



La bilharziose en France : état des lieux et perspectives de vaccin

Caroline Bouchut

► To cite this version:

Caroline Bouchut. La bilharziose en France : état des lieux et perspectives de vaccin. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-02938779

HAL Id: dumas-02938779

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02938779>

Submitted on 15 Sep 2020

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.

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2019-2020

Thèse n°79

THESE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par BOUCHUT Caroline

Né(e) le 19/01/1995 à Nantes

Le 15/07/2020

La Bilharziose en France : État des lieux et perspectives de vaccin

Sous la direction de : Loïc
RIVIERE

Membres du jury :

M. RIVIERE, Loïc
Mme. PASSGNE, Isabelle
Mme. LEFEVRE, Florence

Président
Rapporteur
Examineur

Titre : La Bilharziose en France : état des lieux et perspectives de vaccin

Résumé :

La bilharziose, 2^{ème} pathologie parasitaire au monde, touche majoritairement des pays tropicaux cependant des cas autochtones persistent depuis presque 5 ans. Dans cette thèse, après quelques notions sur le parasite incriminé, nous dresserons un état des lieux de la situation en France. En Corse la persistance des cas a entraîné des recherches qui révèlent que certains schistosomes en cause seraient des hybrides. Nous nous pencherons alors sur les caractéristiques de ces espèces de schistosomes émergents. Pour finir nous évoquerons les moyens de préventions et traitements possibles à ce jour ainsi que d'éventuels candidats vaccins.

Mots clés :

1. Bilharziose
 2. Corse
 3. Mollusque
 4. Vaccin
 5. Bilhvax
-

Title : Bilharzia in France: inventory and perspectives of vaccine

Abstract :

Bilharziasis, the 2nd parasitic pathology in the world, mainly affects tropical countries, however, cases have persisted for almost 5 years in France. In this thesis, after a few notions about the parasite in question, we will draw up an inventory of the situation in France. In Corsica, the persistence of cases has led to research which reveals that some of the schistosomes in question are hybrids. We will then look at the characteristics of these emerging schistosome species. Finally we will discuss the means of prevention and treatment nowadays as well as possible vaccine candidates.

Keywords :

REMERCIEMENTS

Aux membres de mon jury,

À mon directeur de thèse, Mr. Rivière,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse mais également pour votre disponibilité, votre réactivité, vos conseils et votre maîtrise des visioconférences qui m'ont guidés tout au long de ce travail. Nous avons eu le privilège d'assister à votre enseignement pendant tout notre cursus de pharmacie et vous m'avez fait découvrir la parasitologie, cette matière passionnante. Cette thèse est un témoignage de ma reconnaissance.

À mon professeur, Madame Passagne, responsable du parcours officine,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse et d'accorder du temps à mon travail.

À Madame Florence Lefevre, Docteur en pharmacie ,

Merci d'avoir accepté d'être membre du jury de ma thèse, d'avoir consacré du temps à sa lecture et de m'avoir prodigué tous ces petits conseils.

À ma famille et mon entourage,

À mes parents, qu'ils trouvent dans cette thèse, l'aboutissement de tous leurs efforts ainsi que le reflet de ma gratitude.

Maman, la première à me pousser en avant, à toujours me soutenir et croire en moi. Merci pour ta participation active, avec ta touche artistique à ce travail.

Papa, merci de m'avoir donné toutes les chances pour réussir, ton éducation, tes conseils et encouragements qui m'ont permis d'accomplir tout ça.

À mes sœurs, Justine et Diane, qui sont un soutien inébranlable au quotidien. Merci de votre amour inconditionnel fraternel.

À mes grands-parents, merci pour votre confiance, votre intérêt pour mes études, votre soutien affectif immuable et tout ce que vous avez toujours fait pour moi.

À Antoine, mon binôme en pharmacie et à la vie, merci de ton soutien, ta patience et ton amour.

À toute ma belle-famille, ma petite Alice, merci pour votre accueil chaleureux, vos encouragements et votre soutien depuis maintenant toutes ces années.

À tous mes plus proches amis, merci pour tous ces moments passés ensemble depuis des années, les soirées, les cours, la BU, nos vacances, toutes nos discussions et fous rires... tous ces souvenirs et toutes les petites choses qui font de vous des amis uniques à mes yeux.

À Benjamin,
un ange qui repose en paix.

SOMMAIRE

SOMMAIRE	5
LISTE DES ABREVIATIONS	7
INTRODUCTION	8
PARTIE I	10
CARACTERISTIQUES DE L'AGENT PATHOGENE.....	10
I. AGENT PATHOGENE	10
A. <i>Les différentes espèces pathogènes pour l'homme</i>	13
B. <i>Cycle évolutif</i>	13
C. <i>Morphologie : vers /œufs / formes intermédiaires</i>	15
D. <i>Hôtes intermédiaires</i>	23
II. ÉPIDEMIOLOGIE	25
III. PHYSIOPATHOLOGIE	27
A. <i>Phase de contamination : 15 à 30 min après le bain infestant</i>	27
B. <i>Phase aiguë d'invasion dite toxémique : jusqu'à 2-3 mois</i>	28
C. <i>Phase d'état dite chronique :</i>	28
D. <i>Co-infections :</i>	30
IV. DIAGNOSTIC	30
A. <i>Diagnostic d'orientation</i>	30
B. <i>Diagnostic de certitude</i>	31
C. <i>Bilan d'extension</i>	34
D. <i>Diagnostic différentiel</i>	38
V. TRAITEMENTS ET PREVENTION	38
A. <i>Traitement médicamenteux</i>	38
B. <i>Surveillance post-thérapeutique :</i>	40
C. <i>Prévention :</i>	40
PARTIE 2	42
PREMIERS CAS AUTOCHTONES EN FRANCE EN CORSE DU SUD.....	42
I. SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE	42
A. <i>Chronologie</i>	42
B. <i>Situation environnementale</i>	43
II. PRISE EN CHARGE DES PATIENTS	44
III. HYBRIDE CORSE S.BOVIS/HAEMATOBIMUM	47
IV. TRAITS D'HISTOIRE DE VIE	50
A. <i>Les œufs hybrides</i>	50
B. <i>Pouvoir infectant des cercaires et prolificité du parasite adulte</i>	53
C. <i>Compatibilité de l'hybride et de l'hôte intermédiaire</i>	55
V. CONSEQUENCES DE L'HYBRIDATION	56
VI. RESERVOIR ANIMAL	57
VII. HYPOTHESES EVOLUTION	58
PARTIE 3 :	61
MOYENS DE LUTTE ET PERSPECTIVES DE TRAITEMENT	61
I. LUTTE CONTRE LE VECTEUR : LE MOLLUSQUE	61
A. <i>Le mollusque</i>	61
a. Répartition géographique	62
b. Anatomie	63
c. Mode de reproduction	67
B. <i>Mesures prévention mollusques</i>	68
a. Contrôle biologique :	68

b.	Contrôle environnemental :	69
c.	Contrôle chimique :	69
C.	<i>Plantes molluscicides</i>	70
a.	Historique	70
b.	Sélection de la plante	71
c.	Ambrosia maritima	71
II.	PERSPECTIVE DE VACCIN	74
A.	<i>Généralités</i>	74
B.	<i>Mise en place des essais cliniques de Bilhvax</i>	75
C.	<i>Étapes d'élaboration du vaccin</i>	75
D.	<i>Essai de phase III</i>	77
a.	Inclusion des participants	78
b.	Protocole vaccinal	79
c.	Résultats	80
E.	<i>Conclusion</i>	83
F.	<i>Autres perspectives de vaccin</i>	85
	CONCLUSION	86
	SERMENT DE GALIEN	88
	BIBLIOGRAPHIE	89

Liste des abréviations

ADNr : Acide désoxyribonucléique ribosomique
CDC : centers for disease control and prevention
COPT : Circum Ovale Precipiting Test
ELISA Enzyme-linked immunosorbent Assay
EPS : examen parasitologique des selles
GECU : Groupes d'expertise collective d'urgence
HA : hemmaglutinisation
IF : immunofluorescence
IFI : immunofluorescence indirecte
INSERM : institut national de la santé et de la recherche médicale
INRA : institut national de la recherche agronomique
IRM : Imagerie par résonnance magnétique
OMS : Organisation mondiale de la santé
ONG : Organisation non gouvernementale
PCR : réaction de polymérisation en chaîne
RAST : Radio Allergo Sorbent Test
RIA : Radio Immuno Assay
S. : Schistosoma
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
WA : western blot

Introduction

Modalités de découvertes et historique de la bilharziose

La bilharziose ou schistosomose est une pathologie causée par un parasite, dénommé schistosome, qui a traversé les âges. Actuellement, elle est considérée comme la seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme. Elle touche des millions de personnes à travers le monde, en particulier dans les zones tropicales et tue des milliers de gens chaque année. Les zones les plus atteintes par cette pathologie sont des pays émergents : Afrique, Chine, Inde, Amérique du Sud, dont la majorité de la population vit de façon précaire avec un accès à l'eau potable et aux soins très limités. En effet, la schistosomose n'est pas une maladie immédiatement symptomatique et peut rester parfois inaperçue. Cependant, les complications de l'infection sont responsables de la gravité de la maladie et du risque potentiellement mortel.

On pourrait facilement s'imaginer que la bilharziose ne concerne pas les pays dits « développés » aux climats tempérés mais cette pathologie, d'origine tropicale, apparaît sporadiquement dans les pays d'Europe tels l'Italie ou encore l'Espagne et plus récemment le sud de la France. Cette montée en latitude du parasite interpelle et va peut-être permettre de se ré intéresser à une pathologie encore négligée.

Mise au second plan de nos jours, par rapport à d'autres maladies infectieuses comme le paludisme ou le VIH cette maladie est néanmoins connue depuis des siècles. On la trouve en effet, mentionnée très tôt dans l'histoire.

Les premières descriptions de la pathologie apparaissent aux environs 1550-1600 avant J-C dans les papyrus d'Ebers, découverts à Louxor en Égypte, qui est un des plus vieux traités médicaux. On y trouve toute une liste de pathologies et de remèdes décrits, dont la description d'hématuries (un des signes cliniques de la Bilharziose urinaire) présentes en Égypte à l'époque. On peut supposer que ces symptômes urinaires aspécifiques décrits s'apparentent à d'autres pathologies. Cependant, en 1910, un médecin bactériologiste du nom de Marc Armand Ruffer, fait la découverte d'œufs de Schistosomes dans les voies urinaires de momies égyptiennes, ce qui confirme la présence de la maladie à cette époque. La méthode ELISA, technique immunologique, en apporte la preuve en 1992 par la présence d'antigène bilharzien circulant chez 45 % des momies testées. [1] [2]

C'est seulement en 1851 que la découverte de l'espèce à proprement parler a lieu par le parasitologue Theodore Bilharz. Au Caire, lors de l'autopsie d'un égyptien, il trouve de petits vers blancs et dénomme ce trématode *Distomum haematobium*. Son nom sera donné à la pathologie « bilharzia » par Johann Friedrich Meckel en 1856, anatomiste allemand. [3]

En 1858, Weiland parlera de *Schistosoma* croyant que le trématode est fendu en deux et applique des règles de la commission internationale de nomenclature zoologique. Cette décision erronée ne sera jamais corrigée.

Il faudra attendre 1902, que Patrick Manson découvre des œufs avec un éperon latéral et soulève l'hypothèse d'une espèce différente de *Schistosoma*, l'une à manifestations urinaires et l'autre digestive.

Enfin, la différenciation et description des autres espèces se fait quelques années plus tard : *Schistosoma Japonicum* est découvert au Japon par Fujiro Katsurada en 1904, *Schistosoma intercalatum*, au Congo en 1934 par Fisher, et *Schistosoma mekongi* sera isolé au Laos en 1978. [4]

Malgré sa découverte précoce et son existence depuis des décennies, la Bilharziose reste une pathologie dont le traitement n'a pas évolué depuis des années et les plans de lutte n'ont pas portés leurs fruits. Ce parasite semble s'adapter à son hôte et son environnement à travers les époques. Son apparition relativement récente en Europe alarme quant à ses facultés d'acclimatation et une possible dissémination à des horizons plus larges.

Dans cette thèse bibliographique on se penchera sur les cas autochtones qui persistent depuis presque 5 ans ainsi que les moyens de préventions et traitements possibles en étudiant les caractéristiques de l'hôte intermédiaire du parasite, un mollusque gastéropode, et son environnement.

Apparaît également une réflexion sur des changements globaux et notamment climatiques de plus en plus flagrants qui permettent à des espèces tropicales de s'adapter à nos climats et persister dans des environnements différents. Ces dernières années une pensée plus respectueuse de l'environnement et des ressources naturelles semble émerger et ces modifications flagrantes de l'écosystème sensibilisent sur l'impact écologique de l'homme.

PARTIE I

Caractéristiques de l'agent pathogène

L'agent pathogène de la bilharziose est complexe car il existe de nombreuses espèces infectieuses différentes et plusieurs stades évolutifs au sein d'une même espèce. Nous allons voir les caractéristiques morphologiques des schistosomes et la traduction clinique de l'infection à travers cette première partie.

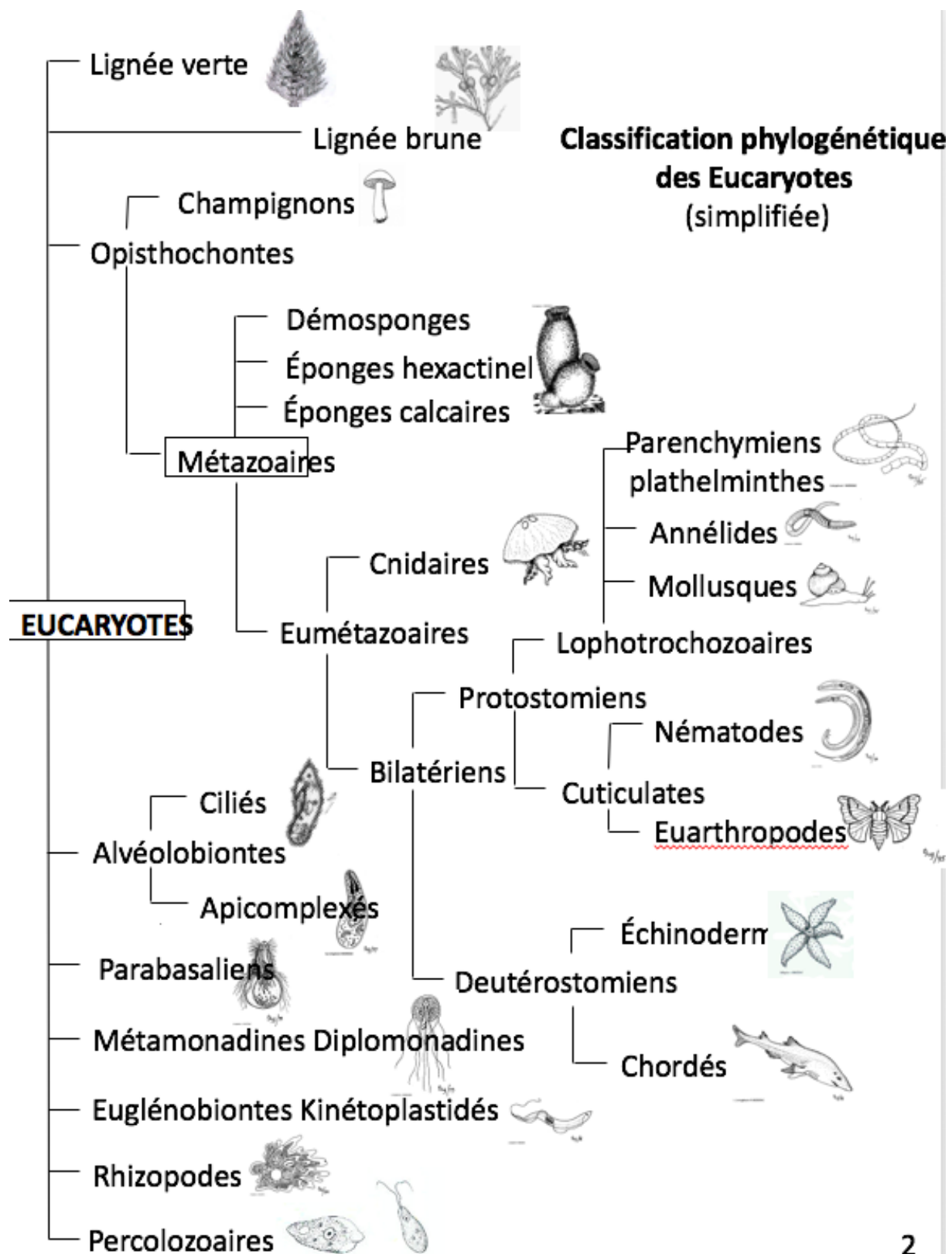
I. Agent pathogène

La Bilharziose, ou schistosomiase, est une parasitose endémique due à un vers. Pour introduire notre schistosome, il faut reprendre quelques rappels de classification.

Les vers en parasitologie, appelés helminthes, sont des organismes eucaryotes pluricellulaires classés dans la grande catégorie des métazoaires. Ils appartiennent au plus grand clade des métazoaires : les bilatériens ce qui signifie qu'ils ont un côté gauche et un côté droit, par comparaison aux éponges ou méduses (cnidaires). Les bilatériens comportent deux grands groupes, dont les protostomiens, où l'on retrouve nos helminthes. Cette classification est représentée, dans la figure N°1, sous la forme d'un arbre phylogénétique.

Les Helminthes sont divisés en fonction de leur morphologie et structure en 2 grandes catégories : les Plathelminthes et les Némathelminthes.[5]

Les plathelminthes ou « vers plats » sont divisés eux même en deux grands groupes : Trématodes et Cestodes. Les Nématodes, quant à eux sont dénommés « vers ronds ».



2

Figure N°1 : Arbre phylogénétique simplifié des eucaryotes. [6]

Le schistosome est donc un vers plat trématode. Cependant il y a plusieurs espèces différentes responsables de la pathologie qui appartiennent toutes à un même genre : *Schistosoma*. Comme tout parasite, le schistosome vit au dépend d'un organisme hôte qui peut être divers et varié.

Parmi les helminthes, le genre *Schistosoma* comporte à lui seul plus de 20 espèces différentes (figure n°2) qui vont pouvoir infecter l'homme ou l'animal, avec des répartitions géographiques diverses que l'on va voir par la suite.

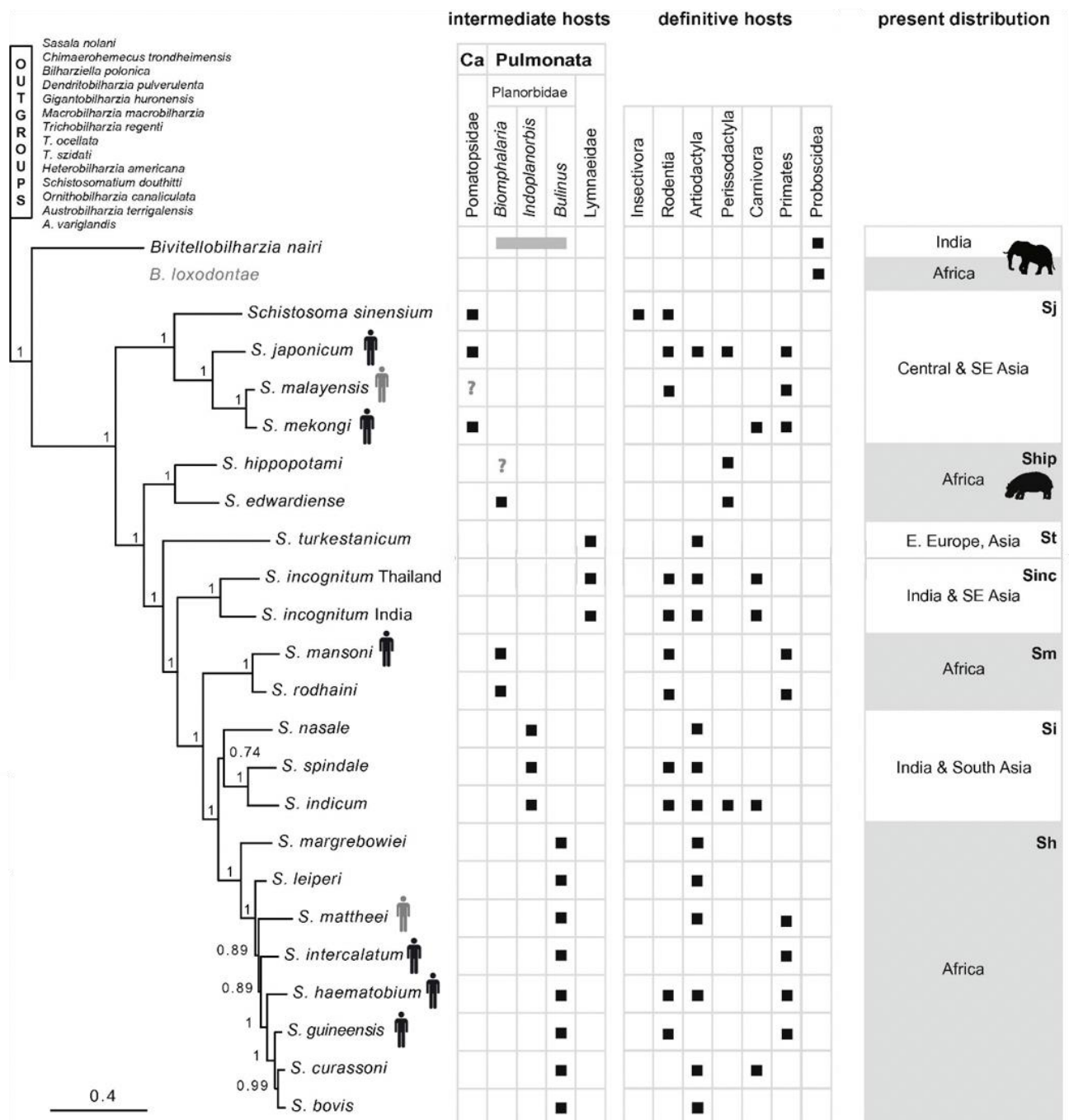


Figure N° 2 : Phylogénie des Schistosomes[7]

A. Les différentes espèces pathogènes pour l'homme

Parmi le grand nombre de *Schistosoma*, il existe 4 espèces pathogènes principales pour l'homme. Chacune aura des répartitions géographiques différentes ainsi qu'une traduction clinique propre.

- *Schistosoma mansoni*, espèce très représentée en Afrique et aux Antilles est responsable d'une bilharziose **intestinale**.
- *Schistosoma haematobium*, se situe principalement au Moyen-Orient : Afrique, Inde et péninsule arabique. Il est responsable d'une bilharziose urogénitale.
- *Schistosoma intercalatum*, est localisée majoritairement en Afrique centrale et cliniquement se dresse un tableau de bilharziose intestinale.
- *Schistosoma japonicum*, est une espèce qui va se retrouver en Asie et particulièrement en Chine, au Japon et en Thaïlande. Cette bilharziose sera d'ordre artério-veineuse.[8][9]

Cependant, parmi ces parasites, certains sont strictement humains (*S. haematobium*), d'autres sont retrouvés chez plusieurs mammifères comme *S. mansoni* (primate, bétail, rongeurs).

Outre ces schistosomes infectant l'homme, les autres espèces sont plutôt des zoonoses se transmettant entre mammifères et l'homme. Il existe donc d'autres espèces, pathogènes occasionnelles pour l'homme, car principalement affectant l'animal. On retrouvera de façon non exhaustive :

- *Schistosoma mekongi*, située en Chine, au Japon et en Thaïlande. Si l'homme est infecté la traduction clinique sera une schistosomose artério-veineuse. Cette espèce possède un réservoir animal comme les chiens et les porcs.
- *Schistosoma bovis*, présente en Afrique du Nord, Europe méditerranéenne et Moyen-Orient est une espèce qui va se retrouver principalement chez les ruminants et rongeurs.
- *Schistosoma matthei*, en Afrique du Sud infecte majoritairement les bovidés.[8][9]

Malgré ces différences, tous les schistosomes suivent le même schéma évolutif avec un cycle de vie singulier.

B. Cycle évolutif

Chaque espèce a un cycle parasitaire très similaire qui va avoir lieu en deux temps distincts :

- 1- Le cycle asexué chez animal : l'hôte intermédiaire (Planorbe, Bulin....)
- 2- Le cycle sexué chez l'homme : hôte définitif.

On va retrouver figure N°3 le cycle parasitaire des Schistosomes que l'on va détailler spécifiquement par la suite.

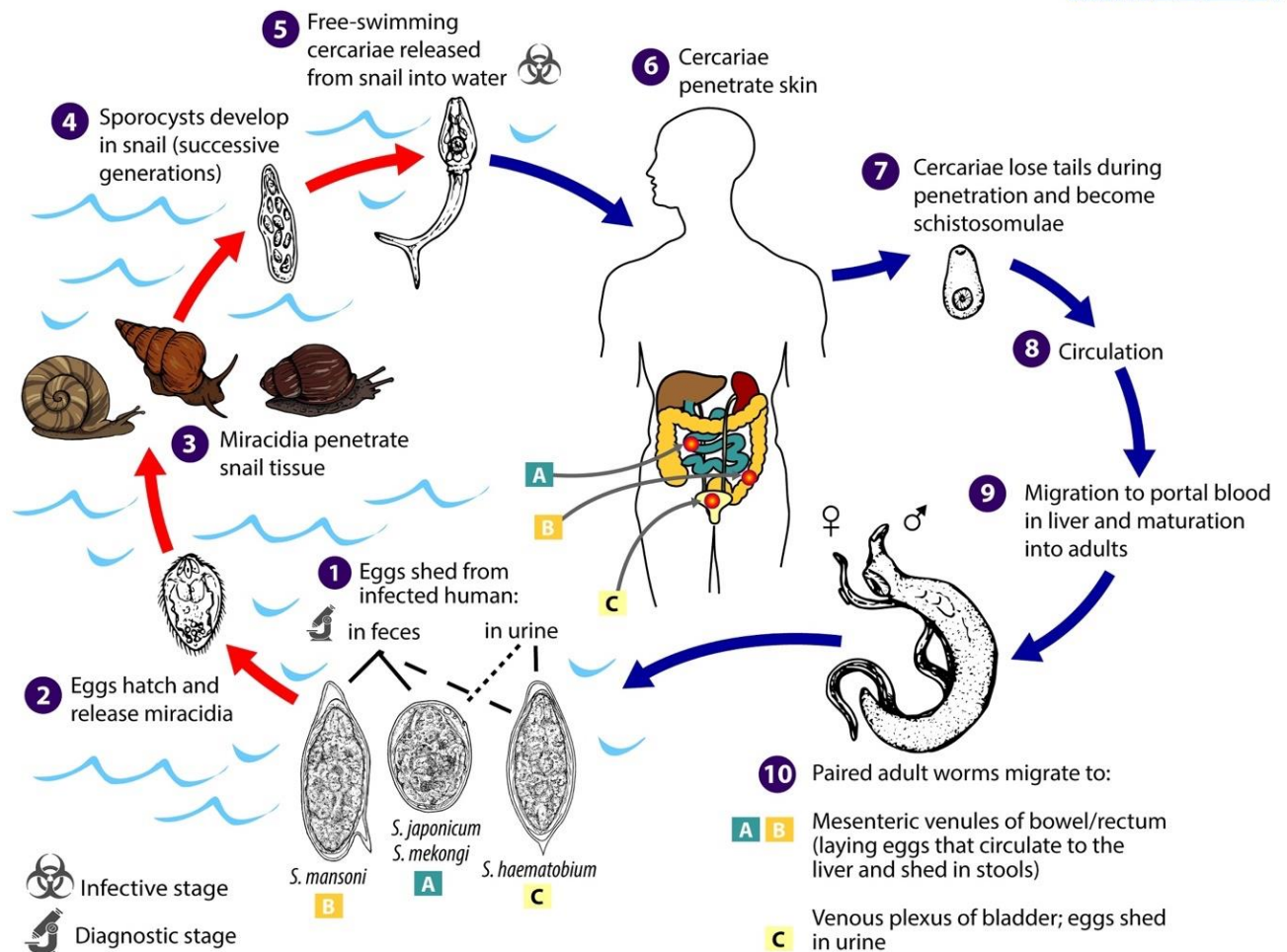


Figure N°3 : Cycle parasitaire de la shistosomiase (CDC)

1 – Le cycle asexué :

Quand les conditions en eaux douces sont favorables (pH, températures), les œufs vont éclore et donner un embryon cilié appelé « miracidium » qui va nager pour rejoindre un mollusque d'eau douce, l'hôte intermédiaire. Une fois dans le mollusque, le miracidium évolue et mature pendant environ 2 mois. Cette multiplication asexuée donne des sporocystes qui après maturité donnent des larves cercaires qui vont être relarguées.

Un mollusque infesté par un seul miracidium peut relâcher des milliers de larves furcocercaires par jour et ceci pendant plusieurs mois. Ces derniers restent viables 72 heures voire plus dans l'eau.

Ces larves pourront alors pénétrer l'hôte définitif par voie transcutanée (5 min de contact suffisent) au cours d'un bain en eau douce ou stagnante. Leur durée de vie n'est que de

quelques heures mais c'est par chimiotactisme qu'elles pénètrent dans les téguments de leur hôte.

2 – Le cycle sexué :

Les larves vont perdre leurs extrémités terminales et deviennent alors des schistosomules qui vont quitter le derme et cheminer le long de voies lymphatiques vers le cœur droit puis migrent dans le tractus circulatoire vers le système porte hépatique. Les schistosomes deviennent alors des adultes sexués. Ils s'apparient : la femelle va se glisser dans le canal gynécophore du mâle. Le couple migrera alors à contre-courant vers leurs milieux définitifs de ponte : les plexus mésentériques ou vésicaux suivant les espèces.

Une fois la fécondation réalisée, les adultes se séparent : les femelles viennent se loger dans des endroits particuliers du tractus veineux et pondent des œufs. La femelle pond des œufs en continu (de 300 œufs par jours pour *S. mansoni* à 400 pour *S. haematobium*) pendant toute la durée de vie du couple qui varie entre 3 et 5 ans en moyenne mais peut atteindre 25 à 30 ans suivant les espèces.

Les œufs traversent les vaisseaux, se retrouvent dans les selles ou les urines et seront ensuite excrétés avec celles-ci respectivement pour *S. mansoni* et *S. haematobium*. Les œufs se retrouvent alors dans l'environnement, dans l'eau douce. Cependant une partie des œufs produits reste piégée dans les tissus et sera responsable de la maladie. [5][9][8]

C. Morphologie : vers /œufs / formes intermédiaires

- Les vers adultes :

Les vers adultes sont des parasites gonochoriques ce qui signifie que l'on retrouve des vers mâles et des vers femelles bien distincts.

Morphologiquement, ce sont des vers plats. Cette caractéristique est due au fait qu'ils résident au sein des vaisseaux sanguins et le fait d'être plat leur permet de s'adapter et de se déposer à l'intérieur.

