



HAL
open science

Entamoeba histolytica : épidémiologie, évolution dans la connaissance de la pathogénèse, du diagnostic, de la thérapeutique et de la prévention

Émilie Bonnet

► To cite this version:

Émilie Bonnet. Entamoeba histolytica : épidémiologie, évolution dans la connaissance de la pathogénèse, du diagnostic, de la thérapeutique et de la prévention. Sciences pharmaceutiques. 2008. dumas-01075509

HAL Id: dumas-01075509

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01075509>

Submitted on 17 Oct 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.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



1^{er} exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année 2008

N° d'ordre : 7005

***Entamoeba histolytica* : épidémiologie,
évolution dans la connaissance de la pathogenèse, du diagnostic,
de la thérapeutique et de la prévention**

Thèse présentée pour l'obtention du doctorat en pharmacie
DIPLOME D'ETAT

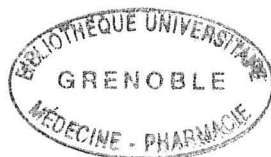
Emilie BONNET
Née le 29 juin 1980 à Echirolles (38)

Thèse soutenue publiquement à la faculté de pharmacie de Grenoble
Le 20 Mars 2008,

Devant le jury composé de :

Madame le Professeur Renée GRILLOT
Madame Claudine PINEL, maître de conférences
Madame Marie-Pierre BRENIER-PINCHART
Mademoiselle Marie-Hélène SCHMITT

Président du jury
Directeur de thèse
Docteur en médecine
Docteur en pharmacie



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année 2008

N° d'ordre :

***Entamoeba histolytica* : épidémiologie,
évolution dans la connaissance de la pathogenèse, du diagnostic,
de la thérapeutique et de la prévention**

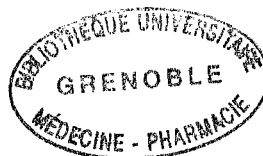
Thèse présentée pour l'obtention du doctorat en pharmacie
DIPLOME D'ETAT

Emilie BONNET

Née le 29 juin 1980 à Echirolles (38)

Thèse soutenue publiquement à la faculté de pharmacie de Grenoble
Le 20 Mars 2008,

Devant le jury composé de :



Madame le Professeur Renée GRILLOT
Madame Claudine PINEL, maître de conférences
Madame Marie-Pierre BRENIER-PINCHART
Mademoiselle Marie-Hélène SCHMITT

Président du jury
Directeur de thèse
MCU-PH médecine
Docteur en pharmacie

REMERCIEMENTS

Je remercie Madame le Doyen, le Professeur Renée Grillot, de me faire l'honneur de participer à ce jury et d'en avoir accepté la présidence malgré ses nombreuses obligations hospitalières et universitaires.

Je remercie chaleureusement Madame Claudine Pinel, mon directeur de thèse, d'avoir dirigé mon travail. Je lui suis particulièrement reconnaissante pour sa patience, son soutien et sa gentillesse durant l'élaboration de ce travail.

Je remercie également Madame Marie-Pierre Brenier-Pinchart d'avoir accepté de juger cette thèse.

J'exprime ma sincère gratitude à Mademoiselle Marie-Hélène Schmitt pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Je la remercie particulièrement ainsi que toute l'équipe de la pharmacie du Château pour leur soutien et leurs conseils tout au long de mes études.

Je remercie mes parents et ma famille pour leur présence, leur patience et leur soutien inébranlable dans tout ce que j'entreprends. Leur confiance m'est très précieuse.

Enfin, je remercie la grande famille pharma que l'on a constituée pendant toutes ces années. Merci pour les bons moments que nous avons partagés et que nous partagerons encore, merci pour vos encouragements et votre présence. Merci tout particulier à Ben pour ses relectures.

SOMMAIRE	
INTRODUCTION	p.9
CHAPITRE 1 : EPIDEMIOLOGIE	p.10
<u>1. Limites des données épidémiologiques</u>	p.10
<u>2. Répartition mondiale</u>	p.11
2.1 Zones endémiques	p.14
2.1.1 <i>Asie</i>	
2.1.2 <i>Afrique</i>	
2.2 Pays industrialisés	p.17
2.3 Contexte épidémique	p.20
<u>3. Répartition en fonction du sexe</u>	p.21
<u>4. Répartition en fonction des formes cliniques</u>	p.22
<u>5. Facteurs de risque</u>	p.25
CHAPITRE 2 : DESCRIPTION D' <i>Entamoeba histolytica</i>	p.26
<u>1. Historique</u>	p.26
<u>2. Morphologie</u>	p.27
2.1. Le noyau	p.28
2.2. Les formes végétatives = trophozoïtes	p.28
2.2.1. <i>E. histolytica</i> forme <i>minuta</i>	
2.2.2. <i>E. histolytica</i> forme <i>histolytica</i>	
2.3. Les kystes	p.29
<u>3. Génome</u>	p.33
<u>4. Cycle parasitaire</u>	p.34
4.1. Transmission	p.34
4.1.1. <i>Mode de contamination</i>	
4.1.2. <i>Réservoir</i>	
4.2. Cycles	p.35
4.2.1. <i>Cycle non pathogène</i>	
4.2.2. <i>Cycle pathogène</i>	

CHAPITRE 3 : PATHOGENESE DE L'AMIBIASE : FACTEURS PARASITAIRES ET HUMAINS **p.40**

1. Facteurs liés au parasite **p.40**

1.1. Mécanismes de virulence **p.40**

1.1.1 Attachement aux cellules de l'hôte : la lectine Gal/NAcGal

1.1.1.1. Structure de la lectine Gal/NAcGal

- α) Sous-unité lourde : **hgl**
- β) Sous-unité légère : **lgl**
- γ) Sous-unité intermédiaire : **igl**

1.1.1.2. Fonctions biologiques

- α) Rôle dans la cytotoxicité
- β) Rôle dans l'enkystement
- γ) Rôle immunologique : Résistance au système du complément
- δ) Comparaison entre les lectines Gal/NAcGal d'*E. histolytica* et d'*E. dispar*

1.1.2. Action lytique

1.1.2.1. Les amoebapores

- α) Généralités
- β) Fonctions biologiques
- γ) Mécanismes de défense amibiens contre les amoebapores

δ) Les disparpores

1.1.2.2. Les cystéine-protéinases

- α) Généralités
- β) Fonctions biologiques
- γ) Comparaison entre les cystéine-protéinases d'*E. histolytica* et *E. dispar*

1.1.3. Induction de l'apoptose des cellules hôtes

1.1.4. Emission de pseudopodes phagocytaires et locomoteurs

1.1.4.1. Récepteurs de surface d'*E. histolytica* et transmission des signaux environnementaux

1.1.4.2. Le mouvement chez *E. histolytica*

- α) Formation du pseudopode
- β) Mouvements rétrogrades et processus de "capping"

1.1.4.3. La Phagocytose

1.2. Mécanismes d'échappement au système immunitaire de l'hôte	p.78
1.2.1. Résistance à l'inflammation et aux molécules cytotoxiques libérées par les entérocytes et les polynucléaires activés	
1.2.2. Induction d'une réponse immunitaire partiellement efficace de l'hôte	
1.2.2.1. Echappement au système du complément	
1.2.2.2. Inhibition de la réponse humorale	
1.2.2.3. Inhibition des fonctions macrophagiques	
α) Structure et effets du Monocyte Locomotion Inhibitory Factor (MLIF)	
β) Inhibition de la fonction de présentation de l'antigène, rôle de la prostaglandine E2	
γ) Autres effets modulateurs d' <i>E. histolytica</i>	
1.2.2.4. Modulation exercée sur les lymphocytes T	

2. Facteurs liés à l'hôte	p.93
2.1. Facteurs physiologiques	p.93
2.1.1. Prédominance masculine de l'amibiase viscérale	
2.1.2. Environnement intestinal	
2.1.2.1 Mucus	
2.1.2.2. Fore bactérienne commensale	
2.1.2.3. Etat de l'intestin, motilité intestinale	
2.2. Facteurs génétiques	p.100
2.3. Immunité anti-amibienne	p.101
2.3.1. Immunité cellulaire	
2.3.2. Immunité humorale	

CHAPITRE 4 : CLINIQUE **p.106**

1. La colonisation asymptomatique **p.106**

2. Amibiase intestinale **p.107**

2.1. Amibiase intestinale aiguë **p.107**

 2.1.1. *Forme dysentérique*

 2.1.2. *Forme atténuée*

 2.1.3. *Forme suraiguë maligne*

2.2. Amibiase intestinale chronique **p.110**

 2.2.1. *Colite amibienne chronique = rechute*

 2.2.2. *Colite post-amibienne = colite séquellaire*

2.3. Les complications intestinales **p.111**

<u>3. Amibiase extra-intestinale</u>	p.113
3.1. L'amibiase hépatique	p.113
3.2. L'amibiase pleuro-pulmonaire	p.115
3.3. Autres localisations	p.116

CHAPITRE 5 : DIAGNOSTIC DE L'AMIBIASE **p.118**

<u>1. Diagnostic biologique</u>	p.118
1.1. Diagnostic direct	p.118

<i>1.1.1. La microscopie optique</i>	
1.1.1.1. Les prélèvements	
1.1.1.2 Traitement de l'échantillon	
α) L'examen microscopique direct	
β) Examen après coloration	
γ) Techniques de concentration	
1.1.1.3 Utilisations et limites	
α) La sensibilité	
β) La spécificité	
<i>1.1.2. Méthodes biochimiques</i>	
1.1.2.1. La culture	
1.1.2.2. Le typage isoenzymatique	
<i>1.1.3. Recherche des antigènes parasitaires</i>	
1.1.3.1. Coproantigènes	
1.1.3.2. Recherche d'antigènes sur pus de drainage	
<i>1.1.4. Mise en évidence du génome du parasite par amplification</i>	
1.1.4.1. La PCR conventionnelle	
1.1.4.2 La PCR multiplex	
1.1.4.3 La PCR-SHELA	
1.1.4.4. La PCR en temps réel	
1.1.4.5. Intérêts et limites	

génique

1.2. Diagnostic indirect	p.134
---------------------------------	--------------

<i>1.2.1. Mise en évidence des antigènes circulants</i>	
<i>1.2.2. Détection des anticorps spécifiques</i>	
1.2.2.1. Les tests de dépistage	
α) Le test d'agglutination au latex	
β) L'hémagglutination indirecte	
γ) L'Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)	

- δ) L'immunofluorescence indirecte
- 1.2.2.2. Tests de confirmation
- 1.2.2.3. Intérêts et limites

<u>2. Imagerie</u>	p.141
<u>3. Diagnostics différentiels</u>	p.142
3.1. Amibiase intestinale	p.142
3.2. Amibiase hépatique	p.143
<u>4. Stratégies diagnostiques</u>	p.144
4.1. Porteur asymptomatique	p.144
4.2. Amibiase intestinale aiguë	p.144
4.3. Amibiase extra-intestinale	p.147
 CHAPITRE 6 : TRAITEMENT	 p.148
<u>1. Les classes thérapeutiques</u>	p.148
1.1. Amoebicides tissulaires = Amoebicides diffusibles	p.148
1.2. Amoebicides de contact	p.149
1.3. Autres molécules	p.151
<u>2. Stratégies thérapeutiques</u>	p.152
2.1. Porteurs asymptomatiques	p.152
2.2. Amibiase intestinale	p.153
2.3. Amibiase extra-intestinale	p.154
<u>3. Perspectives</u>	p.155
3.1. Résistance	p.155
3.2. Vaccin	p.158
3.3. Médecine traditionnelle	p.160
 CHAPITRE 7 : PROPHYLAXIE	 p.164
<u>1. Générale</u>	p.164
<u>2. Individuelle</u>	p.164
2.1 Généralités	p.165
2.2 Purification de l'eau	p.165
<i>2.2.1 Ebullition</i>	

- 2.2.2. Désinfection chimique*
- 2.2.3 Désinfection par microfiltration*
- 2.2.4 Conservation de l'eau traitée*

CONCLUSION **p.174**

BIBLIOGRAPHIE **p.177**

INTRODUCTION

L'organisme que nous connaissons aujourd'hui sous le nom d'*Entamoeba histolytica* a été décrit pour la première fois en 1875 par Lösch. Il appelle ce microorganisme *Amoeba coli* du fait de sa localisation dans le côlon de patients atteints de dysenterie. En 1903, Schaudinn propose la dénomination définitive d'*Entamoeba histolytica*. Le cycle parasitaire est décrit par Dobell en 1928. C'est en 1925 qu'E. Brumpt émet l'hypothèse d'une espèce non pathogène morphologiquement identique à *E. histolytica* qu'il nomme *Entamoeba dispar*. Ce n'est qu'en 1993, suite à la mise en évidence de nombreuses différences antigéniques et génomiques suivant les isolats symptomatiques ou non que l'hypothèse de Brumpt est devenue la règle avec la redescription des deux espèces. En 1997, l'OMS définit l'amibiase comme une infection par *E. histolytica* que le malade soit symptomatique ou non.

La différenciation des deux espèces et la pathogénicité exclusive d'*E. histolytica* ont entraîné une réévaluation des données concernant la prévalence de l'amibiase.

Après une présentation et une discussion des données épidémiologiques disponibles, nous étudierons les caractéristiques d'*E. histolytica* et les différentes présentations cliniques de l'amibiase. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux connaissances les plus récentes sur les mécanismes physiopathologiques et les interactions entre l'agent pathogène et l'hôte conduisant à une symptomatologie variée. Enfin, nous décrirons les dernières stratégies diagnostiques, mises en place suite à l'évolution des techniques, et thérapeutiques et nous rappellerons les conseils d'utilisation des produits de désinfection de l'eau, seule prévention efficace contre l'amibiase.

CHAPITRE 1 : EPIDEMIOLOGIE

L'amibiase est la troisième maladie parasitaire responsable de mortalité après le paludisme et la bilharziose. Il lui est attribué environ 100 000 décès par an dans le monde (WHO 1997). *Entamoeba histolytica* est la seule espèce pathogène en cause dans l'amibiase maladie. C'est un protozoaire cosmopolite présent sous toutes les latitudes.

L'amibiase maladie est plus particulièrement présente entre le 40^{ème} degré de latitude Nord et le 30^{ème} degré de latitude Sud, c'est-à-dire sous les climats équatorial, tropical, subtropical et méditerranéen (Nozais 1996). Néanmoins, les facteurs climatiques ont moins d'impact sur l'incidence de la maladie que les conditions d'hygiène, du fait du mode de transmission oro-fécale (Ravdin 2005). Les régions les plus endémiques concernent les pays en développement qui se trouvent sous ces latitudes.

1. Limites des données épidémiologiques

Les anciennes études épidémiologiques sont difficilement interprétables du fait de la faible sensibilité de l'examen microscopique des fèces et de l'impossibilité de différencier microscopiquement les kystes et les formes saprophytes d'*E. histolytica* par rapport à une autre amibe saprophyte non hématophage *Entamoeba dispar*. Ce n'est qu'à partir de 1993 que ces deux espèces ont été clairement séparées dans la nomenclature.

Actuellement, il est toujours pratiquement impossible de connaître avec précision les prévalences exactes par pays ou régions d'endémie car les enquêtes

sont limitées géographiquement et généralement sont effectuées sur un faible échantillonnage de la population. (Nozais 1996)

Enfin, les techniques d'examen coprologique ou les méthodes de sérodiagnostic ne sont pas standardisées entre les diverses études publiées.

Aucun système de surveillance de cette parasitose avec recueil des données n'a été mis en place (Bonnin 2002).

2. Répartition mondiale

La prévalence du complexe *E. dispar*/*E. histolytica* a été grossièrement évaluée à environ 10 % dans la population mondiale avec d'importantes variations selon les zones géographiques. Elle peut atteindre 50 % de la population dans certaines régions non industrielles, notamment au Mexique (Caballero 1994).

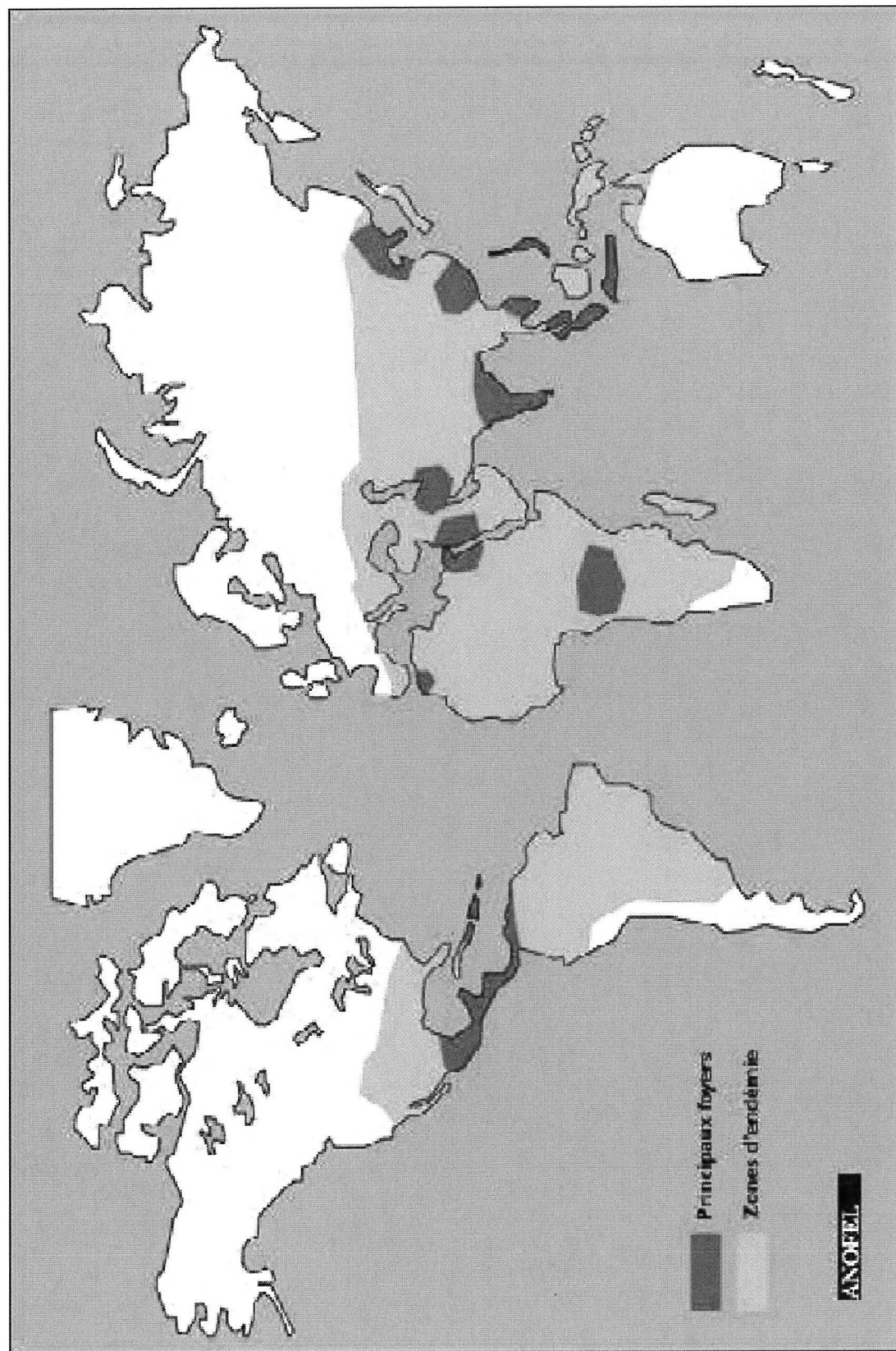
Les prévalences respectives d'*E. histolytica* et d'*E. dispar* sont inconnues du fait du nombre limité d'échantillons testés et de l'absence d'utilisation de techniques désormais à disposition permettant de différencier sans ambiguïté ces deux espèces. Compte tenu du ratio forme asymptomatiques/formes symptomatiques, 90 % des souches identifiées correspondraient en fait à *E. dispar* (Bonnin 2002).

La prévalence d'*E. histolytica* est très variable suivant les pays, entre 1 % en Grèce (Evangelopoulos 2001) et 21 % en Egypte.

L'infestation par *E. histolytica* n'entraîne une forme symptomatique (colite, abcès) que dans 5 à 10 % des cas (Haghighi 2003). Néanmoins, 50 millions de cas d'amibiase invasive se déclarent chaque année et environ 100 000 décès en découlent (Walsh 1988, WHO 1997, Petri 2000). Les régions de forte endémicité, correspondant à un nombre élevé d'amibiase maladie et un fort pourcentage de porteurs de kystes, sont : l'Afrique intertropicale, le Maroc, l'Egypte, l'Afrique du

sud, l'Asie (Subcontinent indien, Indonésie, Péninsule indochinoise), l'Amérique Centrale et du Sud (Mexique, Equateur) (Petri 1999).

Trois situations épidémiologiques concernant les infections par le complexe *E. dispar*/*E. histolytica* peuvent être analysées : les pays en développement, les pays industrialisés et le contexte épidémique.



- 13 - Répartition d'*Entamoeba histolytica* dans le monde ANOFEL

2.1. Zones endémiques

De nombreuses études épidémiologiques ont été menées depuis les années 70 dans les zones endémiques en Asie, en Afrique et en Amérique du Sud. Elles sont basées, en majorité, sur l'examen microscopique des selles donnant ainsi une estimation de la prévalence du complexe *E. dispar*/*E. histolytica*. Depuis quelques années, l'utilisation de tests de détection de copro-antigènes spécifiques ou de séquences génomiques caractéristiques d'espèces par biologie moléculaire permet de mieux connaître la répartition respective de chacune des deux espèces.

2.1.1. Asie (Haque 2002)

Au Bangladesh, une étude prospective a été réalisée durant 2 ans, sur une population d'enfants non scolarisés, âgés de 2 à 5 ans, dans la banlieue de Dhaka. C'est une zone très peuplée avec de faibles conditions sanitaires et d'hygiène (Haque 1997). L'infection par *E. histolytica* était diagnostiquée par l'utilisation de *E. histolytica* II®, un test de détection de copro-antigènes spécifiques de *E. histolytica* ou par la positivité de la culture des selles.

La prévalence d'*E. histolytica* chez des enfants asymptomatiques était de 4,3 %. Sur 1 an de suivi, 39 % des enfants ont présenté une nouvelle infection à *E. histolytica* (présence de copro-antigènes ou positivité de la culture après 2 mois de contrôles négatifs) seulement 3,1 % ont présenté un épisode dysentérique (Haque 2001).

La sérologie a montré que 14,6 % des enfants avaient des anticorps IgG anti-lectine ; ce taux était de 12 % chez les enfants entre 1 et 2 ans et atteignait 80 % chez les enfants de plus de 14 ans. Ceci permet de suspecter une prévalence nettement augmentée au cours des premières années de vie

des enfants (Haque 2006a). Chez 230 enfants ayant des anticorps IgG spécifiques, 55 % ont présenté une nouvelle infection au cours des 2 ans d'étude. 80 % des enfants à sérologie positive sont restés asymptomatiques et 12 % d'entre eux ont présenté des signes cliniques essentiellement manifestés sous forme de diarrhée dans les 2 mois suivant la séroconversion. Dans 17 % des cas, il y a eu plus d'une récurrence mais la majorité de ces infections ont été progressivement résolues sans traitement (Paul 2007).

Au Vietnam, à Hué (300 000 habitants), une étude conduite à l'hôpital de Phu Cat a montré, par analyse PCR des selles, que 9,6 % de la population avait de l'ADN d'*E. histolytica* dans les selles. La sérologie était positive chez 22,7 % de la population (Blessmann 2006). Une précédente étude, conduite dans la même région, montrait une incidence de 4,1 % par an. Le suivi de cette population a montré la présence d'*E. histolytica* au cours de périodes supérieures à 1 an chez des patients asymptomatiques (Blessmann 2003).

2.1.2. Afrique

Les enquêtes sérologiques ont commencé dans les années 80 avec une étude montrant que 25 % de la population du Soudan présentait des anticorps sériques (sans distinction entre *E. dispar* et *E. histolytica*) (Stauffer 2006).

Actuellement, la prévalence sur le continent africain, établie par séroconversion ou présence IgA anti GalNac lectine dans les selles, est estimée entre 15 et 70 % (Stauffer 2003).

L'Afrique du Sud et l'Égypte sont deux terrains de recherches épidémiologiques qui ont permis de relever des disparités importantes en

fonction de l'équipement sanitaire des communautés mais aussi des évolutions cliniques différentes selon les populations.

Une étude prospective conduite pendant 5 ans, à Durban, sur 93 patients convalescents suite à un abcès hépatique amibien et 963 témoins (sujets contact), a permis d'établir la prévalence d'*E. histolytica* à 2,4 % tandis que celle de *E. dispar* atteignait 8 %. L'incidence a été évaluée entre 0,5 % et 1,45 % pour *E. histolytica* et entre 2,1 % et 3,6 % pour *E. dispar*. Ces chiffres, établis par analyse isoenzymatique et culture d'échantillons de selles, doivent être réévalués à la hausse du fait du taux élevé (13,1 %) de séroconversion dans la population témoin (Ravdin 2003).

Une autre étude effectuée dans 2 communes dont l'une possède un système de traitement des eaux (Langebaan) a montré une prévalence variable d'*E. histolytica*. En effet, chez les enfants de Langebaan, les 2 espèces *E. histolytica* et *E. dispar* étaient retrouvées (prévalence *E. histolytica* = 2 %) tandis qu'à Rawsonville on n'observait qu'*E. dispar* mais avec une prévalence de plus de 50 % (Jackson 2000).

Au contraire, en Egypte, dans une région rurale (village de Kader Daoud), la prévalence d'*E. histolytica* était très proche de celle d'*E. dispar* dans la population asymptomatique (21,4 % contre 24,2 %) (Abd-alla 2000a).

Au Caire, la présence d'*E. histolytica* a été recherchée chez des patients présentant un épisode de diarrhée aiguë par rapport à des sujets sains ou présentant une diarrhée chronique. La prévalence dans ces différents groupes a été respectivement de 57,1 %, 21,4 % et 25 % tandis que celle d'*E. dispar* était de 8,3 %, 24,2 % et 20,3 %. Ceci a démontré d'une part, le rôle pathogène important d'*E. histolytica* dans les diarrhées aiguës dans cette région, d'autre part, le fort taux d'infestation par le complexe *E. dispar/E. histolytica* dans cette population. Enfin, il ressort de

cette étude que le diagnostic d'une amibiase invasive dans les régions d'endémie ne peut se faire par sérologie (les taux d'anticorps étant élevés dans toutes les sous populations) (Abd-alla 2002).

En Côte d'Ivoire, sur 967 enfants, le rapport entre les prévalences d'*E. histolytica* et *E. dispar* était d'environ 1/18 (0,83 % et 15 % de la population) par détermination avec une technique ELISA de capture d'antigènes (Heckendorn 2002) chez des patients asymptomatiques. Le taux de prévalence du complexe *E. dispar/E. histolytica* de 31,4 % traduit une haute endémicité qui se généralise pour toute l'Afrique de l'Ouest (entre 37 % et 53 %).

Au Ghana, une forte prévalence du complexe *E. dispar/E. histolytica* a été démontrée (39,8 %) dans une zone rurale mais dans cette population pratiquement seule *E. dispar* (ratio 1/97) est présente (Verweij 2003).

Peu d'études ont été menées sur les incidences respectives d'*E. histolytica* et *E. dispar* en Afrique. Les études en Afrique du Sud, en Egypte et en Afrique tropicale montrent que le parasite est commun à tout le continent et que la majorité des infections sont asymptomatiques. Enfin, lorsque la différenciation des espèces est faite, *E. dispar* est la plus largement représentée.

2.2. Pays industrialisés

Dans l'ensemble des pays industrialisés il n'existe pas d'études épidémiologiques récentes. Les profils épidémiologiques sont très proches quelque soit le pays.

Aux Etats-Unis, l'amibiase est endémique et la dernière étude donnait une prévalence de 4% dans la population générale avec certains groupes à risque.

La majorité des infections à *E. histolytica* diagnostiquées aux USA se développe chez les réfugiés, les immigrants et les travailleurs migrants.

Par exemple, en 1993, 2790 cas d'amibiase ont été déclarés au Center for Disease Control and Prévention. 33 % des cas étaient des patients originaires d'Amérique latine et 17 % des nouveaux immigrants venant d'Asie et des îles du Pacifique.

Le portage asymptomatique a été estimé entre 17 et 33 % dans ces populations (Summary of notifiable diseases 1993).

Une autre cause d'augmentation du risque est un séjour de longue durée (supérieure à 1 mois) dans une zone endémique. Dans une étude, sur 469 patients présentant une diarrhée au retour d'un voyage, 10 % présentaient une amibiase (Jelinek 1996).

Dans les institutions pour personnes handicapées mentales, l'incidence d'*E. histolytica* est très forte (jusqu'à plus de 73 % dans une étude) avec une forme symptomatique fréquente et une mortalité significative (Sexton 1974, Thacker 1979).

A la fin des années 70, l'incidence des infections chez les hommes homosexuels a fortement augmentée. La prévalence d'*E. dispar* et d'*E. histolytica* approchait 40 à 50 % de cette population.

Aujourd'hui, dans les pays développés (Italie, USA) cette prévalence est comprise entre 4 et 21 % mais la plupart des infections sont dues à *E. dispar*.

De plus, une étude conduite à Mexico dans la population homosexuelle a montré que l'augmentation de la prévalence chez les sujets HIV⁺/SIDA par

rapport aux sujets HIV⁺ était souvent dus à une forte proportion d'*E. dispar* et que les porteurs d'*E. histolytica* étaient, en majorité, asymptomatiques (Moran 2005).

En Australie, la prévalence de la parasitose est augmentée chez les immigrants (Inde, Sud-Est asiatique) et les homosexuels mâles. Néanmoins, on note une présence plus forte d'amibiase notamment invasive chez les autochtones du Territoire du Nord (Van Hal 2007).

Une seule étude importante a été effectuée dans un hôpital de Sydney sur 5921 échantillons fécaux de patients diarrhéiques qui a montré que 3 % (177) étaient infectés par une amibe (*E. dispar*, *E. histolytica* ou *Entamoeba moshkovskii*) et que les 2 espèces non pathogènes (*E. dispar* et *E. moshkovskii*) étaient 10 fois plus communes qu'*E. histolytica* (Fotedar 2007).

Le portage asymptomatique chez les immigrants a été évalué à 2 %. Pour les voyageurs, le risque est augmenté mais il n'existe pas de données sur leur portage asymptomatique.

En Europe de l'Ouest, un suivi des gastro-entérites réalisé aux Pays-Bas entre 1996 et 1999 montre une fréquence d'isolement du complexe *E. dispar/E. histolytica* de 1,1 % chez des patients symptomatiques et de 0,7 % chez les patients asymptomatiques (Bonnin 2002).

En France, le portage chez les égoutiers est de 11 % pour le complexe *E. dispar/E. histolytica* (Bonnin 2002). La prévalence du complexe dans la population générale est estimée à 4 % et atteint 20 % dans la population homosexuelle mâle (Nozais 1996).

Une étude allemande s'est intéressée aux voyageurs et a montré une prévalence de 0,3 % pour *E. histolytica* au retour du séjour (Weinke 1990).

Les cas d'amibiase, au Japon, contrairement aux autres pays industrialisés, sont principalement des cas autochtones et non dus aux immigrants. Il y a environ 500 à 600 cas et 3 à 4 décès par an. Ces cas arrivent principalement dans 2 populations, les personnes institutionnalisées et les hommes homosexuels. Le Japon est le seul pays où l'augmentation de la prévalence chez les homosexuels est due à un plus grand nombre d'infections par *E. histolytica* alors que dans les autres états celle-ci résulte d'*E. dispar*. La prévalence déterminée par ELISA chez 484 handicapés mentaux atteint 12,3 % (Nozaki, 2006).

2.3. Contexte épidémique

De graves accidents épidémiques peuvent se produire à l'occasion de rassemblements importants de personnes, notamment dans des régions de faibles endémies.

- A Chicago, pendant l'exposition universelle de 1933, une canalisation défectueuse dans un hôtel avait engendré plusieurs centaines de cas primaires d'amibiase-maladie ayant à leur tour été à l'origine d'innombrables cas secondaires : 1409 cas de dysenterie et une centaine de décès avait été dénombrés.

- A Tbilissi, capitale de la Géorgie, entre le 26 mai et le 3 septembre 1998, 117 cas d'amibiase ont été rapportés dont 106 cas probables d'abcès hépatique. L'incidence anormalement élevée des cas et leur distribution géographique ont permis de conclure à une épidémie d'origine hydrique à partir d'une station de filtration des eaux de surface d'un lac (Kreidl 1999, Barwick 2002).

-D'autres épidémies de moindre importance ont été étudiées dans les années 50 dans un camp militaire et au début des années 80 dans une clinique pratiquant l'irrigation colique. Dans ces 2 contextes épidémiques, la forte expression symptomatique serait due à un dérèglement de la flore intestinale concomitante avec l'infection par *E. histolytica* (Variyam 2007).

3. Répartition en fonction du sexe

Le mode de transmission d'*E. histolytica* à l'homme par l'eau ou les aliments souillés entraîne une probabilité de contamination identique pour les 2 sexes. Il existe peu de données sur la susceptibilité particulière des hommes ou des femmes. Néanmoins, dans l'étude séro-épidémiologique conduite au Mexique (Caballero 1994) ainsi que dans celle menée à Hué (Blessman 2003) les femmes (enfants et adultes) présentaient plus souvent des anticorps IgG anti-amibes dans leur sérum. L'infection asymptomatique par *E. histolytica* est distribuée également entre les sexes.

Ces résultats contrastent avec les résultats d'une étude rétrospective basée sur l'analyse de publications de 1929 à 1997 menée dans le but de déterminer la répartition des infections symptomatiques ou asymptomatiques par *E. histolytica* chez les 2 sexes (Acuna-Soto 2000). Elle montre une plus grande proportion d'hommes que de femmes affectés quelque soit la forme d'amibiase invasive (dysenterie, colite ou abcès hépatique). Seule l'amibiase fulminante ou amibiase colique maligne atteint également les hommes et les femmes. La proportion supérieure d'hommes atteints est retrouvée à tous les âges, c'est-à-dire avant, pendant et après le maximum d'activité hormonale ce qui permet d'exclure ce facteur comme cause du déséquilibre.

L'exemple le plus flagrant d'une susceptibilité différente à l'amibiase maladie est l'abcès hépatique. En effet, cette expression de la maladie se retrouve 10 fois plus souvent chez les adultes que chez les enfants et, suivant les données, 3 à 10 fois plus d'hommes que de femmes sont atteints.

La cause du déséquilibre homme/femme dans l'expression de l'amibiase viscérale est encore inconnue mais des facteurs comportementaux (alcool...) ou génétiques pourraient être susceptibles de favoriser ou de protéger de l'infection.

4. Répartition en fonction des formes cliniques

La colonisation asymptomatique par *E. histolytica* est définie par la présence de kystes ou de trophozoïtes d'*E. histolytica* dans les selles associée à un Hémocult® négatif et une absence d'atteinte extra-intestinale. Il est à noter que la colonisation par l'espèce morphologiquement identique *E. dispar* est 3 fois plus commune dans les pays industrialisés et jusqu'à 10 fois plus fréquente dans les pays en développement (Petri 1999).

Environ 90% des patients infectés par *E. histolytica* n'auront aucun symptôme, quelque soit la région du monde, et seront uniquement des porteurs de kystes augmentant la dissémination. La colonisation se résoudra d'elle-même en 12 à 18 mois (Tanyuksel 2003, Ravdin 2005).

Il y a donc environ 10% des patients infectés qui vont développeront une amibiase invasive et cela généralement durant la première année de portage.

La dysenterie amibienne affecte de façon égale toutes les populations d'âge et la répartition suivant le sexe est pratiquement identique chez les enfants et légèrement supérieure chez les hommes adultes.

L'amibiase fulminante est une présentation rare de l'amibiase invasive, environ 0,5 % des cas. Elle apparaît chez des sujets à risque comme les femmes enceintes, les immunodéprimés, les patients très jeunes ou sous corticothérapie. Le diabète et la consommation d'alcool peuvent aussi être des facteurs de risque. Le taux de mortalité, même en cas de prise en charge adaptée, reste importante ($\geq 40\%$)(Stanley 2003).

Une autre des complications de la colite amibienne est le mégacôlon toxique apparaissant dans 0,5 % des cas et généralement dû à une mauvaise prise en charge avec administration de corticoïdes.

D'autres formes d'évolution de l'amibiase invasive intestinale existent, comme l'amoebome qui est une pseudo tumeur du côlon, des ulcérations péri-anales ou un passage à la chronicité sous forme non dysentérique. Ces formes restent néanmoins rares.

De nombreuses localisations extra-intestinales sont observées, mais l'abcès hépatique est de loin la plus fréquente. Il touche majoritairement les adultes et de façon préférentielle les hommes. Il peut y avoir un rapport de 10/1 entre hommes et femmes. Le taux de mortalité très élevé avant 1980, est nettement plus faible actuellement (1 à 3 %) grâce à la prise en charge médicale efficace. Le patient typique est un homme entre 18 et 40 ans sans symptômes intestinaux (Stanley 2003).

Certaines régions sont connues pour le grand nombre d'abcès amibien hépatique comme la province d'Hué au Vietnam où l'incidence annuelle est de 21 cas pour 100 000 habitants. La ville de Durban, Afrique du Sud, présente aussi de nombreux cas d'abcès hépatiques. Dans, ces deux régions, des facteurs comportementaux ont pu être établis, comme la consommation d'alcool, ou environnementaux, avec un pic de cas durant l'été par augmentation de la contamination passive de la nourriture par les mouches.

L'abcès amibien hépatique est présent principalement dans les régions endémiques mais peut atteindre les voyageurs occidentaux. Chez ceux-ci, il apparaît généralement dans les 2 à 5 mois après le retour.

Au Vietnam, contrairement à l'idée d'une pathologie grave et obligatoirement accompagnée de symptômes, l'existence de patients asymptomatiques ayant un abcès hépatique a été établi (Blessmann 2006).

La complication la plus courante de l'abcès hépatique est l'amibiase pleuro-pulmonaire consécutive à un passage trans-diaphragmique des trophozoïtes. Ceci arrive chez 7 à 20 % des patients présentant un abcès hépatique (Stanley 2003).

L'abcès hépatique peut aussi se rompre dans le péritoine (incidence 2 à 7 %) dans certains cas, il peut y avoir une contamination du péricarde qui entraîne la mort par tamponnade ou péricardite dans 30 % des cas.

Les abcès cérébraux sont très rares (< 0,1 %) et sont toujours consécutifs à un abcès hépatique.

Enfin, il existe des complications génito-urinaires (Stanley 2003).

Dans ce large éventail d'expressions cliniques, l'amibiase se traduit le plus souvent par la dysenterie ou un abcès hépatique. Selon les régions, les symptômes prédominants sont différents avec au Caire une forte proportion d'épisodes diarrhéiques aigus tandis qu'à Durban ou Hué, les abcès hépatiques sont majoritairement observés. L'hypothèse émise est l'existence possible de différentes souches avec des facteurs de virulence et un tropisme cellulaire variable. Cependant il n'est pas à exclure une susceptibilité particulière liée à l'ethnie.

5. Facteurs de risque

La répartition d'*E. histolytica* est cosmopolite, avec cependant une prévalence très largement supérieure dans les pays tropicaux et subtropicaux due à des facteurs environnementaux directement en relation avec des facteurs socio-économiques.

Un ensemble de facteurs de risque prédisposant à l'infection par *E. histolytica* et des facteurs augmentant la sévérité des symptômes ont été établis.

Ainsi, la prévalence est augmentée chez les personnes à faible statut socio-économique dans les pays d'endémie. Chez ces populations, la forte promiscuité (peu de pièces dans les maisons et un nombre élevé d'habitants) associée à l'absence d'eau courante et/ou de traitement des eaux de boisson (utilisation d'eau de rivière, pas de filtration ou de traitement chimique) entraînant un manque d'hygiène favorisent la transmission des kystes. De plus, dans certaines régions, l'utilisation d'engrais humain augmente considérablement ce risque (Benetton 2005).

Dans les pays industrialisés, la prévalence de l'infection est augmentée chez les immigrés venant de régions endémiques, les voyageurs revenant de ces pays, les personnes institutionnalisées et plus particulièrement dans les hôpitaux psychiatriques et chez les homosexuels mâles.

Les facteurs augmentant la sévérité des symptômes sont la malnutrition, la corticothérapie et l'immunodépression. Les enfants et plus particulièrement les prématurés ainsi que les femmes enceintes ou en post-partum sont des sujets à risque. Enfin, les hommes développeront plus fréquemment une amibiase hépatique (Ravdin 2005).

CHAPITRE 2 : DESCRIPTION D'Entamoeba histolytica

1. Historique (Nozais 1996, Clark 1998)

L'organisme que nous connaissons aujourd'hui sous le nom d'*Entamoeba histolytica* a été décrit pour la première fois en 1875 par Lösch. Il appelle ce micro-organisme *Amoeba coli* du fait de sa localisation dans le côlon de patients atteints de dysenterie. En 1903, Schaudinn propose la dénomination définitive d'*Entamoeba histolytica*. Dobell, en 1919, montre qu'*E. histolytica* est associée aux abcès hépatiques présents chez les malades atteints d'amibiase. Il décrit le cycle parasitaire en 1928.

C'est pour la première fois en 1925 qu'Emile Brumpt émet l'hypothèse d'une espèce non pathogène morphologiquement identique à *E. histolytica* et qu'il nomme *E. dispar* (Brumpt 1925). L'ensemble des parasitologues de l'époque rejette cette idée du fait de l'existence prouvée de porteurs de kystes asymptomatiques d'*E. histolytica* (Walker 1913) et de la difficulté de prise en charge par les cliniciens, les 2 espèces étant morphologiquement indifférenciables. Le terme *Entamoeba dispar* disparut de la littérature pendant plus de 50 ans.

