

CoMed

Infos

2016 - N°53



Fédération Française
de Spéléologie



Fédération Française de Spéléologie
commission médicale

NUMÉRO THÉMATIQUE

AGENTS BIOLOGIQUES EN SPÉLÉOLOGIE ET CANYON

DEUXIEME PARTIE

EDITORIAL

Dr Jean-Pierre Buch

Comme promis il y a un an dans le *CoMed-Infos* n°50, voici la suite du travail d'Albert Demichelis.

La première partie avait introduit le sujet puis traité des bactéries ubiquitaires et des parasites.

Cette deuxième partie traite des champignons, des techniques d'analyse et de traitement de l'eau, des germes atmosphériques et aquatiques ainsi que des facteurs favorisant l'infection.

La thèse médicale datant de 1969 du Dr Michel Luquet, pionnier en la matière, est revue à la lumière des méthodes modernes. Un chapitre évoque les problèmes infectieux pouvant être rencontrés en spéléo-secours.

Enfin, le Dr Jean-Noël Dubois apporte une conclusion pertinente sur ce gros travail en résumant les risques concrets en milieu souterrain et canyon et en ouvrant des espaces originaux sur les résistances aux antibiotiques.

Ce travail fera date dans les annales de la CoMed pour trois raisons :

- ce n'est pas un médecin qui l'a écrit et mené du début à la fin, consacrant l'ouverture de la commission aux personnes ressources
- l'importance du travail réalisé, avec plus de 400 pages, ce qui constitue un record absolu et pour bien longtemps...
- le caractère innovant de ce travail, couvrant les aspects scientifiques, techniques et médicaux du risque biologique.

Certes, cette approche est souvent complexe et difficile. Beaucoup d'éléments sont inconnus aux médecins que nous sommes, beaucoup plus préoccupés de l'application concrète que de l'analyse... Nous y avons fait des découvertes, appris l'existence de germes peu familiers, fait le lien entre des germes et des pathologies, bref, nous sommes les premiers bénéficiaires de ce travail qui profitera à toute la communauté. Bonne lecture.

Commission médicale FFS

Rédaction : Dr J.-P. Buch, 655 B Vieille route d'Anduze, 30140 BAGARD, <jpbuch1@sfr.fr>
Relecture collective



ERRATUM

Voici quelques modifications à apporter au numéro 50.

N° pages	Non corrigé	Corrigé
13	<u>Hydrogenomona</u>	<u>Hydrogenomonas</u>
22	<u>Arthobacteria</u>	<u>Arthrobacteria</u>
33	<u>Termodesulfovibrio</u>	<u>Thermodesulfovibrio</u>
36	<u>Helocobacter /campylobacter</u>	A <u>supprimer</u> (ils sont traités dans e <u>protéobactérie</u>)
45	<u>Fluorescens</u> <u>Putida</u> <u>Plecoglossicida</u>	<u>fluorescens</u> <u>putida</u> <u>plecoglossicida</u>
48	<u>C. kersterssi</u>	<u>C. kerstersii</u>
49	<u>C. kersterssi</u>	<u>C. kerstersii</u>
50	<u>envahissantnt</u>	<u>envahissant</u>
52	<u>baccterie</u>	<u>bacterie</u>
21	<u>Acidimicrobidae</u>	<u>Acidimicrobiidae</u>
58	<u>Terricuts</u>	<u>Terricutes</u>
62	<u>C. Difficile</u>	<u>C. difficile</u>
72	<u>Euryachaeota</u>	mettre <u>Euryarchaeota</u> sur le titre et texte
Tableau	<u>Achaeblobi</u>	<u>Archaeoblobi</u>
76	<u>Termoproti</u>	<u>Thermoprosti</u>



RISQUES BIOLOGIQUES EN SPÉLÉOLOGIE ET CANYONISME

(Tome 2)

Commission Médicale
Fédération Française
de Spéléologie

Auteur : Albert DEMICHELIS

Pratiquant la spéléologie depuis 1998 au sein du club I Topi Pinnuti de Bastia (Haute-Corse), Albert a été invité à participer aux travaux de la CoMed depuis 2013.

Sa formation universitaire et son parcours professionnel l'ont amené à s'interroger sur les risques biologiques pouvant être rencontrés en spéléologie et en canyionisme. Il présente dans la compilation suivante, une revue assez exhaustive de la flore microbienne et parasitaire pouvant être rencontrée sous terre ou lors des descentes de canyon et lors des marches d'approche.

Formation universitaire :

- Diplôme d'études supérieures de Sciences Physiques (Laboratoire de biochimie macromoléculaire de la nutrition, faculté des sciences de Bordeaux).
- Ingénieur des sciences techniques de l'alimentation

Parcours professionnel :

- Responsable recherche et développement dans des grands groupes de l'industrie agroalimentaire
- Responsable du laboratoire d'analyses agroalimentaires de la Chambre d'agriculture de Haute-Corse puis du Conseil général

Tous mes remerciements

Au D Jean-Noël DUBOIS, vice-président de la CoMed qui a relu, annoté et mis en page tout ce travail.

Au D Jean-Pierre BUCH, président de la CoMed, qui a initié et dirigé l'orientation de cette compilation.

Au D Anne-Marie ANGOT, conseillère pour la mise en forme.

À Didier CAILHOL, responsable de la partie scientifique de la FFS qui nous a fourni des publications internationales sur ce sujet.

Au D Vétérinaire Geneviève ANDRE-FONTAINE, pour nous avoir mis à disposition ses informations sur la Leptospirose.

CHAPITRE 4 / EUCARYOTES	11
4.1 FLORE FONGIQUE DES SOLS	11
4.1.1 Caractéristiques générales des fongiques	11
4.1.2 Sélection liée aux exigences du karst	13
4.1.3 Systématique des eucaryotes	15
4.1.4 Étude d'une cavité	17
4.2 DIVISION ZYGOMYCOTA	17
4.2.1 Classe <i>Zygomycetes</i>	18
4.2.1.1 Subdivision <i>Mucoromycotina</i>	18
4.2.1.1.1 Genre <i>Mucor</i>	18
4.2.1.1.2 Genre <i>Rhizopus</i> ¹⁹	19
4.2.1.1.3 Genre <i>Absidia</i>	20
4.2.2 Subdivision <i>Entomophthoromycota</i>	20
4.2.2.1 Genre <i>Conidiobolus</i>	21
4.3 DIVISION ASCOMYCETA	21
4.3.1 Sous-division <i>Pezizomycotina</i>	22
4.3.1.1 Classe <i>Sordariomycetes</i>	22
4.3.1.1.1 Genre <i>Scedosporium</i>	22
4.3.1.1.2 Genre <i>Fusarium</i>	23
4.3.1.1.3 Genre <i>Pseudallescheria</i>	24
4.3.1.1.4 Genre <i>Stachybotrys</i>	26
4.3.1.1.5 Genre <i>Acremonium</i>	27
4.3.1.1.6 Genre <i>Isaria</i>	29
4.3.1.1.7 Genre <i>Scytalidium</i>	29
4.3.2 Sous-division <i>Eurotiomycetina</i>	31
4.3.2.1 Genre <i>Aspergillus</i>	31
4.3.2.2 Genre <i>Penicillium</i>	34
4.3.2.3 Genre <i>Histoplasma</i>	34
4.3.2.4 Genre <i>Coccidioides</i>	37
4.3.2.5 Genre <i>Trichophyton</i>	38
4.3.3 Classe <i>Dothidemycetes</i>	39
4.3.3.1 Genre <i>Cladosporium</i>	40

4.3.3.2 Genre <i>Ulocladium</i>	40
4.3.3.3 Genre <i>Alternaria</i>	41
4.3.3.4 Genre <i>Aureobasidium</i>	41
4.3.4 Classe <i>Saccharomycetes</i>	42
4.3.4.1 Genre <i>Candida</i>	43
4.4 DIVISION BASIDIOMYCOTA	45
4.4.1 Sous-division <i>Agaricomycotina</i>	45
4.4.1.1 Classe <i>Tremellomycetes</i>	45
4.4.1.1.1 Genre <i>Trichosporon</i>	45
4.4.1.1.2 Genre <i>Cryptococcus</i>	46
4.4.2 Sous-division <i>Pucciniomycotina</i>	48
4.4.2.1 Classe <i>Microbotrymycetes</i>	48
4.4.2.1.1 Genre <i>Rhodotorula</i>	48
4.5 OBSERVATION SUR LES ALLERGIES ET MALADIES FONGIQUES	49
4.6 ALLERGIES FONGIQUES	50
4.6.1 Généralités sur les réactions anaphylactiques	50
4.6.2 Allergies fongiques	51
4.6.2.1 Généralités	51
4.6.2.2 Symptômes	52
4.6.2.3 Aspergillose allergique	53
4.6.2.4 Sinusites Fongiques Allergiques (SFA)	53
4.6.2.5 Traitement de l'allergie aux moisissures	54
4.7 ALLERGIES ET INFECTIONS FONGIQUES OCULAIRES	54
4.7.1 Anatomie oculaire	54
4.7.2 Allergie oculaire	54
4.7.3 Infections oculaires fongiques	56
4.7.3.1 Problèmes des infections oculaires	56
4.7.3.2 Aspergillose oculaire	57
4.7.3.3 Histoplasmosse oculaire	57
4.7.4 Diagnostic général des mycoses oculaires	58
4.7.5 Synthèse des données de la littérature mondiale sur le traitement des affections oculaires d'origine fongique	58
GLOSSAIRE THERAPEUTIQUE	61

4.8 PROTECTION DANS LE CADRE D'EXPLORATION SPÉLÉOLOGIQUE	63
4.9 MALADIE FONGIQUE HUMAINE	63
4.10 EMBRANCHEMENT <i>PROTISTA</i>	63
4.10.1 Les protistes et les algues dans les sols	63
4.10.2 Division <i>Oomyceta</i>	66
4.10.3 Protistes trouvés dans le gouffre de la Sambuy	67
4.10.3.1 Genre <i>Rhizaria</i>	67
4.10.3.2 Genre <i>Cercozoa</i>	68
4.10.3.3 Genre <i>Alveolata</i>	69
CHAPITRE 5 / RISQUES MICROBIOLOGIQUES AQUATIQUES ET L'EAU DANS LE KARST	69
5.1 ALIMENTATION EN EAU DANS LE SYSTÈME KARSTIQUE	69
5.2 CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES DES EAUX SOUTERRAINES	70
5.2.1 Température de l'eau	70
5.2.2 Turbidité de l'eau	71
5.2.2.1 Méthode pour évaluer la turbidité sur le terrain	71
5.2.2.2 Turbidité au laboratoire	71
5.2.3 pH de l'eau	72
5.2.4 Conductivité	72
5.3 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES	73
5.3.1 Alcalinité de l'eau ou T _A	73
5.3.2 Titre alcalino-métrique de l'eau ou T _{AC}	73
5.3.3 Titre alcalino-terreux ou dureté de l'eau ou T _H	73
5.4 ANALYSES CHIMIQUES DES EAUX SOUTERRAINES SUR PLACE	74
5.5 ANALYSE CHIMIQUE DES EAUX SOUTERRAINES AU LABORATOIRE	74
5.5.1 Analyse chimique permettant de définir l'état bactérien de l'eau	75
5.5.2 Dosage des matières organiques dans les eaux	75
5.5.3 Contrôle des matières organiques de l'eau	76
5.5.4 Mesure de l'oxygène dissout dans l'eau	76
5.5.5 Normes chimique de l'eau potable	77
5.6 CARACTÉRISTIQUES BACTÉRIOLOGIQUES DES EAUX	77
5.6.1 Méthodes d'analyse bactériologique de l'eau	78

5.6.2 Difficultés particulières et précautions éventuelles à prendre	79
5.6.2.1 Difficultés	79
5.6.2.2 Principaux inconvénients	80
5.6.3 Analyse des germes pathogènes	80
5.6.4 Analyse des entérobactéries pathogènes	81
5.6.5 Germes pathogènes d'origine environnementale	81
5.6.5.1 Analyse des <i>Pseudomonas</i> dans les eaux	81
5.6.5.2 Recherche des <i>Coliphages</i> , Norme : MA.700 – Colph 1.0	82
5.6.6 Analyses bactériologiques rapides	83
5.6.6.1 Au laboratoire	83
5.6.6.2 La bioluminescence	84
5.6.6.3 Conclusion	84
5.7 CYANOBACTÉRIES	85
5.7.1 Généralités	85
5.7.2 Analyses des cyanotoxines	93
5.7.3 Cyanobactéries du monde souterrain	93
5.7.3.1 Division <i>Shizophyta</i> (anciennement <i>Myxophyceae</i>)	93
5.7.3.2 Sous Règne <i>Eoza</i>	94
5.7.3.3 Division <i>Stamenopiles</i>	94
5.7.4 Toxicité des cyanobactéries du monde souterrain	94
5.7.5 Cyanobactérie de <i>Four Windows Cave</i>	96
5.7.6 Cyanobactéries et Sclérose Latérale Amyotrophique	97
5.8 LEPTOSPIROSE	98
5.8.1 Phylum <i>Spirochaetes</i> ; Ordre <i>Spirochaetales</i>	98
5.8.2 Genre <i>Leptospira</i>	99
5.8.2.1 <i>Leptospira interrogans</i>	99
5.8.2.2 <i>Leptospira biflexa patoc</i> , <i>L. parva</i> , <i>L. sejroë</i> , <i>L. grippotyphosa</i> , <i>L. ballum</i> et <i>L. pomona</i>	99
5.8.3 Réservoir et vecteur de la maladie	100
5.8.3.1 Leptospire agent pathogène chez l'Homme, le chien et les animaux d'élevage	100
5.8.3.2 Épidémiologie	101
5.8.3.3 Facteurs influençant le développement des leptospires de l'eau	102

5.8.3.4 Pénétration dans l'organisme et infection par les leptospires	103
5.8.4 Pathologie	103
5.8.4.1 Première phase clinique	104
5.8.4.2 Deuxième phase clinique	104
5.8.5 Diagnostic de la leptospirose chez l'Homme	105
5.8.6 Prévention et traitement de la maladie	105
5.8.7 Le karst et les problèmes de leptospirose	106
5.9 PROTOZOAIRES PARASITES AQUATIQUES : LA BILHARZIOSE	106
5.9.1 Introduction	106
5.9.2 Les parasites	107
5.9.3 Généralités biologiques	107
5.9.3.1 Morphologie	107
5.9.3.2 Cycle du parasitisme	107
5.9.3.3 Physiopathologie	109
5.9.4 Clinique	109
5.9.4.1 Phase de contamination	109
5.9.4.2 Phase d'invasion toxémique	110
5.9.4.3 Phase d'état	110
5.9.4.4 Phase de complications	111
5.9.5 Diagnostic	112
5.9.5.1 Diagnostic de l'infection digestive	112
5.9.5.2 Diagnostic de l'infection urinaire	112
5.9.6 Traitement	113
5.9.7 Conditions de diagnostic chez les voyageurs	113
5.9.8 Prévention	113
5.9.9 Activités spéléologique et canyonisme	114
5.10 AGENTS VIRAUX TRANSMISSIBLES PAR L'EAU	114
5.10.1 Hépatite A	114
5.10.1.1 Virus de l'hépatite A	114
5.10.1.2 Écologie	114
5.10.1.3 Pathogénicité	114
5.10.1.4 Épidémiologie	115
5.10.1.5 Transmission	115

5.10.1.6 Symptomatologie	115
5.10.1.7 Diagnostic	116
5.10.1.8 Traitement	116
5.10.1.9 Prévention	116
5.10.2 Poliomyélite	117
5.10.2.1 Virus de la poliomyélite	117
5.10.2.2 Mode d'action	117
5.10.2.3 Épidémiologie et Facteurs de risque	118
5.10.2.4 Symptomatologie	118
5.10.2.5 Diagnostic	121
5.10.2.6 Prévention et traitement	121
CHAPITRE 6 / MICROBIOLOGIE ATMOSPHÉRIQUE DU KARST	123
6.1 INTRODUCTION	123
6.2 ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AIR DES CAVERNES	123
6.3 DÉNOMBREMENT DE LA FLORE BACTÉRIENNE	123
6.4 SUR-CONTAMINATION LIÉE À LA PRÉSENCE DE LA VAPEUR D'EAU	124
6.5 IDENTIFICATION DE LA FLORE BACTÉRIENNE	124
6.5.1 Bacilles	124
6.5.2 Microcoques	125
6.5.3 Staphylocoques	125
6.5.4 Flavobactéries	126
6.6 INFLUENCE DES FACTEURS D'ENVIRONNEMENTS SUR LA FLORE MICROBIENNE	126
6.6.1 Température	126
6.6.2 Ventilation	127
6.7 IDENTIFICATION DES ESPÈCES BACTÉRIENNES	128
6.7.1 Identification des <i>Bacilli</i>	128
6.7.2 Identification des <i>Microcoques</i>	130
6.7.3 Identification des Staphylocoques	131
6.7.4 Identification des <i>Flavobactéries</i>	132
6.8 CONCLUSION DE L'AUTEUR M. LUQUET	133
6.9 ANALYSE MÉTHODOLOGIQUE DES PROCÉDURES UTILISÉES	133

6.9.1 Sur le plan pratique	133
6.9.2 Sur un plan théorique	134
6.9.3 Moyens actuels pouvant être mises en œuvre pour une étude similaire	134
6.10 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES ACTUELLES POUVANT ÊTRE PRATIQUÉES POUR L'IDENTIFICATION DE LA FLORE MICROBIENNE ET FONGIQUE	135
6.10.1 Méthodes phénotypiques	135
6.10.2 Méthodes génotypiques	136
6.11 DISCUSSION	136
CHAPITRE 7 / LA PATHOLOGIE HUMAINE ET LES CONDITIONS KARSTIQUES	137
7.1 GÉNÉRALITÉS SUR LE SYSTÈME IMMUNITAIRE	137
7.2 PARAMÈTRES ENDOGÈNES	139
7.2.1 Altération des défenses immunitaires de l'organisme	139
7.2.1.1 Immunodéficience ou immunodépression	139
7.2.1.2 Fatigue	140
7.2.2 Altération des barrières naturelles de l'organisme	141
7.2.3 Affaiblissement par la sous-alimentation ou la déshydratation	141
7.2.3.1 Déshydratation	141
7.2.3.2 Hypoglycémie	142
7.2.4 Addictions (tabac, alcool, drogues)	145
7.2.5 Perturbations endocriniennes et physiologiques	146
7.2.6 Rôle important de la flore intestinale	146
7.2.7 Rôle du climat sur l'organisme	146
7.2.7.1 Hypothermie	146
7.2.7.2 Hyperthermie	147
7.3 PARAMÈTRES EXOGÈNES	147
7.3.1 Transmission de l'infection d'une personne à une autre ou d'un animal à une personne (les porteurs sains)	147
7.3.2 Modifications du milieu favorisant le déséquilibre de la flore commensale	148
7.3.3 Vecteurs microbiens permettant le transport	148

7.3.4 Surinfections virales	148
7.3.5 Déséquilibres entre bactéries et bactériophages	149
7.3.6 Fixation microbienne	149
7.4 STRESS	150
7.4.1 Réactions physiologiques en cas de stress	151
7.4.2 Perspectives	154
7.4 COMMENT SE PROTEGER DE LA CONTAMINATION AMBIANTE ?	154
7.5 CONSIDÉRATION TRAUMATOLOGIQUE DANS LE CADRE DU SPÉLÉO-SECOURS	155
7.6 PRISE EN CHARGE DES PLAIES RAPPELS DE VACCINATION ANTITÉTANIQUE	156
7.7 OBSERVATIONS SUR LA POSE ET LA COLONISATION HÉMATOGÈNE DES CATHÉTERS	157
CONCLUSION	160
BIBLIOGRAPHIE	163

CHAPITRE 4

EUCARYOTES

Ce sont des organismes possédant une enveloppe pour leurs gènes, dénommée le noyau, pouvant être présent en un ou plusieurs exemplaires dans la même cellule. Les moisissures et les champignons font partie de cet embranchement car ils ont tous des noyaux dans leur cellule. La différenciation entre les procaryotes et les eucaryotes se résume dans le tableau suivant :

Différenciation entre les eucaryotes et les procaryotes		
Définitions	Procaryotes	Eucaryotes
Cytologie		
Membrane nucléaire	(-)	(+)
Mitochondries	(-)	(+)
Chloroplastes	(-)	(+)
Vacuoles	(-)	(+)
Appareil de Golgi	(-)	(+)
Liposomes	(-)	(+)
Microtubules	(-)	(+)
Réticulum endoplasmique	(-)	(+)
Ribosomes		
R. dispersés	(+)	(-)
R. fixés sur réticulum	(-)	(+)
Endospores		
	(+)	(-)
Sensibilité aux antibiotiques		
Pénicilline, streptomycine	(±)	(-)
Cycloheximide	(-)	(±)
Métabolisme		
Fixation de l'azote	(±)	(-)
Dénitrification	(±)	(-)
Biologie moléculaire		
N. chromosomes	(1)	(>1)
Chromosomes circulaires	(+)	(-)
Ribosomes 80s	(-)	(+)
ARN 16s, 23s, 5s	(+)	(-)
ARN 18s, 28s, 5,85s, 5s	(-)	(+)

La présence d'un noyau identifiable dans une enveloppe (l'enveloppe nucléaire), la présence de chromosomes non-circulaires et indépendants, en forme de fibres entrelacées appelées chromatines, qui constituent l'ADN, la présence d'un ARNr de forme 18s et la fixation des ribosomes sur le réticulum endoplasmique sont les points essentiels de la différenciation des eucaryotes.

4.1 FLORE FONGIQUE DES SOLS

4.1.1 Caractéristiques générales des fongiques

Leur culture en laboratoire se fait sur milieux acides, sucrés ou amylacés avec présence ou non d'antibiotiques, température de culture 25 °C (température ambiante). Dans un but de sélection,

on peut cultiver les fongiques sur des milieux plus sélectifs comme les milieux halophiles ou faire varier les antibiotiques (chloramphénicol, oxytétracycline ou autres). L'analyse de l'ARNr 18s est une très bonne méthode pour définir et identifier le génotype fongique, si les sondes de clonage sont disponibles.

Multiplication des fongiques

Les conditions optionnelles du karst vont modifier le comportement végétatif des fongiques et entraîner dans certains cas des modifications d'ordre morphologique. D'où l'intérêt de détailler la complexité des formes reproductives que les fongiques dans l'adaptation au milieu.

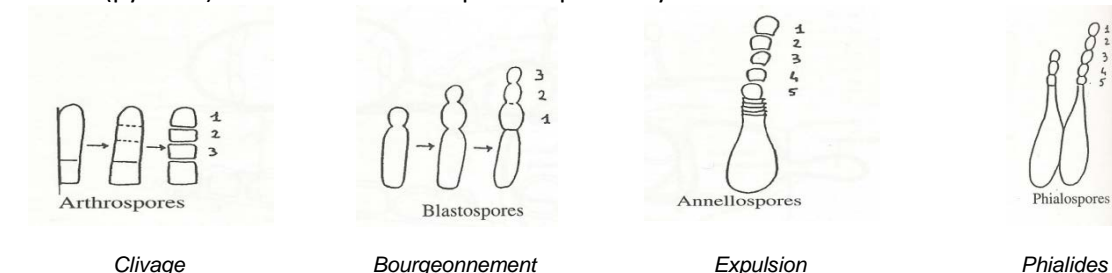
Dans le cas d'une multiplication végétative, la cellule ne subit pas ou peu de remaniements cytologiques. Dans le cas d'une reproduction asexuée, les cellules subiront d'importantes transformations, celle-ci n'implique pas de fécondation, ni de réduction chromatique. Les recombinaisons génétiques ne sont alors possibles que par parasexualité. Au contraire la reproduction sexuée implique très souvent des recombinaisons génétiques. Dans certain cas nous pouvons avoir sur le même fongique une reproduction sexuée et une reproduction asexuée, on dit dans ce cas que nous avons une hologamie.

Reproduction asexuée

Les sporangiospores^a caractérisent les champignons inférieurs. Ils peuvent avoir plusieurs types d'évolutions :

- par clivage du cytoplasme dans le sporange (*Mucor* et *Rhizopus*) ;
- par bourgeonnement (*Penicillium*, *Aspergillus*) ;
- par extrusion étirement de l'hyphe^b avec coupure (*Alternaria*) ;
- par expulsion de l'apex ou de l'extrémité de l'hyphe (*Humicola*) ;
- par phialide formation de chaînes de spores (*Sphaerostilbe*).

Dans certains cas ils peuvent être simples, ramifiés, agrégés (corémies) ou inclus dans une structure fermée (pycnide) ou se former sur un pseudo-parenchyme.



Reproduction sexuée

La reproduction sexuée implique la production d'organes sexués et de gamètes ; la fusion des gamètes ou des organes sexués sera suivie par la fusion nucléaire ou caryogamie et la méiose, développement des organes de fructification.

Chez les basidiomycètes la caryogamie est retardée par rapport à la plasmogamie^c. Les deux phases nucléaires sont observables : une phase haploïde à 1 N chromosomes caractérise l'haplonte et une phase diploïde à 2 N chromosomes caractérise le diplonte.

a/ sporangiospores : spore qui est produite dans un sporange.

b/ hyphe : élément végétatif filamenteux multinucléaire, caractéristique des champignons. Elle peut mesurer plusieurs centimètres de long mais n'avoir que quelques microns de diamètre et donc, à l'état isolé, être invisible à l'œil nu. Ces filaments deviennent visibles lorsqu'ils sont réunis en cordons mycéliens suffisamment gros.

c/ plasmogamie : (de plasma et [gamos] mariage) est la fusion des cytoplasmes de deux cellules provenant de deux mycéliums. C'est la première étape de l'union des cellules de deux organismes, précédant la caryogamie chez les eucaryotes, lors de la fécondation.

- L'hologamie^d est la copulation entre haplontes (cellules à 1N), fusion de deux hyphes haploïdes (*Polyphagus*).
- La cystogamie^e est la copulation entre deux gamétocytes, c'est-à-dire entre deux organes spécialement différenciés qui ne produisent pas de gamètes individualisées (*Mucorales*). L'individualisation des gamètes conduit à la mérogamie^f (iso, aniso ou oogamie^g et va jusqu'à l'oosphère).
- L'anthéridie^h des *Saprolegnia* émet un tube qui traverse l'oogoneⁱ et va jusqu'à l'oosphère, c'est la siphonogamie (il va servir au transfert des gamètes). Souvent les organes sexuels des *septomycètes* ne se différencient pas et ce sont des cellules morphologiquement identiques aux cellules végétatives ordinaires qui s'unissent.

Ces phénomènes de différenciation impliquent souvent la synthèse d'hormones qui sont excrétées dans le milieu extérieur.

Les caractères de reproduction ont été longtemps des moyens d'identification de la flore fongique. Ils sont actuellement moins utilisés car on a pu constater dans certaines espèces des comportements sexués dû aux à des variations de conditions ambiantes.

Tous ces paramètres vont définir la flore qui pourra le mieux s'adapter aux conditions karstiques. La présence de moisissures est souvent opportuniste. La contamination principale est aérienne et due à la présence de spores dans l'air, véhiculées par courants d'air. Les spores de moisissures sont très résistantes et peuvent survivre aux conditions karstiques pendant des années pour attendre le moment le plus propice à leur développement.

Conditions éco physiologiques de la toxicogénèse

Pour une espèce réputée toxicogène, l'aptitude à la toxicogénèse semble être un facteur génétique, mais l'expression de cette aptitude dépend essentiellement des caractéristiques du milieu, humidité, température, nature du substrat, composition de la phase gazeuse, pH, etc.

Dans la plupart des cas la température de production des toxines est proche de la température optimale de croissance (aflatoxines, ochratoxines A, stérigmatocystine, patuline). Pour le zéarlénone (*Fusarium roseum*) l'optimum de développement de la toxine commence dans la zone de 12 à 15 °C avec une croissance maximale à 25 °C. Les trichothécènes seraient produits à partir de 1 °C.

4.1.2 Sélection liée aux exigences du karst

Le karst va limiter ou favoriser les possibilités de développement des fongiques selon les conditions du biotope.

- **Par aération :** la majorité des espèces fongiques sont aérobies, quelques-unes sont micro-aérobies et très peu sont anaérobies stricts. Ils sont abondants dans le sol mais seulement dans les couches superficielles.

d/ hologamie : mode de reproduction sexuée par union de deux cellules végétatives qui se comportent comme des cellules sexuelles (chez les protozoaires, algues, champignons).

e/ cystogamie : fécondation fréquente chez les archéthalles du type trichoïde, par fusion entre deux contenus cytoplasmiques de deux cellules appartenant soit au même thalle soit deux thalles différents. Elle se fait par l'intermédiaire d'un pont de conjugaison d'où le nom de cystogamie. Lorsque les deux contenus de départ sont identiques et effectuent les mêmes trajets pour se rencontrer au centre du pont de transfert, on parle d'une *cystogamie isogamie*, dans le cas contraire de *cystogamie anisogamie*.

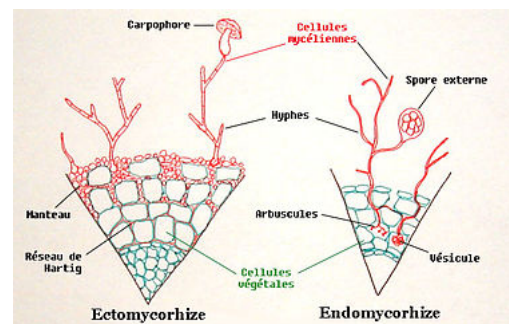
f/ mérogamie : forme de reproduction sexuée où les gamètes sont des cellules spécialisées, bien distinctes des cellules somatiques.

g/ oogamie : désigne une méthode de reproduction sexuée dans laquelle les gamètes mâles et femelles ont des comportements, des tailles et des physiologies différents.

h/ anthéridie : gamétange mâle des Archégoniates, l'organe de production et de stockage des gamètes mâles haploïdes (appelés anthérozoïdes ou spermatozoïdes).

i/ oogone : organe en forme de sphères ou ovalisé comme un œuf.

- **Par la lumière :** dans la reproduction sexuée, les moisissures ont besoin de lumière pour déclencher la méiose, ce qui limite leur développement dans le karst et oriente nos recherches vers les champignons asexués. Cependant des sporulations en présence de lumière bleue ont été décrites chez des *Penicillium*, des *Alternaria* et des *Stemphylium*. Le pic maximum d'activité est 480 nm.
- **Par le pH :** une grande majorité de champignons peut se développer dans une zone de pH entre 4,5 et 8,0 avec un optimum de développement entre 5,5 et 7,5 ce qui peut être un facteur limitant car les zones calcaires peuvent atteindre des valeurs >7,5.
- **Par la température :** les champignons sont psychrotrophes et mésophiles, avec un optimum de température de 25 °C à -35 °C. Les températures limites sont de -60 °C à +60 °C mais les levures sont plus sensibles aux hautes températures. L'arrêt de croissance pour les *Saccharomyces oviformis* se produit à la température de 45 °C. Les thermorésistants sont *Cladosporium herbarum*, *Fusarium nivale* et *Thamnidium elegans*.
- **Par la nourriture :** les moisissures sont exigeantes en composés organiques carbonés, hydrocarbonés, en composés azotés et en constituant minéraux, qui ne sont pas toujours présents dans le karst. L'apport de nourriture est occasionnel dans le karst et ce à partir d'animaux morts, d'insectes, du guano des chauves-souris ou de débris végétaux (racines, apports de bois par les charges hydriques lors des orages) ou encore de pollutions anthropiques (déversement des égouts, rejet de déchets industriels...). Il semble que l'action de ce groupe de champignons ne soit importante que dans le premier stade de la décomposition des matières organiques. De nombreux champignons vivent en symbiose avec les végétaux, on a deux types de symbiose, soit avec une évolution externe les *Ectomycorhizes*^j, soit une évolution interne par un mycélium intracellulaire *Endomycorhizes*. D'autres sont parasites du règne végétal, mais aussi des insectes, des animaux et de l'Homme et deviennent pathogènes.
- **Nutrition minérale :** les oligoéléments tels que le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc, le molybdène et les éléments tels que le sodium, potassium, le magnésium et le calcium sont essentiels pour la croissance des champignons. La croissance des *Oomycètes* demande la présence du calcium pour stabiliser sa membrane cytoplasmique. La plupart des champignons peuvent utiliser les sulfates mais plusieurs d'entre eux ne peuvent pas réduire les sulfates et former les acides aminés soufrés indispensables et de ce fait exigent des sources d'azotes avec de la méthionine ou de la cystéine.



Par exemple dans les grottes calcaires, les champignons se colorent en blanc crayeux ou avec des couleurs rougeâtres. Cette formation peut prendre l'aspect de couloir blanc ou de coulées blanches murales ou de formation d'aragonites, cristaux de carbonate de calcium contenant des sels de plomb. C'est le champignon qui par son métabolisme, entraîne un dépôt de sels minéraux qui vont cristalliser dans des formes diverses.

^j **ectomycorhizes :** forme de symbiose mycorhizienne entre certaines espèces de champignons et environ 10 % des espèces végétales vasculaires. Elles seraient apparues sur Terre il y a environ 150 à 220 millions d'années.

- **Par la capacité d'échange des argiles et des calcaires qui peut être un facteur favorable au développement des moisissures** : rétention de l'eau, des nutriments et des minéraux dans le sol. Les minéraux et les matières organiques sont retenus par l'effet du potentiel $z\grave{e}ta$ (liaisons hydrogènes et charges électriques minérales).
- **Par l'aW^k le besoin en eau libre** : c'est un facteur individuel propre à chaque espèce. L'humidité du karst est un facteur favorisant le développement des champignons.

AW minimum toléré pour le développement en fonction des espèces fongiques

Fongiques	aW (eau libre disponible)
<i>Rhizopus, Mucor</i>	0,93
<i>Rhodothrauxia, Pichia</i>	0,92
<i>Hansenula, Saccharomyces</i>	0,90
<i>Candida, Debaryomyces, Hanseniaspora, Cladosporium</i>	0,88
<i>Paecilomyces</i>	0,86
<i>Saccharomyces (autres), Aspergillus, Penicillium, Emericella</i>	0,80
<i>Aspergillus, Wallemia</i>	0,75
<i>Eurotium, Chrysosporium</i>	0,70
<i>Saccharomyces (autres), Eurotium (autres), Monascus</i>	0,60

D'après ce tableau nous pouvons estimer la possibilité de présence de champignons en fonction de l'humidité ambiante des lieux. Une aW trop importante peut devenir pour certaines espèces de champignons un critère de formation de mycotoxines. L'osmolarité du milieu, la teneur en composés dissous, la teneur en sucre, en sel, en molécules hydratées dissoutes vont définir l'aW du milieu et de ce fait la possibilité de développement des champignons.

Tous ces paramètres vont définir la flore qui pourra le mieux s'adapter aux conditions karstiques. La présence de moisissures est souvent opportuniste. La contamination principale est aérienne et due à la présence de spores, véhiculées par les courants d'air. Les spores de moisissures sont très résistantes et peuvent survivre aux conditions karstiques pendant des années pour attendre le moment le plus propice à leur développement.

4.1.3 Systématique des eucaryotes

Le règne des champignons comprend quatre phylas :

- *Chytridiomycota*
- *Zygomycota*
- *Ascomycota*
- *Basidiomycota*

Le règne des *Stramenopila* regroupe les trois phylas :

- *Oomycota*
- *Hyphochytriumycota*
- *Labyrinthulomycota*

Le règne des protistes regroupe quatre phylas :

- *Plasmodiophoromycota*
- *Dictyosteliomycota*

k/ aW : eau disponible pour la vie des bactéries, champignons, des plantes et des êtres vivants en général. L'eau disponible diminue lorsqu'elle est retenue par un ou des éléments dissous comme les sucres, les sels, les polysaccharides... et lorsque la pression osmotique augmente.

- *Acrasiomycota*
- *Myxomycota*

Bactéries, champignons, algues, protozoaires, et parfois, virus sont présents dans le monde karstique.

Photo en balayage électronique d'échantillons prélevés dans le karst.

Par Società Speleologica Italiana, 2009.

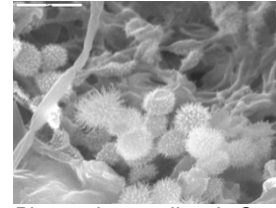


Photo prise aux Iles du Cap Vert (Michael N. Spilde)

Caractéristiques

Les fongiques

- *Chytridiomycota* ou *Chytrides* constituent un vaste groupe de champignons saprophytes ou parasites, considérés comme primitifs. Une espèce de chytride (***Batrachochytrium dendrobatidis*** [Bd]) présente des variants inhabituellement virulents et pathogènes pour les amphibiens et est en forte et rapide extension dans le monde. Ils sont source d'une « maladie infectieuse émergente » (MIE) décimant les amphibiens qui s'y montrent très sensibles.
- *Zygomycota* : de taille généralement microscopique, ce sont des champignons à spores dépourvues de flagelles, dans lesquels les cellules ne sont pas séparées par des cloisons, leurs hyphes étant cœnocytiques¹ ou siphonnés, avec de nombreux noyaux dans un même siphon. Ces champignons sont également caractérisés par une abondante reproduction asexuée et une croissance rapide qui leur permettent de coloniser rapidement leur milieu.
- *Ascomycota* : constituent un vaste embranchement de champignons, caractérisés par la présence de spores formées à l'intérieur d'asques (sac). Parmi les *Ascomycètes*, on trouve de nombreuses espèces utiles ou pathogènes pour l'Homme.
- *Basidiomycota* : ils constituent un vaste embranchement ou phylum des mycètes qui regroupe la plupart des espèces désignées par le fait qu'ils sont caractérisés par des spores formées à l'extrémité de cellules spécialisées, les basides.

Les *Stramenopila* se caractérisent dans les classes suivantes par :

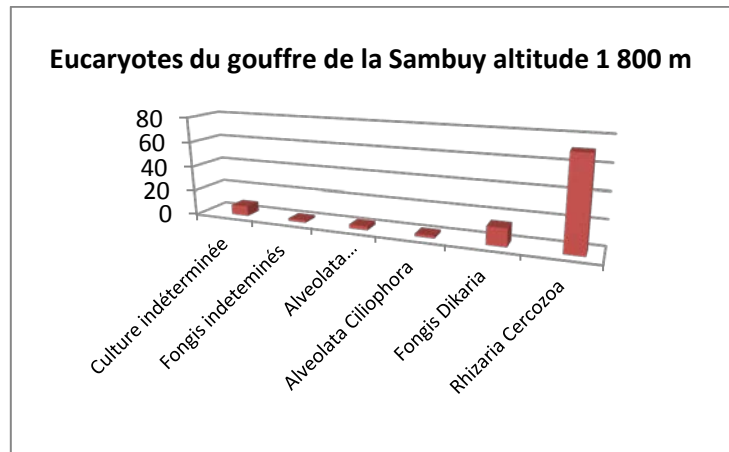
- *Oomycota* : ils appartiennent à la classe des *Oomycetes*, ce sont des organismes filamenteux comprenant entre 800 et 1 000 espèces¹. Ce sont des organismes aquatiques non photosynthétiques. Compte tenu de leurs ressemblances morphologiques ils ont été longtemps classés comme un groupe proche des champignons. Les analyses phylogénétiques ont montré que les *Oomycètes* appartiennent en réalité aux *Straménopiles* (ou *Hétérokontes*), c'est-à-dire qu'ils sont proches des algues brunes (classés dans les pseudo-champignons).
- *Hyphochytriomycota* : phylum des champignons aquatiques qui contient environ 23 espèces, classées dans le règne *Chromista*. L'embranchement se distingue par la production asexuée des cellules mobiles (zoospores) avec une structure simple, antérieure, plumeuse et la présence de flagelles.
- *Labyrinthulomycetes* ou *Labyrinthulea* : classés dans les protistes, produisent un réseau de filaments ou de tubes qui servent à la cellule à glisser et à absorber les éléments nutritifs. Il y a deux groupes principaux, le *Labyrinthulidiens* et *Thraustochytridiens*. Ils sont pour la plupart marins, se trouvent couramment comme parasites sur les algues et les herbiers marins ou participant à la décomposition du matériel végétal. Ils comprennent également certains parasites d'invertébrés marins².

¹ **coenocyte** : (biologie) tissu constitué d'un cytoplasme multinucléaire.

4.1.4 Étude d'une cavité

La seule cavité qui a été analysée sur le plan des fongiques est le gouffre de la Sambuy en Savoie qui se trouve à une altitude de 1 800 m. La méthodologie employée a été l'analyse de la diversité bactérienne par amplification PCR, avec séquençage partiel de l'ADN et analyse de l'ARNr 18s. Les résultats obtenus sont les suivants :

Dans le graphique suivant nous constatons que les fongiques représentent 14 % des eucaryotes identifiés, le reste étant des eucaryotes unicellulaires, plus proches des protozoaires que des fongiques, que l'on appelle des protistes (environ 76 %) et une partie non-identifiée (environ 10 %). Les fongiques étudiés dans cette analyse n'ont pas été identifiés, il n'est pas possible de les exploiter comme source d'information supplémentaire. Les protistes et les amibes qui sont signalées seront analysées après les fongiques.



Compte tenu que nous n'avons pas une analyse détaillée des genres de fongiques habituellement présents dans les cavités, nous allons limiter nos recherches aux genres pouvant se développer dans le milieu sélectif du monde souterrain. Le fongique devra répondre aux critères suivants :

- Pouvoir se développer dans le sol.
- Nécessiter une température de développement pas trop élevée.
- Pouvoir se reproduire à des faibles taux de lumière.
- Posséder un hétérotropisme pas trop exigeant.
- Être pathogène ou allergène pour l'Homme.

Il est à remarquer que devant la forte diversité des fongiques, il serait présomptueux de prétendre faire une analyse exhaustive sur ce sujet.

4.2 DIVISION ZYGOMYCOTA

Taxonomie actuelle

En 2007, le groupe de travail qui a formalisé la classification phylogénétique des fongiques n'a pas retenu les *Zygomycota* comme une division. Cette classification fait consensus³. Les relations phylogénétiques entre les différentes lignées à la base de l'embranchement des fongiques nécessitent d'être réétudiées avec une résolution plus claire et il sera alors peut-être à nouveau approprié d'utiliser la division des *Zygomycota*.

Les *Zygomycota* sont des champignons, dépourvus de zoospores (*Amastigomycètes*), et font partie des *Eumycota*. Ils sont essentiellement aériens ou terricoles. Les thalles végétatifs sont haploïdes (1N). La reproduction asexuée se fait par des sporocystes ou conidies (il n'y a pas de zoospores). La reproduction sexuée s'accomplit par la fusion de deux gamètes pluri-nucléaires qui, après appariement et fusion des noyaux, donnent naissance à un zygote diploïde (ou zygospore). La méiose suit la fécondation ou peut être différée. Les sporocystes issus des zygotes sont haploïdes

(1N).

Benny publie en 2012 une synthèse sur les *Zygomycota* en reconnaissant neuf ordres⁴:

- Sept ordres des *Zygomycetes* :
 - *Mucorales*
 - *Dimargaritales*
 - *Endgonales*
 - *Entomophthorales*
 - *Kickxellales*
 - *Mortierellales*
 - *Zoopagales*
- Et deux ordres qui ont été reclassés par divers auteurs dans les *Trichomycetes* :
 - *Asellariales*
 - *Harpellales*

Les *Zygomycetes* sont abondants dans les sols, seulement dans les couches superficielles. Ils sont hétérotrophes, ont besoin de matières organiques pour pouvoir se développer ; pour cela ils sont fixés sur les déchets animaux et végétaux à peine décomposés.

4.2.1 Classe *Zygomycetes*

4.2.1.1 Subdivision *Mucoromycotina*

Ce sont souvent des saprophytes. Ils sont incapables de dégrader la cellulose mais ils assimilent bien les sucres aussi, on les trouve comme agent d'altération des aliments. Certaines espèces sont parasites des végétaux. Des espèces d'endogonales (ensemencement des spores par voie digestive des animaux) forment des ectomycorhizes et peuvent être des agents de mucormycoses.

Dans cette classe on trouve les genres suivants :

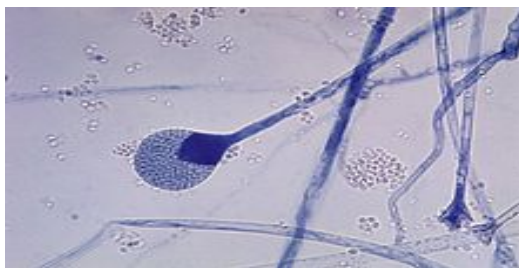
- | | | |
|----------------------|-------------------------|--------------------------|
| ➤ <i>Absidia</i> | ➤ <i>Cunninghamella</i> | ➤ <i>Pilobolus</i> |
| ➤ <i>Actinomucor</i> | ➤ <i>Mortierella</i> | ➤ <i>Rhizopus</i> |
| ➤ <i>Amylomyces</i> | ➤ <i>Mucor</i> | ➤ <i>Thamnidium</i> |
| ➤ <i>Blakeslea</i> | ➤ <i>Phycomyces</i> | ➤ <i>Syncephalastrum</i> |

L'ordre des *Mucorales* que nous allons présenter, contient les genres suivants : *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, présents en très grand nombre dans les sols.

4.2.1.1.1 Genre *Mucor*

Subdivision *Mucoromycotina* ; Ordre *Mucorales* ; Famille *Mucoraceae*

Les genres étudiés de cette famille seront : *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*.



Genre *Mucor*

Les mucorales sont généralement à croissance rapide et leur large hyphe (filament) manque de cloisons (les cloisons ne sont présentes que dans les sporangiophores et les gamétanges). Les hyphes sont verticaux, simples ou ramifiés, portant les sporanges en sacs remplis de spores asexuées. Cultures sur milieu de Sabouraud sans cycloheximide ou OGA avec auréomycine.

(Photo : *Mucor mucedo*)

Fig. 1 : http://translate.googleusercontent.com/search?q=mucoral+classification&biw/...

Ces champignons ou moisissures existent en abondance dans l'environnement de façon ubiquitaire, surtout dans le sol et sur les végétaux en décomposition.



(Fig.2 : http://translate.googleusercontent.com/www.praxis-hartmeier.de/pilzerkrankungen/...)