Ces vers adultes sont des individus macroscopiques, visibles à l'œil nu, qui mesurent 1 à 2 cm. Cependant, le corps des mâles (10-15mm) est plus gros et court que celui des femelles (15-30mm), long et fin, car celles-ci vont venir se loger dans le canal gynécophore des mâles. Les vers adultes possèdent deux ventouses ; présentes dans les deux sexes, elles sont plus développées chez le mâle. [5]

On observe une ventouse ventrale, acétabulum, qui est uniquement un organe de fixation à l'endothélium vasculaire et une ventouse orale qui assure la nutrition. Cette dernière s'ouvre sur un système digestif, dans l'œsophage, qui se dédouble ensuite en branches intestinales pour se ressouder en un caecum unique à la partie terminale du corps.

On observe également des différences physiques au niveau du tégument. La cuticule de la femelle est simple alors que celle du mâle est recouverte de petites spicules.[5]



Figure N°4 : coupe vers adulte au microscope électronique [10]

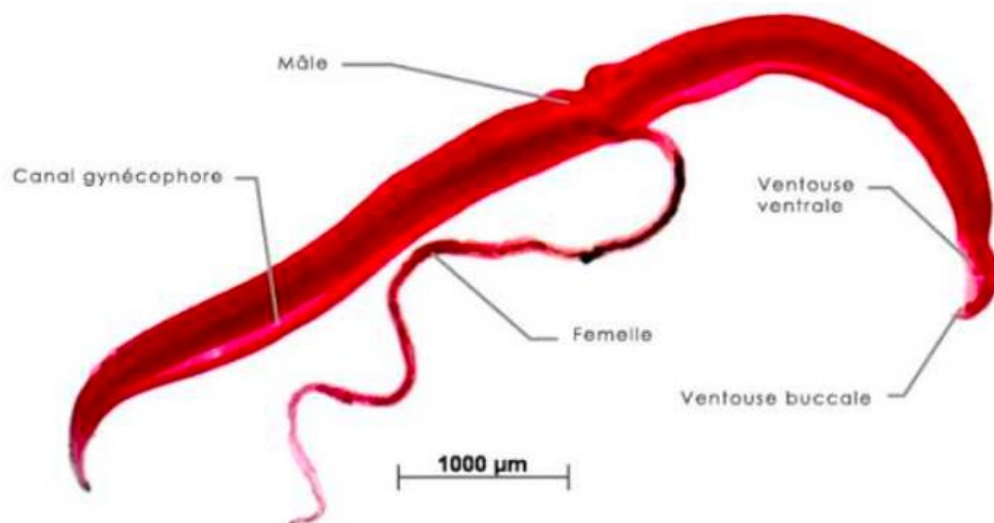


Figure N°5 : Schéma d'un couple de schistosome[10]

Pour l'appareil génital, celui du mâle est assez simple. En effet, il possède des testicules positionnées dorsalement en avant du corps. [8] Ces testicules seront le lieu de la spermatogenèse.

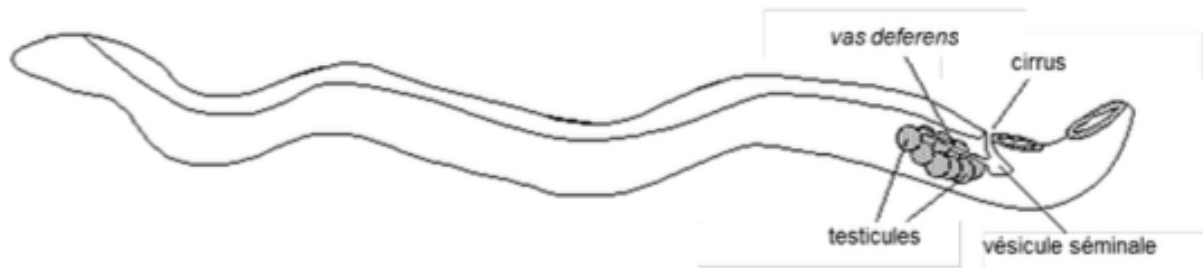


Figure N°6 : Schéma illustrant l'appareil génital mâle [7]

Une fois les spermatozoïdes formés, ils vont être amenés à la vésicule séminale par le *vas deferens* qui sera leur lieu de stockage. Par la suite lors de l'appariement, les spermatozoïdes emprunteront le cirrus et seront déversés dans le canal gynécophore où se trouve la femelle.[7][11]

L'appareil génital de la femelle diffère de celui du mâle car il est plus complexe et occupe presque la totalité du corps.

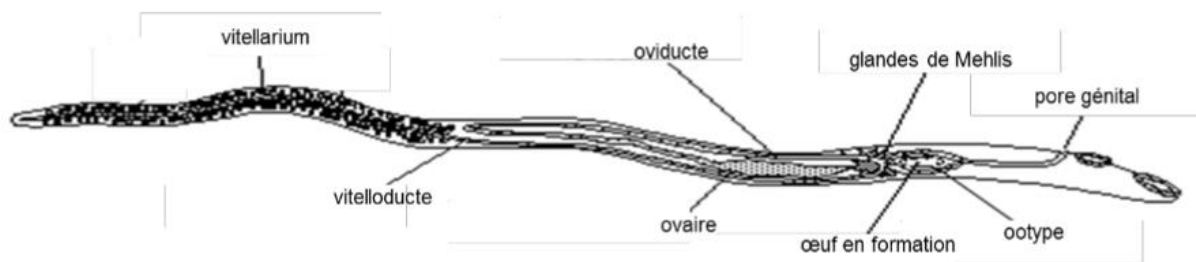


Figure N°7 : Schéma illustrant l'appareil génital de la femelle [7]

Comme sur le schéma de la figure N°6, on observe une séparation en différentes parties. Le segment postérieur se compose du vitellarium. C'est une glande qui se compose de cellules vitellines, indispensables dans la maturation des œufs et la nutrition embryonnaire. [11]

Le segment antérieur de l'appareil génital comporte un ovaire où se déroule l'ovogénèse afin de former des ovocytes matures.

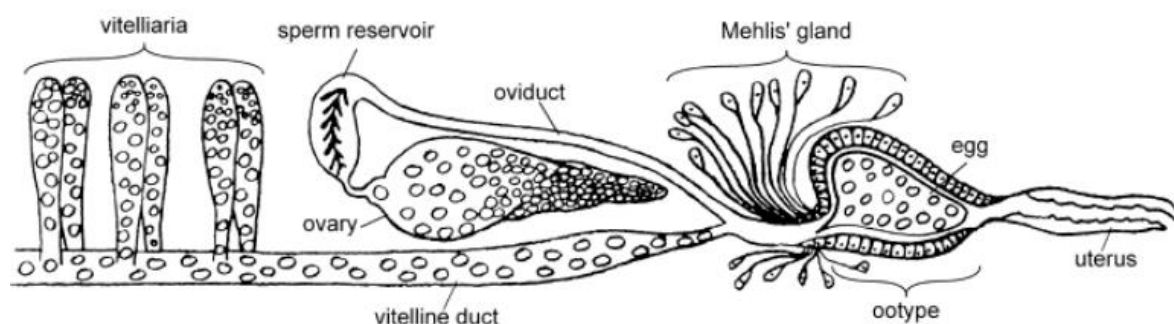


Figure N°8 : Schéma anatomique de l'appareil génital femelle.[11]

Une fois qu'il y a ovulation, l'ovocyte mature est expulsé de l'ovaire et va rejoindre l'oviducte en passant par le réceptacle séminal où sont stockés les spermatozoïdes. Les spermatozoïdes produits par les mâles et déversés dans le canal gynécophore, sont passés par le pore génital de la femelle avant de remonter l'appareil génital jusqu'au renflement de l'oviducte réceptacle.

Par la suite, ensemble ovocyte et spermatozoïdes, migrent dans l'oviducte où il y aura fécondation. C'est au niveau de l'ootype que se forme alors l'œuf. Il semble que les cellules épithéliales de l'ootype et les sécrétions de la glande de Mehlis entraînent la maturation de l'œuf et la formation de sa coquille.[7][11]

Il s'avère intéressant de souligner que l'appariement du mâle et de la femelle semble être un point clé du développement de l'appareil génital et de la ponte des œufs. De plus les vers présentent un penchant de monogamie. En effet, lorsque que le couple est séparé, dans un milieu avec d'autres congénères, il y aurait un appariement préférentiel avec le partenaire d'origine. [7]

- Les œufs

C'est la forme de dissémination et d'infestation du milieu extérieur. En effet, comme on l'a abordé dans le cycle parasitaire, les œufs pondus vont être soit excrétés dans le milieu extérieur par l'hôte, soit emportés par le flux sanguin et finir par s'enkyster dans les tissus.

Les œufs sont de forme et de taille différente selon les espèces mais néanmoins facilement reconnaissables car ils ont un petit éperon. En fonction de l'espèces, l'éperon aura une position différente : en position latérale pour *S. mansoni* ou en position terminale pour *S. haematobium* par exemple.

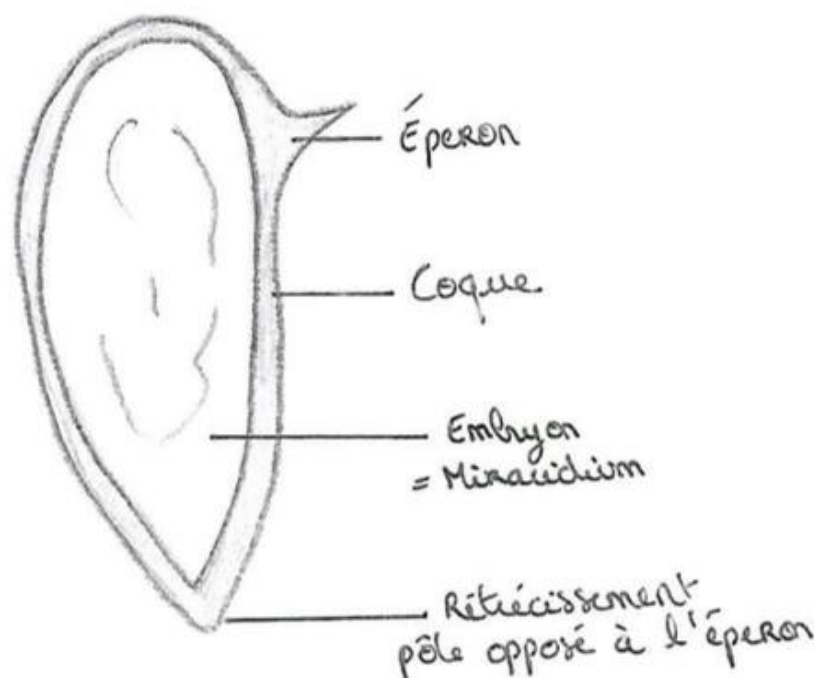


Figure N°9 : Représentation schématique d'un œuf de *Schistosoma mansoni*

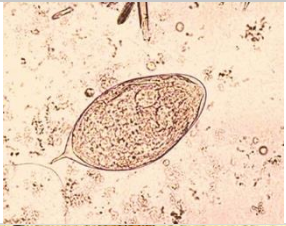
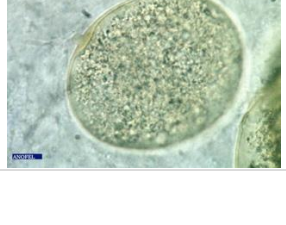
Espèce	Images ANOFEL	Taille	Forme	Éperon	Coque	Voie d'excrétion	Nombre d'œufs pondus/Jour
<i>S. haematobium</i>		150x60µm	Ovale	Terminal	Simple, épaisse incolore ou légèrement jaune clair	Urines	50-200/j
<i>S. mansoni</i>		120-140 x65µm	Ovale	Latéral	Simple, épaisse, contour brun clair	Selles	100-300/j
<i>S. intercalum</i>		200x 65µm	Ovale	Terminal	Épaisse brun clair	Selles	-
<i>S. japonicum</i>		70x 50µm	Sphérique	Latéral peu visible	Simple, épaisse brun clair	Selles	500-1500/j
<i>S. mekongi</i>		60x 40µm	Sphérique	Terminal peu visible	Simple, épaisse, brun clair	Selles	-

Tableau N°1: Comparatif des œufs de schistosomes [8]

Une fois pondus l'embryogenèse peut débuter. Ce phénomène dure environ 6 jours afin de former un embryon cilié : le miracidium. [7]

Une fois émis dans le milieu extérieur par l'hôte, l'œuf va éclore et libérer son embryon au contact de l'eau douce et dans des conditions (pH et températures) favorables.

- Le miracidium :

C'est l'embryon, également appelé larve ciliée qui mesure 150-180 µm de long pour 70-80 µm de large. [11] Elle a une durée de vie limitée à quelques heures et doit donc nager en eaux douces pour trouver son hôte, un mollusque (différent selon l'espèce concernée).

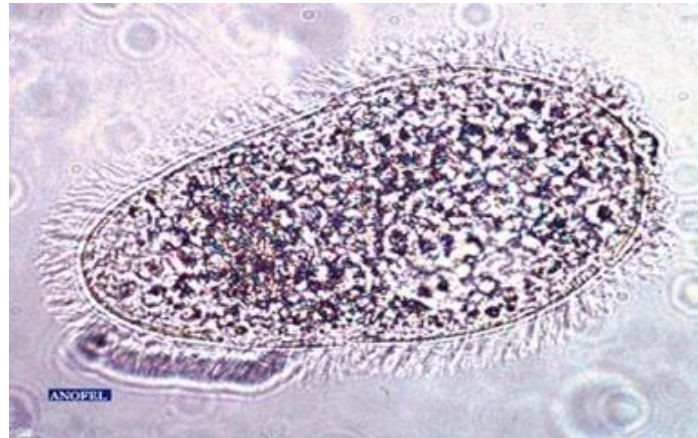


Figure N°10 : miracidium au microscope [8]

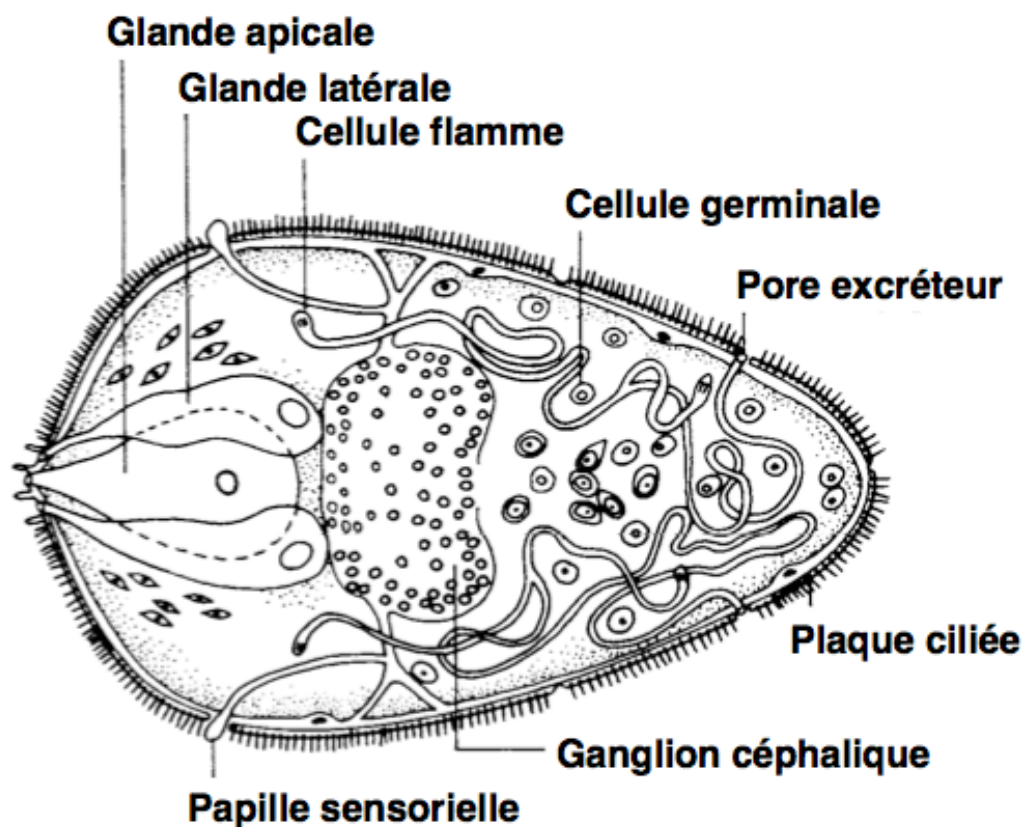


Figure N°11 : schéma miracidium [11]

Le miracidium sera attiré par son hôte par chimiotactisme *via* ses organes sensoriels, et grâce à sa plaque ciliée, il va pouvoir nager vers lui. Il est intéressant de souligner que, suivant les espèces, on observe un géotropisme et un phototropisme. En effet, il a été observé que, suivant si le mollusque vit plutôt en surface de l'eau, on aura un phototropisme positif qui va le guider jusqu'à la surface et inversement pour les profondeurs. [7]

Une fois le mollusque atteint, la larve va se fixer et traverser son tégument de façon active. La pénétration dans l'hôte entraîne une cascade de transformations et le miracidium devient un sporocyste primaire de façon asexuée. Ce sporocyste va proliférer et devenir secondaire dans l'hépatopancréas du mollusque. Dans les sporocystes secondaires vont se développer des embryons qui deviendront des larves cercaires. Ce phénomène de polyembryonie permet à un miracidium de donner plusieurs milliers de cercaires. [5][8]

- Les furcocercaires :

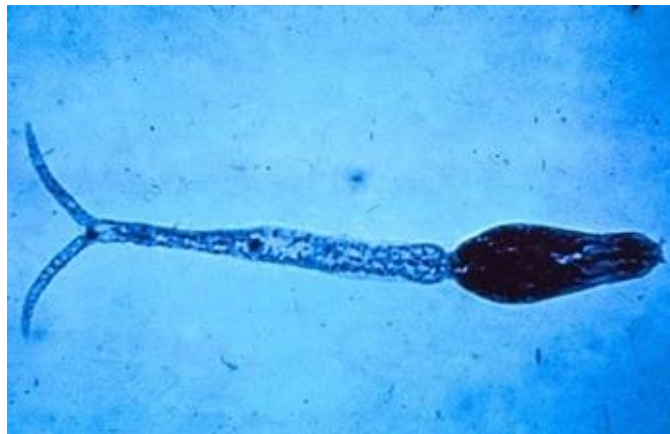


Figure N°12 : Larve furcocercaire vue au microscope [8]

Ce sont des larves issues des sporocystes secondaires qui vont sortir du mollusque lorsque les conditions environnementales (température, luminosité) seront optimales par effraction active (10 heures environ).[5]

La morphologie de la larve se compose en deux parties. Un corps de 125 μm environ et une queue dite bifide de 200 μm . Cette queue va permettre de se déplacer dans l'eau douce afin de trouver l'hôte définitif.[11]

Ces furcocercaires sont comme le miracidium dirigés par un phototactisme et géotropisme mais aussi par des signaux chimiotactiques émis par l'hôte. En effet, la peau de l'hôte, humain ou animal, possède des molécules attractives comme certains acides gras et peptides. Une fois libre la larve a une durée de vie de 24-48 heures dans l'eau douce.

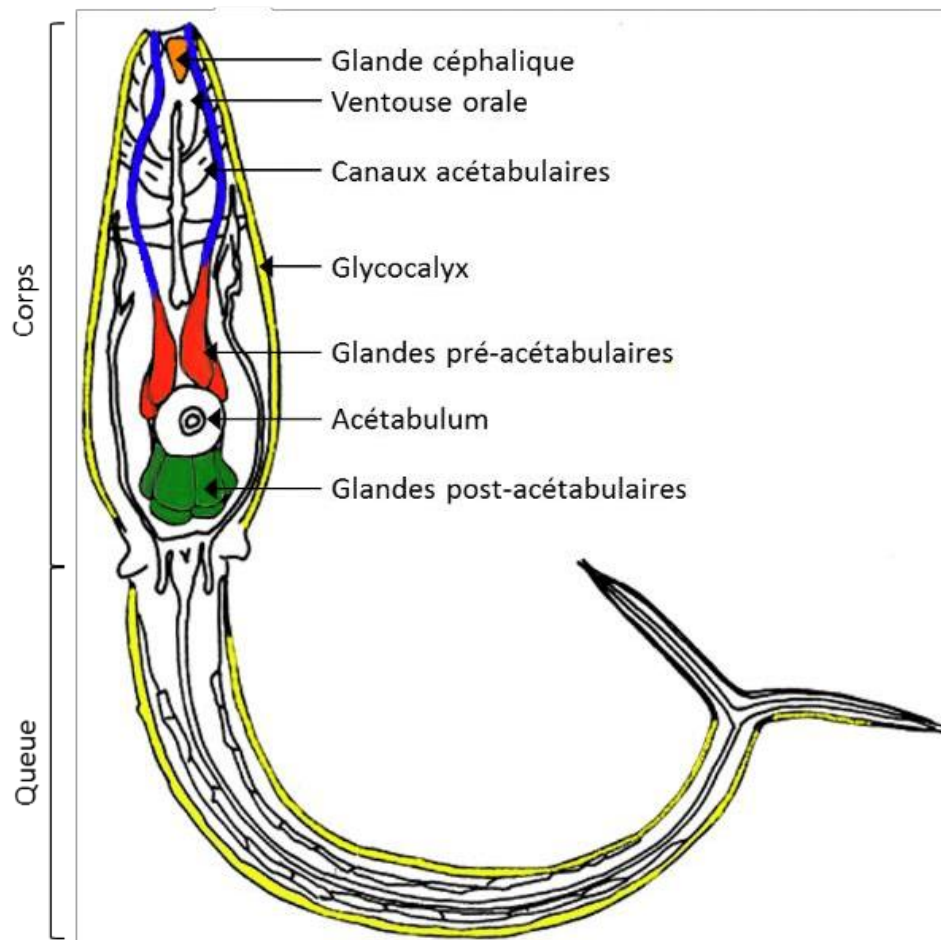


Figure N°13 : Schéma représentant la morphologie d'un furcocercaire [7]

Une fois l'hôte atteint, la larve va se fixer à la peau via sa ventouse ventrale. Elle va alors perdre son appendice caudal. La tête va sécréter des enzymes responsables du passage transcutané actif par lyse de l'épiderme.

Le cercaire va subir des transformations morphologiques et métaboliques (aérobie et anaérobie) pendant environ 3 heures pour devenir alors schistosomule.

- Schistosomule :

Lors du stade schistosomule, la larve possède deux ventouses. Après avoir traversé l'épiderme, le schistosomule va rejoindre le système circulatoire sous cutané par des mouvements de contractions et d'extensions. Ensuite il passe des capillaires dermiques à la grande circulation systémique où il est emporté. Il rejoint alors successivement, le cœur droit, les poumons, le cœur gauche, les vaisseaux hépatiques. Le parasite commence alors à se nourrir du sang de l'hôte et évoluer morphologiquement.[11]

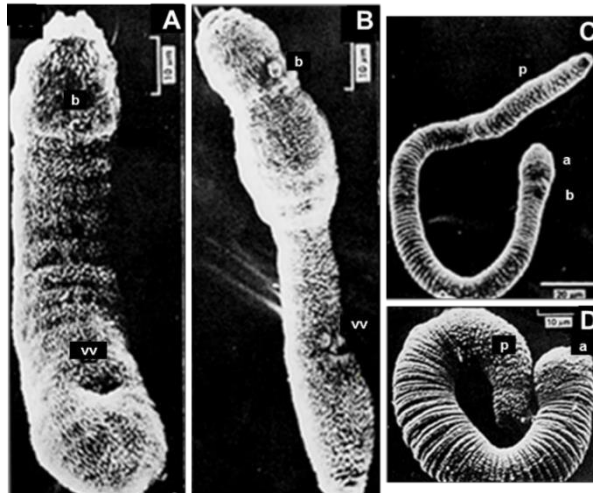


Figure N°14 : Évolution d'un schistosomule observé au microscope. [7]

Au bout de 28 jours post infection, on aura une différenciation sexuelle et l'apparition des vers adultes. Ceux-ci pourront alors s'apparier et migrer vers le plexus mésentérique.

D. Hôtes intermédiaires

Comme il été vu précédemment, à travers la description des stades évolutifs, les schistosomes ont besoin d'un hôte intermédiaire pour se développer au sein de leur hépatopancréas. Les hôtes secondaires sont toujours des mollusques mais ils seront différents en fonction de l'espèce de schistosome considérée.

Mollusque vient du latin *mollusca*, dérivé de *mollis* qui signifie « mou ». En effet, cela fait référence aux corps de ces animaux qui sont mous.

Il existe un grand nombre de mollusque, céphalopodes, bivalves et autres Mais on va s'intéresser dans le cas des hôtes des schistosomes à la classe des gastéropodes. Ce sont des mollusques à coquille unique simple ou spiralée. On va de façon non exhaustive s'intéresser à la principale classe de gastéropodes concernés par l'infection de schistosomes : les pulmonés. Ces animaux sont appelés « pulmonés », car peu importe qu'ils vivent sur la terre ou en eaux douces, ils respirent grâce à un poumon situé anatomiquement en avant du cœur. On retrouvera principalement dans cette classe les planorbes et les lymnées.

- Les Planorbes (Planorbidae):

Ce sont des escargots d'eau douce, pulmonés, ovipares. On observe dans cette classe :

- Les bulins :

Ces organismes dulcicoles ont une distribution géographique large. On les retrouve en Afrique, pays du Moyen-Orient et même en Europe.

Plusieurs espèces de *Bulinus* peuvent être hôte intermédiaire de parasites notamment de *S. haematobium*, *S. Mattheei*, ou encore de *S. intercalum*. La plus fréquente pour *Schistosoma haematobium* est *Bulinus truncatus*. [12]

- Les biomphalarias :

Ce sont des mollusques gastéropodes pulmonés, discoïdes, aplatis avec une coquille senestre. Ils sont majoritairement présents dans les Caraïbes et en Amérique du Sud.

Les *Biophalaria glabrata* sont les hôtes intermédiaires de *Schistosoma mansoni* principalement.

• Les Lymnées (Lymnaeidae) :

Les lymnées sont des hôtes intermédiaires des parasites du genre schistosome comme *Orientobilharzia turkestanicum* ou *Orientobilharzia dattai* qui sont des espèces infectant exclusivement les bovins.

La lymnée tronquée, ou *Galba truncatula*, est très connue en pathologie humaine comme étant l'hôte intermédiaire d'une autre espèce de Trématode : *Fasciola hepatica* aussi appelée couramment la grande douve du foie. [5]

• Les Hydrobiidae :

On s'intéresse plus particulièrement au genre *Oncomelania*. La coquille est spiralée et tronquée à la pointe.

Ils sont présents dans les rizières mal entretenues, dans les cours d'eau lents, les canaux d'irrigation. Ce sont les hôtes intermédiaires de *S. japonicum* et *S. mekongi*. [12]

Nous reviendrons plus précisément dans la troisième partie de la thèse sur les mollusques, en étudiant certaines caractéristiques morphologiques et biologiques de ces espèces afin d'appréhender un contrôle de ces vecteurs.

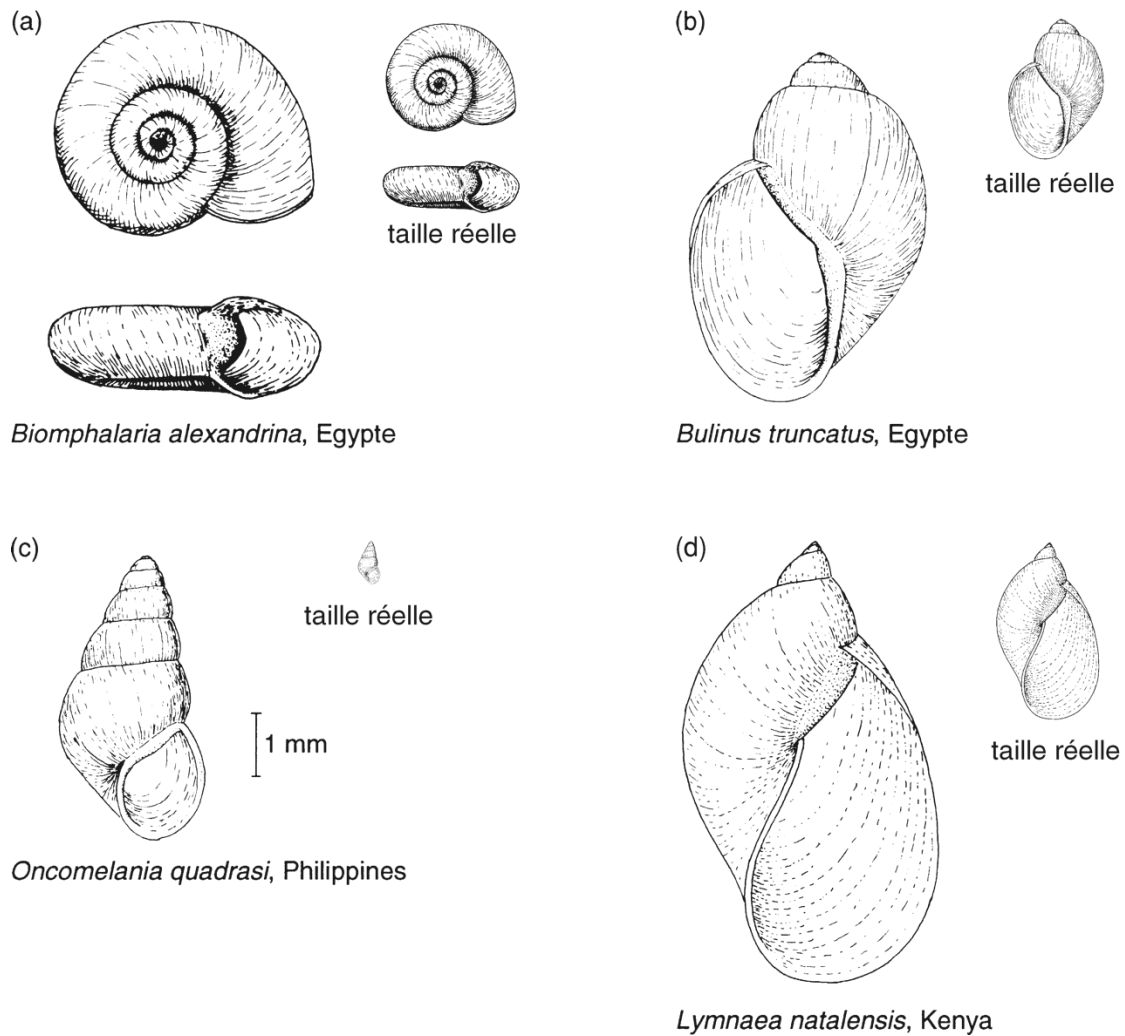


Figure N°15 : Illustrations représentant les coquilles d'espèces de gastéropodes a) Biomphalaria b) Bulinus c) Oncomelania d) Lymnée[13]

II. Épidémiologie

La bilharziose est une parasitose endémique puisque d'après l'OMS c'est la 2^{ème} maladie parasitaire du monde après le paludisme.