A partir de 1973, la probable existence de 2 espèces fut à nouveau évoquée grâce à une différence d'agglutination de protozoaires issus de patients symptomatiques et asymptomatiques (Martinez Palomo 1973). C'est surtout en 1978 que Sargeant pu établir 2 groupes, pathogénique ou non pathogénique, grâce à l'analyse électrophorétique de 4 isoenzymes. Des différences antigéniques et génomiques furent mises en évidence dans les

années 80, ce qui permit la redescription d'*E. histolytica* et d'*E. dispar* par Diamond et Clark en 1993 (Diamond 1993).

En 1997, l'OMS valide l'existence des 2 espèces et redéfinit l'amibiase comme une infection par *Entamoeba histolytica* que le malade soit symptomatique ou non.

2. Morphologie

E. histolytica est un eucaryote primitif.

Embranchement : Sarcomastigophora

Sous-embranchement : Sarcodina (existence de pseudopodes)

Super-classe : Rhizopoda

Classe : Lobosea

Sous-classe : Gymnamoebida

Ordre : Amoebida

Sous ordre : Tubulina

Genre : Entamoeba

(Committee on systematics and evolution of the society of protozoologists, 1980)

E. histolytica se déplace au moyen de pseudopodes et sa multiplication asexuée se fait par division binaire.

L'amibe se présente sous trois formes morphologiquement et biologiquement différentes ; deux formes végétatives mobiles, *E. histolytica minuta* et *E. histolytica histolytica* et une forme kystique résistante permettant la dissémination.

2.1. Le noyau

Le noyau s'observe après coloration de la chromatine au lugol car il est peu visible à l'état frais. La structure du noyau est caractéristique du genre *Entamoeba*.

Le noyau est arrondi, bien délimité par une membrane nucléaire nette, d'un diamètre de 4 à 7 μm dans les trophozoïtes et plus petit dans les kystes mûrs à 4 noyaux. Il possède un caryosome (amas chromatidien) arrondi, central ou subcentral. Une partie de la chromatine est périphérique et tapisse la surface interne de la membrane nucléaire en amas fins et régulièrement disposés (aspect en collier de perles). Il n'existe pas de filaments chromatidiens entre le caryosome et la membrane nucléaire.

2.2. Les formes végétatives ou trophozoïtes

Les formes végétatives d'*E. histolytica* sont rapidement détruites par la dessiccation, les écarts de température, le pH et les enzymes gastriques et ne peuvent survivre que quelques minutes dans l'environnement.

2.2.1. *E. histolytica* forme *minuta*

Ce trophozoïte mesure 10 à 15 μm . Il possède un ectoplasme hyalin et transparent bien visible au niveau du pseudopode et un endoplasme contenant de nombreuses petites vacuoles digestives.

La forme *minuta* se retrouve à la surface de la muqueuse du caecum et du côlon où sont réunies les conditions favorables à leur survie et leur multiplication : anaérobiose relative, température de 35 à 40°C, pH

légèrement acide (6,1-6,6), présence de substances phagocytibles (bactéries et débris alimentaires)

2.2.2. *E. histolytica* forme *histolytica*

C'est la forme végétative pathogène, hématophage, responsable des formes invasives de l'amibiase. Les trophozoïtes sont plus grands que ceux de la forme *minuta* : 12 à 40 μm , ce qui lui a donné le nom *magna*.

Ils sont aussi composés d'un ectoplasme hyalin au niveau des pseudopodes et un endoplasme granuleux contenant des vacuoles digestives de petite taille où l'on retrouve des hématies rouges plus ou moins hémolysées.

La forme *histolytica* est présente dans l'intimité des tissus (sous-muqueuse colique, parenchymes hépatique et pulmonaire...).

C'est la forme capable de phagocyter et lyser les hématies.

2.3. Les kystes

Les kystes mûrs et infestants retrouvés dans les selles et l'environnement sont la forme de résistance et de dissémination d'*E. histolytica*.

Ils sont sphériques, d'un diamètre de 10 à 15 μm et sont entourés d'une double paroi.

Ils contiennent 4 noyaux qui ne sont pas disposés sur le même plan ainsi qu'une ou deux inclusions sidérophiles, en bâtons épais, appelées chromidium ou corps cristalloïdes et composées de particules ribosomiques. Les vacuoles digestives sont absentes.

Toutes les formes d'évolution de la forme végétative à la forme kystique peuvent être visualisées dans l'examen microscopique des selles. Les kystes immatures à 1 ou 2 noyaux peuvent être présents. Ces kystes contiennent des chromidium mais aussi des vacuoles iodophiles. Dans le kyste à un noyau, cette vacuole repousse le noyau à la périphérie tandis que dans le kyste à 2 noyaux, ils se retrouvent côte à côte.

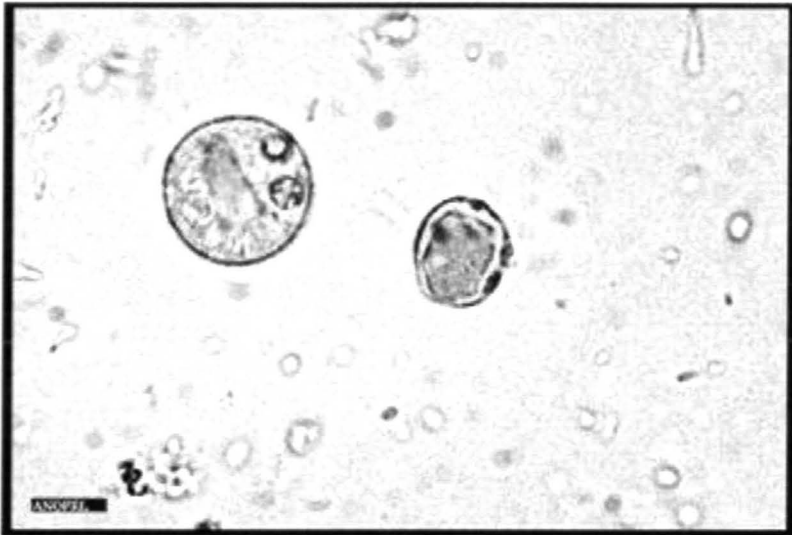
Les kystes sont formés dans la lumière colique ce qui permet leur évacuation avec le bol fécal.

La durée de survie dans l'environnement dépend des conditions de température et d'humidité. Ils peuvent survivre environ 48 h entre 20°C et 25°C dans la nourriture et jusqu'à 1 à 3 mois dans l'eau à 4°C ou dans les boues des stations d'épuration. Sur les mains, ils sont détruits en 10 minutes par dessiccation (Wery 1995, Bonnin 2002).

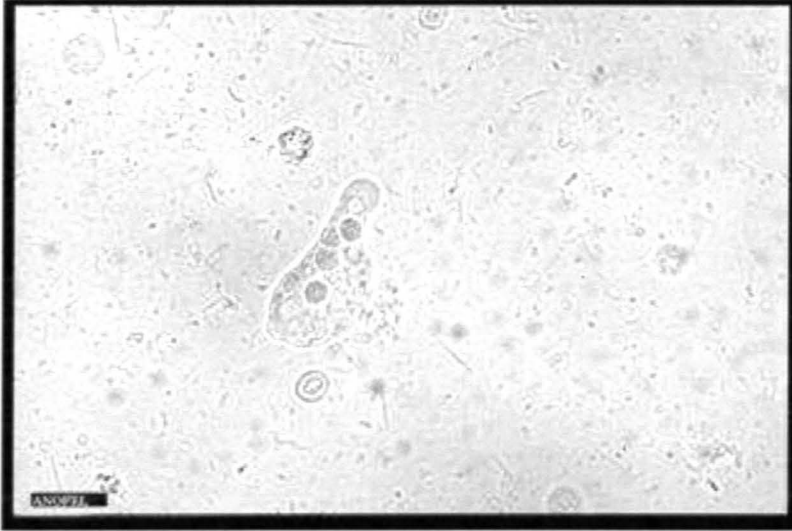
Les kystes sont inactivés par des températures supérieures à 68°C, mais les quantités de chlore utilisées dans la désinfection des eaux de boisson sont insuffisantes.



Kyste d'*E. histolytica* (ANOFEL)



Kyste immature d'*E. histolytica* et *Blastocystis hominis* (ANOFEL)



Forme végétative d'*E. histolytica* hématies phagocytées présentes dans le cytoplasme (ANOFEL)

3. Génome (Bhattacharya 2000, Ravdin 2005)

La taille du génome haploïde d'*E. histolytica* est d'environ 24 Mb (Stanley 2005). Il est très répétitif (environ 10 % du génome correspond à des séquences répétées) et, du fait de sa faible taille, il présente une forte densité de petits gènes (environ 100 nucléotides), proches de ceux des eucaryotes supérieurs.

Environ 25 % (Stanley 2005) des gènes codant des protéines possèdent des introns (Mann 2002) et les régions intergéniques sont très petites (0,4 à 2,3 kb). La majorité des gènes sont transcrits dans le même sens. Les séquences non transcrites en région 5' et 3' des gènes structuraux sont généralement courtes (5-20 pb et 14-144 pb).

Au niveau du promoteur de gènes, les 3 éléments conservés chez les eucaryotes supérieurs sont aussi retrouvés chez les amibes ainsi que des éléments de régulation positifs (URE1, URE2, URE4 et URE5) et négatifs (URE3) de la transcription.

Comme chez de nombreux protozoaires, les chromosomes d'*E. histolytica* ne se condensent à aucune étape du cycle cellulaire. Il est donc difficile d'établir la ploïdie et de définir correctement l'organisation des chromosomes. Néanmoins, Clark *et al*, l'ont estimé au moins égale à 4n (Clark 2000)

E. histolytica possède un caryotype complexe avec 6 brins d'ADN linéaires (227 à 1361 kb) et de multiples plasmides circulaires de 5 à 50 kb. Ces ADN circulaires ont une grande importance dans le génome, par exemple l'ensemble des gènes codant les ARN ribosomiaux sont contenus dans le plasmide EhR1 et aucune copie de ces molécules n'a été retrouvée dans l'ADN linéaire.

4. Cycle parasitaire (Nozais 1996, Haque 2003, Médecine tropicale et des voyages 2004, Tanyuksel 2003)

4.1. Transmission

Le cycle d'infestation est simple ne nécessitant qu'un hôte avec cependant la possibilité de concentration dans divers réservoirs. Nous développerons les aspects de cette infection et les caractéristiques assurant la dissémination et le maintien du cycle.

4.1.1. Mode de contamination

La contamination se fait uniquement par voie orale, par ingestion de kystes matures présents dans l'environnement.

Les sources d'infection sont variées et liées à la pollution fécale. Les plus fréquentes en zone d'endémie sont les suivantes :

- l'eau,
- les fruits et légumes crus, cultivés avec de l'engrais humain ou lavés avec de l'eau polluée,
- les mains sales souillées de terre ou de matières fécales et portées à la bouche,
- les ustensiles de cuisine et couverts mal nettoyés
- les mouches domestiques pouvant transporter sur leurs pattes des kystes récoltés sur les fèces et les déposer sur des aliments ou des ustensiles de cuisine. Les kystes ingérés par les mouches ne sont pas altérés par leur passage dans le tractus digestif et sont rejetés intacts dans les excréments.

Dans les pays industrialisés, la contamination oro-fécale se retrouve principalement dans les milieux défavorisés lors de transmission intra-familiale mais aussi lors d'exposition aux selles dans les centres de soins ou les laboratoires d'analyses médicales (Tanyuksel 2003). Une épidémie dans une clinique du Colorado s'est déclarée du fait d'un défaut de stérilisation d'équipement médical (Istre 1982). Néanmoins, le principal mode de contamination est la transmission directe oro-anale lors de certaines pratiques sexuelles dans la communauté homosexuelle masculine.

4.1.2. Réservoir

L'homme est pratiquement le seul hôte à pouvoir héberger le cycle et il est donc le principal facteur de dissémination des kystes.

E. histolytica est capable d'infecter les chats, les chiens, les porcs et les primates supérieurs, mais aucune étude n'a encore démontré avec certitude des cas de transmission à l'homme (Tanyuksel 2003).

4.2. Cycles

Le cycle évolutif d'*E. histolytica* est monoxène.

Chez les porteurs sains, un cycle non pathogène se déroule assurant la dissémination de l'amibiase et impliquant les formes *minuta* et les kystes.

Dans l'amibiase maladie, c'est le cycle pathogène qui se met en place avec l'apparition des formes *histolytica* ou *magna*.

4.2.1. Cycle non pathogène (Nozais 1996)

L'ingestion de kystes matures est suivie d'un dékystement dans la lumière intestinale, sous l'action de la température, du pH et de la trypsine pancréatique. Avant le dékystement, l'amibe quadrinucléée devient mobile puis pousse à travers un pore de la paroi du kyste un pseudopode qui tire l'ensemble du parasite hors de la coque.

Il se produit alors une division nucléaire aboutissant à des trophozoïtes à 8 noyaux. La division plasmatique qui suit débouche sur 8 formes végétatives *minuta* qui vivent à la surface de la muqueuse colique (au niveau du côlon droit et du caecum). Elles se nourrissent de débris alimentaires et de bactéries par phagocytose. La multiplication se fait activement par scissiparité. Le noyau se divise par mitose. A la fin de la division, les 2 noyaux fils s'éloignent l'un de l'autre et le cytoplasme se divise ensuite par étirement progressif du protozoaire et formation des membranes cytoplasmiques.

Avant l'enkystement, l'amibe à un noyau se charge de réserves dans son cytoplasme (glycogène, fer) puis le parasite s'immobilise, s'arrondit et s'entoure d'une paroi kystique transparente et mince formée par un épaissement de la membrane cytoplasmique. Il faut environ 2 heures pour la formation du kyste infestant à 4 noyaux. Cet enkystement ne se produit que dans la lumière du côlon à un pH inférieur à 7,2 et en anaérobiose. La flore bactérienne ainsi que la souche d'*E. histolytica* jouent un rôle sur l'enkystement. La formation et l'élimination des kystes se font sans périodicité. Les kystes, immobiles, sont emportés passivement par le transit intestinal et éliminés dans les selles et permettent ainsi la dissémination d'*E. histolytica*.

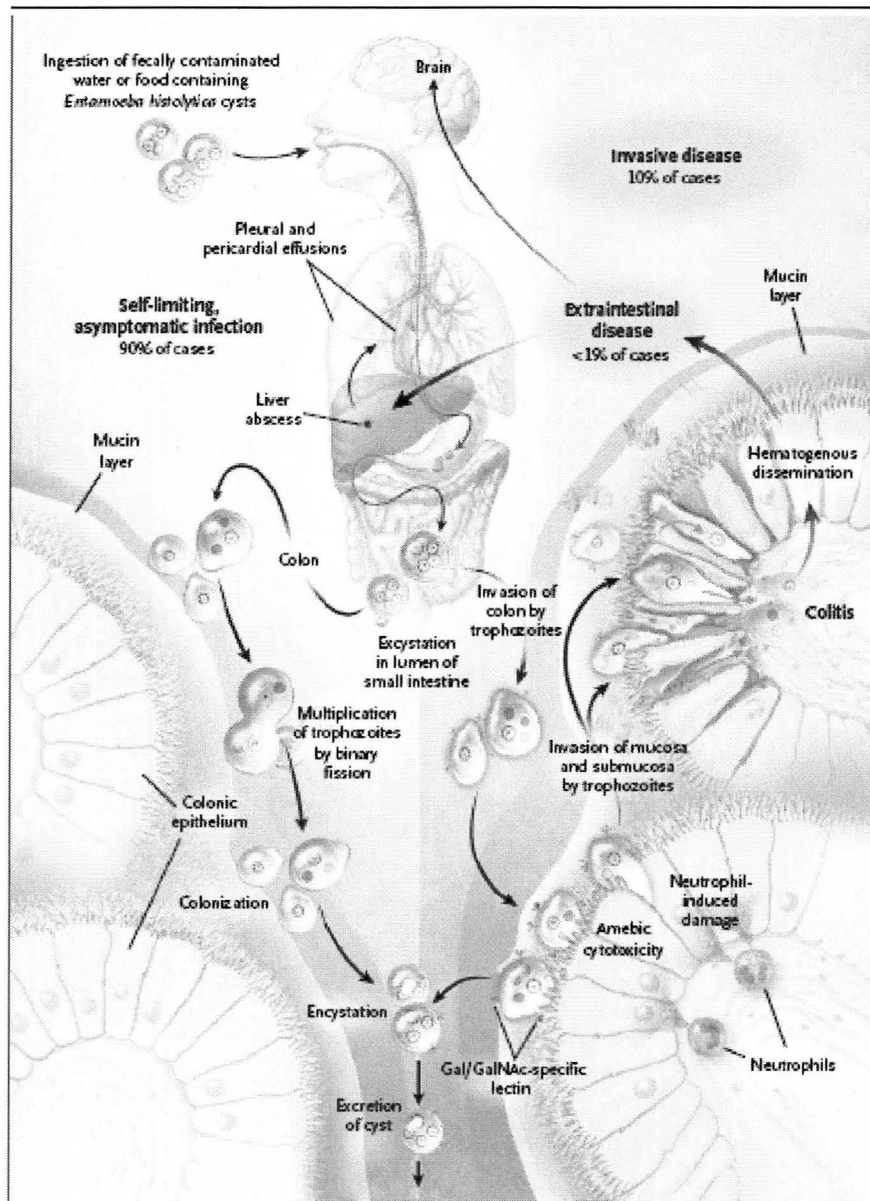
4.2.2. Cycle pathogène

Ce cycle n'intervient pas dans la transmission interhumaine, mais il est responsable de l'amibiase maladie.

Sous l'influence de facteurs dépendant à la fois de l'hôte et de la souche d'*E. histolytica*, la forme *minuta* se transforme en forme agressive *histolytica*, plus grande mais surtout hématophage. Cette forme est très mobile et possède de nombreuses enzymes protéolytiques lui conférant un pouvoir nécrosant important. *E. histolytica histolytica* franchit par effraction la muqueuse colique (par déplacement transcytoplasmique ou à travers les jonctions cellulaires) en formant des ulcérations et parvient dans la sous-muqueuse où elle se multiplie activement par scissiparité. Elle forme des abcès plus étendus en profondeur et latéralement qu'en surface (abcès en bouton de chemise).

Les trophozoïtes atteignent la lumière des vaisseaux du système porte et sont emportés passivement dans le foie où ils forment des abcès hépatiques ou passant par les veinules sus-hépatiques gagnent le cœur droit. Ils sont alors envoyés vers le poumon où ils peuvent s'arrêter ou sont amenés au cœur gauche d'où ils pourront atteindre le cerveau, le rein et la rate. Les formes *E. histolytica histolytica* sont incapables de s'enkyster, mais elles peuvent revenir dans la lumière intestinale depuis la sous-muqueuse colique et par des mécanismes non encore élucidés se transformer en formes *E. histolytica minuta* qui elles produiront des kystes.

Malgré la connaissance des caractéristiques morphologiques et du cycle d'*E. histolytica*, la multiplicité des manifestations cliniques suggère une pathogenèse complexe dont les mécanismes sont encore peu connus. Nous nous intéresserons donc aux différents facteurs parasitaires d'une part et aux caractéristiques de l'hôte d'autre part pouvant interagir dans le développement de l'amibiase.



Cycles pathogène et commensal d'*Entamoeba histolytica*

D'après Haque 2003

CHAPITRE 3 : PATHOGENESE DE L'AMIBIASE : FACTEURS PARASITAIRES ET HUMAINS

La pathogenèse de l'amibiase invasive nécessite l'adhésion des trophozoïtes sur la surface de l'épithélium colique, des effets cytolytiques et protéolytiques sur les tissus, une résistance du parasite aux mécanismes de défense de l'hôte et enfin des facteurs de l'hôte influençant sa propre susceptibilité.

1. Facteurs liés au parasite

1.1. Mécanismes de virulence

1.1.1. Attachement aux cellules hôtes : la lectine Gal/NAcGal

(Boettner 2002, Petri 2002a)

L'adhérence des trophozoïtes à la muqueuse intestinale est la phase clé de l'infection. Elle se produit grâce à une adhésine de surface amibienne, la lectine Gal/NAcGal qui se lie au D-Galactose (Gal) et à la D-N-Acétalgalactosamine (NAcGal) des glycoprotéines de membrane des cellules de l'hôte.

Le rôle de la lectine Gal/NAcGal dans l'attachement aux cellules hôtes a été démontré par :

- d'une part, l'adhérence des trophozoïtes aux glycoprotéines coliques est inhibée à 90% par l'ajout de galactose ou de N-acétalgalactosamine saturant les lectines (Chadee 1987). On observe le même résultat avec les neutrophiles, érythrocytes, fibroblastes humains et certaines bactéries (Boettner 2002).

- d'autre part, les cellules mutantes de hamster chinois (CHO) dépourvues de résidus terminaux galactose ou N-acétylgalactosamine sont presque totalement résistantes à l'adhérence parasitaire et à l'activité cytolytique d'*E. histolytica* (Li 1988, Li 1989, Ravdin 1989).

Aucune étude n'a encore identifié des récepteurs la nature exacte et localisé les cibles sur les cellules épithéliales muqueuses. Néanmoins la liaison est de haute affinité, dépendante de l'espacement des résidus Gal et NAcGal O et N-liés et probablement stabilisée par des interactions multivalentes (Pillai 2000).

La lectine Gal/NAcGal a un rôle central dans la liaison aux cellules hôtes. D'autres molécules interviennent comme une protéine riche en sérine, un dimère adhésine-cystéine protéinase ou une protéine de membrane de 220 kDa (Laughlin 2005).

1.1.1.1. Structure de la lectine Gal/NAcGal (Petri 2002a)

La lectine Gal/NAcGal est un hétérodimère de 260 kDa constitué d'une sous-unité lourde, **hgl**, et d'une sous-unité légère, **lgl**, réunies par un pont disulfure et associées de façon non covalente à une sous-unité intermédiaire **igl**.

α) Sous-unité lourde : **hgl**

Cette sous-unité est codée par une famille de cinq gènes hgl_1 à hgl_5 codant des protéines similaires à 89-95 % au niveau de leur séquence aminée.

La sous-unité lourde, d'une masse moléculaire de 170 kDa, se compose :

- d'un domaine extracellulaire de 1209 acides aminés, riche en cystéine, portant le domaine de reconnaissance des sucres, **CRD** (Carbohydrate Recognition Domaine).

- d'un domaine transmembranaire de 26 acides aminés

- d'un domaine intracellulaire de 41 acides aminés, impliqué dans la signalisation intracellulaire.

Cette protéine contient 6 % de résidus glucidiques et la position et le nombre de cystéines sont conservés à 100 % entre les différents gènes.

Le CRD est localisé au niveau de la région riche en cystéine. Sa capacité à lier le galactose et la N-acétylgalactosamine, et donc l'activité de la lectine, dépend de sa structure tertiaire (conformation spatiale). La régulation de la conformation d'hgl pourrait s'effectuer au niveau de la chaîne intracellulaire, en réponse à différents signaux. Ceci permettrait à *E. histolytica* de se détacher des cellules (épithéliales et muqueuses) lors de l'invasion.

La partie intracellulaire contient des régions identiques au domaine intracellulaire des protéines intégrines β_2 qui sont impliquées dans la transduction du signal chez les cellules eucaryotes supérieures.

De plus, la chaîne intracellulaire semble servir de point d'ancrage à différentes protéines également impliquées dans le contact avec l'hôte. L'une d'entre elles, la Thiol-Specific-Antioxidant (TSA), est une peroxydase permettant la détoxification du peroxyde d'hydrogène. La liaison avec les cellules hôtes stimule l'interaction lectine/TSA puis TSA est recrutée à l'interface amibe/cellule hôte ce qui protège *E. histolytica* des attaques oxydatives des polynucléaires (Hugues 2003).

β) Sous-unité légère : **igl**

Cette sous-unité est codée par une famille de 6 à 7 gènes codant 7 protéines isoformes de masses moléculaires différentes, les 2 principaux étant de 31 kDa et de 35 kDa. Ces isoformes ne partagent que 79 à 85 % d'homologie dans leur séquence en acides aminés du fait de modifications post-traductionnelles différentes.

Lgl est une protéine extracellulaire avec un ancrage membranaire au niveau d'une molécule de glycosyl-phosphatidylinositol (GPI). Lgl se lie à hgl uniquement lorsque le signal d'ancrage au GPI est présent (Mann 2002b).

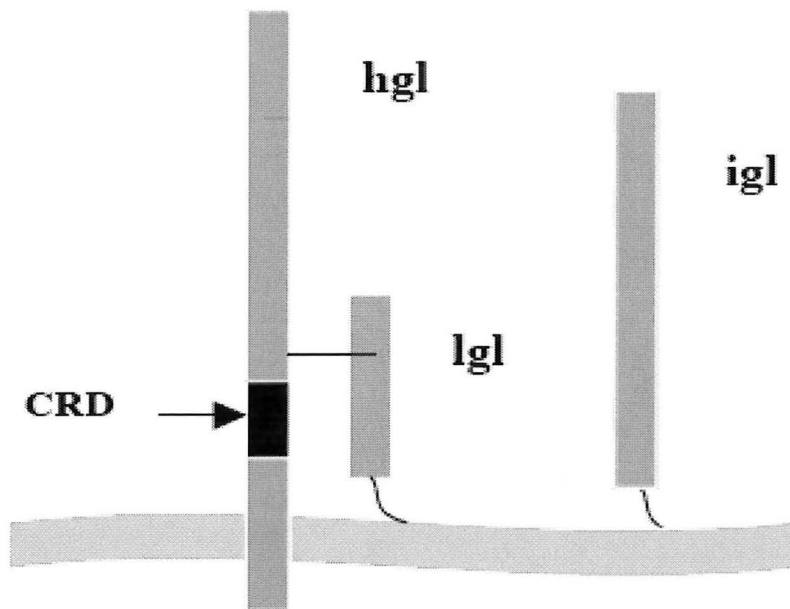
La sous-unité légère joue un rôle dans la virulence d'*E. histolytica*, mais elle n'est pas directement liée au phénomène d'adhérence.

γ) Sous-unité intermédiaire : **igl**

Cette protéine est codée par 2 gènes différents et les isoformes présentent 84 % d'homologie dans la séquence en acides aminés.

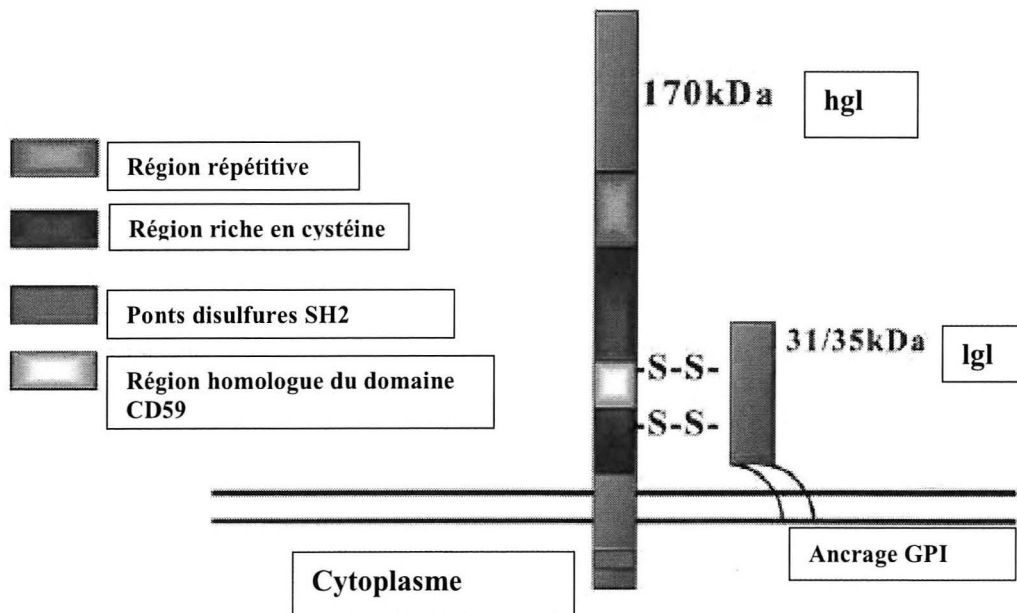
Elle a une masse moléculaire de 150 kDa et possède une activité lectine Gal/NAcGal conservée lorsqu'elle est séparée de l'hétérodimère lgl/hgl.

Igl est une protéine ancrée sur un lipide membranaire et son domaine extracellulaire contient de nombreuses séquences répétées portant les motifs CXXC et CXC (C = cystéine, X = acide aminé quelconque). Ils peuvent avoir un rôle dans la protection contre la dégradation enzymatique ou intervenir dans des réactions protéine-protéine, faisant ainsi de igl un co-récepteur de l'hétérodimère de 260 kDa (Cheng 2001).



Schémas des différents domaines de la lectine Gal/NAcGal

D'après (Pillai 2000, Petri 2002a)



1.1.1.2. Fonctions biologiques

α) Rôle dans la cytotoxicité

Entamoeba histolytica tient son nom de son étonnante capacité à tuer différents types de cellules.

La cytolysse des cellules humaines est dépendante du contact direct entre ces cellules et *E. histolytica* via la lectine Gal/NAcGal. Comme nous l'avons vu, l'ajout de Gal ou de NAcGal entraîne l'inhibition de l'adhérence mais aussi de la lyse cellulaire.

La lectine joue un rôle dans l'activité cytolitique par l'intermédiaire de sa sous-unité légère.

En effet, lors de la phagocytose d'*Escherichia coli* sérotype 055, en co-culture, on observe une diminution des gènes codant Igl (Padilla-Vaca 1999), liée à une forte réduction de l'activité cytolitique.

Lors de l'inhibition de la synthèse de Igl par l'utilisation d'un transcrit antisens (Ankri 1999a), une nette diminution de la lyse cellulaire est observée sans que l'adhérence soit affectée.

Il ne se produit pas de régulation de la synthèse de la protéine hgl, mais le nombre de dimères formés diminue. Ce défaut en hétérodimère est associé à une réduction de moitié du nombre de cellules tuées et une incapacité à former des abcès hépatiques chez le hamster.

La lectine réduite à sa sous-unité hgl suffit au phénomène d'adhérence, mais le dimère hgl-Igl est indispensable à *E. histolytica* pour pouvoir exercer son pouvoir cytolitique. Ceci peut s'expliquer par les fonctions de Igl comme transductrice de signal, qui par son absence bloquerait les processus de sécrétion d'amoebapores et de cystéine protéinases ou empêcherait les modifications du cytosquelette.

En plus d'un dimère complet, l'activité cytolytique sur les cellules intestinales exige un parasite entier et vivant. Cette contrainte peut être expliquée par la nécessité d'une cascade d'évènements pour parvenir à la lyse cellulaire, mais aussi par le fait que l'interaction amibe-cellule hôte conduise à un phénomène actif : le transfert de lectine.

Il ne s'observe qu'avec les parasites vivants, il est inhibé par la présence de Gal ou de NAcGal et il est inexistant lors de l'utilisation d'amibes fragmentées. Les lectines sont présentes à la surface basolatérale des cellules épithéliales cinq minutes après le contact avec les trophozoïtes.

Le phénomène de transfert est spécifique des cellules épithéliales intestinales, il ne s'observe pas en présence de fibroblastes, cellules pourtant tuées par l'amibe.

Ce mécanisme, précédant la mort cellulaire doit avoir une implication dans la destruction des cellules hôtes, mais il demeure, actuellement, mystérieux (Leroy 1995, Boettner 2002).

β) Rôle dans l'enkystement (Eichinger 2001 a et b, Petri 2002a)

La formation de kystes est un moment clé dans le cycle parasitaire. Sans l'enkystement, *E. histolytica* ne pourrait infecter de nouveaux hôtes.

Des expériences menées par D. Eichinger sur *Entamoeba invadens*, amibe parasite des reptiles ayant la propriété de s'enkyster facilement *in vitro*, ont permis de commencer à comprendre le mécanisme d'enkystement d'*E. histolytica*, ces 2 amibes étant relativement proches. Par exemple, le fait que l'agrégation des trophozoïtes soit favorisée par les mucines *in vitro*.

La présence d'une couche de mucus, principalement composée de mucines, bordant l'épithélium colique, favorise le déclenchement de

l'enkystement. Les mucines, principales glycoprotéines du côlon sont riches en résidus Gal et NAcGal, sont reconnues et liées aux lectines. Ces multiples interactions entraînent l'agrégation des trophozoïtes, étape initiale de l'enkystement (Eichinger 2001b).

In vitro, cette phase est modulée par le contenu en Gal du milieu, confortant ainsi le rôle de la lectine Gal/NAcGal (Eichinger 2001a).

A la suite de la phase d'agrégation, d'autres lectines interviennent. Elles sont ancrées à la surface des amibes, au niveau des lectines Gal/NAcGal. Ces lectines sont caractérisées par la présence de plusieurs domaines de 6 à 8 cystéines capables de lier et de stabiliser les fibres de chitine, composant principal de la membrane kystique (Van Dellen 2002).

γ) Rôle immunologique : Résistance au système du complément

Outre son rôle dans l'adhérence, la cytotoxicité et l'enkystement, la lectine Gal/NAcGal fournit un mécanisme d'échappement partiel à la réponse immunitaire de l'hôte.

Le système du complément constitue le premier mécanisme de lutte contre l'infection chez un sujet non-immunisé. Lors d'une infection parasitaire, la voie classique et la voie alterne du complément sont activées.

La lectine Gal/NAcGal, au niveau de sa sous-unité lourde, possède un domaine similaire (conformation et séquence) au CD59, antigène humain inhibant la formation du complexe d'attaque membranaire C5b-C9 du complément.

En effet, la sous-unité lgl est reconnue par des anticorps anti-CD59 (Petri 2002a, Haque 2003).

Il est probable que ce domaine soit distinct du domaine de reconnaissance des sucres car la résistance à la lyse par le complément est peu affectée par l'ajout de Gal ou de NAcGal.

Malgré la participation de la lectine à l'échappement au système immunitaire, son rôle central dans l'adhérence, dans la colonisation intestinale et dans l'enkystement fait d'elle une cible thérapeutique majeure. Son potentiel comme molécule vaccinale est très intéressant car elle est très immunogène.

δ) Comparaison entre les lectines Gal/NAcGal d'*E. histolytica* et *E. dispar*

Une lectine inhibée par le Gal et la NAcGal a été retrouvée chez *E. dispar*. Sa séquence génomique est différente de la lectine Gal/NAcGal d'*E. histolytica*. Sa sous-unité lourde est codée par 2 gènes et sa sous-unité légère est codée par 4 gènes. La liaison entre la lectine et la cellule hôte est de plus faible affinité ce qui conduit à une moindre adhérence du parasite à la cellule. Ceci peut en partie expliquer le faible pouvoir cytolytique d'*E. dispar*. De plus, cette lyse est temps-dépendante, ce qui joue sur la pathogénicité de ce parasite.

Lors de l'utilisation d'anticorps monoclonaux, deux épitopes sont reconnus sur la sous-unité lourde de *E. dispar* (épitopes 1 et 2) tandis que 6 épitopes sont reconnus sur celle d'*E. histolytica* (1-6) (Haque 1993, 1994, 1995).

1.1.2. Action lytique

Le potentiel cytolytique d'*E. histolytica* s'effectue d'une manière contact-dépendante. Une fois le contact intime établi par la liaison entre l'amibe et les cellules via la lectine Gal/NAcGal, diverses structures parasitaires interviennent, notamment les amoebapores aux propriétés membranolytiques et les cystéine-protéinases, enzymes protéolytiques, agissant au niveau de la matrice extra-cellulaire.

1.1.2.1. Les amoebapores

Suite au contact cellule-lectine Gal/NAcGal, *E. histolytica* libère par dégranulation un grand nombre d'amoebapores. Ceux-ci pénètrent dans la membrane de la cellule cible, se polymérisent en formant un canal transmembranaire. Celui-ci crée un flux ionique bi-directionnel entraînant une modification du contenu intracellulaire conduisant à la mort cellulaire.

α) Généralités

* Structure :

La famille des amoebapores contient trois isoformes, A, B et C selon le ratio 35 : 10 : 1.

Les peptides matures sont composés de 77 acides aminés et leur masse moléculaire est de 5 kDa.

Les amoebapores A, B et C ne présentant que 37 à 57 % d'homologie mais possèdent en commun 7 résidus fondamentaux de localisation conservée.

Ceux-ci correspondent à :

- 6 résidus cystéines impliqués dans 3 ponts disulfure

- 1 histidine à l'extrémité carboxy-terminale

Leur structure secondaire est constituée uniquement d'hélice- α et leur structure tertiaire met en évidence un arrangement en faisceau de 4 hélice- α amphiphiles rigidifiées par les 3 ponts disulfure. De plus, cette structure confère aux amoebapores une résistance aux protéases.

* Processus de perforation membranaire (Leippe 2005)

Les amoebapores ont un fort caractère bipolaire. Ils sont facilement solubles grâce à leurs groupements polaires et capables de s'insérer dans les bicouches lipidiques par leurs chaînes hydrophobes.

L'activité perforatrice est très dépendante du pH et est reliée à la protonation de résidus lysine et histidine au niveau de leurs chaînes latérales.

La protonation des lysines permet la liaison des amoebapores aux phospholipides membranaires chargés négativement. Cette liaison est indépendante d'un récepteur membranaire spécifique.

La protonation de l'histidine 75 vers l'extrémité C-terminale entraîne une dimérisation de protéines, par des interactions électrostatiques avec un résidu chargé négativement sur un second monomère.

La protonation de l'histidine et donc la formation de dimères sont essentielles à l'activité des amoebapores.

Un côté de la protéine est exclusivement hydrophobe (hélice 1 et 2), et la polymérisation en tête-à-queue permet la formation d'une face hydrophobe continue. De plus, la polymérisation avec d'autres dimères conduit à la formation d'un hexamère circulaire à la partie centrale hydrophile et à la surface hydrophobe dont le diamètre interne est d'environ 2 nm.

* Classification :

La présence de 6 cystéines impliquées dans 3 ponts disulfure, la capacité à interagir avec les lipides ainsi que l'architecture bipolaire des 77 acides aminés permettent de classer les amoebapores dans la famille des « saposin-like proteins ».

De nombreuses protéines eucaryotes remplissant des fonctions très différentes appartiennent à cette famille. Il s'agit notamment des saponosines végétales A à D, de la protéine B du surfactant humain mais surtout de 2 analogues fonctionnels des amoebapores : le NK-lysine et la granulysine des lymphocytes.

En effet, la NK-lysine porcine et la granulysine humaine sont stockées dans des granules cytoplasmiques et possèdent des activités antibactériennes et cytolytiques comme les amoebapores (Leippe 1997).

Le séquençage du génome d'*E. histolytica* a permis d'identifier 12 nouvelles protéines « saposine-like » qui possèdent elles aussi une puissante activité antibactérienne et semblent agir en synergie avec les amoebapores.

β) Fonctions biologiques

E. histolytica est reconnue en médecine humaine pour son fort pouvoir cytolytique sur les cellules hôte mais c'est avant tout une cellule phagocytaire dont les bactéries sont la source nutritive principale. Elle peut en phagocyter jusqu'à 100/heure. Les bactéries doivent donc être continuellement « ingérées » puis efficacement tuées et dégradées.

Les amoebapores participent à la fois à la lyse des cellules hôtes lors du cycle pathogène mais aussi et surtout à la destruction des bactéries phagocytées.

* Rôle extracellulaire dirigé contre les cellules de l'hôte

En réponse à la liaison du parasite à la cellule hôte par l'intermédiaire de la lectine Gal/NAcGal, a lieu l'exocytose de granules cytoplasmiques amibiens. Les amoebapores sont libérés à la surface de la cellule cible nucléée et forment des pores dans la membrane cellulaire. Le flux ionique transitant par ce canal modifie le potentiel électrique de la cellule cible conduisant à sa lyse.

L'importance des amoebapores dans la virulence a été démontrée par la forte diminution de la cytotoxicité lors de l'utilisation de transcrits antisens de l'amoebapore A. Cela s'est traduit par une diminution de l'hémolyse, une diminution de l'induction de lésions hépatiques et par une diminution du blocage du développement des bactéries (Bracha 1999).

Par contre la surexpression de l'amoebapore A (par insertion d'un plasmide) n'entraîne pas d'augmentation de virulence mais plutôt une diminution ce qui pourrait traduire l'importance de la stoechiométrie entre les 3 isoformes ou bien l'importance de leur localisation pour une activité correcte (Bracha 2002).

Dans tous les cas, la cytolysse est dose-dépendante nécessitant une concentration minimale au niveau de l'environnement cellulaire.

Il est à noter que l'isoforme C semble plus efficace pour la lyse des cellules nucléées eucaryotes par rapport aux formes A et B. Les 3 isoformes n'ont pas une action efficace dans l'hémolyse.

* Rôle intracellulaire dirigé contre les bactéries

Les amoebapores sont des facteurs antimicrobiens très efficaces, dégradant rapidement les bactéries Gram + dépourvues de membrane externe et plus difficilement les bactéries Gram -.

Les bactéries phagocytées par *E. histolytica* sont retenues dans des vacuoles digestives, phagosomes, Les granules cytoplasmiques contenant les amoebapores se déversent dans les phagosomes. Ceci a été observé par microscopie électronique par Andrä *et al* (Andra 2003).

Pour la digestion des bactéries, les amoebapores agissent en synergie avec d'autres peptides amibiens. L'un des principaux est un analogue du lysozyme bactérien dont il existe 2 isoformes de même masse moléculaire de 23 kDa et qui est contenu dans des granules cytoplasmiques. Ce lysozyme dégrade préférentiellement les bactéries Gram + mais peut aussi agir sur les bactéries Gram – lorsque leur membrane est dégradée (Leippe 1998).

Le lysozyme amibien ainsi que les amoebapores sont actifs à pH acide ce qui concorde avec le pH intérieur des vésicules cytoplasmiques.

Les conditions d'anaérobiose retrouvées dans l'intestin permettent à *E. histolytica* d'utiliser des métabolites oxygénés et le monoxyde d'azote comme composés antimicrobiens.

Les amoebapores ont un important pouvoir membranolytique. Comment les amibes se protègent-elles contre leurs propres facteurs de virulence ?

γ) Mécanismes de défense amibiens contre les amoebapores

Le mécanisme de résistance contre les amoebapores n'est pas encore élucidé, mais quelques éléments de réponse existent.