Pathogénicité

La pathologie des mucorales s'appelle la zygomycose. Son importance clinique est relativement minime, mais elle peut être l'agent de mycoses profondes gravissimes. Des infections rares mais très graves sont dues au genre des *Mucorales*. Les *Saprolegnias*, les *Alchyas* qui se trouvent dans les sols humides et dont les pathologies principales se localisent dans la zone rhinocérébrale^m et se voient surtout chez les diabétiques, les toxicomanes aux opiacés, les immunodéprimés. Les spores infectantes pénètrent le plus souvent par inhalation. Ces mycoses sont généralement foudroyantes et fatales, le tableau clinique comporte : rhinorrhée unilatérale muqueuse puis noirâtre, céphalées, épistaxis, œdème facial et conjonctival, ptosis, puis coma. Plus exceptionnellement sont observés des thromboses carotidiennes, des ostéites, des paralysies multiples des nerfs crâniens, voire des infarctus cérébraux secondaires à des vascularites et à des thrombophlébites.

Les formes rhinocérébrales sont fréquentes chez le diabétique déséquilibré en acidocétose. Les formes pulmonaires et disséminées sont surtout l'apanage des patients en aplasie traités pour hémopathie maligne et chez des insuffisants rénaux dialysés chroniques traités par *Déféroxamine*. Des formes digestives sont rapportées au cours de troubles graves consécutifs à une carence nutritionnelle et des formes cutanées primitives sont décrites chez les brûlés et sur des plaies postopératoires.

Mucor mucedo : Maladie des plantes et des végétaux.

Mucor indicus : Il provoque une infection nécrosante connue sous le nom de zygomycose.

Mucor racemosus : Il a été connu pour causer des réactions allergiques.

4.2.1.1.2 Genre *Rhizopus*

Subdivision *Mucoromycotina* ; Classe *Zygomycetes* ; Ordre *Mucorales* ;
Famille *Mucoraceae*



(Fig.3 : http://translate.googleusercontent.com/www.dermnetuz.org/fungal/zygomycosis/...)

Moississure opportuniste, très répandue dans l'environnement, responsable de mucormycoses ou zygomycoses. À l'examen direct, on observe des filaments mycéliens courts, peu ou pas septés

m/ rhinocérébrales : infections des parties nasales et de leur prolongement cérébral.

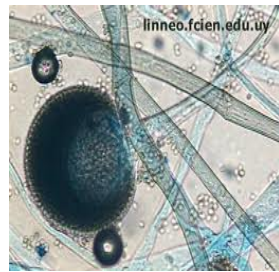
(cloisonnés), à paroi épaisse et souvent ramifiés à angle droit. Les cultures sur milieu de Sabouraud sans cycloheximide donnent des colonies gris foncé, d'aspect duveteux, avec des sporangiospores courts, aux ramifications terminales en sympode, des sporanges sphériques et la présence des zygospores.

Rhizopus oryzae : il vit dans le monde entier dans la matière organique morte. C'est un pathogène opportuniste pour l'Homme, il est un agent causal de zygomycose (plus correctement mucormycosis). La souche RA 99-880 a été isolée à partir d'une infection mortelle et le génome a été séquencé par le *Broad Institute* en 2004-2005.

4.2.1.1.3 Genre *Absidia*

**Subdivision *Mucoromycotina* ; Classe *Zygomycetes* ; Ordre *Mucorales* ;
Famille *Absidiaceae***

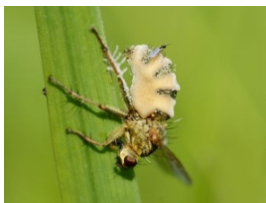
Moisissure opportuniste, très répandue dans l'environnement, responsable de mucormycoses. À l'examen direct, on observe des filaments mycéliens courts, peu ou pas septes, à paroi épaisse et souvent ramifiés à angle droit. Les cultures, comme les mucors, donnent des colonies blanches à gris brun, d'aspect laineux, avec des sporangiospores fortement ramifiés, des sporanges piriformes et des zygospores avec des suspenseurs possédant des appendices circinés.



Absidia corymbifera : il peut provoquer des infections chez des patients immunocompétents après effraction de barrière cutanée, mais les infections concernent généralement les sujets immunodéficients, par exemple les patients subissant une chimiothérapie pour un cancer ou une leucémie, ou les patients avec un diabète mal contrôlé, en particulier si l'acidocétose est présente, ou ceux présentant une accumulation de fer (hémochromatose sous traitement chélateur), sous hémodialyse ou corticothérapie prolongée, les séropositifs ou ceux qui ont subi des brûlures étendues. Les symptômes vont d'une infection de la peau autour des blessures à une invasion multi-viscérale systémique.

La zygomycose est soupçonnée devant la résistance de la maladie à la thérapie aux antibiotiques et confirmée par l'observation microscopique des hyphes dans les cultures microbiennes. L'histologie n'est pas toujours positive pour ***Absidia corymbifera***.

4.2.2 Subdivision *Entomophthoromycota*



Mouche attaquée par
le champignon
Entomophthora muscae

Ordre Entomophthorales

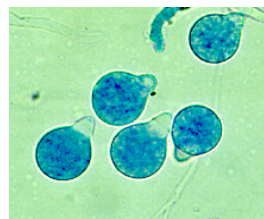
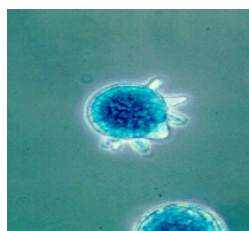
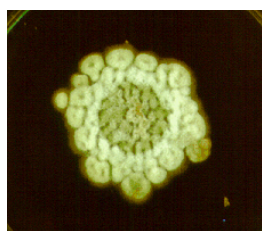
C'est un rang taxinomique de la sous-division des Entomophthorinae, qui sont principalement des pathogènes d'insectes. Cette classe est souvent rencontrée dans les cavités humides, laissant sur les murs des insectes pétrifiés et calcifiés.

4.2.2.1 Genre *Conidiobolus* ; Synonyme *Entomophthora*

Subdivision *Entomophthoramycozoa* ; Ordre *Entomophthorales* ; Famille *Ancylistaceae* ;

Genre *Conidiobolus*

Dans cette famille l'espèce pathogène la plus connue est *Conidiobolus coronatus*.



Colonies (culture)

Spores primaires
et secondaires

Spores avec fructifications

Les espèces du genre *Conidiobolus* produisent des conidies multi-nucléées primaires et secondaires. Chaque conidie sphérique est libérée à la suite de la pression développée au sein de la conidophore. Le genre *Conidiobolus* comprend 27 espèces, mais seul deux espèces les *C. coronatus* et *C. incongruus* sont connues pour causer des maladies humaines dans les zones tempérées.

Culture

Les colonies de *C. coronatus* se développent rapidement et sont plates, couleur crème, gélatineuses devenant radialement plissées et couvertes d'une poudre blanche qui sont des conidiophores et du mycélium superficiel. La couleur de la colonie peut devenir beige ou brune avec l'âge. Les conidies sont sphériques de 10 à 25 µm de diamètre. Les conidies peuvent également produire des appendices ressemblant à des cheveux.

Symptomatologie

C. coronatus est un pathogène fongique émergent rare, mais pouvant provoquer des maladies humaines graves et atteindre aussi d'autres mammifères, comme les chiens et les chevaux. Le *C. coronatus* peut infecter la muqueuse nasale et de là, le cerveau. Il est extrêmement difficile à traiter. Il peut être défigurant ou même léthal. Il a été rapporté en Allemagne un cas léthal d'entomophthoramycosis de rhino-orbito-cérébrale invasive causée par *C. incongruus* chez une femme de 78 ans avec syndrome myélodysplasique⁵.

Les enzymes qu'il sécrète dégradent les protéines et contribuent à en faire un agent pathogène dangereux. Les recherches microbiologiques sont difficiles pour des raisons liées à la difficulté à maintenir la culture en laboratoire.

Épidémiologie

Cette infection se limite aux zones tropicales.

Applications industrielles

Le potentiel enzymatique de ce fongique est industriellement exploité et son action pathogène sur les insectes pourrait permettre de l'utiliser dans la lutte contre les termites et autres invertébrés.

4.3 DIVISION ASCOMYCETA

La classification des *Ascomycètes* a été, et est toujours, l'objet de nombreuses révisions. Certaines classifications sont basées sur la morphologie de l'asque, d'autres sur celle de l'ascocarpe (organe sur, ou dans, lequel se forment les asques). Une vaste étude phylogénétique réalisée en 2007 par plus d'une soixantaine de chercheurs, dont le classement est adopté par le projet *Tree of Life* et par le réseau MycoNet⁶, définit trois sous-embranchements d'ascomycètes :

- Les *Taphrinomycotina*, groupe contenant quatre classes :
 - *Schizosaccharomycetes* contenant les levures de bière ;
 - *Pneumocystidomycetes* ;
 - *Neoelectomycetes* ;
 - *Taphrinomycetes*.
- Les *Saccharomycotina* contenant le groupe des « levures de boulangerie ».
- Les *Pezizomycotina*, groupe contenant le plus grand nombre d'espèces :
 - *Sordariomycetes* : composé de 64 familles, 1 119 genres et 10 564 espèces. Ils produisent généralement leurs ascques en forme de périthèces^a de fructifications.
 - ✓ Sous-division des *Deuteromycota* : fongiques à hyphes septés, se multipliant de façon asexuée « végétative ». Il s'agit donc d'une sous-classe. Il n'a été créé que pour classer les champignons septés que l'on ne sait pas classer ailleurs du fait de l'absence de leur reproduction sexuée. Il constitue donc un ensemble hétérogène et polyphylétique.
 - ✓ Sous-classe *Eurotiomycetes* : ils étaient précédemment regroupés dans la classe *Plectomycètes*.
 - ✓ Sous-classe *Dothideomycetes* : comptent plus de 19 000 espèces, 1 300 genres et plus de 100 familles.

4.3.1 Sous-division *Pezizomycotina*

Le mycélium est formé d'un hyphe septés. Les pores simples sont régulés par des corps de Voronin (noyau dense dérivé des peroxyosomes situés près des cloisons des hyphes). Les mycéliums sont en général haploïdes, le stade dikaryon (formation de cellules compatibles permettant la fusion des cytoplasmes pour faire le transfert des deux noyaux haploïdes dans la reproduction sexuelle) n'apparaissant qu'immédiatement avant la fusion sexuelle.

4.3.1.1 Classe *Sordariomycetes*

Les *Sordariomycetes* sont l'une des classes les plus importantes des *Ascomycota* et représentent un large éventail de champignons pathogènes et endophytes^b des plantes, des agents pathogènes des animaux ainsi que des mycoparasites. Dans cette classe nous allons étudier les fongiques pathogènes des genres suivants : les *Scedosporium*, *Fusarium*, *Pseudallescheria*, *Stachybotrys*.

4.3.1.1.1 Genre *Scedosporium*

Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Microascales* ; Famille *Microascaceae*

Scedosporium prolificans



*Moisissure opportuniste émergente, agent pathogène provoquant une grande variété d'infections chez les patients immunodéficients et les animaux^{7,8,9}. Initialement nommé **Lomentospora prolificans** en 1974, il a été transféré dans le genre *Scedosporidium* en 1991. Il est résistant à la plupart des antifongiques et les infections sont souvent fatales.*

n/ périthèces : formation reproductrice (ascocarpe) particulière à certains champignons ascomycètes et lichens en forme d'urne ou de bouteille et ouverte à son sommet par une ostiole.

b/ endophytes : (du grec [*endo*], dans et [*φυτόν*], végétal : littéralement « à l'intérieur d'un végétal... »), ce sont des organismes (bactéries ou champignons en général) qui accomplissent tout ou partie de leur cycle de vie à l'intérieur d'une plante, de manière symbiotique (endosymbiote), c'est-à-dire avec un bénéfice mutuel pour les deux organismes ou sans conséquences négatives pour la plante.

Morphologie

Ce fongique se reproduit par une reproduction asexuée (pas de reproduction sexuée mise en évidence à ce jour) sous une forme individuelle ou en groupes irréguliers le long des hyphes indifférenciées, présentant souvent un arrangement dispersé en épi prononcé dans les cultures plus âgées. Les conidies sont à parois lisses, clair à foncé brun, $7 \times 2 \mu\text{m}$, s'accumulant dans des gouttelettes de matière visqueuse à apex annélide. Les colonies de *S. prolificans* sont grises à brunâtres, épandage en toile d'araignée comme des mycéliums aériens rappelant un vêtement en laine mitée. Le développement en culture demande une incubation d'environ quatre semaines¹⁰.

Écologie

S. prolificans a été trouvé dans les sols et les plantes.

Pathogénicité

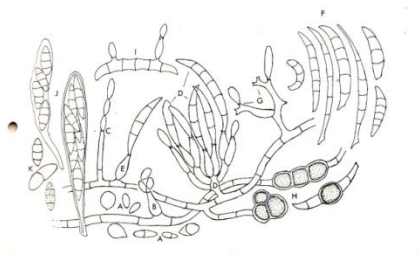
S. prolificans a été reconnu comme un agent de pathologie humaine opportuniste depuis 1990. Cette espèce est principalement associée à des lésions sous-cutanées découlant de blessures après « traumatisme d'implantation », *via* des échardes ou des épines. La majorité des infections à *S. prolificans* survenant chez les patients non immunodéprimés reste localisée. Les atteintes caractéristiques sont principalement osseuses, articulaires ou pulmonaire¹¹. L'infection disséminée de *S. prolificans* touche en général les patients présentant une déficience immunitaire préexistante. Elle entraîne souvent des problèmes oculaires. Elle peut être létale lors de déficit leucocytaire majeur ou dans les suites de traumatismes osseux.

Résistance aux médicaments

Les infections causées par *S. prolificans* sont reconnues comme étant difficiles à traiter en raison de la propension de cette espèce à la résistance à de nombreux agents antifongiques couramment utilisés. La maîtrise de la diffusion de *S. prolificans* peut être obtenue avec une combinaison de Voriconazole et Terbinafine, mais certaines souches sont résistantes à ce traitement. Les médicaments pouvant être utilisés, sont Posaconazole, Miltefosine et Albacazole.

4.3.1.1.2 Genre *Fusarium*

Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Hypocreales* ; Famille *Nectriaceae*



Genre *Fusarium*

Formes parfaites téléomorphes, ils appartiennent à la classe des *Sordariomycetes*. Certaines espèces sont très répandues dans les sols, demandant une humidité élevée ($a_w > 0,88$). Impliquées dans des infections opportunistes chez l'Homme. Plusieurs espèces peuvent produire des mycotoxines. Milieu de culture : milieu de Bilai.

Toxines du *Fusarium*

Les *Fusarium* sont connus pour leur aptitude à synthétiser certaines mycotoxines humaines.

Nom	Toxines	Symptômes
<i>F. verticillioides</i>	Fumonisines	Nécrose des hémisphères cérébraux, troubles de la locomotion
<i>F. gramineum</i> et autres <i>Fusarium</i>	Zéranolone Déoxynivalénol (DON)	Action œstrogénique
<i>F. spp</i>	Trichothécènes	Leucopénie inflammation du tractus digestif, vomissements

Effets sur l'animal ou l'Homme

On sait que certains *Fusarium* sont susceptibles de réaliser de graves infections opportunistes surtout chez les personnes immunodéprimées. Les spores de *Fusarium* disséminées, aéroportées et inhalées, ou ingérées avec la nourriture, peuvent être à l'origine des pathologies.

Les symptômes peuvent inclure nausées, vomissements, diarrhée et hémorragie interne. Les spores peuvent se développer sur les yeux (première cause de kératomycose), dans les sinus, sur la peau, les ongles. Ils sont susceptibles de provoquer rhinite allergique et asthme. Ils causent fréquemment des lésions de la peau chez les patients brûlés, des mycoses des ongles, de l'otomycose (conduit auditif), des ulcères variqueux, le mycétome, des ostéomyélites ou des infections disséminées. Les infections dues aux *Fusarium spp.* sont regroupées sous le terme de « fusariose ».

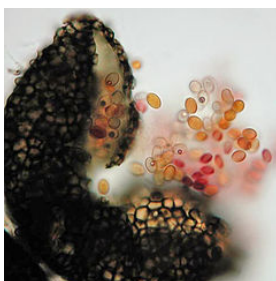
Quelques espèces (*Fusarium* du groupe *Roseum*) peuvent produire de puissantes mycotoxines. Ingérées par des animaux ou par l'Homme, elles peuvent provoquer de graves intoxications alimentaires, éventuellement mortelles, et sont considérées comme cancérogènes. Ces toxines peuvent affecter le système circulatoire, digestif, cutané et nerveux.

4.3.1.1.3 Genre *Pseudallescheria*

Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Microascales* ; Famille *Microascaceae*

Espèce *boydii*

Pseudallescheria boydii



Il est associé à certaines formes de mycétomes, de maduromycose et de pseudallescheriasis. Classiquement retrouvé dans l'eau stagnante et polluée, il a été impliqué dans l'infection des immunodéprimés. Dans ses formes asexuées (anamorphique) il porte le nom de Scedosporium apiospermum. Le traitement des infections à P. boydii est compliquée par sa résistance à de nombreux agents antifongiques standard normalement utilisés pour traiter les infections par des champignons filamenteux¹².

Morphologie

Le *Pseudallescheria boydii* est constitué d'un large hyphe de 2 à 5 µm de largeur.

Culture

Il donne des colonies qui changent de couleur, de blanc à brun pâle, et développent une texture cotonneuse. Après une incubation de deux à trois semaines, les cléistothèces (ascocarpes à formes sphériques) peuvent former et contenir des asques fusiformes, unicellulaires de huit ascospores, mesurant 12 à 18 µm de long et 9 à 13 µm de diamètre. Cette moisissure se développe en sept jours sur un milieu standard. Ses éléments nutritifs primaires sont les sucres (glucose, saccharose, xylose, arabinose et L-arabinitol). Il ne peut pas assimiler le lactose ou le maltose. Toutefois, il est capable d'assimiler l'urée, l'asparagine, les nitrates. La température

optimale de croissance est de 25 °C. Reproduction asexuée se manifestant sous deux formes chez le *Scedosporium*.

Pathogénicité

Le *Pseudallescheria boydii* est un germe émergent opportuniste. La réponse immunitaire se caractérise par la protéine TLR2^c qui joue un rôle dans la reconnaissance de *P. boydii* dû aux dérivés α -glucanes, tandis que la protéine TLR4 intervient dans la reconnaissance des *P. boydii* par son dérivé rhamnmannans¹³. L'infection humaine prend l'une des deux formes suivantes : mycétome chronique, souvent sous-cutané (99 % des infections)¹⁴ et le pseudallescheriasis, qui comprend toutes les autres formes de la maladie retrouvées dans le système nerveux central, les poumons, les articulations et les os¹⁵. Au niveau du système nerveux central, les rares infections se présentent comme des méningites à neutrophiles avec plusieurs abcès¹⁶ et ont un taux de mortalité pouvant atteindre 75 %. Cette forme se distingue par la présence de sclérotés^d ou granulés, qui sont généralement absentes dans les infections pseudallescheriasis de forme bénigne¹⁷.

L'infection peut être initiée par inhalation ou lésion traumatique dans la peau. L'infection peut conduire à des arthrites, otites, endocardites, sinusites et autres manifestations. Dans le cas des otites et des sinusites il peut y avoir une évolution vers des formes méningées de la maladie. Des masses d'hyphes peuvent former des « boules fongiques » dans les poumons et aussi dans d'autres organes, elles sont généralement favorisées par l'absence de circulation entraînant des nécroses tissulaires et même provoquant des myocardites nodulaires et des thromboses des vaisseaux pulmonaires¹⁸.

Ce genre fongique produit la forme pathogène la plus grave de la fibrose kystique après *Aspergillus fumigatus* dans les pathologies pulmonaires fongiques du poumon. Il induit la maladie broncho-pulmonaire allergique et des lésions pulmonaires chroniques similaires à l'aspergillose.

Ce germe a été également impliqué dans des arthrites après lésion traumatique, ces infections pouvant évoluer vers l'ostéomyélite. Des infections de la peau et de la cornée ont également été signalées.

Conditions favorisant la maladie

Les immunodéprimés sont plus sensibles à l'infection. On rencontrera le pseudoallescheriasis invasif chez des patients ayant une neutropénie chronique, une corticothérapie à forte dose ou une allogreffe de moelle osseuse. Cependant des infections peuvent également survenir chez les personnes immunocompétentes, habituellement dans les poumons et les voies respiratoires. *P.boydii* a également été impliqué dans une pneumonie à la suite à l'inhalation d'eau lors de noyade avec infection développée entre quelques semaines à plusieurs mois avec des risques de mortalité élevé.

Des infections ont également été observées chez les animaux, notamment une infection cornéenne, des mycétomes abdominaux et une généralisation de l'infection chez les chiens et les chevaux.

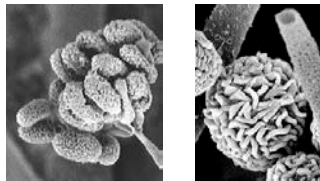
c/ TLR2 ou Toll-like receptor 2 : aussi connu sous le nom de TLR2, c'est une protéine qui, chez l'homme, est codée par le gène de TLR2. TLR2 a également été désignée comme CD282. La protéine TLR2 est l'un des récepteurs *toll-like*, qui joue un rôle dans le système immunitaire. TLR2 est un récepteur, qui est exprimé à la surface de certaines cellules et reconnaît les substances étrangères et transmet les signaux appropriés aux cellules du système immunitaire.

d/ sclérote : (pluriel *sclérotés*, du grec [*skleros*], dur), masse compacte de mycélium contenant de la nourriture de réserve. Le rôle des sclérotés est de faire survivre le fongique dans les environnements extrêmes.

4.3.1.1.4 Genre *Stachybotrys*

Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Hypocreales* ; Famille *Dematiaceae*

Espèce *Stachybotrys chartarum*



Stachybotrys chartarum est un champignon qui est devenu célèbre comme producteur de mycotoxines pouvant entraîner des mycotoxicoses animales et humaines. En effet, au cours des quinze dernières années en Amérique du Nord, des études épidémiologiques ont démontré que ce champignon était une des causes du « Syndrome des bâtiments malsains ». En 1993-1994, il y eut une épidémie inhabituelle d'hémorragie pulmonaire chez des nouveau-nés, là où les chercheurs avaient constaté la présence de *S. chartarum*. Ces dernières années, il y eut de nombreux rapports dans les médias nationaux au sujet des moisissures toxiques. *S. chartarum* est présent dans les végétaux et dans le sol.

Culture

Ce fongique se développe bien sur des supports mycologiques courants comme la gélose de dextrose, V8 ou semoule de maïs pomme de terre et sporule abondamment formant des masses sombres de conidies. Il est relativement facile à identifier en raison de l'unique phialide^e du genre et la morphologie des conidies de l'espèce. Les conidiophores sont solitaires ou en groupes, dressées, ramifiées irrégulièrement, le mycélium cloisonné. Le champignon est fortement cellulolytique et poussera dans des conditions de faibles concentrations d'azote.

Morphologie

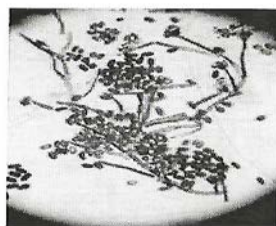
Les hyphes sont grandes, 9-14 µm de longueur, verticillés^f, ellipsoïdes, olivâtres et souvent avec des collerettes bien visibles. Les conidies sont ellipsoïdes, unicellulaires, 11 à 53 µm par 4 à 6 µm, brun foncé à noir et souvent montrant une topographie striée lorsqu'ils sont mûrs. Les spores sont verruqueuses et lissent lorsqu'ils sont jeunes. La moisissure se recouvre d'une matière visqueuse et lorsqu'elle est à l'état sec elle disperse ses spores dans l'air¹⁹.

L'analyse génétique des séquences ARNr de ce genre a permis de renommer ce genre sous le nom de *Memmoniella* à la place de *Stachybotrys*, en se basant sur des caractéristiques morphologiques.

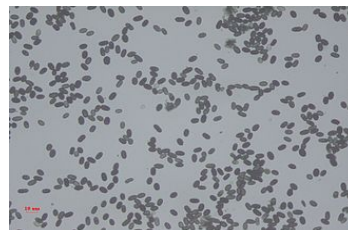
Photos : macro et micro de la présence du *Stachybotrys*



Taches noires sur les murs



Vue microscopique



Forme des spores
<https://en.wikipedia.org/wiki/File:Stachybotrys>

e/ phialide : cellule située à l'extrémité d'un conidiophore. Sa forme est une sorte de bouteille allongée.

f/ verticillés : les organes d'une plante sont dits en verticille ou verticillés, lorsqu'ils sont insérés au même niveau, par groupe de trois unités au minimum, en cercle autour d'un axe (tige ou rameau).

Mycotoxines et métabolites

Le *S. chartarum* produit des variétés de trichothécènes macrocycliques et connexes.

- Roridine E
- L-2 ; satratoxines, F, G et H ;
- Isosatratoxins, F, G et H ;
- Verrucarins B et J ;
- Trichoverrols A et B ;
- Trichoverrins A et B.

Les satratoxines sont généralement produites en plus grande quantité que les autres trichothécènes, mais tous les autres composés sont produits en faible quantité. Apparemment, ils se produisent dans toutes les parties du champignon. La difficulté est d'obtenir, identifier et purifier ces toxines afin d'étudier leurs activités biologiques.

Les trichothécènes macrocycliques sont des composés hautement toxiques avec une puissante capacité d'inhibition de la synthèse des protéines. De nombreuses études ont démontré la toxicité de *S. chartarum* sur des animaux et des cellules humaines^{20,21}. D'autres chercheurs ont également rapporté la haute toxicité des satratoxines par rapport aux autres trichothécènes. La DL₅₀ souris pour les satratoxines est d'environ 1 mg/kg²².

Pathogénicité

Les symptômes courants chez l'Homme sont des dermatites, des inflammations des muqueuses de la bouche et la gorge, une conjonctivite, une sensation de brûlure des yeux et des voies nasales, une sensation d'oppression de la poitrine, toux, rhinite sanglante, fièvre, maux de tête et fatigue. Les symptômes apparaissent trois jours après l'exposition au champignon. Certaines études ont montré que le simple contact du champignon avec la peau avait pour effet de provoquer les symptômes. Le *S. chartarum* peut entraîner des pathologies pulmonaires chroniques²³.

Écologie

Le champignon a été trouvé sur les débris organiques humides dans un conduit d'air froid et sur certains matériaux contenant du bois.

4.3.1.1.5 Genre *Acremonium*

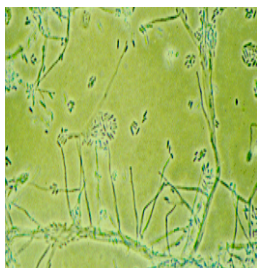
Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Hypocreales* ; Famille *Hypocreaceae*

anciennement dénommé *Cephalosporium*

Le genre *Acremonium* comprend 100 espèces. Les espèces impliquées dans les infections humaines sont :

- *Acremonium falciforme*
- *Acremonium kiliense*
- *Acremonium recifei*

Acremonium



Caractéristiques microscopiques : les hyphes sont transparentes, cloisonnées, fines et étroites ; les phialides sont dressées, non ramifiées et solitaires, et sont issues directement de l'extrémité de l'hyphe ; les phialides sont séparées par un septum des hyphes et des cônes vers leurs pointes. Les conidies sont transparentes, peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires, fusiformes avec une légère courbe ou peuvent ressembler à un croissant peu profond, elles apparaissent en grappes, en boules ou rarement en chaînes fragiles, avec une taille de 2 à 3 x 4 à 8 μm et se trouvent à l'extrémité des phialides ; les propriétés structurales des conidies peuvent varier selon les espèces.

Les spores conidiales humides sont diffusées mécaniquement par des insectes ou des gouttelettes d'eau. *Acremonium* n'est pas facilement identifié en raison de sa très petite taille et de son état incolore. En outre, certaines spores sont si petites qu'elles peuvent être cachées par les débris du fond. L'échantillonnage d'air mis en culture est une meilleure façon de récupérer et d'identifier les spores aéroportées de *Acremonium*.



Taux de croissance moyennement rapide et colonies compactes, plates ou pliées; au début, la texture est glabre, veloutée et membraneuse, mais devient cotonneuse avec l'âge en raison de la prolifération des hyphes; les colonies ont un diamètre de 1 à 3 cm après sept jours d'incubation à 25 °C. La gamme de couleurs des colonies de surface va de blanc à gris pâle ou pâle rose tandis que le dessous de la boîte est non coloré.

Écologie

L'*Acremonium* se trouve naturellement dans les matières végétales et dans le sol.

Caractéristiques toxicologie animales

Acremonium sécrète des alcaloïdes proches de ceux de « l'ergot de seigle », il synthétise de l'ergovaline et des ergopeptides (les clavines), la teneur en alcaloïde augmente avec l'âge de la plante. Il est endomycorhizes et ne donne comme seul signe d'infection sur les plantes que leur retard de croissance. Les animaux qui consomment des fourrages infectés ont présenté des syndromes de toxicose. Les toxines fixées sur les graisses agissent sur les hormones de la reproduction (prolactine) et sur la circulation sanguine. Il s'ensuit chez le bétail un ensemble de troubles connus aux États-Unis d'Amérique sous le nom de *Summer syndrome*. On observe un amaigrissement, une augmentation de la température corporelle, le poil devient rude, les extrémités des membres et de la queue sèchent, il y a chute des ongles et des queues...

Pathologie humaine

L'*Acremonium* est considéré comme l'un des agents responsables des mycétomes grain blanc. Les infections de l'Homme par ce fongique sont rares, mais l'*Acremonium* peut causer des arthrites, des ostéomyélites, des endocardites, des endophtalmies⁹, des kératites, des méningites et des péritonites. Ce champignon est connu pour causer des infections opportunistes principalement chez les patients immunodéprimés.

Leur isolement en culture nécessite des précautions spéciales pour les manipulateurs. En outre, certaines espèces d'*Acremonium* parasitent même d'autres organismes fongiques ce qui est désigné comme du mycoparasitisme.

Traitement

Les données connues sur la sensibilité *in vitro* sont très limitées, posaconazole et voriconazole sont actifs. En revanche, *in vivo* la réponse dépend en grande partie des traitements antifongiques et l'amphotéricine B reste le pilier du traitement parmi les agents antifongiques disponibles.

⁹/ **endophtalmie** : infection intraoculaire. Ce syndrome très grave, est en principe consécutif soit à une plaie oculaire perforante accidentelle, soit à une chirurgie problématique. La présence d'un corps étranger, quelle que soit la circonstance, accidentelle avec le plus souvent petit éclat métallique radio-opaque, ou bien chirurgicale, avec un facteur favorisant de l'infection (fongique).

4.3.1.1.6 Genre *Isaria*

**Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Hypocreales* ; Famille *Clavicipitaceae* ;
Espèce *Isaria sinclairii***



Isaria qui a attaqué une araignée (grotte Roche à Villard de Lans en Isère)

Écologie de *Isaria sinclairii*

Isaria sinclairii est un fongique qui attaque les insectes, y compris les larves des cigales et les araignées vivantes. Le champignon produit une touffe blanche sur le sol qui libère une poudre de spores.

Isaria sinclairii est le nom de la forme anamorphe ; la forme téléomorphe est *Cordyceps sinclairii*. Il a été décrit pour la première fois en 1855 par Miles Joseph Berkeley et transféré dans le genre *Isaria* en 1923 par Curtis Gates Lloyd. C'est un fongique entomopathogène. Il produit de la myriocine, qui permet de synthétiser le *fungolimod* qui est utilisé dans le traitement de la sclérose en plaques.

Utilisation médicamenteuse

La myriocine (acide 2-amino-3,4-dihydroxy-2-hydroxyméthyl-14-oxoicos-6-énoïque) est un dérivé des sphingolipides produit par *I. sinclairii*, qui a montré en 1994 des propriétés immunosuppressives^{24,25}. Un dérivé synthétique a été développé pour avoir une plus grande efficacité et une plus faible toxicité, le produit résultant a été nommé FTY720 ou *fungolimod*. C'est le premier médicament oral pour le traitement de la sclérose en plaques. Des espèces apparentées à *Isaria sinclairii*, telles que *Yartsa gunbou* et *Ophiocordyceps sinensis* ont été utilisées en médecine tibétaine traditionnelle et en médecine traditionnelle chinoise comme toniques, ce que certains appellent un « élixir de jeunesse ».

Action dans le karst

Dans la partie haute de la grotte Roche dans le Vercors en Isère, dans l'entrée de la deuxième salle, on peut voir un mur où une vingtaine d'araignées sont pétrifiées et calcifiées dans un mycélium floconneux blanc vif comme si elles avaient été prises dans le même instant d'une mort subite.

4.3.1.1.7 Genre *Scytalidium*

**Subdivision *Pezizomycotina* ; Classe *Sordariomycetes* ; Ordre *Helotiales* ;
Genre *Scytalidium***

anciennement classé dans les *Leotiomyces*

Phylogénétique

Les *Leotiomyces* contiennent de nombreuses espèces avec une reproduction anamorphe qui les placent dans les *Deuteromycota* (fongiques imparfaits).

Des études moléculaires ont récemment reclassés les *Leotiomyces* dans le taxon des *Sordariomycetes* et dans l'arbre phylogénétique des *Pezizomycotina*. Sa division en sous-classes a reçu une confirmation par les données moléculaires, mais la monophylie globale de la classe *Leotiomyces* est douteuse²⁶.

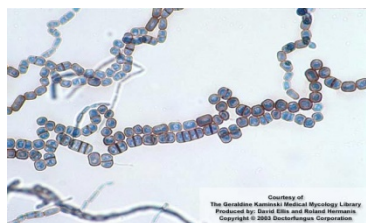
Caractéristiques

- La plupart des *Leotiomyces* développent leurs asques dans des apothécies (rarement des *cléistothèces*). Les asques sont cylindriques, sans opercule.

➤ Les spores sont hyalines, de formes diverses, et sont libérées par un pore apical circulaire.
 Les *Leotiomycetes* sont une division des *Ascomycota*. Un grand nombre de leurs espèces entraînent des phytopathologies graves²⁷.
 Ordre *Hélotiales* ; Famille non définie (peut être mis dans la famille *Myxotrichaceae*). Il y a cinq espèces existantes sous le genre *Scytalidium* :

- *Scytalidium dimidiatum*
- *Scytalidium hyalinum*
- *Scytalidium infestans*
- *Scytalidium japonicumet*
- *Scytalidium lignicola*

Scytalidium



Culture : le taux de croissance est très rapide et en surface la texture des colonies est laineuse et la gamme de couleurs des colonies passe du blanc au gris.

Morphologie : les hyphes sont cloisonnés, de couleur gris pâle. Les arthroconidies sont de couleurs brunes, ellipsoïdes ou ovales et les cellules sont unicellulaires ou bicellulaires.

Différenciation des arthroconidies de deux espèces de *Scytalidium*

<i>Scytalidium</i> espèces	Caractéristiques microscopiques
<i>Scytalidium dimidiatum</i>	Arthroconidies brunes
<i>Scytalidium hyalinum</i>	Arthroconidies hyalines

Pathologie

Les espèces de *Scytalidium* sont des agents occasionnels d'infections de la peau ou des ongles. Certains cas d'infections sous-cutanées ou disséminées ont également été notés.

Traitement

Le *S. dimidiatum* et le *S. hyalinum* sont habituellement inhibés par la cycloheximide.

Remarque

Il peut y avoir confusion entre les *Scytalidium* et le *Geotrichum* qui produisent tous les deux des colonies laineuses et brunes, et des hyphes pigmentés et des arthroconidies de même couleur.

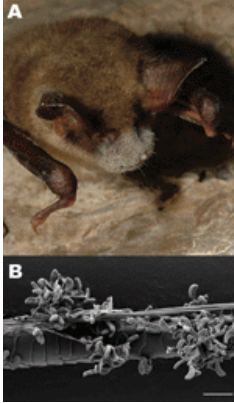
Observation du *Scytalidium* dans le karst

Chauve-souris au nez blanc (*White Nose Syndrome*)



Chauve-souris
avec le Syndrome du nez blanc

Caractéristiques : Les chauves-souris qui sont infectées par le Syndrome du nez blanc ont un fin et délicat film de champignons blancs autour de la bouche ou de la voilure. L'analyse approfondie a révélé que l'on avait à faire à un fongique de la classe des Leotiomycetes, de l'ordre des Hélotiales, de la famille des Myxotrichaceae ; l'espèce qui a été définie est le *Cryphonectia parasitica*²⁸.



Destructans destructans
sous microscope

Contamination : la première observation a eu lieu à la grotte de Howe en 2006 à 52 miles d'Albany (État de New York — États-Unis d'Amérique). Il s'est propagé jusqu'à 800 milles de son origine.

Il est propagé par les autres chauves-souris, infectés par le W.N.S. Afin de prévenir cette dissémination des filets ont été mis en place à l'entrée des grottes.

4.3.2. Sous-division *Eurotiomycetina*

Cette classe comporte des espèces saprotrophes (se trouvant sur les cadavres en décomposition), parasites, plus particulièrement des lichens comme les *Pyrenulales* et les *Verrucariales*.

Les ordres de cette classe ont fait l'objet d'une vaste étude phylogénétique réalisée en 2007 par plus d'une soixantaine de chercheurs²⁹ ; la classification a été adoptée par *The Tree of Life Web Project* et *Myconet*³⁰.

- Sous-division *Deuteromycota*
 - Sous classe *Chaetothyriomycetidae*
 - ✓ ordre *Chaetothyriales*
 - ✓ ordre *Pyrenulales*
 - ✓ ordre *Verrucariales*
 - Sous classe *Eurotiomycetidae*
 - ✓ ordre *Coryneliales*
 - ✓ ordre *Eurotiales*
 - ✓ ordre *Onygenales*
 - Sous classe *Mycocaliciomycetidae*
 - ✓ ordre *Mycocaliciales*

Dans les *Eurotiomycetes* nous allons nous limiter aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

4.3.2.1 Genre *Aspergillus*

Subdivision *Deuteromycota* ; Ordre *Eurotiales* ; Famille *Trichocomaceae*

Morphologie *Aspergillus*



(Photo *Aspergillus fumigatus*)

Il s'agit d'espèces anamorphes (asexuées) ayant des formes téléomorphes connues ou présumées dans la famille des *Trichocomaceae*. Le genre *Aspergillus* est subdivisé en sept sous-genres, qui regroupent chacun plusieurs espèces. On recense environ 184 espèces du genre *Aspergillus*, dont 40 sont une cause d'infection chez l'Homme ou l'animal. ***Aspergillus* spp.** se reproduit en formant des conidies portées par des phialides (cellules qui retiennent les spores sur la tête conidienne) unisériées ou bisériées. Les colonies d'*Aspergillus* croissent rapidement et peuvent être de couleur blanche, verte, jaune ou noire. Milieu de culture OGA avec OTC ou Chloramphénicol.

- ***Aspergillus fumigatus*** : très fréquent sur les matières organiques humides en décomposition, le compost, le sol, l'air... Il élabore divers métabolites dont plusieurs sont très toxiques (gliotoxine). C'est un agent de l'aspergillose aviaire et humaine (représentant 80 à 90 % des aspergilloses humaines).
- ***Aspergillus nidulans*** : très fréquent dans le sol, sur divers substrats végétaux, dans l'air. Il peut provoquer des atteintes respiratoires (asthme, aspergillose broncho-pulmonaire).
- ***Aspergillus niger*** : largement répandu (fruits et légumes moisissés, fourrage, produits laitiers, semences de maïs). Cette espèce peut être pathogène (aspergillose du conduit auditif, production d'ochratoxine).
- ***Aspergillus flavus*** : colonise toutes sortes de matières organiques en décomposition, sur les denrées alimentaires et les semences. Il élabore divers antibiotiques et des composés très toxiques et carcinogènes comme les aflatoxines.
- ***Aspergillus ochraceus*** : très largement répandu, dans le sol, sur les végétaux en décomposition. Cette espèce est phyto-pathogène (pourriture des pommes et des poires). Elle est responsable d'intoxication mortelle d'animaux d'élevage (ochratoxines). Elle peut aussi attaquer des vers à soie, elle est rarement pathogène pour l'Homme.

Pathogénicité et toxicité

Aspergillus spp. : regroupe de nombreuses espèces, dont une quarantaine qui sont une cause documentée d'infections chez l'humain ou l'animal. Le terme aspergillose est une appellation générique utilisée pour décrire les infections causées par différentes espèces du genre *Aspergillus*.

La plupart des cas d'aspergillose sont causés par ***A. fumigatus***, tandis qu'***A. flavus*** et ***A. niger*** viennent au deuxième rang des espèces pathogènes les plus répandues dans le monde. Parmi les maladies provoquées par ***Aspergillus spp.*** figurent des allergies cliniques (aspergillose broncho-pulmonaire allergique, rhinite, maladie du poumon des fermiers), des infections superficielles et locales (infections cutanées, mycose du conduit auditif, trachéobronchite), des infections associées à des lésions tissulaires (aspergillome, ostéomyélite) et des infections pulmonaires et extra-pulmonaires envahissantes. Les infections envahissantes imputables à ***Aspergillus spp.*** concernent principalement les personnes immunodéprimées et sont les formes d'infections les plus graves pouvant être provoquées par les microorganismes de ce genre. Les infections disséminées touchent principalement le tractus sino-pulmonaire, et au premier chef les poumons. Les principaux signes cliniques évocateurs d'une sinusite envahissante sont la fièvre, les douleurs faciales, les céphalées, la tuméfaction faciale asymétrique, le saignement du nez, l'exophtalmie, les anomalies des nerfs crâniens, l'ischémie du palais et l'érosion osseuse.

La fièvre, la toux et la dyspnée^h sont les symptômes les plus courants de l'aspergillose pulmonaire envahissante, même s'ils ne sont pas propres à cette infection. L'infection peut également envahir le système vasculaire et se manifester par des douleurs pleurales. Si elle n'est pas traitée, la dissémination hématogène peut atteindre n'importe quel organe. Le cas le plus grave est l'atteinte du système nerveux central, qui peut conduire à des crises convulsives ou à un accident vasculaire cérébral.

Épidémiologie

Les espèces du genre *Aspergillus* sont présentes dans le monde entier et sont largement répandues dans l'environnement. Elles sont rarement une cause de maladie chez l'humain et se trouvent principalement chez les sujets immunodéprimés. Par rapport à 2003, où ces valeurs s'élevaient respectivement à 5,8 ‰ et à 24 ‰, on observe une augmentation de l'incidence de

^{h/} dyspnée : difficulté respiratoire.

l'aspergillose envahissante et une diminution de la mortalité associée à cette affection dans ce groupe de patients.

Mode de transmission

Inhalation de conidies en suspension dans l'air, par l'intermédiaire de l'eau contaminée (exposition aux conidies pendant la douche), et infections nosocomiales (les matières plastiques et les tissus utilisés dans les hôpitaux peuvent être des sources importantes d'*Aspergillus spp.*).

Toxines produites par les *Aspergillus*

Champignons	Toxines	Symptômes
<i>Aspergillus flavus</i> <i>As. parasiticus</i>	Aflatoxine (B1, B2, G1, G2) acide aspergillique, ac. cyclopiazonique	Hépatite, Hépatome, cancer du foie
<i>As. fumigatus</i> <i>As. terreus</i>	Stérigmatocyne, anthraquinones	Tremblements nerveux, paralysies
<i>As. nidulans</i>	Stérigmatocyne, anthraquinones ochratoxines	Lésions rénales
<i>As. ochraceus</i>	Ochratoxine A, ac. pénicillique, ac. sécalonique, Patuline, Citrinine	Lésions rénales
<i>As. versicolor</i>	Stérigmatocystine, verscolorines, anthraquinone	
<i>As. clavitus</i>	Patuline	Hémorragies pulmonaires Dégénérescence des neurones du cortex cérébral

Chez les *aspergillus* un aW supérieur à 0,81 est un facteur favorisant la formation de toxines.

La biosynthèse des toxines n'est pas systématique et dépend beaucoup des conditions du milieu. Elles se rencontrent dans les produits moyennement hydratés. Le principal danger pour des consommateurs réside surtout en la consommation de matières premières pouvant être contaminées avant transformation, ces transformations pouvant détruire les caractéristiques toxino-géniques. Les syndromes provoqués par les mycotoxines sont :

➤ Syndromes hépatiques et néphrétiques

L'aflatoxine B1 est une toxine hépatotoxique, elle provoque des nécroses hépatiques, des stéatoses chroniques, des cirrhoses. Également responsables, la citrinine, l'islanditoxine et les ochratoxines. Les lésions peuvent être observées également au niveau rénal. L'association ochratoxine et citrinine peut entraîner une synergie qui va augmenter la toxicité au niveau des reins et évoluer vers une néphropathie chronique.

➤ Syndromes nerveux

De nombreux fongiques ont une action sur le système nerveux, provoquant l'apparition de tremblements, convulsions, paralysies... Les toxines d'*aspergillus* ont un effet neurotoxique.

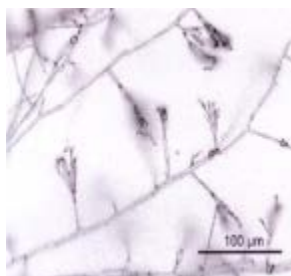
➤ Syndromes hémorragiques

Les toxines d'*aspergillus* peuvent provoquer des hémorragies (leucémie toxique alimentaire).

4.3.2.2 Genre *Penicillium*

Subdivision *Deuteromycota* ; Ordre *Eurotiales* ; Famille *Trichocomaceae*

Morphologie du genre *Penicillium*



Aspect cultural : velouté, floconneux ou laineux, funiculeux, fasciculé, zoné. Abondance de sporulation. Moisissure asexuée. Les formes parfaites téléomorphes de quelques espèces de *Penicillium* sont connues, et appartiennent au phylum des Ascomycètes (ordre des Eurotiales, famille des Trichocomacées). Pour plusieurs espèces de *Penicillium*, le stade parfait demeure inconnu. Les penicilliums sont des champignons filamenteux, de type moisissure. Le conidiophore ramifié possède une forme ressemblant à celle d'un pinceau. Les conidies sont disposées en longues chaînes. Le thalle est vert ou blanc. Ce genre comprend entre 100 et 250 espèces.

Pathologie

Dans le genre *Penicillium*, il y a peu de souches connues qui soient citées comme pathogènes pour l'Homme, pouvant provoquer des mycoses. La littérature cite toutefois le *Penicillium marneffe* comme pathogène pour l'Homme ; il a été localisé en Asie du Sud-Est et est redoutable chez les patients séropositifs et les immunodéprimés.