Elle touche plus de 250 millions de personnes dans le monde et tue entre 20 000 et 200 000 personnes par an environ. [9]

Distribution of schistosomiasis, worldwide, 2012

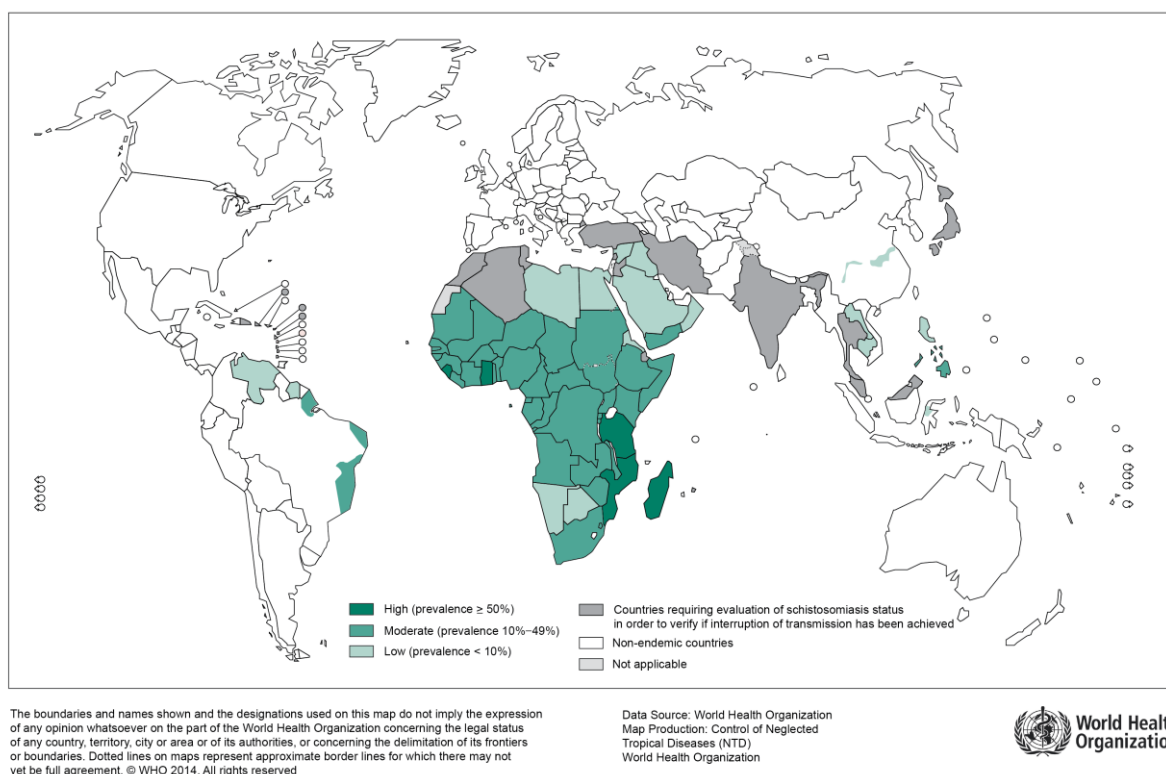


Figure N° 16 : Cartographie de la répartition mondiale de la bilharziose (image OMS)

On comptabilise 78 pays touchés avec environ 800 millions d'individus exposés. Cependant, la majeure partie des schistosomiasis (85%) concerne l'Afrique subsaharienne.

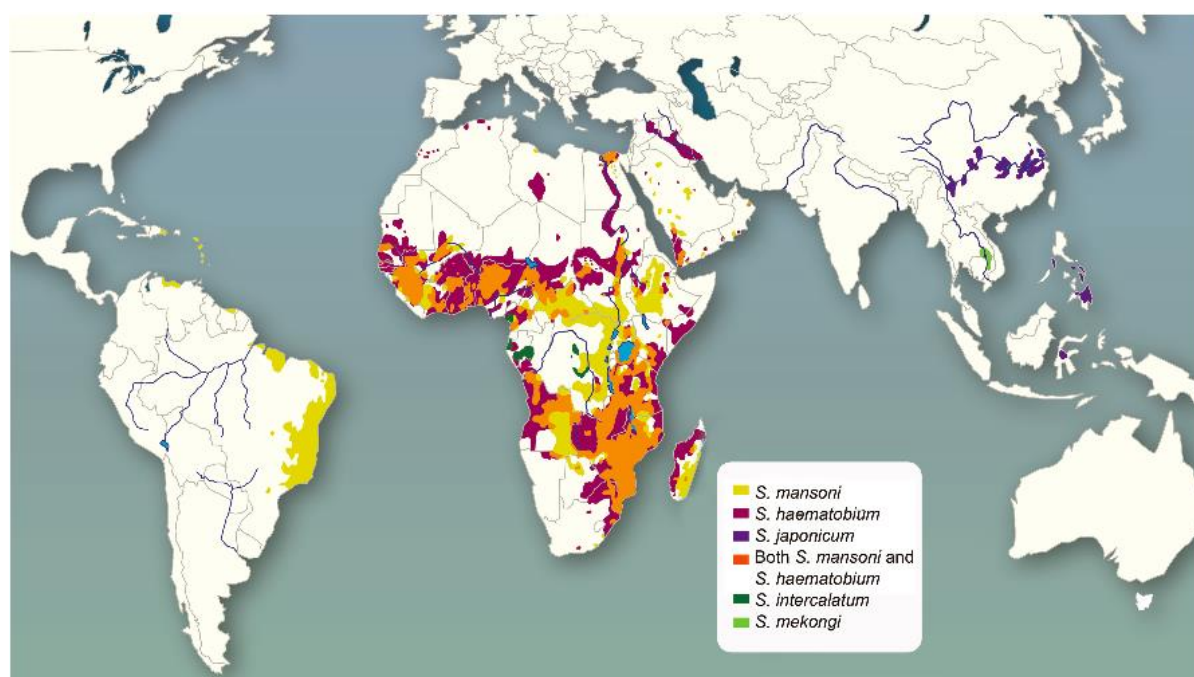


Figure N° 17 : Distribution de la bilharziose dans le monde en fonction des espèces.[14]

Outre la contamination humaine, il ne faut pas négliger que l'infection parasitaire est très retrouvée chez le bétail. En effet, le nombre d'animaux infectés serait de 165 millions en Asie et en Afrique. Ces chiffres non négligeables sont certainement minorés car tous les éleveurs de bétails ne font pas dépister leurs troupeaux. De plus il existe des espèces, comme les rongeurs, dont il n'existe pas à ce jour d'estimations.

III. Physiopathologie

La bilharziose est une pathologie qui comporte plusieurs stades cliniques. En effet, les symptômes qui apparaissent, ou non, en début d'infection restent des atteintes somme toutes relativement superficielles. Les lésions anatomiques et les signes cliniques observés vont être liés au caractère chronique de la pathologie et essentiellement liés aux œufs.

On va donc retrouver cliniquement 3 étapes majeures dans l'évolution de la pathologie.

A. Phase de contamination : 15 à 30 min après le bain infestant

Cette première phase clinique est liée au passage du parasite à travers la peau. En effet, le cercaire pénètre la peau de façon active en sécrétant des enzymes qui vont lyser l'épiderme et entraîner une inflammation et irritation locales. Cela se traduit par une réaction cutanée caractéristique : la dermatite cercarienne appelée « dermatite des nageurs ». [9]

On observe une éruption maculopapuleuse au niveau du point de pénétration du parasite et un prurit.



Figure N° 18 : Dermatite des nageurs [15]

Cette phase peut néanmoins paraître silencieuse et asymptomatique et donc passer inaperçue.

B. Phase aiguë d'invasion dite toxémique : jusqu'à 2-3 mois

Elle est le reflet de la migration et maturation des schistosomules mais aussi de réaction du système immunitaire de l'individu face aux antigènes parasitaires. Elle peut également passer rarement inaperçue mais est majoritairement symptomatique chez le sujet non immun.

On observera des signes généraux et allergiques regroupés sous le nom de « syndrome de katayama » : asthénie, céphalée, fièvre dite « fièvres des safaris », prurit, myalgies, urticaire. [16]

Il peut s'associer une toux sèche d'irritation, dyspnée voire même de rares manifestations neurologiques ou cardiaques sévères liées aux réactions toxémiques antigéniques et à l'hyperéosinophilie. On parlera de syndrome anaphylactique pouvant même aller jusqu'au choc chez certains individus. [5]

C. Phase d'état dite chronique :

Cette phase correspond à la bilharziose à proprement parler. Elle va être directement liée au lieu de ponte des schistosomes femelles. En effet, les œufs restent piégés dans les tissus et entraînent alors une réaction inflammatoire. On observe deux principales manifestations.

- La bilharziose uro-génitale :

On retrouve cette clinique classique pour les infections à *S. haematobium*.

Elle se caractérise par une atteinte urinaire dont le signe principal est une hématurie. Les signes habituels sont pollakiurie, brûlures et douleurs mictionnelles qui font ressembler à un tableau de cystite. [5]

Ces symptômes sont révélateurs du tropisme de *S. haematobium* et de ce fait les œufs se retrouvent piégés, enkystés, dans la paroi de la vessie. Ceci concourt à des réactions inflammatoires et à long terme une fibrose de la vessie et des uretères. On peut voir par la suite une évolution avec des surinfections bactériennes, voire des complications prostatiques chez l'homme ou infections de la sphère génitale chez la femme.

- Bilharziose intestinale

C'est le tableau classique pour de nombreuses espèces mais en particulier retrouvé pour *S. mansoni* et *S. intercalatum*.

On retrouve alors majoritairement des signes digestifs avec des troubles du transit. On parle de « dysenterie bilharzienne » avec alternances de diarrhées glairo-sanglantes et de phases de constipations. Les symptômes associés sont des douleurs abdominales de type épreintes et on peut retrouver des stries de sang dans les selles suivant l'intensité de l'infection. [5]

Ces signes cliniques proviennent de la migration des œufs à élimination intestinale qui traversent les parois et entraînent de ce fait inflammation des muqueuses, voire formation d'ulcères et abcès.

- Complications

Ensuite, on peut avoir apparaître une évolution vers une phase de complications liées à une réaction inflammatoire granulomateuse des œufs enkystés dans les tissus. La formation d'un granulome bilharzien est directement liée à la réponse immunitaire type Th2 de l'organisme.

En effet, les antigènes portés par les œufs vont entraîner une réponse de l'organisme hôte par les lymphocytes T CD4+. Ceci va entraîner la formation des légions granulomateuses par assemblage de macrophage, éosinophiles, lymphocytes T mais également fibrine et collagène autour de l'œuf au cœur d'un tissu. Quand l'œuf meurt les granulomes font place à des plaques fibreuses. [17]

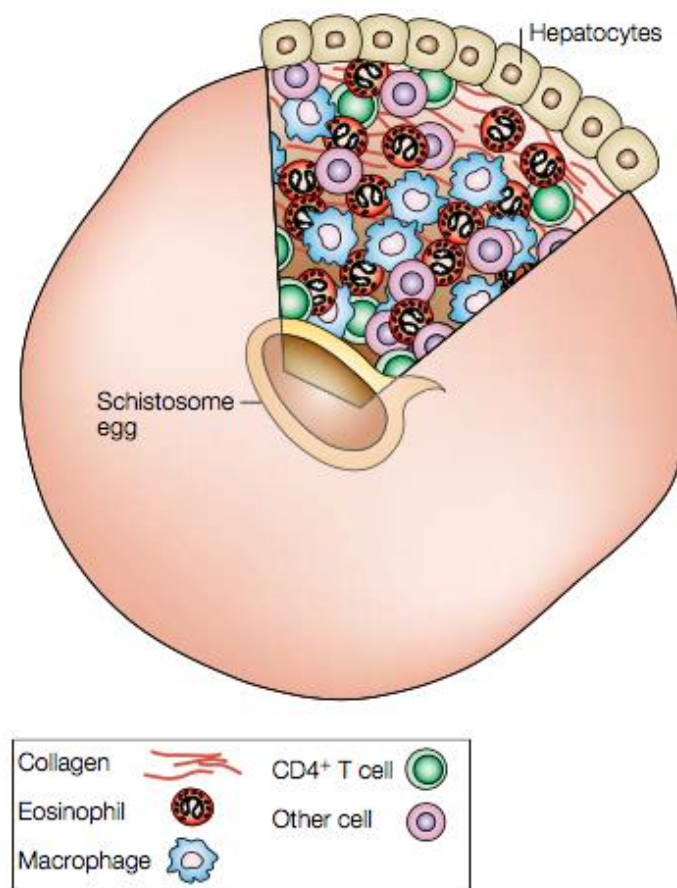


Figure N°19 : représentation schématique de la formation d'un granulome bilharzien.

Ainsi, on observe des complications grave hépatiques qui sont directement liées au fait que le foie devient fibrotique et donc on a une augmentation de la pression artérielle portale. On peut avoir également associé une ascite par accumulation de liquide séreux dans la cavité péritonéale ou encore des shunt veineux systémiques portaux qui peuvent rompre et entraîner des saignements mortels.

Outres ces complications hépatiques (hépatomégalie, hypertension portale, cirrhose parasitaire...) on verra, liées à la localisation, des complications spléniques : splénomégalie, thrombopénie, anémie.

On va retrouver également de façon moins fréquente des complications extra hépatiques liées à l'embolisation massive d'œufs à partir du système porto cave. Par exemple, des complications cardio-vasculaires (insuffisance cardiaque), pulmonaires (fibrose, hypertension), ou encore neurologiques.

Pour l'atteinte neurologique on parlera de neuroschistosomiase. Elle peut se traduire cliniquement par une encéphalopathie, une myélite transverse, radiculite, ou signes de compression médullaire.

Pour finir, l'atteinte urinaire peut entraîner des complications telles cancers de la vessie ou voies génito-urinaires. Chez l'homme on aura une fibrose prostatique et chez la femme on peut trouver des salpingites et autres affections pouvant aller jusqu'à la stérilité. [18]

D. Co-infections :

Il existe certaines co-infections qu'il est intéressant de noter. Premièrement, la co-infection schistosome-VIH. Il est reconnu que les zones endémiques où sévissent ces pathogènes sont superposables. Cependant, outre le fait que l'infection par l'helminthe soit propice à l'infection au VIH, elle serait également un facteur favorisant sa dissémination au sein de l'organisme. Les ulcérations génitales liées aux œufs fragiliseraient l'épithélium des muqueuses et favoriserait alors fortement l'infection par le VIH lors des rapports.

D'autre part, il a été mené des études sur les co-infections avec d'autres organismes bactéries, virus, parasites. Il ressort que le plus souvent une infection antérieure par les Schistosomes a augmenté la gravité de la deuxième infection (*Leishmania*, *T. gondii*, *E. histolytica*, *S. aureus*, *Salmonella*, *Plasmodium*). Cela peut être dû au fait que l'organisme de co-infection profite des dommages physiques antérieurs causés par le vers ou bien peut être due à l'absence d'une réponse immunitaire assez forte chez l'hôte ; conséquence directe d'une réponse immunitaire continue à *Schistosoma*. [19]

IV. Diagnostic

Le diagnostic de la pathologie va être déterminé par la phase du cycle parasitaire du schistosome car les méthodes utilisées seront différentes.

A. Diagnostic d'orientation

En premier lieu le diagnostic sera basé sur des éléments d'orientation d'après interrogation et observation du patient.

- Contexte épidémiologique : suspicion de bilharziose chez les patients avec une notion de voyage en zone d'endémie parasitaire et bain en eau douce stagnante.

- Signes cliniques : suivant la phase d'infestation on peut trouver une dermatite cercarienne ou la fièvre des safaris, une hématurie ou encore une dysenterie.
- Critères biologiques : Hyper éosinophilie et hyperleucocytose mais qui ne sont pas forcément systématiquement détectées car on aura une normalisation rapide de la NFS en quelque mois mais qui sont des signes évocateurs et qui viennent renforcer les autres éléments.

B. Diagnostic de certitude

Le diagnostic de certitude est réalisé à l'aide de méthodes d'analyses comme des tests biologiques.

- Diagnostic indirect immunologique :

Il permet un diagnostic précoce car il peut être positif dès le premier mois mais rarement réalisé en routine. Ce diagnostic immunologique est possible et utile dans les phases où il n'y a pas d'émission d'œufs.

On retrouve deux approches principales différentes qui vont mettre en évidence la présence d'anticorps spécifiques. Il faut noter que la plupart des techniques immunologiques réalisées utilisent les antigènes de l'espèce *S. mansoni*. En effet, il se trouve que cette espèce est celle dont le cycle est le plus facile à maintenir en laboratoire.

La première approche va rechercher les anticorps qui se sont formés suite au contact pathogène. Ces techniques vont rechercher les anticorps circulants (IgG, IgM) dirigés contre les antigènes solubles (fraction ou extraits antigéniques) ou figurés (éléments vivants ou morts du cycle). On utilisera des méthodes comme l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'hémmagglutination indirecte (HAI), ELISA.

L'immunofluorescence indirecte est la technique la plus utilisée en laboratoire (bonne spécificité et sensibilité). Pour révéler la présence d'anticorps, on va utiliser du matériel comme des coupes d'hépatopancréas de mollusques infectés, des coupes de schistosomes adultes, des coupes de foies de rongeurs parasités (ces dernières permettent l'étude simultanée des antigènes des œufs et des vers adultes). [9][5]

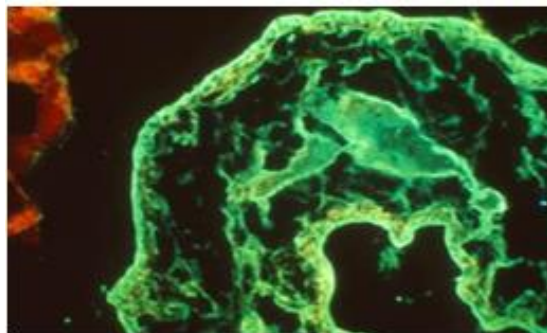


Figure N° 20 : Immunofluorescence indirecte sur coupe de congélation de schistosome adulte : positivité de la réaction révélée par la fluorescéine [8]

L'hémmagglutination et ELISA utilisent des antigènes solubles purifiés ovulaires.

On retrouve également l'immunoélectrophorèse, méthode de diffusion sur milieu gélifié, qui est basée sur la recherche d'arcs spécifiques des schistosomes. Les arcs de précipitation représentent les systèmes anticorps-antigènes : Arc 4 spécifique des schistosomes, arc 8 de *Schistosoma mansoni*, arc 9 pour *Schistosoma haematobium*. [5]

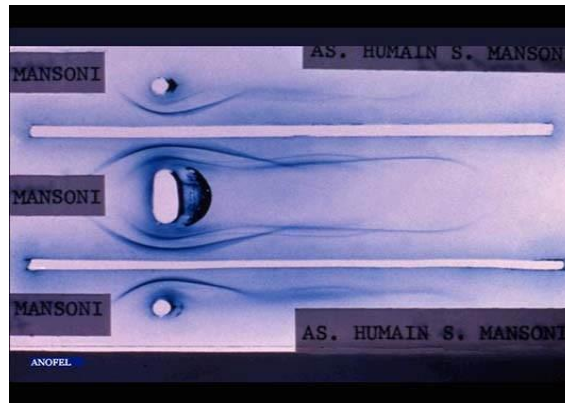


Figure N° 21 : immunoélectrophorèse avec mise en évidence des arcs de précipitation pour l'espèce *S. mansoni* après coloration.[8]

La seconde approche concerne des réactions immunologiques qui utiliseront des antigènes vivants. Différentes techniques sont réalisables, cependant, nécessitant le maintien du cycle parasite en laboratoire afin d'obtenir des antigènes vivants, elles sont rarement utilisées en routine.

On retrouve la réaction de Vogel-Mining. On met en relation du sérum de malade avec des larves furcocercaires vivantes pendant au moins 24 heures. On étudie alors le décollement de la membrane péricercarienne qui traduit la présence d'anticorps.



Figure N°22 : Positivité de la réaction de Vogel-Mining par décollement de la cuticule pericercarienne. [8]

Il existe également la méthode de précipitation circum ovale (COPT). Le sérum du patient est mis en contact avec des œufs vivants de schistosomes pendant 24 heures. La présence

d'anticorps sera déterminée par la formation de précipités, dits digitiformes, entourant les œufs.



Figure N°23 : Positivité du test de Circum Ovale avec formation de précipités digitiformes autour de l'œuf.

Il existe également d'autres techniques, très peu utilisées, RAST (Radioallergosorbant test) et RIA (dosage radio-immunologique) qui vont mettre en évidence les antigènes circulants à l'aide d'antigènes marqués radioactivement. Il y a une très bonne sensibilité néanmoins le gros inconvénient est l'utilisation de produits radioactifs pour le marquage.

- Diagnostic direct :

Il consiste en la mise en évidence des œufs de schistosomes, sur des prélèvements biologiques, qui confirme l'infestation. Cependant celle-ci n'est pas possible en phase initiale d'infestation car il n'y a pas encore d'émission d'œufs. Ainsi cette recherche directe d'œufs dans les urines selles ou sur des biopsies permet d'affirmer le diagnostic de bilharziose mais attention son absence ne permet pas d'exclure la pathologie.

L'examen parasitologique des selles à la recherche d'œufs est la méthode de référence. Cependant elle n'est pas réalisée systématiquement (phase initiale d'infestation inutile). Elle permet en effet, l'identification des œufs de la majorité des espèces infectant l'homme : *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. japonicum* et *S. mekongi*.

L'examen parasitologique des urines, sera quant à lui exclusivement intéressant pour la recherche de *S. haematobium*.

Les prélèvements biologiques de selles et d'urines vont subir différentes techniques de concentration pour augmenter la sensibilité de la méthode diagnostique.

Les œufs de schistosomes se trouvent principalement dans la partie externe (mucus) des selles donc on se sert préférentiellement de cette partie pour les techniques.

On retrouve les méthodes diphasiques (Richie, Bailanger, Methiolate Iode Formol) ou des techniques simples de sédimentation en eau glycinée à 5% (Méthode de Faust et Ingalls). Ces techniques reposent sur le recueil, après centrifugation, du culot où l'on va rechercher les œufs après dépôt entre lame et lamelle.

Il existe également la méthode de flottaison de Janeckso-Urbanyi qui, à l'inverse des précédentes, s'intéresse au surnageant et non au culot de sédimentation.[8]

Ces techniques permettent alors d'observer au microscope les œufs caractéristiques des schistosomes, la forme d l'œuf et la position de l'éperon permettront le diagnostic d'espèce.

Il existe également la technique de Kato-Miura-Katz qui est une méthode d'éclaircissement de frottis épais de selles qui sera plutôt utilisée pour évaluer le nombre d'œufs. Après avoir effectué un frottis épais on le trempe dans une solution de kato (Glycerine, eau distillée, vert de malachite), puis on l'éclairci 20 min à la lampe UV ou au soleil et on observe au microscope un nombre d'œufs par grammes de selles. [5]

Test de vitalité des œufs. Cette méthode met des œufs en milieu hypotonique à 30°C. En moins d'une heure, si les œufs sont vivants, on va avoir l'éclosion et le miracidium se met à nager. Ce test permet de déterminer si les œufs sont vivants ou morts et ainsi confirmer l'efficacité du traitement.

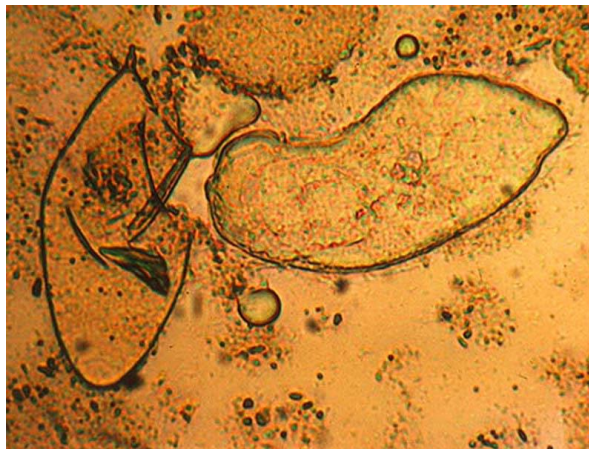


Figure N°24 : Éclosion d'œuf de schistosome [8]

C. Bilan d'extension

Il est assez important dans le diagnostic de la pathologie car il repose sur le bilan biologique, bilan d'imagerie et même les prélèvements invasifs comme des biopsies.

Si l'EPS est négatif, on pourra faire sous rectosigmoidoscopie des prélèvements biologiques : une biopsie vésicale ou rectale. La biopsie rectale sera préférée car moins traumatisante que la vésicale, elle est tout aussi performante pour la bilharziose urinaire. Le prélèvement de la muqueuse et sous muqueuse se fera au niveau de lésions (d'ulcérations ou granulomes). S'il n'y a pas de lésions visibles le prélèvement se fait au niveau des valvules de Bauhin (repli de la muqueuse iléale à son abouchement au niveau du caecum). L'histopathologie est utile car peu importe le type de biopsie, on trouvera des œufs plus ou moins calcifiés, entourés de nombreux polynucléaires éosinophiles formant une réaction granulomateuse.

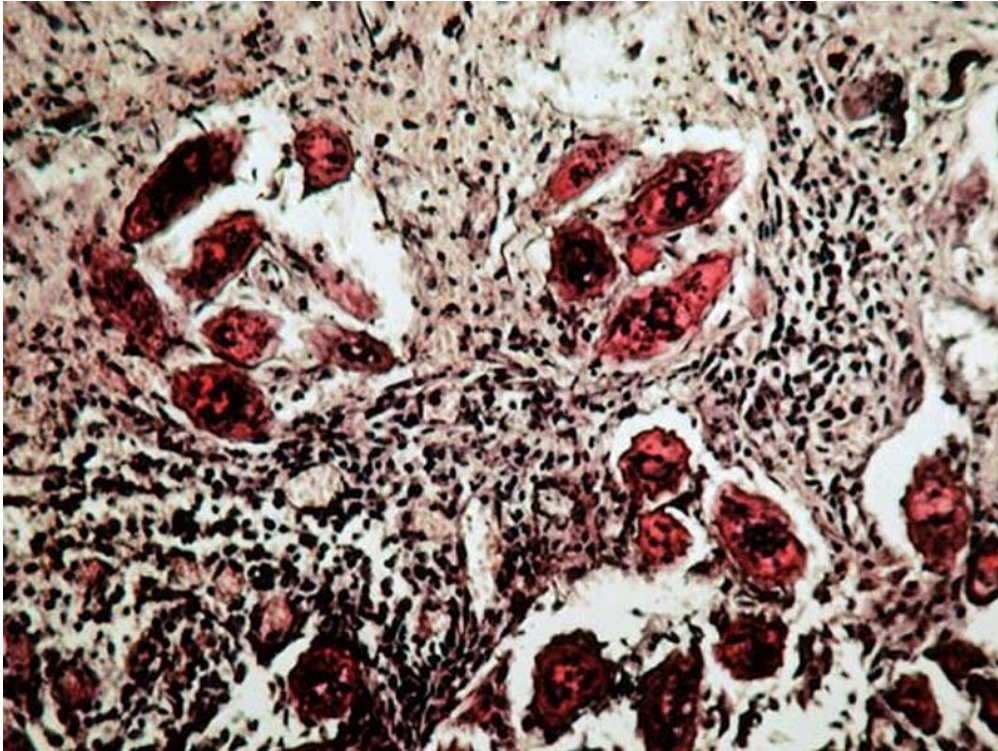


Figure N°25 : granulome bilhazien vésical [8]

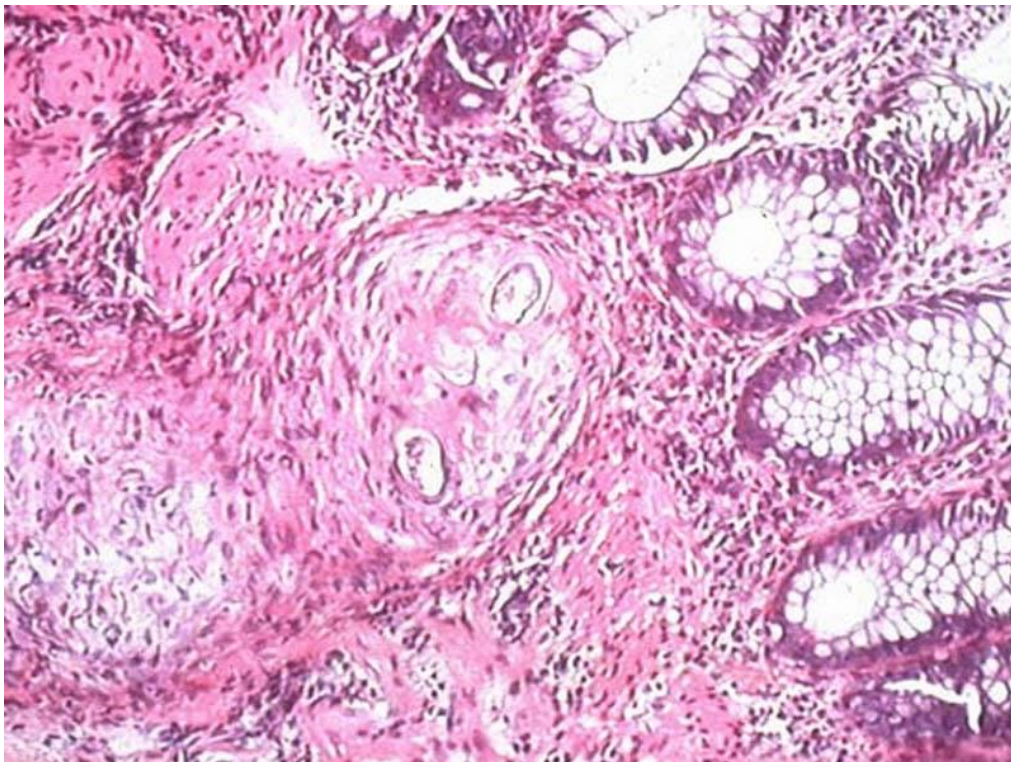


Figure N°26 : Granulome bilharzien rectal [8]

Si l'épéron n'est pas bien visible, en fonction de la coupe histologique, la coloration de Ziehl Neelsen permet une orientation à l'identification d'espèce suivant sa positivité. En effet, cette technique de coloration met en évidence les œufs acido-alcool-résistants en colorant la coque de l'œuf en rouge. Ceci permet le diagnostic différentiel des espèces avec *S. haematobium* seule schistosome dont l'œuf ne se colore pas.

Le bilan d'imagerie est très utilisé comme examens complémentaires à la recherche de complications. Pour la bilharziose intestinale on retrouve l'échographie abdominale, IRM, angioscanners, coloscopie et autre à la recherche d'une complication hépatique fibreuse, dilatation des vaisseaux extra-hépatiques ...