La résistance ne se fait pas par la production de pro-peptides stockés sous forme inactive. Il a été démontré que les 3 isoformes sont matures et potentiellement actifs à l'intérieur des granules amibiens (Leippe 1997).

Par contre, la composition particulière des membranes amibiennes peut être un facteur de protection. En effet, ces membranes ont comme principal composant des céramides et plus précisément des aminoéthylphosphonates et leurs phospholipides neutres non chargés sont combinés à du cholestérol et se retrouvent en grande proportion. Ceci prévient la liaison des amoebapores à ces membranes (Andrä 2004).

De plus, l'insertion des amoebapores nécessite simultanément des phospholipides chargés négativement, un pH acide ainsi qu'un potentiel transmembranaire très négatif.

Par ailleurs, on ne peut exclure l'existence de protéines stockées dans les mêmes vacuoles que les amoebapores ayant un effet inactivant sur ces derniers.

Enfin, l'un des mécanismes de protection reste la régulation de la synthèse et de la sécrétion de ces peptides. Cette régulation n'a pas encore été élucidée mais alors que les cystéine-protéinases sont libérées de façon spontanée et continue, la sécrétion d'amoebapores ne s'observe pas *in vitro* même en ajoutant des ligands de la lectine Gal/NAcGal. Le phénomène de transfert de lectine pourrait jouer un rôle.

δ) Les disparpores (Leippe 2005)

Entamoeba dispar, amibe non pathogène chez l'homme, présente une activité cytolytique *in vitro* et possède des homologues aux 3 isoformes A, B et C d'*E. histolytica*.

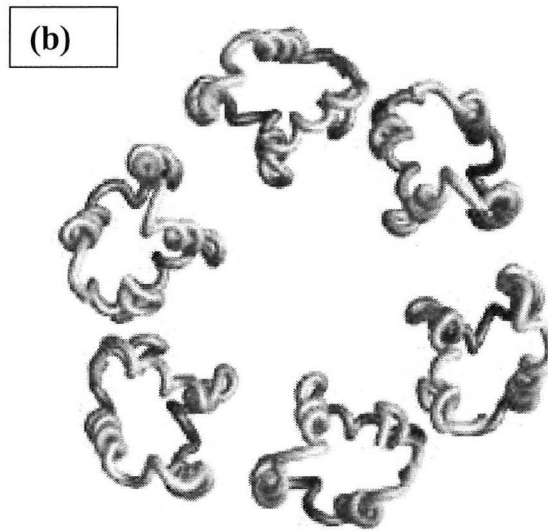
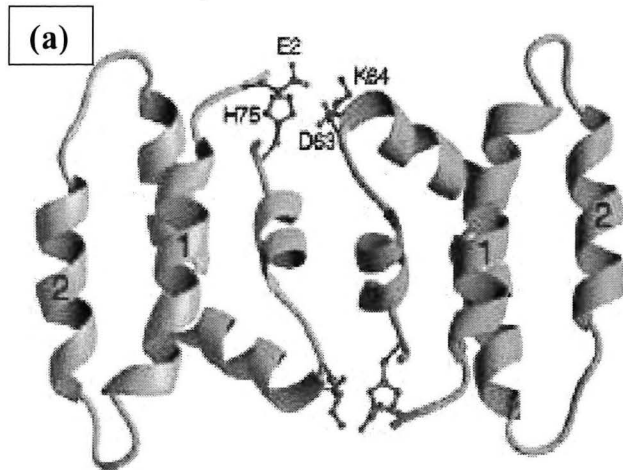
Les disparpores et les amoebapores partagent 95 % d'identité dans leur séquence en acides aminés (seulement 4 acides aminés différents). Les disparpores matures possèdent eux aussi 77 acides aminés avec 6 cystéines

impliquées dans 3 ponts disulfure ainsi qu'une histidine à l'extrémité C-terminale.

Le remplacement d'un résidu acide glutamique en position 2 par une proline empêche l'une des interactions électrostatiques moléculaires lors de la formation des dimères, ce qui entraîne une instabilité du dimère et donc de la formation du pore.

Ceci peut expliquer la moindre virulence d'*E. dispar* en association avec les très faibles quantités d'isoformes B et C retrouvés à l'état moléculaire.

Le principal rôle des disparpores est antibactérien, les bactéries étant la principale source alimentaire d'*E. dispar*.



Modèles dimérique (a) et hexamérique (b) de l'amoebapore A.

(a) Hélices 1 et 2 forment la surface hydrophobique.

(b) Représentation de la protéine hexamérique formant un pore

D'après (Leippe 2005)

1.1.2.2. Les cystéine-protéinases

Les amœbapores par leur action lytique jouent un rôle important dans la pathogenèse de l'amibiase, mais les cystéine-protéinases ont un rôle clé dans l'invasion et l'inflammation par la destruction des composants de la matrice extracellulaire.

La plupart des protéases amibiennes sont des cystéine (thiol)-protéinases car il a été démontré que leur activité est inhibée par l'inhibiteur E64, spécifique des cystéine-protéinases et non par l'inhibiteur spécifique des sérine-protéinases (Que 2000).

α) Généralités

Les cystéine-protéinases sont les protéases les plus abondantes chez *E. histolytica*. Quarante-sept gènes, codant pour des proformes de cystéine-protéinases, ont été identifiés. La majorité d'entre eux n'est pas exprimée (Ackers 2006). Trois d'entre eux, ehcp1, ehcp2 et ehcp5 sont, en revanche, abondamment exprimés et sont à l'origine de 90 % des transcrits.

Il a été démontré que l'activité des cystéine-protéinases est directement liée au niveau d'expression de leurs gènes : EhCP1, EhCP2 et EhCP5 étant les enzymes les plus représentées, c'est sur elles que reposent 90 % de l'activité protéasique d'*E. histolytica* (Espinosa-Cantellano 2000)

EhCP5 se distingue des autres protéinases. En effet, cette molécule soluble de 24 kDa et de 225 acides aminés (Benkert 1997) possède la propriété de s'associer aux membranes avec une grande affinité grâce à ses nombreux groupements hydrophobes. Alors que les cystéine-protéinases sont exclusivement stockées dans des granules cytoplasmiques, EhCP5 se

localise sur les membranes des compartiments intracellulaires mais aussi en patch à la surface de l'amibe.

EhCP5 semble être responsable de l'activité protéolytique liée à la membrane d'*E. histolytica* et donc de faciliter l'étape d'invasion parasitaire grâce à la dégradation des protéines de l'hôte en contact avec la membrane parasitaire (Jacobs 1998).

β) Fonctions biologiques

Les cystéine-protéinases sont considérées comme d'importants facteurs de virulence. Elles sont impliqués dans la genèse de la maladie par leur dégradation de la matrice extracellulaire et par leur modulation du système immunitaire de l'hôte.

De plus, ces enzymes semblent intervenir dans le métabolisme de base des amibes en digérant les bactéries et autres particules ingérées et en activant d'autres enzymes (Stanley 2001a).

* Rôle dans l'invasion amibienne

La pénétration des trophozoïtes à travers la muqueuse colique, après attachement via la lectine Gal/NAcGal, constitue la seconde étape de l'invasion amibienne.

Les cystéine-protéinases favorisent le contact étroit entre les trophozoïtes et les cellules épithéliales intestinales en agissant sur le mucus et les villosités intestinales. En effet, les cystéine-protéinases rompent la polymérisation de MUC-2, composant principal des mucines intestinales et ainsi diminue la capacité de blocage de l'adhérence des trophozoïtes.

De plus, ces enzymes protéolysent les cellules villines provoquant l'effacement des microvillosités intestinales protectrices de l'épithélium

(Lauwaet 2003). Ce phénomène de protéolyse des villosités entériques n'a pas lieu lorsqu'*E. histolytica* n'exprime qu'une faible activité cystéine-protéinasique.

L'amibiase intestinale a une forte composante inflammatoire (Stanley 2001b) et l'implication des cystéine-protéinases dans ce mécanisme a été mise en évidence chez la souris.

La liaison des trophozoïtes aux cellules intestinales via la lectine Gal/NAcGal, déclenche un « programme de pathogenèse » incluant la sécrétion d'amoebapores et de cystéine-protéinases dans l'environnement des entérocytes. Il en résulte la destruction des cellules épithéliales à l'origine de la libération du précurseur inactif de l'interleukine IL-1 β (p-IL-1 β), cytokine pro-inflammatoire. La transformation de p-IL-1 β en IL-1 β actif s'effectue par l'action de la caspase 1.

Les cystéine-protéinases ont la capacité de mimer l'activité de la caspase 1 clivant p-IL-1 β en IL-1 β ce qui amplifie la réaction inflammatoire (Zhang 2000). En effet, l'IL-1 β produite active le facteur de transcription NF- κ B, ce dernier entraînant la synthèse de nombreux médiateurs pro-inflammatoires, comme les interleukines IL8 et IL6 et la cyclo-oxygénase 2 (COX-2) (Eckmann 1995, Seydel 1998). Ces médiateurs, libérés par les cellules nécrotiques, attirent les cellules inflammatoires de l'hôte comme les polynucléaires neutrophiles. Ceux-ci peuvent être détruits par *E. histolytica* et relarguent ainsi des substances toxiques (NO, ...), lysant à leur tour d'autres entérocytes.

Les cystéine-protéinases favorisent l'invasion par leur action directe sur la matrice extracellulaire. Les composants de la matrice, comme la laminine, la fibronectine, les collagènes de type I et IV, sont reconnus et dégradés par les cystéine-protéinases. Ceci induit une déstructuration de l'épithélium et donc facilite le passage des trophozoïtes (Espinosa-Cantellano 2000, Meza 2000, Huston 2004).

Les cystéine-protéinases participent donc doublement à l'invasion parasitaire :

- elles clivent p-IL1 β en IL-1 β active, à l'origine de l'inflammation colique et de l'altération de la barrière intestinale qui devient perméable aux amibes.

- elles lysent les microvillosités intestinales puis déstructurent la matrice extracellulaire, facilitant l'invasion amibienne de la muqueuse et de la sous-muqueuse. Dans un deuxième temps, elles permettent également l'invasion des tissus hépatiques.

L'utilisation de transcrit antisens ehcp5 (Ankri 1999a) a démontré la diminution de l'inflammation de l'intestin, mais a aussi permis de mettre en évidence le rôle important des cystéine-protéinases, et plus particulièrement d'EhCP5, dans la formation des abcès hépatiques.

En effet, l'inoculation intra-hépatique de trophozoïtes d'*E. histolytica* contenant le transcrit antisens ehcp5, chez le hamster, se manifeste par une absence totale de lésions hépatiques (Ankri 1999b). L'effet du transcrit antisens s'est aussi traduit par la diminution de la phagocytose pouvant jouer sur la diminution du métabolisme physiologique amibien, expliquant la baisse de virulence.

Par contre, les amibes transfectées ont gardé leur capacité à lyser les cellules en culture. Le pouvoir protéolytique des cystéine-protéinases ne participe donc pas au processus cytolytique, mais s'exerce sur les composants de la matrice extracellulaire.

Outre leur implication dans l'invasion parasitaire, les cystéine-protéinases participent également à la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte.

* Rôle dans la modulation immunitaire de l'hôte

Les cystéine-protéinases permettent à *E. histolytica* d'échapper à la réponse humorale et au système phagocytaire en ayant une action sur les immunoglobulines A et G, le système du complément et l'interleukine IL-18.

- Clivage des IgA et des IgG (Tran 1998)

Les patients infectés par *E. histolytica* produisent dans 75 à 95 % des cas des IgG spécifiques qu'il y ait ou non des manifestations cliniques. Pourtant, ces anticorps ne préviennent ni l'apparition des symptômes, ni une réinfestation.

L'inefficacité de la réponse humorale a été expliqué par des études *in vitro*, montrant que les cystéine-protéinases d'*E. histolytica* sont capables de cliver les IgA et IgG en fragments Fab et Fc incapables de se fixer aux antigènes amibiens.

Des études *in vivo* sont nécessaires pour confirmer ce phénomène d'échappement, mais le clivage des immunoglobulines conduisant à l'inefficacité de la réponse humorale est présente chez de nombreux

parasites invasifs (*Schistosoma mansoni*, *Fasciola hepatica*, *Trichomonas vaginalis*...).

- Dégradation des anaphylatoxines C3a et C5a (Que 2000)

E. histolytica active le complément par un seul mécanisme, le clivage de la chaîne α de C3 par les cystéine-protéinases produisant C3a et C3b intervenant dans la voie alterne du complément. Les cystéine-protéinases inactivent ensuite les anaphylatoxines C3a et C5a. Ces 2 composants sont fortement inflammatoires, par l'activité chimiotactique de C5a sur les phagocytes et l'activation de ces phagocytes par C3a. Leur destruction par les cystéine-protéinases permet aux amibes d'échapper au système phagocytaire de l'hôte.

- Inactivation de IL18 (Que 2003)

L'interleukine IL18, intervenant dans la défense de l'hôte contre l'invasion des trophozoïtes, est activée par la caspase 1.

Les cystéine-protéinases, capables de mimer l'activité de cette caspase pour activer IL1 β , agissent différemment pour IL18. En effet, il semble qu'EhCP5 clive la cytokine IL18 et son précurseur pIL18 en fragments biologiquement inactifs, permettant un blocage supplémentaire de la réponse immunitaire de l'hôte.

γ) Comparaison entre les cystéine-protéinases d'*E. histolytica* et d'*E. dispar*

L'importance des cystéine-protéinases dans la pathogenèse d'*E. histolytica* est confortée par leur comparaison avec les cystéine-protéinases d'*E. dispar*.

Tout d'abord, les trophozoïtes d'*E. histolytica*, en culture, peuvent sécréter 10 à 1000 fois plus de cystéine-protéinases que ceux d'*E. dispar* (Reed 1989). L'hypothèse d'une différence plus quantitative que qualitative a alors été émise, mais de nouvelles données permettent d'établir une différence importante dans l'équipement en cystéine-protéinases de ces 2 espèces.

En effet, *E. dispar* possède 4 gènes homologues à 95 % avec les gènes codant les cystéine-protéinases chez *E. histolytica* mais elle ne présente pas de gène analogue à ehcp1 et ehcp5 codant les enzymes représentant 70 % de l'activité protéasique. De plus, la surexpression du gène edcp2, analogue d'ehcp2 codant pour la troisième cystéine protéinase la plus active chez *E. histolytica*, ne confère pas de virulence à *E. dispar* (Hellberg 2001).

Ces différences génétiques semblent être une des causes principales de la virulence entre ces 2 espèces.

Les cystéine-protéinases, par leurs multiples fonctions biologiques, constituent d'importants facteurs de virulence amibiens, mais représentent aussi d'intéressantes cibles thérapeutiques. En effet, c'est sur ce modèle qu'ont été élaborés les inhibiteurs spécifiques aspartyl-protéinases du VIH (Que 2000). Les recherches concernant des inhibiteurs spécifiques des cystéine-protéinases amibiennes n'ont pas encore abouti malgré des recherches entamées il y a 15 ans (Reed 1993).

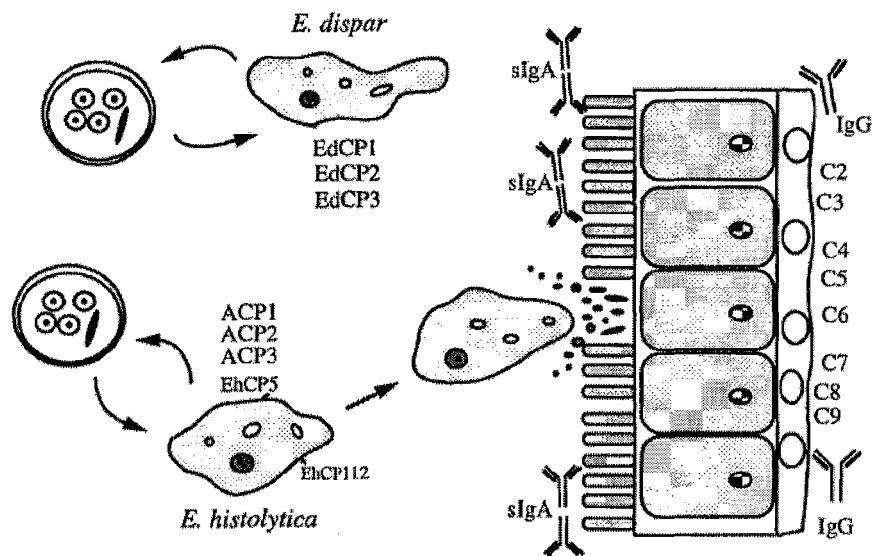


Schéma de l'activité des cystéine-protéinases durant l'infection par *E. histolytica* et *E. dispar*.

E. dispar exprime au moins 3 cystéine-protéinases mais ne peut envahir l'épithélium colique tandis qu'*E. histolytica* exprime au moins 5 cystéine-protéinases et détruit l'épithélium. Les cystéine-protéinases extra-cellulaires clivent les IgA sécrétoires, dégradent la matrice extra-cellulaire, activent le complément et dégradent les IgG.

D'après Que 2000.

1.1.3. Induction de l'apoptose des cellules hôtes (Huston 2004)

Parallèlement à l'activité nécrotique directe par les amoebapores et les cystéine-protéinases, *E. histolytica* a la capacité d'induire au niveau des cellules de l'hôte un processus d'apoptose.

Le contact trophozoïte/cellule hôte entraîne rapidement une condensation chromatinienne, une fragmentation de l'ADN intranucléaire, le transfert de phosphatidylsérine de la couche interne vers la surface extracellulaire de la bicouche membranaire, caractéristiques du phénomène d'apoptose dans les neutrophiles, les lymphocytes T, les macrophages et les entérocytes que ce soit en culture ou dans les modèles animaux d'abcès hépatiques (Ragland 1994, Seydel 1998b).

On observe aussi une augmentation irréversible de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} . Les études effectuées utilisant un inhibiteur non spécifique des caspases z-VAD-fmk ont montré l'absence de formation d'abcès hépatique chez la souris ce qui montre l'importance du mécanisme apoptotique dans la pathogenèse de l'abcès amibien (Ravdin 1988, Yan 2001).

Huston *et al* ont mis en évidence l'activation de la caspase 3, effecteur terminal dans les voies apoptotiques (Huston 2000).

Ce phénomène est indépendant des signaux principaux déclenchant l'apoptose, c'est-à-dire la liaison du ligand Fas à son récepteur et la liaison du $TNF\alpha$ à son récepteur 1 nucléaire. De plus, l'apoptose induite par *E. histolytica* n'est pas inhibée par bcl-2 (Ragland 1994, Gilchrist 1999, Stanley 2001b).

L'apoptose induite par *E. histolytica* se fait selon un mécanisme particulier encore mal connu, mais elle est un facteur important dans la formation des abcès hépatiques.

La contribution respective de la nécrose et de l'apoptose des cellules semble dépendre du type cellulaire et de facteurs liés à l'hôte ou à *E. histolytica* (Huston 2004).

1.1.4. Emission de pseudopodes phagocytaires et locomoteurs

La virulence d'*E. histolytica* repose sur les divers facteurs précédemment traités mais la grande mobilité du parasite ainsi que sa forte capacité de phagocytose ont des rôles clé dans la pathogénèse.

La reconnaissance et la liaison des récepteurs amibiens à des ligands tels que des composants de la matrice extracellulaire, des bactéries, des cellules immunitaires ou non de l'hôte, conduisent à l'activation de voies de signalisation entraînant une réorganisation rapide du cytosquelette d'actine.

Cette réorganisation conduit à la formation de pseudopodes phagocytaires mais aussi locomoteurs, induisant une polarisation de l'amibe, et intervient dans le phénomène de "capping".

1.1.4.1. Récepteurs de surface d'*E. histolytica* et transmission des signaux environnementaux

La première étape de l'invasion de l'intestin humain par *E. histolytica* est la reconnaissance, à l'aide de récepteurs de surface, des cellules épithéliales et des composants de la matrice extracellulaire.

La liaison aux cellules épithéliales se fait principalement par l'intermédiaire de la lectine Gal/NAcGal. Deux autres protéines de surface ont été isolées chez *E. histolytica* et sont aussi responsables *in vitro* de l'adhésion des trophozoïtes. Il s'agit d'une lectine de 220 kDa et d'une adhésine de 112 kDa, se liant respectivement aux cellules épithéliales et aux érythrocytes (Arroyo 1987).

Le fragment cytoplasmique de la sous-unité lourde de la lectine permettrait l'interaction du récepteur avec le cytosquelette sous-cortical et transporterait ainsi les signaux de formations des structures nécessaires à l'adhérence du cytosquelette.

Lors de la progression dans la paroi de l'intestin, *E. histolytica* interagit avec la matrice extracellulaire. De nombreuses protéines de surface intervenant dans ces liaisons ont été identifiées. Il s'agit d'un récepteur à la fibronectine de 37 kDa (Vazquez-Prado 1992), d'un récepteur à la laminine de 97 kDa ayant une activité alcool-déshydrogénase fer-dépendante (Yang 1994), d'une protéine de 30 kDa se liant au collagène de type I (Rosales-Encina 1992). Il intervient aussi une protéine liant l'acide hyaluronique (Renesto 1997) et enfin d'une protéine de 140 kDa se liant à la fibronectine et révélée par un anticorps anti-intégrine $\beta 1$ (Talamas-Rohana 1994).

L'hétérogénéité structurale et fonctionnelle de ces récepteurs montre les interactions multiples des amibes avec la matrice.

Les voies de signalisation engendrées ne sont pas totalement élucidées (Guillen 2000). Néanmoins, l'adhérence des amibes aux différents composants de la matrice extracellulaire conduit à une forte modification du cytosquelette avec la formation de structures adhésives. Ces plaques d'adhérence contiennent des récepteurs à la matrice mais aussi des protéines du cytosquelette (α -actinine, vinculine, myosine de type IB, myosine de type

II, tropomyosine) (Guillen 1993, Vazquez 1995) et surtout des protéines intervenant dans les voies de transduction du signal et des cascades de phosphorylation chez les eucaryotes supérieurs, comme la phosphokinase C (PKC) et la kinase d'adhésion focale (ppFAK¹²⁵) (Vazquez 1995, Perez 1996, Schmidt 1998).

Des recherches sur les voies de signalisation intracellulaire montrent une augmentation de la concentration en inositol tri-phosphate, de la concentration intracellulaire en Ca²⁺ et d'AMPc qui sont tous des seconds messagers régulant les synthèses de kinases (PKC et phosphokinase A). De plus, la participation de protéines G transmembranaires et d'une adénylate cyclase a été démontrée (Santiago 1994, Carbajal 1996, Soid-Raggi 1998).

Tous ces messagers semblent intervenir dans la régulation et la réorganisation du cytosquelette en exerçant leurs activités sur les protéines interagissant avec l'actine comme la profiline, les myosines IB et II et l'ABP120 entre autres.

1.1.4.2. Le mouvement chez *E. histolytica*

Les propriétés invasives d'*E. histolytica* sont liées à la capacité du parasite de subir une translocation depuis le site de déclenchement de la virulence vers la sous-muqueuse intestinale. La dissémination du pathogène est donc assurée par sa mobilité.

E. histolytica est une cellule particulièrement mobile dont la vitesse de déplacement *in vitro* est de l'ordre de 1,4 µm/s (Arhets 1998). Sous l'action de facteurs chimiotactiques, les trophozoïtes adoptent un mouvement orienté et plus rapide (Bailey 1985). Par exemple, *in vitro*, l'acide sialique, des extraits lytiques d'érythrocytes et de fibronectine accroissent la motilité d'*E.*

histolytica et ce phénomène suggère l'existence d'une stimulation chimiotactique favorisant l'invasion de l'épithélium.

La polarisation de la cellule est nécessaire pour le mouvement chez l'amibe (Labruyere 2006). Elle se caractérise par la formation de 2 structures morphologiquement distinctes :

- le pseudopode, au pôle antérieur, constitue l'organe locomoteur et s'accompagne d'un flux cytoplasmique dirigé vers l'avant
- un appendice postérieur, l'uroïde, formé par replis membranaires, qui est associé au phénomène de "capping".

Le mouvement d'*E. histolytica* est une succession synchronisée de 3 étapes :

- 1) Initiation du mouvement par l'émission du pseudopode qui forme le front de migration
- 2) Etablissement au niveau du pseudopode de nouveaux points d'ancrage permettant aux forces de traction de s'exercer
- 3) Le corps cellulaire est projeté en avant et le pôle postérieur se rétracte.

α) Formation du pseudopode

La réorganisation rapide du cytosquelette d'actine se traduit par la formation du pseudopode.

Cette structure est une projection membranaire riche en actine filamenteuse et dépourvue d'organelles pouvant correspondre au tiers de la cellule (Voigt 1999).

En dehors des fonctions de mobilité, les pseudopodes sont également formés dans les premières étapes de la phagocytose. Bien que les composants des pseudopodes formés pendant ces 2 événements soient identiques, on ne sait pas si l'organisation est équivalente.

* Composants du pseudopode

L'ensemble des processus liés à la motilité dépend du cytosquelette d'actine et des protéines associées qui régulent son activité et son organisation structurale. Chez *E. histolytica*, ces protéines, au niveau du pseudopode, sont la profiline, l'ABP 120 et la myosine IB.

- L'actine est une protéine qui a tendance à s'auto-assembler en filaments hélicoïdaux (actine F). Le changement conformationnel de l'actine soluble (actine G) en actine F est réversible et l'équilibre dépend de l'activité des protéines associées (Aust-Kettis 1977). Chez *E. histolytica*, l'actine a été identifiée grâce à des anticorps anti-actine musculaire de lapin ce qui montre une homologie certaine de cette protéine avec les actines des eucaryotes supérieurs, mais des propriétés biochimiques différentes sont suggérées du fait de son insensibilité à la DNase 1 ou de sa non-polymérisation à basse température (Guillen 1993, Guillen 2000). C'est une protéine de 42 kDa codée par de multiples copies du gène d'actine.

- La profiline est une protéine qui séquestre les monomères d'actine et peut ainsi inhiber ou promouvoir la polymérisation d'actine à un site cellulaire précis (Meza 2006). Les 2 isoformes, basique et acide, ont été isolées chez *E. histolytica*. La forme basique a été séquencée et présente des différences avec les autres profilines connues au niveau du site de liaison à l'actine (4 résidus différents sur 21) ce qui suggère qu'elle a peut-être d'autres fonctions. Un anticorps spécifique dirigé contre la forme basique a mis en évidence sa forte présence dans les pseudopodes des amibes en mouvement (Guillen 2000).

- L'ABP 120, protéine liée à l'actine, semble être un important facteur dans la stabilisation/déstabilisation des filaments d'actine nécessaire pour

l'assemblage/désassemblage des structures transitoires. EhABP 120, synthétisée dans *E. histolytica*, est localisé au niveau des sites où l'actine est concentrée durant l'extension du pseudopode et la formation du « cap ». Cette protéine d'environ 96 kDa est codée par un gène unique. EhABP 120 est similaire aux protéines de la famille des filamines. Elle se lie à l'actine et aux lipides membranaires ce qui forme un pont entre la membrane plasmique et le cytosquelette d'actine. Sa régulation semble dépendre des phosphoinositols (Meza 2006).

- La myosine IB est une myosine non conventionnelle, c'est-à-dire qui ne forme pas de filaments (Voigt 1999). Les myosines sont des mécanoenzymes qui hydrolysent l'ATP et transforment l'énergie chimique en énergie mécanique permettant ainsi la contraction. Le gène codant la chaîne lourde de la myosine IB a été isolé. Il code une protéine de 130 kDa possédant 2 sites de fixation à l'actine dont un, ATP-dépendant, est plus court que celui découvert chez *Dictyostelium discoïdeum* mais fonctionnel (Titus 1997).

La myosine IB est concentrée dans le pseudopode des amibes en mouvement, autour des vésicules intracellulaires, de la vacuole de phagocytose et de quelques phagosomes.

La surexpression de 2 à 3 fois du gène codant la myosine IB diminue le taux de phagocytose sans altérer la vitesse du mouvement. Ceci démontre des différences d'activité de la myosine IB dans la phagocytose et dans la motilité ce qui peut impliquer le rôle de cette protéine dans la virulence d'*E. histolytica* et la question de l'équivalence de structure des pseudopodes formés dans les 2 phénomènes (Guillen 2000).

β) Mouvements rétrogrades et processus de « capping »

Pendant le mouvement amiboïde, le « capping » des récepteurs à la surface des cellules est observé. Les amibes en migration présentent un mouvement rétrograde des particules liées à la surface membranaire couplé au déplacement vers l'arrière des cellules des filaments d'actine formés au front de migration.

La contraction du cytosquelette médiée par la myosine II tire les filaments d'actine vers l'arrière de la cellule et entraîne les récepteurs transmembranaires associés au cytosquelette. De même, les protéines interagissant avec le substrat sont tirés vers l'arrière et, par réaction, propulse la cellule en avant. Le cytosquelette accumulé à l'arrière subit une contraction et propulse le cytoplasme en avant (Guillen 2000).

Ce mécanisme de translocation et de contraction du cytosquelette est à la base du processus de « capping » qui s'effectue en 2 étapes :

- après stimulation par leurs ligands, les récepteurs amibiens forment de larges agrégats.

- ces agrégats subissent une translocation au pôle postérieur de l'amibe et y forme le « cap » (Bourguignon 1984).

Le processus de « capping » chez *E. histolytica*, inductible par incubation avec le sérum de malades, est étroitement lié à la formation de l'uroïde. Cette structure se forme par replis membranaires, à la base desquels une constriction apparaît, aboutissant à sa libération dans le milieu. L'élimination de l'uroïde permet aux trophozoïtes d'éliminer de leur surface les complexes récepteur-ligand ayant subi le « capping » et d'échapper à l'action cytotoxique des anticorps et des molécules du complément. Les protéines retrouvées dans les uroïdes sont des récepteurs spécifiques ayant

servis à induire le « capping » et notamment la lectine Gal/NAcGal (Calderon 1980).

* La myosine II et son rôle dans le « capping »

Les myosines II, myosines conventionnelles, sont des hexamères constitués de 2 chaînes lourdes d'environ 220 kDa, chacune associée à 2 chaînes légères d'environ 20 kDa appelées chaîne légère régulatrice et chaîne légère essentielle. L'activité des molécules de myosine II est liée à leur capacité à former des filaments grâce à la méromyosine légère, hélice α super-enroulée au niveau carboxy-terminal (Warrick 1987).

Les filaments de myosine II interagissent avec les filaments d'actine et assurent les propriétés contractiles du complexe formé.

Chez *E. histolytica*, une chaîne lourde de 250 kDa dont la tête porte les domaines spécifiques impliqués dans l'interaction avec l'actine, l'ATP et les chaînes légères a été identifiée.

La phosphorylation de la chaîne lourde permet la régulation de l'assemblage des filaments. La myosine II d'*E. histolytica* présente deux sites potentiels de phosphorylation par la protéine kinase C et la caséine kinase II.

La myosine II est trois fois plus concentrée dans la région de l'uroïde que dans le reste de l'amibe. Elle joue un rôle capital dans la polarisation des amibes et dans la formation de l'uroïde. En effet, lors de la surexpression induite de la méromyosine qui inhibe les fonctions de la myosine II, les trophozoïtes présentent un défaut de leur division cellulaire et de leurs mouvements. Malgré les stimuli de « capping », ces mutants sont incapables de se polariser, d'induire le « capping » et de former l'uroïde (Guillen 2000).

De plus, l'inactivation des fonctions de la myosine II conduit à la diminution de la virulence de ces amibes sur les cellules épithéliales. En effet, cette souche mutante n'entraîne aucune cytotoxicité sur une monocouche de cellules Caco-2 alors que les souches sauvages la détruisent en 3 heures (Guillen 2000).

Enfin, lors du mouvement, les changements d'interaction actine/myosine II peuvent réduire la tension corticale du cytosquelette dans certaines régions et donc permettre l'émission de projections cellulaires.

La myosine II joue donc un rôle déterminant dans la pathogenèse d'*E. histolytica*.

* Protéines régulatrices

L'adhérence des cellules au substrat induit une signalisation qui passe par l'activation des protéines G de la famille Rho liant le GTP.

Chez *E. histolytica*, des protéines homologues des protéines de la famille Rho ont été isolées. Il s'agit de EhRacA et EhRacG. EhRacA intervient dans la phagocytose et EhRacG est nécessaire à la polarité de l'amibe et à la régulation du cytosquelette pendant la formation de l'uroïde, probablement par activation de kinases phosphorylant des protéines du cytosquelette. Ces kinases n'ont pas encore été découvertes chez *E. histolytica* (Lohia 1993, Hall 1994, Guillen 1998, Gilchrist 1999).

Le calcium intracellulaire joue un rôle crucial comme second messager pour de nombreuses fonctions cellulaires chez les eucaryotes. Les fonctions des protéines du cytosquelette sont régulées par le complexe Ca^{2+} /Calmoduline (Meza 2006).

Chez *E. histolytica*, de nombreuses protéines liant le calcium ont été isolées, et notamment 2 isoformes de la calmoduline, EhCaBP1 et EhCaBP2,

EhCaBP1 se liant directement à l'actine. Les augmentations transitoires de Ca^{2+} intracellulaire entraînent des modifications dans l'organisation du cytosquelette et dans la mobilité cellulaire. Le mécanisme induit par la liaison à la fibronectine nécessite du calcium pour la transduction du signal. Les cellules où il y a une déplétion en Ca^{2+} intracellulaire ne répondent pas à ce stimulus (Meza 2006).

La kinase p21 activée ou PAK est un effecteur de petites GTPases. Chez *E. histolytica*, un seul gène a été isolé et codé et la protéine EhPAK a été étudiée. Elle a un rôle dans la régulation de la formation d'un seul pseudopode lors de la polarisation. En effet, l'amibe émet de nombreux pseudopodes lors des contacts cellulaires mais un seul devient dominant pour le mouvement. En cas d'absence d'EhPAK, il y a émission anarchique de très nombreux pseudopodes et l'amibe reste immobile (Labruyere 2006).

La localisation d'EhPAK dépend de l'activité de l'amibe : dans les trophozoïtes non polarisés, elle est répartie uniformément dans le cytoplasme alors que lors du mouvement elle est retrouvée au niveau des pseudopodes naissants. L'enzyme EhPAK présente donc un rôle dans la polarisation cellulaire et dans la dynamique du cytosquelette.

1.1.4.3. Phagocytose

E. histolytica est une cellule phagocytaire professionnelle. Des cellules, tels les érythrocytes, des bactéries, des cellules épithéliales lysées ou non et des cellules immunitaires sont phagocytées (Voigt 1999).

La phagocytose possède un rôle essentiel dans la nutrition et la croissance de l'amibe.

L'étude de mutants d'*E. histolytica* déficients pour la phagocytose, par altération ou absence de l'adhésine de 112 kDa, a montré une diminution de la virulence *in vivo*, ce qui illustre l'importance de ce processus dans la pathogenèse.

L'intensité de la phagocytose est proportionnelle à la pathogénicité du parasite et l'érythrophagocytose observée lors de l'examen microscopique coprologique reste un moyen efficace de diagnostiquer l'amibiase invasive.

La phagocytose est un processus dynamique et représente une suite d'évènements conduisant à l'ingestion de cellules. Après leur adhésion à la surface des amibes, les cellules sont enveloppées par 2 pseudopodes qui se referment pour former une vacuole qui est internalisée. Les vacuoles fusionnent avec des vésicules assimilées à des lysosomes contenant des cystéine-protéinases et au moins une protéine lysosomale. De plus, des protéasomes, complexes protéiques impliqués dans des processus intracytoplasmiques de dégradation des protéines peuvent participer à la dégradation du matériel phagocyté (Voigt 1999, Okada 2006).

L'attachement aux cellules se fait principalement par la lectine Gal/NAcGal, mais d'autres protéines sont associées au phénomène de phagocytose, comme l'adhésine de 112 kDa se liant à l'érythrocyte et un autre récepteur se liant aux cellules apoptotiques. En effet, on observe, lors de l'inhibition de la lectine Gal/NAcGal par incubation avec du galactose ou de la NAcétylgalactosamine, une inhibition totale de la phagocytose des cellules normales mais seulement la moitié de la phagocytose des cellules apoptotiques est inhibée (Marion 2006).

La liaison aux ligands spécifiques des récepteurs de surface induit une transduction du signal, peut-être par le motif $\beta 2$ intégrine de la queue cytoplasmique de la lectine Gal/NAcGal, qui entraîne d'une part, une

réorganisation du cytosquelette d'actine et d'autre part, le recrutement de diverses protéines.

La formation du pseudopode phagocytaire semble générée par l'activation du complexe Arp2/3 recrutant la profiline ce qui augmente la concentration d'actine G jusqu'au seuil critique de polymérisation (Voigt 1999).

Les forces motrices pour refermer la vacuole sont produites par la myosine IB, mais aussi par la myosine II accompagnée de la protéine EhPAK.

Des protéines du réticulum endoplasmique sont recrutées, grâce à la calciréticuline associée à la lectine Gal/NAcGal, en fonction de la taille de la vacuole de phagocytose afin de reconstituer la membrane cellulaire.

Une fois la vacuole refermée, la lectine Gal/NAcGal reste incluse dans le phagosome tout au long de sa maturation, contrairement aux récepteurs de surface des macrophages qui sont recyclés en surface rapidement, et semble avoir un rôle dans le maintien du phagosome (Okada 2006).

Le trafic intracellulaire de l'endosome formé, ainsi que le recrutement des enzymes lytiques sont en partie régulés par des protéines Rab GTPases. Celles qui sont les plus étudiées sont les protéines Rab5 et la famille des protéines Rab7 localisées chacune sur des vésicules intracellulaires différentes.

Rapidement après le contact amibe/cellule (5 min pour les érythrocytes), on observe la colocalisation de Rab5 et de Rab7A sur la face cytoplasmique de la membrane d'une large vésicule intracellulaire. Cette association Rab5-Rab7A entraîne le recrutement de vésicules contenant des amœbapores dans cette structure, puis, par l'intermédiaire d'autres protéines

Rab7 la vésicule large fusionne avec l'endosome contenant la particule phagocytée (Petri 2002b, Okada 2006).

Des vésicules contenant les 6 types de cystéine-protéinases ainsi que de nombreuses autres hydrolases et protéases (phospholipases A2 et B, lysozyme, sérine-protéases) sont recrutées au stade précoce du phagosome et sont présentes tout au long de sa maturation (Okada 2006).

Chez *E. histolytica*, le phénomène complexe de la phagocytose est indispensable à sa nutrition et donc à sa croissance. Il joue aussi un rôle prépondérant dans la pathogenèse par la destruction des tissus, la résistance au système immunitaire de l'hôte et enfin dans la limitation de l'inflammation des tissus par la destruction des cellules apoptotiques.

1.2. Mécanismes d'échappement au système immunitaire de l'hôte

Les cellules épithéliales intestinales constituent la première ligne de défense de l'hôte contre les pathogènes. Elles possèdent des récepteurs spécifiques, les récepteurs Toll-like, capables de détecter la présence de pathogènes, d'initier une réponse inflammatoire adéquate et d'induire des réponses immunes variables (Ankri 2002, Campos-Rodriguez 2005).

Des molécules exprimées spécifiquement par *E. histolytica* peuvent être reconnues par ces systèmes et permettent aux cellules épithéliales de distinguer l'amibe pathogène de l'amibe non pathogène *E. dispar*.

La première de ces molécules est la lectine Gal/NAcGal. Cette adhésine est, certes, exprimée chez *E. dispar*, mais la région riche en cystéines formant le CRD est masquée chez l'amibe non pathogène. Cette région masquée ou non permettrait la distinction entre les 2 espèces par les cellules épithéliales intestinales (Ankri 2002).

Une autre structure distinguant les 2 types de parasites est représentée par la surface des pathogènes. *E. histolytica* est recouverte par des phosphoglycanes et des phosphopeptidoglycanes induisant une réponse inflammatoire via la reconnaissance par les récepteurs Toll-like de type 2 (Campos-Rodriguez 2005). Il n'en est rien en présence d'*E. dispar* dont la surface contient moins de 10% des lipophosphoglycanes portés par *E. histolytica*.

Enfin, la cystéine-protéinase EhCP5, associée à la membrane est exprimée uniquement par *E. histolytica*, semble également servir de moyen d'identification de l'amibe pathogène (Ankri 2002).

Lors de l'amibiase invasive, l'hôte en réponse à l'agression déclenche tout d'abord une réponse inflammatoire puis des mécanismes de défense immunitaires. *E. histolytica* doit donc se protéger contre ces systèmes précoces et tardifs.

1.2.1. Résistance à l'inflammation et aux molécules cytotoxiques libérées par les entérocytes et les polynucléaires activés

Le début de la réponse inflammatoire est marqué par la libération, par les entérocytes lysés, ou la sécrétion, par les polynucléaires neutrophiles attirés et activés, de molécules cytotoxiques, comme les réactifs azotés, dont le monoxyde d'azote NO, ou les radicaux libres de l'oxygène.

- L'une des enzymes permettant à *E. histolytica* de résister aux radicaux oxygénés est une superoxyde dismutase contenant du fer. Cette enzyme antioxydante catalyse la destruction de 2 anions superoxydes radicalaires ($O_2^{\cdot-}$) en 1 molécule de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La

concentration et l'activité de cette enzyme sont augmentées entre 3 et 5 fois en présence d' O_2^- , ce qui suggère son rôle protecteur contre les métabolites toxiques de l'oxygène (Bruchhaus 1994, Tekwani 1999).

Le peroxyde d'oxygène formé est alors soumis à l'action de la peroxydase TSA, associée à la lectine Gal/NAcGal, qui catalyse sa transformation en H_2O (Hugues 2003).

- *E. histolytica* possède une L-arginase qui réduit la production de NO par les macrophages par la consommation de l'arginine du milieu et sa transformation en L-ornithine. Ceci prive les NO-synthase macrophagiques de leur substrat et donc diminue la production de NO toxique (Guo 2007).