Toxine des pénicilliums

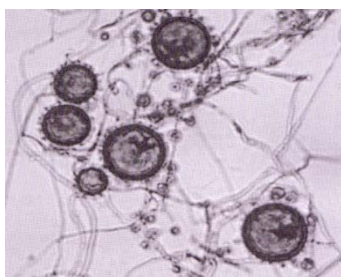
Comme les aspergillus, les penicilliums peuvent être producteurs de toxines.

Champignons	Toxines	Symptômes
<i>P. viridicatum</i>	Ochratoxine	Lésions rénales
<i>P. citrinum</i>	Citrinine	Lésions rénales
<i>P. islandicum</i>	Lutéoskyrine Islanditoxine	Lésions hépatiques
<i>P. crustosum</i>	Sporidesmine, verruculogène Fumitremorgine	Œdèmes cutanée et troubles nerveux, paralysie.
<i>P. verrucosum var. cyclopium</i>	Acide cyclopiazonique	Diarrhées, convulsions.
<i>P. expansum</i>	Patuline	Hémorragie pulmonaires Dégénérescence des neurones du cortex cérébral.

Les toxines de *Penicillium* se développent pour des aW supérieurs à 0,85.

4.3.2.3 Genre *Histoplasma*

Subdivision *Deuteromycota* ; Ordre *Onygenales* ; Famille *Ajelleomycetaceae*



Morphologie Histoplasma

Les études génomiques récentes ont montré une diversité dans les souches habituellement nommées. Elles différencieraient les souches qui auraient une action externe et celles qui auraient une action interne à l'organisme atteint.

Se multiplie en produisant des conidies qui mesurent 2 µ de diamètre.

Phase levure à 37 °C ou plus.

Pathologie humaine

L'histoplasmose est une maladie infectieuse du poumon et du derme causée par une moisissure appelé *Histoplasma*. Cette infection peut atteindre d'autres parties du corps. Elle est appelée *Maladie des caves* et fut sans doute à l'origine du mythe de la maladie des pyramides. *Histoplasma* prospère dans un milieu humide à des températures modérées. Les fientes de poulets, de pigeons, d'étourneaux, de merles et de chauves-souris entretiennent sa croissance. Les oiseaux ne sont pas infectés grâce à leur température corporelle élevée. Les chauves-souris qui ont une température corporelle plus basse, peuvent être contaminées.

L'histoplasmose pulmonaire est due à la dimension très fine des spores qui s'infiltrent dans l'arbre respiratoire et se logent au niveau pulmonaire. Cette infection passe parfois inaperçue car les symptômes sont très bénins ou mêmes inexistant³¹.

« Deux espèces, d'histoplasmas sont connues pour provoquer l'histoplasmose, ce sont :

***Histoplasma Capsulatum* :**

Épidémiologie actuelle :

- Amérique du Nord (vallée de l'Ohio et Mississipi aux États-Unis d'Amérique)
- Amérique Latine
- Haiti, Porto Rico, Trinité, Cuba
- Antilles
- Guyane
- Afrique : Afrique Équatoriale/ Afrique du Sud
- Italie du Nord

Physiopathologie

Infection respiratoire par inhalation de spores jusqu'aux alvéoles pulmonaires. Contamination rarement cutanée et digestive. Les transmissions interhumaines sont rares sauf intervention chirurgicales rénales.

- Primo-infection durant 15 jours. Migration de la forme levure dans les ganglions de drainage, foie, rate.
- La plupart des levures sont localisées dans les phagolysomes des macrophages murins (des chauves-souris).

Personnes les plus exposées à la maladie

- Les patients atteintes de VIH : elles ont un déficit qualitatif des macrophages, corrélé avec un déficit quantitatif lymphocytaire T CD4.
- Action des lymphocytes T
- La libération de cytokines stimule les macrophages.

Symptomatologie proche de la tuberculose

- Primo-infection pulmonaire de 7 à 21 jours.
- Asymptomatique ≥ 90 % des cas.
- Pouvant se manifester par des pneumopathies aiguës d'allure virale et douleur thoracique.
- Parfois arthralgies plus ou moins érythème noueux et érythème polymorphe avec ou non possibilité de péricardite.

***Histoplasma duboisii* :**

Synonyme : « Histoplasmose dite africaine »

Connue en Afrique Centrale et de l'Ouest (Nigéria, République Démocratique du Congo, Sénégal).

L'immunodépression favorise le développement.

Elle est rarement présente dans le sol et sa contamination est transmise principalement par les animaux.

- Atteinte principalement cutanée : prédominance de la face et du troc, ulcérations, nodules pseudo-abcès froids.
- Atteinte osseuse : crâne, côtes, vertèbres avec destruction kystique.
- Atteinte ganglionnaire.
- Atteinte pulmonaire (rare). »

Diagnostic général



Radiographie pulmonaire
d'un patient atteint
d'histoplasmosse pulmonaire
aiguë

Le diagnostic de certitude se fait par la mise en évidence des levures caractéristiques sur les prélèvements, les cultures ou les inoculations à l'animal (précautions impératives).

Pour *H. capsulatum capsulatum*, on prélèvera les crachats, le sang et les urines.

Pour *H. capsulatum duboisii*, on prélèvera le pus des abcès cutanés.

La sérologie joue un rôle très important :

- intradermo-réaction à l'histoplasmine ;
- immuno-électrophorèse ;
- et surtout immunofluorescence indirecte, significative à partir de 1/40.

Traitement

Les traitements antimycosiques sont utilisés pour traiter les cas sévères d'histoplasmosse et tous les cas de maladie chronique et disséminée.

Préconisation de UMVF (Université Médicale Virtuelle Francophone)

Histoplasmosse Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL)

- Amphotéricine B (AmB), dose totale d'au moins de 2 g par cure (à raison de 0,7 à 1 mg/kg/j).
- Le relais est habituellement pris par l'itraconazole (200 à 400 mg/j) pendant 1 an.
- Le drainage et la mise à plat d'un abcès ou d'une masse sous-cutanée facilement extirpable, permettent de diminuer la charge parasitaire.
- À l'arrêt du traitement, la surveillance clinique et biologique est nécessaire en raison du risque fréquent de récidives.

L'histoplasmosse à *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* reste en France métropolitaine la première étiologie des mycoses exotiques systémiques au retour de voyage. Les patients séropositifs pour le VIH qui séjournent en zone d'endémie d'histoplasmosse (États-Unis d'Amérique, Antilles, Nouvelle Calédonie...) sont particulièrement exposés.

Prévention

La prévention consiste simplement en l'évitement de l'exposition aux poussières. L'utilisation de masques protecteurs est recommandée. Éviter les espaces d'habitat de chauves-souris.

Risque d'évolution de l'histoplasmosse dans le karst européen

Le réchauffement climatique général de la planète peut déplacer les aires de répartition de l'histoplasmosse. De ce fait, nous risquons de voir cette maladie apparaître dans des régions plus tempérées et en Europe.

Histoire d'histoplasmosse lors d'une exploration spéléologique

2011, une équipe de neuf spéléos (dont deux femmes) part en expédition en Éthiopie ; départ le 22 avril 2011, première visite de grotte le 23 avril 2011. Cinq jours après la première sortie souterraine, une spéléologue se plaint de fatigue, de fièvre dans la nuit. Suite à cela ils sont trois à

quitter le groupe. Le 30 avril ils sont cinq à poursuivre leur expédition, afin de voir les peintures rupestres de Gursum, accompagnés de la personne qui se plaint de fatigue. Le 30 avril la fatigue se généralise à l'ensemble du groupe, la première personne qui a présenté les premiers symptômes se met à tousser et les membres de l'équipe ont des petites poussées de fièvre pendant la nuit.

Le 1^{er} mai la fatigue ne leur permet plus de poursuivre l'expédition, la fièvre gagne tout le groupe ; une partie de l'équipe, qui a pris le chemin du retour continue à avoir une importante fatigue, une fébricule et de la toux. L'ensemble du groupe commence à penser à l'histoplasmosse...

De retour en France le 8 mai, la fatigue continue, la toux persiste, la fièvre s'installe, ils prennent la résolution de voir le médecin... En prenant contact avec les premiers membres de l'équipe, rentrés plus tôt, ils constatent que tous ont les mêmes symptômes.

Cette observation démontre que l'histoplasmosse, n'est pas aussi opportuniste que la littérature semble le faire savoir et qu'elle n'est pas réservée exclusivement aux personnes immunodéprimées.

4.3.2.4 Genre *Coccidioides*

Sous-division *Deuteromycota* ; Classe *Eurotimocycetes* ; Ordre *Onygenales* ;

Famille *Onygenaceae*

L'espèce *Coccidioides immitis* est retenue comme pathogène.



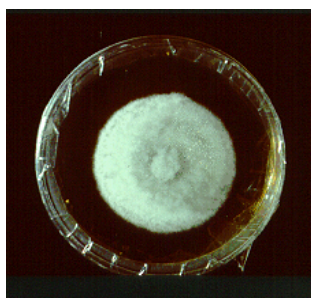
FIGURE 11.—Sputum culture of *C. immitis* on Sabouraud's medium, showing white, cottony fungus growth.

Coccidioides immitis

Morphologie : l'examen microscopique montre typiquement des cellules simples, hyalines, rectangulaires à arthroconidies en forme de tonneau, alternes, 2.5-4.0 x 3.0-6.0 μm , séparées les unes des autres par une cellule disjoncteur. Cet état arthroconidial a été classé dans le genre *Malbranchea* et est similaire à celle produite par plusieurs champignons du sol non pathogènes tels que les espèces *Gymnoascus*. Le *C. immitis* est un champignon dimorphe, existant dans les tissus vivants sous forme de sphérules et d'endospores et dans le sol ou les cultures sous une forme mycélienne. L'identification de la culture par le test d'exoantigène est la méthode de choix.

Culture : gélose de Sabouraud dextrose à 25°C, colonies initialement humides et glabres, mais ressemblant rapidement à du duvet gris-blanc évoluant vers une couleur brun clair à brun inverse.

Mise en garde : les cultures de *C. immitis* représentent un danger biologique sévère pour le personnel de laboratoire et doivent être manipulées avec une extrême prudence dans un milieu approprié.



Écologie

Coccidioides immitis est un pathogène primaire qui réside dans les sols du sud-ouest des États-Unis d'Amérique. Il se développe dans des sols secs et salés et est endémique dans ces régions désertiques, où la maladie est souvent appelée *Fièvre de la vallée* ; l'organisme est répandu dans la vallée de San Joaquin de la Californie centrale et au Mexique (bien qu'il soit étrangement absent des déserts d'Afrique et d'Asie). Heureusement, comme l'histoplasmosse, la plupart des cas sont bénins, et la guérison est spontanée.

Pathologie

Le processus d'infection, la progression de la maladie et les symptômes cliniques, sont très semblables à ceux de l'histoplasmosis, bien qu'il ne soit pas intracellulaire et qu'il n'ait pas une structure sphérique contenant des spores comme c'est le cas dans l'histoplasma, il a quand même des similitudes pathologiques. En culture ce fongique produit des chaînes thaliques de conidies et aucun téléomorphe connu.

Parfois la maladie devient systémique et ces cas sont habituellement létaux en cas de non diagnostic ou d'absence thérapeutique.

Dans certains cas la maladie peut se présenter comme un érythème noueux ou comme une inflammation des articulations qui est communément appelé *Rhumatisme du désert*. Le nombre important de cas de contamination a entraîné les laboratoires à rechercher un vaccin. La justification de la protection par vaccination repose sur l'observation que l'infection naturelle par *C. immitis* confère presque toujours l'immunité contre la maladie.

Épidémiologie

On estime, principalement sur la base de tests cutanés, qu'il y a entre 25 000 et 100 000 nouveaux cas humains de contamination par *C. immitis* chaque année aux États-Unis d'Amérique, dont 10 à 200 auront une forme disséminée de la maladie.

L'année 2001 a vu apparaître une épidémie de cette maladie suite aux recherches sur *le Dinosaur National Monument* (Utah). Dix personnes qui avaient travaillé à une fouille, ont présenté des coccidioidomycosis respiratoires aiguës dans les deux semaines après l'exposition. Tous ont été traités par fluconazole, avec une hospitalisation moyenne de 1,5 jour.

Traitements

L'amphotéricine B, l'itraconazole et le voriconazole apparaissent actifs *in vitro* contre *C. immitis*. Toutefois, l'amphotéricine B est moins actif dans certaines formes de contamination. L'itraconazole et le voriconazole, quant à eux, n'ont pas de contre-indications pour le *C. immitis*. Le traitement antifongique doit être administré aux patients qui ont la maladie disséminée ou sont à risque de complications par immunodéficience sous-jacente ou d'autres facteurs. Cependant, l'échec clinique pendant le traitement antifongique n'est pas rare. Le fluconazole est préférable pour le traitement des méningites. Les données disponibles suggèrent que le fluconazole devrait être administré sur le long terme dans les cas de méningite afin de prévenir les rechutes. L'amphotéricine B devrait être administrée par voie intrathécale et pour une durée prolongée.

4.3.2.5 Genre Trichophyton

**Sous-division Deuteromycota ; Classe Eurotimocetes ; Ordre Onygenales ;
Famille Arthrodermataceae**

Espèce Trichophyton rubrum



Morphologie : de forme filamenteuse microscopique, sans forme sexuée connue et ayant une affinité particulière pour la kératine (protéine de l'épiderme, des ongles, poils, et cheveux). Ce dermatophyte anthropophile est le responsable principal des dermatophytoses des pieds (ou pieds d'athlète, Tinea pedis) et des ongles (onychomycose, onyxis, Tinea unguium). C'est actuellement le dermatophyte le plus fréquemment isolé dans les laboratoires à partir des mycoses des pieds en Europe et en Amérique du Nord³².

Caractéristiques

On ne connaît pas de forme sexuée (téléomorphe) de *Trichophyton rubrum*. Il se reproduit sur la gélose de Sabouraud en formant des hyphes mycéliens et des spores par voie asexuée. Ces spores se forment par condensation du cytoplasme à l'intérieur de l'hyphe préexistante puis par fragmentation, on les qualifie d'arthroconidies. Il existe deux types de spores, les macroconidies, qui sont pluricellulaires, et les microconidies, qui sont unicellulaires. Les spores jouent un rôle important dans la propagation du champignon. Elles n'ont pas de besoins nutritionnels exogènes. Ce sont des formes capables de résister aux conditions environnementales adverses et donc de participer à la résistance au traitement antifongique. On considère que les conidies sont la cause des infections primaires de l'Homme.

Pathologie



L'atteinte de la peau glabre par le dermatophyte est également possible. Le plus souvent, elle siège au niveau des pieds, ou elle est satellite d'un onyxis dermatophytique. Elle s'y manifeste par un intertrigo-interdigito-plantaire banal, une dermatophytie plantaire, voire une kératodermie plantaire.

Au cours d'infections par le VIH, elle peut se généraliser sous forme de dermatophyties cutanées avec atteintes de la peau glabre (improprement appelées herpès circiné), des intertrigos inguino-scrotaux (improprement appelés eczéma marginé de Hébra), des folliculites et des dermatophyties disséminées.

4.3.3 Classe *Dothideomycetes*

C'est l'un des plus grands groupes de champignons avec un niveau élevé de diversité écologique, y compris de nombreux pathogènes infectant une large gamme d'hôtes. Nous comparerons les caractéristiques du génome des 18 membres de cette classe, y compris 6 nécrotrophes, 9 biotrophes et 3 saprotrophes. Le *Dothideomycetes* a probablement évolué d'un ancêtre commun il y a plus de 280 millions d'années.

Cette classe est très présente dans le sol, parfois saxicoles¹, aquatiques d'eau douce et d'eau de mer. Dans cette classe nous avons retenu les genres pathogènes suivants : *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Aureobasidium*.



Photo : *Scoria spongiosa* (Capnodiaceae)

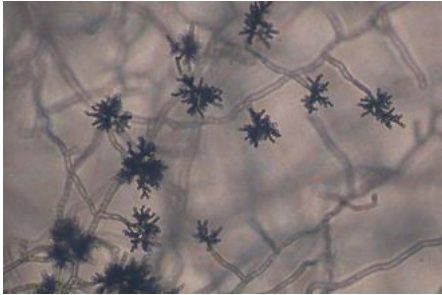
Les *Dothideomycètes* comptent plus de 19 000 espèces, 1 300 genres environ et une centaine de familles. Les représentants de cette classe très hétérogène ont adopté la plupart des modes de vie susceptibles d'être rencontrés chez les champignons : espèces saprotrophes, parasites de végétaux ou formant des associations mycorhiziennes, champignons lichénisés, espèces terrestres, parfois saxicoles, ou aquatiques, d'eau douce ou marines...

¹ **saxicole** : (*biologie*) qui vit ou qui pousse dans les [rochers](#).

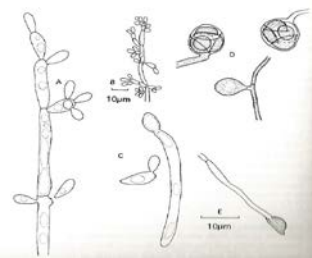
4.3.3.1 Genre *Cladosporium*

Sous division *Pezizomycotina* ; Classe *Dothideomycetes* ; Ordre *Capnodiales* ;
 Famille *Davidiellaceae*

Cladosporium



C'est un genre dont les espèces les plus connues sont des moisissures d'intérieur et d'extérieur. Certaines sont pathogènes pour les végétaux et d'autres parasites pour les animaux et l'Homme. Quelques espèces produisent des spores (par exemple les spores de 4 à 11 µm du *Cladosporium herbarum*, qui à partir d'un certain taux dans l'air deviennent allergènes [production de plus 8 000 spores/m³/jour]).



A. *Cladosporium hebarum*
 B. *C. macrocarpum*
 C. *C. macrocarpum* (conidiophores sur sclerotium)

Origine

On retrouve ce fongique dans le monde entier. C'est un des fongiques les plus communs dans les échantillons d'air. Il est souvent trouvé dans l'air d'intérieur, sur les endroits humides. Certaines espèces se retrouvent dans la végétation en décomposition, dans le sol.

Les effets sur la santé

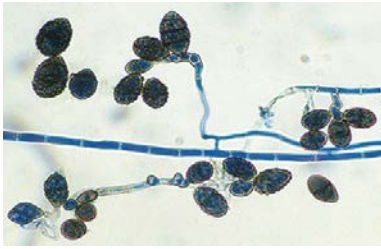
Quelques espèces sont saprophytiques et ne causent pas de pathologies humaines. D'autres espèces peuvent causer des infections systémiques où l'inhalation initiale mène à des infections pulmonaires qui se disséminent à d'autres organes, parfois jusqu'au cerveau. C'est une évolution de plus en plus fréquente chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du SIDA, de leucémie, de maladies auto-immunes, d'un Syndrome de Cushing ou dans les suites de greffes d'organes. Certaines espèces peuvent causer des infections profondes de la peau et envahir le système nerveux central. Elles peuvent causer des sinusites, des maladies respiratoires et des mycoses sous-cutanées. Des lésions peuvent se produire n'importe où dans le corps si l'on se pique avec de la végétation contaminée. Les espèces dans les échantillons d'air sont impossibles à différencier au microscope. Il est donc impossible de séparer les espèces non pathogènes de celles potentiellement pathogènes. Cependant, le *Cladosporium* peut produire des spores en nombre tellement élevé qu'il devrait probablement toujours être considéré comme une source possible d'infections ou d'allergies lorsqu'on soupçonne la présence de mycètes.

4.3.3.2 Genre *Ulocladium*

Sous division *Pezizomycotina* ; Classe *Dothideomycetes* ; Ordre *Pleosporales* ;
 Famille *Pleosporaceae* ; Genre *Ulocladium*

Dans cette famille on va étudier les genres allergènes suivants : *Ulocladium* ; *Alternaria*.

Genre *Ulocladium*



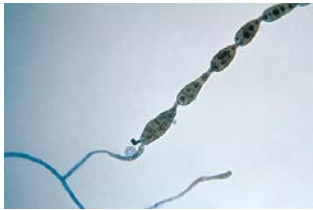
Les espèces de ce genre contiennent des agents pathogènes. Ils peuvent causer allergies, rhume des foins et infections plus graves chez les personnes immunodéprimées. Les colonies sont rapidement envahissantes, brun à noir olivâtre ou grisâtre.

Ces moisissures sont envahissantes et sont signes d'humidité, car la moisissure a un besoin d'eau pour se développer et prospérer.

4.3.3.3.1 Genre *Alternaria*

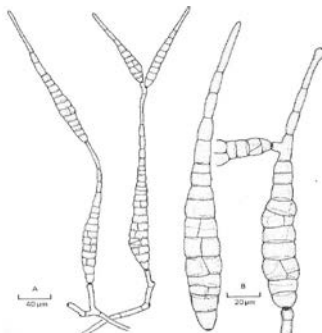
Classe *Dothideomycetes* ; Ordre *Pleosporales* ; Famille *Pleosporaceae*

Alternaria

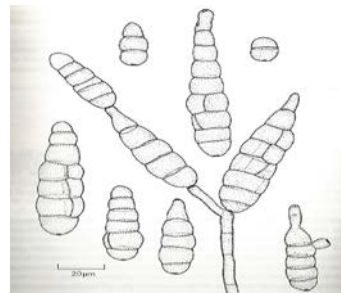


Fongique asexué, qui comprend de plus de 299 espèces dont 60 sont répertoriées comme parasites ou pathogènes.

Morphologie : micro-organisme de quelques micromètres de diamètre. Capable de survivre dans un environnement défavorable, *Alternaria* forme des spores, qui sont très résistantes. Il vit dans la chaleur et l'humidité. Il est présent dans le sol. Sporulation août et septembre.



Alternaria brassicae
(conidia et conidiophores)



Alternaria Brassicola (conidia et conidiophores)

Allergologie

Libérant massivement ses spores en août-septembre, *Alternaria* est la cause de rhino-conjonctivites pouvant être confondues avec les rhinites dues aux pollens. Les symptômes observés sont de type respiratoire (rhinite, asthme). *Alternaria* semble impliquée dans les recrudescences de cas d'asthmes sévères.

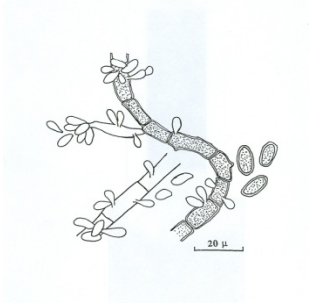
4.3.3.2 Genre *Aureobasidium*

Classe *Dothideomycetes* ; Ordre *Dothideales* ; Famille *Dothioraceae* ;

Genre *Aureobasidium*

Espèce pathogène retenue : *Aureobasidium pullulans*

Auréobasidium pullulans

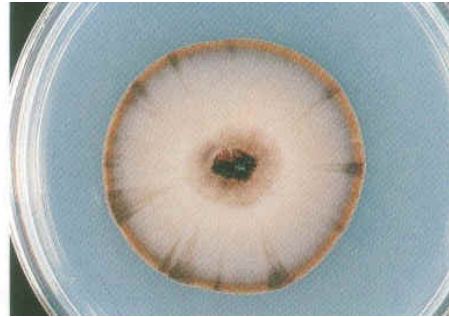


Aureobasidium pullulans

Morphologie : blastoconidies pâles en couleur. Le développement synchrone de blastoconidies en touffes est typique. Les hyphes sont cloisonnés, la largeur des hyphes est généralement de 2 à 10 μm , mais peut être aussi épaisse que 15-20 μm .

Aureobasidium n'a aucune conidiospores distinctes. Les cellules conidiogènes ne sont pas bien différenciées. Ce sont des chaînes de 1 à 2 cellules, pigmentées avec la présence de nombreuses hyalines, unicellulaires, avec des conidies de forme ovoïde qui sont produites sur des denticules courts.

Caractéristiques culturales : il pousse lentement et arrive à maturité après 7 jours d'incubation. Le diamètre des colonies est de 1 à 3 cm après 7 jours d'incubation à 25 °C sur gélose de glucose de pomme de terre. Colonies : visqueuses, brillantes de couleur crème à rose-pâle puis jaunissantes, puis devenant marron-noir en vieillissant.



Écologie

Les *Aureobasidium* sont cosmopolites et ubiquitaires.

Pathologie

La majorité des espèces sont phytopathogènes. Certaines espèces sont impliquées dans les allergies de type I et II, d'autres sont responsables d'infections cutanées ou pulmonaires, péritonites, méningites, etc. *Aureobasidium* peut coloniser la peau, les cheveux et les ongles mais en général, les pathologies sont rares et limitées.

Sensibilisation

Aucune donnée de susceptibilité n'est disponible pour *Aureobasidium*. Les méthodes de test de sensibilité *in vitro* ne sont pas encore normalisées.

4.3.4 Classe *Saccharomycetes*

Ordre *Saccharomycetales* ; Famille *Saccharomycetaceae*

Division connue sous le nom de levure.

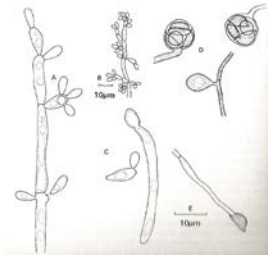
Caractéristiques

Cette classe représente la classe des levures ne donnant pas de mycélium, elles sont de ce fait unicellulaires et comprennent un grand nombre d'espèces utilisées dans l'industrie alimentaire comme agents de fermentation. Cette classe comprend des genres qui sont parasites et pathogènes pour l'Homme et les animaux. Nous allons étudier le genre *Candida* à l'origine de la candidose.

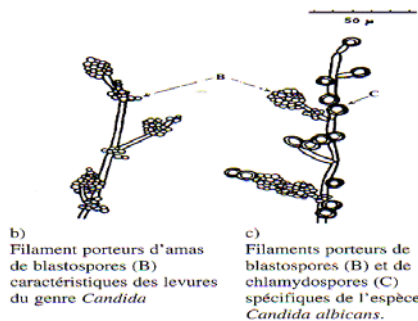
4.3.4.1 Genre *Candida*

Sous-division *Saccharomycota* ; Classe *Saccharomycetes* ; Ordre *Saccharomycetales* ;
Famille *Saccharomycetaceae*

Morphologie *Candida*



A- B mycélium (blastospore en formation).
C- Blastospore en germination (formation du future blastospore).
D- Jeunes asques dans leurs ascospores.
E- Germination de l'ascospore



b) Filament porteurs d'amas de blastospores (B) caractéristiques des levures du genre *Candida*

c) Filaments porteurs de blastospores (B) et de chlamydoconidies (C) spécifiques de l'espèce *Candida albicans*.

Levure présente dans les sols, et saprophyte très fréquent sur la peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux.

Classe des *Saccharomycetes*, levuriforme et filamenteuse, porteuse de blastospores et de chlamydoconidies (asexuée, reproduction par clonage).

La souche la plus incriminée dans les candidoses humaines est le le ***Candida albicans***. Les candidas sont des espèces osmophiles (qui sont sensibles aux différences de pressions osmotiques). Son de développement optimum se fait pour un AW de 0,865.



Pathologie humaine genre *Candida* (candidoses)

Mycose provoquée par un *candida* (***Candida albicans***, surtout), qui peut être superficielle (cutanéomuqueuse) ou profonde.

Candidose buccale

Elles sont les plus fréquentes, dues au genre *Candida* et le plus souvent à ***Candida albicans***. Les levures *Candida* deviennent pathogènes à la faveur de modifications du terrain comme immunodépression, traitement antibiotique, maladie endocrinienne. Selon l'âge et l'état immunologique du patient, on observe des aspects cliniques différents. La forme aiguë et la plus connue est représentée par le « muguet » ; à rechercher chez l'enfant, l'adulte ou le vieillard suite à une affection chronique sous-jacente ou une antibiothérapie.

Candidose buccale



Les formes pseudomembraneuses se présentent sous forme de plaques blanchâtres ou crémeuses souvent localisées au niveau du palais. Ces plaques peuvent être décollées avec un abaisse-langue, révélant en-dessous une surface érythémateuse ou hémorragique. Le patient peut se plaindre de douleurs buccales et d'une dysphagie.

Candidose cutanée

L'espèce *Candida albicans* est responsable de 90 % des mycoses cutanées. Toutes les espèces de *Candida* impliquées appartiennent à la flore saprophyte de la muqueuse digestive ou parfois de la muqueuse vaginale (*Candida albicans*, *Candida glabrata*) ; d'autres espèces sont normalement présentes sur la peau (*Candida guilliermondi*, *Candida parapsilosis*) alors que *Candida albicans* ne l'est pas. Leur passage à l'état parasitaire, responsable d'une candidose cutanée, est marqué par leur capacité à produire des filaments, à adhérer et à pénétrer la kératine de l'épiderme à l'occasion de circonstances favorisantes. Ce candida se loge dans les replis de la peau, les mains (entre les doigts), les pieds (entre les orteils), les ongles, les oreilles...



Les onyxis candidosiques sont dominés par l'atteinte péri-unguéale, siège d'un œdème inflammatoire, d'où sourd un peu de pus, dont on peut isoler une partie pour la culture et le diagnostic.

Candidose œsophagienne

Infection opportuniste la plus fréquente chez les malades atteints du SIDA.

Candidose septicémique

Septicémie à *candida* qui a une origine soit endogène (à partir d'un foyer digestif), soit exogène (à partir d'un acte thérapeutique impliquant un traumatisme vasculaire comme une voie veineuse à demeure).

La symptomatologie n'est pas évocatrice d'une étiologie fongique et les disséminations (rénales, cardiaques, pulmonaires, oculaires ou neuro-méningées), surviennent à bas bruit. Elles apparaissent surtout sur un terrain fragilisé (agranulocytose, malades en réanimation).

Traitement

Les antifongiques utilisés actuellement ont de nombreuses cibles : la paroi cellulaire, la membrane plasmique, la synthèse de l'ergostérol, l'ADN, l'ARN... Ces antifongiques sont soit fongistatiques, soit fongicides.

- **Les polyènes** : comme l'Amphotéricine B ou nystatine, sont des fongiques naturels. L'AmB se lie à l'ergostérol de la membrane du champignon en augmentant ainsi la perméabilité de la membrane, ce qui conduit à la mort du fongique par le départ du cytosol et des ions K^+ . (L'AmB connaît une réactivité croisée avec le cholestérol chez l'Homme, il peut être toxique à forte dose).
- **Les analogues de pyrimidine** : comme 5-fluorocytosine (5-FC), qui sont des fongicides. La 5-FC pénètre dans la cellule fongique et inhibe la synthèse de l'ARN et l'ADN. Les analogues de pyrimidine n'affectent pas l'Homme, car la cytosine désaminase n'existe pas dans la cellule humaine ou y est faiblement active.
- **Les Azoles** forment la classe la plus répandue des fongistatiques. On les classe en deux sous-familles : les imidiazoles comme le kétoconazole, le miconazole et les triazoles plus récents comme fluconazole, voriconazole, itraconazole. Les azoles inhibent l'action du gène *ERG 11* impliqué dans la biosynthèse de l'ergostérol. La fragilisation de la membrane arrête la croissance du fongique. Le gène *ERG5* est une cible secondaire des azoles...

D'autres types d'antifongiques plus ou moins récents peuvent être utilisés, comme les allylamines (terbinafine, naftinine), les morpholines (amorolfine), les échinocandines...

4.4 DIVISION BASIDIOMYCOTA

Sous-divisions et classes :

- *Agaricomycotina*
 - Classe *Hymenomycetes*
 - Classe *Gasteromycetes*
 - Classe *Heterobasidiomycetes*.
 - Classe *Tremellomycetes*
- *Pucciniomycotina*
 - Classe *Microbotryomycetes*.
 - Classe *Wallemiomycetes*
 - Classe *Enterrhizomycetes*
- *Ustilaginomycotina (ancien Exobasidiales)*

Les basidiomycètes sont regroupés dans la branche des mycètes qui regroupe les champignons dit « Champignon à chapeau ». Ils sont caractérisés par des spores formés à l'extrémité de cellules spécialisées que l'on appelle basides.

La division était précédemment répartie en trois grandes classes :

- *Homobasidiomycetes* : basides non cloisonnées, appelées homobasides, de forme clavée ou cylindrique, ne produisant pas de spores secondaires. Cette classe comporte la plupart des champignons charnus.
- *Phragmobasidiomycetes* : basides cloisonnées, production possible de spores secondaires. Cette classe comporte notamment les tremelles et « l'Oreille de Judas ».
- *Teliomycetes* : basides cloisonnées transversalement. Champignons parasites (rouille) des végétaux supérieurs ou charbon des graminées.

4.4.1 Sous-division *Agaricomycotina*

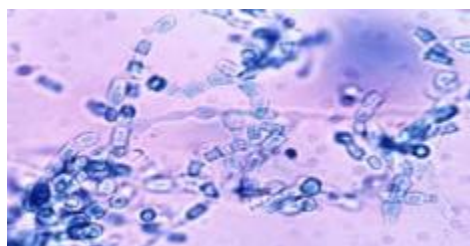
Presque toutes les espèces sont terrestres (quelques rares espèces sont aquatiques). Ce sont souvent des saprophytes qui participent à la décomposition de la lignine. Cependant certaines espèces sont parasites ou symbiotes. Il faut ainsi noter leur rôle très important en tant qu'ectomycorhize.

4.4.1.1 Classe *Tremellomycetes*

Elle comprend 11 familles, 50 genres, 377 espèces

4.4.1.1.1 Genre *Trichosporon*

**Sous-division *Agaricomycotina* ; Classe *Tremellomycetes* ; Ordre *Tremellales* ;
 Famille *Trichosporonaceae***



Genre *Trichosporon*

Sa morphologie se présente sous forme d'un pseudo et vrai mycélium abondant, arthrospore, endospore asexuée. Il est fermentaire ou non, nitrate(+), l'inositol(-). Milieu de Rice Agar Tween 80, culture donnant des colonies blanchâtres qui poussent en deux ou trois jours.

(Fig.4 : <http://www.mycology.adelaide.edu.au/vitua/2008>)

Habitat

Le *Trichosporon* est un genre de champignons anamorphiques dans la famille des *Trichosporonaceae*. Toutes les espèces de *Trichosporon* sont des levures de sexualité téléomorphe. La plupart sont généralement isolées du sol, mais plusieurs espèces sont

commensales d'une partie naturelle de la microflore de la peau humaine et des animaux.

Agents pathogènes humains

Trichosporon peut proliférer dans les cheveux et conduire à une infestation désagréable, mais non grave appelée *Piedra blanche*. Ils peuvent également causer de graves infections opportunistes (*Trichosporonosis*) chez les personnes immunodéprimées. Les espèces responsables sont ***T. Inkin***, ***T. asahii***, ***T. mucoïdes***, ***T. asteroides*** et ***T. cutaneum (ex-T. beigeli)***

Le séquençage de l'ADN a montré que la *Piedra blanche* peut être causée par plus d'une espèce de *Trichosporon*.

PIEDRA BLANCHE

Maladie infectieuse des poils de barbe et des cheveux caractérisée par la présence de petites nodosités fermes, irrégulièrement échelonnées sur les tiges pilaires. Cette maladie est rare mais cosmopolite, ces nodosités blanchâtres peuvent rester individualisées ou former des graines coalescentes difficiles à différencier de celles des trichomycoses axillaires et pubiennes. ***T. cutaneum*** s'infiltré entre les cellules cuticulaires. Dans la *Piedra noire*, endémique en zone tropicale, ces nodosités très dures sont constituées par le développement d'un ascomycète (différente de la forme *Piedra blanche*).

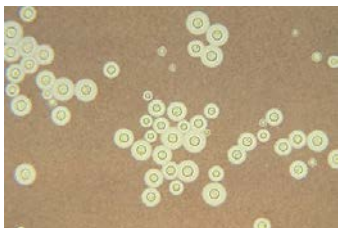
4.4.1.1.2 Genre *Cryptococcus*

Sous-division *Agaricomycotina* ; Ordre *Tremellales* ; Famille *Tremellaceae* ;

Genre *Cryptococcus*

Dans ce genre, *Cryptococcus neoformans* est le plus connu pour sa pathogénicité.

Cryptococcus neoformans



C'est un mycète encapsulé de type levure qui peut vivre tant sur les plantes que sur les animaux. Cette espèce est dénommée sous sa forme téléomorphe ***Filobasidiella neoformans***. Dans certaines conditions cette levure peut pousser comme un mycète filamenteux. La levure est protégée par une capsule composée principalement de polysaccharides. Au microscope l'encre de Chine permet de visualiser la capsule et d'identifier sa présence par la formation d'halos (zone claire).

Caractéristiques de culture

Elle pousse à 37 °C sur milieu de Sabouraud sans actidione et additionné de chloramphénicol.

Cr. neoformans existe sous deux variétés :

- ***Cr. neoformans var. neoformans*** : cosmopolite. Infecte les sujets immunodéprimés. Forme parfaite : ***Filobasidiella neoformans*** (sérotypes A – D).
- ***Cr. neoformans var. gattii*** : régions subtropicales (majoritaire en Afrique noire). Forme parfaite : ***Filobasidiella bacillispora*** (sérotypes B – C).

Cr. neoformans est une levure saprophyte du milieu extérieur (fientes de pigeon, guano de chauve-souris) qui a un comportement d'opportuniste. La contamination se fait généralement par inhalation de spores (primo-infection pulmonaire latente), beaucoup plus rarement par inoculation cutanée.

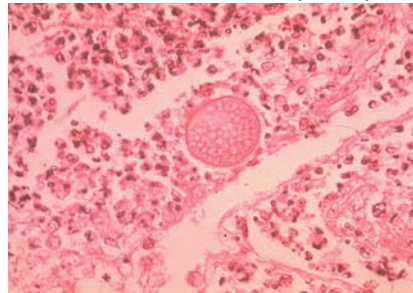
Symptomatologie

La prévalence de la cryptococcose neuroméningée chez les patients infectés par le VIH était de 0,6 %. Les signes cliniques ne sont pas spécifiques :

- Fièvre retrouvée dans 100 % des cas et céphalées dans 95,4 % des cas. Celles-ci sont généralement frontales, temporales ou rétro-orbitaires et résistantes aux antalgiques. La symptomatologie peut donc être frustrante, le syndrome méningé n'étant présent que dans la moitié des cas.
- Il faut garder en mémoire que chez un patient sévèrement immunodéprimé, toute suspicion de méningite doit faire rechercher une cryptococcose.



- La cryptococcose a une porte d'entrée probablement respiratoire. L'inhalation de ***Cr. neoformans*** conduit à une primo-infection pulmonaire souvent asymptomatique. La levure persisterait dans l'organisme sous une forme latente et serait réactivée à la faveur d'une immunosuppression, et, au cours d'un épisode de fongémie, pénétrerait dans le compartiment cérébral à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE).



*Histopathology of coccidioidomycosis of lung.
Mature spherule with endospores of Coccidioides immitis, intense infiltrate of neutrophils.
CDC/Dr. Lucille K. George
(Above photo and caption is courtesy of: <http://www.med.sc.edu:85/mycology/mycology-6.htm>)*

Diagnostic

- Recherche de ***Cr. neoformans*** dans le LCR à l'examen direct ou après culture.
- Seul l'isolement du cryptocoque dans le liquide céphalo-rachidien permet d'affirmer le diagnostic de cryptococcose neuroméningée avec certitude.
- Les principales anomalies cytochimiques du liquide céphalo-rachidien sont l'hyperprotéinorachie (95,4 % des cas), l'hypoglycorachie (91 %) et l'hyperlymphocytose (100 %) ³³.

Traitement

Amphotéricine B en perfusion ou en relais avec le fluconazole.

Morbidité et mortalité

Évolution le plus souvent mortelle. Le risque de décès est d'autant plus élevé que le patient présente un coma à l'admission et qu'il est traité par amphotéricine B en monothérapie.

La lutte contre la cryptococcose neuroméningée doit obligatoirement passer par la recherche systématique de cette affection chez les sujets VIH+ présentant des céphalées, la prescription

d'antifongiques systémiques efficaces et par une prévention primaire reposant sur un élargissement de l'accès aux antirétroviraux en Afrique.

4.4.2 Sous-division *Pucciniomycotina*

Ce sont des champignons parasites avec des cycles biologiques parfois complexes, qui présentent des alternances d'hôtes. En effet il est fréquent que le champignon, pour accomplir son développement complet, doive parasiter successivement des espèces différentes. Les graminées sont des hôtes habituels de ce type de champignons.

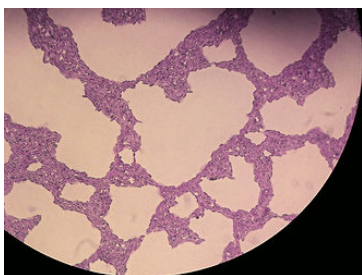
Cette sous-division comprend huit classes :

- *Classiculomycetes*
- *Cryptomycocolomycetes*
- *Mixiomycetes*
- *Atrectiellomycetes*
- *Agaricotilbomycetes*
- *Cystobasidiomycetes*
- *Pucciniomycetes*
- *Microbotriomycetes*

4.4.2.1 Classe *Microbotrymycetes*

4.4.2.1.1 Genre *Rhodotorula*

Ordre *Sporidiobolales*



Rhodotorula

C'est un fongique ubiquitaire. On peut le trouver dans le sol, l'eau, le lait, les jus de fruits et dans d'air. Il est capable de piéger des composés azotés dans l'air. Dans de telles conditions, la teneur en azote de la masse sèche de Rhodotorula peut descendre aussi bas que 1 %, comparée à environ 14 % pour la plupart des bactéries qui poussent dans des conditions normales³⁴.

Morphologie

Rhodotorula est un genre de levures unicellulaires pigmentées isolées ou en agrégats.

Caractéristiques

Uréase(+), ne fermente pas les sucres et peut assimiler divers hydrates de carbonés.

Culture

Il est facilement identifiable par ses colonies rouge/orange lorsqu'il est cultivé sur SDA (Dextrose Agar de Sabouraud). Cette couleur caractéristique est le résultat des pigments qu'il crée pour bloquer certaines longueurs d'onde de la lumière qui lui serait préjudiciable.

Pathologie

Sont connus comme pathogènes chez l'Homme, les *R. mucilaginosa*, *R. glutinis* et le *R. minuta*. Il n'y a pas eu de cas d'infections *Rhodotorula* avant 1985³⁵. Il y eu cependant quarante-trois cas de mycétomes à *Rhodotorula* signalés entre 1960 et 2000. *Rhodotorula* se rencontre plus couramment chez les patients immunodéprimés VIH+ ou sous traitement pour le cancer, sous antibiothérapies à large spectre ou ayant des problèmes physiologiques (diabète, insuffisance rénale, ...).

Les infections de *R mucilaginosa* qui ont été signalées ont souvent fait suite à l'utilisation des cathéters veineux centraux. Il semblerait que c'est lors de l'extraction du cathéter que la contamination fongémique puisse se faire. Dans ces cas les symptômes les plus remarquables ont été des endocardites, des méningites, des ventriculites. Des endophtalmies avec kératites ou des péritonites ont également été décrites. Un groupe de onze cas d'infections à *R. mucilaginosa* a été isolé lors de septicémies suite à des bronchoscopies avec du matériel contaminé.

Il est à signaler qu'un cas d'anémie falciforme (érythrocytes en forme de faucilles) a été signalé avec identification sérologique de la présence *R. mucilaginosa*. À noter que le patient n'avait pas de signes systématiques ou de symptômes d'infection.

Traitements

Le *Rhodotorula* est constamment résistant au fluconazole. Dans une étude de 64 cas où le genre *Rhodotorula* a été isolé entre 1987 et 2003³⁶, les agents les plus actifs s'avèrent être le 5-flucytosine et l'amphotéricine B. Parmi les dérivés azolés à large spectre, il a été retenu le voriconazole et le posaconazole. Une étude espagnole (Gomez-Lopez A, E. Mellado, JL Rodriguez-Tudela), donne un large éventail de CMI (Concentration Moyenne Inhibitrice) pour la flucytosine et pour l'amphotéricine.

Précautions cliniques

Pour éviter les contaminations par ce fongique il faut généralement le traiter lors de l'extraction du cathéter et utiliser des antifongiques actifs comme l'amphotéricine B et la flucytosine³⁷, dans les cas à risques cités plus haut.

Pathologies animales

On a signalé des infections de la peau chez les poulets et les animaux marins et des infections pulmonaires et des otites chez les ovins et les bovins³⁸.

4.5 OBSERVATION SUR LES ALLERGIES ET MALADIES FONGIQUES

Les infections fongiques sont toujours très tardives, elles ont une incubation de deux à trois semaines. Elles peuvent être marquées par des bradycardies, des dyspnées, des insuffisances respiratoires, des problèmes digestifs et même des problèmes neurologiques.

Les personnes les plus vulnérables aux mycoses sont :

- Patients immunodéprimés par maladies virales (VIH, ...).
- Patients traités par chimiothérapies.
- Patients sous antibiothérapie (l'antibiothérapie change la flore commensale de la peau par une diminution bactérienne, ce qui favorise une flore fongique).
- Patients traités par de fortes doses de corticoïdes. Les corticoïdes à forte dose sont lymphocytotoxiques et peuvent inhiber la migration, le chimiotactisme et l'activité bactéricide des polynucléaires.
 - Patients ayant des pathologies endocriniennes.

Les barrières naturelles sont constituées par l'intégrité des surfaces externes de l'organisme (peau et l'ensemble des muqueuses) et par les processus d'élimination mécanique des bactéries : desquamation, péristaltisme intestinal, flux unidirectionnels de la salive, des urines, mouvement de l'épithélium cilié bronchique, réflexe de toux. L'effet de barrière de la flore intestinale, la sécrétion de lysozyme et d'IgA par les muqueuses digestives et bronchiques (IgM) font également partie de ces barrières naturelles. Lorsque ces mécanismes de défense sont altérés, l'infection par les micro-organismes est facilitée.

4.6 LES ALLERGIES FONGIQUES

Les pathologies fongiques que nous avons étudiées jusqu'ici, surviennent principalement chez des patients immunodéprimés ou porteurs de déficits métaboliques ou de troubles hormonaux offrant un terrain favorable à la fixation d'une flore fongique et entraînant de ce fait une généralisation de la pathologie avec un pronostic aggravé.

Dans le cadre des activités de spéléologie et de canyionisme, les problèmes les plus fréquents provoqués par la flore fongique relèveront du domaine de l'allergologie. Ce sera la rencontre entre une protéine allergène fongique (principalement provenant des spores qui sont très volatiles) et un individu atopique, génétiquement prédisposé à réagir de façon allergique à ces protéines.