Il en est de même pour la bilharziose uro-génitale, la recherche de complications se fera par échographie (recherche de polypes, lithiases, et autres anomalies vésicales), échotomographie (papillomes vésicaux, dilatations calicielles des reins), ou encore par ASP (radiographie d'abdomen sans préparation) à la recherche de calcifications vésicales, urétérales.



Figure N°27 : ASP montrant une vessie calcifiée [8]



Figure N°28 : Urographie montrant la dilatation des calicelles urétrales

La radiographie thoracique permet de rechercher des signes de bilharziose cardio-pulmonaire : micronodules disséminés et miliaires.

Et l'IRM sera l'imagerie de choix pour la bilharziose du système nerveux central afin d'observer un possible rétrécissement médullaire ou tumeur cérébrale.

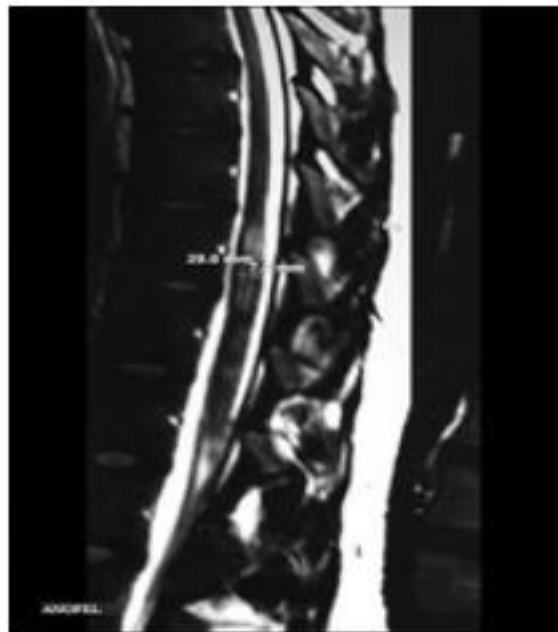


Figure N° 29 : IRM montrant un rétrécissement médullaire

Pour finir, le bilan biologique est nécessaire afin de mettre en évidence les complications. On retrouve le plus souvent un hypersplénisme (anémie, leucopénie, thrombopénie) ou des anomalies hépatiques (hypoalbuminémie, phosphatases alcalines augmentées).

D. Diagnostic différentiel

On doit établir un diagnostic différentiel avec des pathologies aux symptômes similaires. On retrouve le plus fréquemment les mêmes signes cliniques pour les pathologies suivantes.

- Les diarrhées tropicales bactériennes ou parasitaires :

Le premier diagnostic à évoquer lors d'une diarrhée de retour de zone d'endémie est le paludisme mais les causes peuvent être également liés à *Vibrio cholerae*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Clostridium difficile* ou *Escherichia coli*.

- Dermatite des nageurs liée à *Trichobilharzia* :

Il s'agit d'une variété de bilharziose chez les volatils et particulièrement le canard. C'est un vers trématode du genre *Trichobilharzia* qui infecte les canards avec un cycle parasitaire très fortement similaire avec un stade cercaire. C'est lors de ce stade cercaire que les larves vont entrer en contact accidentellement avec les nageurs d'eau douce. Le point de pénétration de la larve se traduit par l'apparition de petits boutons similaires aux piqures de puces ou de moustiques. C'est certainement pourquoi on surnomme cette dermatite cercarienne familièrement « puce du canard ».

- Cirrhoses :

En effet les causes de cirrhoses non parasitaires seront en premier lieu suspectée devant un tableau clinique similaire. Les mêmes symptômes sont le plus souvent retrouvées lors d'une cirrhose alcoolique ou encore dans les complications d'une hépatite virale type A B C E....

V. Traitements et prévention

A. Traitement médicamenteux

Le traitement de référence médicamenteux est un antihelminthique : le Praziquantel (Biltricide®). Cette molécule est active sur de nombreux trématodes dont tous les schistosomes.

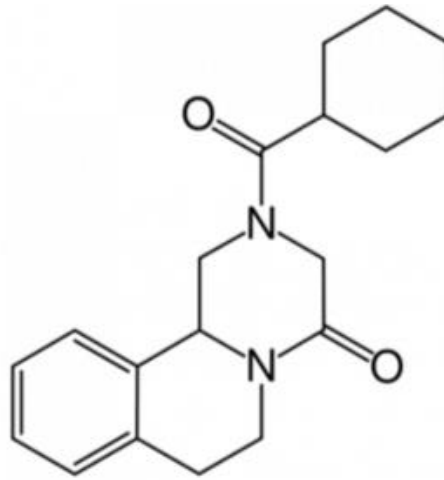


Figure N°30 : formule chimique du Praziquantel

Toute bilharziose doit être traitée dans le but d'éviter une évolution vers des complications. Cependant le traitement ne doit pas être débuté en phase d'invasion sous risque d'accentuer et d'aggraver la symptomatologie. En effet, le Praziquantel est efficace sur tous les schistosomes adultes mais n'a pas d'action sur les formes larvaires ou les œufs. [9]

Il doit être prescrit aux doses suivantes :

- Pour les bilharzioses uro-génitale et intestinale à 40 mg/kg per os en 1 à 2 prises en un jour.
- Pour les bilharzioses artério-veineuses à 60 mg/kg. [20]

Le mode d'action n'est pas totalement connu. Cependant des études *in vitro* sur les trématodes et les cestodes ont révélé que le Praziquantel entraînerait un afflux massif de calcium agissant sur la perméabilité de la membrane cellulaire ce qui produit une rapide contraction des schistosomes, une paralysie des vers qui se détachent alors de la paroi endothéliale. Le médicament cause également une vacuolisation et une désintégration du tégument du schistosome qui sera alors lysé. [3]

Les effets indésirables principalement retrouvés sont des douleurs abdominales, des nausées et vomissements, des céphalées. On peut également parler du syndrome de lyse parasitaire qui sera lié à une réaction immunitaire forte de l'organisme (hyperéosinophilie et réaction type Jarisch-Herxheimer). [5]

Le traitement par Praziquantel sera déconseillé pour les enfants de moins de 30 mois et les femmes enceintes. En effet, il n'existe pas de forme galénique spécifique pédiatrique, ni de recommandation au niveau de l'autorisation de mise sur le marché (AMM). S'agissant de l'allaitement, la période d'interruption suite à la prise de Praziquantel est de 72 heures. De plus, la corticothérapie sera formellement contre indiquée pendant la durée du traitement. [18]

On remarque des limites à cette chimiothérapie au Praziquantel :

- Durée d'action limitée dans le temps (24h)
- Inefficace sur les stades précoces
- Inefficace sur les formes sévères

- Baisse de l'efficacité dans les zones à forte infection et pour les co-infections *S. mansoni* / *S. haematobium*

De plus, l'utilisation d'un seul traitement peu importe l'espèce peut faire craindre l'émergence de résistances.

B. Surveillance post-thérapeutique :

Elle va être composée d'une série de contrôles à 2 mois, 6 mois et un an.

La guérison à proprement parler sera affirmée qu'après interprétation des résultats des examens des urines ou des selles, de la numération formule sanguine, et des réactions séro-immunologiques.

Après traitement, des œufs morts peuvent être éliminés pendant plusieurs mois. Ainsi un test d'éclosion des miracidiums pourra alors permettre de les différencier des œufs vivants.

De plus, le traitement provoque une décharge antigénique provenant de la lyse des vers appelé syndrome de lyse parasitaire. Il en résulte au niveau biologique une élévation des taux d'éosinophiles et d'anticorps antibilharziens dans les 2 à 3 mois post traitement. On observera la régression puis une normalisation progressive de l'éosinophilie et une négativation des réactions séro-immunologiques en 10 à 12 mois.[5]

C. Prévention :

Classiquement, il semble y avoir 2 moyens de lutte différents contre la dissémination de la pathologie. Soit l'action se fera au niveau de la population humaine avec différents moyens : chimiothérapie, éducation sanitaire... Soit une lutte au niveau de l'hôte intermédiaire, le mollusque par des moyens chimiques ou environnementaux.

Au niveau de la population humaine on peut mettre en place des méthodes de prévention :

- Collectives :

La bilharziose étant une maladie liée au péril fécal, il faut lutter pour des règles d'hygiène avec une éducation sanitaire dans les zones d'endémie. On retrouve au niveau préventif également de la chimioprophylaxie avec du Praziquantel dans les populations concernées par de forts taux d'infestation.

D'autre part, des méthodes de lutte intégrée contre le mollusque, hôte intermédiaire, peuvent être mises en place : faucardage, molluscicides, prédateurs

- Individuelles

La première évidence pour une protection individuelle est qu'il faut éviter l'eau douce que ce soit des rivières, lacs, étangs et ne pas s'y baigner. Tous les ans, beaucoup de touristes se font infecter en zone d'endémie lors de bains de plaisance dans des eaux douces stagnantes.

D'autre part, la perspective d'un vaccin pourrait être intéressante pour la population cible. Depuis des années la recherche d'un vaccin pour la bilharziose suit plusieurs pistes et des essais cliniques sont en cours comme nous le verrons par la suite.

PARTIE 2

Premiers cas autochtones en France en Corse du Sud

Il est établi que la bilharziose est une parasitose observée traditionnellement dans des régions tropicales et subtropicales. Les cas Européens sont, de facto, principalement liés à des cas d'importation chez des patients ayant voyagé en zone d'endémie.

Cependant, un épisode de plusieurs cas regroupés a été récemment retrouvé en Corse du Sud près de Porto-Vecchio. L'institut de veille sanitaire a été alerté par le CHU de Toulouse de l'apparition de cas de bilharziose uro-génitale chez des sujets n'ayant pas voyagé en zone d'endémie. Cet événement peut surprendre dans un premier temps mais semblait prévisible car la Corse rassemble les conditions nécessaires pour un foyer de transmission.

Le point commun des sujets contaminés a alors été établi, il s'agit en fait de cas de baignade dans la rivière Cavu, en Corse, dans un parc naturel régional. Cette rivière est un lieu touristique très prisé car elle offre de nombreuses piscines naturelles. De ce fait un grand nombre d'habituels ou de touristes viennent s'y baigner en été.

Nous allons voir dans cette deuxième partie comment les cas autochtones ont été découverts et pris en charge. Des recherches ont été menées sur les parasites Corses afin d'établir leurs caractéristiques et il apparaît que certains seraient des hybrides entre deux espèces proches au niveau phylogénétique mais possèdent des spécificités épidémiologiques très différentes. On observera que cette particularité entraîne des modifications que ce soit au niveau du diagnostic ou des capacités du parasite.

D'autre part on s'interrogera sur cette introduction du parasite en Europe et quels sont les phénomènes potentiellement responsables de l'élargissement des zones de distribution des schistosomes.

I. Situation épidémiologique

A. Chronologie

Tout débute en 2014, où des premiers cas de bilharziose uro-génitale ont été mis en évidence chez un groupe de personnes ayant comme dénominateur commun des baignades dans la rivière Cavu lors de l'été 2013. La bilharziose uro-génitale est transmise par l'espèce *S. haematobium* originellement présente dans les zones tropicales. Santé publique France entame alors une campagne de dépistage dont on dénombre à l'issue 106 cas recensés. Parmi ces cas 29% sont des résidents corses, les autres principalement des touristes. La décision est alors prise de fermer le site à la baignade. [21]

En 2015, la rivière est cependant rouverte au public. De nouveaux cas sporadiques sont alors rapportés. Apparaît alors que ces cas de bilharziose seraient en fait autochtones et non issus

d'importation de voyageurs provenant de zone tropicale. Une hypothèse est donc émise : l'éventuelle persistance du cycle parasitaire dans la rivière.

Depuis 2016, neuf nouveaux cas de bilharziose uro-génitale ont été recensés. Ces personnes atteintes ont toutes en lien des baignades dans la rivière du Cavu et/ou de la Solenzara. La rivière Solenzara, également en Corse du Sud, se situe légèrement plus au nord que la rivière Cavu.[22]

Après l'apparition de ces cas, plusieurs possibilités apparaissent. En effet, soit il s'agit d'une implantation du parasite due à un hôte définitif, l'homme, avec la possibilité qu'un voyageur de zone d'endémie atteint, sans signes cliniques et donc sans en être conscient, souille l'eau de la rivière en s'y baignant via l'urine. Soit il y a possiblement persistance du cycle parasitaire avec la présence d'hôtes intermédiaires. Plusieurs études ont mis en évidence la présence d'un hôte intermédiaire de *S. haematobium* : le bulin, dans la rivière.[23]

Les autorités devant le nombre de cas et le caractère autochtone du foyer ont désormais inscrit la bilharziose autochtone sur la liste des maladies à déclaration obligatoire.

B. Situation environnementale

Depuis les premiers cas détectés, une étude de l'environnement a été mise en place. Comme on l'a vu précédemment, après des recherches plus approfondies d'hôtes intermédiaires de *S. haematobium*, il a été mis en évidence un bulin, *Bulinus truncatus*. Et celui-ci n'est pas seulement présent dans la rivière du Cavu où les premiers cas ont été découverts, mais aussi dans celles de la Solenzara, Osu et Tarcu, toutes en Corse du Sud. Il semblerait que l'espèce de mollusque soit particulièrement présente et dense sur l'île.[23]

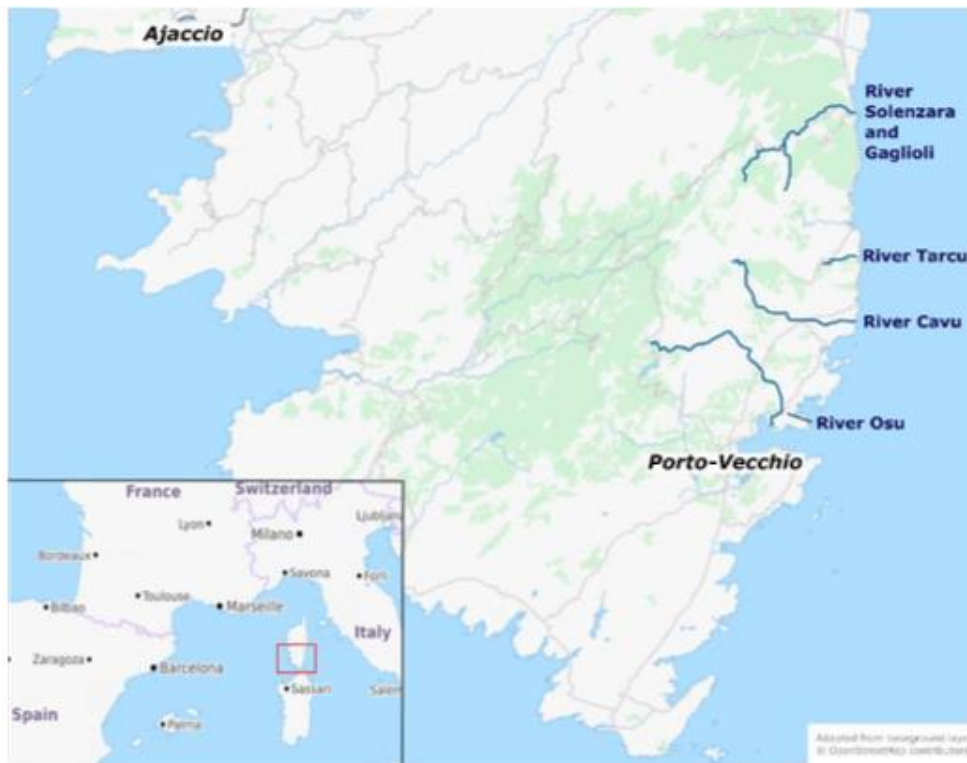


Figure N°31 : Carte des rivières concernées par l'infection en Corse du sud.[23]

Le fait que cette population soit naturellement profuse sur l'île en fait un facteur de premier ordre pour la formation et la propagation d'un foyer de schistosomiase. C'est pour cette raison que quatre à cinq mille bulins ont alors été prélevés chaque année, puis analysés par PCR afin de rechercher une infection par le schistosome. Cependant à ce jour, aucun n'a été trouvé positif.[21][24]

Cependant le GECU, groupe d'expertise collective d'urgence, qui a été chargé de l'expertise met en garde au sujet de l'infestation des bulins. En effet, les bulins collectés ne représentent qu'un infime échantillon de la population vivant dans la rivière et d'autre part il est établi que la plupart des bulins en zone d'endémie ont un très faible taux d'infestation (prévalence d'infestation plus ou moins aux alentours de 1%). Néanmoins, le GECU souhaite mener une enquête malacologique dans tous les cours d'eau corses afin d'établir une cartographie des zones à risque pour de mettre en place un contrôle environnemental régulier.

Dans un avis de l'ANSES, il avait été envisagé une détection du génome du parasite dans l'eau. En effet, l'ADN du schistosome est identifiable dès qu'il est dans l'eau, et ce, jusqu'à une heure après l'infestation du mollusque. Un résultat positif indiquerait la présence du parasite dans la rivière et pourrait de ce fait aider à estimer le risque de contamination des cours d'eaux. Cependant, la recherche d'ADN dite « environnementale » n'est pas une technique encore possible car nécessite des mises aux points et des validation dans les pays endémiques. [25]

II. Prise en charge des patients

Plusieurs mesures ont été prises par les autorités de santé à l'issue de l'analyse de situation. Des stratégies d'information du grand public et des professionnels de santé ont été mises en place avec notamment la diffusion des messages de prévention, des communications aux

professionnels. De plus le haut conseil de la santé publique a recommandé un dépistage massif de toute personne en contact avec le Cavu de 2011 à 2013.

Un plan a été établi à grande échelle, afin de prévenir la survenue de nouveaux cas avec des lignes directives :

- Information de la population sur les modalités de transmission de la bilharziose et incitation de la population concernée à se faire dépister et soigner. Cela concerne les touristes, résidents ou professionnels en contact, même bref, avec l'eau du Cavu.
- Dépistage des travailleurs saisonniers provenant de zones endémiques.
- Information des professionnels de santé de proximité en contact direct avec les touristes (médecins, pharmaciens, infirmières).
- Mise en place d'affiches d'informations sur le risque de transmission de la bilharziose et inciter la population locale à ne pas uriner dans l'eau.
- Mise à disposition de sanitaires sur les bords de la rivière Cavu au niveau des zones de baignades (lutte contre le péril fécal).
- Surveillance environnementale avec un prélèvement hebdomadaire de bulins pendant l'été.[21]

Les professionnels de santé, en particulier les médecins, pharmaciens et laboratoires de la région, ont reçu des directives quant à la démarche à suivre afin d'avoir une prise en charge efficace des patients concernés par l'infection. Les professionnels de santé ont reçu une fiche d'information de la Direction générale de la santé accompagné d'un encouragement de l'ARS à la vigilance face aux symptômes évocateurs et incitent à signaler tout cas suspect. [26]

L'état a donc mis en place un dépistage pour toute personne exposée à la rivière Cavu entre 2013 et 2015. Celui-ci se compose d'une sérologie bilharziose avec un test ELISA et test d'hémmaglutination. Suite à la combinaison des résultats de ces deux tests s'il y a discordance on procédera à un western blot. Il y a une également déclaration obligatoire à remplir par le médecin pour tout cas, probable ou confirmé de bilharziose uro-génitale autochtone, qui sera envoyée à l'ARS de la région de prise en charge.

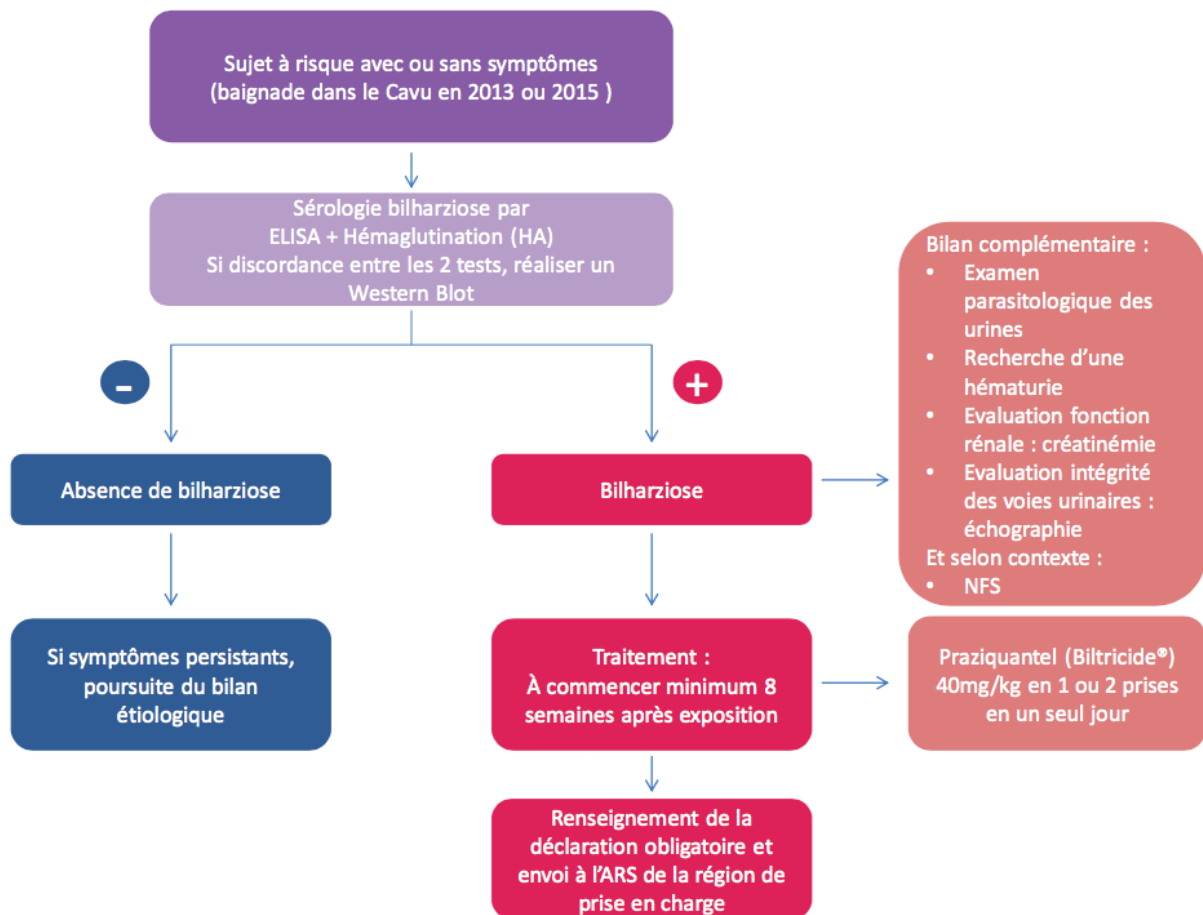


Figure N°32 : Stratégie de prise en charge d'un patient à risque de bilharziose autochtone [27]

Cependant malgré toutes ces précautions le diagnostic de la bilharziose reste complexe. En effet, la plupart des patients ne présentent pas de symptômes caractéristiques de la bilharziose et peuvent être diagnostiqués plusieurs années après l'infection. L'hématurie ayant plusieurs origines possibles on a donc possibilité de passer à côté et les symptômes révélateurs n'apparaissent que des années après.

Santé publique France a communiqué les données collectées lors de ces dépistages. Suite à cette campagne à grande échelle, les chiffres communiqués estiment qu'environ 37.000 tests sérologiques ont été pratiqués.

Sur 54 cas qui ont été testés sérologiquement positifs :

- 35 patients ont été positifs par ELISA et HA puis confirmés par WB ;
- 17 patients, ont eu un seul test de première intention (ELISA ou HA), confirmé par WB, positif ;
- 2 personnes, par recherche des anticorps négative par ELISA et HA, s'est avérée positive uniquement par WB.

Sur 7 cas de bilharziose détectés en 2015-2016, les tests ELISA et HA ont été négatifs pour 2 cas alors que le WB était positif et que l'on a retrouvé des œufs de schistosomes dans les urines ou sur biopsie vésicale.[22]

Une autre étude, menée sur 15 voyageurs italiens suivis pour bilharziose uro-génitale en relation avec une baignade dans le Cavu, a montré :

- 5 cas confirmés : sur la base d'un test Western blot positif. Quatre patients étaient asymptomatiques. Cependant les 5 ont été testés négatifs pour les œufs de *S. haematobium* dans les échantillons d'urine, et négatifs aux tests d'immunofluorescence indirecte.
- 2 cas probables : positivité d'un test sérologique (ELISA ou IF).
- 8 cas possibles : définis sur la base de signes ou de symptômes évocateurs de schistosomiase (symptômes urogénitaux, hématurie macroscopique et ou hyperéosinophilie). Les trois ont été exposé plusieurs années à la rivière Cavu, y compris en 2013.

Ces 15 cas peu importe qu'ils soient confirmés, probables, ou possibles ont reçu un traitement. [28]

Le traitement cible prioritairement toute personne pour laquelle la recherche diagnostique a été positive par sérologie PCR ou WB, examen parasitologique des urines (EPU) ou PCR sur les urines. La décision revient au médecin, s'il le juge nécessaire, après risque d'exposition et symptômes apparents. La prise en charge des patients une fois le diagnostic positif est médicamenteux : Praziquantel 40 mg/kg en 1 seule prise unique.

Un contrôle parasitologique de contrôle doit être effectué à 3, 6 et 12 mois après traitement. On fera la confirmation par PCR ou un examen parasitologique des urines à la recherche des œufs. En cas d'observation d'œufs vivants ou de forte infestation, une seconde dose pourra être prescrite.

La gestion du risque s'articule donc autour de 4 grands axes. Premièrement une surveillance innovante de l'environnement et des mollusques infectés, deuxièmement, une sensibilisation des professionnels de santé Corse, troisième axe, l'information du grand public, et dernier axe réalisation d'aménagements autour du site pour réduire la transmission. [26]

III. Hybride Corse *S.bovis/haematobium*

Classiquement, l'homme est affecté par des souches pures décrites précédemment. En particulier la bilharziose urinaire est transmise par *S. haematobium*, cependant on voit apparaître l'émergence de souches hybrides depuis quelques années.

En effet, des espèces hybrides entre *S.haematobium* et *S.mattheei* ont été observées dans le sud-est de l'Afrique ou entre *S. haematobium* et *S bovis* décrites en Afrique de l'ouest, plus précisément au Sénégal et au Nigeria. [21] Ces hybrides entraînent probablement des changements épidémiologiques comme le mode de transmission ou encore l'augmentation du nombre d'hôtes intermédiaires.[28] En Corse il apparaît, après analyses, que le parasite incriminé dans la transmission de la bilharziose urinaire semble être un hybride entre *S. haematobium* et *S.bovis*.

Un hybride par définition résulte du croisement entre deux individus hétérozygotes appartenant à des espèces différentes. L'hybridation est un mécanisme évolutif majeur et permet une grande diversification.

Nous associons souvent l'idée d'hybrides à leur progéniture moins apte que les parents, peu viable voire même stérile, alors que certains peuvent surpasser leurs parents en présentant une croissance, un potentiel reproducteur voire une survie accrue. On appelle ce phénomène vigueur hybride ou encore « hétérosis ».[22]

Des cas d'hybridations naturelles entre espèces de schistosome ont déjà été analysés chez l'homme que ce soit entre différentes espèces de schistosomes spécifiques à l'homme, entre des espèces de schistosomes spécifiques à l'animal ou entre les espèces de schistosomes spécifiques à l'homme et spécifiques à l'animal :

- *S. mansoni* et *S. rodhaini* (agent de la bilharziose de rongeurs) au Kenya
- *S. mansoni* et *S. haematobium* au Sénégal
- *S. haematobium* et *S. guineensis* au Bénin ou au Cameroun.

Les analyses moléculaires menées sur le parasite hybride identifié en Corse, semblent indiquer une origine Sénégalaise du parasite hybride. [10] Étant donné que les espèces de Schistosomes sont co-endémiques, les co-infections au sein d'un même hôte sont possibles et peuvent de ce fait amener à une hybridation.

Des scientifiques de l'université de Perpignan ont analysé la composition génomique de cet hybride grâce à un séquençage global du génome des parasites adultes. D'autre part, ils ont réalisé une étude sur des « traits d'histoire de vie » du parasite c'est-à-dire la morphologie des œufs et la compatibilité du parasite avec les hôtes intermédiaire. [30]

Tout d'abord on va se pencher sur l'étude du génome. Les scientifiques ont étudié la composition génomique des hybrides et ont déterminé un mélange entre les espèces parentales avec des séquences d'origine de *S. haematobium* de 77% et *S. bovis* 23%. Le séquençage du génome entier montre une introgression de *S. bovis* dans *S. haematobium*. [31]

Cette étude s'est effectuée sur la base de deux marqueurs génétique : un gène nucléaire (ITS2) et un gène mitochondrial (COI). Ces 2 marqueurs populaires d'analyse moléculaire sont très utilisés en phylogénie des eucaryotes.

Le gène ITS2 est « l'espaceur interne transcrit » ou, Internal transcribed spacer, en anglais. C'est une portion de l'ADNr située entre les gènes de la petite et de la grande sous-unité de l'ARNr. Il y a un fort taux de mutation c'est pour cela que ce marqueur ne peut être utilisé pour l'études d'espèces très éloignées mais est un marqueur de choix pour des analyses phylogénétiques entre espèces voisines. Ce marqueur peut être hérité des deux parents.

La COI ou cytochrome oxydase sous unité 1, est une enzyme de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ce marqueur est intéressant car il ne peut être transmis que par la mère.

Pour les Schistosomes, les hybrides sont fréquents notamment en l'Afrique de l'Ouest où ils sont déjà une réelle préoccupation pour la santé humaine.

En Europe cependant, c'est la première fois qu'un hybride est impliqué dans une épidémie. L'inquiétude concernant les cas en Corse est liée au statut d'hybride qui pourrait accroître les capacités invasives et adaptatives de l'espèce.

La souche hybride maintenue en laboratoire a été récupérée chez un seul patient infecté en 2013. Ensuite, elle a été maintenue en laboratoire chez des escargots, hôtes intermédiaires, *Bulinus truncatus* et chez des hamsters dorés, *Mesocricetus auratus*, en tant qu'hôte définitif.[31]

Pour explorer les conséquences de cette hybridation, des chercheurs de l'université de Perpignan effectuent des croisements expérimentaux pour produire des hybrides réciproques de première génération entre *S. haematobium* et *S. bovis*, qui partagent tous deux la moitié du génome de leurs parents mais diffèrent selon leurs allèles hérités maternels ou paternels. Les hybrides sont F1, issus du croisement femelle *S. haematobium* x mâle *S. bovis* ; et F1' issus d'une femelle *S. bovis* x mâle *S. haematobium*. [32]

Les gènes nouvellement assemblés de *S. haematobium* et *S. bovis* ont été fusionnés dans un transcriptome unique de 77 427 contigs. Les chercheurs ont donc séquencé l'ARN et comparé les transcriptomes hybrides avec ceux des espèces parentales pures. Parmi ces séquences, 9 821 gènes ont été défini comme communs aux deux espèces, contre 29 569, et 28 216 gènes définis comme spécifiques à *S. haematobium* et *S. bovis* respectivement.