- L'étude du génome d'*E. histolytica* a de plus mis en évidence une protéine au rôle important, Ehserp (Riahi 2004). Le génome d'*E. histolytica* possède une seule copie du gène Ehserp. La protéine codée par ce gène possède une forte homologie avec la famille des serpinines (Ankri 2002). Il s'agit d'un inhibiteur de la cathepsine G des polynucléaires neutrophiles humains. La cathepsine G est une molécule fortement chimio-attractrice des lymphocytes T et des monocytes. Elle exerce une fonction antibactérienne, participe à la dégradation de la matrice extracellulaire et à la vasorégulation. Ehserp est localisée dans le cytoplasme des amibes et n'est sécrétée qu'après un contact efficace entre la lectine Gal/NAcGal et les cellules hôtes. Elle inhibe la cathepsine G en formant avec elle un complexe stable.

La cathepsine G jouant un rôle essentiel dans l'inflammation, son inhibition par la protéine Ehserp est un élément de l'échappement au système inflammatoire de l'hôte.

- La phagocytose par *E. histolytica* des cellules nécrotiques ou apoptotiques permet elle aussi de contrôler l'inflammation en empêchant le déversement des composants cytotoxiques cellulaires dans son environnement (Marion 2006). De plus, l'érythrophagocytose, de part l'important équipement anti-oxydatif des érythrocytes, permettrait de recycler et de détoxifier les radicaux libres de l'oxygène (Winterbourn 1987).

En traversant les tissus muqueux et sous-muqueux, même au niveau de la circulation portale, les trophozoïtes rencontrent d'autres mécanismes de défense comme le système du complément et les réponses immunitaires humorale et cellulaire.

E. histolytica, afin de survivre le plus longtemps possible chez l'homme et notamment durant l'infection chronique, a ainsi développé divers mécanismes responsables de l'inefficacité partielle de la réponse immunitaire de l'hôte.

1.2.2. Induction d'une réponse immunitaire partiellement efficace de l'hôte

1.2.2.1. Echappement au système du complément

Ainsi qu'il a été précédemment décrit, *E. histolytica* est capable, par la sous-unité lourde des lectines Gal/NACGal mimant le CD59 humain, d'inhiber l'assemblage du complexe d'attaque membranaire (C5b9) du complément (Petri 2002a).

Les amibes possèdent également la propriété d'échapper au système phagocytaire de l'hôte grâce à leurs cystéine-protéinases qui clivent et inactivent les anaphylatoxines C3a et C5a chimio-attractives et activatrices des phagocytes (Que 1997, Que 2000).

Le phénomène de « capping » est un mécanisme de résistance à la lyse par le complément. En effet, les molécules du complément adsorbés en surface d'*E. histolytica* sont transloqués au niveau de l'uroïde puis sont expulsés dans le milieu sous forme d'agrégats (Aust-Kettis 1978, Calderon 1980).

E. histolytica est recouverte, à sa surface, par de nombreuses molécules fortement glycosylées et phosphorylées formant des lipophosphoglycanes et de protéophosphoglycanes avec un ancrage glycosyl-phosphatidyl-inositol. Cette structure lui sert de barrière physique pour lutter contre le système du complément (Stanley 1992, Moody-Haupt 2000). De plus, la différence de composition de la surface entre *E. dispar*, les souches avirulentes d'*E. histolytica* et les souches virulentes observées (Moody 1998), indique que cette « couverture » moléculaire pourrait avoir un rôle dans l'échappement à l'immunité innée par l'absence de reconnaissance du pathogène par les cellules immunitaires (Campos-Rodriguezp 2005).

1.2.2.2. Inhibition de la réponse humorale

Les cystéine-protéinases amibiennes jouent également un rôle dans l'inefficacité partielle de l'immunité humorale. En effet, ces enzymes sont à l'origine du clivage des immunoglobulines A et G induisant leur incapacité à

se lier aux antigènes amibiens et donc inhibant l'opsonisation par les monocytes macrophages (Kelsall 1993, Tran 1998).

Le phénomène de "capping" s'exerce aussi pour les immunoglobulines adsorbées en surface d'*E. histolytica* et permet d'échapper à l'action cytotoxique induite par les anticorps (Aust-kettis 1978, Calderon 1980).

1.2.2.3. Inhibition des fonctions macrophagiques (Guo 2007)

Le rôle des macrophages comme cellules effectrices de l'immunité durant l'infection amibienne a été décrit dans les modèles humains et animaux. Comme les polynucléaires neutrophiles, les macrophages acquièrent une activité amoebicide après stimulation, *in vitro*, par l'Interféron γ (IFN γ), le Tumor Necrosis Factor (TNF α) ou par un Colony Stimulating Factor. Ils reconnaissent les trophozoïtes via leur récepteurs TRL2 et TRL4 et induisent une cytotoxicité dépendante du NO et des radicaux libres oxygénés.

Malgré la sensibilité des trophozoïtes à ces attaques, la suppression de l'immunité cellulaire avec une diminution des fonctions macrophagiques a souvent été observée dans les cas humains et lors des amibiases expérimentales. Les macrophages isolés des abcès hépatiques sont réfractaires à l'activation par l'IFN γ et déficients dans la production d'H₂O₂, d'interleukine 1 (IL1) et de TNF α .

La modulation de l'immunité par *E. histolytica* est multifactorielle. Les capacités cytotoxiques des macrophages ainsi que leurs fonctions

sécrétrices et de cellule présentatrice de l'antigène sont diminuées durant l'amibiase hépatique.

Les molécules amibiennes et les mécanismes intervenant dans ces effets sont encore peu compris, mais certains effecteurs commencent à être connus.

α) Structure et effets du Monocyte Locomotion Inhibitory Factor (MLIF)

Contrairement aux phases précoces de l'invasion amibienne, qui présentent une inflammation intense, les lésions extra-intestinales avancées sont caractérisées par une faible réaction inflammatoire retardée. Ceci contribue probablement à la remarquable régénération sans séquelles, après traitement, des organes infectés.

Ces observations ont conduit à la découverte et à la caractérisation d'un pentapeptide [Met-Gln-Cys-Asn-Ser] de 583 Da aux propriétés anti-inflammatoires produit par *E. histolytica* sous forme de pro-peptide clivé par une trypsine/sérine protéase (Kretschmer 2001). Ce peptide inhibe *in vitro* et *in vivo* la locomotion des monocytes macrophages mais pas celle des polynucléaires neutrophiles (PNN) et éosinophiles. Ceci se fait par l'inhibition de l'expression des molécules d'adhésion leucoendothéliales VL4 et VCAM1 (Gimenez-Scherer 2000) nécessaires à l'adhérence et à l'extravasation des monocytes macrophages.

Le MLIF inhibe la production induite, et non constitutive, du NO dans les macrophages et les PNN ainsi que la production induite des intermédiaires réactifs de l'oxygène dans ces 2 types cellulaires. Ces actions protègent les trophozoïtes de la cytotoxicité de ces cellules immunitaires (Rico 2000).

L'activité du MLIF s'exerce par sa liaison, sans atteinte de l'intégrité cellulaire, à un récepteur de surface des macrophages contenant du mannose, CD43, et augmente la production d'AMPc sans diminuer celle de GMPc (Kretschmer 2001).

Le MLIF a aussi une action sur l'activité sécrétrice de chémokines du macrophage et donc sur le recrutement des lymphocytes T et le type de réponse immunitaire. Il inhibe la production induite par le LPS des chemokines MIP- α et MIP-1 β , essentielles pour le recrutement des lymphocytes T. Ceci se fait par inhibition de la synthèse protéique grâce à une action sur les ARNm (Utrera-Barillas 2003).

Le MLIF exerce aussi une action sur les lymphocytes T CD4⁺ en inhibant la synthèse d'IL1 et stimulant celle d'IL10 ce qui perturbe la balance pro et anti-inflammatoire (Rojas-Dotor 2006).

Toutes ces actions s'exercent uniquement à un niveau local, dans l'environnement proche des trophozoïtes au niveau des abcès hépatiques, les populations macrophagiques distantes gardant leurs fonctions (Chadee 1985, Zambrano-Villa 2002).

E. dispar ne produit pas de peptide aux propriétés équivalentes, que ce soit l'action anti-inflammatoire ou la perturbation de la mobilité des macrophages. C'est une différence biomoléculaire de plus entre ces 2 espèces (Silva 2000, Silva Garcia 2003).

β) Inhibition de la fonction présentatrice de l'antigène, rôle de la prostaglandine E2 (PGE2)

La genèse de l'immunité spécifique contre *E. histolytica* débute par la reconnaissance des antigènes amibiens par les récepteurs spécifiques (TCR) des lymphocytes T. Les antigènes sont présentés aux cellules T par

l'intermédiaire de cellules présentatrices de l'antigène comme les macrophages. Ces derniers expriment à leur surface des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II), leur permettant de présenter l'antigène aux récepteurs TCR des lymphocytes T. L'amibe pathogène bloque le recrutement des lymphocytes T par l'inhibition de la présentation de l'antigène par un mécanisme faisant intervenir une PGE2 amibienne ou par l'action directe de PGE2 macrophagique dont la production est induite par *E. histolytica*.

La PGE2 est un modulateur de la réponse immune, avec des effets pro-inflammatoires entraînant l'œdème et l'infiltration leucocytaire tout en inhibant des fonctions macrophagiques comme la production d'IL1 et de TNF α et l'expression des gènes du CMH II (Espinosa-Cantellano 2000).

Les PGE2 augmentent le taux d'AMPc intracellulaire dans les monocytes macrophages. Ceci active la cascade de phosphorylation de la phosphokinase A (PKA) qui à son tour supprime la synthèse de la molécule Ia (associée aux antigènes) de surface, normalement induite par l'IFN γ , et l'expression de l'ARNm Iab du complexe génique codant les molécules du CMH II (Betz 1991). L'activation de la voie PKA dans les macrophages entraîne aussi l'inhibition de la sécrétion de cytokines Th1 (IL2 et IFN γ) et de la respiration oxydative.

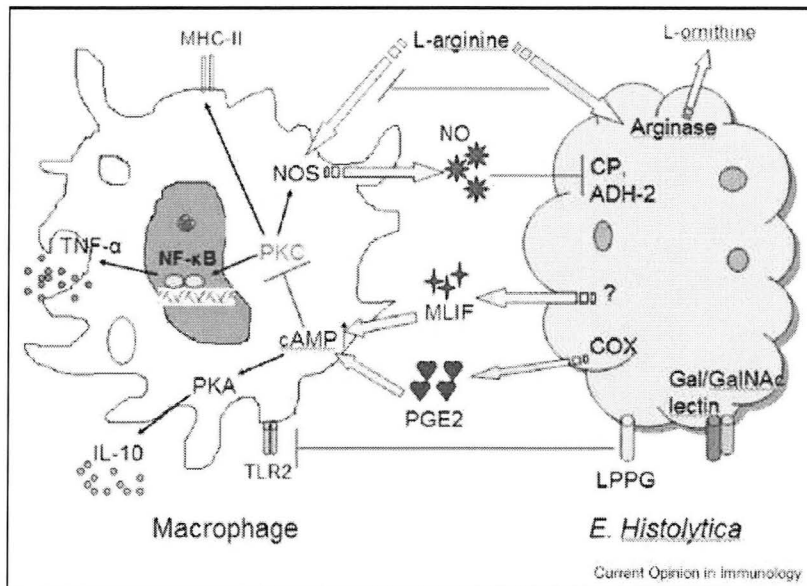
La régulation négative de l'expression de la molécule Ia du CMH II à la surface du macrophage limite la capacité des cellules à présenter les antigènes amibiens aux lymphocytes T CD4 $^{+}$ et donc l'activation de ces lymphocytes.

γ) Autres effets modulateurs d'*E. histolytica*

Les macrophages isolés dans les abcès hépatiques sont réfractaires à l'IFN γ et aux lipopolysaccharides, molécules entraînant normalement l'activation de ces cellules (Denis 1988, Espinosa-Cantellano 2000).

L'activation des macrophages se fait en réponse à des signaux environnementaux activant les voies de transcription du signal impliquant la phosphokinase C (PKC) et la PKA. La PKC est liée à l'activation macrophagique tandis que la PKA est associée à la diminution de l'accumulation des ARNm de TNF α dans le macrophage. Le gène c-fos est le premier gène exprimé durant l'activation, soit de façon transitoire après une stimulation par la voie PKC ou pendant plusieurs heures pendant une stimulation via la voie PKA (Espinosa-Cantellano 2000).

In vitro, les macrophages naïfs mis en contact avec *E. histolytica* montrent une augmentation de l'expression du gène c-fos et des ARNm TNF α via la voie PKC. Néanmoins, les 2 types d'ARNm sont rapidement dégradés et aucune protéine de TNF α n'est sécrétée. Ce mécanisme pourrait donc aussi intervenir dans la suppression des fonctions macrophagiques (Seguin 1995).



Modulations des fonctions macrophagiques par *E. histolytica* (Guo 2007)

1.2.2.4. Modulation exercée sur les lymphocytes T

Une absence de prolifération de cellules T accompagne l'invasion hépatique par *E. histolytica*. Cet effet semble dû à un suppresseur soluble présent dans le sérum des patients infectés qui inhibe la production d'IL2, probablement par un effet au niveau de la transduction du signal (Campbell 1999).

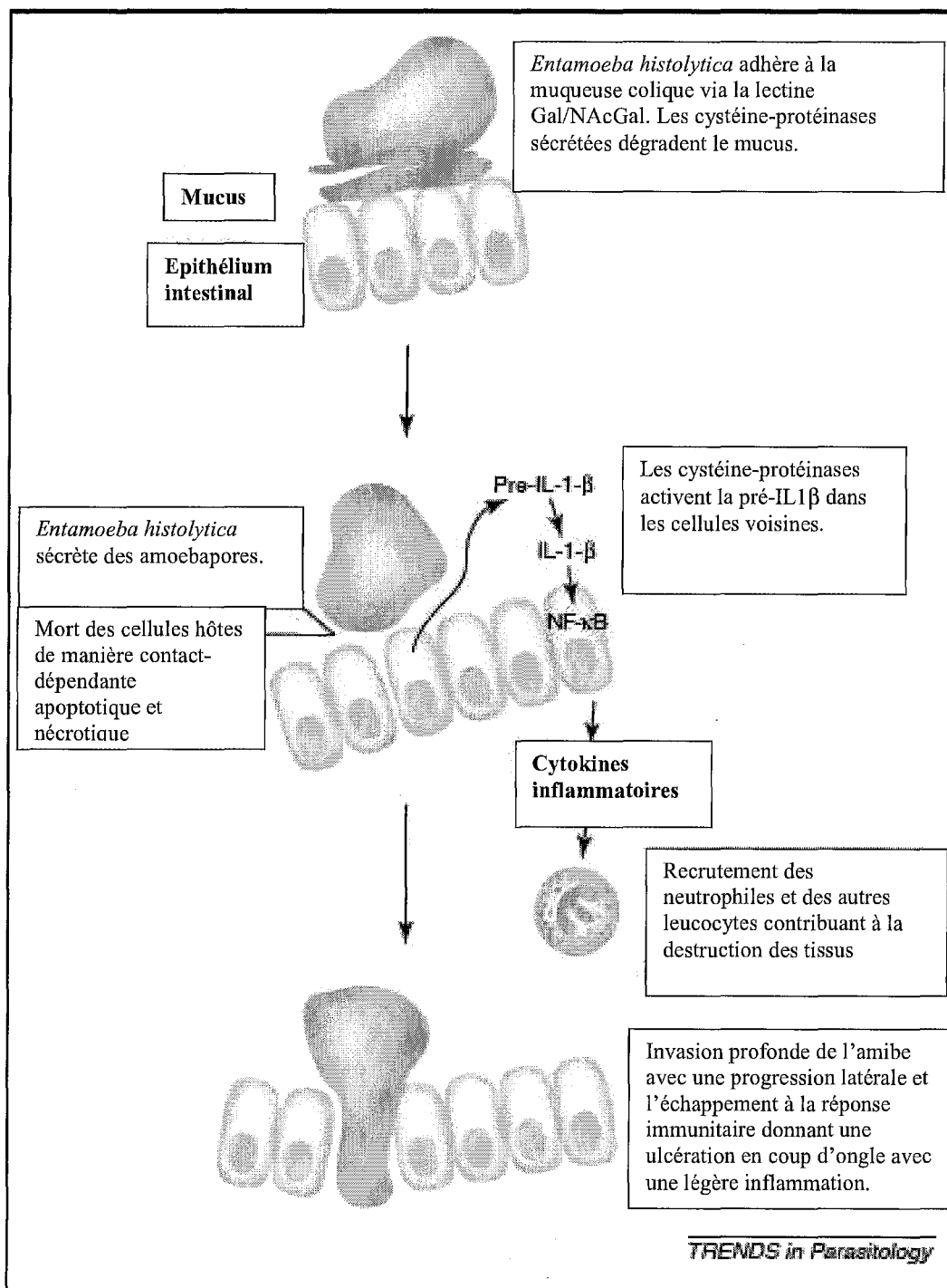
De plus, cette non-prolifération est observée *in vitro* en présence d'une lectine amibienne de 220 kDa qui entraîne en plus une augmentation de la sécrétion de cytokines de la voie Th2 : IL4 et IL10 (Talamas-Rohana 1995).

L'induction d'une immunité efficace contre *E. histolytica* dépend de l'activation de lymphocytes T spécifique qui entraîne la sécrétion de cytokines appropriées et une cytotoxicité directe sur l'amibe.

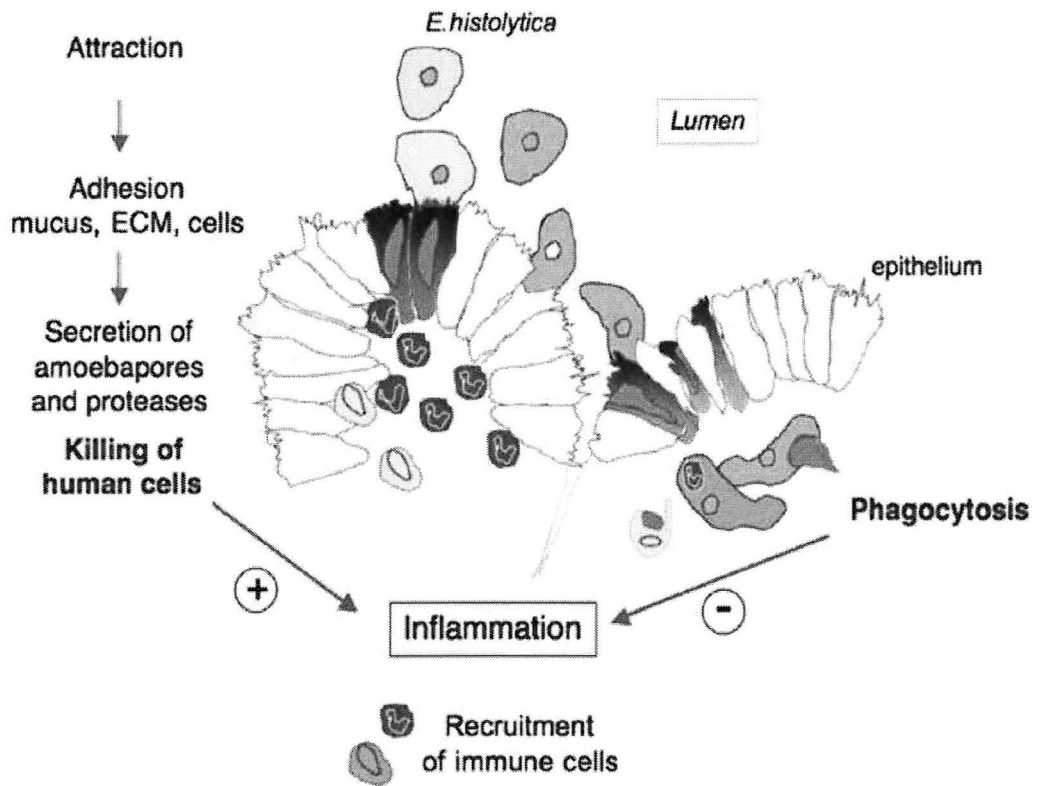
Dans l'étude de Haque, la production d'IFN γ par les monocytes macrophages est associée à une protection vis-à-vis d'un nouvel épisode diarrhéique (Haque 2007) suggérant un rôle important de la réponse immunitaire cellulaire Th1 dans la protection.

Néanmoins, dans les modèles de colite amibienne, les lymphocytes T CD4⁺ semblent favoriser la pathologie au lieu d'induire une protection. Notamment, la production élevée de cytokines de la voie Th2 semble intervenir dans la phase chronique (Haupt 2002).

In vitro, les composants amibiens favorisent la production de cytokines Th2 tout en supprimant les cytokines Th1 (Campbell 1997a). Cette modulation des réponses Th1 et Th2 durant l'infection entraîne une action retardée et inefficace des lymphocytes T.



Modèle d'invasion de la muqueuse colique, étape clé de l'infection par *E. histolytica*. D'après Huston 2004



Le processus d'invasion par *E. histolytica* induit et contrôle l'inflammation. D'après Marion 2005

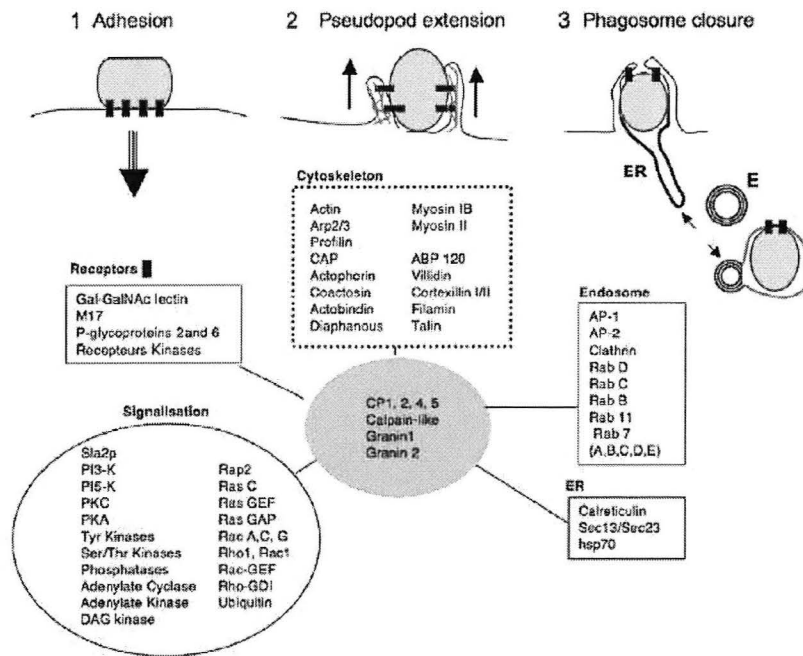


Schéma de la cascade d'évènements intervenant dans la phagocytose et protéines régulatrices. D'après Marion 2005

2. Facteurs liés à l'hôte

La pathogénicité d'*Entamoeba histolytica* varie d'une région géographique à l'autre, mais également d'un individu à l'autre.

Les multiples tableaux cliniques, de la colonisation asymptomatique à l'abcès hépatique, semblent liés à la virulence variable des différentes souches mais aussi à des facteurs de l'hôte : physiologiques, génétiques ou immunitaires.

2.1. Facteurs physiologiques

2.1.1. Prédominance masculine de l'amibiase viscérale

90 % des individus infectés par *E. histolytica* restent asymptomatiques ou présentent des signes cliniques mineurs. Les 10 % restant développent une amibiase invasive comme la dysenterie amibienne ou l'amibiase hépatique.

Comme nous l'avons exposé dans le chapitre 1, bien que l'infection asymptomatique concerne indifféremment les femmes et les hommes, ces derniers sont 3 à 10 fois plus atteints par les formes viscérales (Acuna-soto 2000).

Cette forte proportion masculine semble donc dépendre de facteurs liés au sexe : hormonaux, liés au chromosome X ou bien comportementaux (alcool...).

La testostérone pourrait constituer l'un de ces facteurs et être responsable de la plus grande virulence d'*E. histolytica* chez les hommes.

Toutefois, les recherches entamées depuis de nombreuses années n'ont pas pu prouver un lien entre cette hormone et la prédominance masculine de la parasitose invasive.

Par contre, une étude sur un modèle d'amibiase hépatique chez la souris, montre une différence d'activité des lymphocytes T killer et de leur production d'IFN γ chez les souris mâles et femelles. L'augmentation de la quantité d'IFN γ produit par les lymphocytes T killer semble avoir un rôle crucial dans le déclenchement de la résistance à *E. histolytica* chez les femelles (Lotter 2006) par une élimination rapide des trophozoïtes du foie.

2.1.2. Environnement intestinal (Debnath 2007, Variyam 2007)

Les facteurs protégeant l'hôte contre la maladie invasive et ceux qui favorisent l'invasion sont peu connus. De nombreuses hypothèses ont été émises sur l'influence de facteurs nutritionnels, immunitaires, de virulence parasitaire ou des microorganismes associés, sur le comportement commensal ou parasitaire d'*E. histolytica*. Aucune étude n'a démontré un rôle certain de la nutrition (Diamond 1982). De plus, il n'y a pas d'étude longitudinale ayant montré un changement des facteurs de virulence pendant l'invasion. Enfin, les études montrant une interaction entre les trophozoïtes et certaines bactéries ont eu lieu *in vitro* et avec des organismes peu présents *in vivo*. Les rôles des facteurs génétiques ou immunitaires sont encore à déterminer, les résultats actuels ne montrent pas de mécanismes de prévention à l'infection primitive.

Le modèle animal d'amibiase intestinale suggère que le microenvironnement de l'intestin de l'hôte et plus particulièrement la couche

de mucus et la flore bactérienne influencent le comportement d'*E. histolytica*.

2.1.2.1. Mucus (Debnath 2007, Guo 2007, Variyam 2007)

Le côlon est recouvert par une couche continue de mucus adhérent à l'épithélium et d'une épaisseur de plus de 100 µm. Le mucus est la première couche qui protège l'épithélium colique contre des virus, bactéries et parasites potentiellement pathogènes. Il possède aussi les fonctions de lubrifiant et de support à la croissance de la flore bactérienne.

En tant que principal composant de la couche de mucus intestinal, les mucines forment la première ligne de défense de l'hôte contre l'invasion d'*E. histolytica*. Les mucines sont des glycoprotéines synthétisées par les cellules caliciformes et des glandes sous-muqueuses contenant 80 % de chaînes polysaccharidiques O-liées. La mucine MUC-2, par ses résidus Gal et NAcGal, présente la même forte affinité pour la lectine Gal/NAcGal d'*E. histolytica* et donc entre en compétition avec l'épithélium dans l'attachement des trophozoïtes.

La couche de mucus forme donc une barrière physique contre l'invasion par *E. histolytica*. Par ailleurs, l'interaction entre les mucines et *E. histolytica* facilite probablement la colonisation intestinale et donc promeut une relation commensale entre l'homme et le parasite (Ravdin 2005)

De plus, il semble que la liaison de la lectine Gal/NAcGal aux résidus Gal et NAcGal des mucines entraîne une diminution de la sécrétion de protéases, comme les cystéine-protéinases, par *E. histolytica*. Néanmoins,

cette inhibition varie en fonction de la composition en mucines et joue sur le phénotype des trophozoïtes (Chadee 1991).

Enfin, *E. histolytica* sécrète en plus des cystéine-protéases un facteur induisant une hypersécrétion de mucus par les cellules caliciformes conduisant à une déplétion en mucines laissant l'épithélium accessible (Tse 1992). La déplétion en mucus colique est toujours observée avant l'invasion du parasite dans les modèles animaux.

L'importance du mucus comme barrière physique ainsi que la réaction spécifique des trophozoïtes en fonction des mucines exprimées nous permet de nous interroger sur l'impact du type de gènes muc-2 dans la sensibilité ou la résistance de l'hôte à l'invasion par *E. histolytica*.

2.1.2.2. Flore bactérienne commensale

De nombreuses études montrent que la flore bactérienne intestinale est plus qu'une simple source de nourriture pour *E. histolytica*. Les interactions entre les bactéries commensales et *E. histolytica* semblent être un facteur déterminant pour la défense de l'hôte ou la virulence du parasite (Petri 2002a, Guo 2007).

Dans la flore bactérienne colique normale, les bactéries anaérobies représentent 1 % de la population. Elles produisent de nombreuses glycosidases extracellulaires qui, en association avec des protéases (pancréatiques, bactériennes), dégradent les glycoconjugués (glycoprotéines et glycolipides) des surfaces cellulaires.

La lectine Gal/NAcGal d'*E. histolytica* est une glycoprotéine qui, bien que résistante à de nombreuses protéases, est dégradée par les glycosidases bactériennes et les protéases digestives dans les concentrations

physiologiques. La capacité d'adhérence, et donc d'invasion, des trophozoïtes est inhibée.

In vitro, la co-culture d'*E. histolytica* avec différentes souches bactériennes a montré des résultats contrastés avec une diminution ou, au contraire, une augmentation de la virulence en fonction des souches mais aussi en fonction des protocoles d'étude (Anaya-Velazquez 1992, Gilchrist 1999, Padilla-Vaca 1999).

Néanmoins, les interactions bactéries/trophozoïtes ont été établies. Elles se font par liaison avec les lectines Gal/NAcGal ou par des récepteurs de surface d'*E. histolytica* contenant du mannose et se liant aux surfaces bactériennes.

Les mécanismes entraînant une diminution de la virulence ont été retrouvés avec les souches *Escherichia coli* K12 et *Escherichia coli* 055. *E. coli* 055 induit une diminution de l'expression de la sous-unité légère de la lectine Gal/NAcGal (Padilla-Vaca 1999) tandis qu'*E. coli* k12, se liant par un résidu mannose, induit des protéines kinases, des GTPases Rab et l'expression du gène hsp90 conduisant à une diminution de la sécrétion de cystéine-protéinases (Debnath 2007).

La coexistence bactérie/*E. histolytica* conduit à la modification de certains antigènes de surface des trophozoïtes pouvant conduire à une non reconnaissance par l'immunité innée (Campos-Rodriguez 2005).

Une étude sur des porcelets gnotobiotiques (porcelets dont la flore intestinale est connue et surveillée) infectés par *E. histolytica* a montré que les sujets ayant une flore bactérienne normale ont moins de trophozoïtes dans la couche de mucus que les porcelets témoins. La taille et la composition de la population bactérienne induisant une protection semblent

déterminées par le groupe sanguin et des facteurs génétiques de l'hôte (Hoskins 1991)

Enfin, la flore bactérienne pourrait réguler l'enkystement d'*E. histolytica* par modification des chaînes courtes d'acides gras au niveau du mucus comme tendent à le montrer les études sur *Entamoeba invadens* (Byers 2005).

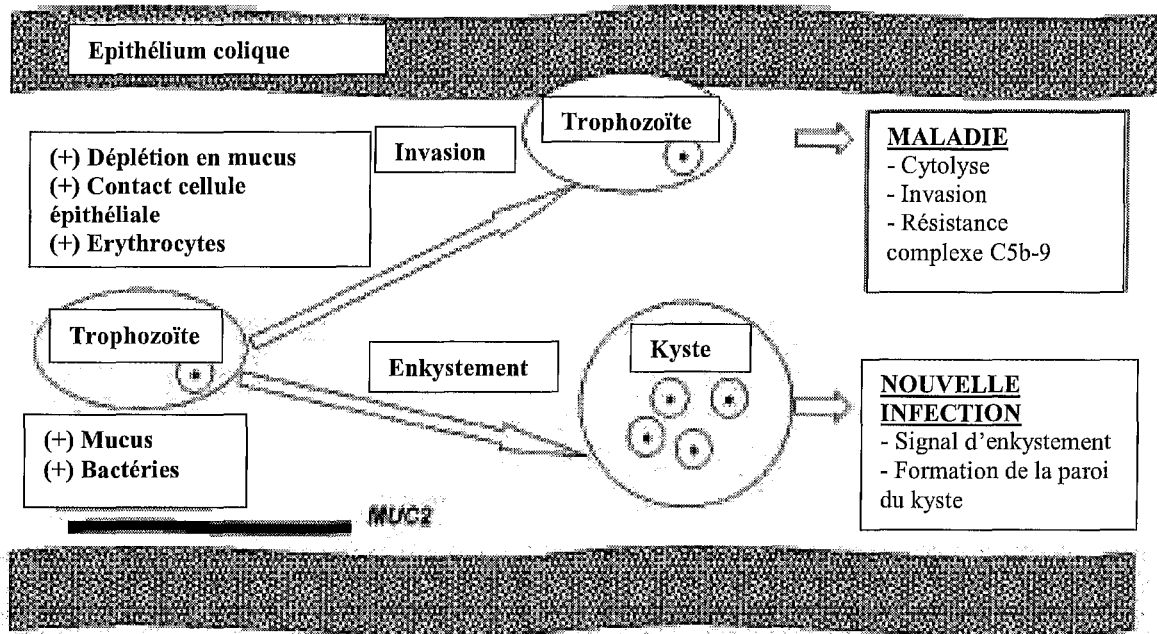
L'ensemble des activités bénéfiques de la flore commensale normale peut être altéré par des infections intercurrentes avec diarrhées, en cas de malnutrition ou à la suite d'un traitement antibiotique (Variyam 2007).

2.1.2.3. Etat de l'intestin, motilité intestinale

La présence de lésions intestinales favoriseraient l'invasion amibienne qu'il s'agisse de plaies ou d'excoriations du rectum ou du côlon, les lavements irritants ou les colites non infectieuses (Wery 1995).

Chez l'animal, l'irritation colique, obtenue en ajoutant de l'huile de croton à la suspension d'amibes, et un transit ralenti favoriseraient le passage de l'amibiase infestation à l'amibiase maladie (Wery 1995).

Chez l'homme, dans les infections parasitaires à nématodes et à *Giardia duodenalis* la réponse immune adaptative entraîne une hypermotilité de la couche musculaire lisse de l'intestin ce qui favorise l'élimination des parasites (Vallance 1998, Andersen 2006). Ce mécanisme pourrait contribuer aussi aux défenses de l'organisme contre *E. histolytica*.



Effets de facteurs environnementaux sur la pathogénèse d'*Entamoeba histolytica*.

D'après Petri 2002a



2.2. Facteurs génétiques

La majorité des individus infectés par *E. histolytica* ne développant pas de maladie symptomatique, il est probable que des facteurs génétiques de l'hôte soit en partie responsables de cette résistance.

Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II) intervient dans la protection ou la susceptibilité à l'infection par *E. histolytica*. Une association entre l'allèle *DBQ1*0601* du CMH II, ou l'haplotype hétérozygote *DBQ1*0601/DRB1*1501*, et la protection contre les amibiases intestinales a été observée dans une étude de cohorte chez des enfants au Bangladesh (Duggal 2004). Par contre, la prévalence de l'haplotype HLA DR3 de complotype SC01 est augmentée d'un facteur 3 chez les sujets atteints d'abcès hépatique (Arellano 1992, Arellano 1996). Cette susceptibilité n'est pas retrouvée pour l'amibiase intestinale ou la colonisation asymptomatique.

La présence ou l'absence de certaines allèles HLA de classe II pourrait altérer la réponse à l'infection amibienne en modifiant le répertoire des protéines présentées aux lymphocytes T CD4+ et donc l'efficacité de la réponse cellulaire (Duggal 2004).

Néanmoins, l'absence d'augmentation de l'incidence de l'amibiase invasive malgré la pandémie du SIDA et la forte prévalence de la colonisation intestinale par *E. histolytica* des sujets HIV+, suggère que l'évolution de la maladie ne dépend pas principalement de ce type de réponse immunitaire (Ravdin 2005).

Cette observation est confortée par un modèle animal de colite amibienne où la déplétion en lymphocytes T CD4+ diminue la sévérité des lésions tissulaires (Haupt 2002).

2.3. Immunité anti-amibienne

Au cours d'une infection à *E. histolytica*, l'homme réagit en développant deux types de réponses :

- une réponse à médiation humorale marquée par la production d'anticorps à des taux élevés,
- une réponse à médiation cellulaire via les lymphocytes T helpers.

2.3.1. Immunité cellulaire

L'immunité à médiation cellulaire développée au cours de l'amibiase a été étudiée *in vivo* et *in vitro*.

Ainsi, dans l'amibiase invasive, une chute du taux de lymphocytes T CD4⁺ associée à une augmentation du taux de lymphocytes T CD8⁺ ont été mises en évidence, tant au niveau hépatique (Ventura-Juarez 2003) qu'au niveau sanguin (Uz-Zaman 1993, Campbell 1997b). Cette activité suppressive sur l'immunité cellulaire a été décrite pour d'autres protozooses (Trypanosomose, Leishmaniose viscérale...).

Le mécanisme responsable de la prédominance des lymphocytes T CD8⁺ par rapport aux lymphocytes T CD4⁺ n'est pas totalement connu mais semble faire intervenir une infiltration préférentielle des lymphocytes T CD8⁺ au sein des tissus, ou l'activation des lymphocytes T CD8⁺ par une protéine de surface de 220 kDa d'*E. histolytica* (Ventura-Juarez 2003). Cette protéine induit, de plus, la sécrétion d'IL4 et d'IL10, cytokines de la voie Th2 (Zambrano-Villa 2002).

A l'inverse, chez les porteurs asymptomatiques de kystes d'*E. histolytica*, on retrouve des taux sériques élevés d'IFN γ et d'IL2, cytokines de la voie Th1 (Haque 2007).

Le caractère invasif ou non de l'amibiase dépend donc de la virulence de la souche mais aussi de l'hôte. Ainsi, l'individu développera soit une puissante activité cytotoxique, médiée par la voie Th1, soit une réponse Th2 aboutissant via la production d'IL4 et d'IL10 à la survie et à la dissémination du parasite.

2.3.2. Immunité humorale

Une infection par *E. histolytica*, qu'elle soit invasive ou non, induit une réponse humorale (IgA et IgG) avec des titres élevés en anticorps sériques.

Le portage d'*E. dispar* se traduit habituellement par l'absence ou de faibles titres en anticorps spécifiques (Gathiram 1987, Abd-Alla 1998).

Les études séroépidémiologiques indiquent que 81 à 100 % des patients présentant une amibiase invasive développent des anticorps circulants spécifiques dans les 7 jours suivants l'infection (Kaur 2004). Ces anticorps sont majoritairement dirigés contre le CRD de la lectine Gal /NACGal.

Par contre, chez les porteurs asymptomatiques sans atteinte tissulaire, la production d'anticorps sérique reste faible et d'interprétation difficile (Sanchez-Guillen 2002).

Lors de l'infection par *E. histolytica* différents isotopes d'immunoglobulines sont produits : IgM, IgG, IgA, avec une augmentation de l'ensemble des sous-classes d'immunoglobulines au cours de l'infection.

Les IgG sériques augmentent dans toutes les circonstances cliniques d'infection à *E. histolytica*, mais les taux les plus élevés sont retrouvés au cours des abcès hépatiques.

Les IgA et IgM sont présentes au stade aigu de dysenterie, mais des IgA sériques sont toujours décelables, 12 mois après le traitement, dans le sang des patients ayant eu une dysenterie amibienne ou, en plus grande quantité, en cas d'amibiase hépatique (Valenzuela 2001).

La détection de ces anticorps sériques est essentielle pour le diagnostic d'amibiase extra-intestinale dans les zones non-endémiques.

En règle générale, la détection des anticorps est considérée comme un indicateur d'une infection actuelle ou passée, les IgG sériques persistant environ 10 ans (Ravdin 2005). Par contre, elle ne doit pas être associée à une éventuelle résistance à l'infection ou assimilée à une immunité protectrice.

En effet, la présence d'IgA sérique n'est pas corrélée à une protection et un taux supérieur d'IgG anti-lectine Gal/NAcGal sérique a été retrouvé chez les patients avec une amibiase invasive par rapport aux sujets asymptomatiques (Kaur 2004).

De plus, les résultats de l'étude de cohorte de Haque *et al* sur des enfants bangladais montrent que les sujets ayant des IgG anti-trophozoïtes et à moindre degré des IgG anti-lectine Gal/NAcGal ont une plus grande susceptibilité à une nouvelle infection et que les infections chez ces sujets sont plus longues et sévères (Haque 2001, Haque 2002).

Il semble que cette susceptibilité, corrélée à la production d'IgG, dépende de l'immunité innée et a donc une origine familiale. Certains patients ne produisent pas d'IgG anti-trophozoïtes malgré une nouvelle infection et les parents des enfants IgG anti-trophozoïtes ont les mêmes immunoglobulines dans leur sérum (Haque 2002).

Par ailleurs, des IgA ont été détectées dans les fèces, la salive et le lait maternel des porteurs asymptomatiques ou non d'*E. histolytica* (Kelsall 1994, Lotter 1997). Les IgA sécrétoires intestinales retrouvées dans les selles semblent particulièrement intéressantes. L'étude de Haque *et al*, menée sur la même cohorte d'enfants à Dhaka (Haque 2001, Haque 2002) a montré que la détection d'IgA anti-lectine Gal/NAcGal dans les selles était associée à une résistance à la réinfection par *E. histolytica* (86 % de réduction du nombre de nouveaux cas d'infections sur un an par rapport aux enfants IgA-). Ces IgA aussi sécrétées par les patients atteints d'amibiase hépatique, sont dirigés contre une portion riche en cystéine de la sous-unité lourde de la lectine Gal/NAcGal au niveau du CRD. Cet épitope est très conservé quelque soit la souche (Beck 2002) et les anticorps dirigés contre lui neutralisent l'adhérence des trophozoïtes (Dodson 1999). Au bout de 4 ans de suivi, il est apparu que la présence des IgA sécrétoires était associée non seulement à une réduction des épisodes de colonisation mais aussi à une réduction des cas de colites amibiennes (Haque 2006b).

Les IgA ne sont détectables en moyenne que pendant 31 jours après l'infection mais la protection semble agir pendant au moins 1 an.

Ces résultats montrent l'existence d'une immunité acquise donnant des espoirs pour la fabrication d'un vaccin en direction de la muqueuse intestinale utilisant le CRD de la lectine Gal/NAcGal.

Le développement de l'amibiase semble, au vu des nombreux facteurs mis en évidence, dépendre de multiples interactions entre le parasite et l'hôte conduisant à une forte variabilité de l'expression symptomatique de la maladie. Nous décrivons les différents tableaux cliniques répartis en trois

grands groupes : la colonisation asymptomatique, les amibiases intestinales
et les amibiases extra-intestinales.