Dans le domaine de l'hypersensibilité, le choc anaphylactique constitue la forme la plus sévère de la réaction d'hypersensibilité, mais il existe de nombreux états d'hypersensibilité aigue ou chronique et de nombreuses maladies atopiques. Sous le terme d'atopie on regroupe les diverses manifestations cliniques relevant de l'hypersensibilité immédiate avec production d'immunoglobuline IgE et de l'hypersensibilité dite retardée associée à la production de cellules lymphoïdes sensibilisées. C'est le cas notamment des rhinites allergiques, de l'asthme bronchique, des urticaires atopiques et des allergies alimentaires.

4.6.1 Généralités sur les réactions anaphylactiques³⁹

Les réactions d'hypersensibilisation demandent d'avoir eu un premier contact asymptomatique avec l'allergène, ce qui va produire des IgE spécifiques. Elle correspond à une période d'environ 7 à 10 jours. Suite à cette période une hypersensibilité se met en place. Les réactions anaphylactiques ont été classifiées par Gell et Coombs.

La classification des réactions d'hypersensibilité développées par Gell et Coombs repose sur les caractéristiques distinctives des mécanismes humoraux et cellulaires impliqués ainsi que sur un certain nombre d'observations pathologiques. Elle fait ressortir quatre types de réactions : types I, II et III — à médiations humorales, correspondant à une réaction d'hypersensibilité immédiate —, et le type IV correspondant à l'hypersensibilité retardée, à médiation cellulaire.

Classification des réponses immunitaires selon Gell et Coombs

Types de réaction d'hypersensibilisation			
Type I	Type II	Type III	Type IV
Réaction immédiate IgE et humorale	R. immédiate humorale avec IgG et IgM	R. immédiate humorale avec IgG et IgM + complément	R. retardée cellulaire
<ul style="list-style-type: none"> • Réaction aigue après contact avec allergène (en quelques mn). • Réaction avec les IgE fixées sur les macrocytes et L. basophiles • Libération de-granulations des macrocytes et L. Basophiles. • Libération d'amines vasodilatatrices et autres médiateurs. 	R. immédiate de cytotoxicité provoquée par des anticorps (IgE ou IgG et IgM le plus souvent) en présence du complément. Les anticorps sont dirigés contre des antigènes présents sur la membrane cellulaire.	R. immédiate induite par des complexes immuns qui se déposent dans certains organes. La présence de ces complexes immuns entraîne alors une réaction d'inflammatoire locale (phénomène d'Arthus) apparaissant quelques heures après contact avec l'antigène.	R. retardée à médiation cellulaire induite par les lymphocytes T sensibilisés. Ces lymphocytes agissent soit par cytotoxicité directe, soit par l'intermédiaire de médiateurs chimiques (lymphokines) qu'ils produisent. Ces lymphokines activent les macrophages et les immobilisent au point de contact.

Vasodilatation, chute de pression sanguine, hypotension, augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, choc anaphylactique	Cytolyse	<ul style="list-style-type: none"> • Précipitation des complexes immuns • Activation du complément • Activation des neutrophiles • Lésions tissulaires par les enzymes lysosomiales 	<ul style="list-style-type: none"> • Activation des lymphocytes T • Production des lymphokines • Attraction et immobilisation des macrophages
Sécrétion : <ul style="list-style-type: none"> • Histamine • Sérotonine • Prostaglandines • PAF (agrégation plaquettaire et diminution de la coagulabilité) • SRS-A Leucotriènes (bronchoconstriction - Asthme) 			Facteurs chimiotactiques : <ul style="list-style-type: none"> • Mobilisation et attraction des cellules phagocytaires. • Neutrophiles. • Éosinophiles. • Macrophages. • Intervention dans la phase tardive.
<ul style="list-style-type: none"> • Modifications vasculaires • Hypersensibilités • Contraction de muscles lisses • Urticaire • Spasmes bronchiques • Choc anaphylactique 	<ul style="list-style-type: none"> • Cytolyse • Allo-immunisations • Maladie hémolytique du nouveau-né • Allergies médicamenteuses 	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions tissulaires par les enzymes lysosomiales • Maladie sérique • Glomérulonéphrites aiguës • Lupus érythémateux disséminé 	<ul style="list-style-type: none"> • Attraction et immobilisation des macrophages • Indurations. • Œdèmes • Nécroses • Hypersensibilité tuberculinique • Dermatitis de contact • Hypersensibilités médicamenteuses • Rejet des allogreffes • Hypersensibilité aux métaux, aux amines aromatiques, aux résines époxy, caoutchouc, végétaux...

Ce tableau résume les principales actions produites lors des différents types des réactions d'hypersensibilisations en fonction des types d'allergies.

4.6.2 Allergies fongiques

4.6.2 1 Généralités

Particularité des allergies fongiques

Il est désormais reconnu que toutes les expressions cliniques de l'allergie peuvent être causées par des champignons microscopiques. Ces allergies sont souvent liées à d'autres sensibilisations, autant de difficultés qui ne peuvent être résolues que par la minutie de l'enquête allergologique. Sur le plan clinique, il est indispensable de rationaliser la demande des tests qui permettront d'aboutir à un diagnostic correct. Les tests de provocation sont nettement supérieurs aux tests cutanés. Les résultats de ces deux méthodes d'investigation sont souvent discordants et il semble préférable de faire crédit aux tests de provocation. Sur le plan thérapeutique, il y a souvent

intérêt à conjuguer les antifongiques et la désensibilisation spécifique. Dans ce cadre, il semble plus logique d'effectuer :

- une recherche des foyers fongiques ;
- une éradication soignée et contrôlée de ces foyers ;
- une surveillance de l'évolution des facteurs favorisants externes ou liés à l'hôte.

La surveillance régulière des patients, associée à un traitement antifongique, reste pour l'instant une attitude raisonnable. Il est essentiel d'instaurer une collaboration étroite entre praticiens, biologistes et allergologues.

D'après Lahmani et Mohamed El Mehdi (1990), l'allergie d'origine fongique n'est qu'un cas particulier de l'allergie en général, mais son intérêt réside dans sa fréquence relative souvent minimisée et dans la possibilité d'un traitement étiologique spécifique. De plus, cette affection est en plein essor étant donné le large emploi de thérapeutiques telles les antibiotiques, les corticoïdes et les immunosuppresseurs.

Les moisissures sont des polluants naturellement présents dans l'air. Elles peuvent devenir dangereuses lorsqu'elles prolifèrent à l'extérieur ou à l'intérieur. Plusieurs milliers d'espèces existent. Voici celles qui sont le plus souvent rencontrées :

- **Cladosporium** : air, sol, plantes, céréales, produits alimentaires
- **Ulocladium** : sol, bois, végétaux
- **Alternaria** : plantes, légumes, sol, produits alimentaires
- **Aspergillus** : sol, poussières, céréales
- **Penicillium** : sol, fruits avariés
- **Fusarium** : sol, végétaux

4.6.2.2 Symptômes

L'allergie aux moisissures peut causer différents symptômes plus ou moins importants :

- toux et difficultés respiratoires ;
- prurit au niveau des yeux, du nez, de la gorge ;
- apparition ou aggravation de l'asthme ;
- réactions cutanées ;
- troubles neurologiques, hépatiques, rénaux, digestifs.

Les symptômes et les conséquences sur la santé seront plus ou moins importants selon :

- le type de moisissures ;
- la surface du lieu contaminé ;
- l'âge et l'état de santé de la personne concernée.

Il est donc difficile d'analyser toutes les possibilités d'allergies causées par les fongiques que nous pourrions rencontrer dans le domaine karstique. Nous allons donc présenter les cas de figure les plus courants que nous pouvons rencontrer lors des explorations. Nous prendrons trois exemples de pathologies allergiques fongiques :

- Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique (ABPA)
- Sinusites Fongiques Allergiques (SFA)
- Conjonctivites Fongiques Allergiques (CFA)

La symptomatologie peut être extrapolée pour d'autres allergies fongiques des mêmes organes, car c'est une réaction d'hypersensibilité et non une maladie déterminée.

4.6.2.3 Aspergillose allergique

Cette maladie a été décrite en Grande-Bretagne en 1952 par Hinson, puis en 1959 Pepys démontra l'existence d'anticorps précipitants dans le sérum des malades et suggéra que cette affection pouvait être due à deux types de réaction allergique de type I et III. Plusieurs espèces d'*Aspergillus* sont rencontrées en clinique dans les aspergilloses allergiques, mais l'*A. fumigatus* paraît la plus importante en pathologie humaine.

En dehors des aspergillomes, *Aspergillus* peut être responsable de trois grands tableaux cliniques :

- L'asthme aspergillaire relevant d'une allergie de type I, très rare.
- Les alvéolites^a allergiques extrinsèques à *Aspergillus* entrant dans le cadre des allergies de type III, tout à fait exceptionnelles.
- L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique associant les types I et III, éventualité la plus fréquente.

Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique (ABPA)

L'ABPA se présente souvent comme une complication d'un asthme ancien devenu cortico-dépendant. Les crises prédominent classiquement en automne et en hiver et sont peu influencées par les bronchodilatateurs. Elles se compliquent de douleurs thoraciques et d'expectoration brunâtre réalisant parfois de véritables moules bronchiques riches en mycélium d'*Aspergillus*. Radiologiquement, il existe des infiltrations prédominant aux lobes supérieurs, d'aspect non homogène et fréquemment bilatérales. Un point important est l'existence de bronchectasies^b proximales avec des bronches périphériques normales. Cet aspect est considéré comme typique de la maladie. Les bronchectasies, parfois remplies de sécrétions, peuvent réaliser un aspect de bronchocèles^c. On note parfois des images d'atélectasies^d lobaire ou segmentaire.

Recherche et identification de l'Aspergillose

Les tests cutanés à l'aspergillose donne une double réaction, précoce (10 mn) et tardive (3 à 8 heures). Les tests de provocation donnent également une double réponse, immédiate et semi-tardive avec poussée fébrile, dyspnée et trouble obstructif de la ventilation. Ces tests ne sont cependant pas sans danger et doivent être réalisés en milieu spécialisé.

Le test de radioallergoabsorption^e dans le sérum décèle la présence d'IgE spécifiques pour l'*Aspergillus*, le taux est généralement modéré (allergie de type II), il n'y a pas de corrélation entre les taux des IgE totales et IgE spécifiques. La mise en évidence de la présence d'anticorps anti-aspergillaires apporte la preuve de l'allergie de type III. Ces anticorps précipitants appartiennent à la classe des IgG.

4.6.2.4 Sinusites Fongiques Allergiques (SFA)

Les infections fongiques des voies aériennes basses sont bien connues, néanmoins depuis les années soixante-dix de nombreuses publications ont confirmé la présence de sinusites fongiques. À côté de la balle fongique et de la rhinosinusite fongique invasive fulminante, les mieux connues, les formes chroniques indolentes et les formes allergiques sont également décrites. À partir d'une

a/ **alvéolite** : inflammation des alvéoles pulmonaires.

b/ **bronchectasies** : affection chronique, le plus souvent acquise à la suite de maladie des bronches, du poumon ou de la plèvre, caractérisés par une dilatation des bronches souvent avec une expectoration muco-purulente abondante, qui traduit l'infection surajoutée.

c/ **bronchocèles** : sécrétions en forme de petites bronches.

d/ **atélectasies** : affaissement des alvéoles pulmonaires qui se vident d'air et se rétractent. Les causes principales en sont la sténose et l'obstruction bronchique.

e/ **radioallergoabsorption** (RAST) : technique pour déterminer les IgE spécifiques sériques. Elle consiste à marquer l'antigène spécifique avec un radio-isotope et à le mettre en contact avec le sérum porteur d'IgE supposée réactive à cet antigène. La proportion d'IgE spécifique se mesure en observant celle qui reste adhérente à l'antigène par rapport à celle retenue par l'anticorps anti-IgE radioactif ajouté ou par d'autres antigènes non marqués.

revue de la littérature et de l'expérience des auteurs, les différentes données et les controverses persistantes sur cette classification sont exposées. Ces infections peuvent provoquer des sinusites fongiques qui sont le plus souvent du type chronique par le fait qu'elles sont difficiles à identifier.

Sinusite chronique fongique

D'après le D^r Yves Victor Kamami, la sinusite chronique, par définition, dure souvent depuis plusieurs mois et peut avoir de multiples étiologies. Les symptômes de sinusite chronique peuvent inclure n'importe quelle combinaison des éléments suivants : congestion nasale, douleurs du visage, maux de tête, toux nocturne, aggravation de l'asthme, malaise général, écoulement nasal postérieur verdâtre ou jaunâtre, sensation de « plénitude » ou d'« oppression » du visage qui s'aggrave lorsqu'on se penche, vertiges, douleurs dentaires et mauvaise haleine.

Chacun de ces symptômes a de multiples autres causes possibles, qui doivent être envisagées et étudiées. Souvent, une sinusite chronique peut conduire à une anosmie (baisse voire disparition du sens de l'odorat). Dans un petit nombre de cas, la sinusite maxillaire aiguë ou chronique est associée à une infection dentaire. Des vertiges et des troubles de la vision ne sont pas typiques de la sinusite chronique et doivent faire rechercher d'autres causes. Des mycoses peuvent être trouvées dans les cavités nasales et dans les sinus de la plupart des patients atteints de sinusite, mais elles peuvent aussi être trouvées chez des personnes en bonne santé. On ne sait pas si ces moisissures favorisent le développement de sinusites chroniques. Des essais de traitements antifongiques ont eu des résultats mitigés.

4.6.2.5 Traitement de l'allergie aux moisissures

Sur le plan thérapeutique, il y a souvent intérêt à conjuguer les antifongiques et la désensibilisation spécifique. De nombreuses recherches sont en cours afin de préciser les indications thérapeutiques.

Quand l'allergie aux moisissures est diagnostiquée, le traitement est symptomatique. Voici une liste des différents traitements pouvant être utilisés :

- corticostéroïdes ou décongestionnants ;
- antihistaminiques (ils réduisent la réaction de l'organisme face à l'allergène).

Dans toutes les posologies, vérifier que les produits ne contiennent pas de conservateurs, qui pourraient être des allergisants.

4.7 ALLERGIES ET INFECTIONS FONGIQUES OCULAIRES

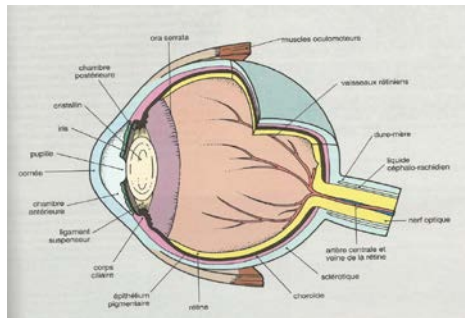
Au cours d'une exploration spéléologique, les yeux sont souvent sujets aux projections de corps étrangers ou à des poussières, à des chutes de pierres, à des contaminations de spores fongiques qui sont une flore du biotope karstique.

Le spéléologue peut avoir des gestes inconscients en suspension et se frotter les yeux, ses mains deviennent alors vectrices de germes telluriques où d'autres éléments contaminants. Les spores de la flore fongique, présentes dans l'air humide ambiant, peuvent être aussi des contaminants allergisants et même infectants. Dans l'activité canyon la qualité de l'eau peut être source de contamination des yeux.

La plupart des virus, bactéries, parasites et champignons qui vivent sur le corps humain sont également des facteurs potentiels de contamination de l'œil dans le cas où les barrières protectrices sont rompues ou désorganisées.

Il est difficile de faire une séparation entre les affections allergiques et les infections oculaires, car les spores fongiques sont souvent allergènes et leur multiplication entraînent des infections sévères des yeux.

4.7.1 Anatomie oculaire



Extrait : « Histologie » de Alan STEVENS et James LOWE ; éd. L'édition Pradel « edisem » 1989

4.7.2 Allergie oculaire

Les allergies sont souvent associées à des pathologies de la surface oculaire et en particulier à la sécheresse oculaire. Au minimum, il est vraisemblable que l'absence de larmes augmente la concentration en allergènes dans l'œil, limite leur évacuation par les moyens naturels et accentue l'inflammation génératrice de l'allergie. Il semblerait aussi qu'un grand nombre de personnes souffrant d'œil sec soient particulièrement sensibles aux allergies et qu'il existerait parfois un lien avec des pathologies palpébrales^f telles que meibomite^g, blépharite^h, rosacéeⁱ, etc. Il est en tout cas certain que les allergies compliquent le diagnostic et les traitements de nombreuses pathologies de la surface oculaire⁴⁰.

Conjonctivite allergique⁴¹

La conjonctivite allergique est une réaction inflammatoire de la conjonctive, similaire à la rhinite allergique avec laquelle elle a des points communs et parfois des liens. Les yeux et les paupières peuvent alors devenir rouges et gonflés, avec gonflement de la conjonctive (chemosis), avec picotements, sensations de brûlure, démangeaisons et besoin de se frotter, et larmoiement. Il peut y avoir photophobie.



Dans son évolution elle donne un marquage plus foncé des contours des yeux ou des sécrétions de mucus importantes. Elle affecte peu la cornée. C'est la forme la plus fréquente et sans doute la

f/ pathologies palpébrales : qui se rapportent aux paupières.

g/ meibomite : inflammation des glandes de meibomius. Ces petites glandes se trouvent dans l'épaisseur de la paupière et fabriquent le meibum, une sorte de sébum qui est expulsé par les pores que l'on peut distinguer sur la surface de la paupière. Ce meibum est en fait la couche lipidique des larmes et permet d'éviter leur trop rapide évaporation. C'est une maladie grave provoquée les poussières par les conséquences qu'elle manque de moyens pour l'éradiquer. On retrouve assez fréquemment chez les patients atteints de meibomite, des débris de peau et de résidus qui s'accrochent aux cils. De près, les bords des paupières semblent grasse et quelquefois présentent de minuscules plaies accompagnées de croûtes. Causes : contacts avec des allergènes, troubles endocriniens (déséquilibres hormonaux), hormones d'origine médicamenteuse (œstrogènes, progestatifs), affections neurologiques, (comme la maladie de Parkinson).

h/ blépharite : démangeaisons, sensation de brûlure ou de corps étrangers, larmoiement et débris croûteux autour des cils. Parfois la blépharite s'accompagne d'une rougeur de l'œil. Les blonds semblent être les plus menacés. On ne peut pas toujours guérir la blépharite chronique, mais on peut la contrôler. Le nettoyage des paupières à la base des cils en frottant doucement avec un linge ou une compresse humectée d'eau tiède peut permettre d'éviter la formation de petites tumeurs enflammées.

i/ rosacée : la rosacée, également connue sous le nom de couperose, est caractérisée par l'apparition de rougeurs sur le visage. Dans plusieurs cas, la rosacée entraîne des complications au niveau des yeux, mais il est encore assez difficile de comprendre le mécanisme ainsi que les causes. Dans tous les cas, il s'agit d'une allergie, oculaire nous avons une de type I c'est-à-dire fort taux d'IgE dans la larme, avec libération d'histamine, de prostaglandines, de leucotriènes et kinines. Le corps (et l'œil en l'espèce) va ainsi réagir à ce qu'il va interpréter comme une agression (l'allergène : pollen, spores de moisissures par exemple) alors que pour la plupart des individus celui-ci ne provoquera aucune gêne.

moins grave d'allergie oculaire. On utilise le terme de kérato-conjonctivite allergique lorsque l'atteinte concerne également la cornée et pas seulement la conjonctive.

La conjonctivite perrannuelle qui dure toute l'année est souvent le résultat de la présence d'acariens ou de poils d'animaux au domicile du sujet allergique. Il s'agit le plus souvent d'une forme légère d'allergie et en quelque sorte une variante annuelle de la conjonctivite allergique (ci-dessus) avec laquelle elle partage la plupart des symptômes.

Mais il existe d'autres types d'allergies plus rares, plus spécifiques et surtout plus graves qui restent assez méconnues de la population générale. Il semble qu'elles combinent parfois un type de sensibilité de type I avec le type IV.

La conjonctivite vernale est une forme essentiellement masculine et infantile d'allergie (qui disparaît souvent au cours de l'adolescence). C'est une forme grave d'allergie oculaire puisqu'elle conduit parfois à des ulcérations qui comportent toujours un risque de perte visuelle importante et définitive. Ces ulcérations se situent souvent dans la partie supérieure de la cornée, et des papilles se forment sur la conjonctive notamment sur la paupière supérieure.

La conjonctivite atopique se retrouve essentiellement chez des sujets ayant un terrain atopique (eczéma, asthme et autres manifestations allergiques ; jusqu'à 40 % des patients ont des dermatites allergiques), surtout chez le sujet masculin de 30 à 50 ans. C'est une forme grave d'allergie qui conduit parfois à des ulcérations qui comportent toujours un risque de perte visuelle importante et définitive.

La conjonctivite giganto-papillaire est souvent associée au port de lentilles de contact (ou à la présence d'un autre corps étranger dans l'œil) et, parfois peut être liée avec les conservateurs contenus dans les solutions de décontamination des lentilles. Elle provoque d'énormes papilles sur les paupières (surtout supérieures).



Meibomite

Blépharite

Rosacée

4.7.3 Infections oculaires fongiques

On peut les classer suivant leur localisation

- Conjonctivite : inflammation de la conjonctive.
- Blépharite : inflammation aiguë ou chronique du bord de la paupière.
- Kératite de la cornée : épaissement pathologique de la cornée.
- Infections oculaires internes : l'infection peut se propager dans la partie vitreuse interne de l'œil, sur la rétine, aux vaisseaux sanguins et à la choroïde et même atteindre les nerfs optiques dans les cas les plus graves de l'infection.

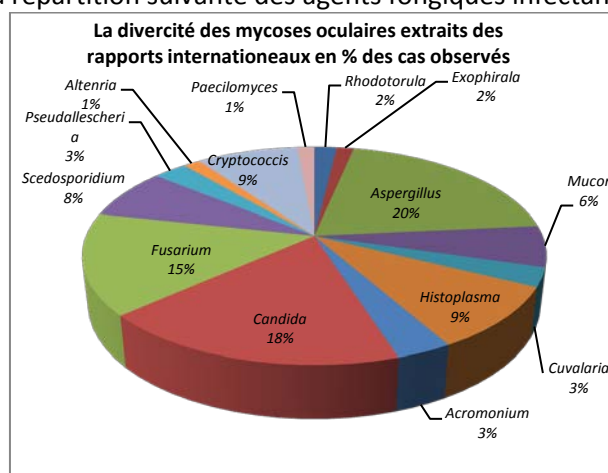
4.7.3.1 Problèmes des infections oculaires

Suivant leur étiologie, la part de l'allergie ou de l'infection est souvent difficile à définir car une allergie peut devenir un terrain favorable à l'infection.

Vu la spécificité du milieu karstique, nous orienterons nos observations vers les contaminations fongiques spécifiques à ce milieu. Les contaminations fongiques de l'œil ont été souvent observées dans les cas suivants :

- port de lentilles de contact ;
- traitements par laser sur l'œil ;
- suite d'interventions chirurgicales sur les yeux pouvant se révéler plusieurs semaines ou mois après l'intervention ;
- diabète ;
- déficiences immunitaires, traitement anticancéreux (chimiothérapie ou radiothérapie).
- grossesse ;
- corticothérapie ou antibiothérapies au long cours (les antibiotiques favorisent le développement de la flore fongique) ;
- sinusites fongiques pouvant entraîner des mycétomes oculaires.

La diversité des observations d'infections fongiques des yeux sur 150 observations cliniques au niveau mondial donne la répartition suivante des agents fongiques infectants :



Nous pouvons constater que les mycétomes les plus importants sont dus aux *Aspergillus* avec le *fumigatus* et le *flavus*, aux *Candida*, aux *Fusarium*, aux *Histoplasma* et aux *Cryptococcus*.

4.7.3.2 Aspergillose oculaire

Les *Aspergillus* sont ubiquitaires et provoquent surtout des infections de l'appareil respiratoire. *Aspergillus fumigatus* semble être l'espèce la plus pathogène. D'autres espèces sont plus rarement incriminées : *A. niger*, *A. nidulans*, *A. flavus*, *A. versicolor*. L'otite externe aspergillaire s'accompagne souvent d'une atteinte unguéale. L'aspergillose invasive est redoutable chez les patients immunodéprimés, en particulier ceux présentant une neutropénie, et à partir d'un envahissement mycélien diffus pulmonaire tous les autres organes peuvent être atteints. Le diagnostic mycologique est basé sur la recherche de filaments mycéliens dans les différents échantillons, sur la mise en culture ou sur la détection d'antigènes spécifiques. Les thérapeutiques antifongiques (amphotéricine B, itraconazole...) s'avèrent décevantes tant que persiste la dépression immunitaire.

4.7.3.3 Histoplasmosse oculaire

Cette affection est très répandue dans le monde entier. L'histoplasmosse est beaucoup plus présente aux États-Unis d'Amérique qu'au Canada.

Étiologie

Chez un petit nombre de personnes atteintes, le champignon migre vers la rétine quelques années ou décennies plus tard. Une fois installé, il endommage la rétine, tout particulièrement la macula¹. Les symptômes et la dégradation rétinienne qui s'ensuivent sont très similaires à ceux de la dégénérescence maculaire. Il peut conduire à la destruction de la partie centrale du champ visuel. Bien qu'une très faible minorité seulement de personnes atteintes d'histoplasmose voit leur état évoluer vers le SOH (Syndrome Oculaire de l'Histoplasmose), le champignon est si répandu que le SOH est une cause infectieuse importante à l'origine des cas de cécité reconnue chez les américains de 20 à 40 ans⁴². Le nombre de cas de kératite à *Fusarium* — un champignon récemment impliqué dans des cas d'infections oculaires chez les porteurs de lentilles — est en forte progression, selon une étude diffusée sur le site des *Archives of Ophthalmology*.

4.7.4 Diagnostic général des mycoses oculaires

Dans la majorité des cas, il est pratiqué un prélèvement de la surface cornéenne et un examen histologique, qui permettent de mettre en évidence les hyphes avec endospores (suspicion de fongiques). La culture doit se faire sur un des milieux suivants :

- Sabouraud avec et sans actidione ;
- Milieu OGA (avec auréomycine ou chlorotétracycline) à 35 mg/ml ;
- Milieu de Littmann avec ajout dans le milieu de 300 à 500 µg de streptomycine.

Mais pour la caractérisation définitive, on réalise une coloration par immunofluorescence (si elle existe) suivie d'un examen microscopique pour la détermination phénotypique du fongique ou éventuellement mise en galerie API fongiques (levures) ou une sérologie test ELISA (elle existe pour l'identification des mycotoxines).

Non utilisées en routine, cependant ces techniques peuvent avoir un grand intérêt en taxonomie et en épidémiologie. La sérologie peut être réalisée : IEP, ES, ELISA, IFI... Les techniques, de diffusion en milieu gélatiné, sont les plus utilisées. Il faut au minimum quatre arcs de précipitation pour affirmer une aspergillose évolutive ou la présence d'une activité catalasique ou chymotrypsique. Les antigènes utilisés pour les réactions sérologiques sont somatiques ou métaboliques. Recherche de galactomannanes ou de glycoprotéines, test très spécifique mais peu sensible (50 %). Positivité tardive au test. Peut rendre de grands services dans l'aspergillose pulmonaire invasive. Recherche du pouvoir pathogène pour certaines souches.

4.7.5 Synthèse des données de la littérature mondiale sur le traitement des affections oculaires d'origine fongique

Ce tableau n'a aucune valeur de conseil thérapeutique.

Types de fongiques	Causes favorisantes	Symptômes observés	Traitements
Aspergillose <ul style="list-style-type: none"> • <i>A. fumigatus</i> • <i>A. flavus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Chirurgie secondaire • Chirurgie laser • Sinusites fongiques • Immunodéficience • Corps étrangers • Chirurgie de la 	<ul style="list-style-type: none"> • Douleur interne de l'œil • Rougeur • Cataracte fongique • Baisse de la vision • Infiltration cornéenne 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>A. fumigatus</i> (Topique) <ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B 0,15 % • <i>A. flavus</i> <ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B intra-vitreuse • Infiltration dans les lamelles cornéennes.

j/ macula : surface ovale à grand axe horizontal, située sur la rétine, du côté temporal du nerf optique. Le centre *macula lutea* ou *fovea centralis* ne contient pas de vaisseaux et contient uniquement des cônes rétiniens, c'est à ce niveau que les impressions visuelles ont leur maximum de précision.

	<ul style="list-style-type: none"> cataracte Lentilles de contact 	<ul style="list-style-type: none"> Kérato-conjonctivite Ulcération et hypopyon^k Abcès fongiques 	<p>Autres cas</p> <ul style="list-style-type: none"> Amphotéricine B (voie orale) Natamycine (topique 5% & orale) Itraconazole
Mucor	<ul style="list-style-type: none"> Immunodéficience HIV et SIDA Corps étrangers 	<ul style="list-style-type: none"> Syndromes orbitaux neurologiques Affections rhino-orbitales et cérébrales 	<ul style="list-style-type: none"> Amphotéricine B Chirurgie + agents antifongiques
Cuvularia	<ul style="list-style-type: none"> Id. <i>Aspergillus</i> Terrassiers Chirurgie par laser 	<ul style="list-style-type: none"> Kératite mycosique Infection de la cornée Endophthalmitie pseudo-pathique Masse pelucheuse dans la chambre intérieure 	<p>Voie topique</p> <ul style="list-style-type: none"> Amphotéricine B (0,15%) <p>Voie générale</p> <ul style="list-style-type: none"> Miconazole Itraconazole Kétoconazole
Histoplasmosse	<ul style="list-style-type: none"> Id. <i>Aspergillus</i> Grossesse Diabète HIV et SIDA Leucopénie Anticancéreux 	<ul style="list-style-type: none"> Néovascularisation de la choroïde Myopie pathologique Endophthalmies bilatérales endogènes Exsudation sous-rétinienne Granulome choroïdien Hémorragie intra-rétinienne Décollement rétinien 	<p>En cas de grossesse</p> <ul style="list-style-type: none"> Photo-coagulation Thérapie photo-dynamique à la vertéporfine (intra-vitreuse) <p>Autres cas</p> <ul style="list-style-type: none"> Itraconazole Amphotéricine B (IV) Vitrectomie pour les personnes immunodéficientes
Candida	<ul style="list-style-type: none"> Id. <i>Aspergillus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Amaigrissement Brume vitreuse Particules gélatineuses blanches dans le corps vitré. Lésion choroïdo-rétinienne Cataracte Lésions choroïdo-rétinienne 	<p>Traitement</p> <ul style="list-style-type: none"> Miconazole Natamycine Itraconazole Voriconazole Fluconazole Amphotéricine B (I.V.) <p>Éventuellement</p> <ul style="list-style-type: none"> Vitrectomie <p>Injection intra-vitréale et voie orale</p> <ul style="list-style-type: none"> Fluconazole
Fusarium	<ul style="list-style-type: none"> Id. <i>Aspergillus</i> Lentilles de contact Chirurgie de la cataracte 	<ul style="list-style-type: none"> Douleurs oculaires Kératite Hémorragie sous-conjonctivale Larmolement Ulcère de la cornée Perforation cornéenne 	<p>Lésions légères de la cornée (antifongiques topiques)</p> <ul style="list-style-type: none"> Natamycine Amphotéricine B (0,42 %) (Antifongique orale) Amphotéricine B Kétoconazole Natamycine Itraconazole

k/ hypopyon : pus situé dans la partie inférieure de la chambre antérieure de l'œil dont le niveau change d'inclinaison suivant le mouvement de tête.

			Lésions profondes (action chirurgicale avec traitement) <ul style="list-style-type: none"> • Clotrimazole (diluée) • Miconazole • Kétronazole • Natamycine • Amphotéricine (ABCL)
Cryptococcus	Id. <i>Aspergillus</i> <ul style="list-style-type: none"> • Immunité acquise insuffisante • HIV et SIDA 	<ul style="list-style-type: none"> • Inflammation de l'iris • Cataracte avec phacoémulsion • Lésions sous-rétiniennes • Ulcération sclérale • Parésie supérieure du nerf oculomoteur (méningite cryptococcique) • Affection sous-arachnoïdienne (Nerf crânien - III). Perte visuelle grave. 	Lésions légères (en topique) <ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B • Fluconazole Lésions profondes (Injection intra-vitréale) <ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B • Itraconazole Cas particulier (Traitement sous rétinien) <ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B (Traitement oral) • Flucytosine Cas de méningite <ul style="list-style-type: none"> • Ceftazidime • Vancomycine
Acremonium	<ul style="list-style-type: none"> • Corps étrangers végétaux • Corticothérapie et antibiothérapie 	<ul style="list-style-type: none"> • Rougeur, irritation de l'œil • Endophthalite • Scléro-kératite récessive 	<ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B • Iridectomie
Scedosporium	<ul style="list-style-type: none"> • Corticothérapie pour conjonctivites allergiques • Traitement au laser pour la myopie • Leucémie myéloïde aigüe et neutropénie 	<ul style="list-style-type: none"> • Douleurs, rougeur • Baisse rapide de l'acuité visuelle • Kératite filamenteuse • Ulcère de la cornée • Lymphadénites • Cas mortel : rétino-nécrose hémorragique 	<ul style="list-style-type: none"> • Natamycine • Kétronazole • Itraconazole (traitement prolongé) Résistance aux traitements : <ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B • Fuconazole
Alternaria	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement au Laser • Corps étranger 	<ul style="list-style-type: none"> • Infection de la cornée 	<ul style="list-style-type: none"> • Kératoplastie pénétrante (greffe de cornée) • Voriconazole • Amphotéricine B (topique)
Rhodotorula	<ul style="list-style-type: none"> • Greffe de la cornée 	<ul style="list-style-type: none"> • Abscess de la cornée • Hypopyon 	<ul style="list-style-type: none"> • Amphotéricine B

GLOSSAIRE THERAPEUTIQUE

Amphotéricine B (Fungizone[®]): antibiotique antifongique de la famille des polyènes, extrait de *Streptomyces nodosus*, ayant une activité contre les germes responsables de mycoses systémiques suivants : *Candida albicans*, *Rhodotorula* - *Aspergillus fumigatus* - *Cryptococcus neoformans* - *Mucor mucedo*, *Absidia*, *Rhizopus* - *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis* - *Sporothrix schenckii* dans la sporotrichose disséminée - *Coccidioïdes immitis*. Par contre il a une activité faible ou relative (variable) contre : *Candida* non *albicans*, en particulier *parapsilosis* - *Aspergillus fumigatus* dans l'aspergillome - *Conidiobolus* - *Basidiobolus* - *Sporothrix schenckii* dans la sporotrichose lympho-cutanée - *Coccidioïdes immitis* dans les atteintes pulmonaires diffuses.

Natamycine ou **Pimaricin** ou **E235** ou **Natacyn** : antibiotique naturel produit par la bactérie *Streptomyces natalensis*. C'est un fongicide qui est synthétisé par l'industrie pharmaceutique et utilisé aussi comme additif alimentaire. C'est un macrolide polyène utilisé comme médicament notamment contre les kératites et spécialement les infections de la cornée dues à des *Aspergillus* ou *Fusarium*. La natamycine est utilisée pour soigner les infections fongiques dont *Candida*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Fusarium* et *Penicillium*, sous forme de crème, collyre pour les yeux ou comprimés (infections orales). Administrées sous ces formes elle semble peu pénétrer dans l'organisme⁴³. Sous forme orale une partie est absorbée dans le tractus gastro-intestinal.

Miconazole (Daktarin[®], Monistat[®]) : le nitrate de miconazole est un dérivé imidazolé doué d'une activité antifongique et antibactérienne utilisé sous sa forme topique. Différent de celui des antibiotiques, le mécanisme d'action se situe aux niveaux membranaire (augmentation de la perméabilité), cytoplasmique (inhibition des processus oxydatifs au niveau des mitochondries) et nucléaire (inhibition de la synthèse de l'ARN). Il est actif sur : *Corynebacterium minutissimum* (érythrasma), actinomycètes. Comme antifongique en inhibant la biosynthèse de l'ergostérol dans la membrane cellulaire de l'organisme pathogène. À faible concentration, il interagit avec le cytochrome P₄₅₀ fongique, ce qui entraîne une inhibition de la 14-alpha-déméthylation, une étape de la biosynthèse de l'ergostérol. L'activité antifongique est active sur les mycoses cutanéomuqueuses : dermatophytes (*trichophyton*, *epidermophyton*, *microsporum*) ; candida et autres levures ; *Malassezia furfur* (agent du *Pityriasis capitis* et du *Pityriasis versicolor*).

Itraconazole (Sporanox[®]) : triazole synthétique à large spectre, actif contre les mycoses, en particulier celles provoquées par les dermatophytes et mycoses systémiques (aspergillose, candidose, histoplasmose). Les triazoles interfèrent, comme les imidazolés, avec la synthèse de l'ergostérol dépendante du cytochrome P₄₅₀, et altèrent ainsi la membrane fongique. L'itraconazole est bien résorbé oralement et se lie facilement aux protéines plasmatiques. Des concentrations cutanées importantes et soutenues sont enregistrées en cours de traitement. L'élimination se fait principalement par les fèces. Les effets indésirables possibles sont les suivants : vomissements, diarrhée, anorexie, ptialisme, dépression et apathie. Les concentrations plasmatiques de certains médicaments peuvent être modifiées en raison de l'interaction possible entre l'itraconazole et le cytochrome P₄₅₀.

Kétoconazole : de la classe des imidazoles. En 2013, l'Agence européenne des médicaments recommande la suspension de l'autorisation de la commercialisation de la forme orale devant les risques hépatiques². Il inhibe la synthèse de l'ergostérol, molécule constitutive de la membrane fongique. Effets secondaires et contre-indications : c'est l'imidazole donnant le plus d'insuffisance hépatique aiguë. Ce médicament ne doit pas être utilisé en cas d'allergie aux antifongiques de la famille des imidazolés. Grossesse : les substances contenues dans ce gel sont peu absorbées par la peau, néanmoins son utilisation est déconseillée pendant les trois premiers mois de la grossesse sans avis médical. Utilisé pour traiter la teigne, la candidose et le pityriasis versicolor.

Voriconazole (VFEND[®]) : antifongique triazolé à large spectre, indiqué chez les adultes et les enfants âgés de 2 ans et plus dans les indications suivantes : traitement des aspergilloses invasives, des candidémies chez les patients non neutropéniques, des infections invasives graves à *Candida* (y compris *C. krusei*) résistant au fluconazole, infections fongiques graves à *Scedosporium spp*, ou *Fusarium spp*. VFEND[®] doit être principalement administré aux patients, atteints d'infections évolutives, pouvant menacer le pronostic vital.

Fluconazole (Triflucan[®]) : médicament antifongique systémique, apparenté à la famille des imidazolés indiqué dans le traitement des candidoses cutanéomuqueuses et dans les mycoses liées au SIDA. Contre-indications, précautions : allergie aux imidazolés, association avec le cisapride ou le pimozide, l'halfan, la

grossesse et l'allaitement. Traitement des mycoses causées par *Candida*, *Cryptococci* et autres levures sensibles, en particulier les candidoses systémiques (incluant les candidoses disséminées et profondes et les péritonites) ; les candidoses muqueuses graves (incluant les candidoses oropharyngées, oesophagiennes et broncho-pulmonaires non invasives), lorsque le traitement par voie orale est impossible et les méningites à cryptocoques. Prophylaxie contre les infections profondes à *Candida* (particulièrement ***Candida albicans***) chez les patients exposés à une neutropénie due à une greffe de moelle osseuse.

Thérapie photo-dynamique à la vertéporfine (intra-vitreuse) : Cette thérapie photodynamique s'adresse aux formes exsudatives, notamment rétrofovéolaires, visibles ou occultes, alors que la photothérapie laser ne permet de traiter que les néovaisseaux visibles. Elle comporte deux étapes :

- une perfusion intraveineuse lente pendant dix minutes de vertéporfine ;
- la photo-illumination, pendant 83 secondes, par une énergie lumineuse de faible intensité, cinq minutes après la fin de la perfusion, qui active la vertéporfine sur ses sites de concentration. La vertéporfine présente au niveau de son spectre d'absorption, un pic à 690 nm. Le laser doit émettre à la longueur d'onde correspondante. Ceci provoque une réaction photochimique entraînant la libération de radicaux libres qui vont oxyder les composants tissulaires organiques et engendrer des thromboses des néovaisseaux choroïdiens. La vertéporfine est le photosensibilisant utilisé en pratique clinique courante actuellement.
- **Clotrimazole :** antimycosique utilisé couramment dans le traitement des mycoses chez l'Homme telles les candidoses, les dermatophytoses. Il fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'OMS (liste mise à jour en avril 2013⁴⁴). Parmi les effets secondaires des formes orales, on compte les démangeaisons, la nausée et les vomissements. Plus de 10 % des patients prenant du Clotrimazole par voie orale sont susceptibles de présenter des tests de fonctionnement hépatique anormaux. Il est par conséquent recommandé de réaliser un suivi périodique des tests de fonctionnement hépatique chez ces patients.

4.8 PROTECTION DANS LE CADRE D'EXPLORATION SPÉLÉOLOGIQUE

Dans les activités spéléologiques, il serait conseillé de mettre des lunettes de protection dans les activités de désobstruction afin d'éviter la projection de corps étrangers dans les yeux. Il en est de même pour les personnes diabétiques ou les personnes ayant subies dans les semaines ou les mois précédents des interventions chirurgicales ou du laser oculaire ou portant des lentilles. Pour les personnes qui ont des insuffisances lacrymales, il est conseillé d'utiliser des larmes artificielles.

Ces observations sont d'autant plus importantes que l'on a affaire à des grottes chaudes ou à des régions avec des endémies possibles d'histoplasmosse ou de cryptococcidiose.

Dans le cadre du canyonisme le port des lunettes de natation serait fortement conseillé étant donné que l'eau des rivières peut être source de pollutions diverses.

4.9 MALADIE FONGIQUE HUMAINE

Parmi plus de 100 000 espèces de fongiques connues à ce jour, seulement 200 espèces de moisissures ont fait l'objet d'études de leur pathogénicité. La veille continue dans le recensement des espèces mycosiques pathogènes a une importance thérapeutique, compte tenu de l'utilisation intensive et parfois abusive d'antibiotiques dans notre vie courante favorisant la diminution de la flore microbienne et en conséquence le développement fongique (déséquilibre microbiologique).

4.10 EMBRANCHEMENT *PROTISTA*

Le terme protiste, créé par Ernst Haeckel, désigne les eucaryotes autres que les animaux (*Métazoaires*), les champignons (*Eumycètes*) et les plantes (des *Embryophytes* aux *Archaeplastida* selon les définitions). Ce groupe est très hétérogène, tant du point de vue anatomique que physiologique. Il réunit des organismes à organisation cellulaire dite simple, unicellulaires le plus souvent, multicellulaires parfois mais sans tissus spécialisés. Certains sont autotrophes (par exemple les micro-algues), d'autres sont hétérotrophes (par exemple les protozoaires se nourrissant de micro-algues).

4.10.1 Les protistes et les algues dans les sols

Les algues ont beaucoup de caractères morphologiques qui les rapprochent des champignons. Ainsi les botanistes ont-ils été souvent tentés d'établir des rapports de filiation entre les deux embranchements. Elles diffèrent des champignons par la présence de pigments permettant l'absorption du gaz carbonique de l'air pour leur fonction énergétique. Ces pigments sont les chlorophylles dont la couleur verte est souvent masquée par d'autres pigments colorés donnant des thalles de couleur jaunâtre, brune, rouge ou bleue. Généralement les algues sont des microorganismes aquatiques, cependant beaucoup se contentent d'un peu d'humidité et résistent à des dessiccations prolongées, aussi les rencontre-t-on dans les sols.

Phytoplancton

Le phytoplancton est capable de synthétiser sa propre substance en utilisant l'énergie lumineuse. Il forme ainsi de la substance organique à partir du CO₂ et d'éléments minéraux. Son importance est grande dans l'écologie. Parmi les algues du phytoplancton deux groupes dominent nettement, les Diatomées et les Péridiniens.

➤ Les diatomées planctoniques

Ce sont des algues unicellulaires, souvent en colonies, Les diatomées sont protégées par une petite coque imprégnée de silice, la frustule, dont les deux parties ou valves s'emboîtent l'une dans l'autre. Il existe deux grands groupes de diatomées qui sont les Pennées et les Centriques. Dans les premières la frustule est plus ou moins allongée suivant un axe parallèle au plan de séparation des valves. Dans la seconde au contraire, les frustules sont circulaires, ou si elles s'allongent c'est suivant un axe perpendiculaire au plan de séparation. Les Pennées vivent dans les grands fonds marins avec une lumière limitée. Les Centriques sont plus abondants que ces derniers ; les plus connus dans cette



catégorie sont les *Coscinodiscus* qui se présentent comme de petites boîtes rondes. Les frustules peuvent se réunir par des filaments siliceux, formant des guirlandes.

Genre *Coscinodiscus* ; Division *Bacillariophytes* ; Classe *Coscinodiscophyceae*



Espèce *Coscinodiscus wailesii*

Ils sont cylindriques ou tympaniformes, avec un axe qui a une hauteur variant d'environ la moitié de toute la longueur du diamètre. La cellule est circulaire et les cellules ont de nombreux petits chloroplastes.



Famille Thalassionemataceae

Très longues cellules qui peuvent être solitaires ou en forme de colonies rayonnantes. Les cellules peuvent être droites, légèrement courbées ou sigmoïdes. Peut être confondue avec *Thalassionema*.

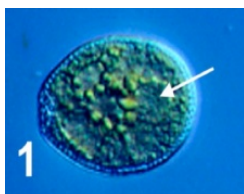
Taille des cellules : axe apical de 530 à 4 000 μm et largeur de 2,5 à 6 μm .

Distribution : largement répandu dans tous les océans du monde.

➤ Les Péridiniens planctoniques

Les péridiniens appartiennent au grand groupe des planctons flagellés ; ceux-ci au nombre de deux sont dissemblables, l'un ondulant longitudinalement vers l'arrière, l'autre ceinturant la cellule. Au niveau de ces flagelles des sillons marquent la paroi du péridinien, souvent revêtue d'une thèque. Chez les péridiniens nous trouvons également des formes dont le pigment des chromatophores et parfois les chromatophores eux-mêmes disparaissent ; la nutrition ne s'opère plus par la photosynthèse comme dans les plantes mais par l'absorption de petites proies ; nous avons là une transition du végétal à l'animal.

Genre *Prorocentrum* ; Division *Dinophyta* ; Classe *Dinophyceae* ; Ordre *Prorocentrales*



Modification de l'image de Florida Fish & Wildlife Research Institute.