De plus d'après les analyses il ressort d'un grand nombre de gènes sont affectés par l'hybridation comme on peut le voir dans le tableau ci-dessous.

Comparison		Nb. of differentially expressed genes		
		Males	Females	Common between sexes
<i>S. haematobium</i> vs. <i>S. bovis</i>	Total:	32 911	35, 542	26,776
	Up:	16,717	15,983	12,719
	Down:	16,194	19,559	13,997
<i>S. haematobium</i> vs. F1	Total:	16, 267	20, 141	12,854
	Up:	3,045	6,973	2,168
	Down:	13,222	13,168	10,600
<i>S. haematobium</i> vs. F1'	Total:	23, 524	16, 178	12,910
	Up:	7,808	4,658	3,194
	Down:	15,716	11,520	9,601
<i>S. bovis</i> vs. F1	Total:	10, 877	18, 445	7,906
	Up:	1,789	6,926	992
	Down:	9,088	11,519	6,786
<i>S. bovis</i> vs. F1'	Total:	19, 572	18,609	11,765
	Up:	7,162	6,083	2,805
	Down:	12,410	12,526	8,858
F1 vs. F1'	Total:	1,867	4, 967	420
	Up:	955	2,636	185
	Down:	912	2,331	145

Tableau N°2 : Nombre total de gènes différentiels exprimés dans l'approche comparative des espèces de Schistosomes [32]

Les hybrides de première génération bénéficient d'un tout nouvel ensemble d'allèles provenant de la combinaison des deux espèces parentales. Fait intéressant, nous avons trouvé un enrichissement significatif des gènes différentiellement exprimés impliqués dans la réponse au stimulus et en particulier la réponse au stress suggérant ainsi l'importance du stress occasionné par la rencontre de ces deux génomes d'espèces de schistosomes. En conséquence, les éléments génétiques mobiles tels que les transposons ont été trouvés surexprimés dans les hybrides par rapport aux parents.

Les résultats mettent en évidence au niveau génomique un mélange complexe de génomes parentaux qui montrent la forte perméabilité des schistosomes aux allèles d'autres espèces.

D'autres études ont cherché à cartographier des génomes mitochondriaux. Celles-ci ont montré des résultats avec 97,8% des lectures sur le génome mitochondrial de *S. bovis* et 2,2% sur le génome mitochondrial de *S. haematobium*. Il se trouve qu'on a 98,3% des lectures d'origine mitochondriale alignées sur *S. bovis*. Ce résultat peut être cohérent avec une hérédité maternelle du génome mitochondrial.[31]

IV. Traits d'histoire de vie

Les études se penchent plus particulièrement sur les modifications de « traits d'histoire de vie » qui correspondent à la distribution des événements majeurs au cours de la vie d'un individu qui sont directement liés à sa reproduction et sa survie (par exemple taille, âge de la progéniture etc...).

Dans notre cas, les études s'intéressent aux possibles modifications des traits d'histoire de vie liés à l'interaction du parasite avec l'hôte définitif expérimental (dans les expériences le hamster). Ils ont donc mesuré les capacités infectieuses et la virulence de ces parasites hybrides par rapport aux espèces parentales pures en se penchant sur l'étude de :

- l'infectiosité des cercaires ;
- la pathologie induite chez l'hôte définitif, le hamster doré ;
- la fécondité du parasite adulte ;
- la morphologie de l'œuf et la taille.

Ce dernier trait est particulièrement important car la morphologie de l'œuf est le principal outil de diagnostic utilisé pour évaluer l'espèce à l'origine de l'infection mais provoque également la pathologie.

On peut déjà observer les caractéristiques qui reflètent la plus grande proportion du génome de *S. haematobium* par rapport à *S. bovis* :

- le morphotype des œufs ;
- les cercaires qui sortent l'après midi ;
- le tégument des vers (spicules).

A. Les œufs hybrides

L'enquête parasitologique classique de la schistosomiase est tout d'abord basée sur la morphologie des œufs. En effet, ceux-ci sont typiques et morphologiquement singuliers suivant l'espèce de schistosome.

En 2013, des œufs ont été récupérés à partir de l'urine des patients contaminés durant l'infection. On a retrouvé deux morphotypes :

- un morphotype rond à ovale (elliptique ou allongée) avec un éperon terminal typique de *S. haematobium*
- un morphotype intermédiaire entre ovale et allongé/losangique avec un éperon terminal non caractéristique de *S. haematobium*.

Un total de 44 œufs enkystés a été prélevé à partir des foies des hamsters, infectés par l'hybride européen, et ils ont été examinés pour une caractérisation morphologique.

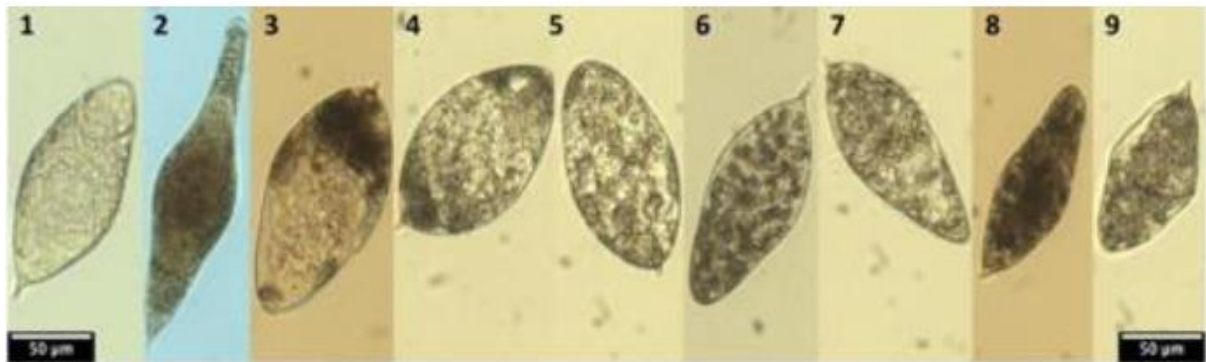


Figure N°32 : Morphologie des œufs chez les espèces pures et chez les espèces hybrides *S. haematobium* x *S. bovis*. [31]

Dans la figure ci-dessus on retrouve en 1 la morphologie typique de *S. haematobium* et en 2 celle de *S. bovis*. Les œufs de 3-9 représentent les hybrides Corses. Parmi eux, certains ont les caractéristiques typiques de *S. haematobium* (3-7) tandis que d'autres ont une morphologie tout à fait particulière (8-9). Le fait de retrouver majoritairement les œufs semblables à l'espèce *S. haematobium* est donc cohérent avec les niveaux d'introggression qui montrent justement une prédominance des séquences de *S. haematobium*.

Pour affiner ses observations d'autres équipes ont fait le génotype des œufs à l'aide des 2 marqueurs ITS2 et COI. On a retrouvé 41% des œufs hybrides contre 58% forme pure de *S. haematobium* et seulement 1% de *S. bovis*.

Au niveau de la taille, la longueur et la largeur ont également été mesurées et comparées et les résultats sont significativement les mêmes entre les espèces hybrides et les espèces pures. Après ces constatations, on peut dire que l'analyse des œufs, qui est l'outil de diagnostic principal, n'est pas un très bon indicateur et ne permet en aucun cas un diagnostic différentiel. En effet, les œufs des espèces hybrides sont très similaires aux œufs des espèces « pure » donc un diagnostic parasitologique basé sur la morphologie des œufs peut entraîner des diagnostics erronés et peut être même mener à des résistances de traitement.

D'autre part, les chercheurs ont été plus loin et ont fait des expériences de croisement d'espèces afin d'analyser certains paramètres. Ainsi on voit que le sexe et l'espèce du vers impliqué ont des conséquences sur la morphologie des œufs. Les expériences menées en laboratoire montrent (figure ci-après) des œufs hybrides produits par des croisement entre une femelle *S. haematobium* et un mâle *S. bovis*. Ces œufs ont une morphologie type de *S. haematobium* : de forme ovalaires avec une coque simple, incolore, et un éperon terminal.

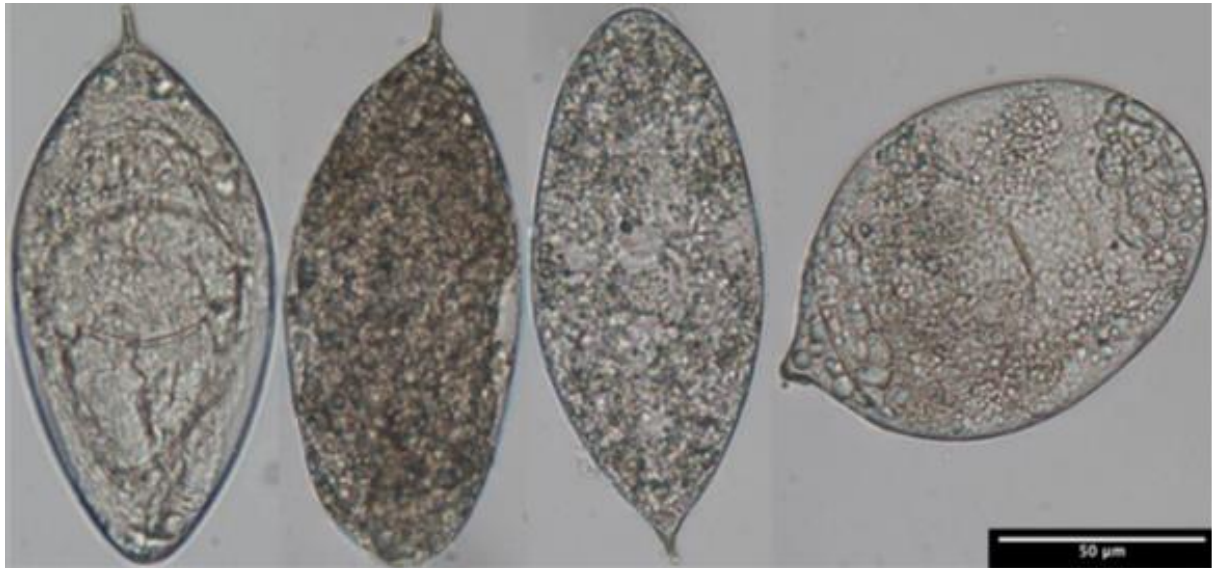


Figure N°33 : œufs hybrides (femelle *S. haematobium* x mâle *S. bovis*)

A l'opposé, on va voir ci-dessous les œufs hybrides produits par croisement de *S. bovis* femelle et *S. haematobium* mâle. La forme ici, un renflement central et les extrémités effilées en fuseau avec éperon terminal, correspond aux caractéristiques de *S. bovis*. [32]

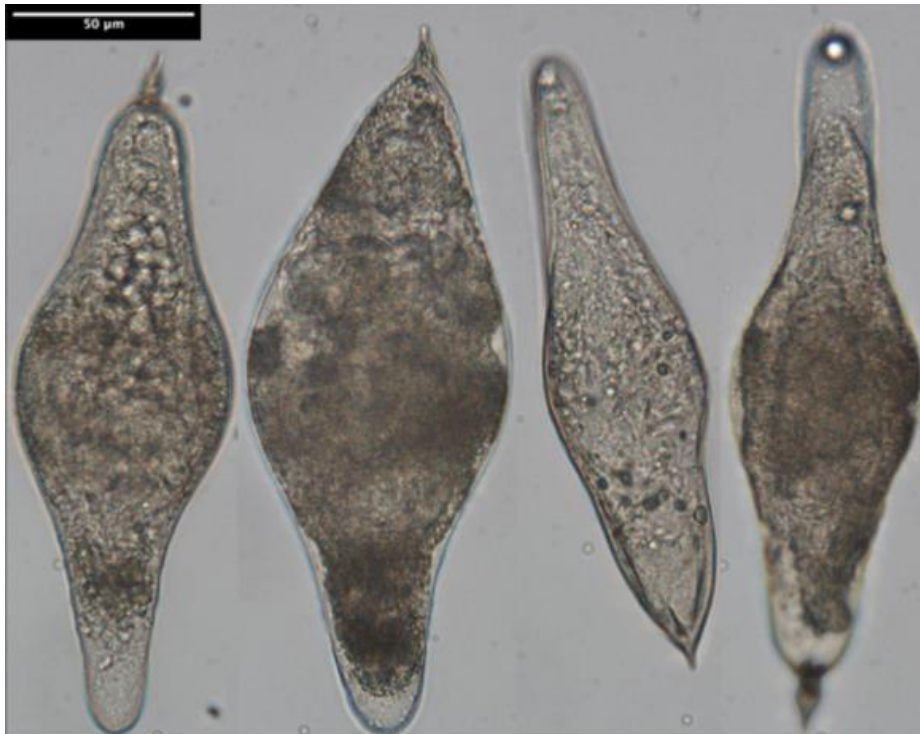


Figure N°34 : œufs hybrides (femelle *S. bovis* x mâle *S. haematobium*)

Pour conclure cette comparaison morphologique des œufs, cela laisse supposer que ce serait l'espèce maternelle qui déterminerait la morphologie des œufs en produisant la coquille.

B. Pouvoir infectant des cercaires et prolificité du parasite adulte

Toujours dans l'étude de cette capacité « hétérosis » hybride, des études ont cherché à mesurer le pouvoir infectant des cercaires qui représente un aspect important du caractère invasif du parasite.

Comme précédemment l'étude a pour point de départ des hybrides :

- F1 issus de *S. haematobium* femelles et *S. bovis* males
- F1' issus inversement de femelles *S. bovis* et males *S. haematobium*.

Des femelles hamsters saines ont été utilisées comme témoins (n = 6).

Les chercheurs de l'étude ont utilisé les cercaires d'hybrides réciproques F1 et F1' pour venir infecter une population de hamsters dorés. Après perfusion portale hépatique, ils ont mesuré l'infectiosité des cercaires en comptant le nombre de vers adultes récupérés par rapport au nombre total de cercaires (n = 600) utilisées pour l'infestation. Les organes, la rate et le foie, ont été récupérés et analysés.

Le nombre d'œufs piégés dans le foie de hamster infecté ont été analysés et permettent l'évaluation de la prolificité féminine. On a relevé le nombre moyen d'œufs produits par jour et le nombre d'œufs produits par jour et par femelle (tableau ci-après).

L'hépto-splénomégalie induite par l'infection des schistosomes a également été évaluée en mesurant le rapport entre la rate ou le foie des hamsters et leur poids corporel total.

Tous les résultats sont concentrés dans le tableau suivant.

Parameters	<i>S. bovis</i> n=6	<i>S. haematobium</i> n=6	F1 n=5	F1' n=5	Healthy hamsters n=6
Cercariae infectivity	111 ± 40 SD (19%)	129 ± 17 SD (21%)	207 ± 195 SD (38%)	162 ± 63 SD (30%)	-
Number of couples	52 ± 20 SD	46 ± 11 SD	81 ± 75	70 ± 34 SD	-
Sex-ratio (males/females)	0.99 ± 0.21 SD	0.74 ± 0.43 SD	1.15 ± 0.46 SD	1.46 ± 0.78 SD	-
Number of eggs per female	2,291 ± 467 SD	1,249 ± 659 SD	6,442 ± 7,602	1,013 ± 491 SD	-
Number of eggs per day	2.084 ± 1081 SD	936 ± 453 SD	4,194 ± 2090 SD	1,038 ± 259 SD	-
Number of eggs per day per female	38 ± 8 SD	21 ± 11 SD	110 ± 124 SD	17 ± 8 SD	-
Splenomegaly	0.0024 ± 0.0006 SD	0.0016 ± 0.0003 SD	0.0041 ± 0.0006 SD	0.0041 ± 0.0028 SD	0.0011 ± 0.0001 SD
Hepatomegaly	0.044 ± 0.002 SD	0.044 ± 0.0052	0.047± 0.007 SD	0.051± 0.010 SD	0.038 ± 0.003 SD

Les résultats montrent :

- Pour l'infectivité des cercaires :

Le nombre moyen de vers adultes récupérés représentent : 19% pour *S. bovis* et 21% *S. haematobium* et 38% pour l'hybride F1 et 30% pour F1', en pourcentage du total des cercaires utilisés (n=600).

On observe, à travers ces données, un pouvoir infectant qui semble supérieur chez les hybrides de première génération. Cependant les résultats sont à approfondir étant donné le nombre restreint de sujets infectés : 6 hamsters pour les lignées pures et 5 hamsters pour les hybrides (car 2 sont mort prématurément pour les lignées F1 et F1'). Il n'y a donc pas réellement de différence significative ici, néanmoins, les résultats de l'expérience suggèrent une infectiosité accrue chez l'hybride qu'il serait intéressant de vérifier.

Il faut noter que certaines études précédemment menées sur d'autres types d'hybrides (*S. intercalum*, *S. mattheei*) avaient démontré une capacité infectieuse supérieure de l'hôte expérimental pour l'hybride.

- Pour la reproduction des femelles :

Les résultats sont basés sur le nombre d'œufs récupérés dans le foie des hamsters. Responsables principaux de la maladie, on considère que environ 50% des œufs restent piégés dans les tissus de l'hôte.

Le nombre moyen d'œufs produits par jour ainsi que, le nombre d'œufs produits par jour et par femelle, ont été évalués en considérant que les femelles commencent à pondre environ 30 jours après les infestations.

On observe immédiatement dans le tableau que le nombre d'œufs par jour et par femelles est de 110 ± 124 œufs pour F1. Ces chiffres surpassent largement les espèces parentales : 38 ± 8 œufs pour *S. bovis* et 21 ± 11 œufs pour *S. haematobium* ; mais aussi l'hybride F1' : 17 ± 8 œufs par jour et par femelles. Ces chiffres font échos à ceux obtenus pour le nombre d'œufs par femelle.

Ces résultats concordent avec ceux précédents concernant l'infectiosité des cercaires. En effet, si plus de vers adultes se développent chez l'hôte, la quantité d'œufs pondus et qui s'accumulent dans les tissus sera augmentée. Il semble donc que le potentiel prolifératif des femelles soit augmenté chez certains types d'hybrides. Cependant cette asymétrie entre les hybrides soulèvent des interrogations.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises, comme le fait que l'hybridation augmente les performances des œufs à migrer vers le milieu extérieur, ou bien, que les œufs s'accumulent de façon ectopique dans d'autres tissus. Cette deuxième supposition est renforcée par le fait que les chercheurs ont observés un grand nombre d'œufs dans les muqueuses intestinales des espèces infectées par F1'. Rappelons que le tropisme des espèces *Haematobium* et *Bovis* est différent. Dans les conditions classiques, les mâles amènent les femelles sur leur site de ponte : vaisseaux urogénitaux pour *S. haematobium* et veines mésentériques pour *S. Bovis*. Cependant le tropisme des espèces hybrides est encore inconnu et dépend peut être du niveau d'introgression des parasites.[32]

L'estimation de la prolificité basée uniquement sur le foie a donc des limites et semble ne pas refléter avec précision cette prolificité féminine.

- Pour les signes cliniques de la pathologie chez l'hôte :

La répercussion de l'infection des schistosomes se traduit par une clinique classique : hépatomégalie et/ou splénomégalie. La prolifération excessive du foie et de la rate est directement liée à l'accumulation d'œufs dans les tissus et à la réaction inflammatoire et immunitaire locale qui en découle.

En comparaison des témoins sains, seuls les hamsters infectés par des hybrides présentaient une splénomégalie induite significative. De plus, même si elle n'est pas statistiquement significative on observe une hépatomégalie chez tous les hamsters infestés par rapport aux sujets sains.

On peut donc se demander si les infections hybrides peuvent être plus graves chez l'homme que celles liées aux espèces pures.

C. Compatibilité de l'hybride et de l'hôte intermédiaire

Le fait que le génome hybride contienne 23% des séquences génétiques de *S. bovis* on peut voir émerger l'hypothèse d'une infestation plus large aux niveaux des vecteurs intermédiaires. On peut se demander alors, si l'hybride peut infester l'escargot vecteur de *S. bovis* : *Planorbarius metidjensis* .

Première expérimentation, le schistosome hybride corse naturel récupéré n'a pas infecté la souche de laboratoire de *Planorbarius metidjensis*, mais a montré des niveaux élevés de compatibilité avec *Bulinus truncatus*. Ce qui peut paraître cohérent avec la prédominance des séquences génomiques de *S. haematobium* dans cet hybride (77%).[31]

Pour tester de façon plus approfondie l'hypothèse d'une infestation sur un plus grand nombre de vecteurs, les chercheurs ont réalisé des expériences d'infections expérimentales avec les escargots *Planorbarius metidjensis* (n = 40) et *Bulinus truncatus* (n = 40), respectivement les hôtes naturels de *S. bovis* et de *S. haematobium*. Les mollusques ont été exposés individuellement pendant la nuit à 5 miracidies issues de la souche parasite corse maintenue en laboratoire. Ensuite, 35 jours après l'infestation les mollusques vont être contrôlés quant à leur émission de cercaires.

La prévalence chez *Bulinus truncatus* était de 24% (9 escargots infectés sur 37 vivants) alors que chez *Planorbarius metidjensis* la prévalence était de 0% (0 escargots infectés sur 29 vivants). L'hybride européen semble donc compatible avec les hôtes naturels de *S. haematobium*, *Bulinus truncatus*, mais pas avec *Planorbarius metidjensis*, hôte de *S. bovis*. [31]

Il existe également en Corse d'autres mollusques présents en abondances dans les rivières comme *Potamopyrgus sp.* sur les mêmes sites que les bulins. Les experts s'interrogent donc sur la capacité des hybrides à infester ces mollusques qui ne font pas partie des Planorbiadae (hôtes habituels des schistosomes). Il semblerait donc intéressant de faire des essais en laboratoire sur les capacités d'infestation.[21]

D'autres travaux de confirmation restent cependant nécessaires pour affirmer que l'hybridation permet de rompre ou pas cette spécificité d'hôte.

V. Conséquences de l'hybridation

Une augmentation des capacités infectieuses, « hétérosis », pourrait expliquer l'émergence de la bilharziose en Corse, en conférant au parasite des aptitudes d'adaptation particulières.

La principale conséquence qui nous apparaît est que l'hybridation entre les deux espèces de parasite peut altérer le diagnostic parasitologique.

À première vue, la morphologie et la localisation des œufs dans l'urine des patients infectés en Corse suggèrent fortement une infection à *S. haematobium*. Cependant, comme nous l'avons évoqué précédemment, il faut prendre en compte que les vers adultes de *S. haematobium* vivent au niveau des capillaires péri-vésicaux et que les œufs sont évacués via l'urine des patients infectés. Alors que l'on retrouve *S. bovis* dans les veines mésentériques et ses œufs sont libérés via les fèces. La question se pose alors : où sont donc évacués les œufs de la forme hybride ? Nous pouvons supposer que pour le parasite hybride, des œufs puissent également être libérés, en partie, dans les fèces. Ce qui pourrait expliquer pourquoi ils sont non détectés au diagnostic et compliquer l'identification du pathogène.

D'autre part, on a déjà vu dans le cycle parasitaire que chez les schistosomes, la rencontre entre le mâle et la femelle se réalise au niveau de la veine porte, puis les deux vers accouplés

se dirigent vers le site de ponte. C'est le mâle qui va diriger la femelle logée dans son canal gynécophore. Certaines études supposent que lors d'une hybridation de première génération, le mâle d'une espèce donnée conduit la femelle de l'autre espèce vers son propre site de reproduction. Le choix du site de ponte pour les hybrides suivants pourrait alors dépendre du niveau d'introgression génétique. Cette hypothèse renvoie aux études réalisées au Sénégal sur des hybrides naturels de n^{ième} génération, qui montrent que les œufs peuvent être libérés indifféremment dans les urines et/ou les selles.[29]

On peut donc se questionner sur les cas Corses où seules les urines ont été collectées pour le diagnostic parasitologique. En effet, les analyses montrent 38 patients corses diagnostiqués séropositifs, mais chez seulement 6 d'entre eux des œufs ont été retrouvés dans les urines. [29] Pour expliquer ces chiffres, on peut supposer que les patients aient été infectés par des souches pures avec une charge parasitaire très faible. Mais néanmoins, la possibilité que des œufs issus de la forme hybride, soient évacués par les fèces (non analysées) et donc non découverts au diagnostic est fortement envisageable.

D'autre part, l'hybridation peut avoir des conséquences sur le mode de transmission. Les hybridations entre espèces ne sont pas rares mais quand elles se font entre une espèce spécifique à l'homme et une spécifique à l'animal elles deviennent plus préoccupantes. En effet, elles peuvent entraîner l'émergence de nouvelles souches zoonotiques ce qui implique de nouveaux réservoirs animaux. Ces changements de réservoirs risquent d'impacter sur le maillage géographique de la pathologie et impliquer de nouvelles zones, ce qui semble être le cas en Europe du Sud.

Pour finir, l'hybridation pourrait également amener des complications pour le traitement de la pathologie. En effet, le Praziquantel, traitement exclusif, est à ce jour étudié que sur des souches pures. Si les formes hybrides du parasite développent des résistances à cette chimiothérapie, le contrôle de l'infection parasitaire pourrait de ce fait être compromis.

VI. Réservoir animal

A l'heure actuelle, les chercheurs sont persuadés de l'existence d'un réservoir humain et ou animal. En effet, la persistance de l'infection en Corse d'une année à l'autre, et pendant une période de plusieurs années, rend impossible que le mollusque soit seul responsable de la propagation. Un mollusque parasité ne peut pas vivre aussi longtemps et donc cela laisse supposer un réensemencement par un autre hôte du parasite. Cet hôte est obligatoirement un mammifère que ce soit un homme ou un animal. L'hypothèse du réservoir humain semble la plus probable, qu'il soit local, ou issu de voyageurs touristes. Cependant, l'hybridation du parasite soulève le doute et mène à craindre une transmission zoonotique.

Comme on l'a déjà vu précédemment, *S. haematobium* est spécifique de l'homme alors que *S. bovis* infecte le bétail (bovins, ovins, caprins, équidés), ruminants sauvages et même les rongeurs. Une étude a été mise en place afin d'identifier si ces animaux (bétail, rongeurs sauvages) peuvent être des hôtes réservoirs de schistosomes zoonotiques en Corse.

Cette étude a été financée par l'ANSES et menée en collaboration avec l'école vétérinaire d'Alfort et l'INRA de Corse. Cela comprenait, une enquête séro-épidémiologique à grande échelle sur les ruminants de la région, où plus de 3000 animaux ont été dépistés (via tests

ELISA) que ce soit des ovins, bovins, ou caprins. De plus, une campagne de piégeage des rongeurs a été menée à proximité de Cavu, où la transmission de la schistosomiase persiste chaque année. Cependant aucune des deux études n'a permis de trouver l'origine du réservoir.[22]

Il semblerait donc qu'il n'y ait pas de bilharziose bovine en Corse-du-Sud ou, qu'elle soit passée entre les mailles du dépistage, ce qui est fort possible. En effet, on dénombre plus de 200 000 têtes (porcins, bovins, ovins, caprins) dans les exploitations d'élevage sur l'île de Beauté, d'après les chiffres de la chambre de l'agriculture Corse. Il est également très difficile de dépister correctement car aucun abattoir ne vérifie la présence du parasite chez les animaux.

Au Sénégal, des souris de type *Mastomys huberti* ont été identifiées comme infectées par la même souche hybride que celle trouvée en Corse. Ceci a donc suscité l'interrogation quant au rôle de ces petits mammifères dans la transmission et la persistance du parasite. Une campagne de piégeage sur les rongeurs des environs du Cavu, en particulier chez le rat noir, *Rattus rattus*, a été mise en place. En 2015 ils n'obtiennent aucun résultat probant, puis en 2018 seulement deux animaux infectés ont été découverts, ce qui laisse supposer une contamination hasardeuse. De plus, certaines caractéristiques de vie de l'espèce semblent réfuter que cet animal soit en cause dans la transmission. En effet, *Rattus rattus*, vit dans un petit territoire, un périmètre de quelques kilomètres carrés qui correspondent à quelques centaines de mètres seulement parcourus. Ceci semble contradictoire avec la contamination de plusieurs rivières par le parasite. En effet, le Cavu et la Solenzara sont des cours d'eaux distants d'une trentaine de kilomètres l'un de l'autre. [21] Une autre espèce de rat est à l'étude *Rattus norvegicus*, qui elle fait des déplacements journaliers de quelques kilomètres.

Toutefois, il faut penser à élargir les horizons, il peut être intéressant de rechercher d'autres espèces animales ayant des contacts avec l'eau et vivant à proximité du Cavu dans la faune sauvage locale par exemple. Hérissons, belettes, cerfs ou encore les mouflons corse, *Ovis musimon*, peuvent être autant de candidats à la dissémination du parasite. Il faudrait donc des essais en laboratoire pour tester expérimentalement si la souche hybride peut contaminer ces espèces.

VII. Hypothèses d'évolution

La première interrogation qui se pose, est la possibilité de la persistance des schistosomes dans nos régions méditerranéennes, beaucoup plus froides en hiver que les régions tropicales d'origine de ces espèces. La capacité d'une persistance autochtone du cycle parasitaire soulève donc des interrogations mises à l'étude.

En Corse, si les températures sont clémentes durant l'été (jusqu'à 30°) les rivières sont bien plus fraîches que les eaux en zone tropicale. En hiver, les relevés montrent que la température du Cavu descend à 7-8°C ce qui est impossible en zone tropicale. L'hypothèse de la persistance du cycle se base sur deux possibilités. Comme on l'a déjà évoqué, cela dépend soit d'un réensemencement de schistosomes dans la rivière chaque début d'été par l'homme (peu probable), soit, certaines larves de schistosomes survivent en hiver au sein de leurs hôtes escargots. Cette seconde supposition implique que les mollusques locaux infectés survivent à basse température et que les schistosomes au sein de leurs hôtes survivent également.

Une étude financée par l'ANSES a donc été menée en laboratoire, visant à exposer expérimentalement des mollusques infectés à des températures d'eau froides qui représentent les conditions hivernales des régions tempérées.

Pour ce faire ils ont exposé des mollusques, *Bulinus truncatus*, issus d'Espagne (n= 500) et de Corse (n=500), à des miracidies de *S. haematobium* pour les bulins espagnols et des hybrides *S. haematobium/S. bovis* isolés à partir des cas de bilharzioses autochtones pour les Corses. Ils ont récupéré seulement les mollusques parasités et par comparaison, ont utilisé un lot de mollusques sains. Ils ont également comparé mollusques européens à une souche de *B. truncatus* Camerounaise pour évaluer les différentes capacités d'adaptation. L'expérience s'est déroulée en exposant des mollusques à un protocole de températures de 4°C, 8°C, 16° (températures hivernales) et 24°C (température témoin) pendant 14 semaines.[24]

Les résultats ont démontré plusieurs points intéressants. Tout d'abord, les résultats montrent que *B. truncatus* résiste aux températures froides mais que les escargots de la région tempérée (Corse et Espagne) résistent mieux que les escargots de la région tropicale (Cameroun). Les escargots tropicaux du Cameroun arrivent à survivre pendant plusieurs semaines à 16 ° C, température est bien inférieure à celle que connaissent les populations naturelles du Cameroun (supérieure à 29 ° C).