CHAPITRE 4 : CLINIQUE

La période d'incubation de l'amibiase peut varier de quelques jours à quelques mois voire années.

Dans la majorité des cas, les symptômes apparaissent dans un délai de 1 à 4 semaines (Tanyuksel 2003).

Les manifestations cliniques sont multiples, portage asymptomatique, dysenterie, colite fulminante, mégacôlon toxique, péritonite, au niveau intestinal et formation d'abcès dans divers organes.

1. La colonisation asymptomatique

L'infection asymptomatique par *E. histolytica* est définie par la présence d'*E. histolytica* dans les selles associée à l'absence de sang et une muqueuse normale à l'examen par rectosigmoïdoscopie (Ravdin 2005). Elle correspond à 90 % des cas d'infections (Gathiram 1987).

Le diagnostic se fait souvent de manière fortuite lors d'un examen parasitologique des selles (Bouchaud 2005).

Contrairement à l'infection par *E. dispar*, le portage asymptomatique d'*E. histolytica* s'accompagne d'une réponse immunitaire systémique par la présence d'anticorps IgG dans le sérum.

Environ 10 % des porteurs asymptomatiques vont manifester une amibiase invasive dans l'année et la majorité des 90 % restant pourront détruire l'amibe en 18 mois, les autres resteront des porteurs asymptomatiques pendant des années.

2. Amibiase intestinale

2.1. Amibiase intestinale aiguë

2.1.1. Forme dysentérique

Le début est progressif, les patients présentant pendant plusieurs semaines des crampes et une sensibilité abdominales avec une perte de poids (20 % des patients) (Tanyuksel 2003). Ceci correspond au début de la pénétration d'*E. histolytica* dans la paroi colique.

Dans l'épaisseur de la paroi intestinale, les parasites excitent les filets nerveux moteurs, sécrétoires ou sensitifs entraînant un hyperpéristaltisme, une hypersécrétion muqueuse et des douleurs.

L'ulcération résulte de la destruction des cellules par action des amibes et surtout par l'inflammation responsable d'une accumulation de lymphocytes et de polynucléaires. Les cellules intestinales tuées participent également à la lésion, par le déversement du contenu de leurs lysosomes dans les tissus.

La large poche de tissu nécrosé de la sous-muqueuse communique avec la lumière intestinale par un étroit orifice en cheminée. Ce dernier traverse la muqueuse et se termine par une surélévation en cratère. L'ulcère a un aspect pustuleux et s'étend latéralement dans la sous-muqueuse, lui valant le nom d'abcès en bouton de chemise.

Un tableau de syndrome dysentérique franc apparaît avec une polyexonération des selles entre 5 et 20 par 24h (Ravdin, 1990) accompagnée d'épreintes (colique violente de la région caecale qui parcourt ensuite le côlon donnant une envie impérieuse d'aller à la selle) et de

ténesmes (contracture douloureuse du sphincter anal s'accompagnant de faux besoins).

Les selles sont en général glairo-sanglantes, classiquement afécales mais parfois mélangées à des matières pâteuses ou liquides ; c'est le crachat dysentérique, peu odorant et fourmillant d'amibes hématophages.

Dans certains cas, ces selles sont peu sanglantes, plutôt muqueuses. La présence de sang est néanmoins toujours retrouvée.

Chez les enfants, au contraire, des saignements rectaux sans diarrhée peuvent être observés (Jammal 1985).

L'état général est bien conservé sauf en cas de surinfection bactérienne à bacilles Gram-. La présence de leucocytes (en petite quantité), de sang ainsi que des cristaux de Charcot-Leyden dans les selles, indiquent le caractère invasif de l'atteinte intestinale.

A l'examen clinique, les 2 fosses iliaques sont douloureuses, le côlon est spasmé et érectile, le foie et la rate sont normaux ainsi que la vitesse de sédimentation et l'hémogramme.

La rectoscopie, non indispensable et douloureuse, montre une muqueuse inflammatoire, des ulcérations en coup d'ongles recouvertes de glaires.

L'évolution de la crise dysentérique est généralement, spontanément favorable.

Le taux de mortalité de la dysenterie amibienne ne dépasse pas 1 % sauf en cas de perforations intestinales (forme fulminante) où il peut atteindre 40 % (Ellyson 1986, Aristizabal 1991, Takahashi 1997).

En cas d'absence de traitement, l'amibiase intestinale est une maladie à rechutes et complications pouvant altérer définitivement le tractus intestinal.

2.1.2 *Forme atténuée* (Nozais 1996)

A côté de ce tableau clinique typique, des formes atténuées existent, se traduisant par des désordres digestifs modérés, comme l'alternance de diarrhée et de constipation. Elles sont répétées, fréquentes en zone d'endémie et souvent négligées ce qui entraîne des complications tissulaires à long terme.

L'examen parasitologique des selles est souvent négatif et doit être répété pour retrouver des formes kystiques. La rectosigmoïdoscopie a un intérêt pour le diagnostic.

2.1.3 *Forme suraiguë maligne*

Elle est rare, avec une prévalence inférieure à 0,5 % des cas de dysenterie (Haque 2003). Elle est retrouvée surtout en zone tropicale.

Cette forme grave se produit préférentiellement chez la femme enceinte ou en post-partum, chez l'enfant, l'immunodéprimé ou le patient sous corticothérapie. L'alcool et le diabète apparaissent comme étant des facteurs prédisposants (Takahashi 1997, Stanley 2003).

La colite amibienne fulminante se caractérise par un syndrome toxico-infectieux sévère, un syndrome inflammatoire avec une fièvre élevée et une hyperleucocytose.

La diarrhée est profuse, muco-sanglante voire hémorragique et des lambeaux de muqueuse sont expulsés. L'abdomen est météorisé, les douleurs sont diffuses et il y a des signes d'irritation péritonéale.

Une intervention chirurgicale est indiquée lorsqu'il y a perforation de l'intestin (Petri 1999).

Le taux de mortalité de cette forme dépasse 40 % malgré une prise en charge adaptée (Haque 2003).

2.2. Amibiase intestinale chronique

2.2.1. Colite amibienne chronique ou rechute

Elle se traduit par l'alternance de diarrhée et de constipation, un ballonnement abdominal et des douleurs coliques paroxystiques peu intenses.

L'examen de l'abdomen révèle des douleurs bien localisées (caecum, sigmoïde) avec le cadre colique sensible à la palpation.

Une altération de l'état général, avec perte de poids, associée à des troubles neurovégétatifs est retrouvée.

Ces symptômes sont généralement présents pendant plus d'un an voire pour 37 % des sujets d'une étude, pendant plus de 5 ans (Haider 1975).

2.2.2. Colite post-amibienne ou colite séquellaire

Cette forme a le même tableau clinique que la précédente mais l'absence d'amibe dans les selles est constante.

Elle est due à des phénomènes scléro-inflammatoires et neurovégétatifs découlant d'une amibiase intestinale aiguë guérie mais qui a trop évolué provoquant de nombreuses lésions.

2.3. Les complications intestinales

Les perforations intestinales sont dues à l'action nécrosante d'*E. histolytica* et des germes potentiellement associés. Elles sont très fréquentes en cas d'amibiase fulminante dont elles majorent la morbidité (Stanley 2003).

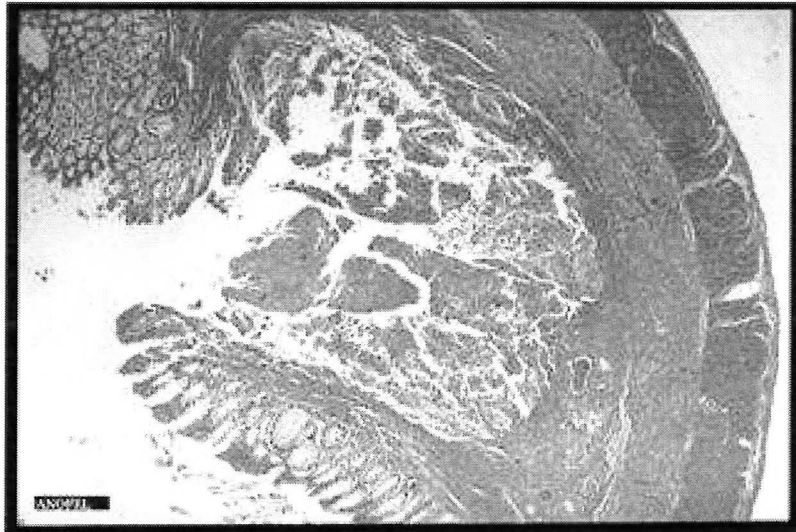
L'amoebome est une manifestation peu fréquente de l'amibiase, surtout retrouvée en Amérique Latine et en Afrique du Sud (Amibiase). C'est un granulome qui siège le plus souvent au niveau du caecum ou du côlon ascendant. La symptomatologie comprend des douleurs abdominales, une diarrhée sanglante, une masse abdominale palpable, un syndrome pseudo-occlusif et une altération de l'état général.

L'amoebome peut être associé à une colite fulminante, à un abcès hépatique, ou être inaugural ou à distance de l'amibiase intestinale. Le diagnostic différentiel avec une tumeur carcinogène ou d'autres pseudo-tumeurs inflammatoires (Crohn iléocaecal, shistosomiase...) se fait par la biopsie (Haque 2003).

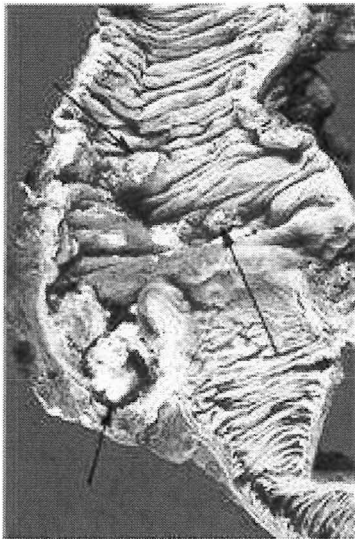
Le mégacôlon toxique est une complication rare de la colite amibienne (0,5 % des cas) résultant le plus souvent d'un traitement inapproprié d'une amibiase par des corticoïdes (Wruble 1966, Cardoso 1977, El hennawy 1978). Il correspond à une dilatation plus ou moins étendue du côlon avec un épaissement de la musculature accompagnée de constipation, de distension abdominale et de stase fécale.

L'amibiase périanale correspond à l'extension d'une affection intestinale sévère à la peau par l'intermédiaire de traumatismes pré-existants ou par des fistules étendues. Les lésions sont ulcératives ou condylomateuses et grandissent lentement (semaines à mois) entraînant des douleurs et des

hémorragies. Ces lésions répondent bien au traitement médicamenteux par métronidazole.



Abcès en bouton de chemise (ANOFEL)



Amoebome (ANOFEL)

3. Amibiase extra-intestinale

3.1. L'amibiase hépatique

C'est la localisation la plus fréquente des formes extra-intestinales avec une prévalence de 5 à 10 % (Bouchaud 2005). Elle est toujours secondaire à une colite amibienne.

L'abcès hépatique touche 10 fois plus souvent les hommes adultes que les femmes, chez les zoulous, cette forme est appelée « isigwebedhla » ou « maladie de l'homme jeune ». Elle touche rarement les enfants (Stanley 2003).

Elle n'est pratiquement jamais concomitante de l'amibiase intestinale aiguë. Exceptionnelle chez le voyageur, elle se produit généralement dans les 2 à 5 mois après un retour d'une zone d'endémie (Knobloch 1983) mais il peut se passer plusieurs années sans symptômes, c'est pourquoi l'interrogatoire doit être mené très sérieusement pour retrouver une notion de voyage (Knobloch 1983, Barnes 1987, Shandera 1998).

La forme *E. histolytica histolytica* ayant atteint les petits vaisseaux de la sous-muqueuse va gagner le foie par la circulation porte. Les amibes, embolisées dans les veinules des espaces portes, nécrosent l'endothélium vasculaire, le tissu conjonctif puis les cellules péri-portales formant de façon centrifuge des micro-abcès disséminés dans la glande hépatique, principalement au niveau du lobe droit.

Certains de ces micro-abcès peuvent se réunir donnant naissance à des abcès plus volumineux. On préfère au terme d'hépatite amibienne celui d'amibiase hépatique lorsque les micro-abcès sont isolés puis on parle d'abcès amibiens souvent multiples et de taille variable.

Les foyers nécrotiques disséminés du début donnent par coalescence des abcès ulcératifs puis des collections nécrotiques évoluant vers la sclérose en l'absence de traitement (Nozais 1996).

Dans 80 % des cas, on observe une forme franche dont le tableau clinique se caractérise par la triade de FONTAN : hépatomégalie fébrile et douloureuse, d'apparition brutale ou rapide. La douleur est spontanée au niveau de l'hypochondre droit (région sous-costale) et irradie dans l'épaule droite. La fièvre est constante, en plateau, le plus souvent élevée, 38,5° à 39,5°C.

A l'examen, le foie est hypertrophié, lisse, ferme mais surtout spontanément douloureux, la sensibilité étant augmentée à l'ébranlement. Cette hépatomégalie ne s'accompagne pas d'ictère, mais l'état général se dégrade rapidement.

Au niveau biologique, un syndrome inflammatoire est retrouvé avec une augmentation de la vitesse de sédimentation (>50mm/h), une CRP>150mg/L, une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles (pas d'éosinophilie). Dans environ 50 % des cas, une légère anémie est détectée ainsi qu'une élévation des phosphatases alcalines et des alanine amino transférases. Une protéinurie est commune durant la phase aiguë.

Il existe des formes subaiguës ou chroniques dans lesquelles la fièvre est moins importante, les douleurs abdominales sont diffuses et où la perte de poids est le signe majeur (Petri 1999, Tanyuksel 2003). Ces formes se produisent principalement chez des patients avec un abcès unique.

Dans plus de 90 % des cas, l'examen parasitologique des selles est négatif (Adams 1977, Katzenstein 1982, Thompson 1985) et la confirmation diagnostique se fera par sérologie (86 à 99 % de séroconversions significatives en une semaine) et par radiographie (surélévation

hémidiaphragmique) ou scanner (zone hypoéchogène de taille variable, sans paroi nette).

En l'absence de traitement, l'évolution est variable, les micro-abcès pouvant guérir spontanément (Blessman 2002) tandis que les abcès volumineux ont un pronostic plus sombre ; certains ne répondant pas au traitement médicamenteux et nécessitant une ponction par aspiration donnant un pus « chocolat », inodore et amicrobien.

La complication majeure d'un abcès hépatique est sa rupture dans la plèvre, le péritoine ou le péricarde entraînant un taux de mortalité d'environ 30 % (Hoffner 1999). Grâce aux nouvelles techniques diagnostiques, le taux de mortalité de l'amibiase hépatique est aujourd'hui inférieur à 3 % par prévention des ruptures (Katzenstein 1982, Thompson 1985, Boonyapisit 1993, Acuna-soto 2000, Stanley 2003).

3.2. L'amibiase pleuro-pulmonaire

Elle est le plus souvent secondaire à un abcès hépatique, dont la rupture a provoqué la diffusion de l'amibe à travers le diaphragme vers la plèvre ou le parenchyme pulmonaire. L'atteinte pulmonaire siège alors à la base pulmonaire droite.

Cette complication se produit chez 7 à 20 % des patients présentant une amibiase hépatique (Stanley 2003).

En cas d'amibiase pulmonaire primitive (rare), les amibes gagnent les poumons par voie sanguine et l'atteinte peut se faire en un point quelconque des 2 poumons.

L'apparition d'une toux, de douleurs thoraciques ainsi que d'une dyspnée sont à relier à une éventuelle amibiase pleuro-pulmonaire, notamment en région endémique.

L'amibiase pulmonaire se manifeste par un abcès évoluant comme l'abcès hépatique. Sec au début, il suppure ensuite et se surinfecte de germes venus de l'extérieur par les bronches.

L'abcès ouvert dans une bronche peut se vider lors d'un accès de toux et provoquer une vomique de crachats brunâtres contenant des résidus nécrotiques et parfois des trophozoïtes.

L'emphysème et l'atteinte parenchymateuse entraîne souvent un diagnostic erroné de pneumonie bactérienne (Adams 1977, Ibarra-Perez 1981, Nwafo 1981, Adeyemo 1984, Kubitschek 1985, Hoffner 1999,).

3.3. Autres localisations

Dans 2 à 7 % des cas, l'abcès hépatique se rompt dans le péritoine, entraînant un tableau de péritonite et un choc septique (Adams 1977, Eggleston 1982, Boonyapisit 1993).

Plus rare mais beaucoup plus dangereuse, la rupture de l'abcès au niveau du péricarde entraîne une péricardite (douleur thoracique, dyspnée, tachycardie) ou une tamponnade. Le taux de mortalité de cette complication atteint 30 % (Adams 1977, Boonyapisit 1993).

L'abcès cérébral est exceptionnel, il complique moins de 0,1 % des cas d'amibiase hépatique. Les principaux symptômes sont des migraines, des vomissements, des convulsions et des troubles de l'humeur. Le début est brutal et dans plus de la moitié des cas une évolution rapide (12 à 72 h) vers la mort est décrite.

Exceptionnellement, des cas d'amibiases génitales ont été décrits ainsi que des lésions cutanées en relation avec un drainage percutané d'un abcès hépatique (Heinz 1973, O'leary 1984, Mayhew 2000). On a noté des localisations splénique, ostéo-articulaires ou rénales, mais elles sont anecdotiques.

Du fait de la multitude des symptômes et l'atteinte de différents compartiments de l'organisme, le diagnostic dépend de l'examen clinique mais surtout des examens parasitologiques faisant intervenir de nombreuses techniques que nous détaillerons dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 5 : DIAGNOSTIC DE L'AMIBIASE

1. Diagnostic biologique

1.1. Diagnostic direct

1.1.1. La microscopie optique

L'examen parasitologique des selles (EPS) fut historiquement la première technique utilisée pour porter le diagnostic d'infection intestinale à *E. histolytica*.

Aujourd'hui, l'EPS reste l'examen de première intention pour établir le diagnostic d'amibiase intestinale aiguë.

1.1.1.1. Les prélèvements

La recherche d'*E. histolytica* doit être réalisée sur des selles fraîchement émises. Classiquement, le prélèvement doit être réalisé au laboratoire ou le cas échéant le biologiste devra être prévenu de la recherche spécifique d'amibes afin de traiter l'échantillon le plus rapidement possible. En effet, les formes végétatives sont très fragiles et résistent moins d'une heure à une température inférieure à 37°C, elles s'immobilisent en 30 minutes puis se lysent.

Si l'échantillon ne peut être examiné rapidement, il devra être conservé fixé à l'alcool polyvinylique, au formaldéhyde ou au Merthiolate Iode Formol (MIF) (Tanyuksel 2003).

De plus, l'élimination des kystes étant irrégulière, il est nécessaire de faire 3 prélèvements à 3-4 jours d'intervalle. Enfin, une purge saline peut augmenter la libération des formes végétatives et kystiques, ce qui peut faciliter le diagnostic (Ravdin 2005) mais elle est discutable chez des patients dont le côlon est déjà irrité.

La recherche d'*E. histolytica* peut aussi s'effectuer en cas d'amibiase intestinale aiguë sur des glaires intestinales prélevées à la curette sous endoscopie (Kamoun 2002).

D'autres types de prélèvements peuvent être soumis à l'examen parasitologique comme le pus prélevé par ponction hépatique, généralement stérile, mais aussi plus rarement des prélèvements urinaires, génitaux ou cutanés. Ces derniers prélevés à la curette, souvent dans la région péri-anale, présentent à l'examen direct des formes hématophages d'*E. histolytica* (Kamoun 2002).

1.1.1.2. Traitement de l'échantillon

Une recherche d'amibes dans les selles comporte obligatoirement 3 étapes (Kamoun 2002, Merens 2005).

α) L'examen microscopique direct

Il s'effectue à l'état frais, entre lame et lamelle, et permet l'observation des formes mobiles hématophages d'*E. histolytica*. La mobilité du trophozoïte est un caractère important qui permet de différencier les formes végétatives des artéfacts (macrophages ayant phagocyté des hématies, cristaux de Charcot-Leyden, débris alimentaires) et des autres amibes.

Le déplacement est unidirectionnel, en limace, par émission d'un pseudopode hyalin unique. Il est rapide et caractéristique.

β) Examen après coloration

La coloration de la préparation permet une meilleure étude morphologique du noyau et du cytoplasme des formes végétatives ou kystiques.

Les colorations les plus utilisées sont le lugol, le MIF, l'acide polyvinylique Trichrome et l'hématoxyline ferrique (Merens 2005, Ravdin 2005).

Les formes végétatives sont le plus souvent retrouvées dans les selles dysentériques ou sur des prélèvements de glaires tandis que l'on retrouvera *E. histolytica* sous forme kystique dans les selles moulées.

γ) Techniques de concentration

Deux techniques de concentration doivent être appliquées à l'échantillon (Merens 2005, Kamoun 2002). Ceci a pour but de réunir dans un faible volume, les éléments parasitaires à l'origine dispersés dans les fèces, ce qui augmente la sensibilité de l'examen.

Malheureusement, les différentes techniques (Bailenger, MIF concentration..) détruisent les formes végétatives fragiles et seuls les kystes sont observables.

1.1.1.3. Utilisations et limites

La microscopie optique est un examen simple et peu coûteux mais elle manque de sensibilité et de spécificité.

α) La sensibilité

La sensibilité de l'examen direct est d'environ 60 % (Anane 2005) avec des écarts entre 25 et 98 % suivant les auteurs (Gonzalez-Ruiz 1994, Heckendorn 2002, Stanley 2003).

De nombreux facteurs interviennent :

- la lecture retardée affecte la sensibilité du fait de la perte de mobilité voire de la destruction des formes végétatives

- l'élimination des kystes s'effectuant de façon intermittente, il est nécessaire de répéter l'examen des selles 3 fois pour augmenter la sensibilité. Différentes études ont démontré qu'un seul examen des selles n'est pas suffisant pour affirmer, ou exclure, le diagnostic d'amibiase. Trois examens sont nécessaires pour que la sensibilité de la technique atteigne 92 % ou 98 % avec plus de 4 échantillons (Heckendorn 2002).

- l'examen microscopique est « observateur-dépendant », il nécessite des opérateurs ayant de l'expérience. Il est difficile, en effet, de faire la différence entre un trophozoïte immobile et un leucocyte, un macrophage ou une autre amibe du genre *Entamoeba*.

- Enfin, de nombreuses substances peuvent perturber l'examen comme les antibiotiques (tétracyclines...), les laxatifs, les lavements...(Ravdin 2005)

La recherche d'amibes en microscopie sur le pus d'un abcès hépatique est très difficile car les parasites se trouvent en général dans les parois de l'abcès. La sensibilité de cet examen est inférieure à 25 % (Tanyuksel 2003).

β) La spécificité

Le diagnostic d'espèce d'*E. histolytica* ne peut se faire que lors de l'observation de trophozoïtes hématophages. Les formes végétatives et kystiques d'*E. histolytica* et d'*E. dispar* étant morphologiquement identiques, en l'absence de formes hématophages, le parasite doit être désigné par *E. histolytica/E. dispar* (WHO 1997, Anane 2005).

Les trophozoïtes hématophages sont rarement observés et il est à noter que des formes hématophages d'*E. dispar* ont été décrites (Haque 1995).

Du fait de cette absence de spécificité et du nombre important de faux positifs, par amalgame entre *E. histolytica*, *E. dispar* et *E. moshkovskii*, cette technique ne doit plus être utilisée pour les études épidémiologiques car elle conduit à la surestimation du nombre de cas d'*E. histolytica*.

La microscopie reste l'examen de choix utilisé par la plupart des laboratoires du fait de sa simplicité, de sa rapidité et de son faible coût. Néanmoins, dans la majorité des cas, il ne permet pas de faire un diagnostic d'espèce. Or, suivant les recommandations de l'OMS de 1997, l'espèce doit être déterminée avant la mise en œuvre du traitement.

La microscopie doit donc être complétée par des techniques spécifiques et souvent plus sensibles, développées depuis quelques années : culture, typage isoenzymatique, détection d'antigènes, caractérisation moléculaire.

1.1.2. Méthodes biochimiques

1.1.2.1 La culture (Ripert 1996)

La mise en culture des amibes a été réalisée pour la première fois par Boeck et Drbohlav en 1925. Elle s'effectue en anaérobiose relative, à un pH compris entre 6,6 et 7,6 et en milieu mono ou di-phasique.

La température optimale de culture est de 35 à 37°C.

Les milieux les plus utilisés pour les cultures xéniques d'*E. histolytica* sont le milieu Robinson et le milieu Diamond TYSGM-9 (Tanyuksel 2003).

La culture axénique d'*E. histolytica* a été réalisée par Diamond. Elle se fait sur un milieu complexe semi-synthétique, TYI-S-33 (trypticase, extrait de levure, fer-sérum) (Ripert 1996).

Toutes les espèces d'amibes (pathogènes et commensales) sont susceptibles de se développer sur ces milieux de culture.

E. dispar se développe en culture xénique aussi facilement qu'*E. histolytica* mais les cultures monoxéniques et plus encore axéniques donnent de très faibles rendements (Tanyuksel 2003).

Pour identifier les amibes isolées, on utilise, le plus souvent, les techniques de microscopie.

La culture, dans un but diagnostique, peut être mise en œuvre lorsque les examens des selles restent négatifs alors qu'au niveau clinique l'amibiase est le diagnostic le plus vraisemblable ou lorsque l'identification du parasite est rendue difficile par le faible nombre de trophozoïtes excrétés.

En théorie, la sensibilité de la culture est supérieure à celle de la microscopie (Haque 1998), cette technique pouvant multiplier par quatre la détection du parasite (Jackson 1996).

En pratique, la mise en culture des protozoaires est difficile, demande beaucoup de temps et d'expérience comparée à celle des bactéries.

D'autre part, les milieux peuvent être envahis par d'autres microorganismes présents dans les selles, particulièrement *Blastocytis hominis*, ce qui inhibe le développement des amibes. Enfin, la culture peut être négative à cause d'un délai entre le recueil de selles et la mise en culture.

De ce fait, pour certains auteurs (Clark 2002, Tanyuksel 2003), la microscopie apparaît comme une technique aussi sensible que la culture pour la détection des parasites.

Il est important de garder en mémoire que toute culture négative n'exclut pas la présence d'*E. histolytica*.

En pratique, la culture n'est plus utilisée en routine dans les laboratoires de biologie et elle est réservée à quelques laboratoires spécialisés.

C'est une technique longue nécessitant 4 jours.

La culture reste donc majoritairement un outil pour la recherche où elle est utilisée pour la production et l'entretien des souches mais aussi comme outil diagnostique pour permettre le typage isoenzymatique distinguant *E. histolytica* et *E. dispar* mais nécessitant 50000 amibes (Merens 2005).

1.1.2.2. Le typage isoenzymatique (Tanyuksel 2003, Anane 2005)

La méthode d'identification enzymatique permet la distinction entre *E. histolytica* et *E. dispar* par l'analyse conjointe du profil électrophorétique de plusieurs isoenzymes, ce qui constitue le zymodème.

La technique est pratiquée selon la méthode de Sargeant *et al* (Sargeant 1978, Clark 2002). La combinaison du profil de 4 isoenzymes cytoplasmiques (hexokinase, phosphoglucomutase, L-malate, glucose phosphate-isomérase) a permis la détermination de 24 zymodèmes différents, 3 provenant de souches expérimentales et 21 d'isolats humains (Tanyuksel 2003). Neuf zymodèmes dits « pathogènes » correspondent à l'espèce *E. histolytica* (II, VI, VII, XI, XII, XIII, XIV, XIX, XX) et 12 zymodèmes non pathogènes correspondant à *E. dispar*.

Le typage enzymatique est considéré comme le « gold standard » pour la distinction entre les 2 espèces. Sa sensibilité et sa spécificité sont de 100 % (Stauffer 2003).

Cependant, certains zymodèmes semblent dépendre des bactéries utilisées dans les cultures xéniques. La bande « hexokinase » semble être le plus simple et plus fiable marqueur d'*E. histolytica* ; elle est stable quelle que soit la flore bactérienne, mais elle est moins précise pour séparer une souche d'une autre (Paul 2007). De plus, le typage isoenzymatique est une technique délicate, lourde, coûteuse et longue. Elle nécessite une culture préalable pour sa réalisation. Aussi, elle n'est pas applicable au diagnostic de routine des infections à *E. histolytica*.

Elle est aujourd'hui réservée aux laboratoires spécialisés où elle sert de technique de référence pour évaluer la spécificité des nouveaux tests

diagnostiques. Le typage isoenzymatique, dans les régions endémiques ou en cas d'épidémie, permet une meilleure connaissance de la (des) souche(s) en causes et donc donne des informations épidémiologiques importantes.

Du fait, des manques de sensibilité et de spécificité de la microscopie, des contraintes techniques du typage isoenzymatique et de la nécessité de distinguer *E. histolytica* et *E. dispar*, de nouvelles techniques diagnostiques ont été développées.

La recherche d'antigènes protéiques ou d'ADN parasites dans les selles sont des méthodes le plus souvent utilisées en deuxième intention comme test de confirmation :

- quand les examens microscopiques sont négatifs et les signes cliniques très évocateurs

- quand l'examen parasitologique des selles met en évidence le complexe *E. histolytica/E. dispar*.

1.1.3. Recherche des antigènes parasites

1.1.3.1. Coproantigènes

Plusieurs techniques immunoenzymatiques de type Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ont été développées pour la détection d'antigènes amibiens dans les selles.

Certains détectent la présence du complexe *E. histolytica/E. dispar*.
Ex : Entamoeba test® des laboratoires TechLab, ProSpecT ELISA Alexon Trend®...

Ces tests sont plus sensibles que la microscopie lorsque la référence est la culture (80 % contre 60 %), en régions endémiques mais ils ne permettent pas de trancher lors d'examens coprologiques positifs à *E. histolytica*/*E. dispar* (Haque 1995).

L'intérêt des tests ELISA est leur capacité à différencier *E. histolytica* et *E. dispar*, ce qui est difficile par la microscopie optique.

Parmi les tests commercialisés, un seul est réellement capable de différencier les 2 espèces, le kit ELISA *Entamoeba histolytica* test® des laboratoires TechLab®. Il permet de détecter les épitopes 3 et 4 de la sous-unité 170 kDa de la lectine Gal/NAcGal d'*E. histolytica* grâce à des anticorps monoclonaux.

Cette lectine n'est présente que sur les formes végétatives (*minuta* et *magna*) (Ripert 2003, Anane 2005). Les autres kits commercialisés, malgré leur excellente sensibilité (Pillai 1999), ont une faible spécificité car il existe des réactions croisées avec *E. dispar* (Mirelman 1997, Anane 2005).

Plusieurs études évaluant ce test à des fins diagnostiques sur des selles fraîches de patients ont été publiées. Elles rapportent une spécificité et une sensibilité excellentes.

En 1998, au Bangladesh, à partir de selles diarrhéiques de 98 patients et en utilisant le typage isoenzymatique comme technique de référence, Haque *et al* ont mis en avant une sensibilité supérieure à 85 % et une spécificité d'environ 99 % pour la recherche de copro-antigènes avec le kit ELISA *Entamoeba histolytica*® (Haque 1998, Haque 2006a).

En 2000, lors d'une étude incluant 1164 enfants asymptomatiques la sensibilité du kit ELISA d'immuno-capture de deuxième génération, kit *Entamoeba histolytica II* test® (TechLab®), avoisinait les 100 % (Haque 2000, Merens 2005).

Ces excellents résultats n'ont pas été retrouvés dans des études conduites en zones de faible endémie. En effet, en 2003, au Canada (Gonin 2003) et aux Pays-Bas (Visser 2006), des études ont montré une sensibilité plus faible.

Néanmoins, la méthodologie était différente de celle des précédentes études. Les tests ont été réalisés sur des selles préalablement fixées (formol *et* alcool polyvinylique) et une répartition inégale de l'antigène au sein de l'échantillon pourrait expliquer cette différence de sensibilité. D'autre part, la technique de référence dans ces 2 études était, non pas le typage isoenzymatique, mais une technique de Polymerase Chain Reaction (PCR) conventionnelle au Canada et en temps réel aux Pays-Bas. Haque, en 1998, était arrivé à la conclusion que les 3 techniques (typage isoenzymatique, recherche d'antigènes par ELISA et PCR) étaient équivalentes sur selles fraîches, la PCR sur selles fixées étant plus sensible (Haque 1998). Cette modification de technique de référence et la conservation des échantillons ont sûrement modifié la sensibilité.

En conclusion, cette technique est rapide (2 à 3 heures), simple (pas d'équipement spécial, kit complet prêt à l'emploi), standardisée (contrôle de Densité Optique) (Kamoun 2002) et moins dépendante de l'expérience du technicien que l'examen microscopique. Son coût reste abordable en comparaison à d'autres techniques (Merens 2005).

Néanmoins, des précautions doivent être prises. Le test doit être réalisé à partir de selles fraîches (conservation à +4°C 48h maximum) ou congelées à -20°C. La fixation des selles, au formol ou à l'alcool polyvinylique, qui dénature l'antigène peut donner des résultats faussement négatifs (Haque 1998, Tanyuksel 2003, Merens 2005).

1.1.3.2. Recherche d'antigènes sur pus de drainage

Le kit *Entamoeba histolytica* II ® a été testé dans une étude sur le diagnostic d'abcès hépatique amibien. Sur 42 échantillons de pus de patients atteints d'abcès hépatique, 41 ont réagi positivement au test, ce qui donne une sensibilité de détection de plus de 97 % (Zengzhu 1999). Ceci pourrait être intéressant dans le diagnostic d'amibiase extra-intestinale.

En France, le seul kit de recherche d'antigènes commercialisé est le kit *Entamoeba histolytica* II®, des laboratoires TechLab®, distribué par les laboratoires Fumouze. Son utilisation n'est validée, actuellement, que pour la recherche de coproantigènes.

Pour simplifier, encore, l'utilisation de ces tests de détection antigénique, un prototype de test rapide avec témoin inclus et résultat visuel est en cours d'évaluation et semble prometteur pour le diagnostic de masse en région endémique (Leo 2006).

1.1.4. Mise en évidence du génome du parasite par amplification génique

Les travaux sur le diagnostic d'*E. histolytica* par des techniques de PCR ont commencé au début des années 1990 avec la description du génome de l'amibe (Loftus 2005, Haque 2006a). Ces techniques permettent la distinction entre *E. histolytica* et *E. dispar* en se fondant sur les différents marqueurs génomiques.

De nombreuses techniques ont été mises en œuvre et progressivement modifiées afin de simplifier, d'améliorer les résultats et de diminuer la durée de réalisation de ces méthodes.

1.1.4.1. La PCR « conventionnelle »

La plupart des méthodes amplifient une séquence d'un gène codant pour l'ARN 16S de la petite sous-unité ribosomale. C'est un fragment d'ADN circulaire extra-chromosomique hautement répétitive, jusqu'à 200 copies par parasite. Ceci accroît la sensibilité de la détection même si peu de parasites sont présents dans l'échantillon (Ackers 2002, Anane 2005, Merens 2005).

Quand l'amplification est faite à partir d'une culture de selles, la PCR est 100 fois plus sensible que la détection antigénique par ELISA. Cette différence s'annule lorsque les 2 tests sont effectués directement sur les échantillons de selles (Haque 1998).

Lorsque le typage isoenzymatique est utilisé comme technique de référence, la sensibilité de la PCR est de 87 % et sa spécificité est comprise entre 90 et 100 %.

La PCR, en plus de sa capacité à détecter et à différencier *E. histolytica* et *E. dispar* dans les selles, peut être utilisée dans le diagnostic d'amibiase extra-intestinale. En effet, effectuée sur du pus d'aspiration d'abcès hépatique, elle détecte l'ADN d'*E. histolytica* avec une sensibilité de 96 à 100 % et une spécificité supérieure à 95 % et cela sans avoir besoin de traiter l'échantillon par des protéases avant le test (Zaman 2000).

Néanmoins, la PCR conventionnelle nécessite de nombreuses manipulations. Les faux positifs par contamination sont possibles et doivent être limités par le respect des bonnes pratiques de PCR.

Des réactions faussement négatives peuvent être fréquentes du fait de la présence de nombreuses substances inhibitrices de l'ADN polymérase dans les selles (Tanyuksel 2003, Merens 2005). L'introduction d'un contrôle d'amplification interne permet de détecter ces réactions et donc de ne pas rendre un résultat erroné (Verweij 2000).

1.1.4.2. La PCR « multiplex »

Cette technique permet la détection et la caractérisation d'*E. dispar* et d'*E. histolytica* simultanément en utilisant 2 amorces dans le mélange réactionnel, une spécifique d'*E. histolytica* et une spécifique d'*E. dispar* (Nunez 2001).

Cette procédure permet un gain de temps et est beaucoup moins coûteuse que les autres PCR (Anane 2005). Elle conserve une sensibilité de 94 % et une spécificité égale à 100 %. Enfin, elle permet de détecter facilement les infections mixtes pouvant être fréquentes en régions endémiques (Mexique 24,5%) (Nunez 2001).

1.1.4.3. La PCR-SHELA

Cette méthode associe une amplification par PCR avec une détection des produits par une sonde d'hybridation à révélation immunoenzymatique (ELISA). Cette technique, plus rapide que la PCR conventionnelle, permet surtout de visualiser les résultats à l'œil nu et peut être effectuée sur les

kystes et les trophozoïtes directement sur des échantillons biologiques ou après mise en culture (Verweij 2000, Tanyuksel 2003).

1.1.4.4. La PCR en temps réel

Cette technique permet la détection de l'ADN amplifié, par fluorescence, au fur et à mesure de la réaction et directement dans le tube réactionnel.

Elle présente de nombreux avantages, notamment la facilité d'exécution (une seule manipulation) (Roy 2005), la réduction considérable du temps d'analyse (1 à 3 h) (Anane 2005, Roy 2005, Calderaro 2006) et la possibilité d'avoir des résultats autant quantitatifs que qualitatifs (Calderaro 2006, Paul 2007).

Sa sensibilité est excellente avec un seuil de détection de l'ordre de 0,1 parasite par gramme de selles (Roy 2005), beaucoup plus faible que celui de la PCR traditionnelle (Paul 2007). Sa spécificité avoisine les 100 %.

La réalisation de l'ensemble de l'analyse (amplification + détection) dans un système clos diminue les risques de contamination donc les faux positifs (Roy 2005, Paul 2007).

Cette technique serait plus sensible que la culture (Merens 2005). Néanmoins, la PCR en temps réel reste réservée aux laboratoires spécialisés équipés d'un *light cycler*, elle est onéreuse et donc non utilisable en diagnostic de routine dans les pays en développement.

1.1.4.5. Intérêts et limites

L'ensemble de ces méthodes présente 3 inconvénients majeurs :

- la longueur d'exécution de l'analyse
- la complexité technique
- le coût

La performance d'une technique dépend du choix des amorces mais surtout de l'extraction efficace de l'ADN à partir des selles, milieu contenant de nombreuses substances inhibitrices de l'ADN polymérase. Un kit d'isolement de l'ADN commercialisé, QIAamp DNA stool®, des laboratoires Qiagen, facilite cette étape tout en restant fiable et relativement rapide (Verweij 2000).

La PCR est réalisable sur des échantillons de selles fraîchement émises ou congelées. Par contre, la conservation plus de 4 jours à +4°C fait diminuer rapidement la sensibilité. La fixation des selles par le formol interfère avec l'amplification. Cette interférence est proportionnelle à la concentration en fixateur et au temps d'exposition (au-delà de 7 jours) (Merens 2005).

Le risque de contamination, dû au nombre de manipulations dans les techniques autres que la PCR en temps réel, n'est pas négligeable.

Bien que la simplification des procédures ait permis de diminuer la durée et la complexité de réalisation de ces méthodes, elles restent peu adaptées aux pays en développement où l'amibiase est endémique (Haque 1998, Anane 2005) et ne peut être utilisée comme technique diagnostique de routine.

Pourtant, ces techniques praticables en différé sur selles congelées ont l'avantage de leurs excellentes sensibilité et spécificité. Leur comparaison

positive avec la culture associée au typage isoenzymatique les indique comme futur « gold standard ». De plus, la biologie moléculaire permet l'étude du polymorphisme d'*E. histolytica* qui pourra apporter des réponses aux caractéristiques physiopathologiques et épidémiologiques de cette maladie.

1.2. Diagnostic indirect

1.2.1. Mise en évidence des antigènes circulants

Bien que le kit *Entamoeba histolytica II*®, ne soit, pour l'instant, que validé pour la recherche des coproantigènes, la recherche d'antigènes spécifiques dans le sérum de patients atteints d'une amibiase hépatique est en cours d'évaluation et paraît prometteuse (Anane 2005, Merens 2005).

En effet, la présence d'antigènes circulants est retrouvée dans le sérum de 96 % des patients avec un abcès hépatique avant traitement par métronidazole. La sensibilité de la méthode diminue à 56 % chez les patients après quelques jours de traitement et le test se négative en une semaine chez 82 % des sujets traités (Haque 2000, Merens 2005, Haque 2006a).

Cette méthode diagnostique de l'amibiase hépatique permettrait un diagnostic précoce, les antigènes étant présents dès le début de l'infection tandis que l'apparition des anticorps IgG est retardée (7 à 10 jours) (Haque 2000, Stanley 2003, Amibiase). De plus, elle pourrait permettre un suivi de l'efficacité du traitement, l'absence d'antigène dans le sérum traduisant la guérison.

Abd-alla *et al* ont recherché l'antigène constitué par la lectine Gal/NAcGal dans la salive des patients atteints d'amibiase hépatique (Abd-

Alla 2000b). Cette étude montre une très bonne spécificité (97,4 %) mais son utilisation comme méthode diagnostique est limitée par la faible sensibilité (22 %).

1.2.2. Détection des anticorps spécifiques

La sérologie de l'amibiase repose sur la mise en évidence dans le sérum d'IgG spécifiques d'*E. histolytica*. La nomenclature des actes médicaux recommande un dépistage à l'aide de deux techniques parmi : l'agglutination de particules de latex, l'hémagglutination indirecte (HAI), une méthode immunoenzymatique (type ELISA) ou d'immunofluorescence indirecte (IFI) (Merens 2005). En général, on utilise une méthode utilisant des antigènes solubles (ELISA, HAI, IFI, test d'agglutination) et une technique recherchant des antigènes figurés (IFI) (Amibiase).