Espèce *Prorocentrum lima*

Il est très commun dans le monde subtropical, mais peut se retrouver dans des endroits tempérés froids tels que le Canada et le nord de la côte est américaine (Maranda and al. 2007) et la côte de la Norvège (Thronsdén and al. 2007). Sa présence dans le plancton doit être considérée comme fortuite.

Morphologie : cette espèce varie considérablement en taille, mais aussi en forme ; 31-57 μm de longueur ; 20-46 μm de large.

Règne *Chromista* ; Embranchement *Ochrophyta* ; Division *Bacillariophyta*

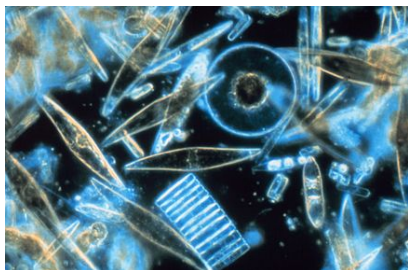
- *Bacillariophyceae*
- *Fragilariophyceae*
- *Coscinodiscophyceae*

Les *Bacillariophyceae* (ou *Diatomophyceae*) forment une classe des algues. Ce sont des micro-algues unicellulaires planctoniques des eaux douces et marines (de 3 μm à 1 mm) appartenant aux diatomées. Classiquement, on distinguait parmi les *Bacillariophyceae* deux ordres :

- l'ordre des *Centrales* à symétrie radiale ;
- l'ordre des *Pennales* à symétrie bilatérale.

Une classification plus récente divise les diatomées en trois classes :

- les diatomées centriques (*Coscinodiscophyceae*) ;
- les diatomées pennées ;
 - sans raphé^a (*Fragilariophyceae*) ;
 - avec un raphé (*Bacillariophyceae*).



Diatomées unicellulaire microscopique ou algue d'eau douce ayant des parois cellulaires imprégnées de silice

Bacillariophyceae

Pour la plupart des algues eucaryotes d'eau douce, la chlorophylle est masquée par un pigment brun ou jaune ou jaune-vert et brun doré pour certaines algues et diatomées : Xanthophycées, Chrysophyceae, Bacillariophyceae.

Les algues du sol comme toutes les algues d'eau douce, se développent facilement en milieux artificiels très peu minéralisés, à la lumière tamisée et en milieu contenant une quantité infime de matières organiques. Ceci se comprend aisément puisque la chlorophylle, sous l'action de la lumière, est capable de synthétiser des hydrates de carbones, donc de la matière organique. Ce qui semble paradoxal est l'existence de ces végétaux, naturellement aquatiques, dans le sol— milieu assez sec et sans lumière—, surtout lorsqu'ils se trouvent à une certaine profondeur. Il semble que dans le sol la fonction chlorophyllienne cesse de s'exercer, et qu'ils se nourrissent comme les autres organismes du sol des matières organiques qui sont à proximité. Dangeard a pu cultiver une micro-algue en absence de lumière en lui fournissant des hydrates de carbone.

La physiologie des algues est difficile à étudier, en effet on trouve d'une façon presque constante une gaine mucilagineuse qui les entoure, composée de bactéries. Les transformations chimiques produites par les algues interfèrent avec celles des bactéries associées et il est difficile de faire le partage entre les rôles respectifs.

Il n'existe pas de bonne taxonomie des algues du sol. Elles sont dans tous les sols, même les plus secs comme dans le sable du Sahara. Elles sont plus nombreuses à la surface et leur abondance décroît en profondeur. Certaines algues jouent un rôle dans la fixation de l'azote de l'air. Par leurs excréments, elles jouent un rôle dans l'activité bactérienne du sol.

Dans les sols on trouve :

➤ Règne *Chromista* ; Embranchement *Ochrophyta* ; Famille *Phaeophyceae*

Les **algues brunes** : ce sont des algues qui utilisent comme pigment collecteur de lumière, de la chlorophylle c, plus un pigment brun, la fucoxantine. Il existe 1 500 espèces de *Phaeophyceae*, elles représentent les algues les plus abondantes des mers tempérées et froides. Dans le sol on a une algue filamenteuse ramifiée microscopique, cycle isomorphe, fécondation par isogamie, pyrénioïde (dans les chloroplastes). Gamètes mâles et spores possédant des flagelles. Exemple : *Ectocarpus*.

➤ Règne *Plantae* ; Embranchement *Rhodophytina* Sous Embranchement *Eurhodophytina* ; Classe *Bangiphyceae*

Elles sont considérées comme des **algues rouges**. Ces algues ont un cycle de vie di-génétique, avec une alternance entre un gamétophyte de dimensions macroscopiques portant des organes sexuels

^a **raphé** (issu du grec [*raphè*], couture) : désigne la ligne réunissant les fibres constituant les tissus de deux structures anatomiques symétriques.



produits en paquets, et un sporophyte filamenteux qui forme des concho-spores localisées dans des rangs de cellules spécialisées.

4.10.2 Division *Oomyceta*

Embranchement *Chromalveolata* ; Phylum *Heterokontophyta*

Les ordres :

- *Lagenidiales*
- *Rhipidiales*
- *Leptomitales*
- *Saprolégnales*

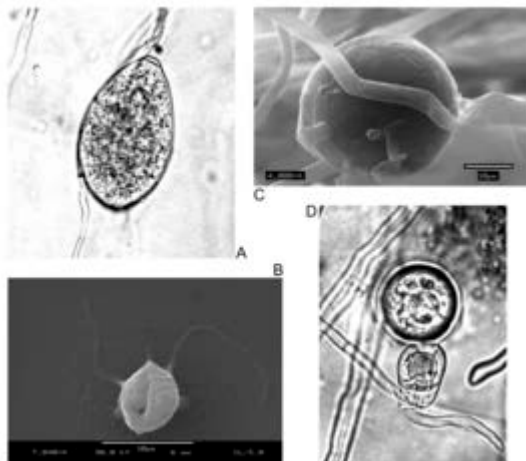
Les *Chromalveolata* réunissent les *Alveoles* et les *Chromistes* dans un taxon dont le caractère monophylétique est contesté. Sa compréhension dépend de l'analyse qu'on a de la ou des endosymbioses chloroplastiques. Les *Chromistes* ont été élevés au rang de règne par T. Cavalier-Smith et on les distingue donc des autres protistes ainsi que des algues. Le groupe pourrait être proche des *Plantes* ou des *Rhizaria*.

Les *Chromalveolata* seront scindés en deux règnes distincts⁴⁵ :

- l'un regroupant les ex-*Chromistes* sans les *Straménopiles* (nommé *Hacrobia*).
- l'autre regroupant les *Alvéolés*, les *Rhizaires* et les *Straménopiles* (groupe « S.A.R »).

Oomycota ou *Oomycetes* forment une lignée phylogénétique des eucaryotes. Ils sont filamenteux, possèdent des organismes de reproduction qui leur permettent de se reproduire sexuellement et asexuellement. *Oomycetes* occupent des modes de vie saprophytes et pathogènes et comprennent des agents pathogènes pour les plantes, provoquant des maladies dévastatrices telles que le mildiou, la mort subite du chêne.

Souvent appelés moisissure de l'eau ils sont cependant des agents pathogènes terrestres. Les *Oomycota* ont été trouvés et décrits sous une forme fossile très clairsemée dans de l'ambre du Crétacé.



Structures reproductrices de *Phytophthora infectans*

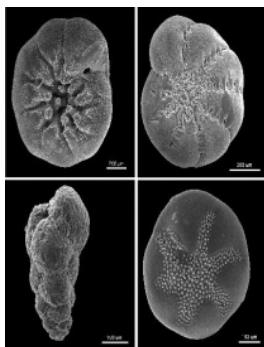
Les oomycètes ont rarement des cloisons, et s'ils en ont, elles sont rares, et elles apparaissent à la base des sporanges et parfois dans les parties les plus anciennes des filaments. Certains sont unicellulaires, mais d'autres sont filamenteux et ramifiés.

4.10.3 Protistes trouvés dans le gouffre de la Sambuy

Dans les résultats des identifications faites sur ARNr 18s du gouffre de la Sambuy, nous avons observé par des gènes clonés que 70 % des eucaryotes sont des protistes du nom *Cercozoa* et *Rhizaria*.

4.10.3.1 Genre *Rhizaria* ; Règne *Chromaveolata* Division *Rhizaria* ; Ordre *Stramenopiles*

Genre *Rhizaria*



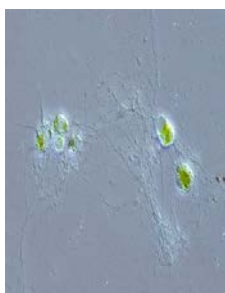
Les Rhizaires aussi appelés Rhizariens (ou Rhizaria) sont un groupe d'organismes eucaryotes, le plus souvent unicellulaires⁴⁶. Leur positionnement a été hésitant puisqu'on les a présentés comme groupe frère des Excavata puis des Stramenopiles (ou plus précisément les Halvaria).

Selon ce dernier point de vue il s'agit d'une division, non plus des chromistes, mais du nouveau groupe « SAR »⁴⁷. Ils varient considérablement en forme, mais la plupart du temps ils sont amiboïdes avec des réticuloses, ou soutenu par des microtubules pseudopodes. Beaucoup produisent des coquilles ou des squelettes, qui peuvent être de structures assez complexes, et ceux-ci forment la grande majorité des fossiles de protozoaires. Presque tous ont des mitochondries avec des crêtes tubulaires.

Pathologie

Pas de pathologie signalée à ce jour.

4.10.3.2 Genre *Cercozoa*



Genre *Cercozoa*

Les Cercozoa sont un groupe de rhizaires comprenant la plupart des protozoaires amiboïdes ou flagellés qui se nourrissent par des pseudopodes fileux (filopode). La plupart sont hétérotrophes mais ne disposent pas de vrai cytostome (bouche). Ils vivent dans les sols, où ils sont les plus nombreux des eucaryotes, en mer ou en eau douce. Certains sont devenus photosynthétiques en assimilant une algue verte. Ils se sont diversifiés en un grand nombre de lignées de formes diverses⁴⁸.

Pathologie

Pas de pathologie humaine signalée à ce jour.

Dans le gouffre de la Sambuy, par analyse des eucaryotes il a été trouvé également les autres protistes suivants : *Alveolata Apicomplexa* pour environ 2 % et *Alveolata Complexa* pour environ 3 %.

4.10.3.3 Genre *Alveolata* ; Règne *Plantae* Classe *Chromalveolata* ; Ordre *Stamenophiles*

Trois espèces :

- *A. Ciliophora*
- *A. Dinoflagellata*
- *A. Apicomplexa*



Alvéolés (Alveolata) ou Alvéolobiontes



Constitués d'organismes unicellulaires de formes assez diverses. La monophylie du groupe est basée essentiellement sur l'étude des ARNr 18s. Il existe cependant un caractère qui leur est propre : la présence de vésicules sous-membranaires — les alvéoles (d'où ce taxon tire son nom) —, largement distribuées et pouvant servir de réservoir calcique ou contenir un matériel dense comme les plaques thécales des dinophytes.

Les plus anciens fossiles d'Alvéolobiontes connus sont des dinophytes du Silurien (-420 Ma).

Le groupe des Alvéolobiontes rassemble :

- Les *Ciliés*, avec plus de 7 000 espèces, comme la paramécie ou le stentor.
- Les *Dinophytes*, organismes unicellulaires autotrophes par endosymbiose d'une algue verte.
- Les *Apicomplexes*, des protistes parasites responsables de maladies comme le paludisme chez les animaux plus complexes. Ils sont dépourvus d'appareil locomoteur.

À noter : les foraminifères sont maintenant rattachés aux *Rhizaria*.

Pathogénicité

Animale, reste à vérifier sur l'Homme.



CHAPITRE 5

RISQUES MICROBIOLOGIQUES AQUATIQUES ET L'EAU DANS LE KARST

5.1 ALIMENTATION EN EAU DANS LE SYSTÈME KARSTIQUE

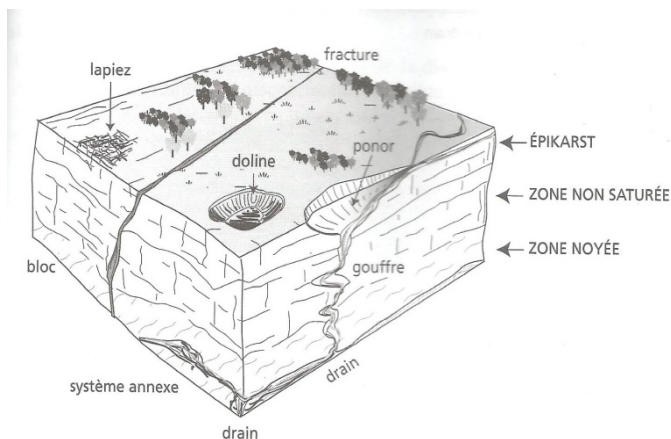
Connaître le fonctionnement des nappes souterraines, leur genèse et l'origine des eaux qui les alimentent, est un aspect fondamental du système karstique. Le karst est un milieu particulier défini par l'ensemble des formes superficielles et souterraines engendrées par la dissolution de certaines roches, notamment carbonatées, dans le cadre d'une évolution géomorphologie que l'on appelle la karstification.

Le phénomène de karstification ne peut se produire que dans des roches dont les minéraux sont solubles, soit dans de l'eau pure (le gypse), soit dans de l'eau rendue agressive par l'adjonction naturelle d'acides forts (les oxyde des sulfures métalliques, l'hydrogène sulfuré du volcanisme ou des gisements pétroliers), soit dans la grande majorité des cas par dissolution due à un acide faible, l'acide carbonique (CO_3H_2) dissout dans l'eau. L'acide carbonique peut provenir des sources hydrothermales venues des profondeurs, de la couverture végétales de l'épikarst (le CO_2 secrété par les racines des plantes permet la dissolution des minéraux qui alimentent les plantes) ou par la décomposition des acides organiques naturelles (humiques ou fulviques) qui peut fournir jusqu'à 30 % des hydrocarbonates de l'eau, ainsi que celle de la matière organique anthropique, carbone organique de pollution issu des eaux usées, des effluents d'élevage ou des épandages d'engrais. Pour que la dissolution puisse se faire, il est nécessaire qu'elle opère sur des discontinuités préexistantes de la morphologie (joints de stratification, diaclases, failles) qui permettent le drainage souterrain de l'eau et des résidus insolubles de la dissolution (argiles, silicates).

La karstification est donc un processus évolutif qui accroît la perméabilité du massif tant que celui-ci reste capable d'éliminer ses insolubles. La vitesse d'évolution est fonction de l'état de sous-saturation de la solution vis-à-vis des minéraux constitutifs de l'aquifère, mais avant tout, de la solubilité de ces minéraux et des flux d'eau entraînant les molécules dissoutes, comme les conditions météorologiques (la pluie, la neige...)⁴⁹. Ainsi l'évolution de la karstification des gypses est-elle visible à l'échelle annuelle, celle des carbonates à une échelle séculaire...

On définit le karst par les éléments suivants :

- Différentes zones à infiltration diffuse (lapiés nus ou sous couverture), localement favorisés (doline), ou concentrée (ponors ou pertes).
- Un équilibre hydraulique à grande variation piézométrique^b entre eau de surface et nappe karstique (*poljé*, estavelles^c, trop-plein) dû à la saturation des conditions hydriques.



b/ niveau piézométrique : altitude ou profondeur (par rapport à la surface du sol) de la limite entre la zone saturée et la zone non saturée dans une formation aquifère. Ce niveau est mesuré à l'aide d'un piézomètre. La cote piézométrique au point *i* s'écrit : Cp(i) en mètres (m).

c/ estavelle : cavité caractéristique des zones karstiques, qui se comporte comme une perte (ou ponor) lors des périodes sèches drainant l'eau des alentours. Lors des périodes pluvieuses elle se remplit d'eau au point de devenir une source temporaire.

- Des sources peu nombreuses, à fort débit, au débouché d'un conduit drainant un vaste impluvium.

Une distinction peut être faite entre les précipitations qui tombent sur un épi-karst de roche calcaire, ce que l'on appelle charge autogène, et celles qui tombent dans les environs sur des roches non carbonatées, qui alimentent les cours d'eau et qui viennent traverser et approvisionner le karst, ce que l'on dénomme charges allogènes. En karstologie on peut parler de karst unaire ou binaire selon que les approvisionnements proviennent de la charge autogène seule ou des deux. Ces deux formes d'alimentation ont une forte influence sur le système aquifère karstique. Les infiltrations des eaux autogènes auront une signature chimique particulière.

Le type de charge hydrique va dépendre des réseaux de fissures et de pores plus ou moins complexes de l'épi-karst pour arriver jusqu'à l'endo-karst. Durant ce trajet l'eau se charge en éléments par l'action de l'acide carbonique humique ou végétal et qui vont définir sa charge minérale. Les mesures isotopiques des eaux souterraines permettent d'identifier leurs provenances et peuvent par déduction nous permettre de localiser leurs parcours⁵⁰.

Le tableau ci-dessous donne les divers périples que l'eau doit suivre en fonction de ses origines et des structures karstiques.

Dans le cadre de la bio-hydraulique, ces deux origines ont pour conséquence que les apports allogènes vont dépendre de la pollution en amont et que l'apport autogène va être une pollution tellurique, qui aura eu une filtration et une charge plus ou moins importante suivant la nature des sols traversés. La capacité d'échange du sol joue un rôle dans la rétention et la fixation des polluants. Cette capacité d'échange, qui est fonction de la composition du sol (le sable à une capacité d'échange faible ou nulle, les limons 25 à 100 méqv/kg, l'argile environ de 100 à 150 méqv/kg, les

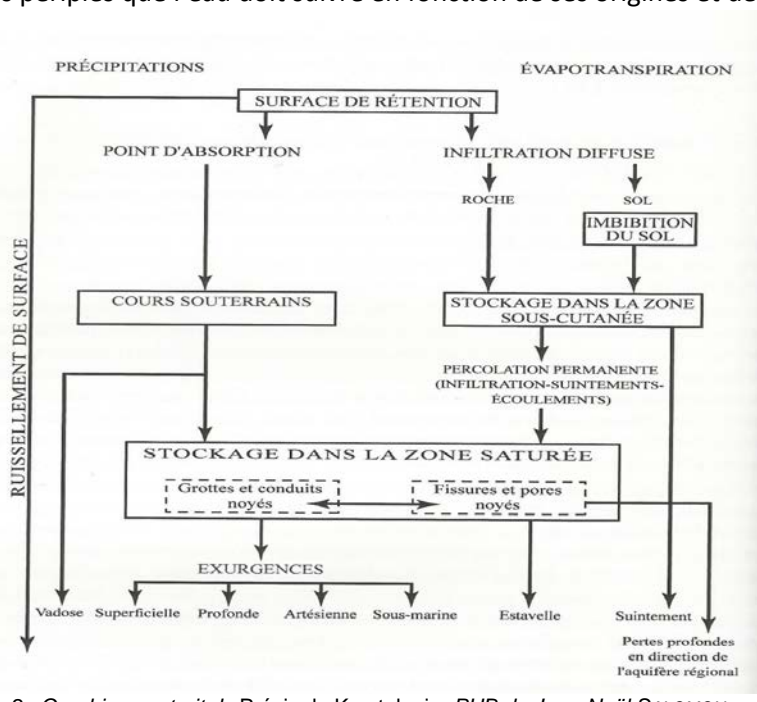


Fig. 2 : Graphique extrait du Précis de Karstologie, PUB de Jean-Noël SALOMON, p.126

matières organiques végétales peuvent aller de 200 jusqu'à 400 méqv/kg), montre que la rétention bactérienne du sol par les charges ioniques de ses composants n'est pas toujours réalisée et dépend beaucoup du sol. Il peut y avoir aussi saturation de ce pouvoir de rétention, lorsque la pollution est très forte.^d

5.2 CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES DES EAUX SOUTERRAINES

5.2.1 Température de l'eau

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision au 1/10^e à 1/100^e de degré (immersion de 3 mn dans l'eau pour un thermomètre électronique avec une sonde PT 100). La température joue un rôle dans la dissolution des minéraux, des gaz comme le CO₂ (ce qui influe sur le

^{d/ vadose} : la zone vadose ou zone non saturée (ZNS) du sol est la partie du sol et du sous-sol située à l'interface entre atmosphère-pédosphère et la nappe phréatique. Dans cette zone, les pores du sol sont partiellement remplis d'eau (à l'exception de la frange capillaire) et de gaz (le plus souvent de l'air), contrairement à la zone saturée en eau (ou aquifères), dans laquelle la totalité du système poreux est rempli d'eau.

pH, la conductivité) ainsi que dans le développement microbien. Elle peut être un indicateur de la provenance de l'eau, car les eaux souterraines ont une température relativement constante et les échanges thermiques avec le sol sont faibles et dépendent du débit hydrique.

5.2.2 Turbidité de l'eau

La turbidité de l'eau est due à la présence des matières en suspension finement divisées : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, micro-plantons, bactéries... Les mesures de turbidité ont une grande importance sur la pureté de l'eau. La turbidité peut être évaluée par un certain nombre de méthodes, qui sont pratiquées suivant les conditions du terrain. Il est recommandé que les mesures de turbidité soient faites le plus rapidement possible après le prélèvement d'échantillon.

5.2.2.1 Méthode pour évaluer la turbidité sur le terrain

- Méthode au fil de platine : on mesure la distance à laquelle est toujours visible un fil de platine de 1 mm de diamètre et de 25 mm de longueur fixé à une chaîne de 1,20 m de long.
- Méthode de Secchi : qui convient dans les lacs. On utilise un disque en porcelaine blanc de 20 cm de diamètre ou un carreau de faïence que l'on laisse filer dans l'eau et on mesure la profondeur à laquelle il cesse d'être visible.

5.2.2.2 Turbidité au laboratoire

- **L'effet Tyndall** : un liquide dans un tube s'éclaire vivement lorsqu'il est traversé par un faisceau de lumière, ce phénomène dit de Tyndall est dû aux particules solubles en suspension diffusant latéralement une partie des rayons lumineux. La diffusion de la lumière va être mesurée, soit par la lumière perdue dans la diffusion (comme dans le cas d'une spectroscopie d'absorption) ; soit par la lumière rejetée par la diffusion (mesure comparable à la fluorescence qui mesure la lumière produite à 90 ° d'angle) ; soit la goniométrie (mesure de la lumière diffusée en fonction de l'angle de diffusion, dans une cellule éclairée par le fond du récipient contenant l'échantillon, cette mesure donne une idée de la taille et de la forme des particules) ; soit la granulométrie laser (qui peut donner la répartition statistique des différentes tailles de particules).

Plusieurs paramètres rentrent en considération dans cette diffusion : taille, forme, volume des particules, la longueur d'onde initiale de la lumière utilisée et l'intensité de la lumière initiale, la distance parcourue par le faisceau de lumière, l'angle entre le faisceau de lumière et le détecteur pour la mesure.

Les formules utilisées sont :

$$\text{Intensité diffusée} : I = (I_0 \cdot K \cdot N \cdot v^2 / \lambda^4) \sin^2 \varphi$$

Dans le cas de l'absorption, l'énergie absorbée sera : $E = \log I/I_0 = \alpha \cdot c \cdot e$.

(c = concentration en mol/l ; e = distance parcourue par la lumière ; α = coefficient d'extinction ; I = intensité de lumière diffusée ; I_0 = lumière initiale ; N = nombre de particules ; v = volume des particules ; λ = longueur d'onde de la lumière).

Plus la longueur d'onde de la lumière initiale sera faible plus la lumière sera diffusée. Plus le parcours de la lumière sera long plus la lumière sera absorbée ou dispersée.

- **L'appareil de Diéner** : consiste à éclairer deux cuves cylindriques parallèles, l'une contenant de l'eau à analyser, l'autre de l'eau témoin, les cuves étant éclairées par la même source de lumière. Dans l'eau témoin on ajoute progressivement une solution de mastic à 1 ‰ jusqu'à ce que les deux cuves aient la même turbidité (on fait une courbe d'étalonnage en fonction des gouttes de mastic). La norme eau potable est de 5 unités turbidimétriques. Dans certains cas où l'eau n'est pas chargée en argile ou en particules très fines, la turbidité peut être aussi un critère de contamination microbienne.

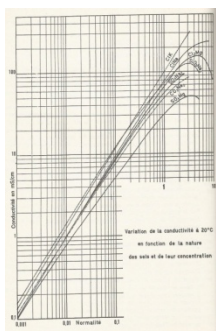
5.2.3 pH de l'eau

La mesure du pH évalue l'équilibre ionique de l'eau, de ce fait il va nous informer sur la réactivité de l'eau avec les ions rencontrés dans le sol. Le pH est un paramètre des sols traversés et de ce fait peut donner des indications sur la provenance de l'eau. Il existe deux systèmes de mesure : l'une colorimétrique qui n'est pas très précise (bandelettes, indicateur coloré liquide) et l'autre qui est le pH-mètre électronique, pratique et précis mais fragile. Il est recommandé de mesurer le pH de l'eau *in situ*. Au-dessus de pH 9 les valeurs doivent être corrigées comparativement au taux de sodium/l. Le pH demande une correction de température, qui est souvent faite par l'appareil lui-même. Les eaux au pH inférieur 5 sont inhibitrices du développement bactérien et favorisent le développement fongique. Les eaux très pures ont un pH instable dû à l'équilibre ionique. La norme pour la concentration maximale acceptable est de 7 à 8,5 de pH. Dans les karsts (calcaire), les eaux de ruissellements et de condensations auront un pH un peu plus fort que les eaux allogènes.

5.2.4 Conductivité

La conductivité électrique traduit la capacité d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique. L'unité de mesure communément utilisée est le Siemens (S/cm) exprimé souvent en microsiemens/cm ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ou milli-siemens (mS/cm). La conductivité est directement proportionnelle à la charge ionique dissoute dans l'eau (les ions conduisent d'autant plus l'électricité que leur équivalent-gramme est plus faible). Ainsi, plus la concentration d'ion dissout sera importante, plus la conductivité sera élevée. La conductivité demande une correction de température qui peut être incorporée au conductimètre. Il existe une relation entre le taux de minéraux dissouts dans l'eau et la conductivité de l'eau qui est représentée dans le tableau suivant :

Formule pour établir la minéralisation d'eau en fonction de la conductivité



Conductivité en $\mu\text{S}/\text{cm}$

Minéralisation en mg/l

<50 μS

$M = 1,365079 * \text{conductivité}$

50 à 166 μS

$M = 0,947658 * \text{conductivité}$

166 à 333 μS

$M = 0,769574 * \text{conductivité}$

333 à 833 μS

$M = 0,715920 * \text{conductivité}$

833 à 10 000 μS

$M = 0,758544 * \text{conductivité}$

> 10 000 μS

$M = 0,850432 * \text{conductivité}$

Graphique extrait de J. REDIER, Analyse de l'eau, Dunod technique 1978 ISBN 2_04_010045_8

Pour les matières solides totales, la norme pour les eaux de consommation est ≤ 500 mg/l.

Valeurs communément mesurées de conductivité

Valeur de Conductivité pour l'eau	
Eau Pure	0,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Eau Distillée	0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Eau de Montagne	1,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Eau Courante	500 à 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Max. pour l'eau potable	1055 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Eau de Mer	56 mS/cm
Eau Saumâtre	100 mS/cm

Dans le karst la conductivité de l'eau nous permet de différencier les eaux de condensation, d'infiltration (autogène) et les eaux d'apport allogène. Ces dernières auront une conductivité plus faible que les eaux provenant des parois karstiques (calcaire). Dans le cas de précipitations importantes (pluie, neige), on observera dans un premier temps un apport de minéraux dû aux eaux qui stagnaient dans les réserves de l'aquifère du sol (fracture, micro-fracture, gour, pouvoir de rétention en eau du sol), puis la pluie poussant l'eau des réserves, on mesurera une conductivité décroissante dans le temps (effet de pompe).

5.3 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

5.3.1 Alcalinité de l'eau ou T_A

Le titre d'alcalinité T_A se fait pour des eaux qui ont un pH supérieur à pH 8,3 (pH de virage de la phénophtaléine) par dosage titrimétrique avec de la HCl 0,1 N. ou par méthode potentiométrique (pH-mètre). Le titrage doit être fait dans du polyéthylène, car le verre borosilicaté peut apporter des ions, qui faussent le dosage. Le résultat de la valeur est en alcalis libre Ca(OH)_2 mg /l ou en CaCO_3 mg/l caustique, soit en équivalent par litre, soit en °f (degré français) $1^\circ\text{f} = 0,2$ méq. Cette valeur donne le taux de charge alcaline active. Pour un pH supérieur à 7, une partie des carbonates se trouve sous la forme de Ca(OH)_2 (c'est-à-dire de la chaux éteinte, ce qui tient le pH à une valeur >7 en équilibre, et peut donner au calcaire une couleur poudreuse de blanc de chaux).

5.3.2 Titre alcalino-métrique de l'eau ou T_{AC}

Il correspond à la teneur en gaz carbonique contenu dans l'eau et exprimé en CaCO_3 en mg/l ce qui correspond à $1^\circ\text{f}_{T_{AC}} = 1$ mg/l de CaCO_3 . Pour son dosage on utilise de HCl 0,1 N et comme indicateur le méthyl-orangé ou un pH-mètre et le titrage se fait comme pour le T_A , avec de HCl 0,1 N, entre pH 8,3 à pH 4,3, qui est le pH de virage du jaune-orangé au rose du réactif ou la valeur indiquée par le pH-mètre.

5.3.3 Titre alcalino-terreux ou dureté de l'eau ou T_H

La dureté de l'eau correspond à la teneur en alcalino-terreux contenue dans l'eau solubilisée par l'ion hydrogène, elle est surtout due aux ions Ca^{++} et Mg^{++} auxquels s'ajoute parfois le fer, l'aluminium, le manganèse, le strontium...

La teneur en calcium et en magnésium est définie dans l'eau, soit par la méthode complexométrique (EDTA N/50 et noir d'ériochrome) ou par dosage du Ca^{++} et Mg^{++} par absorption atomique ou autres. Les résultats sont exprimés en CaCO_3 en mg/l, soit 1 mg/l qui correspond à 1°f_{T_H} (degré français de T_H).

La formule $(T_H - T_{AC})$ donne la forme sous laquelle les carbonates vont se trouver dans l'eau et l'éventualité de présence d'autres sels carbonatés.

- Si $(T_H - T_{AC}) > 0$ et si le pH est ≤ 7 nous avons dans ce cas des sels de Ca^{++} ou Mg^{++} qui ne sont pas des carbonates (sulfates, chlorures, sels acides organiques).
- Si $(T_H - T_{AC}) < 0$ et si pH est ≤ 7 nous avons un surplus de carbonates sous forme CO_2 dissout ou des sels de carbonates qui ne sont pas de Ca^{++} ou Mg^{++} (cela peut-être Na^+ ou K^+ ou H^+ , soit un excès d'acide carbonique ou autres)...

Ces mesures vont définir la charge de l'eau en minéraux et le pH la forme de l'équilibre ionique dans laquelle l'eau se trouve. Pour les bactéries une eau trop pure peut provoquer une plasmolyse bactérienne (cas de l'eau distillée) qui fera chuter rapidement le nombre de bactéries vivantes. Les eaux moyennement chargées en minéraux seront plus adaptées à la vie bactérienne, les eaux très chargées provoqueront une baisse de l'aW (eau disponible) pour les bactéries. C'est pour cela que l'on utilise en bactériologie des produits qui régulent l'osmolarité dans les solvants des dosages bactériologiques (Ringer).

5.4 ANALYSES CHIMIQUES DES EAUX SOUTERRAINES SUR PLACE

Sur le terrain les analyses d'eau sont obtenues par des kits colorimétriques. En plus des paramètres habituels, certains paramètres spécifiques doivent être analysés en fonction de la région et des problèmes rencontrés. Des indicateurs de potabilité et de qualité peuvent être utilisés pour ces analyses :

- kits ;
- sondes portatives ;
- bandelettes ;
- test visuel : regarder la surface de l'eau (matière en suspension, hydrocarbures, huiles, couleur, odeur).

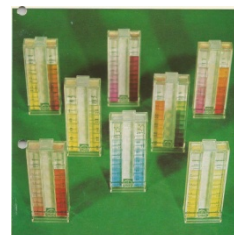
Les analyses physico-chimiques se résument essentiellement à la mesure du pH et dans les eaux de réseau urbain au taux de chlore résiduel afin de maintenir la teneur moyenne du chlore résiduel dans les robinets entre 0,4 à 0,5 mg/l. Les chlorures, le chlore actif, les nitrates, nitrites, phosphates, silicates, le fer, peuvent être dosés par colorimétrie sur une estimation visuelle ou par un colorimètre portatif.

Exemple : Coffret *Aquamerck* pour l'analyse de l'eau

Détermination de la dureté de l'eau, des phosphates, des silicates, du fer, de l'hydrazine, des nitrites, du pH, des chlorures par des méthodes soit titrimétriques, soit colorimétriques...



La mesure de certains ions peut être obtenue par électrode spécifique (mesure électrochimique des passages de l'état oxydé à l'état réduit). Les ionomètres (appareil qui ressemble à un pH-mètre) qui servent pour ce type d'analyses sont relativement sensibles, mais les électrodes sont très fragiles et sont souvent défectueuses ou capricieuses. On trouve des électrodes pour les ions qui sont sujet à l'oxydoréduction (il faut avoir une électrode spécifique pour chaque élément à doser).



5.5 ANALYSE CHIMIQUE DES EAUX SOUTERRAINES AU LABORATOIRE

Il n'est pas possible à l'heure actuelle de déterminer la potabilité chimique de l'eau avec des kits de terrain. Le nombre d'analyses qui vont définir le risque de toxicité chimique, la sensibilité qu'il faut pour définir le seuil de toxicité des ions ou des matières organiques naturelles ou anthropiques est si faible que compte tenu du manque de sensibilité de ce matériel, la moindre contamination serait une prise de risque majeur pour la santé. Le passage au laboratoire d'analyse des eaux est une étape obligée pour affirmer qu'une eau est non conforme aux normes de potabilité. Les résultats de terrain ont pour seul intérêt d'émettre un doute et d'éviter une consommation à risque.

Les analyses en laboratoire vont dans la plupart des cas être faites par des techniques analytiques de spectroscopie comme l'**absorption atomique** qui mesure l'absorption d'un faisceau lumineux émis par une lampe dont la cathode est composée du même métal que celui recherché. Les cations recherchés par ce type d'analyse sont fonction des lampes que le laboratoire possèdera. Les possibilités d'analyse sont très élevées : Ca^{++} , Mg^{++} , Ba^{++} , Fe^{+++} ou Fe^{++} , Cu^{++} , Na^{+} , K^{+} , Al^{+++} , Cr^{+++} ou Cr^{++++} , et beaucoup d'autres cations.

- **La torche à plasma** peut remplacer l'absorption atomique. Elle est basée sur la spectroscopie d'émission d'une flamme de plasma dans lequel on injecte le produit à analyser. Elle est très sensible pour certains éléments, mais dans les éléments facilement excitables elle peut exciter des couches profondes pouvant fausser les mesures. Ce type d'analyse a un avantage sur la spectroscopie d'absorption, elle donne le spectre total des minéraux sans être tributaire des lampes spécifiques. Dans le cas du fer, qui est un élément difficilement dosable par ces techniques, on peut réaliser un complexe avec un chélateur de ce métal que l'on reprend avec

de l'isobutylcétone dans une forme concentrée.

Certains dosages comme le fer, l'ammoniaque, les hypochlorites, peuvent être obtenus par le dosage colorimétrique avec spectroscopie d'absorption (ex : pour le fer avec $\alpha\alpha'$ dipyridyle).

- **La polarographie impulsionnelle à ondes carrées** est une méthode d'analyse basée sur l'oxydoréduction (mesure de l'électricité absorbée par le passage de l'ion état réduit à l'état oxydé à un potentiel électrique donné). Elle va permettre de doser des éléments présents à l'état de traces : mercure, cadmium, arsenic, nickel, chrome, cobalt, cuivre, argent, or...
- **La chromatographie ionique** est une méthode de dosage des anions par fixation sur une colonne cationique d'échange, que l'on libère de ses anions par un solvant approprié. Presque tous les anions peuvent être dosés par cette méthode ; exemple : chlorures, bore, borate, brome, phosphates, sulfure et sulfates, nitrites et nitrates... Le détecteur sera soit un conductivimètre pour les anions minéraux ou un spectro-UV ou fluorescence ou un réfractomètre pour les anions organiques.
- Pour les polluants organiques (pesticides ou fongicides), la **chromatographie phase gaz ou chromatographie HPLC**. Les détecteurs seront adaptés aux produits recherchés (pour la phase gaz : ionisation de flamme, capture d'électron, spectroscopie de masse) pour HPLC (spectro-UV, réfractomètre, fluorimètre). Il en est de-même pour les contaminants des produits pétroliers... Pour les molécules protéiques comme les antibiotiques ou les produits de rejet d'industrie agro-alimentaire (laiterie, élevage), on peut utiliser la HPLC avec des colonnes de gel filtration pour avoir un tri des molécules en fonction de leurs masses ou de leurs tailles moléculaires. Les produits radioactifs seront dosés par **spectro-scintigraphie (rayon γ)** ou par un ensemble de comptage à scintillation équipé d'un photomultiplicateur, soit un compteur proportionnel sans fenêtre à circulation de gaz pour les rayons α et β , ou par spectrométrie de masse pour les isotopes peu (temps lent de désintégration) ou non-radioactif. Le laboratoire d'analyse des eaux nécessite un investissement très élevé si l'on veut réaliser une analyse chimique complète de l'eau.

5.5.1 Analyse chimique permettant de définir l'état bactérien de l'eau

L'eau va être d'autant plus propice aux développements bactériens, qu'elle contiendra des composés qui permettront aux bactéries hétérotrophes de vivre et de s'alimenter. Pour cela il est intéressant d'effectuer des mesures chimiques des composés organiques de l'eau afin de définir la possibilité de la vie bactérienne.

5.5.2 Dosage des matières organiques dans les eaux

La matière organique de l'eau peut avoir deux provenances, soit animale, soit végétale, dans les deux cas elle peut être un support bactérien.

➤ **L'eutrophisation (processus d'accumulation de nutriment en apport excessif)**

La pollution des eaux souterraines est plus forte sous sa forme allogène, que dans la forme autogène. Cette forme de pollution est due à un apport excessif en nutriments et en matières organiques biodégradables issus de l'activité humaine ou animale. Elle s'observe surtout dans les milieux aquatiques dont les eaux sont peu renouvelées : les lacs, les nappes phréatiques..., mais aussi les rivières et les estuaires et pénètre dans les voies karstiques par les pertes. Les nutriments proviennent principalement des phosphates des détergents, des nitrates des engrais, ainsi que de l'ammoniaque issue de la décomposition des effluents organiques biodégradés par les bactéries aérobies.

➤ **La dystrophisation^e** : état extrême de l'eutrophisation, qui se traduit par la mort des organismes animaux et végétaux supérieurs. Elle est due à l'utilisation excessive de l'oxygène disponible dans

^{e/} **dystrophisation** : état extrême de l'eutrophisation qui se traduit par la mort des organismes animaux et des végétaux supérieurs.



l'eau qui est entièrement utilisé par les bactéries aérobies présentes dans le milieu et chargées de la dégradation des matières organiques dissoutes. Elle est beaucoup plus rapide que l'eutrophisation et devient autocatalytique car la mort de la faune et de la flore entraîne une augmentation des composants organiques du milieu.

Les matières organiques biodégradables sont dégradées par les bactéries aérobies présentes dans le milieu. Mais parce qu'elles consomment beaucoup d'oxygène, ce mécanisme provoque un premier appauvrissement en oxygène dissout. L'excès de nutriments, de son côté, entraîne une multiplication en surface du phytoplancton et de certaines plantes aquatiques qui, en mourant, augmentent encore les quantités de matières organiques biodégradables présentes dans le milieu. Les bactéries aérobies se développent dans les profondeurs et consomment tout l'oxygène dissout. Si le brassage de l'eau est trop faible ou insuffisant, il y a une asphyxie, ce qui entraîne un fort gradient d'oxygénation entre les eaux profondes et les eaux de surface. La prolifération des algues de surface, va provoquer un manque de lumière dans les eaux profondes ce qui va réduire la pénétration de la lumière et de ce fait l'effet photosynthétique ; ce manque d'oxygène en profondeur va détruire les bactéries aérobies et augmenter encore les charges organiques... L'asphyxie va favoriser les bactéries anaérobies, qui pourront survivre dans ce milieu dépourvu d'oxygène. Elles se multiplient en provoquant la fermentation des matières organiques réductrices et produisent des gaz : méthane, du sulfure d'hydrogène, du mercaptan, de l'ammoniac, des cadavérines... Elles produisent aussi des toxines, qui peuvent être thermorésistantes.

5.5.3 Contrôle des matières organiques de l'eau

➤ **La DBO₅ (Demande Biologique en Oxygène)** : quantité de dioxygène nécessaire aux micro-organismes aérobies de l'eau pour oxyder les matières organiques, dissoutes ou en suspension dans l'eau. Le dosage de la DBO₅ consiste à mesurer l'oxygène dissout dans l'eau mise dans un flacon fermé et dans l'obscurité pendant 5 jours à 20 °C, avec agitation magnétique et pression constante avec une dilution de l'eau pour avoir un résultat différentiel valable. Le delta de mesure de l'oxygène dissout nous donnera la valeur de la DBO₅ (oxygène dissout mesuré par électrochimie). La norme pour l'eau potable est de ≤6 mg/l utilisé par les micro-organismes dissouts.

➤ **La DCO (Demande Chimique en Oxygène)** : quantité d'oxygène consommée par les matières existantes dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation de la matière oxydable présente dans l'eau, qu'elle soit organique ou minérale (fer, nitrites, ammoniac, sulfures et chlorures). Il est préférable d'utiliser un flacon en verre et de faire l'analyse dans les délais les plus brefs. L'analyse va se faire par une attaque des composés dissouts par du dichromate de potassium à chaud puis le dosage du dichromate restant par titrimétrie^f à l'aide de solution titrée de sulfate d'ammonium et réactif. Ou par un dosage colorimétrique de la couleur du dichromate de potassium, qui diminue avec la dégradation des matières organiques. La norme est de ≤10 mg/l d'oxygène réduit sur les oxydants.

5.5.4 Mesure de l'oxygène dissout dans l'eau

Dans le commerce il existe de nombreux appareils permettant la mesure de l'oxygène dissout dans l'eau, ce qui va nous donner une information sur le niveau de saturation microbienne aérobie de l'eau. Le Q 45D de *Bio Tests Industries* est un exemple de ce type de matériel. Cet analyseur a été conçu pour fournir une mesure fiable de l'oxygène dissout et pour réduire les coûts de maintenance. Son capteur d'oxygène dissout utilise une membrane en téflon renforcée capable de résister aux phénomènes d'abrasion mécanique et aux déchirures. Dans tous les cas ces matériels sont délicats à l'utilisation et au transport. La norme en oxygène dissout doit être supérieure à 5 mg/l.

**« Plus une eau sera riche en matières organiques,
plus les risques biologiques seront importants et pérennisés. »**

^{f/ dosage titrimétrique ou titrimétrie} : dosage à l'aide d'une burette et de solutions titrées.



5.5.5 Normes chimique de l'eau potable

Tableau présentant une série de paramètres chimiques analysables, leurs unités de mesure ainsi que les valeurs-limites à ne pas dépasser (OMS 2004)

Nom et nature des échantillons	Date d'analyse	Cond.	Oxygène dissous	pH	TDS	Turbi.	F ⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	NH ₄ ⁺	Fe ²⁺	NO ₂ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Mn	Ars
Unités		µS/cm	mg/l	-	mg/l	NTU	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
Normes		2000	≥5	6,5 - 8,5	1000	<5	<1,5	100	50	200	0,5	<0,3	0,2	250	250	50	0,1	0,01

N.B : Pour le calcium et le magnésium (Ca, Mg), il s'agit de valeurs minimales

5.6 CARACTÉRISTIQUES BACTÉRIOLOGIQUES DES EAUX

Les analyses bactériologiques de l'eau ont pour but de mettre en évidence la présence de bactéries qui modifient l'aptitude à la consommation d'une eau donnée.

Seules sont à redouter les bactéries pathogènes pour l'Homme et les animaux, cependant lorsqu'elles sont présentes dans une eau, leur nombre est souvent restreint et leur mise en évidence difficile ; de plus il est malaisé de faire une analyse exhaustive de toutes les bactéries pathogènes pour l'Homme pouvant être présentes dans une eau. On va se servir de traceurs bactériens qui vont suspecter la présence de contamination fécale de l'eau. D'autres germes seront recherchés pour attester la présence de déchets organiques en décomposition comme les germes telluriques.

Il se trouve que la grande majorité des germes pathogènes habituellement véhiculés par l'eau, vit dans les intestins de l'Homme et des animaux à sang chaud. La mise en évidence d'une contamination fécale constitue un excellent signal d'alarme. La preuve de contamination de matière fécale d'une eau la met systématiquement dans le registre des eaux non-potables pour l'Homme.

Ce diagnostic peut être direct par le dosage et la recherche de la présence de la bactérie responsable de la contamination ou par une analyse indirecte, par la recherche du bactériophage correspondant. Les *Escherichia coli*, les coliformes et les streptocoques fécaux sont considérés comme des traceurs d'origine exclusivement fécale. Pour les espèces qui signent la décomposition de matières organiques en fermentation comme les *clostridies*, ils peuvent être présents dans le tube digestif mais leur présence n'est pas exclusive du tube digestif des mammifères.

La présence des bactériophages dits fécaux dans une eau est également considérée comme une preuve de sa contamination par des bactéries fécales, même si les bactéries peuvent avoir disparu de l'eau par une phagocytose due aux bactériophages. Si la présence de bactéries fécales dans l'eau est une preuve de contamination possible par un germe pathogène, leur absence ne signifie pas que l'eau soit à l'abri de toute contamination. Pour être certain de la permanence d'une bonne qualité bactériologique de l'eau, il faut s'assurer qu'elle est protégée contre toute contamination fécale éventuelle, c'est-à-dire contre toute contamination extérieure quelle qu'elle soit, car lorsqu'une pollution est possible il ne peut être garanti qu'elle ne soit jamais d'origine fécale. Une telle assurance ne peut être apportée que par une surveillance fréquente de la population bactérienne globale quelque soient les circonstances atmosphériques.

