traitement à forte dose. En revanche, à des posologies de l'ordre de 20 mg/kg, aucune réaction indésirable sur des rats et des souris n'a été mise en évidence. L'absence d'utilisation à grande échelle sur l'homme et les performances limitées du système de pharmacovigilance dans les pays où le produit est majoritairement utilisé rendent compte du manque de données concernant les effets indésirables graves chez l'homme. Une surveillance régulière du poids et de la fonction neurologique est préconisée et un bilan biologique comprenant numération formule sanguine, bilan hépatique et créatininémie doit être réalisé tous les mois. En raison de sa toxicité, ce médicament ne doit pas être utilisé chez la femme enceinte, l'insuffisant rénal et l'insuffisant hépatique mais également en cas de troubles cardiaques, respiratoires, d'hémopathies ou de néoplasie et chez les patients déficients intellectuellement.

En raison de ses effets potentiellement mutagènes, une contraception orale sera préconisée.

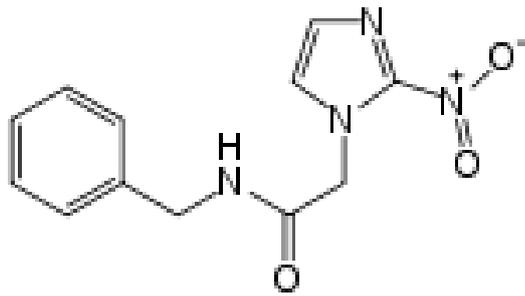
3.1.2.2. Le benznidazole (Rochagan® ou Radanil®) ⁽³⁹⁾

Le benznidazole a été mis sur le marché en 1972 par le laboratoire Roche sous le nom commercial Rochagan® pour le Brésil ou Radanil® pour l'Argentine, puis cédé en mars 2003 au gouvernement Brésilien et est désormais, produit par le laboratoire LAFEPE pour le monde entier.

Le benznidazole n'est commercialisé qu'en Amérique Latine, principalement au Brésil et au Chili. En France, ce médicament est soumis à une ATU nominative.

Les entreprises de service telles qu'IDIS permettent de l'importer rapidement. La boîte de 100 comprimés de 100 mg coûte 414 euros. Le coût journalier du traitement en France pour un adulte de 70 Kg est de 14,49 euros. Le benznidazole doit être conservé dans un récipient hermétique à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Figure 3-3 - Molécule de benznidazole



Mode d'action et pharmacocinétique

Le benznidazole est un antiparasitaire dérivé du 2-nitroimidazole, actif en phase aiguë et en phase chronique de la maladie de Chagas. Son mode d'action repose sur la formation de liaisons covalentes avec l'ADN, les lipides et les protéines du parasite. L'absorption par voie digestive est rapide et pratiquement totale. Les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes en 2 à 4 heures pour un volume de distribution de l'ordre de 0,6 L/kg. La liaison aux protéines est proche de 44%. La demi-vie plasmatique est de 12 heures environ. Le benznidazole est métabolisé et les métabolites sont éliminés pour les deux tiers par voie rénale.

Figure 3-4 - Conditionnement du benznidazole



Source : <http://papabolivia.blogspot.co.uk/p/health-and-medicine.html> (consulté le 26 Novembre 2013)

Schéma posologique

La posologie standard est de 5 mg/kg/j en 2 prises en cours d'un repas pour limiter les effets indésirables.

Cependant, des essais réalisés en Amérique du Sud font apparaître différents cas de figures qui sont fonction de la réponse immunitaire du patient et sont les suivants :

Chez le patient immunocompétent :

❖ Traitement de la phase aiguë

Lors de la phase aiguë, les recommandations de l'OMS sont de traiter systématiquement par benznidazole à la posologie de 7,5 mg/kg/jour en 2 prises pendant 60 jours chez l'adulte de moins de 40 kg et à la posologie de 5 mg/kg/jour chez l'adulte de plus de 40 kg.

En pédiatrie, la posologie est de 5 à 10 mg/kg/j en 2 prises pendant 30 jours chez l'enfant de moins de 40 kg et de 10 mg/kg/j en 2 prises chez le nourrisson.

L'issue du traitement dépend de sa précocité, mais les études montrent 55 à 60% d'efficacité clinique et parasitologique.

Dans le cas d'une maladie de Chagas congénitale, la posologie recommandée par l'OMS est de 10 mg/kg/jour pendant 60 jours, en demi-dose pour les nouveau-nés de faible poids ou prématurés. L'efficacité du traitement est conditionnée par sa précocité. Il est recommandé d'associer du phénobarbital pour prévenir les manifestations neurologiques pendant les 15 premiers jours. Les réactions indésirables dermatologiques, seront traitées par des antihistaminiques.

Lors de transmission parentérale par accident d'exposition aux liquides biologiques, la posologie est de 7 à 10mg/kg/jour pendant au moins 15 jours si la sérologie du patient source est positive.

❖ Traitement de la phase chronique

Lors de la phase asymptomatique, le traitement doit être prolongé pendant 2 à 3 mois à une posologie de 5 mg/kg/jour en 3 prises comme le recommande l'OMS.

Une étude brésilienne a montré 5% de guérison à 3 ans (négativation de la sérologie et de la PCR) et une diminution du titre sérologique chez 90% des patients.

Lors de l'apparition de complications, et en présence de troubles cardiaques sérieux et avancés, la balance bénéfice-risque est en défaveur du traitement. Le traitement est alors avant tout symptomatique. En revanche, le traitement par antiparasitaire au début des atteintes cardiaques montre de bons résultats tant chez les enfants que chez les adultes avec diminution de la charge parasitaire et amélioration clinique.

Chez le patient immunodéprimé :

Il est recommandé d'utiliser les antiparasitaires habituels aux mêmes doses que chez l'immunocompétent jusqu'à normalisation de la réponse immunitaire (parfois plus de 60 jours) puis de diviser par deux la posologie pour diminuer les effets indésirables.

Une étude de cas de 2006 montre une survie à 3 ans sans rechute après traitement par le benznidazole et les antirétroviraux sur un patient séropositif au VIH présentant une méningo-encéphalite chagastique alors que la survie médiane basse est de 10 jours. Dans le cas de patients transplantés, le traitement peut se poursuivre pendant 2 ans.

Evaluation de l'efficacité du traitement

Il n'est pas recommandé d'utiliser la négativation de la sérologie comme critère d'efficacité car elle peut prendre plusieurs années. De plus, les sérologies sont souvent retrouvées négatives chez les patients immunodéprimés.

Il est donc préférable d'utiliser la négativation du xéno-diagnostic (des réduves saines sont nourries du sang du patient et les trypanosomes sont recherchés 20 jours plus tard dans leurs déjections) ou la négativation de la PCR.

Chez les patients présentant une cardiopathie, la disparition des anomalies retrouvées lors de l'électrocardiogramme est un critère d'efficacité.

Effets indésirables

Les effets indésirables sont nombreux et peuvent entraîner l'arrêt du traitement. Le benznidazole est en général mieux toléré par les enfants que par les adultes. Ces effets indésirables ne doivent pas être sous-estimés car ils peuvent être sévères et à l'origine de décès.

❖ Gastro-intestinaux

Il s'agit principalement de nausées. Elles apparaissent en début de traitement mais disparaissent en quelques jours sans diminution de dose. L'administration est conseillée en cours de repas pour diminuer ces effets indésirables.

❖ Dermatologiques

Il peut s'agir d'éruptions cutanées bénignes survenant après 7 à 10 jours de traitement et ne nécessitant pas l'arrêt du traitement. La survenue de réactions d'épidermolyse a été décrite. Des réactions avec œdème généralisé, fièvre, adénopathies, myalgies et arthralgies, nécessitant l'arrêt temporaire du traitement ont été décrites. Dans la majorité des cas, ces effets ne réapparaissent pas lors de la réinstauration graduelle du traitement.

❖ Neurologiques

Il s'agit de polyneuropathies, de paresthésies et de polynévrites périphériques apparaissant lors de traitements longs ou en cas de surdosage. Dans ce cas, l'arrêt du traitement est indispensable.

❖ Hématologiques

Des thrombopénies et des agranulocytoses toxiques ont été observées. Elles sont rares et régressent à l'arrêt du traitement. La réintroduction du traitement n'est pas recommandée.

❖ Psychiques

Bien que rares, on peut observer des désorientations, des insomnies, des difficultés à se concentrer, des amnésies transitoires et des vertiges.

Contre indications

Les effets mutagènes et tératogènes retrouvés chez l'animal n'ont pas été mis en évidence chez l'homme mais le benznidazole est néanmoins contre-indiqué chez la femme enceinte au premier trimestre. L'absorption d'alcool est largement déconseillée en raison d'une interférence du benznidazole dans le cycle d'oxydation de l'éthanol conduisant à un effet disulfirame-like avec des crampes abdominales, nausées, vomissements, migraines et effet antabuse.

Le benznidazole est généralement mieux toléré que le nifurtimox et sera le traitement de première intention mais ceci dépend toutefois des individus.

Figure 3-5 - Une jeune patiente avec son traitement en Bolivie 2006 ⁽⁴⁰⁾



3.1.2.3. Les limites du traitement antiparasitaire

Utilisation en phase chronique controversée

L'emploi de ces deux molécules a longtemps été écarté pour traiter la phase chronique de la maladie au vu des taux de guérison faibles, des sérologies restant positives et des effets secondaires importants.

Pourtant on commence à reconsidérer l'intérêt de l'utilisation des molécules trypanocides lors de l'infection chronique. Il y a désormais une possibilité pour les malades d'être traités par les médicaments trypanocides.

Des essais cliniques randomisés ont été réalisés dans le but de démontrer l'efficacité du nifurtimox et du benznidazole sur les formes chroniques de la maladie.

Trois études cliniques randomisées ont utilisé le benznidazole et le nifurtimox comme agents trypanocides. Après une période de suivi allant de un à quatre ans, ces études ont montré une parasitémie plus faible chez les patients traités que chez les patients non traités. Une séroconversion négative s'est produite chez 61 des 102 patients traités contre seulement 6 des 98 patients non traités. 42 des patients traités (95%) ont également eu un xénodiagnostic négatif contre 21 sur 43 patients non traités. Enfin au niveau des modifications de l'ECG, le seul critère clinique évalué, celui-ci a été observé chez moins de patients traités (2/99) que chez des patients non traités (5/99).

Ces résultats sont encourageants car ils montrent le bénéfice du traitement étiologique au stade chronique de la maladie au moins en terme de réduction de la charge parasitaire. ⁽⁴¹⁾

Globalement, la décision de prescrire un traitement au benznidazole ou au nifurtimox à un stade chronique de la maladie revient à chaque médecin. Cette décision est particulièrement importante lorsque le patient présente déjà des symptômes ou des signes de cardiomyopathie.

La seule manière d'évaluer l'efficacité du traitement étiologique est d'observer les effets des médicaments au stade chronique de la maladie sur des critères cliniques.

Par conséquent une autre étude multicentrique, en double aveugle et randomisée a été réalisée évaluant l'efficacité du benznidazole versus placebo chez des patients atteints d'une cardiomyopathie chagasique.