1.2.2.1. Les tests de dépistage

α) Le test d'agglutination au latex (Bichro-latex-amibe®, laboratoire Fumouze)

Ce test utilise des particules de latex colorées sensibilisées par un antigène total d'*E. histolytica* (Ripert 1996). Il s'agit d'un test semi-quantitatif de dépistage sur lame, simple et rapide (5 min). Il est disponible dans tous les laboratoires de France et sert au diagnostic d'urgence de l'amibiase hépatique au lit du malade.

Il présente dans ces localisations une bonne sensibilité (90 %) et spécificité (95 %) (Merens 2005). Néanmoins, les résultats semi-quantitatifs doivent

être confirmés rapidement par une autre technique (IFI ou ELISA) (Kamoun 2002).

β) L'hémagglutination indirecte (HAI®, Laboratoire Fumouze)

La lecture du test s'effectue après 2 heures de contact entre les hématies sensibilisées par un antigène soluble d'*E. histolytica* et le sérum.

Un titre de 1/320^{ème} est interprété comme un argument en faveur d'une amibiase, les réactions positives au 1/60^{ème} ou au 1/80^{ème} étant incertaines (Ripert 1996). Cette technique donne des résultats satisfaisants à condition d'utiliser un antigène délipidé (Kamoun 2002).

Elle présente une bonne spécificité (environ 97 %, Kraoul 1997) mais la sensibilité varie suivant les études (Knobloch 1983, Kraoul 1997).

Dans l'étude de Knobloch *et al*, la sensibilité ne dépasse pas 72 % chez les patients avec un abcès hépatique la première et la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes, mais atteint 87 % à la fin de la troisième semaine. Ce délai dans la réponse anticorps peut être un frein dans le diagnostic aigu d'un abcès hépatique. Le titre en anticorps commence à décroître à partir du 6^{ème} mois et peut persister plusieurs années (Anane 2005) ce qui ne lui confère aucune utilité dans le suivi thérapeutique (Kamoun 2002).

γ) L'Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) (Amebiasis Serology Microwell EIA®, laboratoire LMD)

Ce sont actuellement les tests sérologiques les plus utilisés dans le monde. La cinétique des anticorps est connue avec précision : ils sont présents dans la première semaine suivant l'apparition des symptômes chez les patients présentant une colite amibienne ou un abcès hépatique.

La sensibilité de cette technique avoisine les 100 % dans l'amibiase extra-intestinale et sa spécificité est excellente (Tanyuksel 2003, Dieusaert 2005). Des faux positifs sont possibles et le test doit être répété si le résultat est douteux (Tanyuksel 2003).

Les anticorps restent détectables pendant 6 à 12 mois (Anane 2005).

δ) L'immunofluorescence indirecte (IFI)

Cette technique de dépistage est, aussi, très utilisée du fait de sa commodité et de ses bonnes sensibilité et spécificité. L'antigène le plus utilisé est obtenu à partir de culture axénique de la souche d'*E. histolytica* HM1, avec un seuil de positivité de 1/100^{ème} (Ripert 1996, Kamoun 2002).

La valeur diagnostique de l'immunofluorescence est particulièrement élevée dans les amibiases extra-intestinales où sa sensibilité approche les 100 % avec des titres élevés (1/400^{ème}, 1/800^{ème}). Par contre, dans les amibiases intestinales aiguës la sensibilité est faible (60 %) avec des titres difficilement interprétables.

Après traitement d'une amibiase hépatique, on observe une chute rapide du titre en anticorps, 9/10^{ème} de la valeur en 3 mois (Kamoun 2002), ce qui permet un suivi thérapeutique (Kamoun 2002), mais la négativation totale n'intervient qu'au bout de 12 mois (Golvan 1990) et dans certains cas une persistance plus longue des anticorps est possible.

1.2.2.2. Tests de confirmation

Ces tests comprennent la co-électrosynérèse et l'immunoélectrophorèse. Ces deux méthodes sont très spécifiques, ne donnent qu'un résultat qualitatif et ne sont pratiquées que dans des laboratoires spécialisés. En effet, il n'existe pas de kit commercialisé et ces techniques sont longues et contraignantes (Kamoun 2002, Merens 2005).

La contre-immunoélectrophorèse (CIE) utilise un antigène de la souche HK-9 d'*E. histolytica* qui réagit avec les anticorps présents dans le sérum des patients en formant un arc de précipitation caractéristique. Les anticorps sont détectables au bout du 5^{ème} jour suivant l'apparition des symptômes et leur taux augmente jusqu'à la fin de la deuxième semaine.

La CIE est un test très spécifique de l'amibiase hépatique mais sa sensibilité est faible, particulièrement dans l'amibiase intestinale (Tanyuksel 2003).

Un suivi thérapeutique est possible avec ces techniques car après traitement par amoebicides tissulaires, un arc « post-thérapeutique » apparaît en CIE et sa disparition progressive permet d'affirmer la guérison (Kamoun 2002). Cette absence de persistance de l'arc de précipitation permettrait l'utilisation de cette technique en région endémique (Ravdin 2005).

1.2.2.3. Intérêts et limites

Pendant longtemps, la sérologie a été réservée au diagnostic de l'amibiase tissulaire. Elle était considérée comme inutile dans l'amibiase intestinale, les résultats étant souvent faiblement positifs voire négatifs.

La distinction entre *E. dispar* et *E. histolytica* a permis de redéfinir les limites de la sérologie. En effet, le portage d'*E. dispar* s'accompagne habituellement de l'absence ou de très faibles titres d'anticorps sériques alors que dans l'infection par *E. histolytica*, même chez les sujets asymptomatiques, des titres élevés sont fréquemment retrouvés (Gathiram 1987, Paugam 2002, Stanley 2003).

Ainsi, en 1997, l'OMS préconisait, à défaut d'autres techniques disponibles en routine, d'utiliser la sérologie pour distinguer *E. histolytica* et *E. dispar* :

-Chez un sujet asymptomatique porteur de kystes, lorsque *E. histolytica* ne peut être formellement identifiée, sa présence doit être soupçonnée en cas de détection d'anticorps spécifiques.

-Chez un sujet symptomatique, la présence d'anticorps sériques à des titres élevés est fortement corrélée à l'amibiase invasive (WHO 1997, Merens 2005).

Ces recommandations doivent être, aujourd'hui, discutées. Le taux de séroconversion chez les porteurs de kystes asymptomatiques ne serait que de 25 à 45 % avec des titres modérés d'anticorps (Merens 2005). Par contre, dans l'amibiase intestinale, la production d'IgG est détectable dans 70 à 90 % des cas (Haque 1998, Pillai 1999, Haque 2003, Tanyuksel 2003). Néanmoins, l'utilisation de la sérologie comme technique diagnostique dans cette pathologie est limitée en pratique. En effet, la positivité de la sérologie persiste pendant 6 à 12 mois en ELISA et IFI et pendant plusieurs années en hémagglutination indirecte. Il est ainsi impossible de faire la distinction entre une infection récente ou ancienne (Tanyuksel 2003). Cette limite est d'autant plus importante dans les régions de haute endémicité où la

séroprévalence peut atteindre 25 à 50 % avec, donc, de nombreuses cicatrices sérologiques pouvant se retrouver aussi chez les migrants et les grands voyageurs.

Dans les pays industrialisés, où la sérologie est plus indicative pour l'amibiase intestinale, l'un des groupes à risque est constitué par les patients VIH+ qui produisent peu d'anticorps et donc sont plus difficilement diagnostiqués par cette technique (Tanyuksel 2003).

Dans l'amoebome, complication de l'amibiase intestinale, la sérologie présente un certain intérêt car elle permet son diagnostic, l'EPS étant négatif, sans recourir à une technique invasive (Kamoun 2002).

La détection des IgM dans le sérum pourrait contribuer au diagnostic d'amibiase intestinale aiguë, même en région endémique car leur apparition en réponse à l'infection est précoce et que ces anticorps contrairement aux IgG ne persistent pas dans le sérum. La détection d'IgM anti-lectine Gal/NAcGal par une technique ELISA est en cours d'évaluation (Abd-alla 1998, Anane 2005).

Avec la commercialisation des kits de détection des coproantigènes et le développement de techniques de PCR performantes, l'indication d'une sérologie pour le diagnostic d'une amibiase intestinale semble inintéressante. Par contre, la sérologie reste l'examen de référence dans le diagnostic d'amibiase extra-intestinale.

Suite aux découvertes de l'équipe de Haque au Bangladesh, la recherche d'IgG sérique pourrait avoir un rôle épidémiologique pour déterminer des groupes à risque tandis que le développement de techniques

recherchant des anticorps IgA dans les selles indiquerait les groupes protégés, ces données permettant d'affiner l'épidémiologie des infections à *E. histolytica* (Haque 2002).

2. Imagerie

En attendant les résultats sérologiques, le diagnostic d'abcès hépatique est basé sur la présentation clinique, l'interrogatoire sur les situations à risque et l'utilisation précoce d'imagerie non invasive.

Les techniques mettant en évidence les lésions hépatiques sont l'échographie, le scanner, l'IRM. Toutes ces méthodes sont également sensibles pour détecter les lésions, mais aucune n'est spécifique de l'abcès hépatique.

L'échographie est privilégiée car elle est rapide et peu coûteuse (Ravdin 2005). Elle met en évidence une ou plusieurs cavités rondes hypoéchogènes homogènes, ainsi qu'une élévation héli-diaphragmique (Petri 1999, Ravdin 2005, ANOFEL 2006).

Dans certains cas, l'utilisation de produits de contraste peut aider à la différenciation entre les abcès hépatiques et les tumeurs vasculaires, ce qui est une distinction nécessaire lorsque la ponction est envisagée.

Le scanner au Gallium est long mais peut différencier un abcès hépatique amibien (zone froide en absence de leucocytes) d'un abcès pyogénique qui apparaîtra comme une zone chaude (Ravdin 2005).

Le suivi de l'évolution des abcès hépatiques par imagerie ne semble pas indiqué, l'échographie 6 mois après un traitement efficace ne montre une disparition des lésions que dans 30 à 60 % des cas (Petri 1999).

3. Diagnostics différentiels

3.1. Amibiase intestinale (Huston 1999, Petri 1999, Haque 2003, Anane 2005)

La dysenterie amibienne doit être distinguée des diarrhées bactériennes à *Salmonella* spp., *Shigella*, *Campylobacter*, *Vibrio* et *Escherichia coli* entéroinvasive et entérohémorragique. Bien que ces diarrhées aient un début brutal et soient accompagnées d'une forte fièvre tandis qu'*E. histolytica* ait un début progressif avec rarement de la fièvre, un examen microscopique des selles, des cultures bactériennes et une sérologie amibienne sont nécessaires au diagnostic amibien.

Des causes non infectieuses peuvent aussi mimer les symptômes amibiens, tel que des maladies inflammatoires du côlon, la rectocolite hémorragique, les colites ischémiques, les diverticules ou les malformations artério-veineuses.

La recherche négative d'*E. histolytica* dans les selles ou une sérologie négative ne peuvent éliminer l'amibiase, la sensibilité de la sérologie dans la forme intestinale ne dépassant pas 85%. La bonne évolution sous traitement affirmera le diagnostic.

Néanmoins, la certitude du diagnostic d'une maladie ne peut éliminer la présence d'une autre.

En effet, l'amibiase peut être associée à une shigellose ou à une rectocolite hémorragique. Cette dernière association est relativement fréquente en zone d'endémie amibienne et nécessite le traitement d'*E. histolytica* avant toute corticothérapie afin d'éviter une amibiase maligne, complication grave souvent mortelle.

L'amoebome, quant à lui, peut être confondu avec une tumeur colique. Toutefois, bien que l'EPS ne révèle pas d'amibe, la présence d'anticorps anti-amibiens et la résolution de la lésion sous amoebicides tissulaires permettent d'orienter le diagnostic vers cette pseudo-tumeur parasitaire.

3.2. Amibiase hépatique (Lohdi 2004, Ravdin 2005)

Les diagnostics différentiels de l'abcès hépatique amibien sont le kyste hydatique, la tumeur nécrosée du foie et l'abcès pyogénique.

L'échinococcose est facilement éliminée par les renseignements épidémiologiques, la sérologie et les calcifications observées à l'échographie (Ravdin 2005).

Les techniques d'imagerie ne peuvent distinguer les 3 autres lésions.

Les patients présentant un abcès pyogénique sont généralement âgés de plus de 50 ans, ont des antécédents de diabète et présentent des signes pulmonaires, une jaunisse, un prurit et plusieurs abcès dans le lobe droit du foie. La sérologie amibienne est souvent inférieure à 1 : 256 (Lodhi 2004).

Les patients atteints d'abcès hépatique amibien sont plus jeunes, non pas d'antécédent particulier ni de jaunisse et la sérologie amibienne a un titre élevé dans la majorité des cas.

La résolution des symptômes sous traitement amoebicide peut aussi confirmer le diagnostic.

4. Stratégies diagnostiques

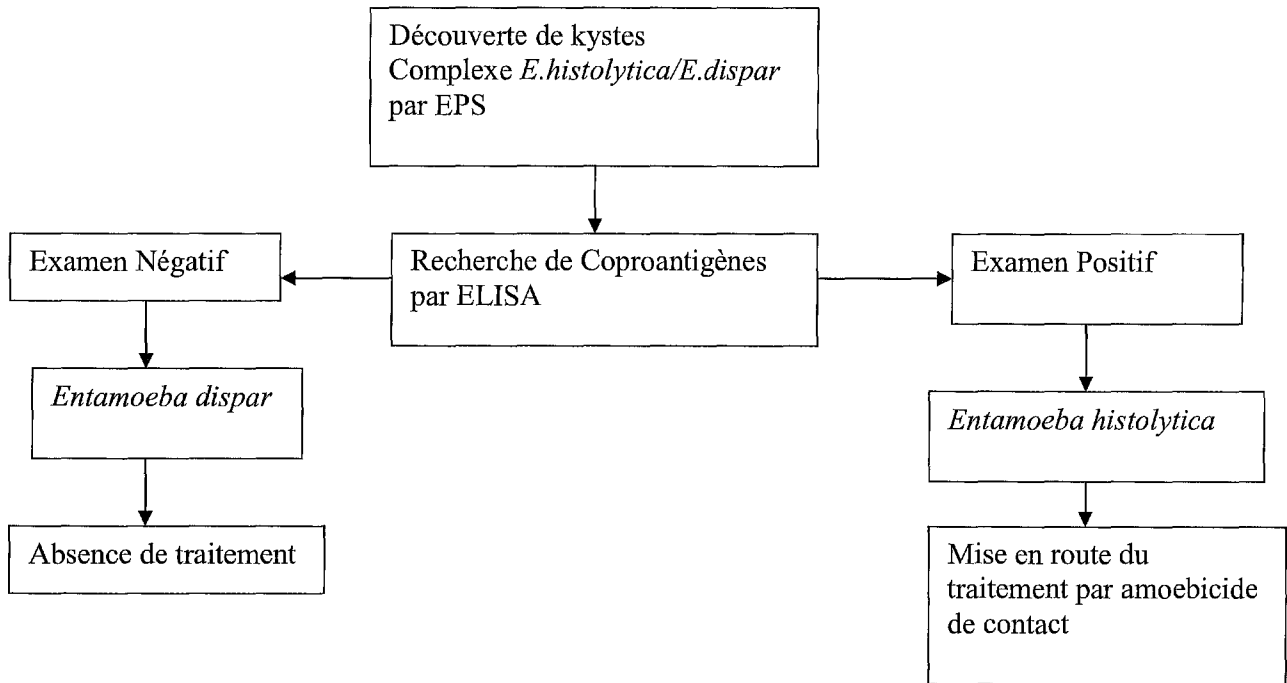
4.1. Porteur asymptomatique

La recherche des coproantigènes est l'examen de choix pour la différenciation des 2 espèces d'amibes. En effet, la sérologie n'est positive que dans 20 à 45% des cas et des faux positifs peuvent découler d'une infection ancienne résolue, notamment en région d'endémie. La PCR est réservée aux laboratoires spécialisés.

La nécessité d'un dépistage systématique d'*E. histolytica*, malgré un coût supérieur, s'explique par son impact en Santé Publique. Les traitements amoebicides ne sont pas dénués d'effets indésirables et leur utilisation doit être réservée aux porteurs d'*E. histolytica* afin de limiter l'apparition de résistance. Les porteurs de kystes de l'amibe pathogène doivent être traités, d'une part car l'évolution vers une forme invasive ne peut être exclue et d'autre part, le traitement par amoebicide de contact prévient la contamination de l'entourage et la dissémination de la maladie.

4.2. Amibiase intestinale aiguë

Lorsque la microscopie ne retrouve pas de formes hématophages, la recherche d'*E. histolytica* peut se faire par PCR, culture + typage, sérologie ou coproantigènes. Cette dernière technique est la plus accessible, PCR et typage isoenzymatique étant réservés à des laboratoires spécialisés, et la sérologie ayant de nombreuses limites et plus particulièrement en région endémique.



**Diagramme décisionnel du diagnostic chez le porteur asymptomatique,
d'après Merens 2005**

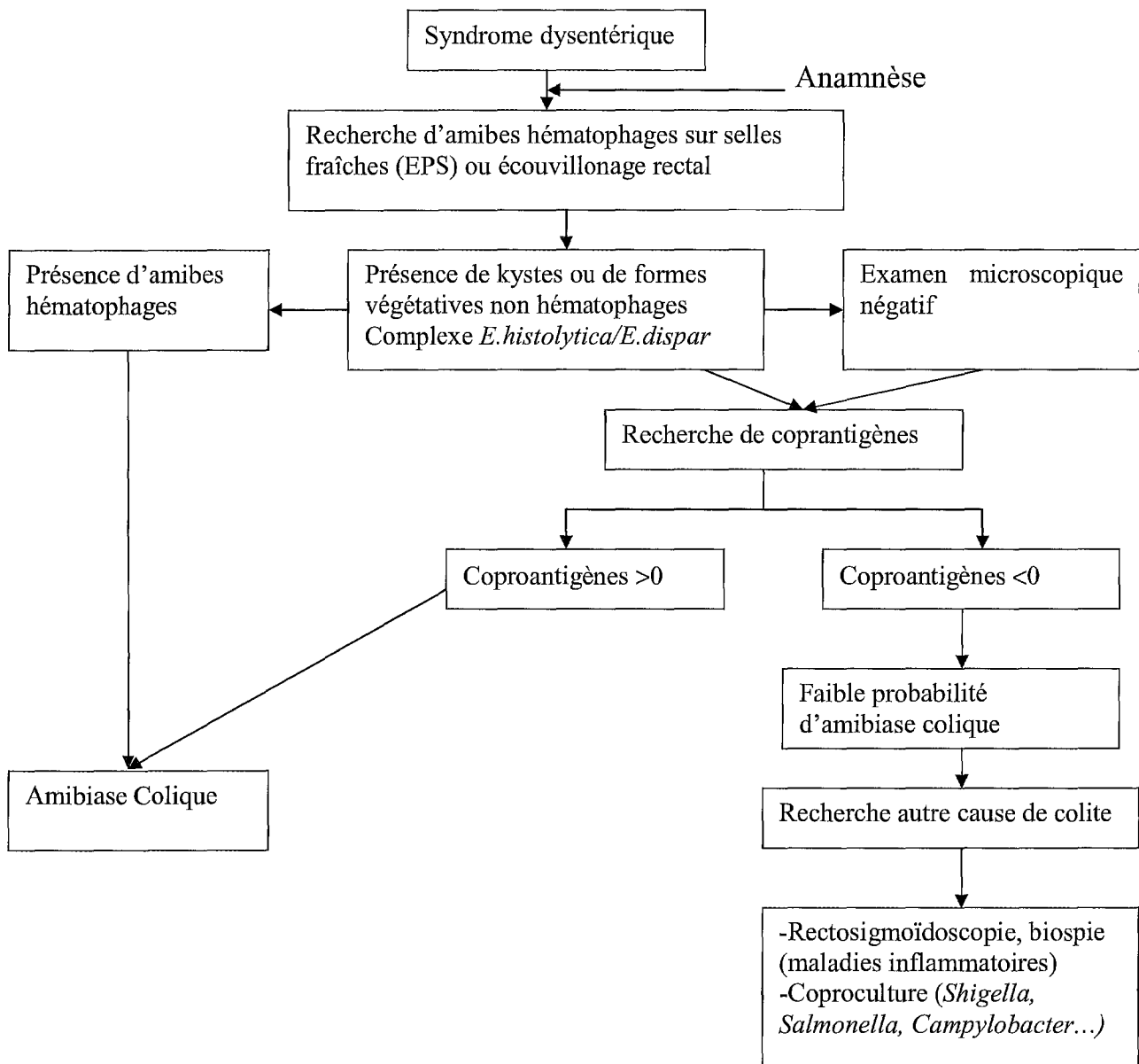


Diagramme décisionnel du diagnostic en cas d'amibiase intestinale, d'après Merens 2005

4.3. Amibiase extra-intestinale

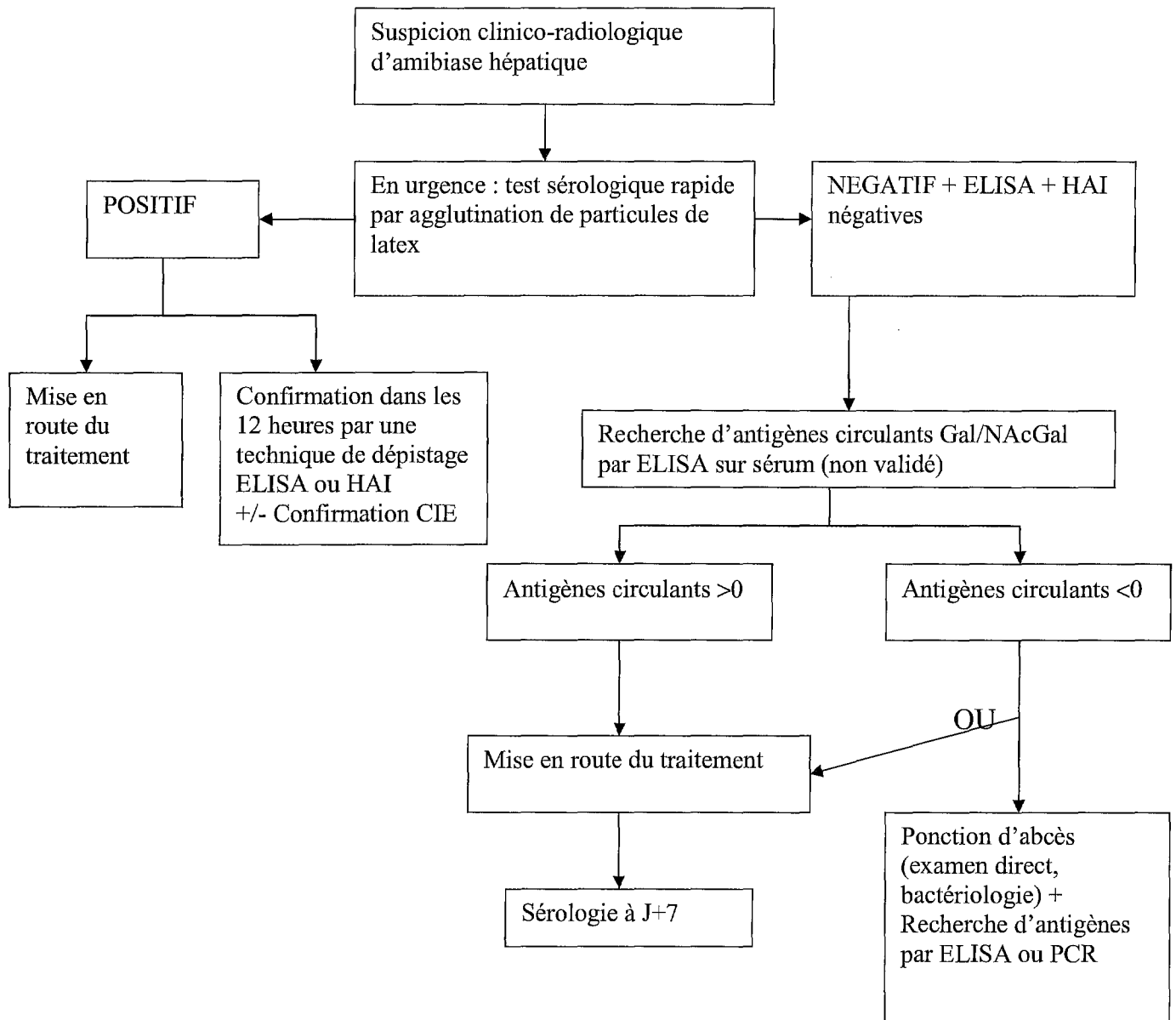


Diagramme décisionnel du diagnostic en cas d'amibiase extra-hépatique, d'après Merens 2005

CHAPITRE 6 : TRAITEMENT

1. Les classes thérapeutiques

L'arsenal thérapeutique pour le traitement des protozooses est limité. Dans l'amibiase, deux classes thérapeutiques sont à la disposition du clinicien : les amoebicides tissulaires et les amoebicides de contact.

1.1. Amoebicides tissulaires = Amoebicides diffusibles

En France, cette classe est uniquement représentée par les nitro-5-imidazolés. Le chef de file est le métronidazole synthétisé en 1959 et utilisé dans l'amibiase dès 1966. D'autres dérivés ont ensuite été développés. Il s'agit du tinidazole, de l'ornidazole et du secnidazole.

La molécule de référence, le métronidazole, est rapidement résorbé au niveau de l'intestin grêle, 80 % au cours de la première heure, et possède une biodisponibilité de 100 % que ce soit par voie orale ou parentérale. La diffusion se fait dans tous les tissus et liquides de l'organisme. Sa demi-vie est de 8 à 10h et sa liaison aux protéines plasmatiques est faible. Son excrétion est essentiellement urinaire après un métabolisme hépatique.

Les dérivés plus récents ont une demi-vie plus longue mais les mêmes caractéristiques de biodisponibilité ce qui permet de raccourcir la durée des traitements. De plus, ils sont en général mieux tolérés.

Le mode d'action des dérivés nitro-5-imidazolés est particulier. En effet, ces molécules sont activées après réduction intracellulaire par la ferredoxine en produits cytotoxiques par interaction avec l'ADN (perte de la double hélice, ponts interbrins) (Fung 2005, Katzung 2006).

L'activité sur *E. histolytica* s'exerce en théorie sur les formes végétatives et kystiques. Néanmoins, du fait de leur résorption rapide et donc de leur faible concentration colique, chez 40 à 60 % des patients recevant un traitement par nitro-5-imidazolé, les parasites vont persister dans l'intestin. Ils sont donc réservés au traitement des formes *histolytica* dans les amibiases invasives, qu'elles soient coliques ou extra-intestinales.

Ils sont inscrits sur liste I. Les formes injectables sont réservées aux amibiases tissulaires et/ou intestinales sévères chez les sujets incapables d'avaler. Elles sont réservées à l'usage hospitalier.

1.2. Amoebicides de contact

En France, une seule spécialité est disponible. Il s'agit d'un antiseptique intestinal, dérivé méthylé de la 8-hydroxyquinoléine, l'Intérix®. Il contient :

-200 mg de tilbroquinol
-100 mg de tiliquinol (dont 50 mg sous forme laurylsulfate)

L'Intérix®, à administration orale, n'est pas résorbé. Ainsi, de fortes concentrations en principe actif sont atteintes au niveau de l'intestin permettant une action sur les formes végétatives et kystiques d'*E. histolytica*, mais uniquement la forme *minuta*. Certains auteurs (Traité de Chimie Thérapeutique 2000, Dorosz 2007) limitent l'activité de l'Intérix® aux seules formes végétatives. Dans tous les cas, cet antiseptique permet l'interruption du cycle intraluminal d'*E. histolytica*.

PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES NITRO-5-IMIDAZOLES D'après DOROSZ 2007, VIDAL 2007

Pathologies	Spécialités/ Molécules	Posologie	Effets Indésirables	Précautions d'emploi	Contre- Indications
Amibiase asymptomatique (Formes <i>minuta</i> et <i>histolytica</i>)	Intérix® Tilquinol/ Tilbroquinol	A : 2 gél matin et soir 10 jours	Elévation des transaminases Réactions allergiques (rares) Neuropathies périphériques (surdosage)	Arrêt si ictère Pas de traitement prolongé Grossesse	Hypersensibilité
	Secnol® Secnidazole T _{1/2} =25h	A : 2 g/jour E : 30 mg/kg/jour En 1 prise, 3 jours	Rares troubles digestifs	Alcool Dyscrasie sanguine Grossesse	Hypersensibilité Allaitement
Amibiase intestinale et extra- intestinale (Forme <i>histolytica</i>) <i>Le traitement par les nitro-5- imidazolés est suivi par une cure d'Intérix® de 10 jours</i>	Flagyl® Métronidazole T _{1/2} =9h	A : 1,5 g/jour E : 30-40 mg/kg/jour En 3 prises, 7 jours	Troubles digestifs : nausées, diarrhées, goût métallique, sécheresse bouche Urticaire, œdème de Quincke Coloration urines	Effet antabuse Suspension <12ans, grossesse Allaitement	Hypersensibilité Enfant <6 ans
	Fasigyne® Tinidazole T _{1/2} =14h	A : 1,5 g/jour En 1 prise, 4 à 5 jours	Troubles digestifs, urticaire, œdème de Quincke, neuropathie périphérique, céphalée, coloration urines EI rares, limités	Effet antabuse Dyscrasie sanguine Pas évaluation grossesse	Hypersensibilité
	Tibéral® Ornidazole T _{1/2} =12-14h	A : 1-1,5 g/jour E : 30-40 mg/kg/jour 4 à 5 jours	Troubles digestifs, cutanés, neurologiques (rares) Hépatite (très rare) Leucopénie	Signes neurologiques NFS	Hypersensibilité Grossesse Allaitement
	Secnol® Secnidazole T _{1/2} =25h	<i>Intestinale :</i> A : 2 g/jour E : 30 mg/kg/jour En 1 prise, 3 jours <i>Hépatique :</i> A : 1,5 g/jour E : 30 mg/kg/jour En 1 à 2 prises, 5 jours	Rares troubles digestifs	Alcool Dyscrasie sanguine Grossesse	Hypersensibilité Allaitement

1.3 Autres molécules

D'autres molécules, non commercialisées en France, sont utilisées.

Dans le traitement des formes invasives, l'émétine, alcaloïde dérivé de l'ipéca, et son dérivé synthétique, la 2-dihydroémétine, sont encore utilisées dans de nombreux pays comme alternative au métronidazole et ce malgré leur cardiotoxicité.

Le panel des amoebicides de contact est plus large. Il est constitué de l'iodoquinol, dérivé halogéné de la 8-hydroxyquinoléine, le furoate de diloxanide, dérivé dichloroacétamide et de la paromomycine, antibiotique de la famille des aminosides.

Cette dernière était commercialisée en France dans cette indication jusqu'en 1996. Elle a fait l'objet d'une Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) Nominative en 2005 et 2006 dans la même indication. Elle pourrait être une alternative en France pour le traitement des enfants, car il n'existe plus de forme pédiatrique d'antiseptique intestinal, l'Intétrix® pédiatrique ayant été retiré du marché en 1997 à cause des effets indésirables, dont l'augmentation des transaminases (Thériaque).

Le développement de nouveaux anti-amibiens en est à ses balbutiements et c'est un processus lent. L'activité de certains anti-parasitaires existants sur *E. histolytica* est une des alternatives.

Le nitazoxanide, commercialisés aux USA et en France sous le nom d'Alinia®, est un anti-infectieux thiazolidique ayant une activité sur les bactéries anaérobies, les parasites et les virus. La Food and Drug Association l'a validé dans le traitement des cryptosporidioses et des giardiases chez les adultes et les enfants. Il est actuellement en ATU nominative en France dans le traitement des cryptosporidioses (Thériaque). Deux études ont été menées

pour déterminer son efficacité sur *E. histolytica* (Rossignol 2001, Rossignol 2007). La première étude montrant une efficacité de 80 à 90 % versus placebo 40 % dans le traitement de diarrhées amibiennes, mais *E. histolytica* et *E. dispar* n'étaient pas différenciées. La seconde, menée en Egypte, randomisée en double aveugle versus placebo, a montré la guérison des symptômes et l'élimination d'*E. histolytica* en 7 et 10 jours, chez 94 % des patients contre 43 % ayant reçus le placebo. La posologie était de 100 à 500 mg deux fois par jour pendant 3 jours chez des patients à partir de 1 an (Rossignol 2007).

Ces résultats permettent d'envisager une future place importante de cette molécule dans le traitement de l'amibiase. En effet, le nitazoxanide peut être administré chez l'enfant à partir de 1 an mais surtout il permet le traitement des symptômes et la décolonisation avec une seule molécule. Des études complémentaires, nitazoxanide versus métronidazole et nitazoxanide dans le traitement de l'abcès hépatique, doivent être menées pour confirmer la place de choix de cette molécule dans la stratégie thérapeutique.

2. Stratégies thérapeutiques

Le traitement de l'amibiase varie en fonction des manifestations cliniques.

2.1. Porteurs asymptomatiques

Les infections à *E. dispar* ne requièrent aucun traitement (Stanley 2003, Ravdin 2005). Cependant sa présence doit alerter le médecin sur le fait que son patient a été exposé au péril fécal.

Le traitement des infections asymptomatiques à *E. histolytica* est plus controversé. Dans les régions hyperendémiques, où le risque annuel de contamination peut être supérieur à 15 %, le traitement systématique des porteurs asymptomatiques paraît illusoire et très coûteux dans des pays où le budget alloué à la santé n'est pas suffisant pour traiter les malades. Néanmoins, les groupes à risque, c'est-à-dire pouvant exprimer une symptomatologie sévère, comme les très jeunes enfants, les femmes enceintes, les patients malnutris, doivent être traités (Ravdin 2005). D'autres auteurs (Stanley 2003) préconisent le traitement systématique afin d'interrompre la dissémination des kystes et donc potentiellement arriver à l'éradication de l'amibiase.

Dans les régions de faible endémie, toute infection par *E. histolytica*, confirmée par sérologie, coproantigènes ou PCR, doit être traitée par un amoebicide de contact afin d'éviter l'apparition d'une maladie invasive mais surtout éviter la contamination de tiers et la dissémination d'*E. histolytica*.

En France, la stérilisation de la lumière intestinale se fait par une cure de 10 jours d'Intetrix® à la posologie de 2 gélules matin et soir. Dans certains cas, on peut préférer l'ornidazole, Secno® , à la posologie de 2 g par jour en une prise pendant 3 jours (Dorosz 2007, Vidal 2007).

2.2. Amibiase intestinale

Le traitement repose sur un amoebicide diffusible de la classe des nitro-5-imidazolés par voie orale, la voie intra-veineuse (IV) étant utilisée en cas de vomissements importants. Le métronidazole est le plus utilisé à la dose de 1,5 g par jour en 3 prises pendant 7 à 10 jours. Les autres dérivés permettent des traitements plus courts et sont mieux tolérés.

Environ 90 % des patients présentant une amibiase intestinale légère à modérée répondent au traitement par nitro-5-imidazolés (Haque 2003, Petri 2003). Les parasites persistent dans l'intestin de 40 à 60 % des sujets traités par les nitro-5-imidazolés sous forme *minuta* (Petri 2003). L'administration d'un amoebicide de contact 3 jours après la fin du traitement est obligatoire afin d'éviter les rechutes (Amibiase 2005, Pilly 2006).

Dans les cas d'amibiase colique maligne, ou fulminante, la prise en charge se fait en réanimation en associant à un nitro-5-imidazolé IV, une antibiothérapie à large spectre destinée à traiter les infections bactériennes du péritoine (Haque 2003, Petri 2003, Amibiase 2005, Pilly 2006).

Une intervention chirurgicale peut être envisagée en cas de mégacôlon toxique ou d'hémorragie gastro-intestinale (Haque 2003, Petri 2003, Pilly 2006).

L'amoebome peut être traité par les nitro-5-imidazolés, il faut néanmoins une surveillance endoscopique pour voir l'évolution et écarter le diagnostic de tumeur.

2.3. Amibiase extra-intestinale

Le traitement médicamenteux repose sur un amoebicide diffusible comme le métronidazole à la même posologie que dans l'amibiase intestinale. Le recours à la voie IV est dans ce cas aussi réservé aux formes sévères ou en cas d'incapacité à avaler. Dans la majorité des cas, la douleur disparaît en quelques heures et l'apyrexie est obtenue en 48 à 72 heures (ANOFEL 2006).

La ponction guidée d'un abcès non compliqué est controversée. Une étude n'a pas montré de différence dans l'apparition de l'apyrexie et dans la

durée d'hospitalisation entre des patients traités uniquement par amoebicide et des patients chez qui une ponction de l'abcès été associée au médicament (Van Allan 1992, Weinke 2002).

L'aspiration de l'abcès amibien est néanmoins recommandée en cas d'absence de réponse au traitement amoebicide (fièvre et douleur après 4 jours de traitement (Stanley 2003)), en cas de risque de rupture élevé (cavité avec un diamètre supérieur à 5 cm ou localisation dans le lobe gauche) ou lorsque le diagnostic est incertain (suspicion d'abcès pyogéniques) (Haque 2003, Petri 2003, Stanley 2003). Ce drainage par cathéterisme transcutané est toujours associé au traitement anti-parasitaire et aide à la guérison dans les cas compliqués (Hanna 2000).

Une co-infection bactérienne est parfois observée, qu'elle soit ou non une complication du drainage. Il faut alors compléter le traitement par des antibiotiques ou un drainage, voire les deux (Haque 2003, Petri 2003).

Les formes pleuro-pulmonaires relèvent, le plus souvent, elles aussi du seul traitement médicamenteux par amoebicide diffusible. Parfois, un traitement chirurgical devra être associé dans les formes extra-hépatiques (abcès du cerveau, péricardites, fistules...) (Nozais 1996).

3. Perspectives

3.1. Résistance

L'amibiase est un problème de santé publique majeur dans les zones tropicales et sub-tropicales. Les patients symptomatiques sont traités par métronidazole et émétine. La résistance à ces médicaments est pour l'instant anecdotique mais des différences de susceptibilités d'*E. histolytica* et des cas

d'échec de traitement, notamment dans les abcès hépatiques existents (Hanna 2000). De plus, *in vivo*, des souches résistantes ont été créées. Dans ces souches, l'expression de la SOD-Fe est multipliée par 3 à 5 avec l'apparition d'une deuxième activité SOD par amplification de l'expression génique. L'expression de la peroxyredoxine est augmentée tandis que celle de la ferredoxine est diminuée (Upcroft 2001).

Le mécanisme de résistance observé ressemble à celui des cellules tumorales multi-résistantes, c'est-à-dire un mécanisme par efflux menant à une résistance croisée à de nombreuses molécules sans lien chimique. Cette résistance est inhibée par les inhibiteurs des canaux calciques comme le vérapamil (Orozco 2002, Bansal 2006a). Dans les cellules tumorales, ce phénomène est, en partie, généré par la glycoprotéine P qui agit comme une pompe à efflux ATP dépendante diminuant la concentration intracellulaire des molécules.

Chez *E. histolytica*, six gènes glycoprotéine P like ont été codés et séquencés (EhPgp1 à EhPgp6) dans les souches mutantes résistantes. Quatre sont exprimés dans ces souches (EhPgp1,2,5,6) et 2 sont des pseudogènes (Bansal 2006a).

L'expression du phénotype multi-résistant peut être régulée par certains facteurs modifiant l'expression des gènes EhPgp, des modifications post-transcriptionnelles intervenant dans la stabilité des ARNm, l'amplification des gènes ou la modifications des fonctions des protéines EhPGP suivant les conditions cellulaires (Orozco 2002).

Les gènes EhPgp1 et EhPgp6 sont exprimés constitutivement dans les mutants résistants tandis qu'EhPgp5 n'est exprimé qu'en présence d'un médicament. La régulation de la transcription se fait par de multiples interactions protéine/ADN au niveau du promoteur. L'amplification des

gènes EhPgp a été observée chez *E. histolytica* mais ce mécanisme semble dépendant de la concentration en médicament. La production de glycoprotéine P dans les souches résistantes est favorisée, aussi, grâce à des modifications post-transcriptionnelles conduisant à une augmentation de la stabilité, donc de la durée de vie, des ARNm correspondant.

Enfin, une phosphorylation réversible semble intervenir pour donner une fonction de pompe à efflux ou d'activateur de canaux chlorure aux protéines P en fonction des concentrations médicamenteuses (Orozco 2002).

Ces mécanismes observés dans les lignées résistantes à l'émétine et au métronidazole obtenues en laboratoire, et plus particulièrement la surexpression en EhPgp1 n'ont pas été retrouvés dans des isolats cliniques en Inde (Bansal 2006b). Ceci montre un faible risque de résistance d'*E. histolytica* dans cette région. Néanmoins, comme il a été vu chez *Leishmania donovani*, les mécanismes de résistance *in vivo* peuvent être différents de ceux découverts dans les souches de laboratoire. Enfin, plus d'un mécanisme peut intervenir dans la résistance au niveau clinique, c'est pourquoi, la recherche sur les mécanismes de résistance probables d'*E. histolytica* aux principaux anti-protozoaires doit être poursuivie. En effet, le développement de nouvelles molécules en est aux prémices, le recours au vaccin ne peut s'envisager que dans un lointain futur et l'apparition de résistance au métronidazole comme chez *Trichomonas vaginalis* et *Giardia duodenalis* serait un désastre pour la santé des populations des pays en développement.

3.2. Vaccin

Dans un monde parfait, l'amibiase serait éradiquée par la prévention de la contamination fécale des aliments et de l'eau. Malheureusement, fournir de l'eau et une alimentation non souillée aux populations des pays en développement nécessite des investissements financiers et logistiques énormes.

De plus, malgré l'existence d'une thérapie efficace, la morbidité et la mortalité de l'amibiase (dysenterie et abcès) persistent dans les populations de ces pays. La mise au point d'un vaccin est une alternative nécessaire et moins coûteuse (Stanley 1996, Haque 2003).