La recherche des bactéries fécales, témoin d'une pollution fécale, et des bactéries purement pathogènes pour l'Homme d'autre part qui dans certaines conditions peuvent avoir une pathogénicité autre qu'alimentaire, a fait évoluer les recherches. Dans ce registre nous pouvons parler des *Pseudomonas aeruginosa*, cette espèce qui lorsqu'elle est présente dans les eaux de piscine joue un rôle pathogène non négligeable.

La recherche des bactéries fécales, la recherche des bactéries pathogènes externes et la recherche de la flore bactérienne totale sont les trois points importants dans l'attribution des normes de potabilité des eaux. À ces contrôles il faut ajouter des contrôles des bactéries qui ne sont pas toujours considérées comme pathogènes pour l'Homme, mais qui peuvent être des indices de

putréfaction ou des facteurs de goût et d'odeur désagréable pour la consommation. Dans ce registre, citons les bactéries anaérobies sulfite-réductrices (*Clostridium*) et les *Actinomycètes*. Dans les eaux particulières comme les eaux chaudes, la recherche des bactéries thermophiles ou thermorésistantes s'impose comme la recherche de *Legionella*. Dans les eaux naturelles des étangs il peut y avoir des bactéries exogènes et toxiques comme les cyanobactéries qui peuvent rendre les eaux interdites à la baignade et à la consommation.

5.6.1 Méthodes d'analyse bactériologique de l'eau

Les analyses microbiologiques sont fondées sur la recherche des bactéries considérées comme des indicateurs de contamination fécale.

Normes de qualité microbiologique de l'eau de boisson fixées par l'OMS

L'indicateur le plus utile est la bactérie *Escherichia coli* car elle est abondante dans les fèces humaines et assez persistante pour être recherchée (sa durée de détection dans l'eau à 20 °C, variant de 1 semaine à 1 mois), son identification

est cependant difficile sur le terrain et nécessite des appareils spécifiques ou l'utilisation de la méthode de « filtration sur membrane ».

Dans les analyses de routine, on recherche les bactéries coliformes dites thermotolérantes, *E. Coli* étant un membre de ce groupe.

Sur le terrain, la méthode de filtration sur membrane est relativement facile à mettre en œuvre :

➤ Procédures analytiques

Elle consiste à filtrer un volume d'eau connu sur une membrane poreuse, calibrée pour retenir les bactéries (0,45 µm), une filtration sera faite pour chaque recherche. Sur ces membranes sont coulés individuellement les milieux de cultures sélectives pour chacune des recherches :

- **Pour l'analyse de la flore totale, Norme MA. 700 - BHA35 1.0** : cette méthode d'analyse permet de dénombrer les bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives (BHAA) présentes dans un échantillon d'eau. Elle est une mesure quantitative des bactéries viables sur un milieu de culture déterminé. Les bactéries dénombrées requièrent de la matière organique comme source de carbone (hétérotrophes) et sont cultivées à des températures optimales situées entre 20 °C et 45 °C (mésophiles) avec ou sans présence d'oxygène (aérobies et anaérobies facultatives). Cette méthode permet d'isoler et de dénombrer un groupe relativement varié d'espèces de bactéries sans égard à leur étiologie (pathogénicité).
- **Pour les coliformes totaux, Norme MA. 700 - Col 1.0** : l'expression « coliformes totaux » regroupe plusieurs espèces bactériennes de la famille des entérobactéries, qui sont aérobies et anaérobies facultatives, à Gram(-), asporulées en forme de bâtonnet et produisant des colonies foncées à reflets vert métallique en moins de 24 heures, à 35 °C sur un milieu de type m-Endo contenant du lactose. De plus, tous les coliformes totaux doivent produire une réaction négative à l'épreuve de la cytochrome-oxydase et une réaction positive au test de l'ONPG (ortho-nitrophényl-β-D-galactopyranoside). Les coliformes totaux sont des microorganismes indicateurs dont le dénombrement permet de déceler le niveau de pollution d'origine organique dans les eaux de surface, les eaux souterraines, les sources d'approvisionnement ou les canalisations d'eau potable. Comme milieu de culture on peut

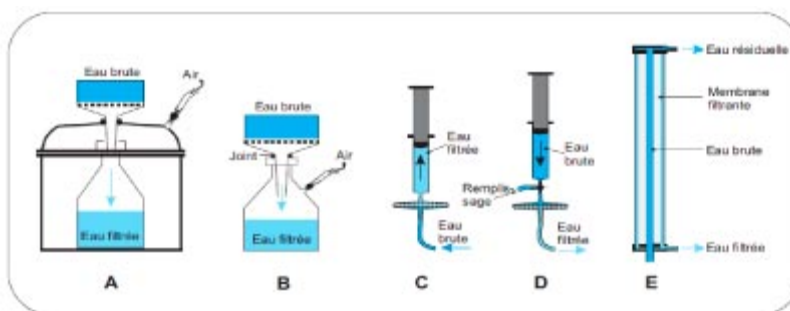


Figure 5: Systèmes de filtration de terrain. A et B : filtration sous vide (ou par gravité si l'air n'est pas évacué du dispositif). C : filtration sous vide à l'aide d'une seringue et d'un filtre à seringue (aspiration); D : filtration sous pression à l'aide d'une seringue et d'un filtre à seringue (remplissage de la seringue à l'aide d'un robinet à trois voies); E : système de filtration membranaire.

utiliser le désoxycholate lactose agar (colonies rouges).

- **Pour les *Escherichia coli*, Norme MA. 700 - Ec.BCIG 1.0** : la bactérie *E. coli* est un bâtonnet à Gram(-) asporulé. Elle est aérobie ou anaérobie facultative. Sa température optimale de croissance avoisine les 35-37 °C, mais elle est aussi en mesure de croître à une température de 44,5 °C. Elle est capable de fermenter le lactose et elle possède les enzymes β -galactosidase et β -glucuronidase. En raison de sa capacité à croître à la température de 44,5 °C, *E. coli* fait partie du groupe des coliformes thermotolérants (aussi appelés « coliformes fécaux »), qui est lui-même inclus dans le groupe des coliformes totaux. *E. coli* est un habitant normal de l'intestin des humains et des animaux à sang chaud. Cependant, certaines souches particulières d'*E. coli* présentent un pouvoir pathogène important, ainsi le sérotype O157:H7 est un microorganisme pathogène.
- **Pour les streptocoques fécaux ou entérocoques le milieu Slanetz agar avec azothydrate de Na, norme MA. 700 - Ent 1.0** : ce sont des germes de Gram(-) résistants au milieu azothydrate. Les entérocoques réduisent le chlorure de triphényltétrazolium en un composé rouge foncé et insoluble appelé triphénylformazan. Cette réaction permet de les dénombrer. Les résultats sont exprimés en nombres de colonies par 100 ml d'eau filtrée. Les germes tests sont les coliformes fécaux. Ils sont assez bien représentatifs de la qualité de l'eau et sont facilement mis en évidence.
- Pour faire des prélèvements sur place, sans avoir à faire une filtration, il existe des bandelettes qui absorbent une certaine quantité d'eau, elles contiennent du désoxycholate lactosé ou des plaques de milieu prêt à l'emploi (système utilisé pour les analyses urinaires), mais ce système est bon pour voir l'état suspect de contamination, mais ne donne pas de valeurs quantitatives valables interprétables pour les normes officielles. Il sera toujours nécessaire de mettre ces prélèvements dans une étuve thermostatée et d'attendre le temps d'incubation voulu par l'analyse.

5.6.2 Difficultés particulières et précautions éventuelles à prendre

5.6.2.1 Difficultés

- Trouver l'appareil ou l'indicateur à faible coût qui pourrait permettre de mesurer ces paramètres.
- Prendre en compte la situation de chaque prélèvement, la région ou le pays et privilégier la méthode la plus appropriée qui permette de dire que l'eau est potable ou non.
- S'assurer que cette méthode soit facile, répétable sur des échantillonnages aléatoires (métrologie).
- Les prélèvements devront être plus nombreux en période d'épidémie, d'inondation ou de crise, ou encore en cas d'interruption de l'approvisionnement ou de travaux de réparation.

Les aspects à considérer dans la mise au point de la vérification chimique incluent :

- La disponibilité de moyens d'analyse appropriés.
- Le coût des analyses.
- L'éventuelle dégradation des échantillons.
- La stabilité du polluant.
- La présence probable du polluant dans divers approvisionnements.
- Le point le plus approprié pour la surveillance et la fréquence de prélèvement.

Précautions à prendre

Pour un polluant chimique donné, le lieu et la fréquence du prélèvement seront déterminés en fonction de ses principales sources et de la variabilité de sa présence. Les substances dont la concentration ne varie pas notablement au cours du temps exigent un échantillonnage moins



fréquent que celles dont la concentration fluctue de manière importante.

Dans nombre de cas, un prélèvement d'eau de source sera effectué une fois par an, ou même moins fréquemment, notamment pour des eaux souterraines stables, et peut suffire lorsque les concentrations des substances d'origine naturelle sources de préoccupations varient très lentement au cours du temps. Les eaux de surface ont tendance à présenter des caractéristiques plus variables et nécessitent un grand nombre de prélèvements, selon le polluant présent, les zones d'élevages et les possibilités d'une contamination sauvage. Les points des prélèvements dépendront des caractéristiques en termes de qualité de l'eau examinée.

Les précautions à prendre sont multiples lors de l'analyse

- **Avant le prélèvement** : vérifier que le cours d'eau ne soit pas pollué en aval du point de prélèvement, ce qui rendrait les prélèvements inutiles. Vérifier également que tous les récipients soient propres et non contaminés et de préférence stérilisés.
- **Lors du prélèvement** : bien exécuter le protocole de prélèvement (sondes étalonnées correctement, quantité de l'échantillon prélevée suffisante pour l'analyse) ou d'analyses *in vivo* (mesure de la température...).
- **Après le prélèvement** : éviter les contaminations de l'échantillon prélevé, soit par le récipient, soit par l'apparition de bactéries lors du stockage. Réaliser les différentes analyses *in situ* selon un protocole expérimental bien défini.
- **Lors des résultats** : bien interpréter les résultats obtenus à l'aide d'une notice ou d'un modèle.

5.6.2.2 Principaux inconvénients

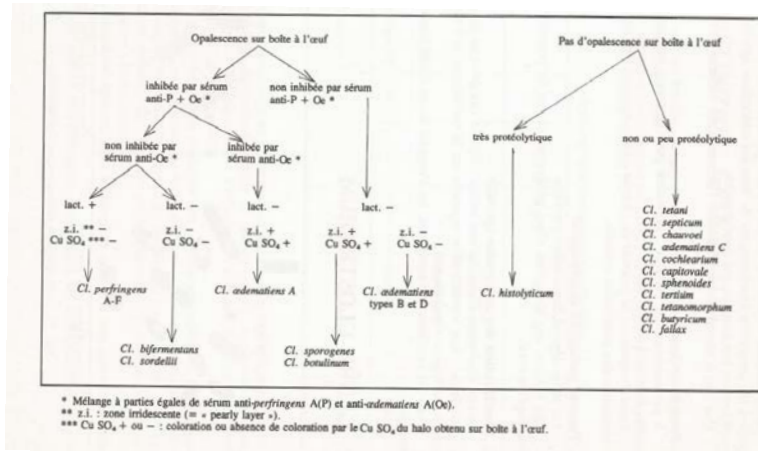
L'analyse ne peut pas être faite directement sur le terrain, elle doit être faite en laboratoire. Les analyses ne donnent que des informations ponctuelles. Elles indiquent seulement la qualité de l'eau au moment du prélèvement. Ces analyses doivent donc être faites régulièrement pour détecter une éventuelle dégradation de la qualité.

- Ce travail ne fournit qu'un renseignement sur l'état de l'eau, faut-il encore pouvoir la traiter.
- L'étude d'indicateurs fécaux associée au dénombrement des bactéries ré-vivifiables est une méthode sensible, mais non rapide. Elle nécessite un laboratoire équipé pour réaliser des cultures bactériologiques et un personnel entraîné. Le délai minimum pour l'obtention des résultats est de trois jours.
- Les conditions de prélèvement peuvent jouer un rôle important dans les résultats, ceux-ci pouvant être faussés si les prélèvements et l'analyse ne sont pas faits correctement.
- La qualité de l'eau peut se dégrader dans le réseau ou entre la source et le point d'utilisation par le consommateur. Une seule mesure à la source peut donc se révéler insuffisante si l'eau n'est pas conservée dans de bonnes conditions.
- Le matériel peut coûter cher et nécessite d'être facile à utiliser et fiable.

5.6.3 Analyse des germes pathogènes

Recherche des *Clostridium* sulfito-réducteur, Norme XP V 08-061

Bactéries anaérobies strictes qui sont caractérisées par la résistance de leurs spores et par l'équipement enzymatique réduisant plus ou moins activement les sulfites en sulfures.



5.6.4 Analyse des entérobactéries pathogènes

Parmi les entérobactéries pathogènes on va rechercher les *Salmonella* et *Shigella*. Dans les cas particuliers d'épidémie, la recherche des germes fécaux a pu être réalisée par les services vétérinaires. Les germes fécaux ont tendance à supplanter la flore pathogène qui disparaît rapidement. Cette constatation oblige de concentrer l'échantillon à partir d'un volume important d'eau à analyser ou à utiliser des milieux d'enrichissements sélectifs dans le but d'inhiber le développement des autres bactéries.

Recherche des *Salmonella* norme NF V 08-052 Ordre *Enterobacteriales* ; Famille *Enterobacteriaceae*



Genre *Salmonella*

Ce sont des γ protéobactéries groupe (I) appartenant à la famille des entérobactéries mesurant de 0,7 à 1,5 μm de diamètre et de 2 à 5 μm de longueur, avec des flagelles péritriches.

Caractéristiques métaboliques : dans la majorité des cas, on a Urée(-) ; Indol(-) ; ONPG(-) ; Lactose(-) ; H₂S(+) ; dégagement de gaz par le glucose.

Milieu : Citrate Simon(+).

De nombreuses espèces animales à sang chaud et à sang froid hébergent des salmonelles, pathogènes ou non pour l'Homme. Les animaux deviennent des réservoirs de salmonelles, ce qui permet la dissémination de cette bactérie. Ces porteurs évoluent généralement vers la guérison et la disparition des germes mais il existe des porteurs permanents de *S. typhi* (très abondants dans leur vésicule biliaire). Les volailles et les oiseaux sont souvent des porteurs sains.

Chez l'Homme le *S. typhi* provoque la fièvre typhoïde ou paratyphoïde provoqué par le *S. para A*, *S. para B*, plus rarement *S para C*. Les salmonelles peuvent aussi provoquer des gastroentérites.

5.6.5 Germes pathogènes d'origine environnementale

L'absence de bactéries fécales dans une eau ne prouve pas qu'elle soit à l'abri d'une telle pollution. Toute eau profonde peut être souillée par des bactéries d'un milieu extérieur, en particulier du sol, et est susceptible de subir une contamination fécale. Dans le cas des sources en terrain sans pouvoir filtrant et en zone d'élevage la contamination peut être plus importante et donc plus grave. Dans la plupart des eaux profondes, se développe une flore bactérienne adaptée au milieu. Cette flore est relativement constante, son accroissement par une flore étrangère peut être un indicateur de risque de non protection de la nappe, surtout si ces variations coïncident avec une forte pluie, une fonte des neiges, qui sont des aléas favorables à la contamination.

5.6.5.1 Analyse des *Pseudomonas* dans les eaux

Dans le genre *Pseudomonas*, l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est la plus fréquemment isolée au cours d'infection humaine survenant le plus souvent chez des personnes blessés, des brûlés et des sujets porteurs d'affections urinaires. Cette bactérie vit à l'état saprophytique (capable de se nourrir de matière organique en décomposition), sa découverte dans les sols humides, sur les végétaux, les eaux douces et marines la font considérer comme un indicateur de pollution. Elle peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'Homme. *Ps. aeruginosa* peut devenir pathogène et engendrer des infections locales, urinaires, méningites, gastro-entérites...





L'espèce ***Pseudomonas aeruginosa*** est une bactérie de la famille des Pseudomonadaceae en forme de bâtonnet, aérobie stricte, Gram(-), asporulé, cytochrome-oxydase(+), mobile par cils polaires, produisant des pigments fluorescents comme la pyocyanine.

Le ***Ps. aeruginosa*** est un indicateur valable pour les eaux à vocation récréative, car il permet de vérifier l'efficacité du traitement de désinfection. Ce paramètre est en effet utilisé comme critère dans le *Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels*. De plus, l'absence de ***Ps. aeruginosa*** est importante non seulement du point de vue de son rôle en tant qu'indicateur, mais également parce qu'il est un pathogène opportuniste dont la transmission est souvent associée à l'eau.

Dans les activités ludiques du canyon, il est important prendre ces remarques en considération et éventuellement de se protéger les yeux par des lunettes de natation, afin d'éviter des infections oculaires.

Dans les analyses faites sur la grotte ornée de Magura en Bulgarie, sur les deux échantillons d'eau analysés par la méthode phylogénétique et électrophorétique par séquençage rDNA et d'une partie gène séquençage par rRNA des bactéries, il est ressorti que sur les deux échantillons, l'un comportait la présence d'un ***Ps. fluorescens***, l'autre des *Serratia*. Le ***Ps. fluorescens*** est moins pathogène que ***Ps. aeruginosa***, qui dans certaines conditions peut devenir pathogène. Cela nous montre que les eaux profondes ne sont pas sans risque de contaminations opportunistes.

La recherche et le dénombrement des *Pseudomonas* sont réalisés dans le cadre de la Norme : MA. 700 – PSE 1.0, Rév. 3. Une confirmation biochimique est nécessaire pour s'assurer de la présence de ***Ps. aeruginosa***.

5.6.5.2 Recherche des ***Coliphages***, Norme : MA.700 – Colph 1.0

Les bactériophages sont des parasites intracellulaires obligatoires, ce qui signifie qu'ils ne sont capables de se reproduire qu'en infectant des bactéries. Donc, les phages se trouvent uniquement dans les environnements qui contiennent des bactéries. Le corps humain est aussi occupé par des bactéries donc par aussi par des bactériophages.

Les *Coliphages* sont des virus des coliformes qui peuvent être détectés de façon spécifique sur la bactérie ***Escherichia coli***. Bien qu'ils partagent des caractéristiques morphologiques avec certains virus animaux, les *Coliphages* ne sont pas pathogènes pour l'Homme et les animaux. Les *Coliphages* sont essentiellement constitués d'une molécule d'ADN ou d'ARN entourée par une couche de protéines appelée la capsid. La taille des *Coliphages* varie de 25 à 120 nm environ alors que leur hôte, ***E. coli*** est un bâtonnet de 2 à 6 µm environ.

Il existe deux types de *Coliphages* : les *Coliphages* somatiques et les *Coliphages* F-spécifiques (aussi appelés mâles-spécifiques). Ces *Coliphages* se distinguent par le récepteur bactérien auquel ils s'attachent sur la bactérie ***E. coli***. Les *Coliphages* somatiques s'attachent à un récepteur situé sur la paroi bactérienne alors que les *Coliphages* F-spécifiques s'attachent à une structure particulière appelée *pilus*. Les *pili* (pluriel de *pilus*) sont formés chez certaines cellules de l'***E. coli*** porteuses d'une information génétique particulière, le plasmide F. Pour qu'il puisse y avoir formation du *pilus*, il faut que la cellule bactérienne soit en croissance dans un environnement à une température supérieure à 30 °C (Grabow, 2001).

Les *Coliphages* peuvent se multiplier uniquement à l'intérieur d'une cellule hôte de l'***E. coli*** qui est en croissance. Les conditions pour la multiplication des *Coliphages* sont les mêmes que celles permettant la croissance optimale de leur bactérie hôte ***E. coli***. Elles sont réunies dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux à sang chaud (Grabow, 2001). Par conséquent, les *Coliphages* trouvés dans l'environnement proviennent principalement de contamination d'origine fécale et peuvent être utilisés comme indicateur de la qualité microbiologique de l'eau.



L'emploi des *Coliphages* comme paramètre de la qualité de l'eau d'origine souterraine est aussi recommandée par l'*Environmental Protection Agency (USEPA)* américaine. En effet, l'*USEPA* a publié une nouvelle réglementation visant à réduire le risque d'infection liée à la consommation d'eau d'origine souterraine (*Ground Water Rule, USEPA, 2006*). Dans cette proposition, l'*USEPA* a fait ressortir le fait que plusieurs épidémies d'origine hydrique ayant eu lieu aux États-Unis d'Amérique étaient causées par des virus entériques et étaient associées à des eaux souterraines non traitées. Les virus entériques humains responsables de ces épidémies d'origine hydrique peuvent migrer plus rapidement dans le sol que les bactéries en raison de leur petite taille. Par conséquent, il peut arriver que l'eau souterraine soit contaminée par des virus entériques humains même en absence des indicateurs bactériens traditionnels (bactéries coliformes). Malheureusement, les méthodes servant à détecter les virus entériques humains dans l'eau sont peu disponibles, coûteuses et souvent longues à réaliser. Pour ces raisons, l'*USEPA* a recommandé l'utilisation des *Coliphages*, en complément à *E. coli* et aux *entérocoques*, comme indicateurs viraux de la qualité de l'eau souterraine (*USEPA, 2000*) puisque ces derniers sont d'origine fécale, qu'ils peuvent se déplacer dans le sol de manière similaire aux virus entériques humains et qu'ils sont relativement simples et peu coûteux à analyser. Les *Coliphages* constituent un élément de contrôle bactériologique des eaux souterraines non désinfectées et vulnérables selon le *Règlement sur la qualité de l'eau potable* adopté en 2001.

➤ **Domaine d'application**

Cette méthode qualitative de type présence/absence (100 ml ou 1 l d'échantillon) permet de détecter la présence de *Coliphages* F-spécifiques ou de *Coliphages* somatiques dans l'eau par une procédure en deux étapes incluant un enrichissement suivi d'une mise en évidence. Cette méthode n'a été validée que pour de l'eau de consommation, mais elle pourrait être utilisée pour toute autre matrice liquide où la présence de *Coliphage* est suspectée. Cette méthode ne permet pas le dénombrement.

➤ **Principe et Théorie**

La détection des *Coliphages* est réalisée en deux étapes :

- Utilisation du milieu TSB avec ensemencement de bactéries hôtes, avec une incubation de 16 à 24 h à 36 °C.
- Vérification de la présence des bactériophages par ensemencement superficiel de l'échantillon à analyser, même incubation.

Lorsque des *Coliphages* sont présents dans le milieu d'enrichissement, une zone claire appelée « zone de lyse » s'observe à travers le tapis de croissance à l'endroit où la goutte a été déposée. La zone de lyse est causée par les *Coliphages* de l'enrichissement qui infectent et font lyser les cellules bactériennes présentes dans le milieu de culture gélosé. On appelle couramment à cette procédure « spot-test ». Ce résultat final peut être obtenu environ 48 h après le début de l'analyse. (*Voir la norme MA.700 – Colph 1.0 pour plus de détails*).

5.6.6 Analyses bactériologiques rapides

Dans l'exploration spéléologique et dans les activités du canyon, il serait très intéressant d'avoir un moyen rapide de savoir si, dans les lieux d'activités, l'eau présente une conformité permettant la baignade et dans le cas de la spéléologie si elle est éventuellement potable...

Mais nous venons de voir que les analyses bactériologiques sont longues et nécessitent un matériel sophistiqué. Nous pouvons toutefois présenter une méthode qui raccourcit les temps d'analyse : le dosage électrochimique de l'oxygène dissout. Il peut nous informer sur l'état bactérien global cependant sans nous garantir l'absence de pathogénicité.

Pratiquement nous n'avons pas de solution rapide et efficace sur le terrain.

5.6.6.1 Au laboratoire

La culture des bactéries sur milieu liquide sélectif ou non-sélectif en tubes à essais individuels permet d'apprécier le nombre de bactéries par une mesure néphélométrique différentielle (milieu



stérile/milieu ensemencé) dans des temps bien déterminés (le développement des bactéries entraîne l'augmentation de la diffusion de la lumière dans le milieu et permet ainsi de suivre son évolution).

➤ Nous pouvons analyser les modifications physico-chimiques d'un milieu de culture en développement. Cette méthode a été mise en application dans un appareil qui est appelé *RABIT* (AES laboratoire). Le système va mesurer l'impédancemétrie (qui est définie comme la résistance d'un matériau conducteur traversé par un flux de courant alternatif) dans un tube de culture en milieu liquide, cette mesure se faisant dans des fractions de temps régulières, dans un bain-marie thermostaté, dans les tubes à essai contenant un milieu de culture, sélectif ou non-sélectif, ensemencés par l'échantillon à analyser.

L'évolution des paramètres va être enregistrée par un ordinateur qui donne la vitesse de croissance des bactéries, qui trace l'évolution de chaque tube en fonction du temps. Le métabolisme microbien conduit habituellement à une diminution de l'impédance du milieu et donc à l'augmentation de la conductivité. Dans chaque tube une électrode est en contact avec le milieu de culture dans lequel se développent les bactéries ensemencées par l'échantillon à analyser. À titre d'exemple, prenons l'évolution du glucose, chaque molécule de glucose fermentée va produire de l'acide lactique, ce qui va augmenter la conductivité et diminuer l'impédance. Cette méthode permet d'avoir des résultats quantitatifs rapide car elle donne l'évolution en temps réel. Elle est par contre peu qualitative.

5.6.6.2 La bioluminescence

La luminescence est le phénomène dans lequel une molécule excitée par l'absorption d'énergie retourne à son état initial en restituant cette énergie sous forme d'émission lumineuse. Si l'énergie absorbée vient d'une lumière extérieure au système, il s'agit d'une fluorescence ou de phosphorescence, par contre, si elle est issue d'une réaction chimique ou biologique, on parle de chimioluminescence.

Dans les réactions bioluminescentes les substrats mis en jeu sont d'origine biologique et la production de lumière se fait lors d'une réaction enzymatique. L'enzyme, la luciférase, catalyse l'oxydation d'un substrat, la luciférine, en présence ou non d'autres molécules (FMNH₂, ATP) ou les ions tel que le calcium.

De nombreux organismes vivants produisent ce type de luminescence (photo-bactérie, dinoflagellés, champignon, vers, crustacés, luciole...), et pour chacun une réaction enzymatique différente entre en jeu.

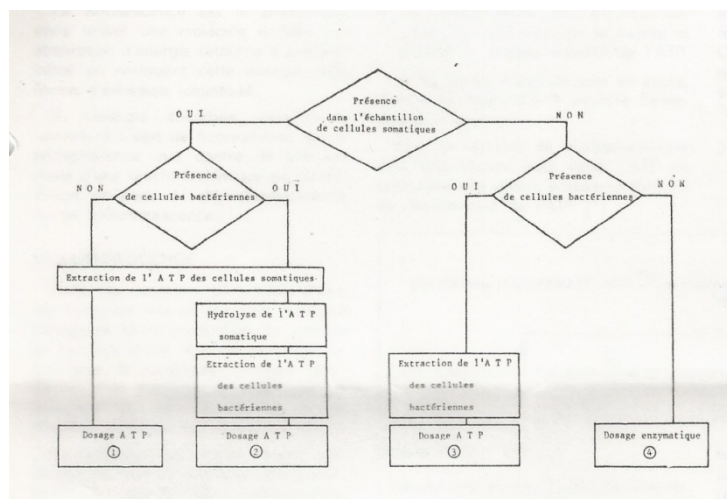
L'efficacité de l'émission est très importante et peut atteindre 95 à 100 % de l'ATP.

Dosage de l'ATP dans la bioluminescence

Le dosage de l'ATP par bioluminescence est instantané, dès lors que celui-ci est mis en présence de complexe luciférine/luciférase. Ceci nécessite sa libération totale des cellules par des réactifs appropriés.

5.6.6.3 Conclusion

Bien que le dosage de la bioluminescence donne une réalité de l'activité biochimique et microbiologique, elle n'est pas la garantie absolue de potabilité de l'eau, car elle est quantitative et non-qualitative.



5.7 CYANOBACTÉRIES

Les contaminations opportunistes environnementales peuvent changer rapidement dans un cours d'eau. L'évolution climatique apporte un risque supplémentaire qui fait apparaître des contaminations nouvelles par les déplacements des biotopes de la flore pathogène.

Nous allons étudier quelques cas de contaminations aquatiques pouvant être à l'origine de risques dans les activités canyon et spéléo.

5.7.1 Généralités

Les analyses effectuées dans *Four Windows Cave* par recherche phylogénétique sur ADNr du clone séquençage et en partie sur ARNr 16s ont déterminé la présence d'une cyanobactérie du genre et espèce *Synechococcus sp.*

Dans le gouffre de la Sambuy, il a été mis en évidence des genres non précisés de cyanobactéries en symbiose avec des fongiques. Pour les canyons on peut signaler que des lacs ont été considérés pollués en Auvergne, en Limousin et en Corse.

Embranchement *Cyanobacteria* ; Classe *Cyanophycées*

On connaît 150 genres et 7 500 espèces.

Caractéristiques

Elles sont photo-autotrophes et réalisent la photosynthèse oxygénique et peuvent donc transformer l'énergie solaire en énergie chimique utilisable par la cellule en fixant le dioxyde de carbone (CO₂) et en libérant du dioxygène. Certaines d'entre elles peuvent fixer l'azote atmosphérique dans leurs hétérocystes ce qui les rend très compétitives par rapport aux autres algues lorsque l'azote est insuffisant. Elles sont capables de consommer le carbone organique présent dans leur environnement. Elles sont constituées d'éléments appelés carboxysomes, cette structure contient la ribulose-diphosphate-carboxylase ou appelée aussi carboxydismutase.

Les pigments

La réalisation de la photosynthèse met en jeu un ensemble de pigments pour la photosynthèse qui sont : la chlorophylle(a), les caroténoïdes et des phycobiliprotéines ou pigments accessoires tels que la phycocyanine, la phycoérythrine et l'allophycocyanine. Cette composition en pigments, spécifique des cyanobactéries, leur permet d'exploiter le rayonnement solaire disponible sur une plus grande étendue de longueur d'onde comparativement aux autres algues, ainsi la photosynthèse est plus efficace même à faible intensité lumineuse. (Lavoie et coll. 2007). Ces différents pigments sont contenus dans une structure appelée phycobilisome ; cette structure protéique est aussi présente chez les algues rouges sous le nom de chloroplaste et chez certains dinoflagellés sous le nom de cyanelles. Cette structure de taille de 35 nm produit la photosynthèse de type II qui absorbe la lumière entre 565 et 670 nm.

Écologie

Leur population croissante, entre autres en France⁵¹, favorisée par des déséquilibres trophiques et écologiques, pose divers problèmes : obstruction des systèmes de filtration, coloration et parfois dystrophisations des eaux ou anoxies, avec métabolites secondaires donnant un mauvais goût à l'eau (géosimie, 2-méthylisobornéol, p-cyclocitral...) et parfois des toxicoses graves (une quarantaine d'espèces⁵² connues sécrètent ou contiennent des cyanotoxines qui sont généralement des neurotoxines pouvant affecter mortellement divers animaux, dont l'Homme). Ces toxines comptent parmi « les plus puissants poisons naturels connus »⁵³ et n'ont « pas d'antidote connu ».

Les propriétés thérapeutiques des bains de boue seraient dues en partie aux cyanobactéries. Certaines espèces comme la spiruline (*Arthrospira platensis*) sont utilisées comme complément alimentaire.



Cyanobactéries et cyanotoxines

Elles ont été trouvées dans *Four Windows Cave* sous le genre *Synechococcus sp.* et dans le gouffre de la Sambuy en symbiose avec des fongiques. Elles peuvent représenter un risque en canyionisme car elles sont toxicogènes.

Extrait de la publication de Julie VONARX « Cyanobactéries et Cyanotoxines »⁵⁴

« Diversité morphologique

Les cyanobactéries présentent une diversité morphologique importante. En effet on les retrouve :

- Soit sous forme unicellulaire isolée ou en colonies (Fig. 1)
- Soit sous forme de trichome qui correspond à un enchainement de cellules (thalle) sans gaine (Fig. 2)
- Soit sous forme de filament qui est un thalle avec gaine (Fig. 3)

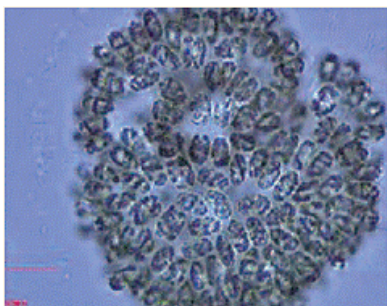


Fig. 1 : Cyanobactéries unicellulaire coloniale du genre *Woronichinia*.
(Photos de LUC BRIENT, université de Rennes 1)

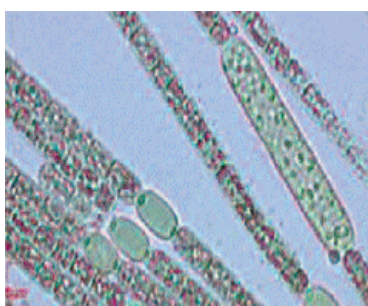


Fig. 2 : Cyanobactérie organisée en trichomes. Genre *Aphanizomenon*.
(Photos de LUC BRIENT, université de Rennes 1)

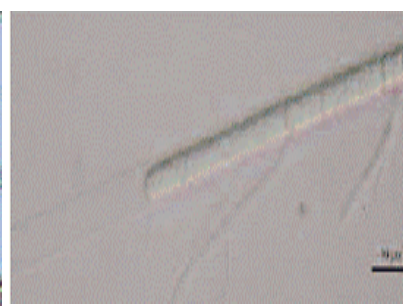


Fig. 3 : Cyanobactérie organisée en filament. Genre *Phormidium*.

Les cyanobactéries sont généralement distinguées en fonction de leurs caractéristiques morphologiques (taille des cellules, présence de gaine, couleur). Cependant, ces caractéristiques peuvent varier en fonction des conditions environnementales, ce qui peut rendre l'identification des espèces difficile. Celle-ci peut cependant être aidée par la présence ou non d'hétérocystes, cellules permettant la fixation de l'azote atmosphérique et donc conférant aux cyanobactéries la possibilité de se développer dans des milieux appauvris en azote inorganique.

Un autre type de cellule peut être observé, il s'agit d'akinètes. Ce sont des cellules de grande taille, à paroi épaisse et riche en réserves nutritionnelles. Les akinètes sont des formes de résistance qui permettent la survie des cyanobactéries sur les sédiments lorsque les conditions environnementales sont défavorables à leur maintien dans la colonne d'eau. Les cyanobactéries possèdent également des vacuoles de gaz qui leur permettent d'ajuster leur position dans la colonne d'eau en régulant leur flottaison. Ainsi dans la journée les cellules migrent en surface pour profiter au mieux de l'énergie lumineuse, alors que le soir elles vont plutôt avoir tendance à migrer en profondeur afin d'exploiter les nutriments qui s'y trouvent souvent en plus grande concentration. Cette variation de répartition est à prendre en compte lors de prélèvements. (Afsa/Afsset, 2006 ; Lavoie et coll 2007 ; Chorus and J. Bartram, 1999).

Écologie

Grâce à leur grande capacité d'adaptation les cyanobactéries sont capables de coloniser un grand nombre de milieux terrestres et aquatiques (eaux douce et salée). Certaines espèces sont adaptées à des environnements extrêmes tels que glaciers, sources chaudes ou cendres volcaniques car elles peuvent supporter des températures extrêmes, des pH faibles ou encore des conditions variables d'éclairement. Par conséquent, la lumière est un des facteurs essentiels à leur développement. Cependant certaines espèces peuvent survivre dans des conditions d'obscurité totale pendant de longues périodes (vie karstique).

En milieu aquatique, les cyanobactéries sont soit planctoniques ou encore pélagiques si elles prolifèrent en suspension dans une colonne d'eau, soit benthiques quand elles se développent fixées à un support (Afssa/Afsset, 2006 ; Lavoie et coll. 2007 ; Chorus and J. Bartram, 1999).

Croissance et prolifération

La multiplication des cyanobactéries est végétative, c'est-à-dire asexuée. Celle-ci s'effectue par bourgeonnement ou par divisions multiples. Dans des conditions environnementales favorables, les cyanobactéries peuvent connaître des phases de prolifération importante appelées efflorescence ou bloom. Le plus souvent il se forme alors en surface des agrégats flottants appelés « fleurs d'eau », écume ou mousse. Ces bloom sont souvent corrélés à un processus d'eutrophisation, c'est-à-dire à l'enrichissement du milieu en nutriments.

C'est pourquoi un des facteurs principaux favorisant ces proliférations est la présence de phosphore sous forme orthophosphate, d'azote et de fer en concentration élevée. En effet les cyanobactéries présentent plus d'affinités pour le phosphore que les autres algues (Blais, 2002).

Les autres facteurs influençant les proliférations sont :

- La stabilité des colonnes d'eau.
- Les conditions météorologiques : température (air, eau à 15-30 °C) et luminosité (intensité lumineuse modérée).
- Les conséquences de l'eutrophisation. En effet lors de ce processus, certaines cyanobactéries sont capables d'utiliser le sulfure d'hydrogène qui se forme et qui est toxique pour la plupart des organismes. Elles peuvent également survivre dans des conditions de faible oxygénation et de faible disponibilité en lumière, conditions défavorables aux autres algues. Il survient alors un déséquilibre dans la composition du phytoplancton qui laisse place aux cyanobactéries (Lavoie et coll.).

La prolifération des cyanobactéries a de multiples conséquences au niveau de l'environnement qui sont :

- Une coloration inhabituelle de l'eau avec un dégagement olfactif important.
- Une perturbation de l'écosystème à plusieurs niveaux :
 - déséquilibre entre les différentes communautés de phytoplancton,
 - mortalité des poissons à cause de leur toxine, de la diminution en oxygène du milieu et de la hausse du pH. Ces mêmes toxines sont responsables de la mortalité d'oiseaux et d'animaux domestiques ou sauvages par abreuvement dans une eau contaminée ou par consommation d'aliments contaminés (mollusques, poissons).

Les cyanotoxines

Les cyanotoxines sont des endotoxines de structures variées. Elles sont synthétisées par des cyanobactéries en phase de croissance et se retrouvent dans l'eau lors de la mort ou de la lyse cellulaire. Une même toxine peut être produite par des espèces différentes et une même espèce peut produire des toxines différentes (Tab. 1). De plus la quantité de toxines produite est très variable au sein d'une espèce et elle est fonction des conditions environnementales. On peut toutefois estimer que pour une même espèce de cyanobactéries on aura une proportionnalité entre le nombre et le taux de toxine présente.

Nom	Toxine
<i>Anabaena circinalis</i>	Anatoxines, Saxitoxines, microcystines
<i>Anabaena planctonica</i>	Anatoxine a
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Anatoxine a, saxitoxines
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Cylindrospermopsine, saxitoxines
<i>Lyngbya gracilis</i>	Debromoaplysiatoxines
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Microcystines
<i>Oscillatoria sp</i>	Anatoxines a
<i>Planktothrix agardhii</i>	Microcystines
<i>Planktothrix rubescens</i>	Microcystines

Raphidiopsis sp.	Cylindrospermopsine
Woronichinia naegeliana	Anatoxines a

Tab. 1 : Liste de quelques-unes des espèces de cyanobactéries potentiellement toxiques et des toxines associées ayant déjà été observées en France (AFFSA/AFFSSET, 2006)

Les toxines

Il existe plusieurs types de toxines que l'on peut classer soit en fonction de leur mode d'action, soit en fonction de leur structure.

Les hépatotoxines

Ce sont les toxines les plus fréquemment rencontrées lors de proliférations. On distingue trois grandes familles (AFFSA/AFFSSET, 2006) qui sont :

➤ Les **microcystines**, peptide cyclique de sept acides aminés. On distingue plus de 80 variants de masse moléculaire comprise entre 800 et 1 100 daltons. Les variantes proviennent majoritairement de substitution d'acide aminé en position 2 et 4 ou bien du retrait/ajout d'un groupement méthyle sur les acides aminés 3 et 7. Les microcystines sont solubles dans l'eau et très stable dans l'environnement. Comme le montre le tableau 2, la toxicité (ici exprimée en DL50) est variable en fonction du type de microcystine. La microcystine LR (pour leucine en 2 et arginine en 4) étant la plus toxique en intra péritonéale. Si l'on considère la voie orale, on obtient une DL50 chez la souris de plus de 5 000 µg/kg.

Microcystine	X	Z	DL ₅₀ , voie IP
MC-AR	alanine	arginine	250 µg
MC-FR	phénylalanine	arginine	250 µg
MC-HIR	homoisoleucine	arginine	100 µg
MC-HyR	homotyrosine	arginine	80-100 µg
MC-LA	leucine	alanine	50 µg/l
MC-LR	leucine	arginine	50 µg/l
MC-LY	leucine	tyrosine	90 µg/l
MC-M(O)R	méthionine sulfoxyde	arginine	700-800 µg
MC-RR	arginine	arginine	500-800 µg
MC-WR	tryptophane	arginine	150-200 µg
MC-YA	tyrosine	alanine	60-70 µg
MC-YM(O)	tyrosine	méthionine sulfoxyde	56-110 µg
MC-YR	tyrosine	arginine	150-200 µg

Tab. 2 : DL50 des différentes microcystines (Tiré de JAEG 2007). IP : intra péritonéale

➤ Les **nodularines** sont des peptides cycliques de cinq acides aminés. On distingue neuf variants en fonction de la position des méthylations. Elles sont très proches des microcystines, même gamme de poids moléculaire et propriétés physico-chimiques identiques.

➤ La **cylindrospermopsine** est un alcaloïde de 415 daltons. Il en existe deux variants, un non toxique et un toxique avec une DL 50 après injection intra péritonéale chez la souris de 2,1 mg/kg. C'est une molécule très polaire et soluble dans l'eau.

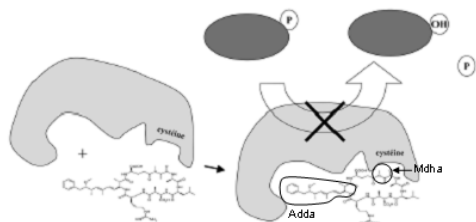


Fig. 1 : Fixation de la microcystine LR sur la protéine phosphatase

La toxicité des hépatotoxines peut s'expliquer selon le mécanisme suivant : les microcystines et la nodularine une fois ingérées se retrouvent concentrées dans les hépatocytes par un mécanisme de transport d'anions organiques comme les acides biliaires. En effet les microcystines possèdent des propriétés physico-chimiques peu favorables à la diffusion passive à travers les membranes cellulaires, celle-ci étant possible mais assez faible. Après une administration orale, l'absorption

des microcystines se fait surtout au niveau de l'iléon, partie du tube digestif riche en transporteurs d'anions organiques.

Une fois dans la cellule les hépatotoxines se lient aux protéines phosphatases 1 et 2a, entraînant leur

inhibition. La fixation des microcystines sur les protéines phosphatases se fait en deux étapes (Fig. 5). Tout d'abord il y a formation d'interactions de faible énergie type Van der Waals et électrostatiques ce qui permet un rapprochement entre l'acide aminé Mda (méthyl-déhydro-alanine) de la toxine et la cystéine 273 de la PP1 ou 266 de PP2A. Ceux-ci vont alors réagir et former une liaison covalente. Suite à cette liaison l'acide aminé Adda (acide 3-amino-9-méthoxy-2-6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-dinéoïque) se retrouve dans un sillon hydrophobe de la partie catalytique de l'enzyme ce qui entraîne son inactivation.

Les conséquences de cette inhibition sont nombreuses car les PP1 et PP2A déphosphorylent des résidus sérine ou thréonine de nombreuses protéines dont l'actine et la cytokératine, protéines du cytosquelette de la cellule. L'hyperphosphorylation des protéines cellulaires entraîne donc la désorganisation du cytosquelette et la disparition des jonctions cellulaires ce qui se traduit au niveau macroscopique par :

- La destruction progressive de la structure des hépatocytes et du parenchyme hépatique conduisant à la nécrose.
- Des hémorragies.

La microcystine est également responsable de l'apparition d'un stress oxydatif à l'intérieur des cellules avec pour conséquences une diminution du glutathion réduit, une peroxydation des lipides et des cassures de l'ADN. Au niveau clinique, une intoxication chronique par des hépatotoxines se traduit par des modifications histopathologiques du foie et une élévation des enzymes hépatiques. Des études épidémiologiques ont également mises en évidence une relation entre la présence de microcystine dans l'eau de boisson et le développement de cancers hépatiques et colorectaux. Ces résultats ont été confirmés par des études de cancérogenèse qui montrent que la microcystine serait un promoteur de tumeur plutôt qu'un initiateur. En effet la microcystine ne semble pas être directement génotoxique : les lésions d'ADN observées seraient la conséquence du stress oxydatif. De plus il a été démontré que les microcystines inhibent la réparation des lésions de l'ADN.

Il a également été montré lors d'études sur la reproduction et le développement chez la souris, une embryotoxicité aux doses qui entraînent une toxicité sévère chez la mère. Cela se traduit au niveau du fœtus par une réduction de la taille du cerveau (hydrocéphalie), un retard de croissance et d'ossification.

Si l'on considère la toxicité par inhalation, autre voie possible d'exposition de l'Homme, il a été observé une nécrose de l'épithélium nasal suite à l'exposition à la microcystine LR. En conclusion la toxicité des microcystines et des nodularines est assez complexe et s'exprime différemment en fonction de la structure et de la dose. Par exemple à fortes doses elles entraînent la mort cellulaire alors qu'à faibles doses elles provoquent plutôt une prolifération cellulaire (JAEG, 2007 ; Groupe scientifique sur l'eau, 2004 ; CHORUS and J. BARTRAM, 1999).

La cylindrospermopsine quant à elle, inhibe la synthèse de protéines de façon non spécifique. Les organes les plus touchés sont les reins et le foie. Cependant d'autres organes peuvent être affectés comme les poumons, les surrénales, l'estomac, le pancréas et les intestins.

Symptomatologie

Ces proliférations ont également un impact sur la santé humaine (les mécanismes de la toxicité sont explicités dans le paragraphe suivant). En effet, une exposition aux efflorescences de cyanobactéries peut entraîner des troubles cutanés ou des muqueuses et un risque sanitaire important en cas d'ingestion, inhalation ou exposition par dialyse aux toxines. Ainsi il a été décrit (LEFEUVRE et al. 2004) :

- des cas de gastroentérites, affections hépatiques, des troubles rénaux et une augmentation de l'incidence de cancers colorectaux et hépatiques lors d'une exposition par l'eau de boisson ;
- des cas d'éruption cutanée, d'allergies, de nausées, vomissements, diarrhées, de douleurs musculaires, maux de tête, pneumonie et conjonctivites lors d'une exposition à l'occasion de baignades ou d'activités nautiques.