D'autre part, à 24°C, température de l'eau optimale pour les mollusques, le taux de survie est inférieurs chez les mollusques infectés par rapport aux mollusques sains, conséquence d'un développement parasitaire normal.

À 4°C, que les mollusques soient sains ou parasités la mortalité est très importante. Chez les escargots sains entre 42-100% de mortalité selon la souche et chez les individus infectés entre 58-67% selon la souche. [21]

À 8°C et 16°C les taux de survies sont significativement les mêmes que ce soit chez les mollusques sains ou infectés avec quand même un taux élevé de 80% de survie. Cela signifie que l'infection à schistosomes n'entraîne pas de conséquence supplémentaire au froid sur les escargots. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'à ces températures, les schistosomes entrent en diapause pour passer l'hiver et que l'effet possible des schistosomes sur leurs hôtes est ainsi limité.[24]

Sachant que les températures hivernales du Cavu avoisinent des 7-8°C, on peut donc déduire que les mollusques survivent aux températures hivernales.

Par ailleurs, un autre point crucial a été démontré dans cette expérience. Après les 14 semaines, à 8 et 16°C, les mollusques ont été lentement acclimaté à des températures qui remontent progressivement jusqu'à 24°C afin de mimer les conditions climatiques usuelles. Tous les mollusques infectés se sont alors remis à émettre des Cercaires et ceux-ci ont conservé toutes leurs capacités infectieuses (expériences menées sur un hôte expérimental, le hamster).

On peut donc supposer que le froid bloque le développement du parasite qui ne meurent pas et resterait latent dans son hôte intermédiaire à des températures de 8°C. On peut donc supposer une persistance du parasite pendant l'hiver avec une latence et une reprise du cycle en été.

D'autre part, les chercheurs étudient l'impact du réchauffement climatique sur l'évolution de la bilharziose. En effet, la montée du parasite en latitude semble directement lié aux changements climatiques et l'évolution des températures dans les pays tempérés. [33]

L'augmentation de la température des eaux douces rend l'environnement propice à l'installation du cycle parasitaire, les rivières corses ont vu leurs températures s'élever de 1 °C au cours des 50 dernières années. [29]

Ces changements globaux, anthropiques et environnementaux que ce soit la mondialisation, le changement climatique, les transports et autres ont des conséquences sur l'élargissement de la distribution des espèces. Ces facteurs peuvent contribuer à ces modifications géographiques de la répartition et de la niche écologique de l'espèce et de ce fait avoir un impact sur le contrôle de la pathologie.

PARTIE 3 : Moyens de lutte et perspectives de traitement

I. Lutte contre le vecteur : le mollusque

A. Le mollusque

Les mollusques sont encore trop peu étudiés malgré leur importance notoire dans la transmission de pathologies humaines. Déjà évoqués dans la première partie de cette thèse, on va approfondir à la suite ces notions sur les mollusques. On va notamment étudier ici les caractéristiques morphologiques et biologiques d'une classe spécifique de mollusque que sont les Bulins, vecteurs de *Schistosoma haematobium*.

Les bulins sont des mollusques gastéropodes testacés aquatiques. Le mot « gastéropode » se compose de « gatros » qui signifie ventre, estomac en grec, et de « podos » qui signifie pied. En effet, cette classe de mollusque se caractérise par un pied ventral servant à la reptation ou la natation.

La caractéristique morphologique principale des bulins est leur coquille hélicoïdale senestre de couleur blanche à brun.

La classification des mollusques est très hétérogène cependant ils ont en commun certains points. Tout d'abord, leur corps, de consistance molle, recouvert de mucus, ainsi que la présence du manteau qui produit la coquille.[34]



Figure N°35 : illustration d'un gastéropode par S. Bouchut

Bulinus truncatus appartient donc à l'embranchement des mollusque, classe des Gastropodes, à la famille des Planorbidae.[35] L'arbre phylogénétique suivant situe précisément la classe des gastéropodes chez les protostomiens, dont font également partie les schistosomes.

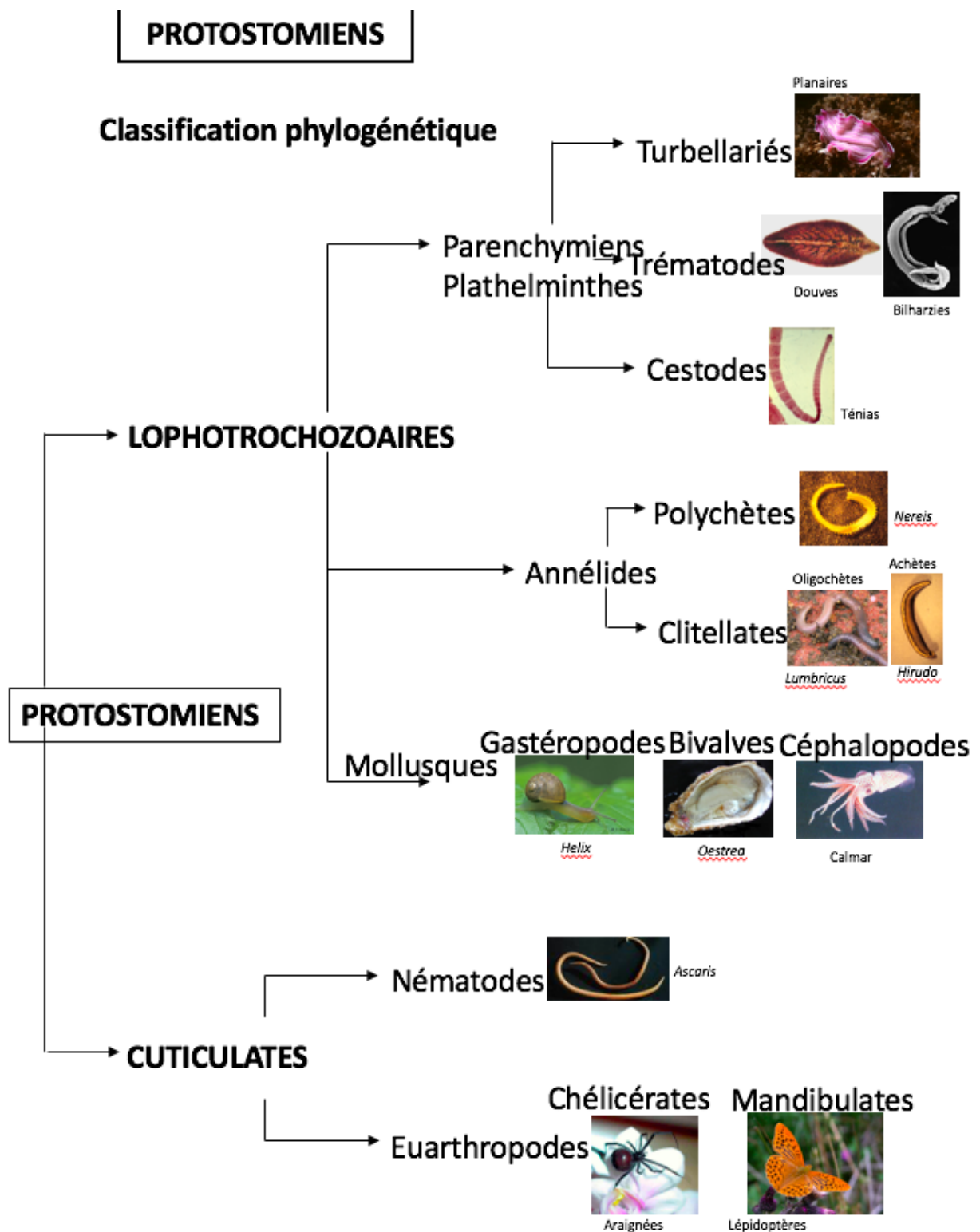


Figure N°36 : arbre phylogénétique simplifié des Protostomiens[6]

a. Répartition géographique

Les bulins sont très répandus en Afrique, à Madagascar et au Moyen-Orient. [36]

Ils vivent dans des eaux douces peu profondes, tièdes, les températures avoisinant les 20-25°C, stagnantes ou avec un faible courant. Cependant, les bulins sont très tolérants aux conditions climatiques. Ils peuvent, effectivement, survivre en anhydrobiose qui est le fait de suspendre temporairement leurs activités vitales, permettant à l'organisme de survivre à la dessiccation mais également une reviviscence lorsque l'humidité revient. De ce fait, ils sont capables de résister plusieurs mois à l'assèchement des cours d'eaux où ils résident en s'enfonçant dans les fonds vaseux des mares et en obturant l'orifice de leur coquille à l'aide d'un bouchon de mucus.[13] Ils peuvent donc peupler aussi bien des cours d'eau permanents que temporaires contrairement au planorbe, par exemple, qui résiste mal à la dessiccation. [10] Ceci explique la présence constante des bulins dans des zones sèches.

De plus l'écosystème dans lesquels ils vivent est le plus souvent riche en matières organiques, sans pollution chimique. La présence des bulins est directement corrélée à la qualité de leur environnement, ils sont d'ailleurs de très bons indicateurs de la pollution environnementale. En effet, les espèces sont très sensibles aux variations de pH ou de salinité de l'eau.

Le développement du parasite au sein du mollusque est très dépendant de la température : une température basse, inférieure à 25 °C, inhiberait la phase de multiplication asexuée alors que une température trop importante déparasiterait le mollusque et augmenterait leur mortalité. [10]

La durée de vie des mollusques n'excède pas 9-11 mois.[21]

b. Anatomie

On va décrire la morphologie générale d'un mollusque gastéropode. Ces espèces sont classiquement constituées d'une tête et d'un pied, surplombé d'une coquille.

Les gastéropodes sont caractérisés par l'asymétrie de leurs organes, certainement liée à la torsion dorsale de la masse viscérale, entraînant manifestement une atrophie des organes lors du développement.[37]

Tout d'abord, on observe la tête. Chez les gastéropodes elle est munie de paires de tentacules qui représentent ses organes sensoriels. Les tentacules sont longs, filiformes et cylindriques [35]. Généralement la plus grande paire porte les yeux et la plus petite (absente chez certaines espèces) permet le toucher et l'olfaction.

Ensuite, le corps se constitue ventralement du pied, organe musculeux destiné à la locomotion, que ce soit par reptation ou natation, et dorsalement de la masse viscérale nue ou plus généralement protégée dans la coquille.

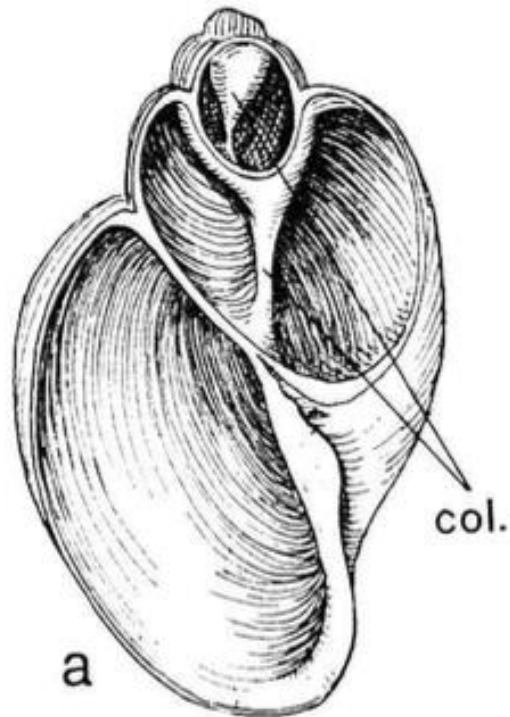


Figure N°37 : coupe de la coquille de Bulinus [38]

La coquille est sécrétée par une enveloppe appelée le manteau. Elle se compose presque exclusivement de calcium ce qui fait que le gastéropode a besoin d'une alimentation très riche en calcium : plantes calcicoles, os, coquille d'œufs.... La croissance de la coquille n'est ni continue ni régulière, cette irrégularité est représentée par les stries à la surface.[37]

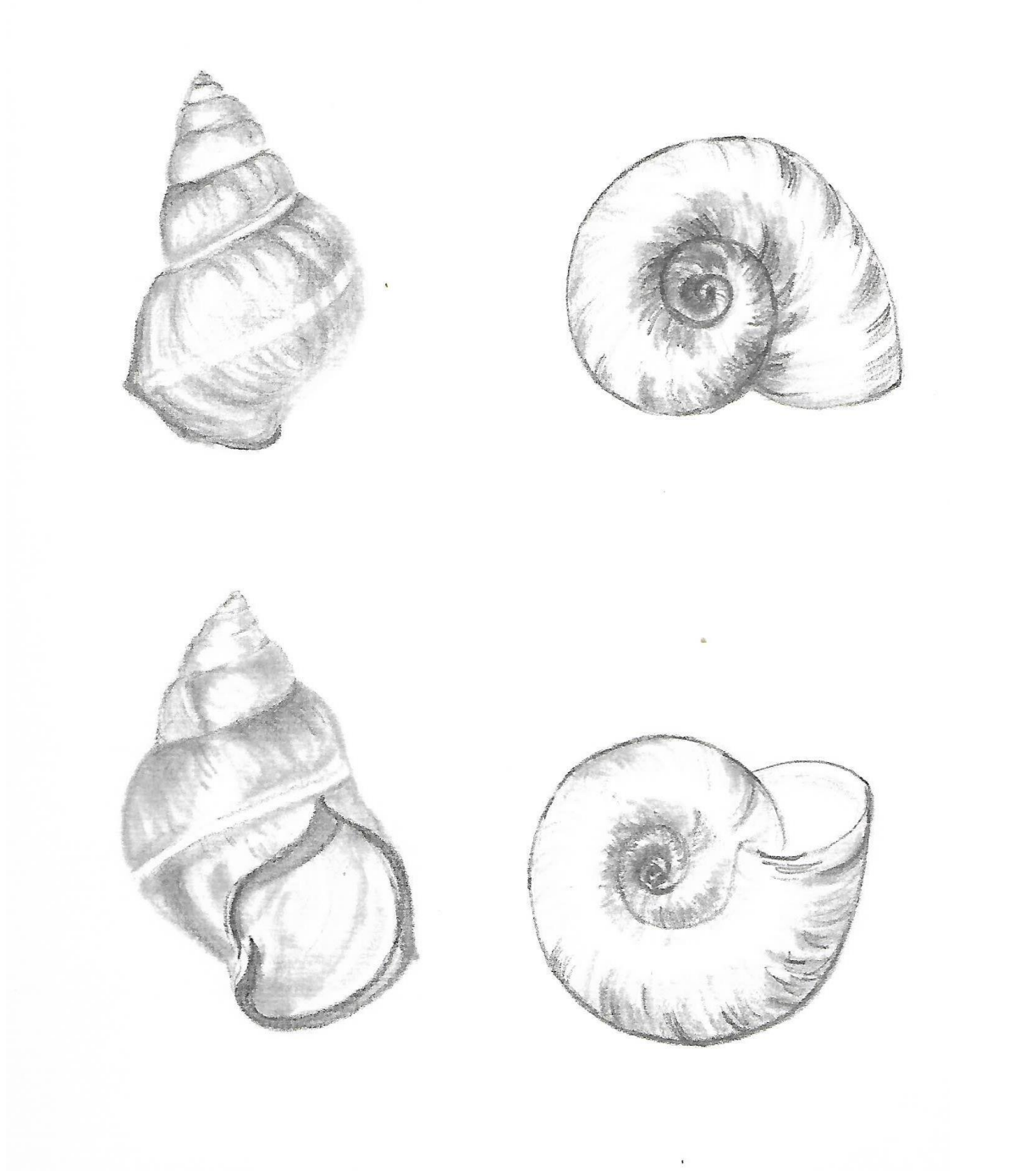


Figure N°38 : illustration de coquille de gastéropode : Bulin (à gauche) et de Biomphalaria (à droite)

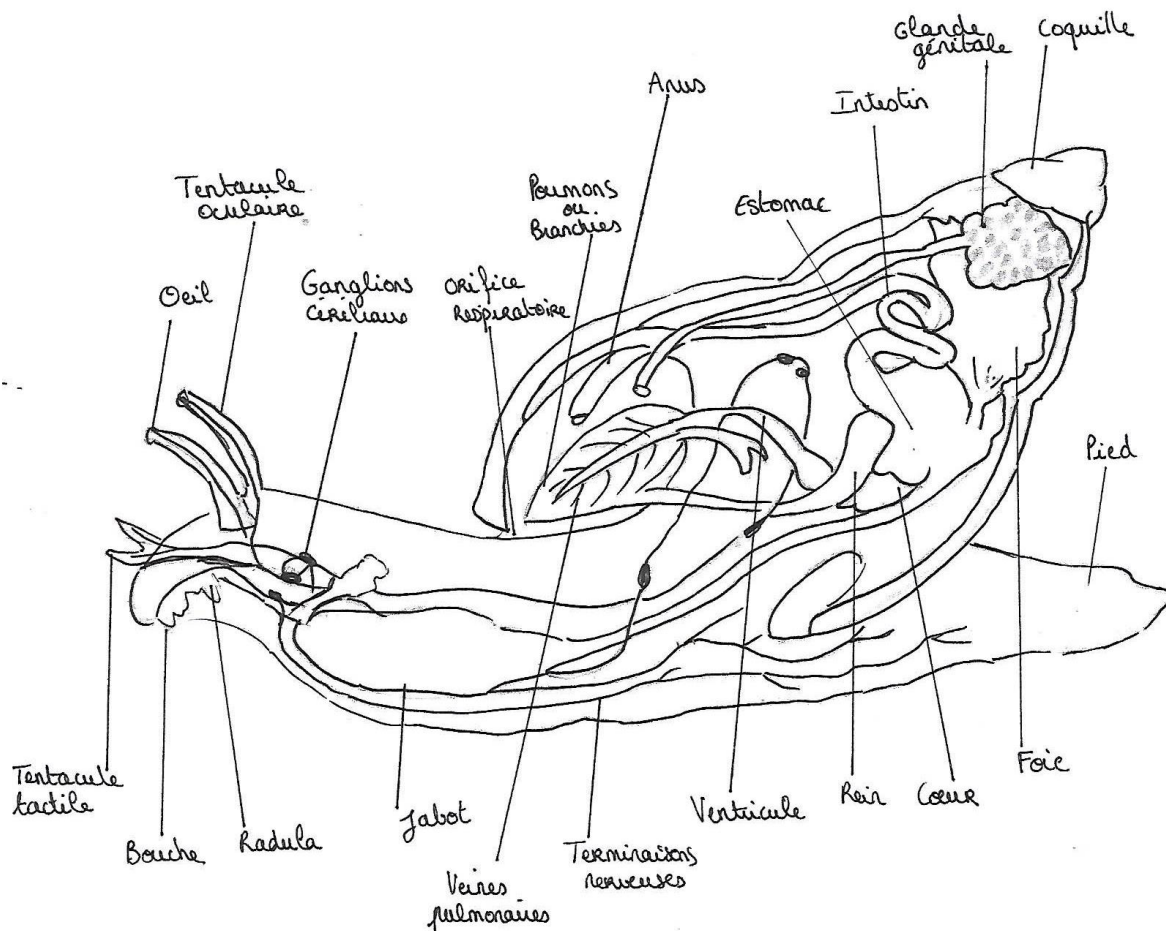


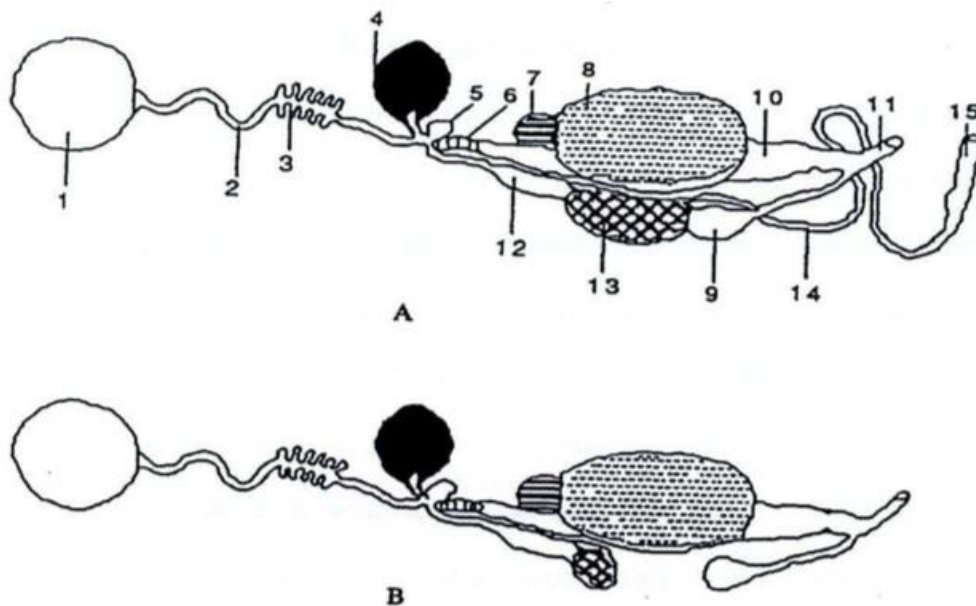
Figure N°39 : Schéma illustrant la morphologie générale d'un gastéropode

On continue la description anatomique par les organes palléaux qui sont situés sur la paroi interne du manteau et comprennent le poumon, le rein et le cœur. L'appareil circulatoire est composé du cœur comprenant un seul ventricule qui reçoit le sang artériel des veines pulmonaires.

Ensuite on a les organes de la digestion. Ils comprennent la bouche avec la radula qui s'apparente à une langue. Elle conduit au jabot qui correspond à un renflement de l'œsophage comportant des glandes salivaires. Celui-ci se prolonge par l'estomac, puis l'intestin enroulé autour de l'estomac formant une boucle qui revient en avant qui se termine par le rectum/anus qui s'ouvre dans la cavité palléale. On note aussi la présence d'une glande qui s'apparente au foie (« hépato-pancréas ») qui débouche dans l'estomac. [39][34]

Le système nerveux se compose principalement de ganglions. Des ganglions cérébraux au-dessus de l'œsophage et d'autres situés au niveau du pied et des organes palléaux.

Pour finir, les organes génitaux sont composés de trois parties. Une partie hermaphrodite constituée de la gonade qui fabrique les deux types de gamètes mâles et femelles. Une partie femelle qui avec un oviducte par laquelle passent l'allostème et les œufs fécondés. Et pour finir une partie mâle qui comprend le spermiducte par lequel transite l'autostème. [36]



Partie hermaphrodite: 1. ovotestis, 2. spermiducte, 3. vésicules séminales.

Partie femelle : 4. glande de l'albumen, 5. carrefour, 6. pars contorta, 7. glande mucipare, 8. glande de l'oothèque, 9. spermathèque, 10. utérus, 11. vagin.

Partie mâle : 12. spermiducte, 13. prostate, 14. vas deferens, 15. complexe pénien.

Figure N°40 : Illustration de l'appareil reproducteur des bulins avec A. *Bulinus* normal et B. *Bulinus* aphallique[35]

c. Mode de reproduction

Concernant leur méthode de reproduction, toutes les espèces de bulins sont hermaphrodites et ovipares. C'est à dire qu'elles possèdent, à la fois des organes mâles et femelles, et sont donc capables de s'autoféconder. Un seul spécimen est capable d'envahir et de peupler tout un biotope.

Cependant ces espèces peuvent pratiquer deux modes de fécondation :

- L'autofécondation : elle permet de se reproduire en absence de partenaire.
- L'allofécondation : elle est basée sur la fécondation croisée par copulation unilatérale. Un des individus agit donc comme mâle, tandis que l'autre agit comme femelle. Ce phénomène est particulièrement intéressant pour la survie de l'espèce. En effet, si un individu est isolé après la copulation, les spermatozoïdes stockés peuvent permettre une allofécondation au cours des mois suivants. [36]

Plusieurs individus ensemble peuvent également copuler en chaîne, les individus intermédiaires jouant le rôle de mâle vis-à-vis d'un partenaire et celui de femelle pour l'autre.

Les bulins sont ovipares et vont pondre sur des pierres, des végétaux et les coquilles de leurs congénères. Les œufs sont pondus de manière intermittente, par paquets allant de 5 à 40, dans une masse gélatineuse. L'éclosion se produit au bout de 6 à 8 jours.[13]

Les gastéropodes ont un cycle biologique très court ce qui leur permet d'accroître leur nombre rapidement. En effet, leur maturité est atteinte en 4 à 7 semaines selon les conditions extérieures. Bien entendu, des facteurs comme la température et les sources de nourritures sont directement influents. [36] Les bulins qui sont une espèce herbivore se nourrissent principalement d'algues et végétaux en décomposition.

B. Mesures prévention mollusques

Une destruction efficace et ciblée des bulins, sans conséquences majeures pour l'environnement, semble impossible que ce soit par épandage de mollusquicides ou par l'introduction d'un prédateur. En effet, l'impact sur la biodiversité de ces méthodes ne serait pas sans conséquences car cela bouleverserait l'écosystème existant mis en place.

Une réduction de la population des bulins par ramassage, plus respectueuse du milieu, est cependant difficile à cause des moyens techniques et humains à maintenir en œuvre.

a. Contrôle biologique :

C'est la mise en place de processus naturels tels la prédation pour réduire la population. On peut introduire des canards, des poissons, des insectes ou encore des sangsues qui ont déjà montré leur efficacité. L'avantage de ces méthodes est leur faible coût.

Il existe déjà dans le Caviar des espèces comme les anguilles, les truites, ou les blennies fluviatiles dont l'alimentation se compose d'invertébrés comme les mollusques. Cependant ils ne cherchent pas particulièrement les bulins pour se nourrir et la prédation naturelle est trop lente pour réguler les populations de mollusques. [25]

D'autre part, on peut introduire des compétiteurs dans le milieu : d'autres espèces de mollusques comme *Marisa cornuarietis*. [40]. En effet, ce mollusque asiatique a déjà été étudié et utilisé dans la lutte contre les *Biomphalaria* (hôte de *S. mansoni*). Cependant il en est ressorti que *Marisa* est un nuisible et son introduction dans un milieu entraîne des effets dévastateurs.



Figure N°41 : Photographie de *Marisa cornuarietis* [40]

b. Contrôle environnemental :

Les mollusques ont besoin de la végétation pour se nourrir, s'abriter et pondre leurs œufs. Donc en modifiant la niche écologique des mollusques on peut réduire leur nombre, en mettant en place par exemple des défrichages, des canaux d'irrigations ou autres. Cependant ces méthodes ont une mobilisation importante de moyens et des coûts élevés.

L'élévation et l'abaissement du niveau de l'eau, ainsi que l'augmentation du débit peut aussi perturber les biotopes des gastéropodes et leurs sources de nourriture.

D'autre part, un drainage total permet d'impacter l'abondance de la végétation et provoquer une dessiccation pouvant être mortelle pour les mollusques. C'est une méthode qui peut être intéressante dans les zones où l'on pratique l'irrigation des cultures, comme en Asie.

On peut également envisager l'introduction de la carpe de Chine, *Ctenopharyngodon idella*, qui détruit les herbes aquatiques, ce qui réduirai l'accès à la nourriture des mollusques. [13] Cette espèce peut, chaque jour, absorber l'équivalent de son propre poids en nourriture, voire plus. Elle a de ce fait été introduite en Occident pour lutter contre la prolifération de végétaux nuisibles. Cependant cette espèce de carpe est elle-même responsable de la disparition de certains types de plantes protégées (lacs vosgiens en France).

c. Contrôle chimique :

Cela concerne l'utilisation de produits chimiques molluscicides, qui ont un coût élevé mais surtout un impact écologique important. La toxicité de ces produits entraîne des déséquilibres voire la destruction de la flore et faune aquatique. De plus, les effets de l'utilisation au long court ne sont pas connus, ni l'impact que cela peut avoir sur toute la chaîne alimentaire.

Le contrôle chimique a été à son paroxysme dans les années 1910 à 1950 avec l'utilisation au départ composés chimiques comme le sulfate de cuivre, le sulfate d'ammonium, l'arseniate de calcium et autres utilisés comme herbicides ou pesticides. Ensuite, on a vu émerger d'autres composés comme le Pentachlorophénol ou le Trifénomorphe.[3] Ce sont des produits relativement utilisés dans le passé mais de nos jours leur toxicité pour l'homme et l'environnement a été démontrée (irritants, perturbateurs endocriniens). Leur statut de polluants persistants a entraîné leur interdiction en France et un encadrement législatif.

Le Niclosamide (antihelminthique) est également utilisé dans la lutte chimique car à faible dose, il est extrêmement toxique pour les gastéropodes et leurs œufs. En pratique, dans le cadre d'une utilisation molluscicide, il est recommandé une concentration de 0,6 à 1mg/litre pendant une durée de huit heures. Le produit en soit n'est pas toxique pour les plantes et les cultures mais il est reconnu très toxique pour les poissons. [13]

Il faut savoir que les molluscicides ont jusqu'à présent été la méthode la plus utilisée pour la destruction des gastéropodes, mais bien qu'elles soient efficaces sur les espèces des genres *Bulinus* et *Biomphalaria*, elles s'avèrent beaucoup moins efficaces sur *Oncomelania* (qui transmet *S. japonicum*).

Les recherches se sont par la suite tournées vers des moyens de prévention plus respectueux de l'environnement et d'une toxicité moindre pour les organismes non visés.

C. Plantes molluscicides

L'intérêt pour les plantes molluscicides est multiple. Tout d'abord un coût beaucoup plus faible que pour des composés de synthèse, une dégradation plus rapide et une toxicité réduite pour l'environnement.

a. Historique

Certaines plantes ont révélé un intérêt quant à leur propriété molluscicides dans l'histoire. C'est dans les années 1930 que les scientifiques ont commencé leurs découvertes. Une des premières plantes répertoriées fut *Balanites aegyptiaca*, aussi nommé plus familièrement « dattier du désert ». Traditionnellement utilisée par les population locales d'Afrique pour ses qualités alimentaires et médicales les scientifiques ont découvert que le fruit qui tombait dans l'eau inhibait l'augmentation de densité de population des espèces de type *Bulinus* et provoquait la mort des miracidies et cercaires des shistosomes.[3] Les essais, en laboratoire et sur le terrain, étaient prometteurs. Cependant, à plus grande échelle les résultats furent moins satisfaisants car ils ont démontré une toxicité pour l'environnement et notamment les organismes non visés comme les poissons.