De nombreux vaccins efficaces sont disponibles contre une grande variété de bactéries et virus mais pas contre les protozoaires. Contrairement à de nombreuses espèces de ce phylum, *E. histolytica* n'existe que sous 2 formes (trophozoïte et kyste), possède un cycle simple, extra-cellulaire, avec un seul hôte, l'homme. Un programme de vaccination étendu pourrait donc permettre son éradication (Lotter 2006b, Snow 2006).

La mise en évidence de l'acquisition d'une immunité partielle dans les modèles animaux et chez l'homme après une infection naturelle a augmenté les espoirs dans l'efficacité d'un vaccin.

Depuis les années 1990, l'immunisation contre le développement des abcès hépatiques chez les rongeurs a été testé. Les principaux antigènes candidats sont la protéine riche en sérine (EhSERP) et la lectine Gal/NAcGal, molécules particulièrement immunogéniques. Ces molécules sont conservées, permettant l'immunisation avec un seul antigène pour différentes souches. D'autres sont à l'étude comme la peridoxine (29 kDa), le lipophosphoglycane, les cystéine-protéinases (Lotter 2006b, Snow 2006).

Les tests, pratiqués en grande majorité sur des rongeurs, préviennent l'apparition des abcès hépatiques que l'antigène soit la protéine native ou une protéine recombinante (Stanley 1996).

D'autres essais plus récents ont utilisé des souches atténuées de *Salmonella* spp et de *Yersinia enterocolitica* comme vecteurs exprimant des antigènes EhSERP ou lectine Gal/NAcGal pour favoriser une réponse IgA mucoale après administration orale (Lotter 2006b, Snow 2006). La protection a été de 100% dans le modèle d'amibiase colique provoquée par injection intra-rectale de trophozoïtes d'*E. histolytica* chez les souris C3H, par production d'IgA.

Ces derniers tests montrent l'intérêt d'une immunisation orale par la stimulation de la première ligne de défense de l'hôte (IgA) mais surtout pourrait conduire à un vaccin combiné contre les différentes causes de diarrhées mortelles dans les pays en développement.

Néanmoins, toutes ces attentes concernant un vaccin doivent être modérées par le fait que l'infection naturelle à *E. histolytica* ne confère, à long terme, aucune immunité protectrice contre une éventuelle infection. La demi-vie des IgA étant de courte durée, leur bénéfice chez les enfants les produisant est limité à 6 mois (Haque 2002, Haque 2006b). De plus, dans une étude menée dans la population vietnamienne, les individus avec des antécédents d'abcès amibiens hépatiques étaient tout aussi susceptibles de redévelopper un abcès amibien que la population naïve (Blessman 2002).

D'autre part, des contraintes techniques ralentissent le développement d'un vaccin. Premièrement, comme l'homme est le seul hôte naturel d'*E. histolytica*, les modèles chez les rongeurs de l'infection humaine sont incertains, la physiopathologie comprenant une première étape intestinale avant le développement d'un abcès hépatique n'est pas accessible dans ces

modèles (Lotter 2006b). De plus, la durée de l'immunisation chez les animaux n'est pas connue. Enfin, la production d'un vaccin vivant atténué est peu envisageable du fait des coûts importants de la culture d'*E. histolytica* et de la difficulté à prévoir une protection contre une souche virulente lors de l'immunisation avec une souche avirulente (Lotter 2006b).

Pour finir, la barrière peut-être la plus délicate à franchir pour le développement d'un vaccin anti-amibiase est son financement. Il est presque impossible de produire un vaccin fiable à grande échelle sans les ressources techniques et de recherches des firmes pharmaceutiques. Or, un vaccin anti-*E. histolytica* n'aurait pratiquement aucun marché dans les pays industrialisés et donc peu ou pas de retour sur investissements pour ces entreprises (Miller-Sims 2002, Lotter 2006b, Snow 2006).

L'espoir réside d'une part dans la coopération entre les organisations internationales (ONU, OMS), les gouvernements des pays en développement et les structures privées afin de créer un marché stable pour ce type de produit et d'autre part dans la fabrication d'un vaccin multivalent anti-diarrhéique prévenant contre les shigelloses, les souches *Escherichia coli* pathogènes, *E. histolytica* et d'autres pathogènes entériques afin de diminuer les coûts, faciliter l'administration et surtout réduire la mortalité infantile dans ces pays déjà fortement touchés par la pandémie du SIDA (Lotter 2006b)

3.3. Médecine traditionnelle

Les maladies parasitaires causant des diarrhées et des dysenteries sont une des principales causes de mortalité dans les pays en développement. Dans ces pays, plus de 5 millions d'enfants meurent chaque année avant

l'âge de 5 ans à cause d'une affection diarrhéique sévère (WHO 1996). La plupart des populations rurales n'ont pas accès à des services de santé et la majorité des malades consultent en premier lieu des guérisseurs traditionnels (Longonga 2000). De nombreuses préparations phytothérapeutiques, utilisant les plantes de l'écosystème local, sont utilisées avec succès par ces « homme-médecine » pour traiter les diarrhées et dysenteries dont l'amibiase (Tona 1998).

Néanmoins, très peu d'entre elles ont été contrôlées cliniquement ou étudiées chimiquement et biologiquement pour identifier leurs composants.

Des études ethnopharmacologiques ont été menées au Congo (Tona 1998, Longonga 2000, Cimanga 2006), en Afrique du Sud (McGaw 2000), au Mexique (Calzada 1998, 2003, 2003b, 2005, 2006, 2007, Delia Alanis 2003, Moo-Puc 2007) et en Asie du Sud principalement dans le sous-continent indien (Sharma 2001, Goshal 2002, Zaman 2002) et en Thaïlande (Sawangjaroen 2004).

Toutes ces études ont sélectionné les plantes à tester après l'interrogatoire des populations et des guérisseurs et ont recueilli les modes d'administration (infusion, décoction, macération) et posologies utilisés. L'activité amoebicide *in vitro* d'extraits aqueux *et* alcooliques a été testé mais seulement 2 études se sont intéressées à l'activité *in vivo* de ces plantes sur une amibiase ceacale chez la souris (Zaman 2002, Sawangjaroen 2004).

Les différentes structures chimiques retrouvées dans les plantes (quelque soit le continent) ayant une activité amoebicide sont des flavonoïdes, des iridoïdes, des alcaloïdes, des quassinoïdes et des anthraquinones.

La plupart des extraits ont montré une activité amoebicide *in vitro*, certaines étant proche de celle de l'émétine, mais l'efficacité du métronidazole était au minimum 5 fois supérieure quelque soit l'extrait.

Une autre interrogation vient du fait que les extraits les plus efficaces étaient les extraits alcooliques par rapport aux extraits aqueux, alors que ce sont ces derniers qui sont utilisés (infusions, macérations...).

L'activité *in vivo* de *Piper longum* (fruit et racine) (Zaman V 2002, Sawangjaroen 2004) conforte l'utilisation de ces plantes dans le traitement des dysenteries chez l'homme.

Dans la pratique traditionnelle, et qui n'a pas été testé dans les études, un mélange de plantes est souvent utilisé conduisant à une synergie d'action des composants amoebicide, antibactérien et antispasmodique contenus en plus ou moins grande quantité.

De plus, les guérisseurs portent une attention particulière à la période et au lieu de cueillette ainsi qu'à la partie de la plante car l'activité clinique en est très dépendante.

La conclusion de ces différentes études est que l'utilisation des remèdes traditionnels est efficace et dans une certaine mesure validée biologiquement. Elle a l'avantage d'être accessible aux populations les plus fragiles. La sauvegarde des écosystèmes est donc aussi un enjeu pour la santé de ces populations.

Enfin, ce screening des composants des plantes médicinales peut favoriser le développement de nouveaux antiparasitaires, domaine où les phénomènes de résistance sont les plus importants.

Dans nos sociétés développées, l'intérêt porté aux médecines douces (aromathérapie, phytothérapie, homéopathie) est en constante progression. Néanmoins, l'allopathie reste en première ligne dans le traitement de

l'amibiase et les thérapies adjuvantes ne sont que des médicaments principalement à activité placebo comme le mercurius corrosivus utilisé en homéopathie pour diminuer les ténésmes (Horvilleur 2002).

CHAPITRE 7 : PROPHYLAXIE

L'infection amibienne se transmet par ingestion d'aliments ou d'eau souillés par les kystes d'*E.histolytica*. Un porteur asymptomatique peut excréter entre 15 et 45 millions de kystes par jour (Wery 1995, Bonnin 2002). La prévention repose sur l'amélioration des conditions sanitaires, lutte contre le péril fécal, et le traitement des porteurs de kystes.

1. Prophylaxie générale

Cette prophylaxie est illusoire en pays d'endémie, les investissements sociaux et économiques étant beaucoup trop importants. Théoriquement, elle repose sur plusieurs mesures :

- Dépistage et traitement des porteurs sains
- Assainissement des réseaux d'adduction d'eau et de traitement des eaux usées
- Aménagement de latrines et interdiction des engrais humains dans les pays où cette technique d'enrichissement des sols est utilisée
- Protection des aliments contre les mouches, les blattes et les animaux domestiques.

2. Prophylaxie individuelle

Nous nous intéresserons surtout à la prophylaxie pour le sujet venant de zone non endémique.

2.1. Généralités

La prophylaxie individuelle se base sur le respect des recommandations d'hygiène alimentaire et corporelle.

L'une des premières recommandations est le lavage des mains avant chaque repas et après chaque passage aux toilettes. Les kystes sont tués en 10 minutes par dessiccation sur les mains, il faut donc respecter cet intervalle de temps sans contact main-bouche.

La consommation des fruits et légumes doit être limitée aux plats cuits ou à des espèces consommées pelées. Lorsque la consommation des légumes crus ne peut être évitée, il faut procéder à un lavage soigneux des aliments puis les plonger pendant 10 à 15 minutes dans du vinaigre (5% d'acide acétique) (Ravdin 2005, Bonnin 2002). La maxime « Cook it, Peel it or Forget it » doit être respectée.

2.2. Purification de l'eau

L'eau est toujours la source primaire de l'infestation. La consommation d'eau en bouteille encapsulée est à privilégier, mais elle n'est pas forcément possible suivant le type de séjour. La désinfection de l'eau peut se faire selon trois types de procédés : l'ébullition, la désinfection chimique et la microfiltration.

Les substances en suspension gênent la désinfection, quelque soit le procédé utilisé, la clarification doit donc être une étape préalable à tout traitement. Ceci peut se faire par la décantation ou par filtration sur filtres en papier ou sur plusieurs épaisseurs de gaze.

2.2.1. Ebullition

La désinfection par ébullition est un procédé simple et sûr car tous les microorganismes pathogènes responsables d'infection par voie hydrique sont détruits après ébullition à 100°C pendant quelques minutes. En pratique, l'eau doit être portée à ébullition pendant 1 minute en général, 3 minutes en altitude (2000 m) et pendant 5 minutes si l'on souhaite inactiver le virus de l'hépatite A.

Cette technique de désinfection n'est malheureusement pas toujours possible et il est à garder en mémoire que dès le refroidissement de l'eau, celle-ci peut de nouveau être souillée.

2.2.2.. Désinfection chimique

L'action désinfectante diffère selon la nature des agents chimiques, de leur mode d'utilisation, des caractéristiques de l'eau et de la nature des microorganismes. Les halogénés (iode et chlore) ont des propriétés désinfectantes à forte concentration, mais les quantités recommandées pour la désinfection de l'eau sont beaucoup plus faibles.

Le chlore est un gaz désinfectant d'action rapide efficace sur de nombreux virus et bactéries mais peu actif sur les spores, les œufs et kystes de parasites. Il existe trois produits générateurs de chlore : l'hypochlorite de sodium (Drinkwell chlore®), le tosylchloramide (Hydroclonazone®) et le dichloro-isocyanurate de sodium, DCCNa (Aquatabs®).

Dénomination	Posologie	Délai d'action	Durée d'action	Efficacité, avantages/inconvénients
Drinkwell chlore®	3 gouttes/litre	1h	24h	
Hydroclonazone®	12,2mg (=1cp)/litre	1h	24h	Peu stable à la chaleur (conservation T°<15°) Efficacité insuffisante (1)
Aquatabs®	8,5mg (=1cp)/litre	30min	24h	Comprimé effervescent permettant une libération rapide du chlore, élimination rapide des germes fécaux. Médicament du Kit sanitaire d'urgence de l'OMS

(1) étude de l'armée française sur l'efficacité des dérivés chlorés sur la désinfection de l'eau de la Seine

Tableau récapitulatif des caractéristiques des désinfectants chlorés.

La désinfection de l'eau de boisson par l'iode est efficace avec une solution d'alcool iodé à 2 % à la posologie de 5 gouttes / litre pendant 30 minutes. Le principal inconvénient de cette technique est le risque d'effets indésirables thyroïdiens dus à l'iode. Elle doit donc rester occasionnelle et proscrite aux voyageurs souffrant de dysthyroïdie et durant la grossesse.

Les sels d'argent sont insuffisants pour permettre la désinfection de l'eau mais ont un intérêt pour la conservation de l'eau traitée grâce à leur action rémanente.

2.2.3. Désinfection par microfiltration

Un appareil pour le traitement de l'eau est efficace contre la contamination de l'eau lorsqu'il est équipé d'un microfiltre dont les pores sont de taille inférieure à celle des œufs et larves de parasites, des protozoaires ou des bactéries (0,2 μm). Aucun filtre portable n'a de pores pouvant retenir les virus (0,01 μm).

Différents agents sont ajoutés au microfiltre en céramique ou en fibre de verre afin d'éliminer les virus (résine polyiodée, dans Voyageur Pentapure®), de retenir par adsorption des polluants organiques (charbon activé dans Combi Katadyn®) ou de protéger l'élément filtrant contre la contamination en arrêtant la prolifération bactérienne (argent, procédé Katadyn®).

2.2.4. Conservation de l'eau traitée

L'eau mise en réserve après traitement est facilement contaminée par les manipulations lors de son utilisation. Il faut donc éviter tout contact avec l'eau traitée mise en réserve en utilisant des jerrycans en polyéthylène alimentaire comprenant un bec verseur. L'ion argent du fait de son action bactéricide faible et de son efficacité médiocre sur les virus et kystes de protozoaires n'est pas un produit adapté à la décontamination de l'eau. Sa stabilité même à température élevée pendant 3 à 6 mois permet cependant la

conservation d'une eau rendue potable. Un sel d'argent complexe de chlorure de sodium et d'argent est commercialisé sous le nom de Micropur®.

Procédés de traitement	Purification physico chimique Particules en suspension	Purification microbiologique			Principaux avantages ou inconvénients pratiques
		Bactéries	Virus	Parasites	
Ebullition	0	++	++	++	Goût désagréable de l'eau.
Hypochlorite de sodium(1)	0	++	+	0	Pour les 3 produits :
Tosylchloramide(2)	0	+	+/-	0	* Délai d'action : 1 heure.
DCCNa(3)	0	++	+	0	* Durée d'action : 24 heures.
Iode(4)	0	++	+	+/-	Risques thyroïdiens.
Argent(5)	0	+	+/-	0	Durée d'action : 3 à 6 mois.
Filtre Charbon Activé(6) (pas de microfiltre)	+	0	0	+/-	Pas d'action désinfectante mais capte substances organiques et odeurs.
Microfiltre à pores de 0,2 µ à 0,4 µ (7)	++	++	+/-	++	Goût désagréable de l'eau.
Microfiltre + Iode (8)	++	++	+	++	Risques thyroïdiens.
Microfiltre + Iode + charbon(9)	++	++	+	++	Iode résiduel retenu par le charbon.
Microfiltre + argent(10)	++	++	+/-	++	Capte substances organiques et odeurs.
Microfiltre + charbon(11)	++	++	+/-	++	

0 : inopérant ; +/- : médiocre ; + : moyen ; ++ : efficace

1) Eau de Javel ou Drinkwell Chlore®, 2) Hydroclonazone®, 3) Aquatabs®, 4) Alcool Iodé 2%, 5) Micropur® ou Drinkwell argent®, 6) Mini Carbon® (Katadyn), 7) First Need® (general ecology) ou Mini Works® (MSR), 8) Pure It Carafe® ou Voyageur Pentapure®, 9) Guardian plus® (sweetwater) ou gourde pentasport®, 10) Mini-ceramic® (Katadyn) ou pocket filter® (katadyn), 11) Combi Katadyn®.

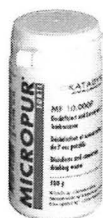
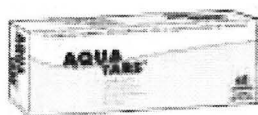
Comparaisons des différents traitements de l'eau de boisson. (Revue Prescrire 2002)

Conseils sur la décontamination de l'eau en fonction du type de séjour

Séjours courts type tourisme en hôtels ou apparentés :

- Désinfection chimique :

- Aquatabs (dérivé chloré), Micropur Forte®, Drinkwell chlore®
(hypochlorite de Na)



- Microfiltration (filtre portable ou fixé au robinet) : Katadyn, Sweet Water, etc... Non efficaces sur les virus.



Randonnées, trekking, camping sauvage :

L'eau disponible est souvent l'eau de pluie de surface ou l'eau de puits.

- Préfiltration sur filtre papier

- Microfiltration (filtre portable ou fixé au robinet) : Katadyn®, Sweet Water®, etc... suivi d'une désinfection chimique (pour détruire les virus) : Aquatabs® ou Drinkwell chlore®.

- Système associant microfiltre et résine iodée (gourde PentaPure Sport, filtres à pompe manuelle Pur, etc...). Attention aux problèmes de

thyroïde si utilisation prolongée au-delà de quelques semaines, contre indication en cas de grossesse ou de maladie thyroïdienne.



Réservoir d'eau des camping cars et caravanes, bateaux... :

- Conservation avec l'ion argent (Micropur®, Drinkwell argent®) ou ion argent + hypochlorite de Na (Micropur Forte®).
- Suivie en sortie d'un microfiltre (Katadyn®, Sweet Water®, etc)

Séjours de longue durée :

- Installation à l'arrivée d'eau d'appareils de microfiltration et de désinfection (appareils Pentapure®, Katadyn®, etc..)

Généralités :

La clarification de l'eau par filtration sur papier filtre est un préalable à tout traitement de désinfection de l'eau.

L'ébullition, lorsqu'elle est possible, reste un moyen simple et efficace de désinfection (1 minute en général, 3 minutes à 2000 m et 5 minutes pour inactiver le virus de l'hépatite A)

Conditions de conservation : jerrycans équipés de bec verseur, Micropur®

Ne pas oublier les autres modes de contamination : glaçons, légumes crus...

Ainsi la connaissance de la physiopathologie d'*E. histolytica* révèle une extrême complexité des relations hôte/parasite.

Les moyens diagnostiques sont actuellement très performants mais coûteux pour les pays en développement. L'arsenal thérapeutique reste encore très limité mais remarquablement efficace. Les espoirs en la vaccination sont encore faibles. La seule prévention reste la lutte contre le péril fécal et le dépistage des porteurs asymptomatiques.

Les recherches sur *E. histolytica* sont un enjeu pour la connaissance des mécanismes immunitaires et montrent les capacités adaptatives remarquables des cellules parasitaires.

Quelques nouvelles molécules différentes des nitro-5-imidazolés seront très prochainement ajoutées aux possibilités thérapeutiques.

Le pharmacien se doit de souligner l'intérêt des mesures individuelles de prévention et s'assurer de l'utilisation correcte des protocoles chimiques ou mécaniques de désinfection de l'eau.

THESE SOUTENUE PAR : Emilie BONNET

THESE SOUTENUE PAR : Emilie BONNET

TITRE : *Entamoeba histolytica* : épidémiologie, évolution dans la connaissance de la pathogénèse, du diagnostic, de la thérapeutique et de la prévention

CONCLUSION

La différenciation d'*Entamoeba histolytica* et d'*Entamoeba dispar* en 1993 par Diamond et Clark et la redéfinition en 1997 par l'OMS, 60 ans après les suggestions d'E. Brumpt, de l'amibiase comme infection par *E. histolytica* uniquement, ont modifié considérablement la prévalence réelle de cette parasitose. Les données épidémiologiques aujourd'hui disponibles sont en majorité obsolètes du fait de l'utilisation du seul examen microscopique des selles, outil diagnostique ne permettant pas la distinction de ces deux espèces. Néanmoins, cette parasitose reste un important problème de santé publique dans les pays en développement.

Nous nous sommes intéressée aux connaissances les plus récentes des mécanismes physiopathologiques et des interactions non négligeables entre l'agent pathogène et l'hôte, soulignant la complexité des relations et des facteurs liés à l'expression de virulence d'*E. histolytica*. Le développement de l'amibiase dépend en grande partie du type de mécanismes de défense mis en place par l'hôte. Des recherches orientées sur les réponses

immunologiques pro ou anti-inflammatoires permettront peut-être de résoudre l'énigme de la physiopathologie de l'amibiase.

La mise en évidence de l'innocuité d'*E. dispar* a aussi eu des répercussions sur le diagnostic de l'amibiase. L'examen microscopique des selles toujours très utile dans le diagnostic de l'amibiase colique aiguë est supplanté par la détection de coproantigènes spécifiques.

La sérologie avec recherche d'IgG spécifiques connaît un regain d'intérêt dans le diagnostic de l'amibiase intestinale ou extra-intestinale car seule *E. histolytica* entraîne la production d'immunoglobulines. Cependant, elle n'est pas adaptée en région endémique du fait des cicatrices immunologiques fréquentes. Les techniques de PCR pourront, après standardisation, diminution des coûts et amélioration de sensibilité dans les échantillons de selles, être utilisées comme outil diagnostique de référence.

Les amoebicides tissulaires et de contact constituent une thérapeutique efficace et peu de cas de résistance ou d'échec de traitement ont été rapportés. Ils sont en revanche difficiles d'accès dans les pays en développement et la prévention vaccinale resterait une des possibilités d'éradication. Malheureusement de nombreuses contraintes techniques et financières seront à surmonter. Actuellement, seule la prévention par le contrôle du péril fécal et le respect des règles hygiéno-diététiques permettent de prévenir l'amibiase.

Le rôle du pharmacien est de conseiller le voyageur sur ces règles et la bonne utilisation des produits de désinfection de l'eau. Mais il est essentiel que la communauté internationale s'investisse dans la lutte contre le péril fécal et participe à l'élaboration d'un vaccin multivalent contre les affections diarrhéiques sévères responsables chaque année de la mort de 5 millions d'enfants.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 29 / 02 / 2008

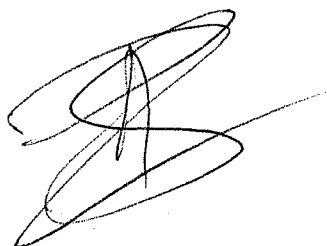
LE DOYEN



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
U.F.R.
DE
PHARMACIE
* GRENOBLE 1 *

Professeur Renée GRILLOT

LE PRESIDENT DE LA THESE



Professeur Renée GRILLOT

BIBLIOGRAPHIE

ABD-ALLA MD., JACKSON TFHG., RAVDIN JI. Serum IgM antibody response to the galactose-inhibitable adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. Am J Trop Med Hyg. 1998 ; **59** : 431-434

ABD-ALLA MD., WAHIB AA., RAVDIN JI. Comparison of antigen-capture ELISA to stool culture methods for the detection of asymptomatic *Entamoeba* species infection in Kafer Daoud, Egypt. Am J Trop Med Hyg 2000 (a) ; **62** : 579-582

ABD-ALLA MD., JACKSON TFHG., REDDY S., RAVDIN JI. Diagnosis of invasive amebiasis by enzyme-linked immunosorbent assay of saliva to detect amebic lectin antigen and anti-lectin immunoglobulin G antibodies. J Clin Microbiol. 2000 (b) ; **38** : 2344-2347

ABD-ALLA MD., RAVDIN JI. Diagnosis of amoebic colitis by antigen capture ELISA in patients presenting with acute diarrhea in Cairo, Egypt. Trop Med Int Health. 2002 ; **7** : 365-370

ACKERS JP. The diagnostic implications of the separation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. J Biosci. 2002 ; **27** (suppl. 3) : 573-578

ACKERS JP., MIRELMAN D. Progress in research on *Entamoeba histolytica* pathogenesis. Curr Opin Microbiol. 2006 ; **9** : 367-373

ACUNA-SOTO R., MAGUIRE JH., WIRTH DF. et al. Gender distribution in asymptomatic and invasive amebiasis. Am J Gastroenterol. 2000 ; **95** : 1277-1283

ADAMS EB., MACLEOD IN. Invasive amebiasis. II. Amebic liver abscess and its complications. Medicine (Baltimore). 1977 ; **56** : 325-334

ADEYEMO AO., ADEROUNMU A. Intrathoracic complications of amoebic liver abscess. J R Soc Med. 1984 ; **77** : 17-21

ANANE S., KHALED S. *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* : méthodes de différenciation et implications. Ann Biol Clin. 2005 ; **63** : 7-13

ANAYA-VELAZQUEZ F., PADILLA-VACA F. Effect of intestinal bacteria on the virulence of *Entamoeba histolytica*. Arch Med Res. 1992 ; **23** : 183-185

ANDERSEN YS., GILLIN FD., ECKMANN L. Adaptive immunity-dependent intestinal hypermotility contributes to host defense against *Giardia* spp. Infect Immun. 2006 ; **74** : 2473-2476

ANDRA J., HERBST R., LEIPPE M. Amoebapores, archaic effector peptides of protozoan origin, are discharged into phagosomes and kill bacteria by permeabilizing their membranes. *Dev Comp Immunol.* 2003 ; **27** : 291-304

ANDRA J., BERNINGHAUSEN O. LEIPPE M. Membrane lipid composition protects *Entamoeba histolytica* from self-destruction by its pore-forming toxins. *FEBS Lett.* 2004 ; **564** : 109-115

ANKRI S., STOLARSKY T., MIRELMAN D. Antisense inhibition of expression of cysteine proteinases does not affect *Entamoeba histolytica* cytopathic or haemolytic activity but inhibits phagocytosis. *Mol Microbiol.* 1998 ; **28** : 777-785

ANKRI S., PADILLA-VACA F., STOLARSKY T., KOOLE L., MIRELMAN D. Antisense inhibition of expression of the light subunit (35kDa) of the Gal/GalNAc lectin complex inhibits *Entamoeba histolytica* virulence. *Mol Microbiol.* 1999 (a) ; **33** : 327-337

ANKRI S., STOLARSKY T., BRACHA R., PADILLA-VACA F. MIRELMAN D. Antisense inhibition of expression of cysteine proteinases affects *Entamoeba histolytica*-induced formation of liver abscess in hamsters. *Infect Immun.* 1999 (b) ; **67** : 421-422

ANKRI S. Strategies of the protozoan parasite *Entamoeba histolytica* to evade the innate immune responses of intestinal epithelial cells. *J Biosci.* 2002 ; **6** : 609-614

ARELLANO J., GRANADOS J., FRENK P., LOPEZ-OSUNA M., SANTOS I., KRETSCHMER RR. Increased frequency of HLA-DR3 in Mexican mestizo pediatric patients with amebic liver abscess (ALA). *Arch Med Res.* 1992 ; **23** : 269-270

ARELLANO J., PEREZ-RODRIGUEZ M., LOPEZ-OSUNA M. et al. Increased frequency of HLA-DR3 and complotype SCO1 in Mexican mestizo children with amoebic abscess of the liver. *Parasite Immunol.* 1996 ; **18** : 491-498

ARHETS P., OLIVO JC., GOUNON P., SANSONETTI P., GUILLEN N. Virulence and functions of myosin II are inhibited by overexpression of light meromyosine in *Entamoeba histolytica*. *Mol Biol Cell.* 1998 ; **8** : 1537-1547

ARISTIZABAL H., ACEVEDO J., BOTERO M. Fulminant amebic colitis. *World J Surg.* 1991 ; **15** : 216-221

ARROYO R., OROZCO E. Localization and identification of an *Entamoeba histolytica* adhesin. *Mol Biochem Parasitol.* 1987 ; **23** : 151-158

AUST-KETTIS A., LINDMAN K., FAGRAEUS A. Actin in *Entamoeba histolytica* trophozoites revealed by human actin antibodies. *J Parasitol.* 1977 ; **63** : 581-583

- AUST-KETTIS A., SUNDQVIST KG.** Dynamics of the interaction between *Entamoeba histolytica* and components of the immune response : I. "capping" and endocytosis ; influence of inhibiting and accelerating factors ; variation of the expression of surface antigens. Scand J Immunol. 1978 ; **7** : 35-44
- BAILEY GB., LEITCH GJ., DAY DB.** Chemotaxis by *Entamoeba histolytica*. J Protozool. 1985 ; **32** : 341-346
- BANSAL D., MALLA N., MAHAJAN RC.** Drug resistance in amoebiasis. Indian J Med Res. 2006 (a) ; **123** : 115-118
- BANSAL D., SEHGAL R., CHAWLA Y., MALLA N., MAHAJAN RC.** Multidrug resistance in amoebiasis patients. Indian J Med Res. 2006 (b) ; **124** : 189-194
- BARNES PF., DECOCK KM., REYNOLDS TN., RALLS PW.** A comparison of amebic and pyogenic abscess of the liver. Medicine (Baltimore). 1987 ; **66** : 472-483
- BARWICK RS., UZICANIN A., MALAKMADZE N. et al.** Outbreak of amoebiasis in Tbilisi, Republic of Georgia, 1998. Am J Trop Med Hyg. 2002 ; **67** : 623-631
- BECK DL., TANYUKSEL M., MACKAY AJ. et al.** *Entamoeba histolytica* : Sequence conservation of the Gal/GalNAc lectin from clinical isolates. Exp Parasitol. 2002 ; **101** : 157-163
- BENETTON MLFN., GONCALVES AV., MENEGHINI MEF, SILVA EF., CARNEIRO M.** Risk factors for infection by the *Entamoeba histolytica*/*E. dispar* complex : An epidemiological study conducted in outpatient clinics in the city of Manaus, Amazon Region, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2005 ; **99** : 532-540
- BENKERT C., JACOBS T., BERNINGHAUSEN O., ANDRÄ J., LEIPPE M.** Molecular basis of aggressive and defensive functions of *Entamoeba histolytica*. Arch Med Res. 1997 ; **28** : 152-153
- BETZ M., FOX BS.** Prostaglandin E2 inhibits production of TH1 lymphokines but not of TH2 lymphokines. J Immunol. 1991 ; **146** : 108-113
- BHATTACHARYA A., SATISH S., BAGCHI A., BHATTACHARYA S.** The genome of *Entamoeba histolytica*. Int J Parasitol. 2000 ; **30** : 401-410.
- BLESSMANN J., VAN LINH P., NU PA. et al.** Epidemiology of amoebiasis in a region of high incidence of amoebic liver abscess in central Vietnam. Am J Trop Med Hyg. 2002 ; **66** : 578-583
- BLESSMANN J., ALI IM., PA TN. et al.** Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. J Clin Microbiol. 2003 ; **41** : 4745-4750

BLESSMANN J., LE VAN A., TANNICH E. Epidemiology and treatment of amebiasis in Hué, Vietnam. Arch Med Res. 2006 ; **37** : 270-272

BOETTNER DR., HUSTON CD., PETRI WA. Jr. Galactose/N-acetylgalactosamine lectin : the coordinator of host cell killing. J Biosci. 2002 ; **6** : 553-557

BONNIN A., DEI CAS E. *Entamoeba histolytica/dispar*, Fiche AFSSA 2002

BOONYAPISIT S., CHINAPAK O., PLENGVANIT U. Amoebic liver abscess in Thailand, clinical analysis of 418 cases. J Med Assoc Thai. 1993 ; **76** : 243-246

BOUCHAUD O. Parasitoses digestives : Lambliase, téniasis, ascaridiose, oxyurose, amibiase, hydatidose. Rev Prat. 2005 ; **55** : 331-337

BOUCHAUD O. Bilan systématique au retour
In Médecine des voyages, Médecine tropicale. **BOUCHAUD O., CONSIGNY PH., COT M., ODERMATT-BIAYS S.** Editions Masson, Issy-les-Moulineaux, 2006, p : 68

BOURGUIGNON LYW., BOURGUIGNON GJ. "capping" and cytoskeleton. Int Rev Cytol. 1984 ; **87** : 195-224

BRACHA R., NUCHAMOWITZ Y., LEIPPE M., MIRELMAN D. Antisense inhibition of amoebapore expression in *Entamoeba histolytica* causes a decrease in amoebic virulence. Mol Microbiol. 1999 ; **34** : 463-472

BRACHA R., NUCHAMOWITZ Y., MIRELMAN D. Amoebapore is an important virulence factor of *Entamoeba histolytica*. J Biosci. 2002 ; **6** : 579-587

BRUCHHAUS I., TANNICH E. Induction of the iron-containing superoxide dismutase in *Entamoeba histolytica* by a superoxide anion-generating system or by iron chelation. Mol Biochem Parasitol. 1994 ; **67** : 281-288

BRUMPT E. Etude sommaire de l'*Entamoeba dispar* n. sp. Amibe à kystes quadri nucléés, parasite de l'homme. Bulletin de l'Académie de Médecine (Paris). 1925 ; **94** : 943-952

BYERS J., FAIGLE W., EICHINGER D. Colonic short-chain fatty acids inhibit encystation of *Entamoeba invadens*. Cell Microbiol. 2005 ; **7** : 269-279

CABALLERO-SALCEDO A., VIVEROS-ROGEL M., SALVATIERRA B et al. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. Am J Trop Med Hyg. 1994 ; **50** : 412-419

CALDERARO A., GORRINI C., BOMMEZZADRI S., PICCOLO G., DETTORI G., CHEZZI C. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* : comparison of two PCR

assays for diagnosis in a non-endemic setting. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006 ; **100** : 450-457

CALDERON J., MUNOZ M., ACOSTA HM. Surface redistribution and release of antibody-induced caps in *Entamoeba*. *J Exp Med.* 1980 ; **151** : 184-193

CALZADA F., DELIA ALANIS A., MECKES M., TAPIA-CONTRERAS A., CEDILLO-RIVERA R. *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to some medicinal plants used by the people of Southern Mexico. *Phytother Res.* 1998 ; **12** : 70-72

CALZADA F., BARBOSA E., CEDILLO-RIVERA R. Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from *Lepidum virginicum*. *Phytother Res.* 2003 (a) ; **17** : 618-619

CALZADA F., VELAZQUEZ C., CEDILLO-RIVERA R., ESQUIVEL B. Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxys graveolens*. *Phytother Res.* 2003 (b) ; **17** : 731-732

CALZADA F., CERVANTES-MARTINEZ JA., YEPEZ-MULIA L. *In vitro* antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *J Ethnopharmacol.* 2005 ; **98** : 191-193

CALZADA F., YEPEZ-MULIA L., AGUILAR A. *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *J Ethnopharmacol.* 2006 ; **108** : 367-370

CALZADA F., DELIA ALANIS A. Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *Phytother Res.* 2007 ; **21** : 78-80

CAMPBELL D., CHADEE K. Interleukin (IL)-2, IL-4, and tumor necrosis factor-alpha responses during *Entamoeba histolytica* liver abscess development in gerbils. *J Infect Dis.* 1997 (a) ; **175** : 1176-1183

CAMPBELL D., CHADEE K. Survival strategies of *Entamoeba histolytica* : Modulation of cell-mediated immune responses. *Parasitol Today.* 1997 (b) ; **13** : 184-190

CAMPBELL D., GAUCHER D., CHADEE K. Serum from *Entamoeba histolytica*-infected gerbils selectively suppresses T cell proliferation by inhibiting interleukin-2 production. *J Infect Dis.* 1999 ; **179** : 1495-1501

CAMPOS-RODRIGUEZ R., JARILLO-LUNA A. The pathogenicity of *Entamoeba histolytica* is related to the capacity of evading innate immunity. *Parasite Immunol.* 2005 ; **27** : 1-8

CARBAJAL ME., MANNING-CELA R., PINA A., FRANCO E., MEZA I. Fibronectin-induced intracellular calcium rise in *Entamoeba histolytica* trophozoites : effect on adhesion and the actin cytoskeleton. *Exp Parasitol.* 1996 ; **82** : 11-20

CARDOSO JM., KIMURA K., STOOPEN M. et al. Radiology of invasive amebiasis of the colon. *Am J Roentgenol.* 1977 ; **128** : 935-941

CHADEE K., MEEROVITCH E., MOREAU F. In vitro and in vivo interaction between trophozoites of *Entamoeba histolytica* and gerbil lymphoid cells. *Infect Immun.* 1985 ; **49** : 828-832

CHADEE K., PETRI WA. Jr, INNES DJ., RAVDIN JL. Rat and human colonic mucins bind to and inhibit the adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. *J. Clin. Invest.* 1987 ; **80** : 1245-1254

CHADEE K., KELLER K., FORSTNER J., INNES DJ., RAVDIN JI. Mucin and nonmucin secretagogue activity of *Entamoeba histolytica* and cholera toxin in rat colon. *Gastroenterology.* 1991 ; **100** : 986-997

CHENG XJ., HUGUES MA., HUSYON CD. et al. Intermediate subunit of the Gal/GalNAc lectin of *Entamoeba histolytica* is a member of a gene family containing multiple CXXC sequence motifs. *Infect. Immun.* 2001 ; **69** : 5892-5898

CIMANGA RK., KAMBU K., TONA L. et al. Cytotoxicity and *in vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extracts and its isolated constituents. *J Ethnopharmacol.* 2006 ; **107** : 83-90

CLARK CG. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene meeting at Manson House, London, 19 February 1998. Amoebic disease. *Entamoeba dispar*, an organism reborn. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1998 ; **92** : 361-364

CLARK CG., ESPINOSA CANTELLANO M., BHATTACHARYA A. *Entamoeba histolytica* : An overview of the biology of the organism. In « Amebiasis », *Tropical Medicine : Science and practice*, Imperial College Press, London, 2000, Vol.2 : 1-45

CLARK CG., DIAMOND LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev.* 2002 ; **15** : 329-341

DEBNATH A., TASHKER JS., SAJID M., McKERROW JH. Transcriptional and secretory responses of *Entamoeba histolytica* to mucins, epithelial cells and bacteria. *Int J Parasitol.* 2007 ; **37** : 897-906

DELIA ALANIS A., CALZADA F., CEDILLO-RIVERA R., MECKES M. Antiprotozoal activity of the constituents of *Rubus coriifolius*. *Phyther Res.* 2003 ; **17** : 681-682

DENIS M., CHADEE K. *In vitro* and *in vivo* studies of macrophage functions in amebiasis. *Infect Immun.* 1988 ; **56** : 3126-3131

DIAMOND LS. Amebiasis : nutritional implications. *Rev Infect Dis.* 1982 ; **4** : 843-854

DIAMOND LS., CLARK CG. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *J Eukaryot Microbiol.* 1993 ; **40** : 340-344

DIEUSAERT P. Guide pratique des analyses médicales. 4^{ème} édition, Editions Maloine, Paris, 2005 : 74-75

DODSON JM., LENKOWSKI PW., EUBANKS AC. et al. Infection and immunity mediated by the carbohydrate recognition domain of the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin. *J Infect Dis.* 1999 ; **179** : 460-466

DOROSZ 2007, Guide pratique des médicaments, 27^{ème} édition, Editions Maloine, Paris, 2007

DUGGAL P., HAQUE R., ROY S. et al. Influence of human leukocyte antigen class II alleles on susceptibility to *Entamoeba histolytica* infection in Bangladeshi children. *J Infect Dis.* 2004 ; **189** : 520-526

ECKMANN L., REED SL., SMITH JR., KAGNOFF MF. *Entamoeba histolytica* trophozoites induce an inflammatory cytokine response by cultured human cells through the paracrine action of cytolytically released interleukin-1 alpha. *J Clin Invest.* 1995 ; **95** : 1269-1279

EGGLESTON FC., HANDA AK., VERGHESE M. Amebic peritonitis secondary to amebic liver abscess. *Surgery.* 1982 ; **91** : 46-48

EICHINGER D. A role for a galactose lectin and its ligand during encystment of *Entamoeba*. *J Eukaryot Microbiol.* 2001(a) ; **48** : 17-21

EICHINGER D. Encystation in parasitic protozoa. *Curr Opin Microbiol.* 2001(b) ; **4** : 421-426

EL HENNAWY M., ABD-RABBO H. Hazards of cortisone therapy in hepatic amoebiasis. *J Trop Med Hyg.* 1978 ; **81** : 71-73

ELLYSON JH., BEZMALINOVIC Z., PARKS SN., LEWIS FR Jr. Necrotizing amebic colitis : a frequently fatal complication. *Am J Surg.* 1986 ; **152** : 21-26

ESPINOSA-CANTELLANO M., MARTINEZ-PALOMO A. Pathogenesis of intestinal amebiasis : from molecules to disease. *Clin Microbiol Rev.* 2000 ; **13** : 318-331

EVANGELOPOULOS A., LEGAKIS N., VAKALIA N. Microscopy, PCR and ELISA applied to the epidemiology of amebiasis in Greece. *Parasitol Int.* 2001 ; **50** : 185-189

FOTEDAR R., STARK D., BEEBE N., MARRIOTT D., ELLIS J., HARKNESS J. PCR detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* in stool samples from Sydney, Australia. *J Clin Microbiol.* 2007 ; **45** :1035-1037

FUNG H., DOAN TL. Tinidazole : a nitroimidazole antiprotozoal agent. *Clin Ther.* 2005 ; **27** : 1859-1884

GATHIRAM V., JACKSON TF. A longitudinal study of asymptomatic carriers of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica* Afr Med J. 1987 ; **72** : 669-672

GILCHRIST CA., PETRI WA. Jr. Virulence factors of *Entamoeba histolytica*. *Curr Opin Microbiol.* 1999 ; **2** : 433-437

GIMENEZ-SCHERER JA., ARENAS E., DIAZ L., RICO G., FERNANDEZ J., KRETSCHMER R. Effect of the monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) produced by *Entamoeba histolytica* on the expression of cell adhesion molecules (CAMs) in the skin of Guinea pigs. *Arch Med Res.* 2000 ; **31** : S92-S93

GOLVAN YJ., AMBROISE-THOMAS P. Les nouvelles techniques en parasitologie, 2^{ème} Edition, Editions Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 1990, p : 45, 61, 70-71, 112, 245-246

GONIN P., TRUDEL L. Detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* isolates in clinical samples by PCR and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol.* 2003 ; **41** : 237-241

GONZALEZ-RUIZ A., HAQUE R., AGUIRRE A. et al. Value of microscopy in the diagnosis of dysentery associated with invasive *Entamoeba histolytica*. *J Clin Pathol.* 1994 ; **47** : 236-239

GOSHAL S., LAKSHMI V. Potential antiamebic property of the roots of *Piper longum* Linn. *Phytother Res.* 2002 ; **16** : 689-691

GUILLEN N. Cell signaling and motility in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol Today.* 1993 ; **9** : 364-369

GUILLEN N., BOQUET P., SANSONETTI P. The small GTP-binding protein Rac G regulates uroid formation in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *J Cell Sci.* 1998 ; **111** : 1729-1739

- GUILLEN N.** Infection par *Entamoeba histolytica*
In Annales de l'Institut Pasteur/actualités : Les maladies parasitaires, Elsevier, Paris, 2000 : 197-221
- GUO X., HOUPT E. PETRI WA. Jr.** Crosstalk at the initial encounter : interplay between host defense and ameba survival strategies. *Curr Opin Immunol.* 2007 ; **19** : 1-9
- HAGHIGHI A., KOBAYASHI S., TAKEUCHI T., THAMMAPALERD N., NOZAKI T.** Geographic diversity among genotypes of *Entamoeba histolytica* field isolates. *J Clin Microbiol.* 2003 ; **41** : 3748-3756
- HAIDER Z., RASUL A.** Chronic non-dysenteric intestinal amebiasis : A review of 159 cases. *J Pakistan Med Assoc.* 1975 ; **25** : 75-78
- HALL A.** Small GTP-binding proteins and the regulation of actin cytoskeleton. *Ann Rev Cell Biol.* 1994 ; **10** : 31-54
- HANNA RM., DAHNIYA MH., BADR SS., EL-BETAGY A.** Percutaneous catheter drainage in drug-resistant amoebic liver abscess. *Trop Med Int Health.* 2000 ; **5** : 578-581
- HAQUE R., KRESS K., WOOD S. et al.** Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose-specific adhesin. *J Infect Dis.* 1993 ; **167** : 247-249
- HAQUE R., LYERLY D., WOOD S., PETRI WA. Jr.** Detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* directly in stool. *Am J Trop Med Hyg.* 1994 ; **50** : 595-596
- HAQUE R., NEVILLE LM., HAHN P., PETRI WA. Jr.** Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol.* 1995 ; **33** : 2558-2561
- HAQUE R., FARUQUE ASG., HAHN P. et al.** *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infection in children in Bangladesh. *J Infect Dis.* 1997 ; **175** : 734-736
- HAQUE R., ALI KM., AKTHER S., PETRI WA Jr.** Comparison of PCR, Isoenzyme Analysis and Antigen Detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol.* 1998 ; **36** : 449-452
- HAQUE R., MOLLAH NU., ALI IK. et al.** Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol.* 2000 ; **38** : 3235-3239
- HAQUE R., ALI IM., SACK B., FARR BM., RAMAKRISHNAN G., PETRI WA Jr.** Amebiasis and mucosal IgA antibody against the *Entamoeba histolytica* adherence lectin in Bangladeshi children. *J Infect Dis.* 2001 ; **183** : 1787-1793

HAQUE R., DUGGAL P. ALI IM. et al. Innate and acquired resistance to amebiasis in Bangladeshi children. *J Infect Dis.* 2002 ; **186** : 547-552

HAQUE R., HUSTON CD., HUGUES M., HOUPT E., PETRI WA Jr. Amebiasis. *N Engl J Med.* 2003 ; **348** : 1565-1573

HAQUE R., PETRI WA Jr. Diagnosis of amebiasis in Bangladesh. *Arch Med Res.* 2006 (a) ; **37** : 273-276

HAQUE R., MONDAL D., DUGGAL P. et al. *Entamoeba histolytica* infection in children and protection for subsequent amebiasis. *Infect Immun.* 2006 (b) ; **74** : 904-909

HAQUE R., MONDAL D., SHU J. et al. Correlation of interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells with childhood malnutrition and susceptibility to amebiasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 ; **76** : 340-344

HECKENDORN F., N'GORAN EK., FELGER I. et al. Species-specific field testing of *Entamoeba* spp. in an area of high endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002 ; **96** : 521-528

HEINZ KP. Amoebic infection of the female genital tract. A report of three cases. *S Afr Med J.* 1973 ; **47** : 1795-1798

HELLBERG A., NICKEL R., LOTTER H., TANNICH E., BRUCHHAUS I. Overexpression of cysteine proteinase 2 in *Entamoeba histolytica* or *Entamoeba dispar* increases amoeba-induced monolayer destruction in vitro but does not augment amoebic liver abscess formation in gerbils. *Cell Microbiol.* 2001 ; **3** : 13-20

HOFFNER RJ., KILAGHBIAN T., ESEKOGWU VI., HENDERSON S. Common presentations of amoebic liver abscess. *Ann Emerg Med.* 1999 ; **34** : 351-355

HORVILLEUR A. La prescription en homéopathie, Répertoire-Matière médicale. 2^{ème} édition, Editions Vigot, Paris, 2002, p : 43, 198

HOSKINS LC. Bacterial glycosidases and degradation of glycoconjugates in the human gut.