La plupart des cas signalés d'intoxication, parmi lesquels des cas graves, résultent d'une exposition à



de l'eau de boisson. Les symptômes observés sont :

- douleurs abdominales, nausées, vomissements, diarrhée, taux élevé d'enzymes hépatiques dans le sérum, étourdissements, fatigue ;
- mal de gorge, toux sèche, céphalées, pneumonie atypique ;
- ulcères de la bouche ;
- symptômes du rhume des foins, irritation de la peau et des yeux.

Chez l'Homme, des cas de céphalées, parfois accompagnées de malaises et de troubles digestifs ont été rapportés, cependant, aucun cas mortel n'a été signalé en France Métropolitaine (Organisation mondiale de la Santé, 2004).

Enfin ces proliférations entraînent des difficultés dans le traitement de potabilisation de l'eau contaminée (colmatage des filtres, élimination des toxines) (AFSSA/AFSSET, 2006 ; CHORUS and J. BARTRAM, 1999).

Neurotoxines

Elles sont regroupées en trois familles qui sont (AFSSA/AFSSET, 2006) :

- Les **anatoxines**, alcaloïdes parmi lesquels on trouve :
 - L'anatoxine (a), amine secondaire de 165 daltons, soluble dans l'eau, peu stable et rapidement dégradée dans l'environnement. Chez la souris sa DL50 est de 250 µg/kg en intra péritonéale et de plus de 5 000 µg/kg par voie orale.
 - L'anatoxine (a)(s) est un ester de phosphate de 252 daltons, instable au pH alcalins et à la chaleur. Sa DL50 chez la souris par voie intra péritonéale est de 20 µg/kg.
- Les **saxitoxines** qui forment une famille de 25 variantes d'alcaloïdes à noyau tétrahydropuriques. Leur poids moléculaire varie de 241 à 491 daltons. Elles sont très stables dans l'eau.
- La **BMAA** ou β-méthylamino-L-alanine, molécule de type acide aminé.

Les neurotoxines ciblent la jonction neuromusculaire avec un mode d'action spécifique à chaque famille. L'anatoxine (a) est un agoniste des récepteurs à l'acétylcholine. L'acétylcholine étant le neurotransmetteur principal de la jonction neuromusculaire, l'anatoxine entraîne donc une dépolarisation de la jonction neuromusculaire qui se traduit par des fasciculations musculaires, des convulsions et l'apparition d'une détresse respiratoire. L'acétylcholine intervient également dans la transmission de l'influx nerveux au niveau de synapses du système nerveux central et périphérique. Elle subit normalement une dégradation permanente par l'acétylcholinestérase qui ne peut en revanche dégrader l'anatoxine (a), entraînant alors son accumulation. Ceci a pour conséquence l'apparition d'un syndrome cholinergique et en particulier des troubles psychiques, une faiblesse musculaire et une activité sécrétoire excessive.

L'anatoxine (a)(s), quant à elle inhibe spécifiquement l'acétylcholinestérase. L'acétylcholine n'est alors plus suffisamment dégradée. Elle s'accumule et provoque une stimulation excessive des récepteurs cholinergiques. Les effets induits sont similaires à ceux qui sont observés avec l'anatoxine (a) (syndrome cholinergique). L'anatoxine (a)(s) est cependant dix fois plus toxique pour l'animal que l'anatoxine (a).

Les anatoxines n'ont pas montré d'effet embryotoxique lors d'étude sur la reproduction excepté aux doses entraînant une toxicité sévère chez la mère (retard de croissance et malformations).

Pour ce qui est des saxitoxines, celles-ci inhibent la transmission nerveuse en bloquant les canaux sodiques. Ce qui a pour conséquences un syndrome PSP (Paralytic Shellfish Poison). Les symptômes observés chez un animal intoxiqué sont des tremblements, une suffocation, des convulsions et un opisthotonos (JAEG, 2007 ; Groupe scientifique sur l'eau, 2004 ; CHORUS and J. BARTRAM, 1999).

Un autre mécanisme de neurotoxicité a été observé pour la BMAA qui agit comme un agoniste du récepteur glutamate. Le glutamate étant un neurotransmetteur excitateur, la BMAA entraîne également une excitation des neurones qui y répondent.



Les molécules à effets irritants

Il en existe de deux types :

- Des alcaloïdes dermatotoxiques comme l'aplysiatoxine, la debroaplysiatoxine et la lyngbyatoxine-a. Ces molécules ont été identifiées dans les eaux de mer mais pas encore dans les eaux douces.
- Les lipopolysaccharides (LPS) constitutifs de la paroi cellulaire, présents dans toutes les espèces de cyanobactéries. Ils pourraient également être responsables d'effets gastro-intestinaux en cas d'ingestion ainsi que d'irritation et d'inflammation des voies aériennes supérieures (BLAIS, 2002).

Facteurs influençant la production des toxines

Parmi les facteurs qui influencent la production des cyanotoxines, on peut citer :

- **La croissance cellulaire** : il semble qu'il y ait une corrélation linéaire entre le taux de division cellulaire et la concentration intracellulaire en microcystine chez **M. aeruginosa**. Le taux de microcystine serait maximal durant la phase exponentielle de croissance et diminuerait à la fin de celle-ci (LAVOIE et coll., 2007).
- **L'intensité lumineuse** : il existe une corrélation positive entre la lumière et la production de toxines. Tant que la lumière n'est pas en excès, elle stimule la croissance et donc la production de toxines jusqu'à un certain niveau d'éclairement. En effet, lorsque la lumière devient en excès cette production diminue. Une augmentation de l'intensité lumineuse peut également induire des changements dans la composition des microcystines. Ainsi il a été démontré que la variante la plus toxique (MC-LR) était produite en plus grande quantité par **Planktothrix agardhii** sous de fortes intensités lumineuses. Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que la lumière contrôle la transcription du gène *mcy*, responsable de la production de toxines (LAVOIE et coll., 2007) ; MSAGATI and al., 2006).
- **Les nutriments et le fer** : le contenu cellulaire en microcystine serait plus fortement corrélé à la quantité d'azote total que de phosphore total. Une augmentation d'azote entraîne une augmentation de la concentration en microcystine ainsi qu'une augmentation du nombre de cyanobactéries toxiques. Le phosphore aurait donc une influence négligeable sur le contrôle des microcystines par les cellules, cependant les résultats des auteurs divergent et en particulier sur la détermination de la ration N/P qui aurait une incidence sur la concentration de microcystines. Pour ce qui est du fer, les auteurs présentent également des résultats contradictoires (LAVOIE et coll., 2007).
- **Effet du zooplancton** : il a été observé une augmentation de la production de microcystine par *Microcystis* lors d'une exposition directe au zooplancton (LAVOIE et coll., 2007).
- **Température, pH** : la température optimale de production de toxines s'étend de 15 à 25°C, selon les espèces. Par exemple aux températures inférieures à 25°C, **Anabaena sp.** produit de la microcystine LR plutôt que de la microcystine RR, qui est préférentiellement produite à des températures supérieures (LAVOIE et coll., 2007 ; MSAGATI and al., 2006). »

Aspects réglementaires de la qualité des eaux

Eaux de baignade

Au sein de l'Union européenne la qualité de l'eau des zones de baignade et sports nautiques est régie par la directive européenne 76/160/CEE adoptée en 1976 et transposée en droit français par le Code de la santé publique (livre III, articles L.1332). Cette directive ne comporte pas de cadre réglementaire pour la surveillance sanitaire des cyanobactéries ou cyanotoxines. En 2003 des recommandations de surveillance et de gestion de phénomènes de prolifération de cyanobactéries dans des eaux de baignade ont été publiées par la Direction générale de la santé (circulaire DGS/SD7A 2003/270(34), 2004/364(35), 2005/304(36)) sur la base d'un avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (avis du CSHPF du 6 mai 2003). Cet avis reprend l'avis de l'OMS de 1999 qui prévoit trois niveaux d'alerte relatifs aux cyanobactéries et les mesure à prendre pour chaque niveau (tableau 3). Des précisions ont été apportées dans l'avis du CSHPF du 6 juillet 2005. Les gestionnaires de sites ou le maire concerné doivent mettre en place un système de surveillance

renforcée pour les sites à risque (sensibles à l'eutrophisation, ayant déjà présenté des proliférations de cyanobactéries ou présentant une forte fréquentation) et un système de surveillance visuelle pour les autres sites (circulaire DGS/SD7A 2003/270, 2004/364, 2005/304).

La surveillance renforcée est basée :

- sur une observation visuelle ;
- sur la mesure de la turbidité ou observation au disque de Secchi ou la mesure du pH ;
- le dosage de chlorophylle (a) est possible mais utilisable que si les cyanobactéries sont majoritaires (confirmation par des observations microscopiques).

Tout changement des caractéristiques du milieu en faveur d'une prolifération doit conduire le gestionnaire du site à effectuer des prélèvements d'eau pour une observation microscopique. Si les cyanobactéries sont absentes ou présentes mais minoritaires, la surveillance renforcée est reconduite. Si les cyanobactéries sont présentes et majoritaires alors le dispositif décrit dans le tableau 3 est déclenché.

Niveau	Nombre de cyanobactéries et teneur en microcystine LR	Recommandations
Niveau 1	Nombre < 20 000 cellules/ml \pm 20 %	<u>Gestion</u> : informations du public au niveau des zones d'écume ou d'efflorescence. <u>Surveillance</u> : journalière renforcée et réalisation d'un comptage et d'une identification au moins bimensuelle.
	Nombre compris entre 20 000 et 100 000 cellules/ml \pm 20 %	<u>Gestion</u> : informations du public au niveau des zones d'écume ou d'efflorescence et des zones d'usages. <u>Surveillance</u> renforcée quotidienne, comptage et identification hebdomadaire.
Niveau 2	Nombre de cellules > 100 000 cellules/ml \pm 10% et taux de microcystine LR < 25 μ g/l	<u>Gestion</u> : limitation de la baignade dans les zones les plus concentrées, informations du public. <u>Surveillance</u> : poursuite du suivi hebdomadaire.
	Nombre de cellules > 100 000 cellules/ml et taux de microcystine LR > 25 μ g/l	<u>Gestion</u> : interdiction de la baignade et limitation des activités nautiques, informations du public. <u>Surveillance</u> : poursuite du suivi hebdomadaire.
Niveau 3	Présence de mousse ou d'écume	<u>Gestion</u> : interdiction de la baignade et de toutes les activités nautiques, prévenir tout contact de personnes ou d'animaux avec les écumes, informations du public. <u>Surveillance</u> : suivi de l'évolution des mousses ou écume et de leur localisation, poursuite du suivi hebdomadaire, suivi des concentrations en toxines au moins bimensuel.

Tab. 3 : Recommandations de gestion et de surveillance en fonction du niveau de contamination par les cyanobactéries.

Eau potable

L'OMS propose une concentration maximale acceptable de 1 μ g/l de microcystine LR. Dans un premier temps, cette valeur a été reprise en France dans le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles, qui est la transcription de la directive européenne n°98/83/CE. Il y est indiqué que la recherche de microcystine LR doit être effectuée en cas de prolifération dans les eaux brutes.

Aujourd'hui, dans l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R.1321-2, R.1321-3, R.1321-7 et R.1321-38 du Code de la santé publique, il est mentionné que c'est le "total microcystines", c'est-à-dire la somme de toutes les microcystines détectées et quantifiées, qui doit

être inférieur à 1 µg/l pour les eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux conditionnées. »

5.7.2 Analyses des cyanotoxines

Les méthodes d'analyses peuvent être départagées en méthodes de criblage qui sont généralement très sensibles mais peu sélectives et en méthodes de confirmation qui sont très sélectives et présentent une sensibilité appréciable.

- Méthodes de ciblage : on trouve les bio-essais sur différents organismes, la méthode immunologique ELISA et différentes méthodes enzymatiques utilisant les propriétés biochimiques des cyanotoxines.
- Méthodes de confirmation : principalement des variantes de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée avec différentes méthodes de détection dont la plus performante est la spectrométrie de masse, qui elle-même présente une pluralité de types d'analyseurs.

5.7.3 Cyanobactéries du monde souterrain

Dans les prélèvements réalisés dans le gouffre de Sambuy en Savoie, il a été relevé des cyanobactéries en symbiose avec des fongiques mais il n'y a pas eu de détermination de genres ni d'espèces. Nous allons présenter quelques exemples de cyanobactéries potentiellement présentes dans le sol et les cavités souterraines.

5.7.3.1 Division *Shizophyta* (anciennement *Myxophyceae*)

Ce sont des cyanobactéries représentées dans les sols. Leur classement a été longtemps discuté. Ces algues appartiennent aux bactéries, leurs cellules ne possèdent pas de noyau défini, mais un corps central qui n'a pas le caractère habituel d'un noyau. La chlorophylle est accompagnée par d'autres pigments, généralement la phycocyanine bleue, la membrane est gélatineuse. Les algues ressemblent en ce qui concerne la dissémination aux champignons thallosporés. On les trouve abondamment dans les limons humides.

- **Ordre *Nostocales* ; Famille *Nostocaceae* ; Genre *Nodularia* (Nodule)**



Ils ressemblent souvent aux algues, mais peuvent vivre sur des substrats terrestres en colonies importantes, et alors former des masses gélatineuses évoquant certaines algues, notamment lorsque leurs structures se gonflent d'eau après la pluie ou en période humide. Ce sont des espèces pionnières, qui peuvent vivre sur des milieux pauvres et basiques. Formant parfois de véritables tapis, des nodules ou des boules, atteignant en zone polaire plusieurs centimètres de diamètre, elles jouent localement un rôle très important en matière de protection des sols contre l'érosion éolienne, hydrique et la déshydratation sur certains sols en pente ou semi-désertiques.

Ce sont des bactéries trichomes, avec une division diffuse et désarticulation sans hormogonies^g, mobilité par glissement. Hétérocystes^h intercalaires et akinètesⁱ.

g/ hormogonies : formes de multiplication asexuée. Ce sont des groupes de cellules qui s'échappent à l'extrémité de la gaine de certaines formes de cyanobactéries filamenteuses ou qui résultent de la germination d'akinètes. Les hormogonies peuvent être mobiles ou immobiles.

h/ hétérocyste (du grec [*heteros*] différent, et [*cystis*] sac) : cellules fixatrices d'azote, transparente, à paroi épaisse, qui se forme dans les filaments de certaines cyanobactéries. La paroi est épaisse pour limiter la diffusion de l'oxygène, car la nitrogénase (complexe fixant l'azote) y est sensible.

➤ **Ordre Nostocales ; Famille Oscillatoriaceae ; Genre Oscillatoria**

Oscillatoria



Genre de cyanobactéries filamenteuses portant le nom de l'oscillation due à leurs mouvements. Ces filaments permettent aux colonies de glisser l'une contre l'autre jusqu'à ce que toute la masse soit réorientée par rapport à la source de lumière. Il se trouve couramment dans les eaux et est principalement bleu-vert ou brun-vert. Oscillatoria est un organisme qui se reproduit par fragmentation.

5.7.3.2 Sous Règne Eoza ; Embranchement Euglenzoa ; Famille Euglenophyceae

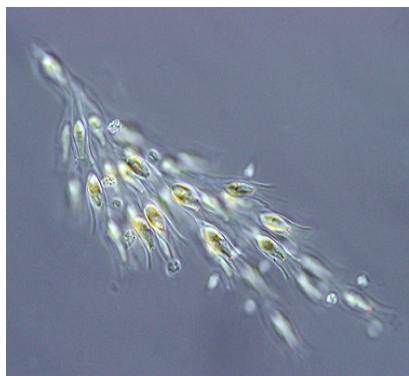
Famille Euglenophyceae



Algues dont les représentants forment la transition avec les protozoaires. Beaucoup d'espèces sont unicellulaires et possèdent des flagelles, elles sont donc douées de mobilité. Elles possèdent de la chlorophylle qui leur donne une teinte verte. On a décrit beaucoup d'Euglènes dans le sol, mais elles sont plus aquatiques que terrestre.

5.7.3.3 Division Stamenopiles ; Embranchement Ochrophyta ; Famille Chrysophyceae

Famille Chrysophyceae



Algues dont le pigment vert est masqué par des pigments jaunes ou rougeâtres. Elles ont relativement peu de représentants dans le sol. Une chrysophycée possède généralement deux flagelles situés à l'une des extrémités de la cellule. Elles sont toutes photosynthétiques. Dans cette famille on a :

- *Dinobryon*, vivant en colonies en eau douce.
- **Uroglena apiculata** : le lac Léman en a connu un développement exceptionnel en 1999.

5.7.4 Toxicité des cyanobactéries du monde souterrain

Il existe des algues qui ont été signalées comme toxiques par la littérature américaine :

➤ **Genre *Nodularia spumigena***

Genre de filamenteux appartenant aux cyanobactéries fixatrices d'azote. Algue bleu-vert, elles prolifèrent principalement dans les eaux saumâtres ou salines. Certaines souches produisent une cyanotoxine appelé nodularine R, qui est nocive pour l'Homme.

i/ akinète : cellule dormante aux parois épaisses dérivée du grossissement d'une cellule végétative. On la trouve chez les cyanobactéries et chez les algues vertes unicellulaires et filamenteuses. Un grossissement au microscope d'une akinète montre une cellule aux parois épaisses et au cytoplasme d'aspect granuleux.

➤ **Embranchement Cyanobactéries ; Ordre Oscillatoriales ; Genre Pseudanabaena**



Pseudanabaena

Trichome droit à cellules iso-symétriques ou cylindriques mobiles et sans gaine. Les cellules possèdent des vacuoles de gaz polaires, elles sont séparées par des constriction profondes. La reproduction se fait par fragmentation trans-cellulaire ou intercellulaire du trichome. L'ADN(C+G) est de 44 à 53 mol %.

Cette cyanobactérie est toxique, sa toxine est un alcaloïde neurotoxique.

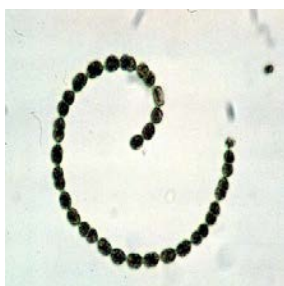
➤ **Espèce *Aphanizamenon flos-aquae***

Espèce d'eau douce de cyanobactéries. ***Aphanizomenon flos-aquae*** a des formes toxiques et non toxiques. La plupart des sources dans le monde entier sont toxiques, contenant des hépato-toxines et neuro-endotoxines (aphantoxine et saxitoxine). Elle croit dans de nombreuses régions du monde.

➤ **Espèce *Coelosphaerim kuetzingianum***

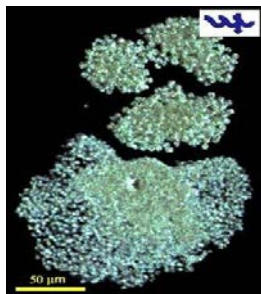
Cyanobactérie reconnue toxique mais son potentiel toxique est encore mal cerné. Elle fait partie d'un groupe d'au moins une trentaine d'espèces de cyanobactéries qui pourraient synthétiser des cyanotoxines dont la nature moléculaire n'a pas été confirmée. On peut la trouver dans des eaux contaminées par d'autres cyanophycées ou microcystines.

➤ **Espèce *Anabaena flos-aquae***



Ces cyanobactéries sont connues pour leur capacité à fixer l'azote et elles forment une relation de symbiose avec certaines plantes, telles les fougères aquatiques (du genre Azolla). Pour cette raison ce sont des organismes de laboratoires qui ont été utilisés pour étudier la capacité de certains polluants (pétroliers notamment) à inhiber la fixation de l'azote (ou d'ailleurs d'autres gaz). C'est l'un des quatre genres de cyanobactéries produisant des toxines (anatoxine a), alcaloïdes neurotoxiques, pouvant dans certaines conditions s'avérer dangereuses tant pour la vie sauvage ou pour les animaux d'élevage et les animaux de compagnie.

➤ **Espèce *Microcystis flos-aquae***



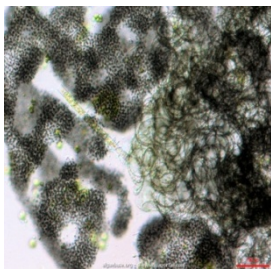
Microcystis flos-aquae

**Division Cyanobactérie ; Embranchement Oscillatoriothyraceae
Ordre Chroococcales**

Bactéries unicellulaires ou en agrégats qui n'ont pas de filaments. Elles ont une fission binaire en trois plans symétriques ou non. Parfois elles ont un bourgeonnement. Cellules coccoïdes en paires ou en agrégats, capsules amorphes.

Présence de toxines (microcystine) qui est un peptide hépatotoxique.

➤ Espèce *Microcystis aeruginosa*



Cyanobactérie d'eau douce commune dans les zones tropicales, on la trouve également dans les zones méditerranéennes et en Allemagne. Cette algue bleu verte est responsable de la contamination des lacs (elle préfère les eaux relativement stagnantes, sans trop de courant), en particulier lorsqu'il y a une exposition prolongée aux UV dans une période chaude comme l'été. Elle supporte des milieux divers, depuis l'eau acide et très douce jusqu'à l'eau saumâtre dans des lagunes. **Microcystis aeruginosa** est du phytoplancton mésophile. Elle produit une mycotoxine qui est un peptide hépatotoxique.

La littérature relatant la toxicité des algues remonte à 1878. Depuis cette époque ce type d'intoxication a été signalé à plusieurs reprises aux États-Unis d'Amérique, au Canada et dans d'autres parties du monde, pour des animaux qui buvaient de l'eau contenant de grande quantité d'algues.

Ceci se produit dans les temps chauds et secs, lorsqu'un il y a un changement de vents dominants qui concentrent les algues en suspension.

5.7.5 Cyanobactérie de *Four Windows Cave*

Synechococcus sp. a été identifiée dans *Four Windows Cave*.

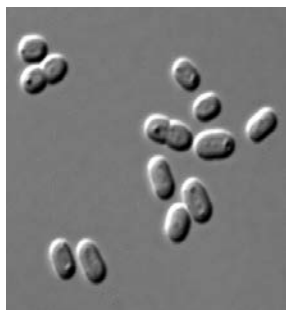
Division *Cyanobacteria* ; Classe *Cyanophyceae*

Ordre *Synechococcales* ; Famille *Synechococcaceae*

Genre *Synechococcus* (appartenant à la classe des cyanobactéries)

Étymologie : du grec [*Synechos*] (suite) et [*Kokkos*] (sphère).

Synechococcus sp



Morphologie : bactérie Gram(-), unicellulaire nanoplanctonique ou par agrégats avec capsule amorphe, de la taille de diamètre <math>< 3 \mu\text{m}</math>. Elles peuvent être mobile bien que dépourvues de flagelles et de cils. Reproduction par bourgeonnement.

Caractéristiques : en aérobic elle fixe l'azote atmosphérique (azototrophe). Lorsque cette bactérie n'a pas la possibilité d'utiliser l'air comme source d'azote elle utilise l'azote organique comme l'ammoniaque, l'urée ; elles sont photoautotrophe ; elles supportent un pH entre 6,5 et 10 avec un optimum de 8,5 ; il y a une forte différence dans les espèces au niveau génétique avec une valeur de G+C de 39 % à 71 % de mol)⁵⁵ ce qui rend l'identification délicate.

Ce genre regroupe les cyanobactéries les plus abondantes dans le milieu marin, elles peuvent atteindre de 1 000 à 20 000 cellules/ml d'eau de mer, voir localement un million de cellules/ml et leur génome serait le plus abondant sur la planète⁵⁶. Bien qu'elles aient été longtemps méconnues en raison de leur taille minuscule, elles dominent quantitativement le phytoplancton (elles sont proches parentes du genre *Prochlorococcus*).

Pigmentation

Comme pour les cyanobactéries, le *Synechococcus* a pour principal pigment photosynthétique la chlorophylle (a), avec divers associations « accessoires » (phycobiliprotéines) qui peuvent être synthétisés par ces bactéries⁵⁷. Les quatre phycobilines communément reconnues sont la phycocyanine, l'allophycocyanine A, l'allophycocyanine B et la phytoérythrine⁵⁸.

En outre *Synechococcus* synthétise aussi de la zéaxanthine (également trouvée chez le genre proche *Prochlorococcus*, chez les algues rouges).



Écologie et distribution

Ces bactéries sont plus abondantes dans les milieux eutrophes (riches en éléments nutritifs) que dans l'océan oligotrophe et elles préfèrent la partie supérieure bien éclairée de la zone euphotique. Quelques pullulations ont été observées dans des eaux peu salées ou froides.

Elles sont présentes dans les zones riches en nutriment comme les bassins versants sous-marins côtiers du plateau continental⁵⁹. Les cyanobactéries du genre *Synechococcus* sont généralement assez homogènes et bien réparties dans la couche en surface. Sous la couche profonde, les concentrations cellulaires diminuent rapidement. Les profils sont toutefois fortement influencés par les conditions hydrologiques et peuvent fortement varier avec les saisons. Globalement, l'abondance de *Synechococcus* est souvent parallèle avec celle des *Prochlorococcus* dans la colonne d'eau.

Contrôle de l'écosystème : il existe un virus bactériophage qui contrôle le développement bactérien des cyanobactéries du genre *Synechococcus*.



Pathologie

Aucune pathologie n'a été à ce jour signalée, mais le peu de connaissance actuelle sur cette flore, principalement maritime, ne nous autorise pas à la considérer sans risque de posséder des endotoxines, comme cela est le cas pour les cyanobactéries.

5.7.6 Cyanobactéries et Sclérose Latérale Amyotrophique

La sclérose latérale amyotrophique (SLA), également appelée, dans le monde francophone, maladie de Charcot, est une maladie neurodégénérative des motoneurons de l'adulte. Elle est caractérisée par une dégénérescence progressive des motoneurons du cortex cérébral avec destruction consécutive du faisceau pyramidal (atteinte du premier motoneurone) et de ceux de la corne antérieure de la moelle épinière avec destruction des unités motrices associées (atteinte du deuxième motoneurone). Elle provoque une paralysie progressive de l'ensemble de la musculature squelettique des membres, du tronc (y compris les muscles respiratoires) et de l'extrémité céphalique.

Depuis plusieurs années, l'influence des facteurs génétiques et environnementaux est évoquée dans la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA).

La théorie environnementale repose en grande partie sur les cas de SLA des îles de Guam : en effet, plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'incidence excessive de cas de SLA était liée à une consommation de graines de cycas^j riches en β -methylamino-L-alanine (BMAA)⁶⁰.

La BMAA est une molécule excitotoxique par son action agoniste du récepteur glutamate. C'est une neurotoxine inhabituelle⁶¹, qui combine plusieurs effets toxiques⁶². En tant qu'acide aminé non protéique, elle développe :

- des effets toxiques sur les neurones moteurs, notamment dans la zone de la *substantia nigra*⁶³ ;
- une action agoniste sur les récepteurs NMDA et AMPA⁶⁴ ;
- un stress oxydatif⁶⁵ ;
- un épuisement du glutathion⁶⁶ ;
- et peut-être un mauvais repliement des protéines intraneuronales, ce qui est une des sources connues de la neurodégénérescence.

S'il n'y a pas de modèle animal pour étudier une SLA induite par la BMAA, il existe maintenant des preuves substantielles évoquant sérieusement un lien de causalité entre cette toxine bactérienne et la SLA⁶⁷.

Des études ont également identifié la source à l'origine de la synthèse du BMAA : les cyanobactéries symbiotiques présentes dans les racines des cycas. Comme cela a été décrit plus haut, les

^{j/ cycas} : végétaux des pays chauds ressemblant à des fougères arborescentes. Les feuilles sporangifères évoquent les feuilles végétatives, plusieurs traits de gigantisme - très grandes feuilles, fort diamètre des troncs... - sont des marques d'ancienneté d'un groupe presque éteint.



cyanobactéries sont capables de produire trois familles de neurotoxines : les anatoxines, les saxitoxines et la BMAA.

Les cyanobactéries sont abondantes dans le monde entier et de plus en plus fréquentes en eau douce de surface, dont les lacs ou réservoirs de barrages utilisés pour produire de l'eau potable, (en raison de déséquilibres écologiques encore mal compris, mais semblant impliquer l'eutrophisation des eaux de surface)⁶⁸. Les cyanobactéries ont proliféré beaucoup plus rapidement que tous les autres types d'algues dans les lacs d'Amérique du Nord et d'Europe au cours des deux derniers siècles et, dans bien des cas, le taux d'augmentation de leur population s'est considérablement accéléré depuis le milieu du 20^e siècle, vraisemblablement lié à l'avènement des engrais industriels et l'accélération de la croissance urbaine.

Une étude réalisée sur des prélèvements de fleur d'eau de cyanobactéries prélevées en Grande Bretagne dans 11 lacs et dans un prélèvement d'eau de mer a montré la présence de BMAA à des taux nettement augmentés sur tous les prélèvements étudiés. Dans ces lieux, l'augmentation de la température et la charge en éléments nutritifs de source atmosphérique ont probablement joué un rôle plus déterminant que le lessivage direct des terres cultivées.

Cette étude démontre la présence de BMAA dans notre environnement aquatique. Des études complémentaires sont indispensables afin de préciser l'existence d'une relation entre cette présence de BMAA dans nos plans d'eau et la survenue de la maladie. La confirmation de l'hypothèse qu'il s'agit d'un « déclencheur environnemental bactérien » pour la SLA ou d'autres maladies neurodégénératives pourrait avoir d'énormes conséquences en termes de sécurité sanitaire⁶⁹.

Ces découvertes ont ravivé l'intérêt pour l'hypothèse que la BMAA pourrait être déclencheur d'autres maladies neurodégénératives, d'autant qu'elle a aussi été trouvée (à des taux moyens de 95 µg.g⁻¹, 0,8 mM) dans le cerveau d'individus nord-américains morts de maladie d'Alzheimer, ce qui renforce l'hypothèse d'un rôle étiologique possible de la BMAA dans le cas de maladies neurodégénératives (et une étude encore contestée laisse penser que d'autres plantes ou animaux pourraient concentrer la BMAA⁷⁰).

5.8 LEPTOSPIROSE

Embranchement des α protéobactéries

5.8.1 Phylum *Spirochaetes* ; Ordre *Spirochaetales*



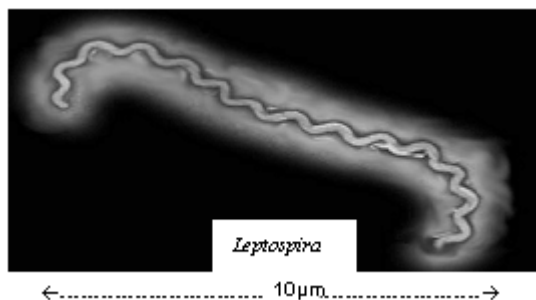
(Photo Leptospira)

Morphologie des *Spirochaetales*

Cellules hélicoïdales de 10 µ de long. Elles sont mobiles grâce à un organe interne locomoteur. Ils utilisent les corps gras comme source de carbone. Les spirochaetales ne se cultivent pas dans les conditions ordinaires : il existe de nombreux milieux commercialisés, adaptés aux spirochaetales. L'observation se fait par microscopie à fond noir. Leur recherche se fait par diagnostic immunologique.

5.8.2 Genre *Leptospira*

Morphologie genre *Leptospira*



Les *Leptospires* sont des bactéries Gram(-), aérobies strict, de forme hélicoïdale et très mobiles (flagelles intérieures). Certaines de ces espèces sont la source de maladies zoonotiques mondiales.

Les leptospires ne se cultivent pas sur les milieux traditionnels. Les milieux adaptés contiennent du sang de lapin et sont à pH 7,7. L'identification de la maladie peut se faire par analyse immunologique au 15^e jour de la maladie avec confirmation différentielle.

5.8.2.1 *Leptospira interrogans*

Le séro groupe *L. interrogans* regroupe les souches pathogènes (sept souches connues) pour l'Homme et l'animal. Spécificité : cette bactérie est tuée par 225 µg/ml de 8-azaguanine^k. On a identifié (2004) 25 sérovars différents au sein de cette espèce, dont six seraient fréquemment rencontrés en France (*L. interrogans icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. autumnalis*, *L. australis*, *L. grippityphosa* et *L. pyogenes*) (André-Fontaine G. et coll., 1994).

5.8.2.2 *Leptospira biflexa patoc*, *L. parva*, *L. sejroë*, *L. grippityphosa*, *L. ballum* et *L. pomona* ont un développement optimal à 13 °C. Ils regroupent diverses souches, toutes saprophytes, non pathogènes et isolées dans l'eau, les sédiments ou la boue. Ces espèces sont résistantes à la 8-azaguanine.

Évolution de la classification : en raison de caractères phénotypiques spécifiques et suite aux études d'hybridation ADN-ADN, l'espèce *Leptospira parva* a été classée dans un nouveau genre : *Turneriella*. Cette espèce ne fait donc plus partie du genre *Leptospira* depuis octobre 1987. Après octobre 1987, la taxonomie des leptospires évolue sur la base d'études d'hybridation ADN-ADN qui ont démontré l'existence de cinq nouvelles génomespecies au sein de l'espèce *Leptospira interrogans* (*Leptospira weilii ranarum*, *L. santarosai shermani*, *L. noguchii panama*, *L. borgpetersenii javanica*, *L. kirshneri cynopteri*) et de deux nouvelles génomespecies au sein de l'espèce *Leptospira biflexa* (*L. meyeri semaranga*, *L. inadai lyme*).

- En 1996, Lai et Copenhageni ont obtenu le séquençage complet de deux sérovars de *Leptospira interrogans*, l'un par Lai Str. 56601 et l'autre par Copenhageni Str. Fiocruz L1-13, qui ont deux chromosomes circulaires et ils ont tous les deux un sérotype.
- En 1998, Perolat P. and al. ont proposé l'espèce *Leptospira fainei*.
- En 1999, Brenner D.-J. and al. ont validé l'espèce *Leptospira alexanderi*.
- En 2004, on compte 12 espèces dans ce genre, et 4 génomespecies étaient en attente d'être nommées.

Souches d'espèces génomiques *Leptospiraceae*⁷¹

Genre et espèces génomiques	Sérovar	Souche
<i>Leptospira interrogans</i>	icterohaemorrhagiae	RGA
<i>Leptospira kirshneri</i>	cynopteri	C 3522
<i>Leptospira noguchii</i>	Panama	CZ 214
<i>Leptospira santarosai</i>	shermani	1342 K
<i>Leptospira borgpetersenii</i>	javanica	Veldrat Batavia 46
<i>Leptospira weilii</i>	Ranarum	Iowa City grenouille (ICF)

k/ 8-Azaguanine : purine analogue à la formule chimique C₄H₄N₆O. Elle a été largement étudiée pour son activité biologique. Elle présente une activité antinéoplasique et a été utilisée dans le traitement de la leucémie aiguë.



Leptospira wolbachii	codice	CDC
Leptospira inadai	lyme	10
Leptospira meyeri	Semarang	Veldrat Semarang 173
Leptospira biflexa	patoc	Patoc j'ai
Turneria parva (proposé)^{1*}	Parva	H.
Leptonema illini	Illini	3055
Leptospira espèces génomiques 1	Pingchang	80-412
Leptospira espèces génomiques 2	manhao3	L 60
Leptospira espèces génomiques 3	Holland	WAZ Holland (P438)
Leptospira espèces génomiques 4	Hualin	LT 11-33
Leptospira espèces génomiques 5	Sao Paulo	Sao Paulo

5.8.3 Réservoir et vecteur de la maladie

La bactérie résiste plusieurs mois dans le milieu extérieur humide (eau douce). Les urines des animaux infectés, souvent de façon inapparente, contaminent les bassins d'alimentation des cours d'eau et donc les eaux douces de surface dans lesquelles les leptospires survivent.

Les vecteurs de la leptospirose sont les rongeurs, rats et souris des villes et des champs. De nombreux animaux peuvent être porteurs (furet, canidés y compris les chiens qui peuvent transmettre la bactérie *via* leur urine mais aussi leurs morsures). Les animaux domestiques sont aussi à incriminer.

Généralement, les animaux sauvages sont des porteurs sains, l'Homme peut être un hôte accidentel, les urines des porteurs contaminés souillant ainsi l'environnement : sol, eaux, etc.

5.8.3.1 Leptospire agent pathogène chez l'Homme, le chien et les animaux d'élevage

(Les planches ci-jointes sont tirées de la conférence du D^r Geneviève André-Fontaine lors de l'Assemblée générale de la FFS à l'Isle sur le Doux en 2014)

Toutefois pour qu'ils soient des vecteurs, il faut qu'ils soient contaminés. Qu'ils aient eu des contacts avec l'eau de ruissellement ou dans les réseaux hydriques. La contamination de l'eau peut se faire par les urines contaminées et dans les sols lessivés. Les animaux porteurs de la maladie sont souvent asymptomatiques et peuvent donc excréter la maladie par les urines pendant plus d'une année.



Étude de la contamination de la faune sauvage

Ce tableau nous montre une étude sur la répartition des sérovars chez le ragondin soit 2 700 animaux étudiés et le rat musqué, 300 animaux étudiés.

Nous pouvons constater que les sérovars les plus présents sont IH (*icterohaemorrhagiae*) chez le ragondin et le GRIP (*grippotyphosa*) chez le rat musqué.

La transmission a lieu le plus souvent indirectement par l'intermédiaire de milieux hydriques (rivières, étangs) contaminés,

Faune sauvage (métropole) Spécificité de sérovars				
	IH	GRIP	AUS	SEJ
Ragondin (2700)	35%	5%	30%	23%
Rat musqué (300)	12%	42%	15%	20%

^{1/} *Turneria parva* : procaryote avec aucun statut actuel dans la nomenclature. *Turneria parva* est maintenant connu comme *Turneriella parva*.

plus rarement par contact direct avec un animal infecté (urine de rongeur, morsures, griffures...).

L'Homme et le chien sont très sensibles à la contamination par les leptospires

La contamination des eaux va se faire par les rongeurs et les animaux domestiques victimes de la maladie, principalement par leurs urines. Les leptospires vont se développer dans l'eau et devenir des contaminants éventuels. La transmission va se faire par le milieu aquatique ; la pénétration des germes se fera par les muqueuses (le nez, les yeux), les plaies... au contact de l'eau. La voie *per os* semble moins évidente suite à la résistance immunologique de la voie digestive. Seules les plaies buccales peuvent être une voie de contamination.



Les animaux domestiques qui sont sensibles peuvent aussi être des réservoirs en fonction de leurs résistances à la maladie.

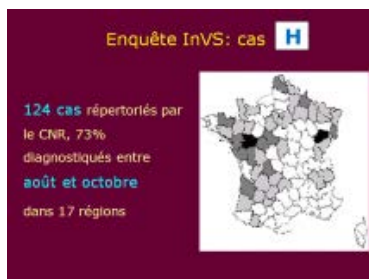
5.8.3.2 Épidémiologie

C'est une maladie de répartition mondiale, à dominante tropicale. En France métropolitaine, elle touche environ 300 personnes chaque année, soit une incidence annuelle de 0,4 à 0,5/100 000 habitants.



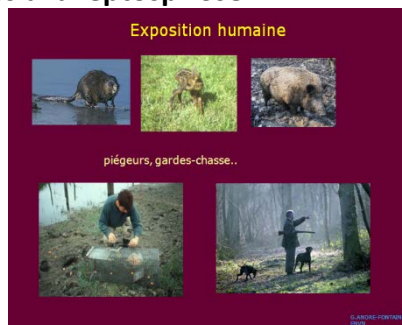
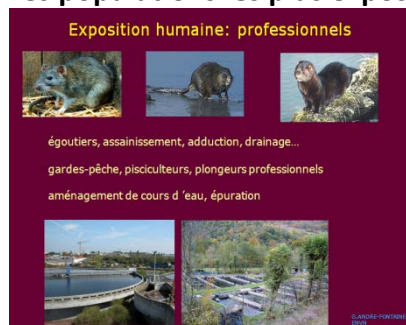
Leptospirose, une zoonose mondiale

L'incidence est de 100 ou 1 000 fois plus élevée dans les régions tropicales, comme dans les collectivités françaises d'Outre-mer ou de nombreux pays d'Amérique Latine et d'Asie du Sud-est. On estime à plus d'un million par an le nombre de cas sévères de leptospirose dans le monde avec un taux de mortalité supérieur à 10 %. La saisonnalité de la maladie est très marquée, elle se déclare souvent en automne, ceci étant lié à la chaleur et aux précipitations. La maladie est rarement retrouvée chez les femmes et encore plus rarement chez les enfants (sans explication claire).



Le tableau ci-joint nous montre la répartition régionale française des cas répertoriés dans une même année ; nous pouvons constater que les zones Centre Ouest et Centre Est sont les plus fortement touchées.

Les populations les plus exposées à la leptospirose



Certaines professions sont plus exposées à la contamination

Les agriculteurs, éleveurs, vétérinaires, égoutiers, pêcheurs, chasseurs, sapeurs-pompiers, employés du service des eaux et les hydrogéologues... Les personnes pratiquant des loisirs nautiques (baignade, canoë, kayak, pêche, chasse, canyon, *hydrospeed*...) sont particulièrement à risque. Quels sont les surfeurs exposés à la leptospirose ? Ceux qui pratiquent le surf ou le *bodyboard* à

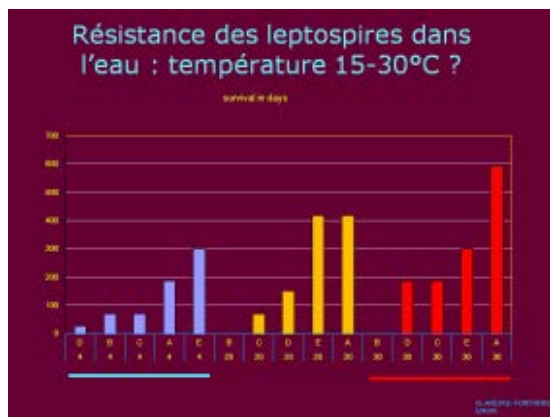
l'embouchure de rivières, ceux qui font du *wakeboard* ou du *windsurf* dans un lac ou un cours d'eau, les surfeurs de mascaret...

5.8.3.3 Facteurs influençant le développement des leptospires

Les analyses du facteur température, de la salinité, du pH ont été réalisées par le D^r André-Fontaine, elles ont donné les résultats suivants :

Température de l'eau

Développement en jours dans de l'eau autour de 4 °C en **bleu**, 20 °C en **jaune** et 30 °C en **rouge**.



Contrairement aux idées reçues, des expérimentations faites sur plusieurs souches de leptospires ont montré que la température de l'eau avait une influence sur le développement des leptospires mais ne produisait pas une inhibition totale de leur développement. À la température de 4 °C nous avons un développement maximum de 300 ; à 20 °C nous avons un maximum de 400 ; à 30 °C un développement de 600, dans les mêmes conditions expérimentales. Cette observation est en contradiction avec celle d'Alston et coll., 1935.

Salinité de l'eau



D'après les études effectuées par le D^r André-Fontaine, le tableau N°1 nous donne les résultats obtenus sur la croissance des leptospires en fonction de la salinité de l'eau en chlorure de sodium couplée avec la température. Nous pouvons constater que l'effet de la salinité a pour résultante d'augmenter la croissance bactérienne en fonction de la température. Ceci peut avoir pour explication que la force ionique du milieu salé (milieu isotonique) se rapproche de celle du milieu sanguin. Nous pouvons remarquer que l'eau de mer chaude (environ 30 °C), qui a une teneur en NaCl proche de 30 g/l, peut être un réservoir éventuel de leptospires.

Dans le tableau N°2, qui est une étude similaire à l'étude N°1, mais qui remplace le chlorure de sodium par des sels des carbonates de calcium et magnésium, on observe que pour des doses de 300 mg/l d'acide carbonique dissous (ou CO₂ dissous), nous avons une inhibition du développement des leptospires. Cette inhibition peut avoir pour explication le comportement aérobic strict des leptospires.

On peut en déduire que l'eau soit courante ou stagnante n'a que peu de conséquences sur le développement des leptospires et que les eaux stagnantes chargées en gaz carbonique ont un effet inhibiteur sur leur développement. La DBO (Demande Biochimique en Oxygène) va être un

paramètre important dans l'inhibition du développement des leptospires, cette observation va à l'encontre de l'idée reçue selon laquelle que les boues sont des réservoirs importants de leptospires.

PH de l'eau

Dans le tableau ci-contre nous observons que le développement des leptospires est peu influencé par le pH entre 6,6 et 7,5. Il y a toujours des développements possibles dans les pH acide ou alcalin. La température de développement semble avoir plus ou moins d'influence en fonction du pH de l'eau.

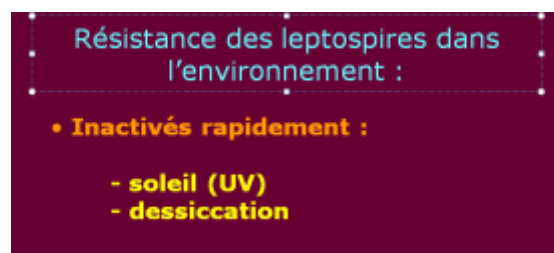
Le pH du calcaire karstique semble, d'après ces observations, ne pas avoir d'effet inhibiteur sur cette flore microbienne. Seul le taux élevé de carbonate dissous et le déficit en oxygène seraient des facteurs inhibiteurs de cette flore.



Filtration de l'eau

Les leptospires passent à travers les membranes filtrantes qui sont utilisées dans la microfiltration stérilisante, qui ont des pores d'un diamètre de 0,45 µm. Cette observation peut s'expliquer par le faible diamètre du *spirochaetale* qui est dans le cas des leptospires de 0,22 µm. Les sols lessivables même tassés peuvent laisser infiltrer les leptospires, c'est le cas des sols sableux ou limoneux. Les terrains argileux ou argilo-calcaire sont plus adsorbants des milieux protéiques, cette considération mérite d'être étudiée dans l'action inhibitrice de cette flore.

D'après Alston et coll., (1935), les leptospires meurent rapidement quand elles sont exposées au plein soleil ou rayonnement UV. La dessiccation et la déshydratation sont des facteurs d'inactivation.