Cette étude porte le nom de « Benznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis » (BENEFIT). C'est un essai clinique de phase III qui pourrait étendre l'AMM du benznidazole à la prévention des atteintes cardiaques de la maladie.

L'objectif principal de l'étude était de déterminer l'efficacité du benznidazole en réduisant la charge parasitaire chez des patients atteints de cardiomyopathie chagasique chronique mais aussi d'évaluer l'innocuité et la tolérance du médicament. Aucun résultat n'est encore paru à ce jour. ⁽⁴¹⁾

En revanche le traitement antiparasitaire n'a montré aucune efficacité à ce jour sur les atteintes digestives et les recommandations thérapeutiques incluent des mesures diététiques et la chirurgie.

Les résistances et effets indésirables

Malgré cette perspective d'utilisation au stade chronique de la maladie, il y a des problèmes de résistances à ces deux traitements.

En effet le nombre de cas de résistance au nifurtimox est en augmentation. Toutefois, dans les cas de résistance, il est possible de traiter le patient avec le second médicament utilisé contre la maladie de Chagas, le benznidazole. ⁽³⁸⁾

Le benznidazole quant à lui présente également des effets indésirables importants, une activité limitée à certains stades de la maladie, et un problème de résistance qui nécessitent la mise en place de nouvelles stratégies thérapeutiques et le développement de nouveaux médicaments que nous verrons plus en détail dans la suite de cette thèse.

Malheureusement le développement et la recherche de nouvelles molécules trypanocides demeurent très chers et la maladie de Chagas ne suscite pas beaucoup d'intérêt de la part des firmes pharmaceutiques. En effet les laboratoires qui produiraient ces médicaments ne feraient pas assez de bénéfices du fait de la pauvreté des pays d'endémie.

L'urgence d'un traitement efficace

Le besoin d'un traitement de la maladie de Chagas qui soit réellement efficace tant dans la première phase de la maladie, où *T. cruzi* est présent essentiellement dans le sang, que dans la seconde phase de la maladie où le parasite se trouve essentiellement dans les organes : cœur, système digestif se fait donc sentir plus que jamais.

3.1.3. Le traitement symptomatique

La prise en charge du confort des malades pendant la phase chronique de la maladie est indispensable pour améliorer le bien être et l'espérance de vie des malades.

Les formes cardiaques

Les différents médicaments utilisés dans le traitement des cardiomyopathies chagasiques chroniques varient en fonction du type des atteintes et sont représentés par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II, les β -bloquants, les diurétiques et la digoxine.

L'amiodarone est utilisée en première intention dans les troubles du rythme car elle possède également une activité trypanocide en perturbant les flux calciques membranaires des cellules parasitaires. ⁽⁴²⁾

Il conviendra alors de prévenir les populations pour la plupart très exposées, de se protéger du soleil du fait des effets indésirables liés à l'amiodarone.

On pourra également utiliser un stimulateur cardiaque ou d'autres dispositifs pour réguler le rythme cardiaque. Pour les cas les plus graves on pourra aller jusqu'à utiliser la chirurgie, voire la transplantation cardiaque.

Figure 3-6 - Un jeune malade ⁽⁴⁰⁾



Les formes digestives

Le traitement du mégaoesophage va consister à favoriser le transit de la nourriture au niveau du sphincter inférieur de l'œsophage.

L'injection de toxine botulique par endoscopie dans le sphincter peut être recommandée, son injection intra-sphinctérienne agirait par blocage de l'acétylcholine. Bien que les résultats obtenus avec l'injection de toxine botulique ne soient pas permanents, elle constitue un bon moyen pour obtenir un bon état respiratoire et nutritionnel en vue d'une préparation à la chirurgie.

La nifédipine et les dérivés nitrés permettent de relaxer les fibres musculaires du sphincter et peuvent temporairement, permettre le passage des aliments, en attendant une intervention chirurgicale allant jusqu'à la résection.

Au niveau du traitement chirurgical on réalise une myotomie de Heller par laparoscopie, consistant à sectionner les fibres musculaires longitudinales puis circulaires de la partie basse de l'œsophage et haute de l'estomac. C'est la meilleure technique pour prendre en charge un mégaoesophage. ⁽¹⁶⁾

Cette méthode est de plus en plus pratiquée du fait du bénéfice esthétique ainsi que du raccourcissement et de l'amélioration des suites opératoires.

Les dysfonctions précoces du côlon quant à elle peuvent être palliées par un régime riche en fibre ainsi que par des laxatifs ou des lavements. L'apparition de fécalome au fur et à mesure que le syndrome de mégacôlon progresse nécessite une vidange manuelle sous anesthésie générale. Les patients à un stade de mégacôlon avancé devront subir une résection chirurgicale de l'organe. ⁽¹⁶⁾

L'usage de laxatif est interdit à ce stade en raison d'ulcération de la muqueuse des viscères pouvant aller jusqu'à la péritonite voire dans des circonstances dramatiques, une septicémie mortelle. ⁽¹⁷⁾

3.2. Recherche, développement et perspectives de nouveaux traitements ou vaccins

3.2.1. Relance de la production et de la recherche

Plusieurs partenariats public-privés ont vu le jour ces dernières années pour lutter contre le manque d’approvisionnement des deux médicaments essentiels dans le traitement de la maladie.

Ils ont pour but également de pallier au manque de motivation et de moyens financiers dans la recherche de nouveaux traitements contre la maladie de Chagas.

Production ⁽⁴⁰⁾

Une pénurie de benznidazole en 2011 a eu pour conséquence de retarder la mise en place par Médecins Sans Frontières (MSF) d’activités de dépistage dans des communautés à risque de régions rurales de Bolivie et du Paraguay.

MSF n'a pas été la seule organisation affectée par ce problème : une pénurie de benznidazole a également été constatée dans la plupart des pays endémiques.

L’approvisionnement en benznidazole a été perturbé par plusieurs facteurs : arrêt de la production, retards divers et mauvaise gestion des mécanismes de distribution.

À certains égards, cette situation illustre tout à fait la problématique des maladies tropicales négligées.

Depuis 2006, alors que de plus de plus de gens se sont mis à comprendre et à reconnaître la maladie de Chagas, la demande de benznidazole a augmenté, non seulement dans les pays endémiques, mais aussi en Europe et en Amérique du Nord, où le nombre de patients diagnostiqués avec la maladie de Chagas est en augmentation.

En 2003, Roche Pharmaceuticals, qui était jusque-là le principal fabricant de benznidazole, a transféré la technologie nécessaire à sa production à LAFEPE, un laboratoire public au Brésil mandaté par le Ministère de la Santé de ce pays.

LAFEPE est ainsi devenu le seul fabricant au monde de ce médicament.

Bien qu’elle ait la capacité industrielle pour produire le benznidazole, l’entreprise n'a pas respecté les délais ou n'a pas géré correctement les commandes du médicament qui lui étaient adressées.

LAFEPE a également été peu performante en termes de distribution du produit final vers différents pays et l’entreprise n'a pas reçu le soutien nécessaire du Ministère brésilien de la Santé.

Il y a eu des retards dans l'acquisition d'une nouvelle source de principe actif et un manque de coordination entre le fournisseur des substances actives (Nortec), LAFEPE et le Ministère brésilien de la Santé. Il s'en est suivi une pénurie mondiale. ⁽⁴⁰⁾

Figure 3-7 - Problème de production locale au Chaco Paraguay 2012 ⁽⁴⁰⁾



Les mécanismes mis en place pour coordonner les commandes et la distribution des stocks de benznidazole par l'intermédiaire des organisations internationales, l'OPS pour les Amériques (Fonds Stratégique) et l'OMS pour l'Europe et l'Asie-Pacifique n'avaient pas réussi à éviter la rupture d'approvisionnement en benznidazole.

En novembre 2011, le Ministère brésilien de la Santé s'était engagé à prendre des mesures pour remédier à la pénurie d'ici la fin de l'année.

À la mi-janvier 2012, le Ministère de la Santé a confirmé que 1,7 millions de comprimés avaient été produits et approuvés par l'organisme de réglementation, et qu'environ 1 million d'autres comprimés produits seraient gardés en stock. Il est difficile de confirmer que cette production pourra réellement répondre à la demande actuelle, puisque l'OPS n'a pas élaboré de plan de distribution des stocks existants vers les pays et les patients qui en ont le plus besoin. ⁽⁴⁰⁾

En mars 2012, en Argentine, un partenariat public-privé a permis de relancer la production de benznidazole.

Cette initiative public-privé a réuni un consortium de laboratoires pharmaceutiques, la Fundación Mundo Sano et le ministère de la Santé.

ELEA une compagnie pharmaceutique privée basée en Argentine, a annoncé qu'elle avait produit et fait enregistrer un générique du benznidazole. Le premier lot produit a été mis à disposition de programmes de traitement en Argentine. La production future pourrait répondre aux besoins d'autres pays endémiques à la maladie de Chagas.

De ce fait depuis 2012, l'Argentine produit du benznidazole et a également mis au point des formes pédiatriques sous forme de sirop.

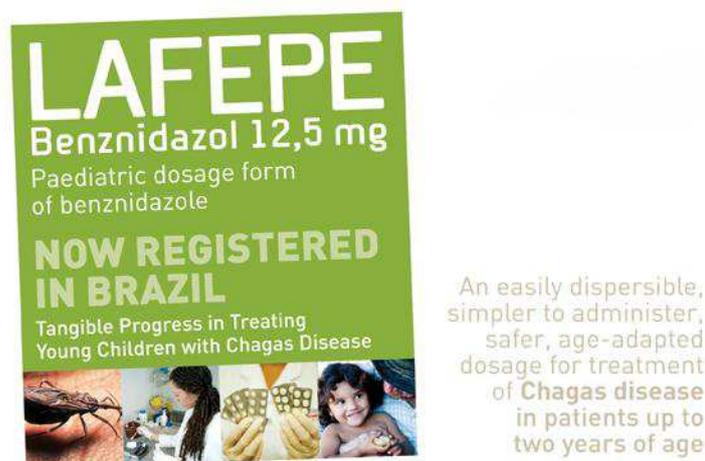
L'Argentine a donc pris des mesures en vue de répondre à la demande nationale et de chercher de nouvelles pistes de traitement.

En 2008, cette initiative de mise au point d'une forme pédiatrique avait déjà été prise à l'aide d'un partenariat entre les laboratoires LAFEPE et le DNDi. L'inscription de la nouvelle forme galénique pédiatrique mise au point a été publiée par l'ANVISA le 12 Décembre 2011.

Cette forme galénique représente un réel progrès pour les enfants car ils sont particulièrement touchés par la maladie.

Les taux de réussite du traitement de la maladie de Chagas sont plus élevés et les effets secondaires moindres chez les nourrissons et les enfants. Jusque là les cliniciens devaient couper et écraser eux-mêmes des comprimés adultes de benznidazole pour traiter les nourrissons. ⁽⁴⁰⁾

Figure 3-8 - Forme pédiatrique du benznidazole – LAFEPE ⁽⁴⁰⁾



Recherche

L'autre partenariat public-privé a débuté en Décembre 2011 et favorise pour sa part la recherche et le développement de nouveaux traitements.