In **WADSTROM T et al.** Molecular pathogenesis of gastrointestinal infections, Plenum Press, New-York, 1991 :37-47

HOUPT ER., GLEMBOCKI DJ., OBRIG TG. et al. The mouse model of amoebic colitis reveals mouse strain susceptibility to infection and exacerbation of disease by CD4+ T cells. *J Immunol.* 2002 ; **169** : 4496-4503

HUGUES MA., LEE CV., HOLM C. et al. Identification of *Entamoeba histolytica* thiol-specific antioxidant as a GalNAc lectin-associated protein. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2003 ; **127** : 113-120

HUSTON CD., HAQUE R., PETRI WA. Jr. Molecular-based diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *Expert Rev Mol Med.* 1999 ; **1999** : 1-11

HUSTON CD., HOUPTE ER., MANN BJ., HAHN CS., PETRI WA. Jr. Caspase3-dependent killing of host cells by the parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell Microbiol.* 2000 ; **2** : 617-625

HUSTON CD. Parasite and host contributions to the pathogenesis of amebic colitis. *Trends Parasitol.* 2004 ; **20** : 23-26

IBARRA-PEREZ C. Thoracic complications of amebic abscess of the liver : report of 501 cases. *Chest.* 1981 ; **79** : 672-677

ISTRE GR., KRIESS K., HOPKINS RS. et al. An outbreak of amebiasis spread by colonic irrigation at a chiropractic clinic. *N Engl J Med.* 1982 ; **309** : 339-342

JACKSON TFHG., RAVDIN JI. Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* Infections. *Parasitol Today.* 1996 ; **12** : 406-409

JACKSON TFHG., REDDY S., FINCHAM J., ABD-ALLA MD., WELLES S., RAVDIN JI. A comparison of cross-sectional and longitudinal seroepidemiological assessments of *Entamoeba*-infected populations in South Africa. *Arch Med Res.* 2000 ; **31** Suppl IV : 36-37

JACOBS T., BRUSCHHAUS I., DANDEKAR T., TANNICH E., LEIPPE M. Isolation and molecular characterization of a surface-bound proteinase of *Entamoeba histolytica*. *Mol Microbiol.* 1998 ; **27** : 269-276

JAMMAL MA., COX K., RUEBNER B. Amebiasis presenting as rectal bleeding without diarrhea in childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1985 ; **4** : 294-296

JELINEK K., PEYER G., LOSCHER T., NOTHDURFT HD. Evaluation of an antigen-capture enzyme immunoassay for detection of *Entamoeba histolytica* in stool samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996 ; **15** : 752-755

KAMOUN P., FREJANVILLE JP.

In **KAMOUN P., FREJANVILLE JP.** Guide des examens de laboratoire, 4^{ème} édition, Editions Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 2002 : p191-203, 254, 261, 265, 282-283

KATZENSTEIN D., RICKERSON V., BRAUDE A. New concepts of amebic liver abscess derived from hepatic imaging, serodiagnosis, and hepatic enzymes in 67 consecutive cases in San Diego. *Medicine (Baltimore).* 1982 ; **61** : 237-246

KATZUNG. Pharmacologie fondamentale et clinique, 9^{ème} édition, Editions Piccin, Padoue, 2006

KAUR U., SHARMA AK., SHARMA M., VOHRA H. Distribution of *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin-specific antibody response in an endemic area. Scand J Immunol. 2004 ; **60** : 524-528

KELSALL BL., RAVDIN JI. Degradation of human IgA by *Entamoeba histolytica*. J Infect Dis. 1993 ; **168** : 1319-1322

KELSALL BL., JACKSON TG., GATHIRAM V. et al. Secretory immunoglobulin A antibodies to the galactose-inhibitable adherence protein in the saliva of patients with amebic liver disease. Am J Trop Med Hyg. 1994 ; **51** : 454-459

KNOBLOCH J., MANNWEILER E. Development and persistence of antibodies to *Entamoeba histolytica* in patients with amebic liver abscess : Analysis of 216 cases. Am J Trop Med Hyg. 1983 ; **32** : 727-732

KRAOUL L., ADJIMI H., LAVARDE V., PAYS JF., TOURTE-SCHAEFER C., HENNEQUIN C. Evaluation of a rapid enzyme immunoassay for diagnosis of hepatic amoebiasis. J Clin Microbiol. 1997 ; **35** : 1530-1532

KREIDL P., IMNADZE P., BAIDOSHVILI L., GRECO D. Investigation of an outbreak of amoebiasis in Georgia. Euro Surveill. 1999 ; **4** : 103-104

KRETSCHMER R., RICO G., GIMENEZ JA. A novel anti-inflammatory oligopeptid produced by *Entamoeba histolytica*. Mol Biochem Parasitol. 2001 ; **112** : 201-209

KUBITSCHKE KR., PETERS J., NICKESON D., MUSER DM. Amebiasis presenting as pleuropulmonary disease. West J Med. 1985 ; **142** : 203-207

LABRUYERE E., GUILLEN N. Host tissue invasion by *Entamoeba histolytica* is powered by motility and phagocytosis. Arch Med Res. 2006 ; **37** : 253-258

LAUGHLIN RC., TEMESVARI LA. Cellular and molecular mechanisms that underlie *Entamoeba histolytica* pathogenesis : prospects for intervention. Expert Rev Mol Med. 2005 ; **7** : 1-19

LAUWAET T., OLIVEIRA MJ., CALLEWAERT B. et al. Proteolysis of enteric cell villin by *Entamoeba histolytica* cysteine proteinases. J Biol Chem. 2003 ; **278** : 22650-22656

LEIPPE M. Amoebapores. Parasitol Today. 1997 ; **13** : 178-183

LEIPPE M. Antimicrobial and cytolytic polypeptides of amoeboid protozoa- effector molecules of primitive phagocytes. *Dev Comp Immunol.* 1998 ; **23** : 267-279

LEIPPE M., BRUHN H., HECHT O., GROTZINGER J. Ancient weapons : the three-dimensional structure of amoebapore A. *Trends Parasitol.* 2005 ; **21** : 5-7

LEO M., HAQUE R., KABIR M. et al. Evaluation of *Entamoeba histolytica* antigen and antibody point-of-care tests for the rapid diagnosis of amebiasis. *J Clin Microbiol.* 2006 ; **44** : 4569-4571

LEROY A., DE BRUYNE G., MAREEL M., NOKKAEW C., BAILEY G., NELIS H. Contact-dependent transfer of the galactose-specific lectin of *Entamoeba histolytica* to the lateral surface of enterocytes in culture. *Infect Immun.* 1995 ; **63** : 4253-4260

LI E., BECKER A., STANLEY SL. Use of Chinese hamster ovary cells with altered glycosylation patterns to define the carbohydrate specificity of *Entamoeba histolytica* adhesion. *J. Exp. Med.* 1988 ; **167** : 1725-1730

LI E., BECKER A., STANLEY SL. Chinese hamster ovary cells deficient in N-acetylglucosaminyltransferase I activity are resistant to *Entamoeba histolytica*-mediated cytotoxicity. *Infect. Immun.* 1989 ; **57** : 8-12

LODHI S., SAWARI AR., MUZAMMIL M., SALAM A., SMEGO RA. Features distinguishing amoebic from pyogenic liver abscess : a review of 577 adults cases. *Trop Med Int Health.* 2004 ; **9** : 718-723

LOFTUS B., ANDERSON I., DAVIES R. et al. The genome of the protist parasite *Entamoeba histolytica*. *Nature.* 2005 ; **433** : 865-868

LOHIA A., SAMUELSON J. Molecular cloning of a rho family gene of *Entamoeba histolytica*. *Mol Biochem Parasitol* 1993 ; **58** : 177-180

LONGONGA OTSHUDI A., VERCRUYSSSE A., FORIERS A. Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhoea in Lomela area, Democratic Republic of Congo (DRC). *J Ethnopharmacol.* 2000 ; **71** : 411-423

LOTTER H., ZHANG T., SEYDEL KB., STANLEY SL Jr., TANNICH E. Identification of an epitope on the *Entamoeba histolytica* 170kDa lectin conferring antibody-mediated protection against invasive amebiasis. *J Exp Med.* 1997 ; **185** : 1793-1801

LOTTER H., JACOBS T., GAWORSKI I., TANNICH E. Sexual dimorphism in the control of amebic liver abscess in a mouse model of disease. *Infect Immun.* 2006 (a) ; **74** : 118-124

LOTTER H., TANNICH E. The current status of an amebiasis vaccine. Arch Med Res. 2006 (b) ; **37** : 292-296

MANN BJ. *Entamoeba histolytica* genome project : an update. Trends Parasitol. 2002 (a) ; **18** : 147-148

MANN BJ. Structure and function of the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin. Int Rev Cytol. 2002 (b) : **216** ; 59-80

MARION S., GUILLEN N. Genomic and proteomic approaches highlight phagocytosis of living and apoptotic human cells by the parasite *Entamoeba histolytica*. Int J Parasitol. 2006 ; **36** : 131-139

MARTINEZ-PALOMO A., GONZALEZ-ROBLES A., DE LA TORRE M. Selective agglutination of pathogenic strains of *Entamoeba histolytica* induce by con A. Nat New Biol. 1973 ; **245** : 186-187

MAYHEW KM., DUNDOO M., DUNNE EF., DWINNELL BG., STEPHENS JK. Inguinal lymphadenitis caused by *Entamoeba histolytica* : case report and litterature review. Mayo Clin Proc. 2000 ; **75** : 513-516

McGAW LJ., JAGER AK., VAN STADEN J. Antibacterial, antihelmintic and anti-amoebic activity in South African medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2000 ; **72** : 247-263

Médecine tropicale et des voyages. DIESFELD HJ., KRAUSE G., TEICHMANN D. Editions Maloine, Paris, 2004, p :119-125

MERENS A., RAPP C., FABRE R., CAVALLO JD. Intérêt et limites du diagnostic au laboratoire de l'amibiase en 2004. Med Trop. 2005 ; **65** : 167-175

MEZA I. Extracellular matrix-induced signaling in *Entamoeba histolytica* : its role in invasiveness. Parasitol Today. 2000 ; **16** : 23-28

MEZA I., TALAMAS-ROHANA P., VARGAS MA. The cytoskeleton of *Entamoeba histolytica* : Structure, function, and regulation by signaling pathways. Arch Med Res. 2006 ; **37** : 234-243

MILLER-SIMS VC., PETRI WA Jr. Opportunities and obstacles in developing a vaccine for *Entamoeba histolytica*. Curr Opin Immunol. 2002 ; **14** : 549-552

MIRELMAN D., NUCHAMOWITZ Y., STOLARSKY T. Comparison of use of enzyme-linked immunosorbent assay kits and PCR amplification of rRNA genes for simultaneous detection of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar*. J Clin Microbiol. 1997 ; **35** : 2405-2407

MOODY S., BECKER S., NUCHAMOWITZ Y., MIRELMAN D. Identification of significant variation in the composition of lipophosphoglycan-like molecules of *E. histolytica* and *E. dispar*. J Euk Microbiol. 1998 ; **45** : 9S-12S

MOODY-HAUPT S., PATTERSON JH., MIRELMAN D., McCONVILLE MJ. The major surface antigens of *Entamoeba histolytica* trophozoites are GPI-anchored proteophosphoglycans. J Mol Biol. 2000 ; **297** : 409-420

MOO-PUC RE., MENA-REJON GJ., QUIJANO L., CEDILLO-RIVERA R. Antiprotozoal activity of *Senna racemosa*. J Ethnopharmacol. 2007 ; **112** : 415-416

MORAN P., RAMOS F., RAMIRO M. et al. Infection by human immunodeficiency virus-1 is not a risk factor for amebiasis. Am J Trop Med Hyg. 2005 ; **73** : 296-300

NOZAIS JP. Amibiase

In **NOZAIS J.P., DATRY A., DANIS M.** Traité de parasitologie médicale, Pradel, Paris, 1996 : 249-264

NOZAKI T., KOBAYASHI S., TAKEUCHI T., HAGHIGHI A. Diversity of clinical isolates of *Entamoeba histolytica* in Japan. Arch Med Res. 2006 ; **37** : 277-279

NUNEZ YO., FERNANDEZ MA., TORRES-NUNEZ D. et al. Multiplex polymerase chain reaction amplification and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* DNA from stool samples. Am J Trop Med Hyg. 2001 ; **64** : 293-297

NWAFO DC., EGBUE MO. Intrathoracic manifestations of amoebiasis. Ann R Coll Surg Engl. 1981 ; **63** : 126-128

OKADA M., NOZAKI T. New insights into molecular mechanisms of phagocytosis in *Entamoeba histolytica* by proteomic analysis. Arch Med Res. 2006 ; **37** : 244-252

O'LEARY RK., POSEN J. Amoebiasis of the penis. S Afr Med J. 1984 ; **65** : 113

OROZCO E., LOPEZ C., GOMEZ C. et al. Multidrug resistance in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Parasitol Int. 2002 ; **51** : 353-359

PADILLA-VACA F., ANKRI S., BRACHA R., KOOLE LA., MIRELMAN D. Down regulation of *Entamoeba histolytica* virulence by monoxenic cultivation with *Escherichia coli* O55 is related to a decrease in expression of the light (35-kilodalton) subunit of the Gal/GalNAc lectin. Infect Immun. 1999 ; **67** : 2096-2102

PAUGAM A., TOURTE-SCHAEFER C., ROUSSET JJ. Quels examens prescrire pour le diagnostic de l'amibiase ? Presse Med. 2002 ; **31** : 1482-1483

PAUL J., SRIVASTAVA S., BHATTACHARYA S. Molecular methods for diagnosis of *Entamoeba histolytica* in a clinical setting : an overview. *Exp Parasitol.* 2007 ; **116** : 35-43

PEREZ E., MUNOZ M., ORTEGA A. *Entamoeba histolytica* : involvement of pp125FAK in collagen-induced signal transduction. *Exp Parasitol.* 1996 ; **82** : 164-170

PETRI WA Jr, SINGH U. Diagnosis and management of amebiasis. *Clin Infect Dis.* 1999 ; **29** : 1117-1125

PETRI WA Jr, HAQUE R., LYERLY D., VINES R.R. Estimating the impact of amebiasis on health. *Parasitol Today.* 2000 ; **16** : 320-321

PETRI WA Jr, HAQUE R., MANN B. The bittersweet interface of parasite and host : lectin-carbohydrate interactions during human invasion by the parasite *Entamoeba histolytica*. *Annu Rev Microbiol.* 2002(a) ; **56** : 39-54

PETRI WA. Jr. Pathogenesis of amebiasis. *Curr Opin Microbiol.* 2002 (b) ; **5** : 443-447

PETRI WA Jr. Therapy of intestinal protozoa. *Trends Parasitol.* 2003 ; **19** : 523-526

PILLAI DR., KEYSTONE JS., SHEPPARD DC., MacLEAN JD., MacPHERSON DW., KAIN KC. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* : Epidemiology and comparison of diagnostic methods in a setting of nonendemicity. *Clin Infect Dis.* 1999 ; **29** : 1315-1318

PILLAI DR., KAIN KC. Recent developments in amoebiasis : the Gal/GalNAc lectins of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *Microbes infect.* 2000 ; **2** : 1775-1783

PILLY 2006, *Maladies Infectieuses et Tropicales*, 20^{ème} édition, Collège des Maladies Infectieuses et Tropicales, Edition Vivactis Plus, Paris, 2006 : p : 542-543

QUE X., REED SL. The role of extracellular cysteine proteinases in pathogenesis of *Entamoeba histolytica* invasion. *Parasitol Today.* 1997 ; **13** : 190-194

QUE X., REED SL. Cysteine proteinases and pathogenesis of amoebiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2000 ; **13** : 196-206

QUE X., KIM SH., SAJID M. et al. A surface amebic cysteine proteinase inactivates interleukin-18. *Infect Immun.* 2003 ; **71** : 1274-1280

RAGLAND BD., ASHLEY LS., VAUX DL., PETRI WA. Jr. Target cells killed by trophozoites undergo DNA fragmentation which is not blocked by Bcl-2. *Exp Parasitol.* 1994 ; **79** : 460

- RAVDIN JI., MOREAU F., SULLIVAN JA., PETRI WA Jr., MANDELL GL.** Relationship of free intracellular calcium to the cytolytic activity of *Entamoeba histolytica*. Infect Immun. 1988 ; **56** : 1505-1512
- RAVDIN JI., STANLEY P., MURPHY CF., PETRI WA. Jr.** Characterization of cell surface carbohydrate receptors for *Entamoeba histolytica* adherence lectin. Infect. Immun. 1989 ; **57** : 2179-2186
- RAVDIN JI., JACKSON TF., PETRI WA Jr. et al.** Association of serum antibodies to adherence lectin with invasive amebiasis and asymptomatic infection with pathogenic *Entamoeba histolytica*. J Infect Dis. 1990 ; **162** : 768-772
- RAVDIN JI., ABD-ALLA MD., WELLES SL., REDDY S., JACKSON TF.** Intestinal antilectin immunoglobulin A antibody response and immunity to *Entamoeba dispar* infection following cure of amebic liver abscess. Infect Immun. 2003 ; **71** : 6899-6905
- RAVDIN JI., STAUFFER W.M.** *Entamoeba histolytica* (Amebiasis)
In **MANDEL G.L., BENNETT J.E., DOLIN R.** Principles and practice of Infectious Diseases, volume 2, 6^{ème} édition, Elsevier Inc, 2005 : 3097-3111
- REED SL., KEENE WE., McKERROW JH.** Thiol proteinase expression and pathogenicity of *Entamoeba histolytica*. J Clin Microbiol. 1989 ; **27** : 2772-2777
- REED SL., BOUVIER J., POLLACK AS. et al.** Cloning of a virulence factor of *Entamoeba histolytica* : pathogenic strains possess a unique cysteine proteinase gene. J Clin Investig. 1993 ; **91** : 1532-1540
- RENESTO P., SANSONETTI P., GUILLEN N.** Interaction between *Entamoeba histolytica* and intestinal epithelial cells involves a CD44-cross reactive protein expressed on the parasite surface. Infect Immun. 1997 ; **65** : 4330-4333
- RIAHI Y., SIMAN-TOV R., ANKRI S.** Molecular cloning, expression and characterization of a serine proteinase inhibitor gene from *Entamoeba histolytica*. Mol Biochem Parasitol. 2004 ; **133** : 153-162.
- RICO G., LEANDRO E., ROJAS S., GIMENEZ JA., KRETSCHMER R.** The effect of the monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) produced by *Entamoeba histolytica* upon nitric oxide production by human leukocytes. Arch Med Res. 2000 ; **31** : S90-S91
- RIPERT C.** Epidémiologie des maladies parasitaires. Tome 1 : Protozooses, Editions Médicales Internationales, Cachan, 1996 : 19-50
- RIPERT C.** Epidémiologie des maladies parasitaires. Tome 3 : Opportunistes, Editions Médicales Internationales, Cachan, 2003 : 123-133

ROJAS-DOTOR S., RICO G., PEREZ J. et al. Cytokine expression in CD4(+) cells exposed to the monocyte locomotion inhibitory factor produced by *Entamoeba histolytica*. Parasitol Res. 2006 ; **98** : 493-495

ROSALES-ENCINA JL., CAMPOS-SALAAZAR MS., ROJKIND M. *Entamoeba histolytica* collagen binding proteins. Arch Med Res. 1992 ; **23** : 109-113

ROSSIGNOL JF., AYOUB A., AYERS MS. Treatment of diarrhea caused by *Giardia intestinalis* and *Entamoeba histolytica* or *E. dispar* : a randomized, double-blind, placebo-controlled study of nitazoxanide. J Infect Dis. 2001 ; **184** : 381-384

ROSSIGNOL JF., KABIL SM., EL-GOHARY Y., YOUNIS AM. Nitazoxanide in the treatment of amoebiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2007 ; **101** : 1025-1031

ROY S., KABIR M., MONDAL D., ALI IK., PETRI WA Jr., HAQUE R. Real-time PCR assay for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. J Clin Microbiol. 2005 ; **43** : 2168-2172

SANCHEZ-GUILLEN M., PEREZ-FUENTES R., SALGADO-ROSAS H. et al. Differentiation of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* by PCR and their correlation with humoral and cellular immunity in individuals with clinical variants of amoebiasis. Am J Trop Med Hyg. 2002 ; **66** : 731-737

SANTIAGO A., CARBAJAL ME., BENITEZ-KING G., MEZA I. *Entamoeba histolytica* : PKC transduction pathway activation in trophozoite-fibronectin interaction. Exp Parasitol. 1994 ; **79** : 436-444

SARGEAUNT PG., WILLIAMS JE. Electrophoretic isoenzyme patterns of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba coli*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1978 ; **72** : 164-166

SAWANGJAROEN N., SAWANGJAROEN K., POONPANANG P. Effects of *Piper longum* fruit, *Piper sarmentosum* root and *Quercus infectoria* nut gall on caecal amoebiasis in mice. J Ethnopharmacol. 2004 ; **91** : 357-360

SCHMIDT A., HALL MN. Signaling to the actin cytoskeleton. Annu Rev Cell Dev Biol. 1998 ; **14** : 305-338

SEGUIN R., KELLER K., CHADEE K. *Entamoeba histolytica* stimulates the unstable transcription of c-fos and tumor necrosis factor- α messenger RNA by protein kinase C signal transduction in macrophages. Immunology. 1995 ; **86** : 49-57

SEXTON DJ., KROGSTAD DJ., SPENCER HC. et al. Amebiasis in a mental institution : serologic and epidemiologic studies. Am J Epidemiol. 1974 ; **100** : 414-423

SEYDEL KB., LI E., ZHANG Z., STANLEY SL.Jr. Epithelial cell-initiated inflammation plays a crucial role in early tissue damage in amebic infection of human intestine. *Gastroenterology*. 1998 (a) ; **115** : 1446-1453

SEYDEL KB., STANLEY SL. *Entamoeba histolytica* induces host cell death in amebic liver abscess by a non-Fas-dependent, non-tumor necrosis factor α -dependent pathway of apoptosis. *Infect Immun*. 1998 (b) ; **66** : 2980-2983

SHANDERA WX., BOLLAM P., HASHMEY RH Jr. et al. Hepatic amebiasis among patients in a public teaching hospital. *South Med J*. 1998 ; **91** : 829-837

SHARMA P., SHARMA JD. A review of plants species assessed *in vitro* for antiamebic activity or both antiamebic and antiplasmodial properties. *Phytother Res*. 2001 ; **15** : 1-17

SILVA R., RICO G., ESPINOSA-CANTELLANO M., GIMENEZ JA., KRETSCHMER R. Does *Entamoeba dispar* produce monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) like *Entamoeba histolytica* ? *Arch Med Res*. 2000 ; **31** : S94-S95

SILVA GARCIA R., RICO ROSILLO G., ESPINOSA-CANTELLANO M., CASTANON G., GIMENEZ SCHERER JA., KRETSCHMER R. *Entamoeba dispar* does not produce the monocyte locomotion inhibitory factor (MLIF) produced by *Entamoeba histolytica*. *Parasite Immunol*. 2003 ; **25** : 99-101

SNOW MJ., STANLEY SL. Jr. Recent progress in vaccines for amebiasis. *Arch Med Res*. 2006 ; **37** : 280-287

SOID-RAGGI LG., TORRES-MARQUEZ ME., MEZA I. *Entamoeba histolytica* : identification of functional Gs and Gi proteins as possible signal transduction elements in the interaction of trophozoites with fibronectin. *Exp Parasitol*. 1998 ; **90** : 262-269

STANLEY SL. Jr., HUIZENGA H., LI E. Isolation and partial characterization of a surface glycoconjugate of *Entamoeba histolytica*. *Mol Biochem Parasitol*. 1992 ; **50** : 127-138

STANLEY SL. Jr. Progress towards an amebiasis vaccine. *Parasitol Today*. 1996 ; **12** : 7-14

STANLEY SL. Jr., REED SL. Microbes and microbial toxins : paradigms for microbial-mucosal interactions. VI. *Entamoeba histolytica* : parasite-host interactions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001 (a) ; **280** : G1049-G1054

STANLEY SL. Jr. Pathophysiology of amoebiasis. *Trends Parasitol*. 2001 (b) ; **17** : 280-285

STANLEY SL. Jr. Amoebiasis. *Lancet*. 2003 ; **361** : 1024-1034

STANLEY SL. Jr. The *Entamoeba histolytica* genome : something old, something new, something borrowed and sex too ? Trends Parasitol. 2005 ; **21** : 451-453

STAUFFER W., RAVDIN JI. *Entamoeba histolytica* : an update. Curr Opin Infect Dis. 2003 ; **16** : 479-485

STAUFFER W, ABD-ALLA MD., RAVDIN JI. Prevalence and incidence of *Entamoeba histolytica* infection in South Africa and Egypt. Arch Med Res. 2006 ; **37** : 266-269

TAKAHASHI T., GAMBOA-DOMINGUEZ A., GOMEZ-MENDEZ TJ. et al. Fulminant amebic colitis : analysis of 55 cases. Dis Colon Rectum. 1997 ; **40** : 1362-1367

TALAMAS-ROHANA P., HERNANDEZ VI., ROSALES-ENCINA JL. Ab1 intégrine-like molecule in *Entamoeba histolytica*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1994 ; **88** : 596-599

TALAMAS-ROHANA P., SCHLIE-GUZMAN MA., HERNANDEZ-RAMIREZ VI., ROSALES-ENCINA JL. T-cell suppression and selective *in vivo* activation of TH2 subpopulation by the *Entamoeba histolytica* 220-kilodalton lectin. Infect Immun. 1995 ; **63** : 3953-3958

TANYUKSEL M., PETRI WA Jr. Laboratory diagnosis of amebiasis. Clin Microbiol Rev. 2003 ; **16** : 713-729

TEKWANI BL., MEHLOTRA RK. Molecular basis of defense against oxidative stress in *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. Microbes Infect. 1999 ; **1** : 385-394

THACKER SB., SIMPSON S., GORDON TJ. et al. Parasitic disease control in a residential facility for the mentally retarded. Am J Public Health. 1979 ; **69** : 1279-1281

THOMPSON JE. Jr., FORLENZA S., VERMA R. Amebic liver abscess : a therapeutic approach. Rev Infect Dis. 1985 ; **7** : 171-179

TITUS MA. Unconventional myosins : newfrontiers in actin-based motors. Trends Cell Biol. 1997 ; **7** : 119-123

TONA L., KAMBU K., NGIMBI N., CIMANGA K., VLIETINCK AJ. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. J Ethnopharmacol. 1998 ; **61** : 57-65

Traité de chimie thérapeutique : Principaux antifongiques et antiparasitaires, Tome 2 : Antiparasitaires, Association Française des Enseignants de Chimie Thérapeutique (AFECT), 2000

- TRAN VQ., HERDMAN DS., TORIAN BE., REED SL.** The neutral cysteine proteinase of *Entamoeba histolytica* degrades IgG and prevents its binding. *J Infect Dis.* 1998 ; **177** : 508-511
- TSE SK., CHADEE K.** Biochemical characterisation of rat colonic mucins secreted in response to *Entamoeba histolytica*. *Infect Immun.* 1992 ; **60** : 1603-1612
- UPCROFT P., UPCROFT JA.** Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clin Microbiol Rev.* 2001 ; **14** : 150-164
- UTRERA-BARILLAS D., VELAZQUEZ JR., ENCISO A. et al.** An anti-inflammatory oligopeptide produced by *Entamoeba histolytica* down-regulates the expression of pro-inflammatory chemokines. *Parasite Immunol.* 2003 ; **25** : 475-482
- UZ-ZAMAN T., HABIBULLAH CM., SALEEM Y.** Decreased adenosine deaminase activity in peripheral lymphocytes of patients suffering from amebic liver abscess. *Arch Med Res.* 1993 ; **24** : 203-204
- VALENZUELA O., RAMOS F., MORAN P. et al.** Persistence of secretory antiamebic antibodies in patients with past invasive intestinal or hepatic amoebiasis. *Parasitol Res.* 2001 ; **87** : 849-852
- VALLANCE BA., COLLINS SM.** The effect of nematode infection upon intestinal smooth muscle function. *Parasite Immunol.* 1998 ; **20** : 249-253
- VAN ALLAN RJ., KATZ MD., JOHNSON MB., LAINE LA., LIU Y., RALLS PW.** Uncomplicated amebic liver abscess : prospective evaluation of percutaneous therapeutic aspiration. *Radiology.* 1992 ; **183** : 827-830
- VAN DELLEN K., GHOSH SK., ROBBINS PW., LOFTUS B., SAMUELSON J.** *Entamoeba histolytica* lectins contain unique 6-Cys or 8-Cys chitin-binding domains. *Infect Immun.* 2002 ; **70** : 3259-3263
- VAN HAL SJ., STARK DJ., FOTEDAR R., MARRIOTT D., ELLIS JT., HARKNESS JL.** Amoebiasis : current status in Australia. *Med J Aust.* 2007 ; **186** : 412-416
- VARIYAM EP., GOGATE P., EATON K.** Animal model of noninvasive *Entamoeba histolytica* infection. *Arch Med Res.* 2000 ; **31** : S245-S246
- VARIYAM EP.** Luminal host-defense mechanisms against invasive amebiasis. *Trends Parasitol.* 2007 ; **23** : 108-111
- VAZQUEZ-PRADO J., MEZA I.** Fibronectin receptor in *Entamoeba histolytica* : purification and association with the cytoskeleton. *Arch Med Res.* 1992 ; **23** : 125-128

VAZQUEZ J., FRANCO E., REYES G., MEZA I. Characterization of adhesion plates induced by the interaction of *Entamoeba histolytica* trophozoites with fibronectin. Cell Motil Cytoskeleton. 1995 ; **31** : 37-45

VENTURA-JUAREZ J., JARILLO-LUNA RA., FUENTES-AGUILAR E. et al. Human amoebic abscess: *in situ* interactions between trophozoites, macrophages, neutrophils and T cells. Parasite Immunol. 2003 ; **25** : 503-511

VERWEIJ JJ., BLOTKAMP J., BRIENEN EAT., AGUIRRE A., POLDERMAN AM. Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* cysts using Polymerase Chain Reaction on DNA isolated from faeces with spin columns. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000 ; **19** : 358-361

VERWEIJ J., OOSTVOGEL F., BRIENEN EAT., NANG-BEIFUBAH A., ZIEM J., POLDERMAN A. Prevalence of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in northern Ghana. Trop Med Int Health. 2003 ; **8** : 1153-1156

VIDAL 2007, 83^{ème} édition, Editions Vidal, Issy-les-Moulineaux, 2007

VISSER LG., VERWEIJ JJ., VAN ESBROECK M., EDELING WM., CLERINX J., POLDERMAN AM. Diagnostic methods for differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in carriers : performance and clinical implications in a non-endemic setting. Int J Med Microbiol. 2006 ; **296** : 397-403

VOIGT H., GUILLEN N. New insights into the role of the cytoskeleton in phagocytosis of *Entamoeba histolytica*. Cell Microbiol. 1999 ; **1** : 195-203

WALKER EL., SELLARDS AW. Experimental amoebic dysentery. Philippine Journal of Science. B. Tropical Medicine. 1913 ; **8** : 253-331

WALSH JA. Prevalence of *Entamoeba histolytica* infection
In **RAVDIN JI.** Amebiasis : Human Infection by *Entamoeba histolytica*, Churchill Livingstone, New-York, 1988 : 93-105

WARRICK HM., SPUDICH JA. Myosin structure and function in cell motility. Am Rev Cell Biol. 1987 ; **3** : 379-421

WEINKE T., FRIEDRICH-JAENICKE B., HOPP P., JANITSHKE K. Prevalence and clinical importance of *Entamoeba histolytica* in two high-risk groups : travelers returning from the tropics and male homosexuals. J Infect Dis. 1990 ; **161** : 1029-1031

WEINKE T., GROBUSCH MP., GUTHOFF W. Amebic liver abscess-rate need for percutaneous treatment modalities. Eur J Med Res. 2002 ; **7** : 25-29

WERY *Entamoeba histolytica*. L'amibiase
In **WERY.** Protozoologie médicale, De Boeck Université, Bruxelles, 1995 : 41-57

WINTERBOURN CC., STERN A. Human red cells scavenge extracellular hydrogen peroxide and inhibit formation of hypochlorous acid and hydroxyl radical. *J Clin Invest.* 1987 ; **80** : 1486-1491

WRUBLE LD., DUCKWORTH JK., DUKE DD. ROTHSCHILD JA. Toxic dilatation of the colon in a case of amebiasis. *N Engl J Med.* 1966 ; **275** : 926-928

YAN L., STANLEY SL. Blockade of caspases inhibits amebic liver abscess formation in a mouse model of disease. *Infect Immun.* 2001 ; **69** : 7911-7914

YANG W., LI E., KAIRONG T., STANLEY SL. Jr. *Entamoeba histolytica* has an alcohol dehydrogenase homologous to the multifunctional adhE gene product of *Escherichia coli*. *Mol Biochem Parasitol.* 1994 ; **64** : 253-260

ZAMAN S., KHOO J., NG SW. et al. Direct amplification of *Entamoeba histolytica* DNA from amoebic liver abscess pus using polymerase chain reaction. *Parasitol Res.* 2000 ; **86** : 724-728

ZAMAN V., MANZOOR SM., ZAKI M., AZIZ N., GILANI AH. The presence of anti-amoebic constituents in *Psyllium husk*. *Phytother Res.* 2002 ; **16** : 78-79

ZAMBRANO-VILLA S., ROSALES-BORJAS D., CARRERO JC., ORTIZ-ORTIZ L. How protozoan parasites evade the immune response. *Trends Parasitol.* 2002 ; **18** : 272-278

ZHANG Z., WANG L., SEYDEL KB., LI E. et al. *Entamoeba histolytica* cysteine proteinases with interleukin-1 beta converting enzyme (ICE) activity cause intestinal inflammation and tissue damage in amoebiasis. *Mol Microbiol.* 2000 ; **37** : 542-548

ZENGZHU G., BRACHA R., NUCHAMOWITZ Y., CHENG-I W., MIRELMAN D. Analysis by Enzyme-linked immunosorbent assay and PCR of human liver abscess aspirates from patients in China for *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol.* 1999 ; **37** : 3034-3036

SITES INTERNET

<http://medecinetropicale.free.fr/cours/amibiase.htm> consulté le 31/05/2007

<http://www.theriaque.org/>, consulté le 01/12/2007

<http://www.medecine-et-sante.com/voyages/eauxetvoyages.html> consulté le 04/03/2008

ANOFEL : Association des enseignants et des praticiens hospitaliers titulaires de parasitologie et mycologie médicales. *Poly national Parasitologie* 2006 : p : 1-6

Committee on Systematics and Evolution of the Society of Protozoologists. A newly revised classification of the protozoa. J Protozool. 1980 ; **27** : 37-58

La qualité de l'eau de boisson du voyageur. La Revue Prescrire. 2000 ; tome 20, **206** : 363-369

Summary of notifiable diseases, United states. MMWR Morb Mortal wkly Rep. 1994 ; **42** :1-73

1996. WHO, Scientific working group. Resistance to antimicrobial agents. Bull World Health Organ. **71** : 335-336

1997. WHO/PAHO/UNESCO report. A consultation with experts on amoebiasis. Mexico city, Mexico 28-29 January, 1997. Epidemiol Bull **18** :13-14





Serment des Apothicaires



Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Résumé

La différenciation d'*Entamoeba histolytica* et d'*Entamoeba dispar* au début des années 1990 et la redéfinition en 1997 par l'OMS, 60 ans après les suggestions d'E. Brumpt, de l'amibiase infection par *E. histolytica* uniquement, a modifié considérablement la prévalence de cette parasitose. Néanmoins, cette maladie reste un important problème de santé publique dans les pays en développement.

Après avoir défini les caractéristiques d'*E. histolytica* et les diverses manifestations cliniques de l'amibiase, nous nous sommes intéressés aux différents facteurs parasitaires et liés à l'hôte pouvant intervenir dans la pathogenèse, encore mal connue, de cette maladie.

Le diagnostic de l'amibiase, dépendant à l'origine, du seul examen microscopique des selles, a connu de nombreuses évolutions incluant des méthodes biochimiques et génomiques. Ceci a permis d'établir de nouvelles démarches diagnostiques permettant de différencier les deux espèces et de proposer un traitement adapté.

Le pharmacien se doit de souligner que les règles hygiéno-diététiques restent, en l'absence de vaccin, la seule prévention contre l'amibiase. Il a donc un devoir d'information tant au niveau du rappel de ces règles que sur la bonne utilisation des produits de désinfection de l'eau.

Mot-clés : *Entamoeba histolytica* – Epidémiologie – Facteurs de virulence – Diagnostic

BONNET Emilie
122, ave Georges Clémenceau
38560 JARRIE