D'autres plantes furent étudiées par la suite, comme par exemple *Sapindus saponaria* en Afrique ou *Tephrosia vogelii* en Malaisie, mais aucune n'a été exploitée à cause de la toxicité non ciblée de la première ou d'une efficacité à des concentrations trop élevées pour la seconde. [3]

Il faut attendre 1960 pour que la première plante exploitée à des fins molluscicide soit utilisée dans la lutte contre la transmission de la bilharziose : *Phytolacca dodecandra*. Cette plante est retrouvée en Éthiopie et au Zimbabwe et ses fruits immatures contiennent des saponines molluscicides.[41]



Figure N°42 : illustration de *Phytolacca dodecandra*

b. Sélection de la plante

Plusieurs critères entrent en compte pour la sélection d'une plante à activité molluscicide. Après le recensement des plantes avec une activité potentielle (phénomènes naturels observés ou activité pytochimique) les plantes vont subir des tests en laboratoire et des tests en milieux naturels afin de s'assurer la non toxicité pour les autres organismes vivants (poissons, mammifères....).

On aura tout d'abord une sélection préliminaire, qui détermine si la plante a ou non une activité molluscicide. On fera des essais sur un extrait de la plante sec ou frais, tout en gardant un témoin frais pour s'assurer que les traitements n'ont pas dénaturé l'activité de la plante. Ces expériences en laboratoire se font avec un temps d'exposition de 3-5 jours sur environ 5 escargots différents (Bulins, biomphalaria, ou encore Oncomelania) dans des conditions environnementales de température et de lumière établies. Quotidiennement, les chercheurs dénombrent le nombre d'escargots morts.[3]

Ensuite se déroule la sélection définitive qui doit établir les concentrations molluscicides efficaces. On aura des étalonnages de concentrations qui vont permettre de calculer les CL50 et CL90 qui correspondent respectivement aux concentrations létales qui tuent 50 et 90% de la population de mollusque.

Après tous ces essais, il faut établir l'efficacité de cette plante en conditions naturelles car bien évidemment les facteurs environnementaux tels la température, le pH, la lumière peuvent jouer un rôle sur son efficience.

c. Ambrosia maritima

On va s'intéresser à une plante en particulier qui pourrait être éventuellement utilisée en Corse du sud dans le cadre préventif de la bilharziose.

Ambrosia maritima L. ou ambrosie maritime, appartient à la famille des Astéracés. C'est une plante herbacée vivace pouvant mesurer jusqu'à 1 mètre de hauteur.

Les feuilles sont alternes, bipennées, pubescentes et argentées en dessous, et ses fleurs sont de couleurs jaune-vert.[42]

L'ambrosie pousse préférentiellement le long des cours d'eau et endroits humides, mais on la retrouve beaucoup sur les dunes côtières.

Géographiquement, elle se situe principalement en Afrique, Égypte, Moyen Orient et sur le pourtour méditerranéen. En France, elle pousse au niveau de la côte d'Azur, ce qui concorde avec son utilisation en Corse étant donné des conditions climatiques très similaires.



Figure N°43 : *A. maritima* dans son état naturel en Sardaigne [43]

Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle, on retrouve ses feuilles appliquées en cataplasme sur les panaris.[42] En Égypte, elle est plutôt consommée en décoction ou en infusion par la population locale comme antispasmodique et comme diurétique.[3]

Les propriétés molluscicides de *Ambrosia maritima* ont été mises en évidence en Égypte, à partir d'extraits secs ou frais de plantes du jardin botanique de Dakar.[42] Les mollusques de type Limnées et Bulins meurent au bout de 24 heures à des concentrations de 1000mg/L et la plante serait active contre les miracidiums, les œufs et les cercaires de *S. haematobium*. [3] Les études de toxicités n'ont par ailleurs démontré aucun danger pour les poissons, les souris, le bétail et l'homme. [42]

En 1981, des études sont mises en places pour valider la véracité des essais en laboratoires et les résultats obtenus confirment l'action molluscicide de la plante.[44]

Il faut s'intéresser à la composition chimique de la plante pour comprendre d'où lui vient cette activité molluscicide. *A. maritima* comporte trois lactones sesquiterpéniques que sont

l'ambrosine, la damsine et la tribromodamsine. L'hypothèse la plus probable serait que ces lactones auraient des propriétés anti-nutritives. Des chercheurs ont montré que après administration *Ambrosia maritima*, de nombreux escargots ont arrêté de s'alimenter, entraînant une inhibition de croissance allant même jusqu'à leur mort.[3]

Ces trois molécules ont également une action sur l'homme. En effet, ce sont des composés allergisants et de ce fait peuvent provoquer des dermatites de contact allergiques. On aura sur la peau exposée une irritation aigue seul bémol apparent de l'utilisation de cette plante.

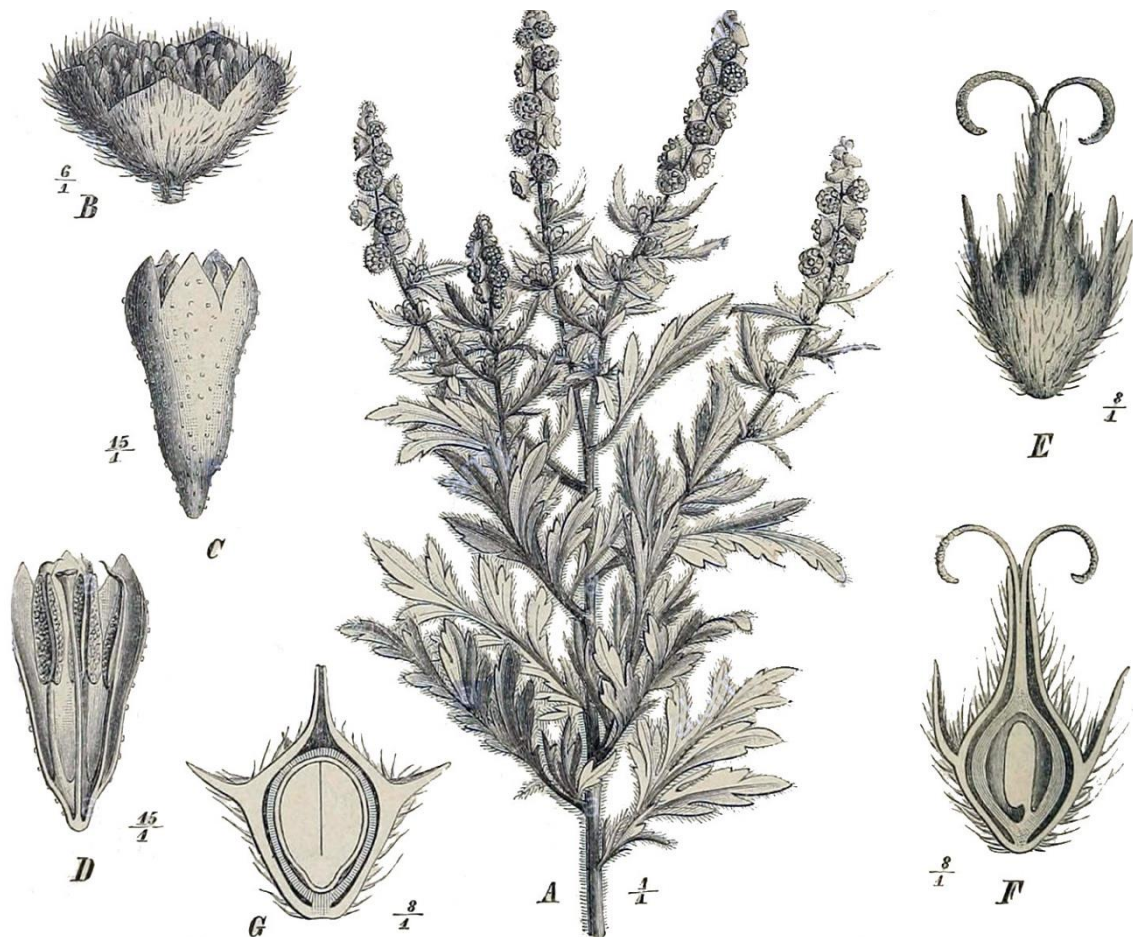


Figure N°45 : Illustration de la plante *Ambrosia maritima* issue des planches du Muséum d'histoire naturelle de Paris

Il semble donc particulièrement intéressant d'étudier de plus près cette plante qui pousse naturellement sur nos côtes françaises et qui ne semblent pas avoir un impact écologique néfaste sur l'environnement. Considérée dans nos régions comme une mauvaise herbe, elle présente des atouts majeurs quant à la lutte contre les mollusques vecteurs de la bilharziose.

Cependant, malgré ces méthodes de lutte biologiques envisageables comme les plantes molluscicides, l'introduction de prédateurs ou le ramassage, ces stratégies ne semblent pas une solution pérenne pour leur éradication.

II. Perspective de vaccin

A. Généralités

Actuellement, il n'existe sur le marché aucun vaccin efficace en parasitologie humaine. Plusieurs explications répondent à cette situation. Tout d'abord, il est très difficile d'atteindre un parasite dans un hôte et d'autre part on trouve une réticence des industriels pharmaceutiques. En effet, investir dans des études pour des traitements a un coût énorme en recherche et développement avec peu de retombées économiques, sachant que la plupart des patients concernés se trouvent majoritairement dans des zones sous développées qui n'auront pas les moyens, ni accès à ce genre de soins.

Il y a néanmoins des études différentes en cours afin de trouver des vaccins prometteurs contre les schistosomes.

Tout d'abord, des études portent sur 2 candidats vaccins pour la bilharziose intestinale à *S. mansoni*. Le premier comprend une protéine de surface de la membrane extracellulaire de *S. mansoni*, Sm-TSP-2, qui serait lié aux IgG1 et 2 des anticorps des personnes qui ont été infectées. D'après des études menées sur les souris, l'immunisation par cette sous unité de protéine réduirait significativement la charge parasitaire. Ce vaccin est actuellement en essai clinique de phase 1 à Houston au Texas. L'autre candidat vaccin est basé sur Sm-14, une protéine de liaison aux acides gras de *S. mansoni*, qui serait en essai de phase 1 au Brésil.

D'autre part, pour lutter contre *S. haematobium* une seule molécule est candidat vaccin : Sh28GST, qui a été testé en phase d'essai clinique 1 et 2. Depuis 2006, l'INSERM est à l'origine de l'essai clinique réalisé au Sénégal sur ce potentiel vaccin contre la bilharziose qui se nomme Bilhvax. Les essais de phase 3 sont en cours afin d'évaluer le candidat vaccin et l'administration concomitante de Praziquantel. L'objectif de ce vaccin est de cibler les enfants en premier lieu, très touchés par l'infection au Sénégal.[45]

Parasite species targeted	Vaccine	Major antigens/adjuvants	Sponsor	Status
<i>Schistosoma haematobium</i>	Bilhvax	Sh28GST (28-kDa recombinant glutathione-S-transferase) Alum formulation	Institut Pasteur and INSERM	Completed Phase 2 and 3 trials in West Africa (results pending) [15,27].
<i>Schistosoma mansoni</i>	Sm-TSP-2	Sm-TSP-2 (9-kDa recombinant tetraspanin) Alhydrogel® ± GLA	Sabin Vaccine Institute Product Development Partnership/NIAID, NIH/Baylor College of Medicine Vaccine and Treatment Evaluation Unit	Initiated Phase 1 trial in 2014 at Baylor College of Medicine [39].
<i>S. mansoni</i>	Sm-14	Sm-14 (14-kDa recombinant fatty acid binding protein) with the adjuvant GLA	Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) Orofino	Ongoing phase 1 trial [40]. Phase 2 trials are planned for 2015 in Brazil and Africa.

Figure N°46 : Tableau récapitulatif des vaccins actuellement en essai clinique[45]

On va s'intéresser plus particulièrement à Bilhvax car c'est le vaccin le plus avancé dans les études cliniques. De plus, *Schistosoma haematobium* est l'espèce la plus représentée au niveau génomique dans les hybrides corses (77%), donc on peut s'interroger sur le fait qu'un vaccin ciblant spécifiquement cette espèce soit efficace également sur les hybrides. Pour finir, rappelons que au niveau mondial, les infections à *S. haematobium* représentent les deux tiers contre un tiers pour *S. mansoni*.

B. Mise en place des essais cliniques de Bilhvax

Il est communément admis que le développement d'un vaccin est long et nécessite plusieurs étapes bien définies. Pour bilhvax, on a vu tout d'abord la mise en place d'essais cliniques dits « de sécurité ».

Il y a eu 2 essais de phase 1 en France puis au Sénégal avec des objectifs précis :

- Évaluation de la tolérance de Bilhvax à l'administration chez des adultes sains (Phase Ia).
- Évaluation de la tolérance chez des enfants sains (Phase Ib).

Puis 3 études ont été effectuées chez des personnes infectées par les schistosomes, au Sénégal et au Nigeria :

- Évaluation de la tolérance à l'administration de Bilhvax des adultes chroniquement infectés par *S.hematobium* et *S.mansoni* (Phases 2a et 2b).
- Évaluation de la tolérance à l'administration de Bilhvax des enfants chroniquement infectés par *S.hematobium* (Phase 2d).[46]

Aujourd'hui, l'institut pasteur et l'INSERM en sont à la phase III des essais cliniques. Cette phase, a une durée de 5 ans, pendant laquelle les équipes de chercheurs vont essayer de démontrer l'efficacité et la sécurité thérapeutique avec pour objectifs d'évaluer la réponse immunitaire spécifique induite et déterminer la séquence d'administration de Bilhvax.

C. Étapes d'élaboration du vaccin

Il est important de retenir que les schistosomes ne se multiplient pas chez l'hôte humain. La plupart des pathologies résultent des œufs de schistosomes piégés dans les tissus qui entraînent des dommages (inflammation, la fibrose...). Les stratégies actuelles de développement de vaccins visent à prévenir l'infection et/ou à réduire la quantité d'œufs par l'interruption de la reproduction parasitaire. Ainsi, les principales cibles vaccinales correspondent aux stades de migration des schistosomules, ainsi que les femelles adultes.

Premièrement, pour l'élaboration du vaccin il a fallu déterminer des mécanismes de l'immunité responsables de l'infection des schistosomes.

Les différentes études menées sur le sujet ont démontré le rôle majeur de l'antigène : la 28kDA glutathion S-transférase qui est une enzyme clé de l'interaction hôte/parasite.

Cette enzyme a plusieurs rôles identifiés chez le schistosome :

- C'est la principale enzyme impliquée dans les voies de détoxification des radicaux libres et antioxydants.
- Elle possède un rôle immunosuppresseur au cours de l'infestation de l'hôte : en modulant la migration des cellules de Langerhans (macrophages de l'épithélium) et des autres cellules dendritiques (cellules de l'immunité présentatrices des antigènes).
- Elle joue pour le maintien de la structure du tégument du vers.
- Pour finir, l'enzyme serait impliquée dans la régulation de la reproduction du vers (vecteur d'hormones).[47][46]

D'après l'OMS cette molécule est donc le principal « candidat vaccin ».

Pour former Bilhvax, on a l'association d'une protéine recombinante Sh28GST, produite par une souche de *Saccharomyces cerevisiae*, avec son adjuvant l'hydroxyde d'aluminium (Alhydrogel).

Pour débiter, des expériences ont été réalisées sur les animaux tels des rongeurs ou des primates et les résultats obtenus sont plutôt prometteurs et probants. Ces essais de vaccination ont démontré une réduction de 40 à 70 % de la masse parasitaire, ainsi que des répercussions sur la reproduction du vers avec inhibition de la fécondité des vers femelles de 80% et diminution de la vitalité des œufs.

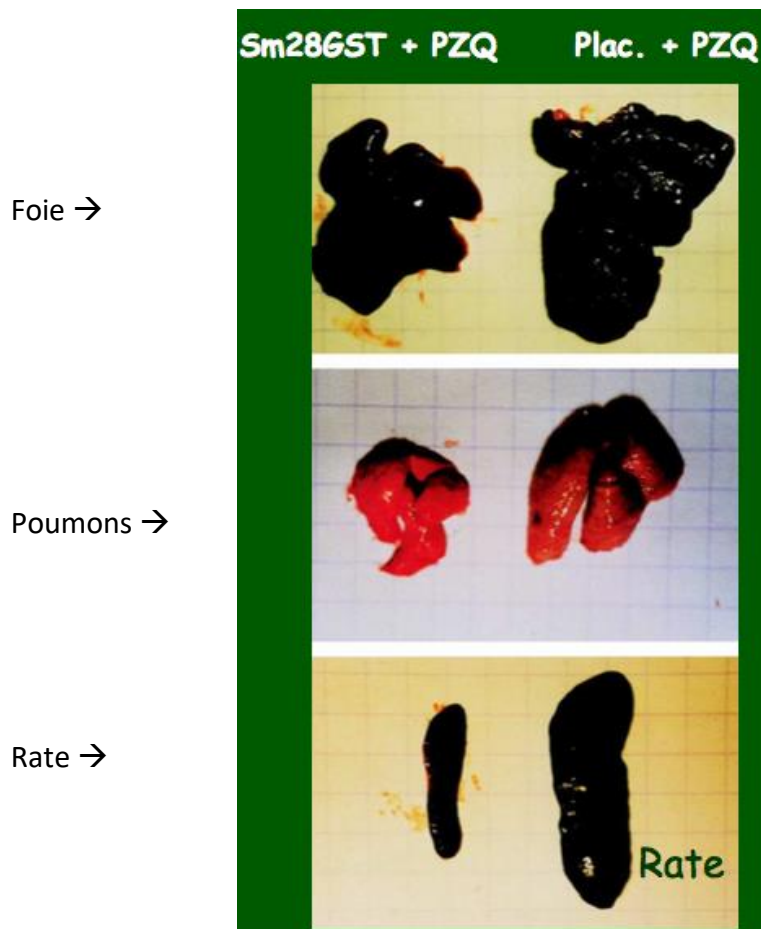


Figure N°47 : Contrôle de la pathologie bilharzienne par combinaison de la vaccination et du traitement au PZQ chez la souris [46]

Ensuite, les essais de phase 1 sur les sujets sains ont démontré d'une part que la protéine recombinante Sh28GST associée à son adjuvant Alhydrogel (hydroxyde d'aluminium), n'induisait pas de toxicité significative et que d'autre part, elle induisait une réponse immunitaire de type humorale Th2 avec sécrétion d'interleukines.

Pour terminer, les essais de phase 2 ont démontré que sur des adultes (18-30 ans) et enfants (6-9 ans) infectés, l'association de Bilhvax et d'un traitement au Praziquantel était sans risque. Plus de 80% des vaccins qui ont été effectués avec 2 injections à un mois d'intervalle ont provoqué une réponse immune spécifique chez les individus. [47]

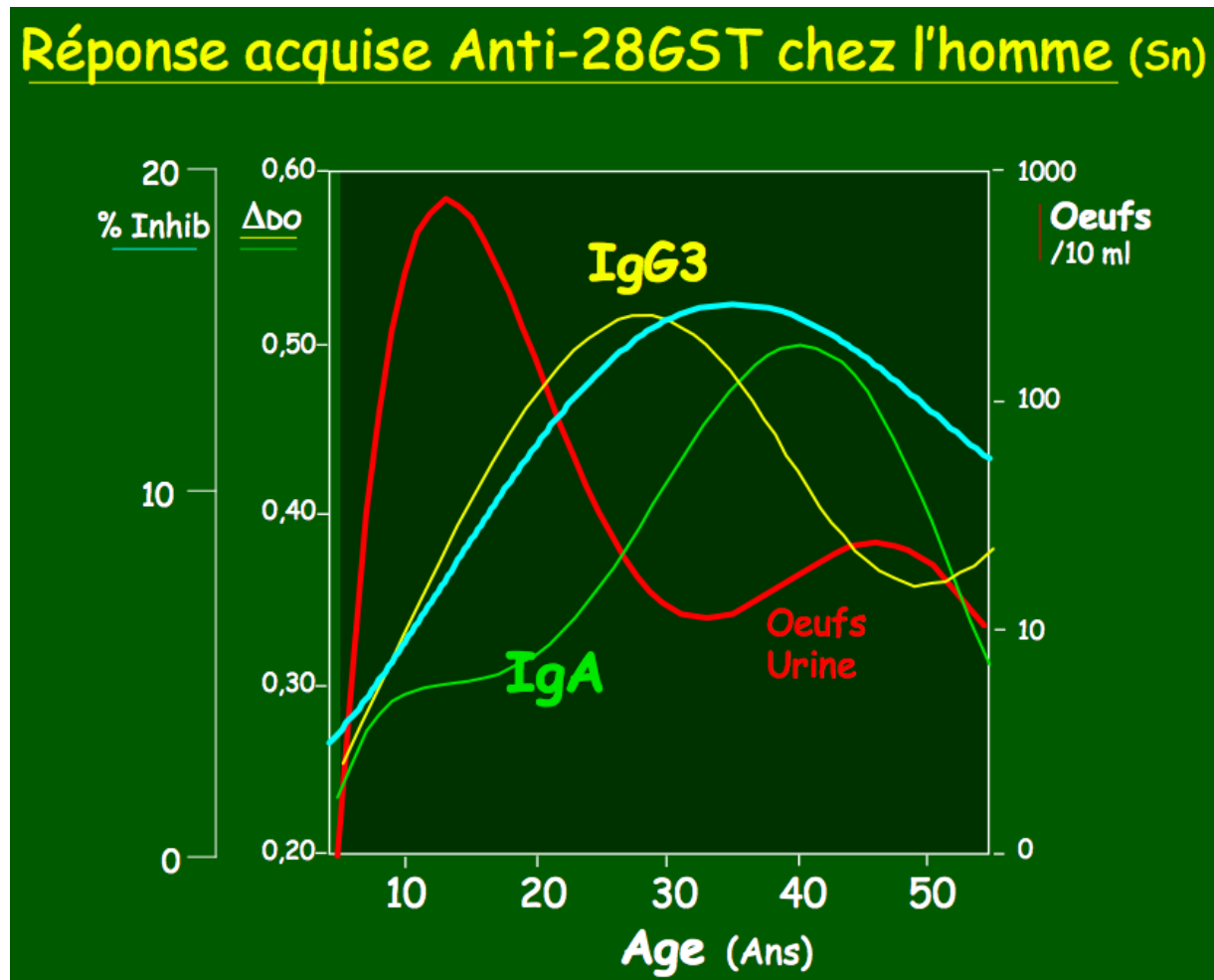


Figure N°48 : Courbe représentant la réponse acquise anti-28GST suivant l'âge

On va donc développer par la suite les essais cliniques de phase 3 qui sont en cours au Sénégal sur les enfants infectés par *S. haematobium*.

D. Essai de phase III

Cet essai de phase III est dirigé par le centre de recherche Espoir Pour La Santé (EPLS), une ONG sénégalaise, qui rassemble des scientifiques que ce soit des médecins, ingénieurs ou autres. Elle a pour but de lutter contre les deux infections majeures au Sénégal que sont le paludisme et la bilharziose.

Cet essai clinique est supervisé par l'INSERM et l'Institut Pasteur.

L'objectif principal de cet essai phase III va être de démontrer un retard significatif de récides pathologiques de l'infection par *S. haematobium* dans les 3 ans qui suivent la mise en route du traitement de l'étude, entre le groupe vacciné et le groupe non vacciné (placebo).

Les objectifs secondaires, mais pas des moindres, seront l'évaluation de l'efficacité antiparasitaire et de l'innocuité du vaccin.[46]

a. Inclusion des participants

Dans l'étude sont inclus les patients cibles : soit 250 enfants infectés, âgés de 6-9 ans, scolarisés dans 13 villages de la région de Saint Louis (à l'embouchure du fleuve Sénégal). Dans la région on estime le pourcentage d'enfants scolarisés ayant une infection urinaire bilhazienne à plus de 60%.[47]

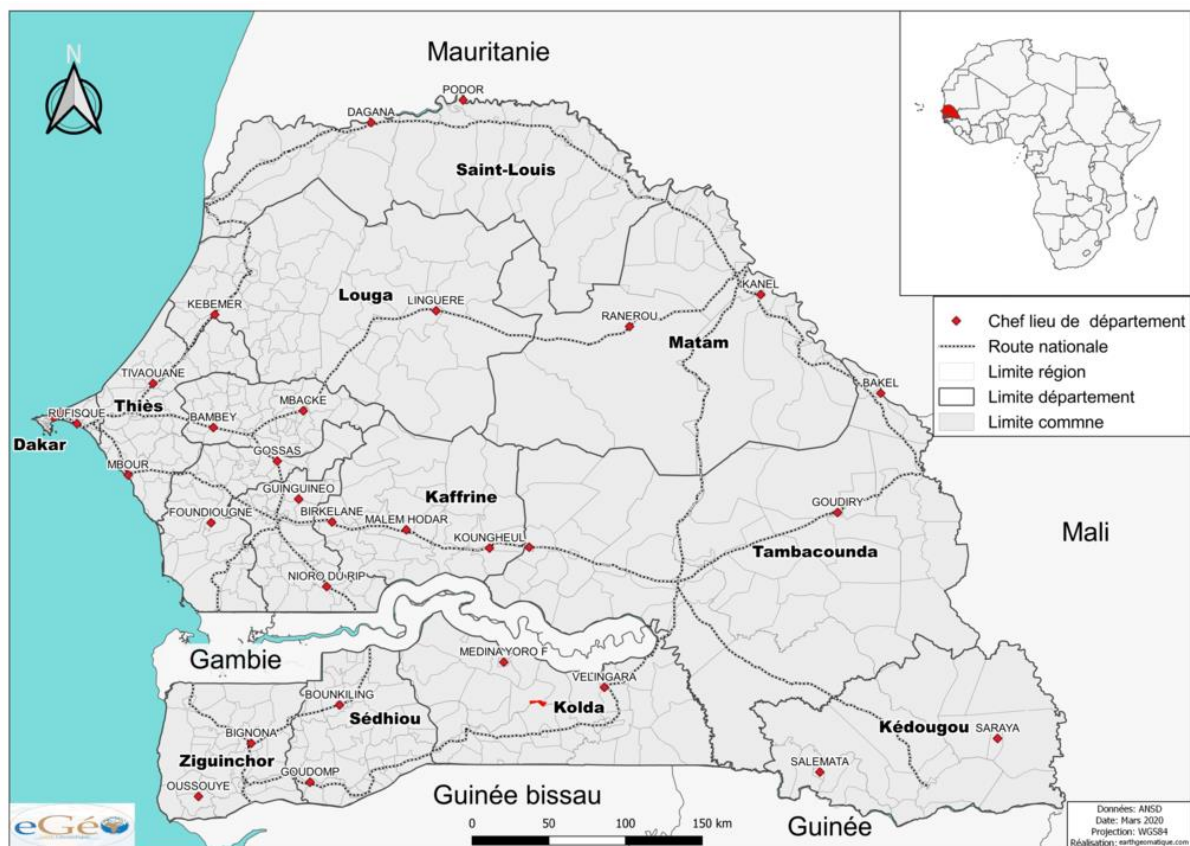


Figure N°49 : Carte du Sénégal

Un consentement éclairé écrit a bien sûr été obtenu de tous les parents ou tuteurs avant l'inscription. Les critères d'inclusion pour la participation à cet essai clinique ont été répertoriés dans le tableau suivant.

Inclusion criteria

- Male and female schoolchildren aged 6–9 years in the Saint-Louis region of Senegal
- Written informed consent obtained from the parents or guardians prior to enrolment.
- Subject in good basic health, based on medical history and physical examination
- Heavily infected with *S. haematobium* (≤ 50 Sh eggs per 10 ml urine found by urine filtration AND positive hematuria ≥ 2 +)
- Absence of severe urinary tract injuries detected by ultrasound examination

Figure N° 50: Tableau des critères d'inclusion à l'étude [47]

Les essais sont randomisés, en double aveugle, et on aura deux protocoles différents mis en place. D'une part un groupe de 125 enfants à qui on a administré une thérapie au praziquantel plus le vaccin Bilhvax, et un second groupe de 125 enfants qui aura également le traitement au praziquantel mais injection d'un placebo. [47]

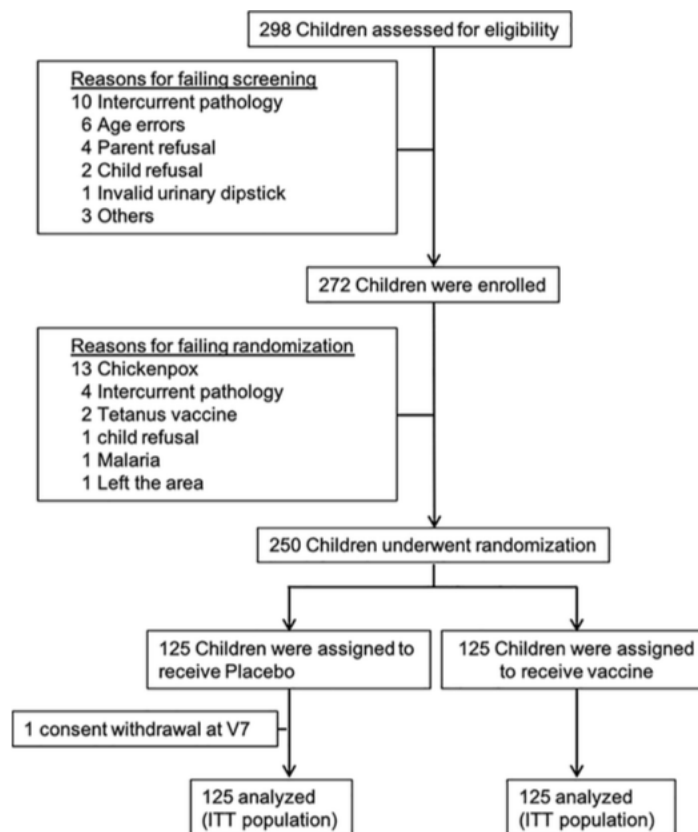


Figure N° 51 : diagramme représentant le protocole d'inclusion des groupes de participants [47]

b. Protocole vaccinal

Le protocole mis en place dans l'essai est : un traitement préalable au praziquantel suivi de 3 administrations vaccinales à un mois d'intervalle, et d'un rappel à 1 an (précédé également d'une chimiothérapie au Praziquantel 1 mois avant).[47]

On étudie donc la synergie du traitement médicamenteux et du vaccin.

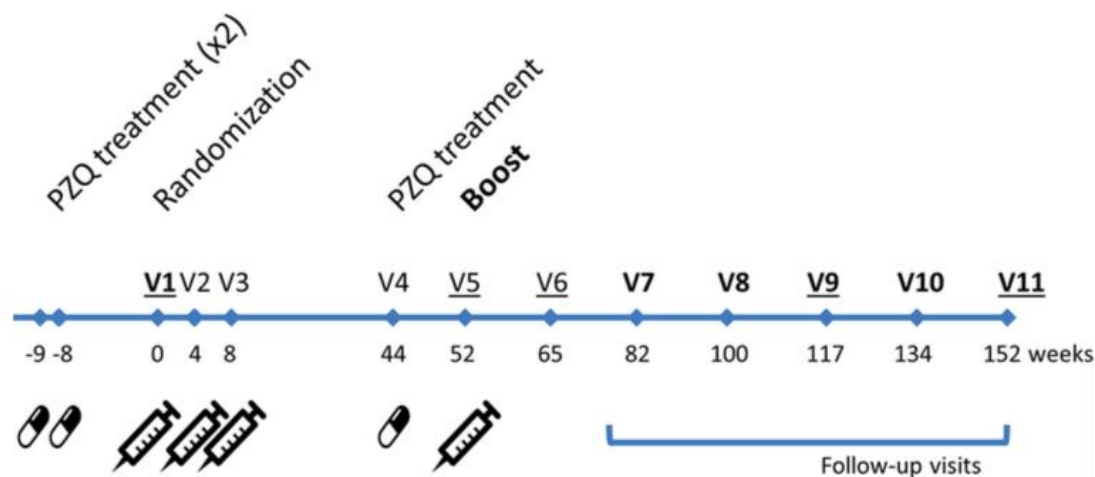


Figure N°52 : Schéma représentant le calendrier de vaccination, le suivi et les échantillonnages sanguins.