Il associe l'institut de biologie de Rosario et le laboratoire Sanofi.

Deux accords ont été signés le 15 Décembre 2011 par le conseil national des recherches scientifiques et techniques (CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)) et le laboratoire Sanofi, au siège du Ministère à la Science, la Technologie et l'Innovation Productive, qui visent l'amélioration des mécanismes de diagnostic et du traitement de la maladie de Chagas.

Le laboratoire Sanofi s'est engagé à céder gratuitement trois cents molécules de son catalogue à l'institut qui les testera *in vitro* et *in vivo* contre le parasite *T.cruzi*. Sanofi a également fourni à l'institut du matériel de recherche pour accélérer les travaux. La sélection des molécules n'a pas été un travail facile, ils ont analysé leurs structures chimiques et leurs capacités à agir sur une protéine du parasite essentielle à sa survie. ⁽⁴³⁾

A partir de ces accords, les équipes de recherche du Dr. Antonio Uttaro de l'Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire de Rosario et du Dr. Alejandro Shijman, de l'Institut de Recherches en Ingénierie et Biologie Moléculaire (INGEBI) de Buenos Aires, vont développer des recherches scientifiques pour le diagnostic et le traitement de la maladie de Chagas à partir des ressources mises à disposition par le laboratoire Sanofi.

Ce chiffre pouvait être revu à la hausse si aucune des molécules sélectionnées ne donnait de résultat satisfaisant. Sanofi a également fourni à l'institut du matériel de recherche pour accélérer les travaux.

Ainsi en mars 2013, des chercheurs du CONICET et de l'Université de Rosario et du Littoral ont reçu le prix Sanofi-CONICET pour avoir développé un prototype de vaccin oral contre la maladie de Chagas lors d'une réception donnée à cet honneur à l'Ambassade de France à Buenos Aires.

Ce projet a été choisi pour ses qualités novatrices en tant que prototype et dont le prix permettra de réaliser une analyse expérimentale du vaccin prototype élaboré jusqu'à présent.

Figure 3-9 - Remise du prix Sanofi Conicet à Buenos Aires



Source : <http://www.embafrancia-argentina.org/Remise-du-prix-Sanofi-CONICET-en> (consulté le 23 Novembre 2013)

Il s'agit là donc d'un partenariat gagnant-gagnant : si les recherches de l'institut de Rosario débouchent sur un traitement, celui-ci appartiendra à la fois au gouvernement argentin et à l'entité pharmaceutique.

Sanofi serait alors le seul laboratoire international à proposer un traitement contre une maladie qui affecte de plus en plus d'individus dans les pays du nord, et où sa commercialisation serait rentable.

En effet, en 2007, l'OMS avertissait de la présence du Chagas aux Etats-Unis et en Europe, essentiellement chez des populations migrantes. En 2010, elle était également détectée au Japon et au Canada.

3.2.2. Stratégie adoptée et traitements médicamenteux prometteurs

3.2.2.1. Décryptage du génome de *T.cruzi*:

En juillet 2005, des scientifiques ont déclaré avoir établi la séquence des génomes de trois parasites responsables de la maladie du sommeil, de la maladie de Chagas et de la leishmaniose. On pense que chacun de ces parasites aurait 8000 à 10 000 gènes. Les chercheurs ont identifié environ 6200 gènes présents dans les trois parasites dans un ordre identique au sein de chaque génome. Certaines protéines encodées pourraient servir de cibles pour des médicaments et des vaccins que nous verrons par la suite. ⁽⁴⁴⁾

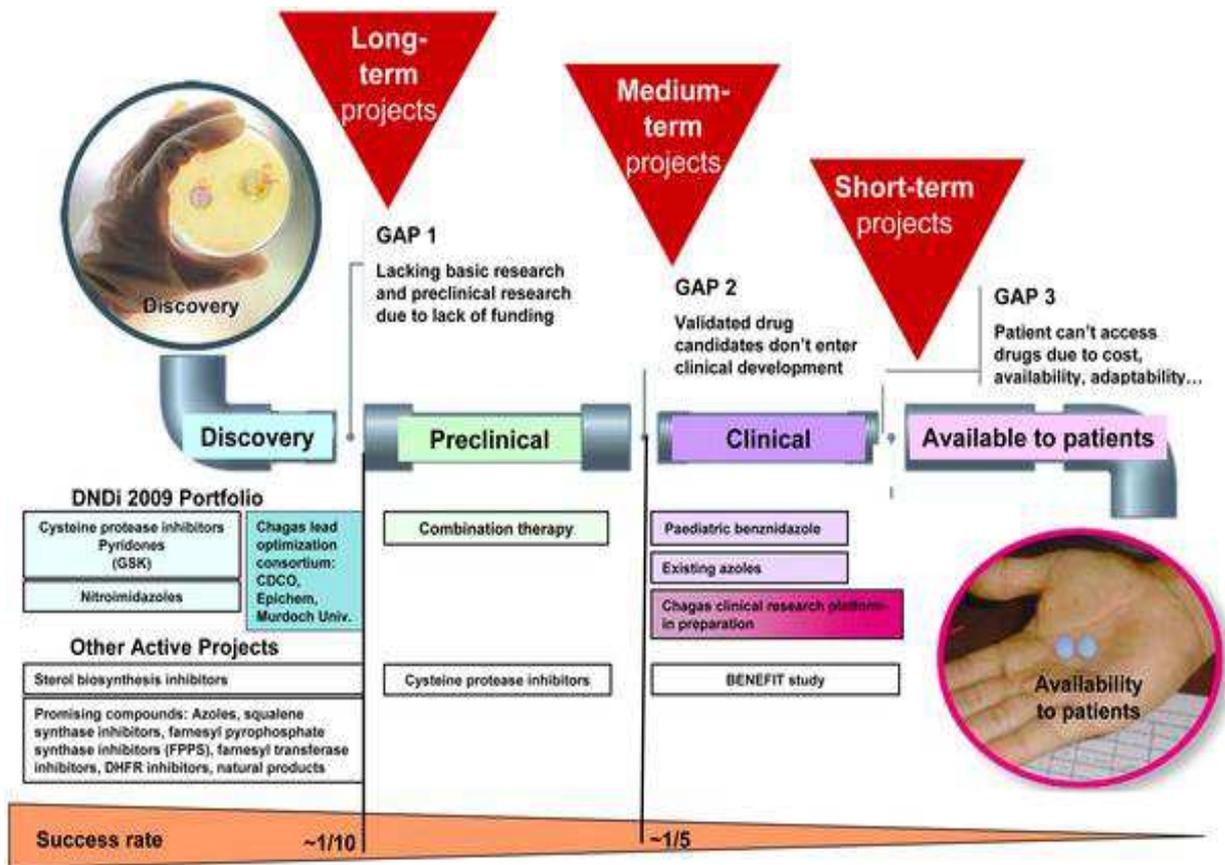
Les chercheurs ont trouvé de nombreux gènes codant pour des enzymes absentes chez l'homme. ⁽⁴⁴⁾

Le projet de décryptage du génome révèle des gènes partagés par les parasites qui ont été sans doute acquis à partir de bactéries, via un processus de « transfert horizontal de gène ». Les médicaments agissant contre ces enzymes acquises pourraient être des cibles valables de traitement parce qu'ils seraient moins susceptibles d'affecter l'hôte.

Le génome de *T.cruzi* a révélé qu'il ne contenait pas moins de 22 570 protéines codées par des gènes, dont 12 570 représentent des paires alléliques. ⁽⁴⁵⁾

Plus de 50% du génome est composé de séquences répétées, leurs tailles et leurs diversités impliquent des interactions inconnues qui peuvent être des cibles thérapeutiques potentielles. ⁽⁴⁵⁾

Figure 3-10 - Stratégies adoptées ces dernières années (DNDi) ⁽⁴⁶⁾



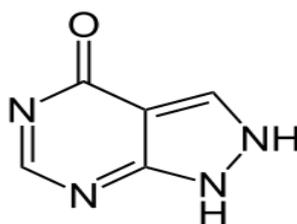
3.2.2.2. La stratégie du « switching thérapeutique »

Le développement et la recherche de nouvelles molécules trypanocides demeurent très chers et comme on l'a vu précédemment la maladie de Chagas ne suscite que peu d'intérêt des laboratoires pharmaceutiques. De ce fait l'alternative est de tester des molécules déjà connues et utilisées dans d'autres domaines thérapeutiques pour potentiellement les inclure dans l'arsenal thérapeutique de la maladie. Le but est de trouver de nouvelles cibles biologiques utiles dans le traitement de la maladie. Nous allons voir que de nombreux essais cliniques ont été réalisés et que certaines de ces molécules sont déjà utilisées pour le traitement de la maladie de Chagas.

3.2.2.2.1. L'allopurinol

L'allopurinol (Zyloric[®]) est un hypouricémiant qui est indiqué dans le traitement de la goutte humaine et contre les leishmanioses. Son indication pour la maladie de Chagas est actuellement toujours en cours d'évaluation. C'est un dérivé aminé qui forme des analogues de l'adénine provoquant un arrêt de la synthèse des protéines de *T. cruzi*. ⁽⁴⁷⁾ Des résultats d'études expérimentales animales et des études *in vitro* ont montré une action trypanocide. Certains essais cliniques chez les humains montrent une efficacité sur la parasitémie. Selon l'OMS, les résultats de certains essais cliniques chez les malades ont montré que ce médicament possède peu d'activité parasiticide. ⁽¹²⁾

Figure 3-11 - Molécule d'allopurinol



Le centre de recherche des maladies tropicales et l’OMS ont sponsorisé une étude réalisée dans 3 centres de pays différents : en Argentine (coordonnée par R. Gallerano), en Bolivie (A. Gianella) et au Brésil (A. Rassi). Les protocoles ont été écrits et approuvés en 1991. ⁽⁴⁸⁾

La guérison avec l’allopurinol est globalement obtenue dans la moitié des cas. Dans l’étude de Gallerano, prescrit à la posologie de 600 à 900 mg/j pendant 60 jours et sur 216 malades l’allopurinol est aussi efficace que les nitrofuranes et présente un bien meilleur profil de tolérance avec 11% d’effets secondaires vs 30% dans le groupe nitrofuranes. ⁽⁴⁹⁾

En revanche il est ressorti au moins au niveau du Brésil que l’allopurinol aux doses utilisées n’était pas efficace.

En effet, les différences observées au niveau des souches de *T. cruzi* selon les pays peuvent influencer la réponse au traitement, ce qui explique son efficacité en Argentine ou en Bolivie et son échec au Brésil. ⁽⁴⁸⁾

Posologie recommandée

Selon les cas, la dose recommandée est soit 600 mg/jour per os pendant 30 à 60 jours, soit 8,5 mg/kg/jour per os pendant 60 jours.

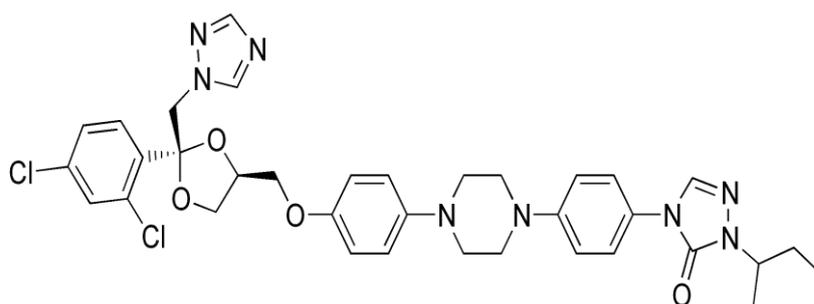
3.2.2.2. Les antifongiques

Une cible potentielle est représentée par la biosynthèse de l’ergostérol. Les traitements antifongiques ont pour cible cette biosynthèse de l’ergostérol. Leur mécanisme d’action est basé sur l’inhibition de la 14 α -déméthylase, enzyme codée par le gène ERG11 et impliquée dans cette biosynthèse. Comme de nombreux champignons, ce stérol est un constituant majeur de la membrane plasmique des espèces de *Trypanosomatidae*, où il agit comme un biorégulateur de la fluidité et de l’asymétrie de la membrane des cellules, contribuant ainsi à préserver leur intégrité. L’inhibition de la 14 α -déméthylase induit une déplétion en ergostérol qui aboutit à une altération des fonctions vitales assurées par la membrane plasmique, puis à la mort du parasite.

❖ L’itraconazole

L’itraconazole (Sporanox[®]) est un antifongique de deuxième génération qui est efficace sur pratiquement toutes les familles de champignons.

Figure 3-12 - Molécule d'itraconazole



L'effet pharmacologique de l'itraconazole chez des patients porteurs de forme chronique de la maladie de Chagas a été rapporté. L'efficacité du traitement a été analysée par xénodiagnostic, sérologie conventionnelle et test de lyse utilisant le complément dépendant des anticorps.

Vingt personnes souffrant de la maladie de Chagas au stade chronique et venant de zones endémiques au Chili ont été sélectionnées selon les résultats du xénodiagnostic réalisé avant traitement. Le suivi des patients a été effectué jusque à 42 mois en moyenne après traitement. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée pour les résultats de l'ELISA et du test d'immunofluorescence indirect réalisés sur les sérums avant et après traitement par l'itraconazole. Dans le sérum de six des patients du groupe XD positif avant traitement, une activité lytique contre *T. cruzi* s'est développée. Un seul d'entre eux s'est négativé après traitement. Dans le groupe des dix patients XD négatifs avant traitement, huit ont développé une activité lytique. Sept se sont négativés avant la fin de la période de suivi. Ces résultats laissent à penser que le niveau de parasitémie avant traitement est un paramètre important à considérer dans la chimiothérapie de la maladie de Chagas chronique.⁽⁵⁰⁾

Des résultats ont également été rapportés sur une autre étude comparant l'itraconazole à l'allopurinol. 400 patients âgés de 9 à 50 ans et atteints de la maladie de Chagas chronique ont été traités par l'itraconazole (6 mg/kg/jour pendant 120 jours), l'allopurinol (8,5 mg/kg/jour pendant 60 jours), ou avec un placebo pur (amidon). Les patients ont été suivis sur une période de quatre ans par examen clinique, sérologie, xénodiagnostic, hémoculture et électrocardiogramme. La tolérance aux médicaments a été bonne, avec seulement quatre traitements interrompus en raison d'effets secondaires apaisés après l'arrêt du traitement.

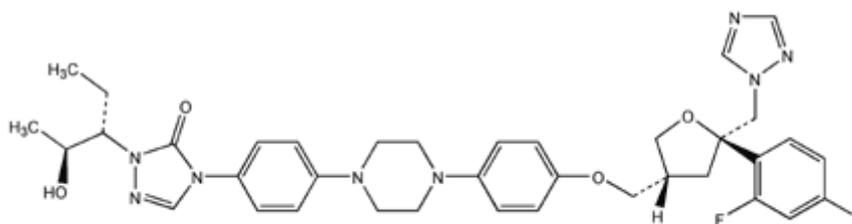
La guérison parasitologique a été considérée comme obtenue respectivement dans 53% des cas, 44% des cas et 1,6% des cas, la différence n'étant pas statistiquement significative entre l'itraconazole et l'allopurinol, mais significative entre le placebo et ces deux médicaments ($P < 0,001$).

L'évaluation électrocardiographique chez des patients ayant une cardiopathie chronique ou récente a montré la normalisation respectivement dans 36,5% et 48,2%.⁽⁵¹⁾

❖ Le posaconazole

Le posaconazole (Noxafil®) a une structure chimique très proche de celle de l'itraconazole et présente des propriétés pharmacologiques assez semblables. C'est un antifongique de nouvelle génération qui présente des résultats plus prometteurs que ses prédécesseurs.

Figure 3-13 - Molécule de posaconazole



Ses indications thérapeutiques sont la prophylaxie ou le traitement des infections fongiques invasives chez des malades immunodéprimés ou neutropéniques.

Le posaconazole s'administre par voie buccale et sa biodisponibilité est augmentée lorsqu'il est pris avec des aliments riches en graisse.

Tout comme pour l'itraconazole, au vu de son action sur la biosynthèse de l'ergostérol, son utilisation dans le traitement de la maladie de Chagas s'est posée.

Le posaconazole est actuellement dans une étude d'efficacité de phase II. Cette étude a pour but d'évaluer la prise orale de posaconazole dans le traitement de la maladie de Chagas chronique asymptomatique. La fin de l'étude est attendue pour janvier 2015.

On reporte également le cas pertinent d'une patiente souffrant d'une infection chronique à *T. cruzi* et d'un lupus érythémateux disséminé (nécessitant un traitement immunosuppresseur). Le traitement de première intention au benznidazole n'ayant pas permis d'empêcher la réactivation du parasite, un traitement au posaconazole a été prescrit avec succès.

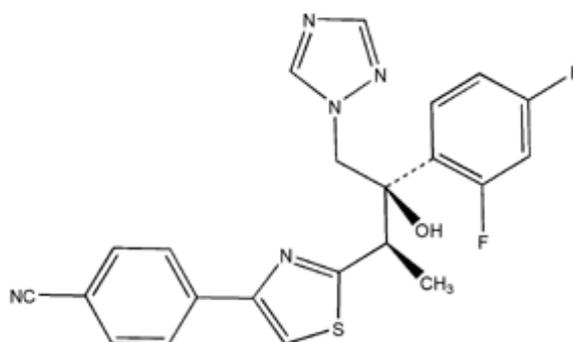
Bien que plusieurs PCR négatives ne puissent prouver l'absence de parasites intracellulaires, le fait que la parasitémie de cette patiente soit restée en-dessous du seuil de détection de la RT-PCR pendant et après le traitement au posaconazole, alors que la thérapie immunosuppressive a elle été maintenue prouve que cette patiente a peut être été guérie d'une infection chronique à *T. cruzi*.⁽⁵²⁾ C'est un résultat prometteur qui laisse entrevoir un bel avenir au posaconazole et pourquoi pas la délivrance d'une AMM pour le traitement de la maladie de Chagas. Cependant, il ne faut pas oublier que sa fabrication et sa formulation sont des procédés complexes qui font de ce médicament un produit coûteux n'assurant pas le retour sur investissement attendu par les entreprises pharmaceutiques.

❖ Le ravuconazole

Le ravuconazole est une prodrug. C'est un antifongique de nouvelle génération qui a été initialement découvert et développé par Eisai un laboratoire Japonais.

Le ravuconazole serait actif longtemps dans l'organisme avec une demi-vie beaucoup plus longue que celle du benznidazole (4 à 8 jours contre 12 heures respectivement). De ce fait le ravuconazole aurait donc besoin d'être pris une seule fois par semaine ce qui augmenterait donc l'observance du traitement.

Figure 3-14 - Molécule de ravuconazole



En Septembre 2009, Eisai et le DNDi ont signé un accord pour le développement clinique du ravuconazole dans le cadre du traitement de la maladie de Chagas. Selon l'accord, Eisai s'engageait à fournir le E1224, le pro du ravuconazole ainsi que son expertise scientifique au DNDi pour le développement clinique ainsi que l'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité du ravuconazole.

De ce fait, Eisai aurait la possibilité de devenir le partenaire industriel du DNDi pour la production du médicament et sa distribution dans les pays endémiques à prix abordables.

Des études de phase I ont déjà été réalisées aux Etats-Unis et ont démontré un bon profil de sécurité et une longue demi-vie. En effet il semblerait que le ravuconazole dispose de beaucoup moins d'effets indésirables que les deux molécules utilisées à ce jour à savoir le benznidazole et le nifurtimox.

Une étude de phase II a été lancée en Juin 2011 par le DNDi dans les pays latino-américains. Cette étude dirigée par le Docteur Isabela Ribeiro a pour but d'évaluer l'efficacité et l'innocuité du ravuconazole chez des patients atteints de maladie de Chagas au stade chronique.

Les premiers résultats ont laissé entrevoir une bonne innocuité, meilleure que celle du benznidazole mais une efficacité limitée voire nulle au bout d'un an. Ces résultats seront présentés le 6 Mars 2014 à Barcelone.

3.2.2.2.3. Les inhibiteurs de la cystéine protéase

La cruzaine (a.k.a cruzipain) est une cystéine protéase de *T. cruzi*. C'est la protéase majeure de *T. cruzi*. Elle représente donc une cible biologique pour stopper la maladie.

Cette protéase est exprimée dans toutes les étapes du cycle de vie de *T. cruzi* mais est localisée dans des compartiments différents.

Au stade de **la forme épimastigote**, elle se trouve dans les réservoirs, dans la partie postérieure de la cellule. Bien que sa fonction exacte ne soit pas connue elle est sûrement impliquée dans la dégradation des protéines ingérées lors du repas sanguin de l'insecte vecteur.

Au stade de **la forme amastigote**, la protéase apparaît à deux endroits. Alors que certaines se trouvent encore dans le lysosome, la plus grande partie de la cruzaine se trouvera elle à la surface du parasite directement en contact avec le cytoplasme de la cellule hôte. De ce fait la protéase peut fonctionner dans deux environnements : un pH de 5,5 dans le lysosome et un pH neutre de 7,4 à la surface du parasite. Ceci est important pour les inhibiteurs de protéase qui peuvent connaître une altération dépendante du pH (protonation vs non protonation).

L'inhibition de la cruzaine aurait donc un rôle dans l'évasion immunitaire du parasite mais celle-ci entraînerait également la mort du parasite due à l'accumulation de précurseurs toxiques dans l'appareil de Golgi. Cette accumulation de la protéine conduira à son tour à un choc osmotique de l'appareil de Golgi et en fin de compte tout le réticulum endoplasmique du parasite sera touché. ⁽⁵³⁾

Le K777 (un inhibiteur de cysteine protéase) a plus particulièrement fait parler de lui ces dernières années.