Vx: prélèvement de sang/ **Vx** : tests parasitologiques.

Pour les effets indésirables généraux comme les douleurs abdominales, vomissements, nausées, diarrhée, maux de tête, somnolence, fièvre, vertiges et prurit, leur prévalence et l'intensité des symptômes ont été évalués.

L'apparition de signes locaux au site d'injection comme une douleur, un prurit, gonflement ou autre réaction indésirable aux injections de vaccin (ou de placebo) a été enregistrée après chaque vaccination pendant les visites V1, V2, V3, et V5. De plus, des examens médicaux ont été effectués 4 h et 24 h après les vaccinations lors des visites V3, V4 et V5.

Nombreux ont été les effets indésirables signalés mais la plupart étaient des réactions locales liées au point d'injection ou des signes généraux d'inflammation mais tous ont été résolus. De ce fait aucun effet grave lié à Bilhvax ou menaçant la vie des enfant n'a été signalé.

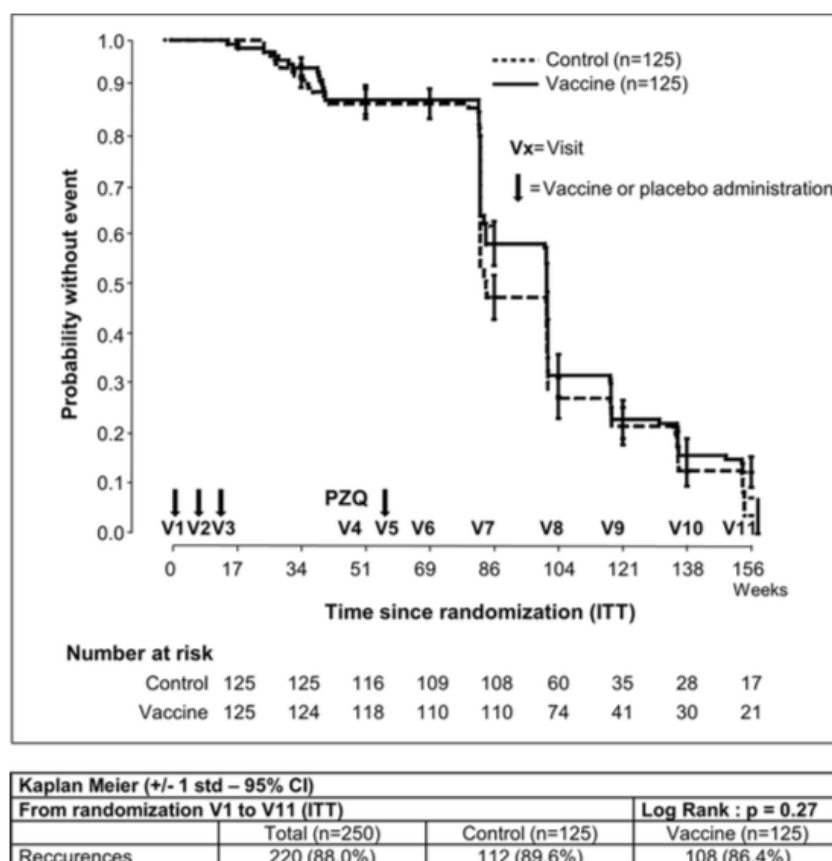
c. Résultats

- Au niveau des récurrences :

La récurrence a été définie comme l'association d'une micro-hématurie associée à la présence d'au moins un œuf dans les urines.

La courbe de Kaplan-Meier ci-dessous a été établie afin d'illustrer la probabilité cumulée de ne pas développer de récurrences de schistosomiase chez les participants de l'essai. A l'issue de cet essai on observe des récurrences chez 84.8% des individus du groupe vacciné, contre 89.6% du groupe contrôle.

Ainsi il n'y pas de différence significative entre les deux groupes quant à la récurrence de l'infection, ni les manifestations parasitologiques.



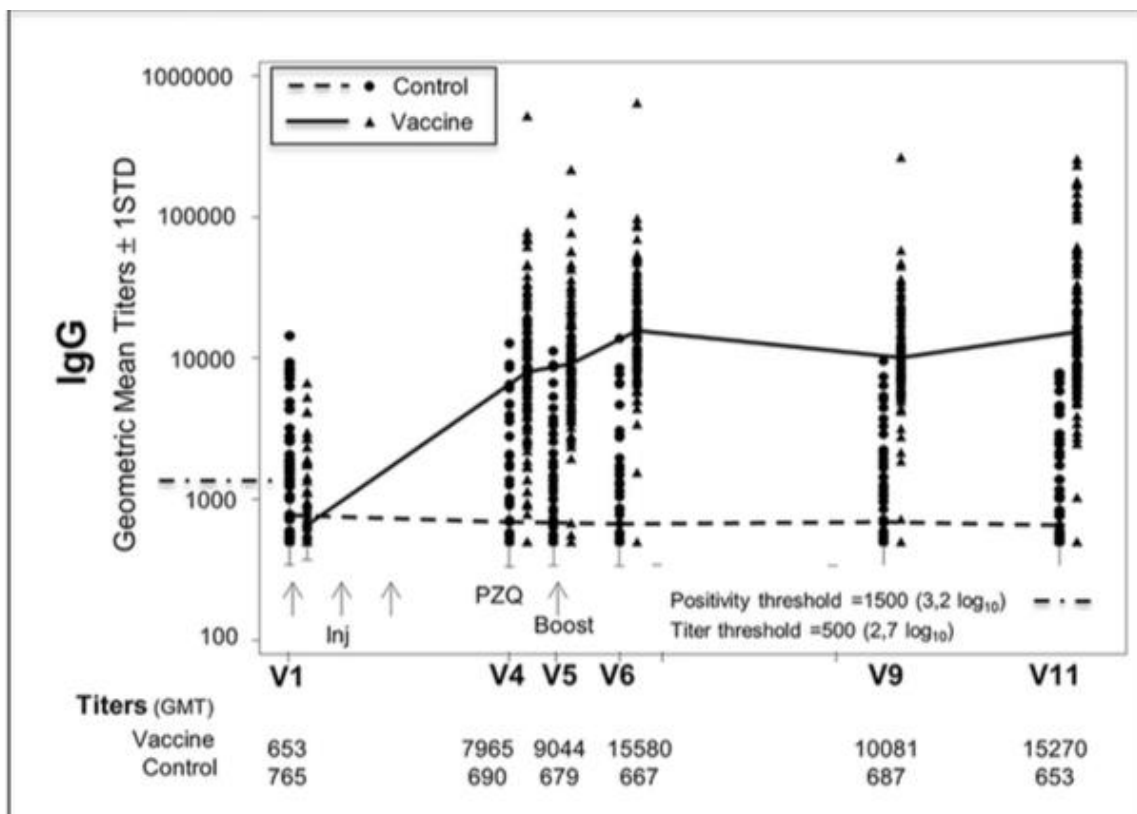
- Au niveau de l'immunité :

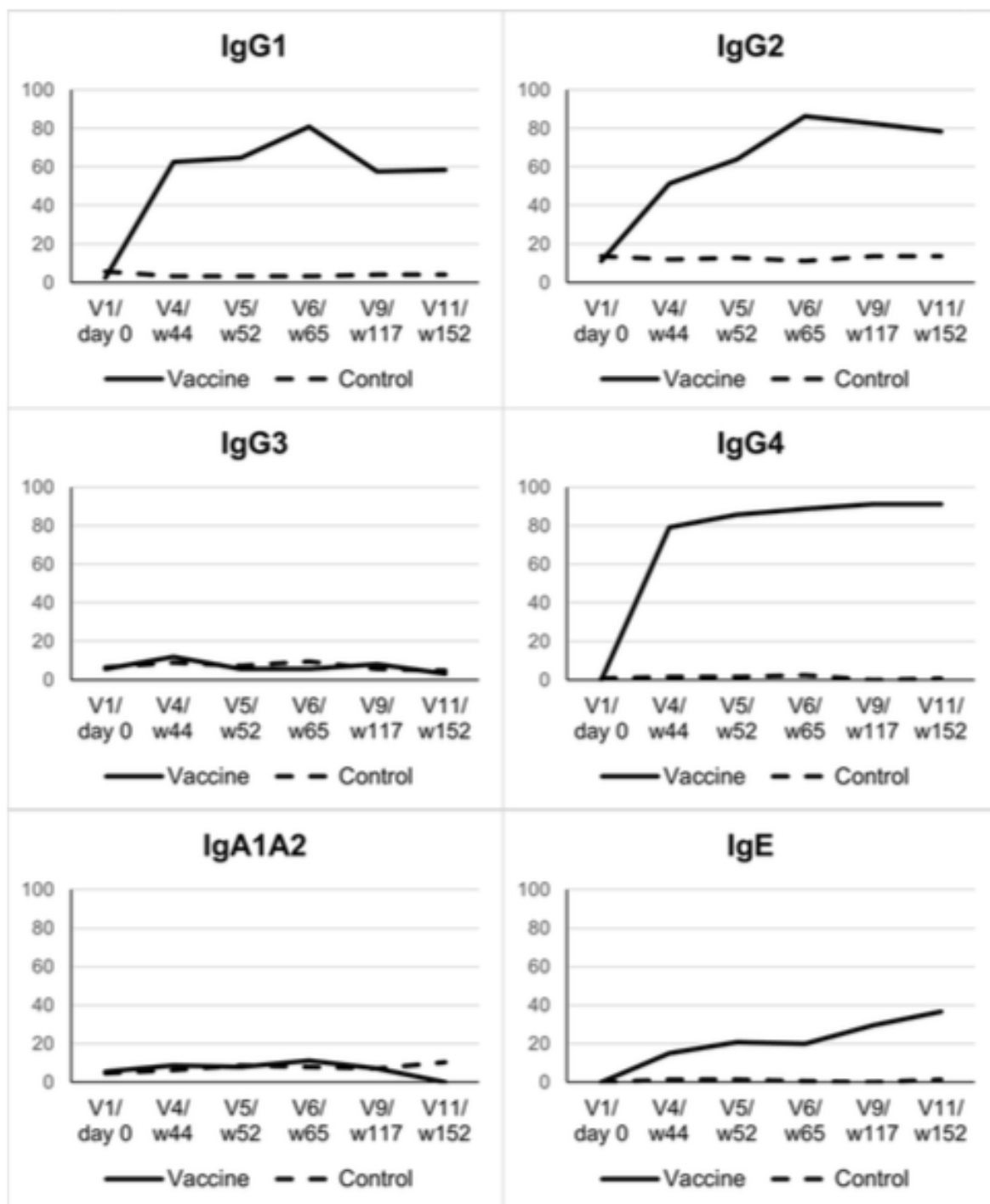
Dans l'essai la réponse immune spécifique des anticorps face aux antigènes rSh28GST à été mesurée dans les groupes témoins et Bilhvax via ELISA.

Les titres en anticorps isotypiques antiSh28GST IgG1, IgG2 et IgG4 ont augmenté de manière significative après la vaccination dans le groupe Bilhvax versus contrôle. En effet les pourcentages de sujets positifs sont de 58.4% pour les IgG1, 78.4% pour IgG2, et 91.2% pour les IgG4. Pour les IgE, la réponse immune est plus faible que pour les autres avec seulement 36,8% de positivité.

Cependant on n'a pas observé de différence significative quant à l'augmentation du taux d'IgA et IgG3 entre les deux groupes. [47] On observe ces résultats dans les graphiques ci-dessous.

L'autre aspect important pris en compte dans l'étude de la réponse immunitaire générée est l'inhibition de l'activité enzymatique rSh28GST. En effet in vitro, la capacité des échantillons de sérum à inhiber l'activité enzymatique de rSh28GST est significativement supérieure dans le groupe Bilhvax (70% d'Ac neutralisants) que le groupe témoin (8%).





E. Conclusion

Pour récapituler cet essai du candidat vaccin Bilhvax on va retrouver des éléments positifs et des éléments insuffisants à améliorer.

Tout d'abord, le critère d'évaluation principal de l'efficacité du vaccin était la récurrence de shistosomiase et celui-ci n'a pas été atteint. En effet, il n'y a pas de retard significatif démontré entre le groupe contrôle et le groupe Bilhvax. Cependant, l'immunité induite par l'injection de Bilhvax peut faire émettre l'hypothèse que le critère de récurrence n'est peut-être pas concluant

pour évaluer l'efficacité du vaccin. Les conclusions sur ces essais amènent à penser qu'il serait plus approprié de chercher un effet de la vaccination limitant l'intensité de l'infection.

Des études antérieures avaient montré que l'utilisation généralisée du praziquantel peut réduire la réponse immunitaire. De plus l'administration de praziquantel avant le rappel n'a montré aucun effet significatif sur l'intensité de la réponse vaccinale.

Au regard de la réponse immunitaire induite par Bilhvax, l'absence d'induction d'IgG3 spécifiques ainsi que les faibles taux d'IgA et IgE semblent être en défaveur de l'efficacité du vaccin. En effet, des études précédentes indiquent que la présence d'anticorps spécifiques aux IgG3 serait en corrélation avec une immunité protectrice acquise naturellement contre la schistosomiase.[48]

Dans les essais cliniques précédents, la production d'IgG3 a été observée après deux administrations du vaccin alors que dans cet essai la réponse immunitaire a été évaluée après la troisième injection du candidat vaccin et les résultats montrent l'absence d'induction d'anticorps IgG3, alors que les taux d'IgG4 étaient fortement augmentés. Il semble donc que la troisième injection induit une production d'IgG4 au détriment des autres isotypes. Les anticorps IgG4 surviennent après une exposition chronique à un antigène et sont généralement associés à des états de tolérance immunitaire.

Le choix des trois administrations plus le rappel à un an pour ce protocole a néanmoins induit une réponse immune forte et durable.

Une dernière hypothèse suite à ces résultats a été émise relative à la nature de l'adjuvant. L'hydroxyde d'aluminium utilisé ici, a été sélectionné pour sa capacité à induire une forte réponse th2 et sa sécurité d'emploi relative envers toute personne à vacciner y compris les enfants.

Certains adjuvants sont en développement actuel comme le GLA (adjuvant lipidique glucopyranosylique) qui pourrait entraîner une réponse isotypique plus équilibrée et voire limiter les injections.[47]

Des essais ultérieurs devraient être mis en place en l'absence d'administration de praziquantel, de préférence chez des enfants non infectés, avec un autre adjuvant.

Certains points sont cependant positifs à la suite de cet essai. En effet, une bonne tolérance au vaccin et à la réponse immunitaire induite a été observée sans développement d'effets indésirables graves apparentés.

D'autre part, une forte capacité in vitro à inhiber l'activité enzymatique de rSh28GST a été mise en évidence, avec une proportion élevée de sérums sujets vaccinés (74%) atteignant 60% d'inhibition. Même si les critères de récurrence de l'essai de phase III n'ont pas été fluctuants, les résultats expérimentaux obtenus sur la fécondité des parasites et la viabilité des œufs prouvent l'intérêt de la molécule.

Quoi qu'il en soit, l'utilisation de Sh28GST comme vaccin anti-schistosome reste envisageable avec d'autres axes à étudier, ce qui devrait pousser à faire d'autres essais encourageants.

F. Autres perspectives de vaccin

Comme mentionné au début de cette troisième partie, d'autres candidats vaccins sont également à l'étude. Plusieurs antigènes semblent être intéressants d'après les premiers résultats. Contrairement à Bilhvax qui s'intéresse à *Schistosoma haematobium* ceux-ci sont plus ciblés sur l'espèce *mansoni*.

Les travaux les plus avancés sont ceux portant sur Sm-14, une protéine de liaison aux acides gras, dont le rôle serait l'assimilation des lipides de l'hôte pour le parasite. Ce qui est intéressant, outre l'action immunogène face à *Schistosoma mansoni*, est qu'elle semble l'être également pour *Fasciola hepatica*, un autre trématode, communément connue comme « la grande douve du foie ».[7]

On a également SmTSP-2, protéine de surface de la membrane extracellulaire du tégument de *Schistosoma mansoni*. Les études de vaccination précliniques chez la souris, avec cette protéine recombinante, ont montré que l'immunisation avec cette sous-unité protéique réduit considérablement la charge de vers. En effet, chez la souris les résultats ont montré une diminution de 57% la charge parasitaire et de 64% d'œufs piégés. [7] Cet immunogène a d'ailleurs été exprimé avec succès dans une levure, *Pichia pastoris*, pour une production à grande échelle. [45]

Pour finir, on peut évoquer Sm-p80 (calpaïne), une protéine qui joue un rôle dans un processus de renouvellement du tégument du vers. Ici aussi les premiers tests sur la souris et le singe ont été concluants et ont bien démontré l'action immunogène. En effet, la charge parasitaire diminue d'environ 53%, contre une baisse de 29% pour les œufs pondus. Cependant, fait intéressant, il y aurait également un effet prophylactique quant à l'infection par le parasite qui reste à approfondir. [7]

Les deux premiers antigènes sont actuellement en phase d'essai clinique de stade II et le moins avancé, Sm-p80, devrait commencer les essais cliniques. [45]

Étant donné la capacité hybride des parasites autochtones on peut s'interroger sur l'efficacité de tels vaccins ciblant uniquement et spécifiquement une espèce.

CONCLUSION

A travers cette étude sur les schistosomes nous avons pu retracer toutes les caractéristiques du parasite, des facteurs nécessaires à sa survie aux moyens de contrôles de son expansion. Il apparaît donc que ces espèces tropicales responsables de la bilharziose évoluent, envahissant de nouveaux territoires et élargissent de ce fait leur zone d'habitat.

Ces parasites doivent leur extension à leurs hôtes intermédiaires les mollusques. Ces petits animaux, aussi bien terrestres que marins sont composés d'innombrables espèces encore trop peu étudiées. Il s'avère que certaines espèces de gastéropodes, d'origines tropicales, s'acclimatent et trouvent leur habitat plus au nord que leurs latitudes traditionnelles. En France, et particulièrement dans le Sud méditerranéen, la présence de ces espèces comme notamment *Bulinus truncatus* révèlent des changements globaux. Aussi bien les mollusques que les parasites sembleraient pouvoir être assimilés aux espèces exotiques envahissantes au même titre que le moustique tigre ou le frelon asiatique par exemple. D'après la définition il s'agit d'espèces dont la propagation menace la biodiversité et peut avoir des impacts négatifs sur l'économie et/ou la santé.

Outre le problème flagrant des schistosomes lié à la santé humaine, il faut s'interroger sur l'impact écologique de l'introduction d'espèces comme les gastéropodes. En effet, les écosystèmes sont basés sur des principes de stabilité et d'équilibre. L'invasion de nouvelles espèces qui vont empiéter sur la niche écologique de celles existantes peuvent perturber et modifier l'écosystème et la biodiversité. Bien que de nombreux facteurs entrent en jeu concernant la migration des espèces tropicales envahissantes, cela résulte de changements globaux comme la mondialisation, l'anthropisation et autres de phénomènes qui mènent à des changements climatiques.

Liés à leur expansion, l'homme va réagir en cherchant un moyen de contrôle. Cependant celui-ci n'est pas tâche facile. En effet, pour réduire l'incidence des schistosomes dans nos régions il faut s'intéresser aux mollusques vecteurs. Les solutions possibles pour limiter leur prolifération sont nombreuses de l'intégration de prédateurs (carpes, truites) aux plantes molluscicides en passant par des actions de défrichages. Néanmoins avoir recours à ces méthodes comporte des risques d'impacter sur la biodiversité. Dans l'ère actuelle, il semble qu'un discours respectueux de l'environnement soit de vigueur et émerge une conscience écologique. Il faudra donc établir des plans de lutte réfléchis et respectant l'intégrité de l'écosystème existant.

Dans le cas de la schistosomiase, nous avons heureusement un traitement disponible et des études sont en cours quant à des candidats vaccins. La mise au point d'un vaccin est néanmoins difficile, principalement à cause de la complexité de l'agent infectieux. Comme il s'agit d'un parasite et non d'une bactérie ou d'un virus, son génome code pour des milliers de protéines dont l'expression varie en fonction du cycle de vie du parasite. Ainsi il est compliqué d'extraire les antigènes nécessaires à protéger contre toutes les formes du parasite. Les candidats vaccins à l'observation cherchent à induire une immunité protectrice, ainsi qu'une réduction de l'infectiosité et de la virulence du parasite chez son hôte.

Principalement destiné aux populations à risque dans un premier temps, l'intérêt d'un vaccin est un bénéfice individuel mais aussi collectif. Historiquement, on a observé l'importance et l'efficacité de la couverture vaccinale dans l'éradication de pathologies telles la diphtérie, la rougeole ou la poliomyélite. Les enjeux de la recherche sont une évidence et il est donc nécessaire et primordial de continuer les études sur les vaccins contre les maladies contagieuses, Ébola, Chikungunya, Sras sans oublier la schistosomiase.

L'émergence de la bilharziose en Corse est donc un exemple concret, de l'émergence, en Europe, de maladies infectieuses touchant d'autres continents. Toutefois certaines questions subsistent. Quelle est la capacité des schistosomes à se propager chez des hôtes réservoirs dans nos régions ? Quelles sont leurs facultés d'adaptations aux autres mollusques Européens ? Et quelle est la pathogénicité de hybride chez l'homme ?

SERMENT DE GALIEN

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(e) 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(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. Brocas, « J. Bitschai & L. Brodny, A History of Urology in Egypt », p. 4.
- [2] A. FERANDEL, « La bilharziose urinaire dans le monde aspects épidémiologiques », 2001.
- [3] C. Taurisson, « Plantes molluscicides et bilharziose », 1991.
- [4] B. Senghor, « Prévalence et intensité d'infestation de la bilharziose uro- génitale chez des enfants d'âge scolaire à Niakhar (milieu rural sénégalais) », p. 100.
- [5] N. Valeix, *Parasitologie Mycologie*. 2016.
- [6] L. Rivière et M. Guy, « Biodiversité et évolution des milieux naturels-Biologie animale ». .
- [7] M. Morel, « Les récepteurs venus kinase (VKRs) de schistosoma mansoni: étude des voies de signalisation de SmVKR1 et rôle de la protéine adaptatrice SmShb », p. 202.
- [8] Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie, « Bilharzioses ». .
- [9] L. Rivière, « Parasitologie : les Helminthes ». sept. 21, 2016.
- [10] A. WIECZOREK, « LA BILHARZIOSE : EPIDEMIOLOGIE, PATHOLOGIE ET STRATEGIES DE DEPISTAGE ».
- [11] M. Vanderstraete, « Structure, Fonction et Evolution des Récepteurs Venus Kinase: rôles dans la reproduction du parasite Schistosoma mansoni », p. 197.
- [12] Dreyfuss et D. Rondelaud, « LES MOLLUSQUES DANS LA TRANSMISSION DES HELMINTHOSES HUMAINES ET VÉTÉRINAIRES », *Bul. de l'Ac. Vét. de France*, n° 1, p. 13, 2011, doi: 10.4267/2042/48064.
- [13] P. Jordan, R. Sturrock, et G. Webbe, « CHAPITRE 8 Gastéropodes d'eau douce », in *Human schistosomiasis, 3ème édition*, Oxford, CAB International, 1993.
- [14] K. G. A. D. Weerakoon, G. N. Gobert, P. Cai, et D. P. McManus, « Advances in the Diagnosis of Human Schistosomiasis », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 28, n° 4, p. 939-967, oct. 2015, doi: 10.1128/CMR.00137-14.
- [15] A. Ditisheim, C. Chuard, et V. Erard, « Infections liées aux activités aquatiques », *Revue Médicale Suisse*, p. 5, 2011.
- [16] E. Pilly et Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France), *Maladies infectieuses et tropicales*. Paris: Alinéa Plus, 2015.
- [17] E. J. Pearce et A. S. MacDonald, « The immunobiology of schistosomiasis », *Nat Rev Immunol*, vol. 2, n° 7, p. 499-511, juill. 2002, doi: 10.1038/nri843.
- [18] D. Suzie, « Haute Autorité de santé », p. 53, 2017.
- [19] A. Abruzzi et B. Fried, « Coinfection of Schistosoma (Trematoda) with Bacteria, Protozoa and Helminths », in *Advances in Parasitology*, vol. 77, Elsevier, 2011, p. 1-85.
- [20] Bayer Inc., « MONOGRAPHIE DE PRODUIT : BILTRICIDE ». mai 09, 2017.
- [21] ANSES Sauvart-Rochat, « AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif au risque de bilharziose uro-génitale lié à la baignade dans le cours d'eau Cavu en Corse-du-Sud », Saisine n° 2018-SA-0074.
- [22] Santé publique France et François Bourdillon, « Bulletin de veille sanitaire - N° 20 / Septembre 2016 - Spécial bilharziose », N°20, sept. 2016.
- [23] European centre for diseases prevention and control, « Local transmission of Schistosoma haematobium in Corsica, France », juill. 2015.
- [24] S. Mulero, O. Rey, N. Arancibia, S. Mas-Coma, et J. Boissier, « Persistent establishment of a tropical disease in Europe: the preadaptation of schistosomes to overwinter », *Parasites Vectors*, vol. 12, n° 1, p. 379, déc. 2019, doi: 10.1186/s13071-019-

3635-0.

- [25] ANSES, « AVIS Saisine n° 2016-SA-0023 de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la stratégie de gestion concernant les mesures à mettre en place en cas de survenue de cas de bilharziose en Corse ».
- [26] ARS, « Gestion du risque bilharziose en Corse Bilan de l'année 2016 », 2016.
- [27] Direction générale de la santé, « Bilharziose : prise en charge des personnes potentiellement exposées à la bilharziose en Corse à la suite d'un contact avec l'eau de la rivière Cavu ».
- [28] L. Ramalli *et al.*, « Persistence of schistosomal transmission linked to the Cavu river in southern Corsica since 2013 », *Eurosurveillance*, vol. 23, n° 4, janv. 2018, doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.4.18-00017.
- [29] J. Boissier, J. Kincaid-Smith, A. Berry, J.-F. Allienne, J. Fillaux, et È. Toulza, « Changements globaux et infections parasitaires à mollusques vecteurs: Un schistosome hybride atteint l'Europe », *Med Sci (Paris)*, vol. 31, n° 11, p. 962-964, nov. 2015, doi: 10.1051/medsci/20153111008.
- [30] J. K. Smith, « Modification des traits d'histoire de vie au cours de l'hybridation et analyse des mécanismes moléculaires sous-jacents chez les parasites plathelminthes du genre *Schistosoma* », p. 263.
- [31] J. Kincaid-Smith *et al.*, « Whole genome sequencing and morphological analysis of the human-infecting schistosome emerging in Europe reveals a complex admixture between *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma bovis* parasites. », doi: <http://dx.doi.org/10.1101/387969>.
- [32] J. Kincaid-Smith, C. Chaparro, J.-F. Allienne, J. Boissier, et È. Toulza, « Reciprocal first generation *S. haematobium* x *S. bovis* hybrids display heterosis compared to parental species: from life history trait modifications to differentially expressed genes ».
- [33] Stephen Mulero, O. Rey, N. Arancibia, S. Mas-Coma, et J. Boissier, « Persistent establishment of a tropical disease in Europe the preadaptation of schistosomes to overwinter ».
- [34] A. FRANC, « MOLLUSQUES », *Encyclopædia Universalis*. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/mollusques/>.
- [35] F. Djuikwo-Teukeng, « *Bulinus globosus* et *B. truncatus* (Gastropoda: Planorbidae): variabilité génétique et implications dans la transmission de *Schistosoma haematobium* au Cameroun », p. 121.
- [36] R. Z. Eddine, « *Bulinus* sp : Epidémiologie moléculaire, structure génétique et phylogénie dans trois pays africains : Interactions avec le genre *Schistosoma* », p. 127.
- [37] G. Termier et H. Termier, « « GASTÉROPODES », *Encyclopædia Universalis* ». .
- [38] L. D. C. M. D. Medeiros et J. F. D. Azevedo, « Bases pour la classification des Gastéropodes pulmonés d'eau douce : sur la nécessité d'uniformiser les méthodes de classification », 1959, doi: 10.5169/SEALS-310803.
- [39] P. Bernard, *Cours de physiologie, fait à la faculté de Paris. Volume 2*. 1849.
- [40] J. L. Rey et B. Sellin, « Marisa: a pretty name, a hazardous ally », *Médecine et Santé Tropicales*, vol. 25, n° 2, p. 145-145, avr. 2015, doi: 10.1684/mst.2014.0409.
- [41] Kjell B Esser, Kassa Semagn, et Legesse Wolde-Yohannes, « Medicinal use and social status of the soap berry endod (*Phytolacca dodecandra*) in Ethiopia », vol. Volume 85, p. Pages 269-277, avr. 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00007-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00007-2).
- [42] Diaw et Vassiliades, « Action molluscicide d'une souche sénégalaise d'*Ambrosia maritima*. Essais en laboratoire », p. 6.
- [43] S. Orsenigo *et al.*, « Global and Regional IUCN Red List Assessments: 3 », *IB*, vol. 3, p. 83-98, juin 2017, doi: 10.3897/italianbotanist.3.13303.
- [44] Vassiliades et Diaw, « Action molluscicide d'*Ambrosia maritima*. II. Essais dans les

conditions naturelles », p. 4.

[45] M. Merrifield *et al.*, « Advancing a vaccine to prevent human schistosomiasis », *Vaccine*, vol. 34, n° 26, p. 2988-2991, juin 2016, doi: 10.1016/j.vaccine.2016.03.079.

[46] G. Riveau, « Une approche vaccinale contre la bilharziose urinaire », p. 10.

[47] G. Riveau *et al.*, « Safety and efficacy of the rSh28GST urinary schistosomiasis vaccine: A phase 3 randomized, controlled trial in Senegalese children », *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 12, n° 12, p. e0006968, déc. 2018, doi: 10.1371/journal.pntd.0006968.

[48] F. Mutapi *et al.*, « Immuno-epidemiology of human *Schistosoma haematobium* infection: preferential IgG3 antibody responsiveness to a recombinant antigen dependent on age and parasite burden », *BMC Infect Dis*, vol. 6, n° 1, p. 96, déc. 2006, doi: 10.1186/1471-2334-6-96.