En effet, il a été testé *in vitro* et *in vivo* dans un modèle murin de la maladie et a montré des résultats plutôt concluant en termes d'efficacité.

Pour confirmer l'efficacité de ce composé dans un second modèle animal, 8 chiens cliniquement normaux ont été infectés par inoculation de souches de *T. cruzi*.

Trois d'entre eux ont reçu toutes les 12 heures pendant 14 jours une dose de 50 mg/kg de K777.

La réponse à l'infection et au traitement a été suivie par la mesure du taux sérique de troponine cardiaque (TNI), l'histologie, la PCR, des électrocardiogrammes (ECG) et pour finir une échocardiographie après autopsie.

Il en est ressorti que l'administration du K777 entraîne une amélioration significative de la maladie cardiaque chez le chien. ⁽⁵⁴⁾

De plus, le K777 a également montré de bons résultats en association avec le benznidazole. ⁽⁵³⁾

Cependant, l'Institute for OneWorld Health a interrompu ses travaux sur le K777 lorsque les études précliniques ont révélé un problème d'hépatotoxicité et de fabrication.

Depuis 2005, un certain nombre d'études de sécurité ont été réalisées sous contrat avec le NIAID (National Institute of Allergic and Infectious diseases).

Ces études ont démontré que l'élévation de l'alanine amino transférase se produisait uniquement à des doses supérieures ou égales à 150 mg/kg. De plus, même à 300 mg/kg l'élévation de l'ALT et les modifications histologiques du foie ont été réversibles après traitement. Il convient donc de dire que la dose sans effet toxique observable pour le K777 devrait se situer entre 50 et 100 mg/kg. De plus il a été démontré *in vitro* que les hépatocytes humains étaient beaucoup moins sensibles au K777 que les hépatocytes du chien ou des rongeurs.

En ce qui concerne les problèmes de fabrication, un financement est recherché pour produire du K777 selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour des études de phase I chez des humains volontaires sains.

Si cet essai clinique de phase I s'avérait concluant, le développement clinique pourrait être poursuivi. La recherche suit son cours mais actuellement tout peut laisser à penser que le K777 présente un avenir prometteur. ⁽⁵³⁾

3.2.2.2.4. Les associations fixes médicamenteuses

Des associations fixes médicamenteuses sont actuellement testées dont le but est d'obtenir une synergie d'action, une diminution des effets indésirables et d'éviter le développement de résistances : benznidazole + nifurtimox, benznidazole ou nifurtimox + allopurinol, benznidazole ou nifurtimox + kétoconazole, fluconazole, itraconazole ou posaconazole. ⁽³⁹⁾

Ces associations permettraient si elles voient le jour d'augmenter l'observance et l'efficacité du traitement. ⁽³⁹⁾

Une publication d'août 2013 sur le journal PLOS neglected tropical diseases a montré une interaction positive du benznidazole et du posaconazole dans des modèles murins de la maladie. ⁽⁵⁵⁾

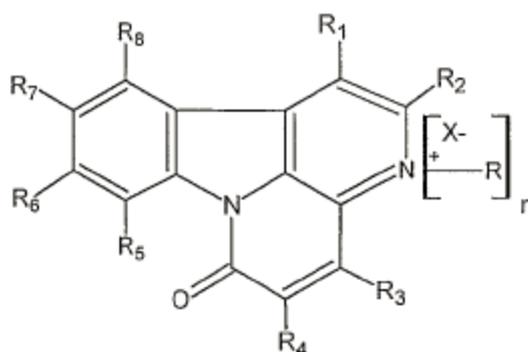
Par exemple dans le cas de la trypanosomose humaine africaine le protocole NECT (Nifurtimox-Eflornithine Combination Therapy) a représenté une avancée considérable dans le traitement de la maladie à son stade 2. Cette combinaison a d'ailleurs été intégrée à la liste des médicaments essentiels de l'OMS. En effet, des études cliniques ont démontré qu'une combinaison des deux médicaments simplifie le traitement grâce à l'administration du nifurtimox par voie orale et la réduction de la fréquence des injections d'éflornithine tout en possédant la même efficacité que le traitement par éflornithine en monothérapie. ⁽³⁸⁾

3.2.2.2.5. La canthin-6-one

La coopération entre l'institut de recherche pour le développement (IRD) et l'Université Nationale d'Asuncion au Paraguay va peut-être aboutir au dépôt d'un brevet.

Tout repose sur l'utilisation de la canthin-6-one une molécule d'origine végétale, des extraits de plantes la contenant et de certains de ses dérivés pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des trypanosomoses, et tout particulièrement de la maladie de Chagas.

Figure 3-15 - Molécule de canthin-6-one



La canthin-6-one est un composé isolé à partir de plantes appartenant notamment aux familles des Simaroubaceae, des Zygophyllaceae et des Rutaceae.

Cette molécule peut-être obtenue par synthèse chimique par un procédé en 4 étapes, en cours d'optimisation, avec un rendement de 55% à l'heure actuelle.

Les activités thérapeutiques de la canthin-6-one ou d'extraits végétaux la contenant ont été rapportées dans les indications suivantes : le traitement de la malaria ; comme agent antitumoral ; comme agent antifongique ou comme antileishmanien.

Zanthoxylum chiloperone, à partir duquel on a extrait la canthin-6-one est connu pour son utilisation en médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire, comme antipyrétique, contre les rhumatismes et comme antiparasitaire général.

Toutefois, rien ne laissait supposer que la canthin-6-one était susceptible de constituer un traitement de la maladie de Chagas, tant dans sa phase aiguë que dans sa phase chronique.

La canthin-6-one administrée sur des souris infectées avec *T. cruzi* a montré une efficacité étonnante à des doses dix fois moindres que les doses auxquelles le benznidazole est efficace.

Les résultats sont comparables lorsque l'on administre la molécule par voie orale ou sous-cutanée, sur des souris infectées par *Trypanosoma cruzi*. Elle présente également une faible toxicité et une bonne biodisponibilité.

Par ailleurs, lors de différentes recherches effectuées sur treize souches de champignons, la canthin-6-one a démontré un niveau d'activité antifongique comparable à celui du kétoconazole ainsi qu'une activité leishmanicide. ^{(56) (57) (58)}

3.2.3. Les vaccins à l'étude

La biologie moléculaire a fourni l'occasion d'élaborer de manière plus spécifique de nouvelles cibles de vaccin. Les cibles de vaccins actuellement en cours d'étude sont les protéines de la tige paraflagellaire, protéines spécifiques du *Trypanosoma* et nécessaires à la formation des flagelles permettant au parasite de se propager vers les tissus privilégiés. Les gènes codant pour l'enzyme trans-sialidase de *T. cruzi*, ASP-1, ASP- 2 et TSA-1 sont d'autres antigènes-cibles possibles. Ces protéines se trouvent en abondance à la surface du parasite et semblent jouer un rôle important dans la survie de *T. cruzi*.

Les avantages d'un vaccin thérapeutique comparé au benznidazole seul pourraient être les suivants :

- ✓ Une réduction de la toxicité,
- ✓ Une efficacité supérieure à la prévention des complications cardiaques,
- ✓ Des taux plus élevés de séroréversion aux antigènes de *T. cruzi* non contenus dans le vaccin,
- ✓ Une possibilité d'utilisation pendant la grossesse pour prévenir la maladie de Chagas congénitale. ⁽⁵⁹⁾

Nous allons voir plus en détail les différents types de vaccins à l'étude et tout particulièrement les vaccins à ADN qui semblent les plus prometteurs pour espérer enfin mettre au point une prophylaxie efficace pour la maladie de Chagas dans un futur proche.

3.2.3.1. Les vaccins à ADN

Le vaccin à ADN est un vaccin de troisième génération qui est constitué de gènes codant pour des protéines spécifiques au pathogène. Une fois à l'intérieur de la cellule présentatrice d'antigène, l'ADN est transcrit et puisque ses peptides sont reconnus comme étant étrangers, le mécanisme de présentation de l'antigène au niveau du complexe majeur d'histocompatibilité est déclenché.

La cellule va donc externaliser l'antigène du vaccin et il y a aura reconnaissance.

Les cellules CD 8+ ou cellules T cytotoxiques reconnaissent le peptide présenté par le CMH I et provoquent soit une cytolyse soit une production de cytokines.

Pour ce qui est de la réponse par le CMH II, elle est déterminée par les cellules présentatrices d'antigènes, que cela soit par phagocytose ou par reconnaissance d'une protéine étrangère, il y a externalisation du peptide à l'aide du récepteur de la CMH II. Ensuite, il y a transport de l'antigène fixé par les cellules présentatrices d'antigènes dans des tissus lymphatiques où enfin il y a différenciation des cellules T en cellules aidantes.

La réaction provoquée par un vaccin à ADN ressemble beaucoup à une cellule provoquée par un virus vivant sans les risques, d'où son utilité.

Ces vaccins à ADN en sont encore à l'étape expérimentale où les tests sont surtout des tests *in vivo* sur des animaux. Pour ce qui est des tests humains, nous sommes en général rendus en phase I et II.

Les vaccins à ADN pourraient être une solution pour protéger les populations contre la maladie de Chagas. Ils sont en effet faciles à faire et peuvent être fabriqués à faible coût, permettant ainsi aux pays pauvres d'avoir accès à la vaccination. Les études en sont encore à leurs débuts et la durée de protection apportée par ces vaccins et testée jusqu'ici est variable.

La technologie a également fourni l'occasion d'étudier des vaccins fabriqués à partir d'extraits de plantes susceptibles de bloquer les enzymes de *T. cruzi* et d'ouvrir de nouvelles voies de recherches en matière de vaccins.

3.2.3.1.1. Les vaccins à TSA-1, protéines Tc24 et Tc52

L'efficacité des vaccins à ADN dépend de l'antigène, il s'est avéré que les plus prometteurs dans le développement d'un vaccin thérapeutique pour la maladie de Chagas sont ceux codant pour l'enzyme de surface Trans-sialidase TSA-1, la protéine Tc24 et la protéine Tc52 seule.

Ces dernières années, les scientifiques ont pu montrer la validité du concept de vaccination thérapeutique chez la souris ouvrant une perspective très encourageante pour le traitement de la maladie.

En effet l'administration de seulement deux doses de vaccins d'ADN bivalents codant pour les antigènes parasitaires **Trans-sialidase (TSA-1)** ou ***T. cruzi* 24 kDa (Tc 24)** a permis de réduire la parasitémie et la sévérité de la pathologie chez des souris infectées avec une dose létale de *T. cruzi*.^{(60) (61)}

Une analyse phénotypique des lymphocytes par cytométrie de flux a suggéré que le vaccin réoriente ou redirige la réponse immunitaire vers un type Th1, caractérisée par une augmentation importante du nombre de cellules T CD8+ productrices d'IFN gamma.⁽⁶²⁾

Une étude comparative de plusieurs candidats de vaccins codant pour différents antigènes a également permis d'identifier les vaccins présentant la meilleure activité thérapeutique (diminution de la parasitémie et des dommages cardiaques) chez la souris. ⁽⁶⁰⁾

Avant d'initier des essais cliniques potentiels chez l'homme, des études précliniques ont été réalisées pour évaluer la biosécurité et l'efficacité du concept de vaccination thérapeutique chez le chien. ⁽⁶³⁾

Un total de 8 chiens a été inclus dans une étude de 2008 après vérification de l'absence d'infection par *T. cruzi* antérieure à la présente étude (par sérologie et PCR).

Les chiens furent ensuite infectés expérimentalement avec 50 000 parasites/kg et ils reçurent 500 µg de vaccin d'ADN thérapeutique codant pour les antigènes TSA-1 et Tc24 après 15 et 30 jours d'infection (ou le plasmide vide comme contrôle).

Des échantillons d'animaux provenant du Centre de Contrôle Canin de la Ville de Mérida (post mortem) furent également analysés afin de déterminer les caractéristiques de l'infection naturelle par *T. cruzi*.

L'analyse de la parasitémie montre que tous les chiens infectés présentaient une parasitémie détectable par observation directe au microscope à partir de 21 jours après l'infection, et ce jusqu'à 42 jours. Cependant, il n'a pas été possible de quantifier le nombre de parasites présents, car celui-ci est resté très bas.

Il n'y a pas eu de différence entre le groupe traité et le groupe contrôle en ce qui concerne la période de parasitémie.

Le niveau d'IgG anti-*T. cruzi* a été mesuré par ELISA, toutes les 2 semaines durant la durée de l'expérience. Une partie des animaux des deux groupes sont devenus séropositifs à *T. cruzi* à partir de 42 jours après l'infection et leur niveau d'IgG s'est maintenu durant le reste de l'expérience.

Le groupe de chiens traités avec le vaccin ADN a cependant présenté un niveau d'anticorps moins élevé que les chiens contrôles non-traités, suggérant une plus faible réponse humorale. L'analyse des isotypes d'anticorps IgG1 et IgG2 indique que le rapport IgG2/IgG1 est plus élevé chez les chiens traités avec le vaccin thérapeutique, ce qui suggère une orientation préférentielle de la réponse immunitaire de type Th1.

Finalement, le suivi pathologique des chiens a indiqué qu'un animal de chaque groupe a été victime de mort subite (aux jours 46 et 47 après l'infection, respectivement).

Chez les animaux restants, seul un chien du groupe non traité n'a pas présenté d'altération électrocardiographique, alors que ce fut le cas de deux chiens du groupe traité. Aussi, 3 chiens du groupe contrôle présentèrent des altérations marquées de leur électrocardiogramme, incluant une tachycardie ventriculaire, un complexe ventriculaire prématuré, et un blocage de la branche droite, tous typiques de la cardiopathie Chagasiq.

Ces premiers résultats suggèrent donc que le traitement avec un vaccin d'ADN thérapeutique pourrait au moins retarder la progression de la cardiopathie Chagasiq chez le chien, en stimulant la réponse immunitaire (possiblement cellulaire).

Cette hypothèse semble confirmée par l'analyse histopathologique du tissu cardiaque, qui montre que la réponse inflammatoire est plus importante dans le ventricule droit des chiens traités en comparaison des animaux contrôles.

Cependant, aucune différence n'a été observée dans les autres parties du cœur analysées (ventricule gauche, auricules droite et gauche, et paroi interventriculaire).

Finalement, l'analyse moléculaire de la présence de *T. cruzi* dans le cœur par PCR a confirmé l'infection dans les deux groupes de chiens.

Ces résultats sont également à contraster avec ceux obtenus à partir de l'analyse d'échantillons de chiens infectés naturellement par le parasite. En effet, l'analyse postmortem de 9 chiens infectés indique qu'ils présentent une réponse immunitaire humorale de magnitude similaire, mais avec un niveau d'IgG2 plus faible, signe d'une orientation préférentielle de type Th2. Cependant, le niveau de dommage histologique de ces animaux fût bien moindre que ceux infectés expérimentalement, ce qui indique que la charge infectieuse utilisée dans cet essai a été très importante en comparaison avec celle d'une infection naturelle.

D'autre part, une corrélation positive significative a été observée entre les niveaux d'IgG1 et la cardiopathie des chiens infectés naturellement et mesurée par l'indice cardiaque (poids du cœur/poids du chien).⁽⁶³⁾

Plus récemment, une étude similaire publiée en 2013 a elle aussi mis en évidence l'innocuité et l'efficacité de ce vaccin.⁽⁶⁴⁾

Des vaccins à ADN codant pour les mêmes antigènes TSA-1 et Tc24 ont été inoculés chez des chiens en phase aiguë de l'infection à *T. cruzi*. Des chiens ont été immunisés avec deux doses de 500 µg de vaccins à ADN, à deux semaines d'intervalle et infectés par *T. cruzi* deux semaines après la première dose de vaccin.

Un autre groupe de chiens a été infecté en premier et traité avec le vaccin.

La progression de la maladie a été suivie jusqu'à 70 jours après l'infection. Le vaccin n'a induit aucun changement dans les paramètres sanguins ni une exacerbation de la maladie chez les chiens vaccinés. Bien au contraire la vaccination a prévenu l'anémie et la diminution des lymphocytes chez les chiens vaccinés.

La vaccination préventive et thérapeutique a considérablement réduit la parasitémie, l'inflammation cardiaque, la charge parasitaire cardiaque et la survenue d'arythmies cardiaques.

Ces résultats appuient donc le fait que ce vaccin à ADN est sûr et peut réduire à la fois la transmission du parasite et le développement clinique de la maladie chez les chiens vaccinés.⁽⁶⁴⁾

L'ensemble de ces résultats suggèrent donc que le vaccin pourrait au moins ralentir la progression de la maladie de Chagas chez le chien.

Le chien est un important réservoir domestique du parasite et de nombreuses études sérologiques et parasitologiques ont mis en évidence des taux d'infection naturelle chez le chien de l'ordre de 10-20% dans les différentes régions d'Amérique. Ainsi, la validation des résultats chez le chien permet d'une part de développer un vaccin thérapeutique à usage vétérinaire, et d'autre part peut fournir des données indispensables sur l'efficacité et la biosécurité de ce vaccin afin d'initier de

futurs essais cliniques chez l'homme. Ainsi, ce projet contribue directement au développement de nouvelles possibilités de contrôle de la maladie. ⁽⁶²⁾

De leur côté, des chercheurs de l'Institut de Recherche et Développement et des collaborateurs de l'INSERM ont également cherché à identifier la nature et la fonction de gènes de *T. cruzi* qui codent pour des facteurs responsables de la virulence, en particulier une protéine nommée **Tc52** énoncée plus haut.

T. cruzi sécrète donc cette protéine **protéine Tc52** pour laquelle les chercheurs ont mis en évidence plusieurs activités, dont une activité enzymatique et une activité immunosuppressive.

La protéine libérée par *T. cruzi* influence de manière complexe la physiologie de la cellule hôte. Elle intervient sur des cellules du système immunitaire, les macrophages, les cellules dendritiques, et bloque notamment la production de l'interleukine 2 (IL-2) nécessaire à la prolifération des lymphocytes T, exerçant de fait une action immunosuppressive. ⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾

La protéine Tc52 est cruciale pour la survie du parasite et sa virulence.

In vitro, Tc52 en association avec l'IFN-gamma active les macrophages humains.

In vivo, l'immunisation active avec Tc52 soulage l'immunosuppression associée à une infection aiguë et déclenche une réponse immunitaire spécifique.

Comme les cellules dendritiques ont un rôle central dans le déclenchement de la réponse immunitaire, ils ont examiné le rôle de Tc52 dans la modulation de l'activité des cellules dendritiques. Ils ont ainsi montré que Tc52 induit la maturation des cellules dendritiques humaines avec expression de CD83 et CD86, production de cytokines (IL-8, la protéine chimiotactique monocytaire de type 1 et la protéine macrophage inflammatoire 1-alpha) et présente des propriétés de co-stimulation puissantes.

Tc52 se lie aux cellules dendritiques par des récepteurs saturables et signale via le récepteur toll-like 2 (TLR2). Alors que la signalisation médiée par Tc52 implique son site de liaison à la glutathione réduite, une autre partie de la molécule est impliquée dans la liaison aux cellules dendritiques. ⁽⁶⁷⁾

Des infections expérimentales par *T. cruzi* ont été réalisées au laboratoire sur des souris préalablement immunisées avec cette protéine. Elles ont abouti à une réduction du taux de mortalité lors de la phase aiguë de la maladie, montrant ainsi qu'il est possible de les protéger partiellement contre une telle infection.

De plus, des parasites mutants obtenus par la suppression d'un allèle du gène Tc52 ont été utilisés pour analyser, toujours *in vivo*, les effets d'une diminution de la production de la molécule Tc52 sur la réponse immunitaire de l'hôte et le développement des symptômes de la phase chronique de la maladie et la réaction inflammatoire notamment. L'infection par ces mutants a abouti à une production normale d'IL-2 et une atténuation de ces symptômes. ⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾

Les chercheurs ont ensuite caractérisé, à l'échelle moléculaire, la séquence minimale de la protéine responsable de l'activité immunosuppressive.

Les résultats de l'ensemble de ces travaux démontrent que cette protéine sécrétée par *T. cruzi* joue un rôle-clé dans l'évolution de l'infection et des manifestations pathologiques de la maladie de

Chagas. Son activité biologique enzymatique et immunosuppressive étant connue, il devient alors possible d'envisager le développement de stratégies chimiothérapeutiques, c'est-à-dire le blocage de l'activité enzymatique de Tc52 par des médicaments antiparasitaires ou vaccinaux, à l'encontre du parasite *T. cruzi*.⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾

Des recherches ayant pour objectif de caractériser à l'échelle moléculaire certains récepteurs de cette protéine situés sur les macrophages et les cellules dendritiques et d'élaborer des inhibiteurs spécifiques sont actuellement prévues en collaboration avec d'autres instituts.

Elles contribueront ainsi à la mise en place des outils nécessaires au développement de médicaments et de vaccins.⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾

3.2.3.1.2. Le vaccin à TcG1, TcG2 et TcG4

Plus récemment en Mars 2013, dans un article publié en ligne dans la revue PLOS one, des chercheurs ont décrit comment ils ont identifié et testé des antigènes candidats de *T. cruzi* pour établir l'innocuité et l'efficacité de la formulation d'un vaccin connu sous le nom de TcVac3 et administré chez la souris.⁽⁶⁸⁾

Ce vaccin pourrait stopper les dommages cardiaques irréversibles qui touchent environ 30% des personnes infectées par la maladie.

L'identification des antigènes candidats a été réalisée au moyen d'une approche informatique en analysant la base de données du génome de *T. cruzi*. 11 antigènes candidats ont été identifiés. Grâce à une analyse rigoureuse sur une période de plusieurs années, finalement 3 d'entre eux ont été retenus comme étant pertinents pour le développement d'un vaccin.

Il s'agit des antigènes TcG1, TcG2 et TcG4.

La délivrance de TcG2 et TcG4 par une approche ADN Prime/MVA boost a généré la production d'anticorps spécifiques et une réponse immunitaire des lymphocytes T. Cette méthode de délivrance a donc été retenue pour la formulation du vaccin.

Il fallait également mettre en évidence si cette formulation était suffisamment efficace pour omettre l'ajout d'IL-12 et d'adjuvant Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) permettant de recruter les cellules présentatrices d'antigènes en stimulant ainsi la réponse immunitaire.

Ce fut d'ailleurs le cas dans cet essai car l'ajout des adjuvants n'a pas amélioré la réponse immunitaire.

En résumé dans cette étude, il a été démontré que le vaccin TcVac3 a permis à l'hôte de contrôler l'infection aiguë par *T. cruzi*.

De même, par la suite il a empêché l'activation et l'infiltration des cellules inflammatoires dans le cœur qui sont dus à la persistance du parasite dans l'organisme et résulte à une destruction des tissus pendant la phase chronique de la maladie.

Si ce vaccin s'avère utile et concluant, il pourrait être approuvé dans 5 ans pour une utilisation chez le chien qui sont comme on l'a vu précédemment des hôtes réservoirs importants de la

maladie. Cette étude fournit encore également l'espoir qu'un vaccin contre la maladie de Chagas humaine est possible. ⁽⁶⁸⁾

Des recherches en cours vont déterminer si la composition du vaccin peut être simplifiée.

En parallèle les chercheurs mènent d'ores et déjà des essais précliniques chez le chien.

Ils travaillent également sur des échantillons de patients humains, des tests de réponse immunitaire de patients déjà infectés mais qui ne présentent pas de signe de maladie chronique. ⁽⁶⁸⁾

3.2.3.1.3. Les obstacles au développement d'un vaccin

Tout d'abord le problème potentiel à l'élaboration d'un vaccin est la possible auto-immunité qui fait suite à la vaccination. Nous l'avons vu le rôle de l'auto-immunité dans la pathogenèse de la maladie de Chagas est considéré comme controversée (voir section 1.6.4). ⁽⁵⁹⁾

Bien qu'il soit généralement admis que la persistance des parasites est l'une des causes principales du développement ultérieur de complications chroniques de la maladie, y compris la cardiomyopathie, il n'a pas été établi que les dommages causés étaient provoqués par les parasites seuls versus les mécanismes immunopathologiques et auto-immuns.

Un autre inconvénient est la variation antigénique très importante au sein de *T. cruzi*, il conviendra donc d'examiner chaque antigène pour évaluer sa diversité génétique, ce qui rend extrêmement délicat le choix d'un antigène.

Pour finir, des biomarqueurs identifiés seront également nécessaires pour être testés et standardisés permettant ainsi l'évaluation d'un vaccin. Il s'agira notamment de la mesure des concentrations plasmatiques des peptides natriurétiques, de l'ApoA (apolipoprotéine A), de la troponine cardiaque T, des marqueurs immunologiques tels que les lymphocytes T et les niveaux de cytokines.

Autrement dit tous ces facteurs limitants sont à prendre en compte dans la réalisation d'un vaccin, ce qui rend toujours son élaboration chez l'homme très compliquée. ⁽⁵⁹⁾

CONCLUSION

La maladie de Chagas est une parasitose complexe tant au niveau biologique, qu'au niveau de ses aspects humains, économiques, sanitaires et sociopolitiques. Elle n'est donc pas qu'une réalité biologique, c'est également une réalité sociale.

Elle continue de nos jours à être un fléau pour toute l'Amérique Latine. Les populations touchées vivent pour la plupart dans les zones rurales éloignées des villes où malheureusement la transmission vectorielle n'a pu être interrompue. La précarité et la discrimination sociale nourrissent la maladie de Chagas. Il est certain que de grandes inégalités sociales s'observent au sein des populations en Amérique Latine et que tout le monde ne sera pas en contact avec l'insecte vecteur. En effet, peu nombreux sont ceux qui la voient et trop nombreux sont ceux qui la subissent, et c'est bien souvent ce contexte de pauvreté qui entoure les maladies dites « négligées ». L'accès au diagnostic et au traitement des personnes infectées à *T. cruzi* est avec la lutte antivectorielle l'un des points clés pour combattre cette maladie. La maladie de Chagas a trop longtemps été ignorée et mise à l'écart des préoccupations des dirigeants politiques des pays concernés et des laboratoires pharmaceutiques.

Néanmoins, plus de 100 ans après la découverte de la maladie, de gros efforts et des améliorations ont été observés ces dernières années. De grandes avancées au niveau scientifique et médical ont vu le jour grâce aux différents partenariats créés ces dernières années sous l'initiative des gouvernements. De plus, de nombreux traitements ont montré leur efficacité et pourront peut être obtenir une AMM dans un futur proche. Les vaccins peuvent aussi constituer un avenir très prometteur pour prévenir la maladie même si les essais cliniques n'en sont qu'à leurs débuts et les prochaines années nous diront si oui ou non une utilisation à l'échelle humaine est possible.

Cependant, malgré toutes ces avancées, la lutte contre la maladie reste freinée par la pauvreté, la sous-alimentation, le manque d'éducation et l'inégalité devant l'accès aux soins et au diagnostic des populations. Des mesures médicales, préventives et technologiques avancées ne suffiront malheureusement pas à éradiquer la maladie de Chagas tant que l'accent ne sera pas mis sur l'amélioration des conditions socio-économiques des populations touchées et un apprentissage sur la maladie avec une participation active de la communauté et des groupes atteints. Cela me paraît difficile à mettre en œuvre en Amérique Latine qui fait toujours preuve d'indifférence vis-à-vis d'un si gros problème. En effet, les conditions de vie déplorables et la santé fragile de ces populations rurales pauvres et oubliées sont encore trop peu prises au sérieux par les pouvoirs politiques nationaux pour qu'il y ait un véritable changement et que la maladie soit enfin considérée pour ce qu'elle est ; un véritable fléau et une injustice.

Dans les prochaines années, les lueurs d'espoirs entrevues au niveau thérapeutique, la mondialisation et les efforts humains nous confirmeront si la Maladie de Chagas peut prendre une tournure plus favorable en ce 21^{ème} siècle.

Pour conclure cette thèse, il est important de citer ces mots de l'écrivain Uruguayen, Eduardo Galeano, qui à eux seuls résumant bien la maladie de Chagas :

«Il n'explose pas comme les bombes, ni ne sonne comme les tirs, comme la faim il tue silencieusement. Comme la faim, il tue ceux qui se taisent : ceux qui vivent condamnés au silence et meurent condamnés à l'oubli. Tragédie qui ne fait pas de bruit, malades qui ne paient pas, maladie qui ne vend pas. La maladie de Chagas n'est pas un négoce qui attire l'industrie pharmaceutique, ni un sujet qui intéresse les politiques ou les journalistes. Il choisit ses victimes parmi le peuple pauvre. Il les mord et lentement, petit à petit, en termine avec elles. Ses victimes n'ont aucun droit, ni argent pour acheter les droits qu'elles n'ont pas. Elles n'ont même pas le droit de savoir de quoi elles meurent.»

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Pays J-F. Chagas Carlos Justiniano Ribeiro (1879–1934). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2009; 102: 276-279
- (2) Carneiro M. *Historia da Doença de Chagas*, Curitiba. 1963
- (3) World Health Organization. Report of the WHO Expert Committee on the Control of Chagas Disease: Control of Chagas disease, 1991 (WHO Technical Report Series, No. 811).
- (4) Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007; 102(1): 75-86
- (5) Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop.* 2010; 115(1–2):14–21
- (6) Jackson Y, Chappuis F. Chagas disease in Switzerland: history and challenges. *Euro Surveill* 16. 2011 ; 16 (37)
- (7) Lescure FX, Canestri A, Melliez H et al. Chagas disease, France, *Emerg Infect Dis.* 2008; 14: 644-646
- (8) Tyler KM, C. L. Olson, D. M. Engman. American Trypanosomiasis. The life cycle of *Trypanosoma cruzi*. *World class parasites.* 2003; 7: 1-11
- (9) De Souza W. Cell biology of *Trypanosoma cruzi*. *Int Rev Cytol.* 1984; 86:197-283
- (10) Texeira D. E, Benchimol M, Crepaldi P. H., Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012 ; 6(8): e1749.
- (11) Elias M. C., et al. Morphological events during the *Trypanosoma cruzi* cell cycle. *Protist.* 2007; 158: 147-157
- (12) World Health Organization. Second Report of the WHO Expert Committee on the Control of Chagas Disease, World Health Organization, 2002 (WHO Technical Report Series, No. 905).
- (13) La maladie de Chagas ou THAM. Université Médicale Virtuelle Francophone-Support de cours. <http://umvf.univ-nantes.fr/parasitologie/poly-parasitologie.pdf>

- (14) Mady C, De Moraes A. V, Galiano N., et al. Hemodynamic study of the intermediate form of Chagas disease. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 1982;38:271-275
- (15) F Boissier, Nicoud A, Duval X., et al. L'atteinte cardiaque de la maladie de Chagas, à propos d'une observation. *La lettre du cardiologue*. 2006 ;393 :32-34
- (16) Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*. 2010 Apr 17;375(9723):1388-402
- (17) Teixeira ARL, Mariana M. Hecht, Maria C. Guimaro., et al. Pathogenesis of Chagas disease: parasite persistence and autoimmunity. *Clinical Microbiology Reviews*. 2011 July;24(3):592-630
- (18) Le Loup G, Ibrahim K, Malvy D. Maladie de Chagas et immunodépression: Infection par le VIH et transplantation. *Bull. Soc. Pathol. Exot*. 2009; 102: 310-318
- (19) Tarleton Rick L. Immune system recognition of *Trypanosoma cruzi*. *Current Opinion in Immunology*. 2007 July; 19:430-434
- (20) Dutra WO, Gollob KJ (2008) Current concepts in immunoregulation and pathology of human Chagas' disease. *Curr Opin Infect Dis* 21:287–92
- (21) Dutra WO, Rocha MO, Teixeira MM (2005) The clinical immunology of human Chagas' disease. *Trends Parasitol* 21:581–7
- (22) Golgher D, Gazzinelli RT (2004) Innate and acquired immunity in the pathogenesis of Chagas' disease. *Autoimmunity* 37: 399–409
- (23) Martin D, Tarleton R (2004) Generation, specificity, and function of CD8+ T cells in *Trypanosoma cruzi* infection. *Immunol Rev* 201:304–17
- (24) Schmunis GA. Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin America. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1999;94(1):93-101
- (25) Blanchy S. Compte rendu de l'atelier n°1. Populations à risque de maladie de Chagas en France métropolitaine et maladie de Chagas congénitale. *Bull Soc Pathol Exot*. 2009 ;102: 330-332
- (26) Andrieu F Gay. Compte rendu de l'atelier n°3. Dépistage et diagnostic biologique de la maladie de Chagas. *Bull Soc Pathol Exot*. 2009 ; 102:338-441

- (27) Berenger J-M, Pages F. Les Triatominae: une domestication qui se généralise. *Med Trop.* 2007; 67: 217-222
- (28) Schofield CJ. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. *Bull Entomol Res.* 1979; 69: 363-379
- (29) Gorla DE, Schofield CJ. Population dynamics of *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in the Argentine Chaco. *Med Vet Entomol.* 1989; 3: 179-194
- (30) Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Amer Museum Nat Hist.* 1979; 163: 123-520
- (31) Schofield CJ, Diotaiuti L, Dujardin JP. The process of domestication in Triatominae. *Memo Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94 (suppl 1): 375-378
- (32) Dujardin JP. Population genetics and the natural history of domestication in Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998; 93 (Suppl II): 34-36
- (33) Schofield CJ et al. The future of Chagas disease control. *Trends in parasitology.* 2006;22(12):583-588
- (34) Moncayo Alvaro. TDR onzième rapport du programme. *Maladie de Chagas.* pp 67-76
- (35) WHO/CDS/CPE/SMT/2001. 13 stratégies recommandées par l'OMS contre les maladies transmissibles – prévention et lutte. pp :171-173
- (36) Rozendaal Jan A. La lutte antivectorielle Méthodes à usage individuel et communautaire. *Traitement des habitations au moyen d'insecticides à effet rémanent.* 1999 ; 9 :390-420
- (37) Zerba EN. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. *Medicina (Buenos Aires)* 1999; 59 (Supl. II) : 41-46
- (38) Wolf A, Boulliat C, Coillot C et al. Le nifurtimox, molécule en plein devenir dans le traitement de la maladie de Chagas. *Med Trop* 2011; 72: 131-133
- (39) Coillot C, Rouault M, Wolf A et al. Le benznidazole un des rares traitements de la maladie de Chagas, *Med trop* 2011 ; 71 :341-342

- (40) Alirol E, Brum L, Chappuis F et al. Sortir de l'oubli : Lutter contre la leishmaniose viscérale, la trypanosomiase humaine africaine, la maladie de Chagas et les autres maladies négligées. Médecins sans frontières. pp 47-59
- (41) Marin-Neto JA, Rassi A Jr, Avezum A Jr et al. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease, Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2009; Vol. 104 (Suppl I): 319-324
- (42) Benaim G, Sanders JM, Garcia-Marchan Y et al. Amiodarone has intrinsic anti-*Trypanosoma cruzi* activity and acts synergistically with posaconazole. Journal of Medicine Chemistry. 2006 February 9;49(3):892-899
- (43) Bär Nora. Acuerdo entre el Conicet y una compañía francesa. Inédito proyecto público-privado contra el Chagas. 2011 Dec 16. lanacion.com.
- (44) El-Sayed NM, Myler P. J, Blandin G. Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. Science. 2005 Jul 15;309(5733):404-9.
- (45) El-Sayed NM, Myler P. J, Bartholomeu D. C et al. The genome sequence of *Trypanosoma Cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. Science. 2005 July 15;309(5733)409-415
- (46) Ribeiro I, Sevcsik A-M, Alves F et al. New, Improved Treatments for Chagas Disease: From the R&D Pipeline to the Patients. PLoS Negl Trop Dis. 2009 ; 3(7): e484
- (47) Marr JJ. Purine analogs as chemotherapeutic agents in leishmaniasis and American trypanosomiasis. J Lab Clin Med. 1991; 118 (2): 111-119
- (48) Rassi A, Luguetti AO, Rassi A Jr et al. Specific treatment for *Trypanosoma Cruzi*: Lack of efficacy of allopurinol in the human chronic phase of chagas disease. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2007 Jan; 76(1):58-61
- (49) Gallerano RH, Marr JJ, Sosa RR. Therapeutic efficacy of allopurinol in patients with chronic chagas disease. Am J Trop Med Hyg. 1990 Aug; 43(2): 159-66
- (50) Venegas J, Zulantay I, Apt W et al. Effect of itraconazole on lytic antibodies levels in chronic Chagas disease. Parasite. 1997 Sep;4(3):259-62

- (51) Apt W, Aguilera X, Arribada A et al. Treatment of chronic Chagas disease with itraconazole and allopurinol. *Am J Trop Med Hyg.* 1998 Jul;59(1):133-8
- (52) Pinazo MJ, Espinosa G, Gallego M et al. Successful treatment with posaconazole of a patient with chronic Chagas disease and systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2010 Apr;82(4):583-587
- (53) McKerrow JH, Doyle PS, Engel JC et al. Two approaches to discovering and developing new drugs for Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2009 July; 104 (supl.)1 Rio de Janeiro
- (54) Barr S. C, Warner K. L, Kornreic B. G. et al. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damages during infection by *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005 ; 49(12):5160-5161
- (55) Diniz LdF, Urbina JA, de Andrade IM, et al. Benznidazole and Posaconazole in Experimental Chagas Disease: Positive Interaction in Concomitant and Sequential Treatments. *PLoS Negl Trop Dis.* August 2013. 7(8): e2367. doi:10.1371/journal.pntd.0002367
- (56) Ferreira ME, Fournet A., Rojas de Arias A. et al. Utilisation de la canthin-6-one, des extraits de plantes la contenant et de ses dérivés dans le traitement de la maladie de Chagas. PCT/FR03/03459 (WO 2004/050092)
- (57) Thouvenel C., Gantier J. C., Duret P et al. Antifungal compounds from *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. *Phytotherapy Research.* 2003 June ; 17(6), 678-680
- (58) Ferreira M. E., Rojas de Arias, Torres de Ortiz S et al. Leishmanicidal activity of two canthin-6-one alkaloids, two major constituents of *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. *Journal of Ethnopharmacology.* 2002 May; 80 (2-3): 199-202
- (59) Dumonteil E, Botazzi M. E, Zhan B et al. Accelerating the Development of a therapeutic vaccine for Human Chagas disease. *Expert Rev Vaccines.* 2012;11(9): 1043-1055
- (60) Sanchez-Burgos G, Mezquita-Vega R. G, Escobedo-Ortegon J et al. Comparative efficacy of DNA vaccines encoding various *Trypanosoma cruzi* antigens. *FEMS Microbiol Med Immunol.* 2007 August; 50 (3):333-341
- (61) Dumonteil E, Escobedo-Ortegon J, Reyes Rodriguez N et al. Immunotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection with DNA vaccines in mice. *Infect Immun.* 2004 Jan; 72(1):46-53

- ⁽⁶²⁾ Zapata-Estrella H, Hummel-Newell C, Sanchez-Burgos G et al. Control of *Trypanosoma cruzi* infection and changes in T cell populations induced by a therapeutic DNA vaccine in mice. *Immunol Lett.* 2006 Mar ; 103 (2):186-191
- ⁽⁶³⁾ Dumonteil E. Essai Clinique d'un vaccin thérapeutique contre la maladie de Chagas chez le chien. Rapport technique final. Décembre 2008. (<http://www.imea.fr/imea-fichiersjoints/imea-projets-soutenus/0603-Rapport-final.pdf>)
- ⁽⁶⁴⁾ Quinajo-Hernandez IA, Castro-Barcena A, Vazquez-Chagoyan JC et al. Preventive and therapeutic DNA vaccination partially protect dogs against an infectious challenge with *Trypanosoma cruzi*. *Vaccine.* 2013 Apr 26;31(18):2246-52
- ⁽⁶⁵⁾ Borges M, Cordeiro Da Silva A, Sereno D et al. Peptide-based analysis of the amino acid sequence important to the immunoregulatory function of *Trypanosoma cruzi* Tc52 virulence factor. *Immunology.* 2003 May; 109(1): 147-155
- ⁽⁶⁶⁾ Garzon E, Borges MC, Cordeiro-Da-Silva A et al. *Trypanosoma cruzi* carrying a targeted deletion of a Tc52 protein-encoding allele elicits attenuated Chagas'disease in mice. *Immunol Letter.* 2003 Oct 9; 89(1): 67-80
- ⁽⁶⁷⁾ Ouaiissi A, Guilvard E, Delneste Y, et al. The *Trypanosoma cruzi* Tc52-released protein induces human dendritic cell maturation, signals via Toll-like receptor 2, and confers protection against lethal infection. *J. Immunol.* 2002 Jun. 168 (12): 6366-6374
- ⁽⁶⁸⁾ Gupta S, Garg NJ. TcVac3 Induced Control of *Trypanosoma cruzi* Infection and Chronic Myocarditis in Mice. *PLoS ONE.* 2013; 8 (3): e59434 DOI: 10.1371/journal.pone.0059434

LAFARGUE Marine

La Trypanosomose Américaine ou Maladie de Chagas : Etat des lieux d'une maladie négligée, lutte antivectorielle et nouvelles perspectives thérapeutiques.

American Trypanosomiasis or Chagas disease: Overview of a neglected disease, vector control and new therapeutic perspectives.

Thèse n°17

RESUME

La trypanosomose Américaine ou Maladie de Chagas découverte en 1909 par Carlos Chagas est une infection parasitaire due au protozoaire flagellé *Trypanosoma cruzi*.

Elle est considérée comme la troisième maladie tropicale humaine par son importance car elle affecte environ 10 millions de personnes dans le monde. L'Amérique Latine constitue à elle seule le réservoir de la maladie mais les flux migratoires humains de ces dernières années ont permis le transfert de cette maladie dans des pays jusque là indemnes (Amérique du Nord, Europe, Japon...).

La transmission de la maladie à l'homme est essentiellement vectorielle et fait intervenir les insectes hématophages : les triatomes, notamment l'espèce *Triatoma infestans* qui reste à l'origine de la plupart des nouveaux cas déclarés en Amérique latine et centrale.

C'est une maladie grave et silencieuse qui plus de 100 ans après sa découverte demeure un fléau pour toute l'Amérique Latine ; elle reste malheureusement difficile à traiter pour des millions de malades.

La lutte contre la transmission vectorielle, au moyen d'insecticides ou en améliorant les habitats, reste à ce jour le moyen le plus efficace contre cette maladie.

Depuis 40 ans, deux traitements seulement sont disponibles pour traiter la maladie ; ils présentent de nombreux effets indésirables et leur efficacité reste controversée en phase chronique de la maladie.

Pour lutter contre cette maladie « négligée » par excellence, de nombreux partenariats se sont créés ces dernières années.

La découverte de nouvelles molécules ou la mise au point d'un vaccin permettront peut être dans un futur proche d'agrandir l'arsenal thérapeutique d'une maladie si méconnue et négligée mais pourtant si meurtrière.

DISCIPLINE

Thèse d'exercice de pharmacie, Bordeaux

MOTS CLES

Trypanosomose Américaine, maladie de Chagas, maladie négligée, *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma infestans*, nifurtimox, benznidazole, vaccin

JURY

Monsieur Gilbert HAUMONT

Madame Maria MAMANI MATSUDA

Monsieur Francisco OSORIO PEREZ

ADRESSE

UFR des sciences pharmaceutiques - Université Bordeaux

Salle des thèses (site Carreire)

146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux Cedex