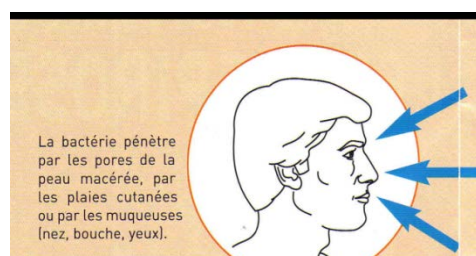


5.8.3.4 Pénétration dans l'organisme et infection par les leptospires

La porte d'entrée est généralement cutanée (plaies ou excoriations, même minimes...) ou muqueuses (conjonctives notamment).

La pénétration par les muqueuses va se faire par :

- Les yeux
- Le nez
- La bouche



Des vers de l'ordre des *Tricladés* (connu sous terre) qui sont des métazoaires triploblastiques représentés par les planaires paludicoles d'eau douce (qui habitent les marais) qui sont carnivores et d'autres planaires comme les *Plathelminthes monogènes* (vers plats) qui sont des parasites aquatiques (ils sont aussi parasites du tube digestif des chauves-souris), ainsi que les *Hirudineas* (redésignés depuis *Acanthobdelliformes*) plus communément appelés sangsues, peuvent être suspectés de favoriser la contamination hydrique de l'Homme, par des micro-blessures ou des morsures.



5.8.4 Pathologie

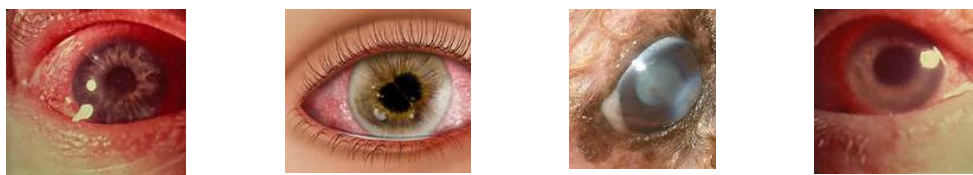
La maladie, après une phase d'incubation d'une dizaine de jours (5 à 20 jours), est d'apparition brutale marquée par les étapes suivantes :

5.8.4.1 Première phase clinique

À son début, elle se traduit par un état fébrile avec des frissons, une fièvre élevée, des céphalées, elle peut être confondue avec une forte grippe (hyperthermie et courbatures). Des douleurs articulaires (arthralgies) et des douleurs musculaires (myalgies au niveau des lombaires), sur les cuisses et les mollets, reproductibles à la pression des masses musculaires. Il peut y avoir apparition d'éruption cutanée et souvent de troubles digestifs. À ces troubles peuvent être associés nausées, vomissements et saignements de nez.

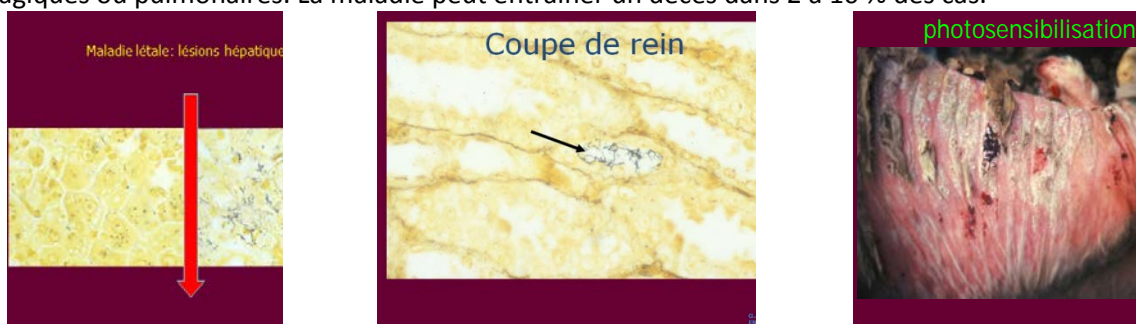
Parfois on observe une conjonctivite ou une uvéite^m qui est un indicateur symptomatique important dans cette maladie, car elle apparaît relativement tôt. Toute uvéite chez une personne qui a été au contact de l'eau d'égout, de rivière ou de mer doit amener à évoquer une leptospirose.

Types d'uvéites



5.8.4.2 Deuxième phase clinique

Après quelques jours peuvent apparaître des complications rénales, hépatiques, neurologiques, hémorragiques ou pulmonaires. La maladie peut entraîner un décès dans 2 à 10 % des cas.



Du 3^e au 5^e jour, apparaissent des atteintes viscérales, des douleurs thoraciques. Peuvent survenir ictère, insuffisance rénale aiguë, hémorragies superficielles, viscérales ou pulmonaires, toux, hémoptysie. Ces signes se complètent parfois de signes d'irritation méningée, voire d'encéphalite ou de syndrome méningé franc (liquide méningé clair), d'un tableau d'hémorragies plus ou moins occultes (purpura, épistaxis, hémoptysie, hématémèse) secondaires à la thrombopénie, elle-même découlant de l'apparition d'anticorps anti-plaquettes. L'atteinte cardiaque, fréquente, se manifeste par une myocardite et/ou une péricardite.

La sévérité de la maladie varie suivant le sérotype en cause : les formes les plus graves sont les leptospiroses à *L. icterohaemorrhagiae*, mais aussi à *L. australis*, *L. canicola* ou *L. pyrogenes*. Ces souches vont provoquer une néphropathie tubulo-interstitielle aiguë. Elles représentent en Europe une cause de plus en plus rare d'insuffisance rénale aiguë. Les formes oligoanuriques prolongées justifient le recours aux méthodes de dialyse.

La gravité du tableau clinique semble être directement en rapport avec la masse musculaire des malades. En effet, dans cette maladie immuno-infectieuse, il existe des anticorps anti-muscles responsables d'une rhabdomyolyse (rupture des cellules musculaires striées avec libération de sang, électrolytes et myoglobine).

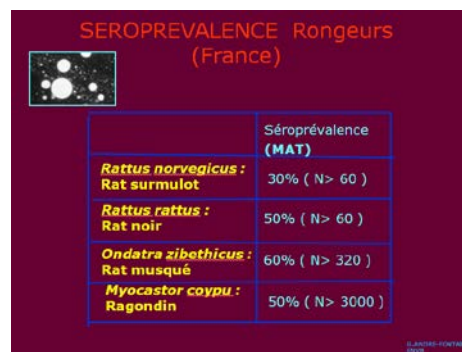
m/ uvéite : inflammation du tractus uvéal, diffuse ou partielle, intéressant soit sa partie antérieure, l'iris et le corps ciliaires (iridocyclite), sa partie postérieure, la choroïde (choroïdite).

5.8.5 Diagnostic de la leptospirose chez l'Homme

Le diagnostic chez l'Homme est difficile à poser. Les leptospires peuvent être recherchés dans le sang, dans les urines et dans le liquide céphalo-rachidien des malades, à certaines dates de la maladie : dans la leptospirose ictérohémorragique, ils sont présents dans le sang du premier au sixième jour, et dans les urines du dixième au vingt-cinquième jour. Cette recherche sera effectuée à la fois par inoculation au cobaye et par ensemencement en milieu de Reiter afin de ne pas méconnaître une variété de leptospire non pathogène pour le cobaye ou par amplification génique PCR et à partir du 10^e jour, par sérologie.

Le diagnostic sérologique se fait en deux étapes : diagnostic de dépistage, par réaction d'agglutination macroscopique sur lame, réaction de fixation du complément, réaction d'hémagglutination, etc., puis diagnostic de confirmation par le sérodiagnostic de Martin et Petit qui met en évidence les agglutinines spécifiques apparues à partir du huitième jour. Elles peuvent atteindre des titres très élevés (jusqu'à 1/1 000 000) et persistent plusieurs semaines.

D'après le D^r André-Fontaine, les statistiques sérologiques doivent tenir compte d'une sensibilité plus faible, lorsque l'on parle d'une endémie comparativement à des cas observés ponctuellement. Dans l'endémie on compte les cas de maladies avérées et les cas de contact avec la maladie ou de résistance à la maladie, qui auront des taux de réponse plus faibles.



5.8.6 Prévention et traitement de la maladie

- Porter son équipement de protection : bottes, combinaison, lunettes de protections, gants.
- Éviter tout contact des mains souillées avec les yeux, son nez et sa bouche.
- Ne jamais laisser une plaie en contact de l'eau ;
- En cas de plaie, la nettoyer et la désinfecter.
- Se laver les mains à l'eau potable et au savon ;
- Les pratiquants des activités aquatiques à haut risques doivent se faire vacciner.

En France la vaccination des chiens contre la leptospirose n'est pas obligatoire. Elle est toutefois recommandée aux propriétaires pour prévenir les formes aiguës létales de la maladie chez leurs animaux.

S'agissant de l'identification de la maladie, l'Unité de bactériologie médicale et moléculaire des leptospires de l'École vétérinaire de Nantes conduit des activités de diagnostic et de recherche vis-à-vis de cette zoonose. Les vétérinaires peuvent donc obtenir une aide technique auprès de cette unité.

Contacts : Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, 251 rue de Vaugirard, 75732 PARIS CEDEX - Tél : 01 49 55 84 61

École nationale vétérinaire de Nantes, Unité de Bactériologie Médicale et Moléculaire des Leptospires (B2ML), Route de Gachet, 44307 NANTES - Tél : 02 40 68 76 91

Vaccination

Un vaccin préventif, bien toléré et efficace, vis-à-vis de *L. icterohaemorrhagiae*, est disponible pour les professions exposées. Des recherches fondamentales sur *Leptospira* sont menées par l'Unité de biologie des spirochètes qui comprend également le Centre National de Référence des Leptospiroses et le Centre Collaborateur FAO/OMS pour l'épidémiologie de la leptospirose. De nombreuses méthodes d'identification des leptospires ont été développées. Des études épidémiologiques ont aussi été entreprises dans les régions endémiques (Mayotte, Antilles, La Réunion, etc.).

Comment se faire vacciner contre la leptospirose ?

Le vaccin *Spirolept*® disponible en France ne protège que contre l'espèce la plus virulente (*Leptospira interrogans icterohaemorrhagiae*). Son schéma vaccinal consiste en 2 injections à 15 jours d'intervalle avec un rappel 6 mois plus tard et un rappel ultérieur tous les 2 à 3 ans. Après en avoir évalué l'utilité et l'absence de contre-indication, votre médecin vous l'administrera lentement par voie sous-cutanée.

NB : il est préférable de différer la vaccination si vous êtes fébrile ou malade. Il faut respecter un intervalle d'au moins un mois entre Spirolept® et un autre vaccin.

5.8.7 Le karst et les problèmes de leptospirose

Dans le domaine karstique, il serait intéressant de connaître le rôle des chauves-souris, des oiseaux et des petits rongeurs. Leur comportement troglophile, qui est une vie à la fois externe et interne au milieu karstique, augmente leurs possibilités d'être des vecteurs de contamination.

Ces considérations nous montrent l'importance des mesures de protection contre le risque de leptospire à appliquer dans le cadre de la spéléologie et du canyonisme. Il faut avoir toujours le réflexe de suspecter une leptospirose, lors de l'apparition de symptômes pathologiques similaires à ceux cités plus haut, chez des sujets ayant pratiqué un sport ou une exploration aquatique dans les jours précédents.

5.9 PROTOZOAIRES PARASITES AQUATIQUES : LA BILHARZIOSE

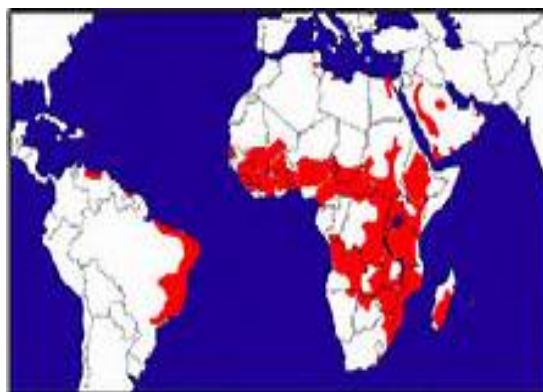
La bilharziose ou schistosomiase, parfois appelée dermatite des nageurs, est une maladie parasitaire due à un ver plat hématoophage, le schistosome de la famille des trématodes.

5.9.1 Introduction

Elle est présente dans les zones tropicales et subtropicales ; en Afrique, en Amérique du Sud en Asie et en méditerranée. En 2011 elle a été signalée en Corse du Sud, par deux touristes allemands, qui l'ont contracté dans une rivière près de Porto-Vecchio.

C'est la seconde endémie parasitaire mondiale après le paludisme avec une prévalence de 180 à 200 millions d'individus affectés, pour environ 280 000 décès chaque année. La morbidité observée chez les populations humaines infectées est essentiellement liée à l'étonnante fécondité du parasite femelle dont les œufs, pondus par centaines chaque jour, sont piégés dans de nombreuses muqueuses et tissus formant des granulomes.

La bilharziose est donc très répandue et fait partie des priorités de l'OMS.



5.9.2 Les parasites

D'après : WEINLAUD 1858

Règne *Animal* ; Embranchement *Platyhelminthes*

Classe *Trematoda* ; Sous classe *Digenea* ; Ordre *Strigeatida*

Famille *Schistosomatidae* ; Genre *Schistosoma*

Le genre *schistosome* comporte 18 espèces dont 6 sont pathogènes pour l'Homme

- *Schistosoma mansoni* : bilharziose intestinale aux Antilles et en Amérique centrale
- *Schistosoma haematobium* : bilharziose urogénitale en Afrique, Inde, et Péninsule Arabique
- *Schistosoma intercalatum* : bilharziose rectale et génitale en Afrique centrale
- *Schistosoma japonicum* : bilharziose intestinale avec complications artério-veineuses en Chine, Japon et Thaïlande.
- *Schistosoma mekongi* : bilharziose intestinale avec complications artério-veineuses en Chine, Japon, Cambodge et Thaïlande
- *Schistosoma guineensis* : bilharziose rectale en Afrique équatoriale de l'Ouest.

5.9.3 Généralités biologiques

5.9.3.1 Morphologie

➤ Les schistosomes (*Schistosoma*) sont des trématodes, vers plats, à sexes séparés, hémaphages, vivant au stade adulte dans le système circulatoire des mammifères et évoluant au stade larvaire chez un mollusque d'eau douce.

➤ La femelle est plus longue, mais plus mince que le mâle. Elle vit en permanence dans le canal gynécophore du mâle, elle mesure de 15 à 29 mm et est de forme cylindrique. Le mâle, plat, mesure de 10 à 15 mm. Les deux sexes portent deux ventouses.

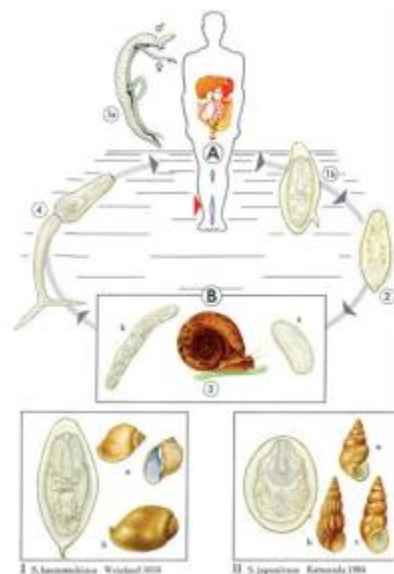


bin.com/image/search/q=Schistosoma/

5.9.3.2 Cycle du parasitisme

Chaque espèce dispose comme réservoir pour son développement, d'un mollusque d'eau douce qui lui est particulier. À partir des œufs éliminés par l'hôte infecté (selles ou urines), les larves (larve nageuse, le miracidiumⁿ) sont alors libérées dans l'eau puis subissent un métamorphisme sous la forme *cercaire* dite *Furcocercaires* au sein de l'hôte intermédiaire, le mollusque d'eau. Il suffit d'un contact dans un marigot, une mare ou des eaux stagnantes pour que ce furcocercaire traverse directement la peau nue, pour aller dans les vaisseaux sanguins.

Les vers adultes sont grands (quelques millimètres de long), ils sont appelés *Schistosoma* et vivent en couple dans les veines des personnes qu'elles ont contaminées. La femelle pond en permanence un grand nombre d'œufs qui vont s'essaimer dans les selles et dans les urines. Les œufs vont être immobilisés par les anticorps de l'individu infecté et de ce fait resteront dans l'organisme où ils vont continuer à se développer. Cette fixation par calcification sera à l'origine de la chronicité de la maladie.

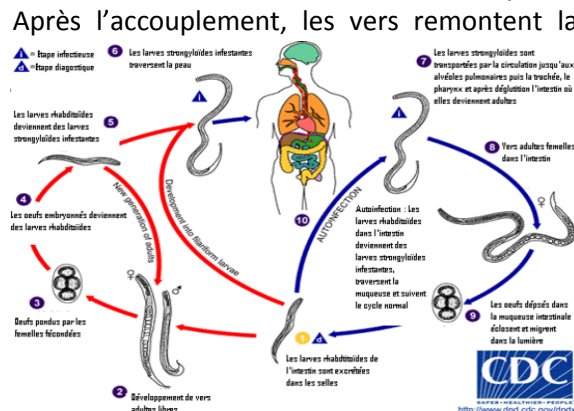


n/ miracidium : stade larvaire initial de certains parasites. De l'œuf sort une larve nageant, le miracidium, qui pénètre dans un mollusque gastéropode d'eau douce.



Hôte externe aquatique

- Lorsque les conditions climatiques sont favorables (pH neutre et température comprise entre 18 °C et 33 °C), la larve nageuse ciliée (le miracidium) est émise et parasite un hôte intermédiaire qui est un mollusque d'eau douce^o (bulin^p pour *S. haematobium* ; planorbe dans le cas de *S. mansoni*). Il y a plusieurs types de mollusques aquatiques, qui peuvent servir de réservoirs d'infection.
- Lorsque la température est adéquate, 30 °C, le miracidium se transforme en sporocystes primaires puis, par bourgeonnement, en sporocystes secondaires. Au bout d'un mois, sortent du mollusque, des cercaires (10 000 pour 1 miracidium), mobiles dans l'eau. Cette cercaire mesure 0,5 mm, possède une « queue » bifide (furcocercaire) et circule dans l'eau, prête à pénétrer par voie transcutanée en quelques minutes dans toute partie du corps humain immergée (la contamination par voie buccale est une éventualité très rare).
- Au cours de la pénétration, la furcocercaire subit des modifications morphologiques et biochimiques, notamment la perte de la queue, aboutissant à sa métamorphose en schistosomule.
- À partir de la 48^{ème} heure, et pendant plusieurs jours, elles sont dans les capillaires pulmonaires. Le schistosomule subit une maturation, essentiellement morphologique, qui lui permet de quitter les poumons et par l'intermédiaire de la circulation abdominale et des veines du système porte, de gagner le système circulatoire péri-hépatique où il se différencie en schistosome adulte mâle ou femelle sexuellement mûr vers le deuxième mois. La femelle atteint sa maturité sexuelle dès lors qu'elle se loge dans le canal gynécophore du mâle. Après l'accouplement, les vers remontent la circulation porte à contre-courant. Les femelles fécondées se séparent alors des mâles et s'engagent, selon un tropisme particulier à chaque espèce, dans les fines ramifications viscérales d'un territoire veineux déterminé où elles déposent leurs œufs.
- À ce stade, la femelle commence à pondre des œufs en continu (jusqu'à 300 par jour pour *S. mansoni* et 3 500 pour *S. japonicum* !), dont une partie est piégée dans les tissus où ils formeront des granulomes, à l'origine de la pathologie. L'autre partie des œufs traverse la paroi intestinale ou vésicale pour finalement être excrétés dans les selles ou les urines.
- La contamination de l'Homme se fait dans les eaux douces à l'occasion de diverses activités (corvées d'eau et lessives à la mare ou au bord du fleuve et, pour les voyageurs, baignade, traversée de gué, activités aquatiques diverses, absorption d'eau contaminée).
- Durée de vie des adultes : 10 à 35 ans.



o/ cycle dixène, gonochorique :

- **dixène** : les hétéroxènes (dixènes, trixènes...), qui ont besoin de plusieurs hôtes successifs au cours de leur vie. Exemple: certains Nématodes, les Trématodes, les Cestodes, les Acanthocéphales.
- **gonochorique** : le gonochorisme est un mode de reproduction, qui implique deux catégories d'individus : mâle et femelle. C'est l'opposé de l'hermaphrodisme où les individus possèdent les deux sexes ou changent de sexe au cours de leur vie. La séparation des sexes biologiques sous forme d'individus distincts implique la production de gamètes complémentaires.

p/ bulin : ces mollusques ont une distribution géographique large, ils habitent les eaux douces et sont capables de vivre dans un milieu sec. Ils sont herbivores et ovipares. Ils effectuent leur ponte sur des pierres, sur des végétaux et sur les coquilles de leurs congénères. Ils ont la possibilité, lorsque le gîte s'assèche, de s'enfoncer dans la boue humide et d'y rester en diapause jusqu'à la prochaine saison des pluies. L'espèce la plus fréquente est *B. truncatus*.



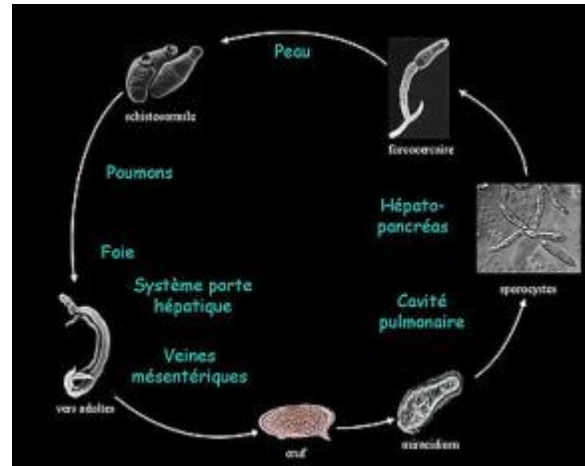
5.9.3.3 Physiopathologie

Le mécanisme de constitution de la maladie est intéressant à connaître, car il s'agit d'une aberration de la nature. En effet, la femelle de la forme adulte du parasite pond des œufs après avoir été fécondée par le mâle. Ces œufs sont éliminés pour une moitié environ dans les urines du malade pour la maladie urinaire et par les selles dans la maladie digestive (il faut en effet que ces œufs retournent à l'eau douce pour que le cycle puisse se faire).

Malheureusement, l'autre moitié environ des œufs traversent les épithéliums des parois vasculaires et des organes creux sous-jacents provoquant ainsi des microsaignements expliquant les hématuries et le sang dans les selles. Un certain nombre d'entre eux reste bloqué dans les tissus. Ils sont à l'origine d'une réaction inflammatoire : le granulome bilharzien. Au cours des années, les granulomes confluent et deviennent macroscopiques (bilharziome). Ils subissent une évolution, soit hyperplasique, soit nécrotique et ulcéreuse, toujours génératrice de sclérose secondaire responsable de rétractions cicatricielles des organes contaminés. Par exemple, les œufs de *S. haematobium* peuvent provoquer une sténose orificielle de la vessie entraînant une stase urinaire. Ils peuvent se calcifier et constituer ainsi une vessie rigidifiée, favorisant également infection et stase. Celles-ci peuvent être responsables, en amont, de la dilatation de tout l'arbre urinaire aboutissant, à terme, à la destruction du parenchyme rénal.

Dans la genèse de la fibrose bilharzienne avec hypertension portale, le rôle pathogène primordial est joué par les œufs. L'examen histologique du foie révèle une fibrose très nette dans les zones périportales faisant suite à l'évolution du granulome bilharzien autour des œufs. Ce qui produit la forme chronique de cette maladie. La cancérisation des tumeurs granulomateuses est possible.

Ainsi, si l'organisme avait la « sagesse » de laisser partir tous les œufs, soit dans la vessie, soit dans les intestins, la maladie n'existerait pas !



Défense immunitaire de l'hôte

Les larves adultes migrent à travers la circulation du sang de l'hôte en évitant son système de défense, grâce à de nombreux outils, notamment son tégument qui l'enrobe (membrane attaque complexe appelée MAC) et qui agit comme une barrière physique résistant aux anticorps et au complément de l'hôte. Les protéines anti-oxydantes vont lutter contre la production d'un super-péroxyde qui a un fort effet néfaste sur le ver. Ces protéines anti-oxydantes vont bloquer l'effet de la peroxydase produit par le système immunitaire. Ces antioxydants ont été retrouvés dans différents inhibiteurs enzymatiques d'antioxydant glutathion de thiorédoxine réductase (TGR) chez d'autres trématodes et cestodes⁷².

5.9.4 Clinique

5.9.4.1 Phase de contamination

Elle correspond à la pénétration des furcocercaires. Elle passe souvent inaperçue, mais peut entraîner un tableau de « dermatite des nageurs » (érythème cutané allergique) survenant 15 à 30 minutes après le bain infestant. Cette dermatite est plus marquée pour les deux espèces extrême-orientales (*S. japonicum*, *S. mekongi* : maladie de KATAYAMA).

Dans les douze heures qui suivent, un individu peut se plaindre d'une sensation de picotement ou de légère éruption cutanée, communément appelé « nageur de barbe », en raison de l'irritation au

point d'entrée. L'éruption cutanée qui peut se développer peut imiter la gale et autres types d'éruptions.



5.9.4.2 Phase d'invasion toxémique

Elle est contemporaine de la migration et de la maturation des schistosomules dans la circulation sanguine et dans les vaisseaux portes intrahépatiques. Elle peut être marquée par un malaise général : asthénie, fièvre, céphalées, anorexie (fièvre des safaris) accompagné de troubles d'ordre allergique : prurit, arthralgie, myalgie, poussée d'urticaire...

5.9.4.3 Phase d'état

Elle est en rapport avec la localisation des pontes des femelles.

Bilharziose uro-génitale

La bilharziose urinaire à *Schistosoma haematobium* existe essentiellement en Afrique Sub-saharienne, en Asie mineure et en Inde. La maladie urinaire s'attaque essentiellement à la vessie, puis aux reins ainsi qu'à un moindre degré aux organes génitaux.

L'infestation passe souvent inaperçue, la traversée des téguments par les furcocercaires infectieuses donnant exceptionnellement le tableau typique de « dermatite des nageurs ».

La période d'invasion, pendant le périple vasculaire des larves et leur évolution vers l'adulte, est très longue (de 3 mois à 1 ou 2 ans après le bain infectant) et paucisymptomatique^q : léger état fébrile à clocher vespéral, petits troubles allergiques, respiratoires et intestinaux. Un signe d'alerte : l'éosinophilie croissante atteignant bientôt 70 à 80 %.

La période d'état débute trois mois après l'infestation, où l'hématurie commence par des signes d'irritation vésicale : envies fréquentes, pollakiurie^r, brûlures urétrales, douleurs vésicales. Les urines sont floconneuses (*nubecula*). Puis apparaît l'hématurie, microscopique, discrète, terminale, augmentée par la fatigue, les excès et les épices, plus tard elle devient totale, par poussée de quelques jours, avec caillots. L'examen microscopique des urines révèle les hématies et les œufs caractéristiques, surtout dans les *nubecula* ; l'examen du sang montre une éosinophilie revenue vers 30 ou même 20 % ; la cystoscopie montre des aspects caractéristiques.

Bilharziose intestinale

Cette forme de bilharziose touche un peu les intestins, mais surtout le foie en entraînant, au bout de nombreuses années, une cirrhose. Le parasite responsable de cette forme s'appelle *Schistosoma mansoni* en Afrique Sub-saharienne, en Amérique centrale (Brésil) et aux Antilles. La bilharziose rectale à *Schistosoma intercalatum* se voit au Congo, au Gabon et au Cameroun. La maladie est silencieuse au début et se manifeste tardivement par des lésions recto-coliques (crises diarrhéiques, etc.).

La bilharziose intestinale sino-japonaise à *Schistosoma japonicum* ou *mékongui* sévit en Asie, Chine, au Japon, en Corée, aux Philippines, au Laos et au Cambodge. Les symptômes sont identiques mais l'évolution est plus rapide et le pronostic plus grave (destruction du foie, atteintes cérébrales).

^q / paucisymptomatique : se dit d'une infection qui se manifeste par un nombre restreint de symptômes.

^r / pollakiurie : fréquence excessive des mictions. Toutefois, le volume d'urine produite en 24 heures n'est pas plus élevé pour autant, le patient à juste plus souvent envie d'aller aux toilettes qu'à l'accoutumée.

Il faut habituellement quatre à six semaines à partir de l'infestation pour voir l'apparition des premiers symptômes. La maladie se manifeste par une fièvre élevée, un gros foie et une grosse rate, parfois des symptômes respiratoires.

Bilharziose artério-veineuse

La phase d'état est fréquemment grave, marquée d'emblée par une atteinte hépatosplénique, un ictère, des hémorragies digestives par hypertension portale, de l'ascite, de l'œdème et de phénomènes d'hypersplénisme. En l'absence de prise en charge précoce, le pronostic est sombre.

5.9.4.4 Phase de complications

Elle correspond à la rétention des œufs.

Bilharziose uro-génitale

L'évolution en pays d'endémie se fait vers les complications :

- urinaires, la vessie se sclérosant et se calcifiant (visible sur les radiographies) puis les voies urinaires sont dilatées par l'obstacle créé, (visible à l'urographie intraveineuse), entraînant hydronéphrose, pyélonéphrite et décompensation rénale ;
- génitales atteignant 30 % des malades et conduisant à l'impuissance chez l'homme et la stérilité chez la femme.



Une atteinte est possible des organes génitaux, ainsi que du cœur, et des poumons. En revanche, les lésions spléniques ou hépatiques sont l'exception.

Bilharziose intestinale

La phase de localisation des vers adultes provoque des douleurs abdominales et d'autres symptômes à type de fièvre, courbatures, toux, diarrhée. L'atteinte du foie et de la rate fait toute la gravité de ce tableau. Des complications intestinales, pulmonaires et neurologiques sont possibles.

On note encore une symptomatologie polymorphe : troubles gastriques avec épigastralgie^s, nausées, vomissements, soif intense et météorisme. L'état général est mauvais avec palpitations, vertiges, dyspnée et état dépressif. L'hépatosplénomégalie est constante, l'éosinophile est redescendue à 10 ou 20 %.

Parfois des signes semblables à la cirrhose avec le ventre gonflé par l'ascite^t, et des varices dans l'œsophage qui peuvent se manifester par des vomissements sanglants. Les œufs se développent dans la paroi des intestins et provoquent ulcérations et kystes.



Bilharziose extra-intestinale

Les localisations extra-intestinales sont dues à la migration erratique du parasite ou, plus souvent, à l'embolisation massive d'œufs vivants par les anastomoses pathologiques portocave. Il s'agit le plus souvent de localisations cardio-vasculaires, neurologiques (avec trois types de complications : myélite transverse, compression médullaire et radiculite se traduisant par une paraplégie d'installation progressive accompagnée de troubles sphinctériens et sensitifs) ou cutanées (lésions papulonodulaires parfois végétantes et ulcérées). Elles sont relativement rares pour *S. haematobium* et *S. intercalatum*, plus fréquentes pour *S. mansoni* et *S. japonicum*.

^{s/} **épigastralgie** : douleur de l'épigastre qui est la partie supérieure de la paroi abdominale, délimité de façon très relative et imprécise, en haut par le rebord des arcs costaux réunis au sternum et en bas par une ligne horizontale passant au niveau des extrémités antérieures des deuxième côtes. L'épigastre correspond approximativement à la position de l'estomac et au lobe gauche du foie.

^{t/} **ascite** : présence anormale de liquide entre les deux feuillets du péritoine. Le péritoine est l'enveloppe qui entoure la plupart des organes de l'abdomen. Le péritoine est un manteau de forme complexe qui recouvre et épouse la surface de la plupart des organes de l'abdomen. Il est constitué tout comme la plèvre de deux feuillets. Entre ces deux feuillets, normalement il y a le vide. Pour diverses raisons au cours de certaines maladies, un liquide s'infiltré entre les deux feuillets. La quantité peut aller de quelques centilitres à plusieurs litres. Tout ce liquide, c'est ce qu'on appelle l'ascite tout comme on appelle pleurésie celle que l'on retrouve entre les deux feuillets de la plèvre.

5.9.5 Diagnostic

Le diagnostic repose tout d'abord sur des éléments d'orientation :

- Épidémiologiques : il devra être suspecté chez un patient revenant d'une zone d'endémie bilharzienne et l'interrogatoire devra rechercher la notion d'une possible contamination (bain dans un marigot, un lac d'eau douce...).
- Cliniques : il sera évoqué devant une « fièvre des safaris », une hématurie, des selles striées de sang...
- Biologiques : l'hyperéosinophilie n'est pas spécifique mais peut être évocatrice en association avec les données cliniques et épidémiologiques.

Les méthodes diagnostiques seront différentes au cours du cycle des schistosomes :

- Pendant la phase d'invasion, la réaction de l'hôte entraîne une hyperéosinophilie importante.
- Pendant la phase de croissance, il existe une activité métabolique intense. L'hyperéosinophilie reste élevée et les réactions sérologiques sont marquées.
- Enfin à la phase de maturation, il y a émission des œufs que l'on peut éventuellement retrouver dans les selles ou les urines voire dans les biopsies (granulome). À cette phase l'imagerie peut être d'un grand recours pour le bilan d'extension.

5.9.5.1 Diagnostic de l'infection digestive

Il est confirmé par l'identification des œufs dans les selles. L'examen parasitologique des selles du malade permet la découverte des œufs à éperon latéral après enrichissement, tandis qu'après lavage, on peut effectuer le test d'éclosion miracidienne. Les œufs de *S. mansoni* ont environ 140 par 60 µm de longueur et ont une épine latérale. Le diagnostic est amélioré par l'utilisation de la technique de KATO-KATZ (une technique d'examen semi-quantitatif de selles). Les autres méthodes qui peuvent être utilisés sont immuno-enzymatique, le test de précipitation *Circum ova*^u (COPT) et le phosphatase alcaline-immunoassay (APIA)⁷³. Avant l'apparition des œufs, les réactions sérologiques permettent un diagnostic précoce : fixation du complément, immunoélectrophorèse et immunofluorescence indirecte qui permet en plus de suivre l'évolution. La rectoscopie révèle les lésions de la muqueuse et oriente la biopsie qui montre, avec ou sans coloration, les œufs intracellulaires.



Œufs de *S. mansoni*



Œuf de *S. haematobium*

5.9.5.2 Diagnostic de l'infection urinaire

Les constatations cliniques dirigent vers les examens complémentaires suivants :

- **Examen des urines**, avec épreuve des trois verres révélant l'hématurie terminale, recherche microscopique des œufs dans le culot de centrifugation du troisième verre ou test d'éclosion miracidienne^v.
- **Cystoscopie** montrant au début les grains miliaires jaune brillant à l'aspect de sable mouillé sur la muqueuse saine (œufs) puis des plaques jaunes entourées d'un halo inflammatoire (coalescence des œufs) et enfin des bilharziomes mûrifomes saignant facilement.

^u **circum ova** : la réaction d'Olivier Gonzales ou réaction de *Circum ova* précipitation est spécifique d'espèce. Les œufs sont incubés dans le sérum du patient pendant 24 heures. La positivité est affirmée par l'apparition de précipités digitiformes autour des œufs. Elle reste positive tant qu'il y a des œufs vivants dans les tissus.

^v **éclosion miracidienne** : technique de libération des miracidiums : L'emploi de cette méthode est nécessaire si on veut affirmer une guérison après traitement en différenciant les œufs morts des œufs vivants. Après avoir placé les œufs en milieu hypotonique à 30 °C, surveiller à la loupe binoculaire. L'éclosion se produit au bout d'une demi-heure à une heure et le miracidium se met rapidement à nager à la manière d'une paramécie.

- **Tests sérologiques**, immunoélectrophorèse mais surtout immunofluorescence indirecte qui est précoce, sensible, quantitative et très fidèle.

5.9.6 Traitement

Toute bilharziose évolutive doit être traitée afin d'éviter le risque de complications. Le traitement ne doit pas être commencé en phase d'invasion car il peut aggraver la symptomatologie.

Le traitement actuel repose sur le praziquantel (*Biltricide*®), efficace sur toutes les schistosomes adultes. À la dose de 40 mg/kg *per os* en 1 à 2 prises mais en un seul jour, soit 4 comprimés de 600 mg chez l'adulte, dans les bilharzioses uro-génitale et intestinale et à 60 mg/kg dans les bilharzioses artério-veineuses.

L'oximiniquine paraît très efficace en cure unique à raison de 15 mg/kg en une fois. Dans les cas rebelles, on pourra aller jusqu'à 25 mg/kg, en 2 prises journalières, pendant 3 jours.

Ou pour la forme urinaire un nitroimidazole *per os* (metronidazole ou *Flagyl*®), à raison de 25 mg/kg/jour pendant 5 à 7 jours au malade hospitalisé et maintenu sous surveillance. On arrêtera le traitement si les urines deviennent foncées (coca-cola)⁷⁴.

L'état de grossesse, l'existence d'une pathologie hépatique ou rénale ou d'une maladie infectieuse évolutive contre-indiquent le traitement.

5.9.7 Conditions de diagnostic chez les voyageurs

Le voyageur originaire des pays industrialisés, ne subit qu'exceptionnellement les complications graves de la maladie. En effet, habituellement, le diagnostic est fait au stade tout à fait initial où le traitement médicamenteux est parfaitement efficace. Quelques jours ou semaines après le bain infectant, la migration du parasite au stade larvaire dans l'organisme entraîne des réactions allergiques parfois bruyantes (bien qu'elles puissent être totalement « silencieuses »). Il s'agit de fièvre, de démangeaisons de la peau, d'éruption ou d'apparition de plaques rouges sur la peau. À ce stade, les cellules du sang qui augmentent en cas d'allergie, sont très nombreuses. C'est ce qu'on appelle l'hyperéosinophilie. À ce stade deux possibilités :

- Si l'on pense à ce stade à signaler à son médecin que l'on vient d'une zone tropicale où existe la bilharziose, le diagnostic est facile grâce à un test sanguin et le traitement efficace.
- Si les choses traînent un peu, les parasites parviennent à l'âge adulte et les femelles commencent à pondre. Pour la maladie urinaire, les œufs qui ne sont pas bloqués traversent donc la paroi de la vessie en entraînant des micro-effractions et donc des micro-saignements qui, compte tenu du nombre d'œufs qui sont éliminés, vont colorer en rouge les urines (l'hématurie). Ce signe est suffisamment explicite pour qu'il puisse conduire facilement au diagnostic et au traitement. Pour la maladie digestive, les choses sont un peu moins simples car la traversée de la paroi intestinale par les œufs n'entraîne qu'une petite diarrhée d'aspect banal.

Dans le doute, la consultation systématique dans un centre spécialisé au retour (sans aucune urgence bien évidemment) peut se justifier.

5.9.8 Prévention

La prophylaxie consiste à éviter de se baigner en eau douce (lac, marigot, rivière à courant faible) dans les régions d'endémie (Sud du Maghreb, Égypte, Afrique noire, Antilles et Amérique du Sud tropicale). L'eau de mer est inoffensive.

Si le contact avec une eau suspecte est impératif pour traverser une étendue d'eau par exemple, il faut conserver des chaussures hautes et les pantalons serrés aux chevilles et traverser le plus rapidement possible.

Une fois sorti, il faut se frotter avec de l'eau saine savonneuse ou une solution alcoolique. Certains spécialistes préconisent en cas de contamination probable une prévention médicamenteuse par le praziquantel.



5.9.9 Activités spéléologiques et canyonisme

Dans les secteurs de bilharziose

Dans les cas des activités spéléologiques et canyonisme, il est important de connaître les zones endémiques, les rivières qui sont susceptibles d'être infectées et de connaître leurs pertes, affluents ou confluents pouvant transmettre l'infection.

Dans le cas du canyon, la protection par le seul emploi d'une combinaison de plongée est peut-être insuffisante, car il existe toujours un contact avec l'eau extérieure entre la combinaison et la peau et les cercaires sont de taille microscopique. En cas de risque signalé, porter au minimum une combinaison complète, pas de *shorty*, en laissant le moins de contact possible de la peau avec l'eau... et limiter le temps passé à la surface de l'eau.

Cependant, pas de panique, la température de l'eau doit monter à plus de 25 °C pour que les bulins relarguent leurs furcocercaires et ils se plaisent plutôt dans les eaux tranquilles. Un canyon au débit régulier avec une eau tempérée ne présente aucun risque, mais soyons vigilants en cas de vasques d'eau croupie ou simplement stagnante bien ensoleillée avec présence de végétation, notamment près des rives où le débit est bien plus faible (zones à éviter car ce sont des sites où vont frayer les poissons).

Pour de ce qui est des explorations spéléologiques, certes il y a peu de probabilité que les bulins, planorbes ou autres gastéropodes puissent être troglaphiles ou troglaxènes, ce qui est cependant à vérifier. Mais il est à signaler que les gastéropodes cavernicoles sont pour la majorité des gastéropodes aquatiques, de la famille des prosobranches. Le seul argument que nous puissions avancer, est que les températures rencontrées sous le karst sont rarement des températures tropicales...

Néanmoins, prudence dans les entrées de grottes chaudes en Asie (Laos, Chine, Cambodge, Thaïlande), voire en Afrique. Éviter les marches d'approche dans les zones d'entrées aquatiques

5.10 AGENTS VIRAUX TRANSMISSIBLES PAR L'EAU

5.10.1 Hépatite A

5.10.1.1 Virus de l'hépatite A



Virus de type groupe IV

Famille : *Picornaviridae* ; **Genre :** *Heparnavirus* ou *Hépathovirus*

Espèce : Virus de l'hépatite A

(Photo : microscopie électronique)

(Extrait : http://commons-wikimedia.org/wiki/File:Hepatitis_A_virus_01.Jpg?uselang=f)

5.10.1.2 Écologie

Maladie infectieuse due à un virus (virus de l'hépatite A ou VHA) appartenant à la famille des picornavirus ou entérovirus à ARN, du genre *Heparnavirus* ou *Hépathovirus*, de 25 nm, résistant à la chaleur, à l'acide et à l'éther. Les réservoirs sont l'homme et le chimpanzé (et peut-être d'autres singes également). Le virus est résistant aux détergents, aux acides (pH 1), aux solvants (par exemple, l'éther et au chloroforme), à la dessiccation et à la chaleur jusqu'à 60 °C. Il peut survivre pendant des mois dans l'eau douce et l'eau de mer.

5.10.1.3 Pathogénicité

Après avoir été ingéré, le VHA envahit la circulation sanguine en traversant l'épithélium du pharynx ou de l'intestin. Le sang transporte le virus vers sa cible, le foie, où il se multiplie dans les hépatocytes et les cellules de Kupffer (les macrophages du foie). Il n'existe apparemment pas de cytotoxicité directe du virus et l'atteinte du foie est consécutive à la réaction immunitaire. Les virus sont excrétés



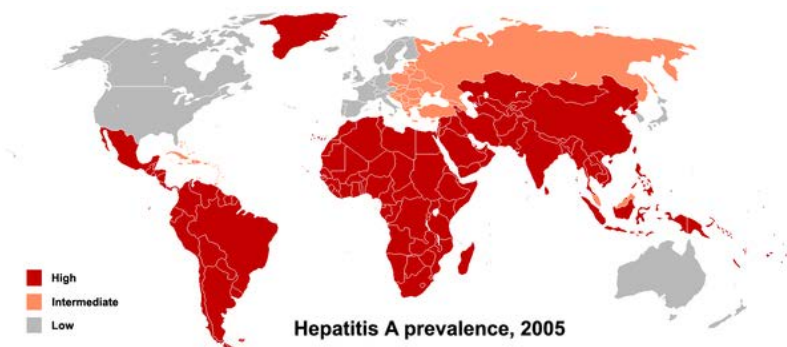
dans la bile et éliminés dans les selles. Le VHA est excrété en grandes quantités environ 11 jours avant l'apparition des symptômes ou des anticorps IgM anti-VHA dans le sang.

5.10.1.4 Épidémiologie

L'hépatite A, (anciennement connue sous le nom d'« hépatite infectieuse »)⁷⁵, est due à l'eau contaminée. Chaque année, environ 10 millions de personnes sont infectées par le virus dans le monde⁷⁶

Le VHA se retrouve dans les selles des patients infectés et les personnes à haut risque sont les voyageurs séjournant dans les pays en zone d'endémie. Le CDC estime qu'aux États-Unis d'Amérique, il y a eu 30 000 cas en 1997, et environ 127 000 cas nouveaux chaque année de 1980 à 1999.

La plus grande épidémie d'hépatite A aux États-Unis d'Amérique a frappé au moins 640 personnes (en en tuant quatre) dans le nord-est de l'Ohio et le sud-ouest de la Pennsylvanie à la fin de 2003. L'épidémie a été attribuée à des oignons verts contaminés dans un restaurant de Monaca, en Pennsylvanie. En 1988, 300 000 personnes à Shanghai, en Chine ont été infectées par le VHA après avoir mangé des palourdes provenant d'une rivière contaminée.



5.10.1.5 Transmission

Le virus se propage par voie oro-fécale et les infections se produisent souvent lorsque les règles d'hygiène alimentaire ne sont pas respectées. L'hépatite A peut être aussi très rarement transmise par voie parentérale. Les foyers de toxi-infection alimentaires ne sont pas rares⁷⁷ et l'ingestion de fruits de mer ayant séjourné dans une eau polluée est associée à un risque élevé d'infection⁷⁸.

Environ 40 % des hépatites virales aiguës sont dues au VHA⁷⁹. Les personnes infectées sont contagieuses avant l'apparition des premiers symptômes, soit à peu près 10 jours après l'infection. Les foyers épidémiques sont typiquement liés à une source commune (par exemple, l'eau de boisson, un restaurant...). L'infection est fréquente chez les enfants dans les pays en développement, jusqu'à atteindre une incidence de 100 %, mais après l'infection, l'immunité persiste tout au long de la vie.

5.10.1.6 Symptomatologie

L'hépatite A est une maladie hépatique d'origine virale dont l'évolution peut être bénigne ou grave. Parfois sans symptôme particuliers ; dans 90 % des cas, l'hépatite sera asymptomatique. Chez 10 % des patients infectés, la maladie sera symptomatique. Le temps qui s'écoule entre l'infection et l'apparition des symptômes, (période d'incubation), est de deux à six semaines et la durée moyenne d'incubation est de 28 jours⁸⁰. Généralement asymptomatique avant l'âge de 6 ans, l'hépatite A se manifeste dans plus de 70 % des cas chez l'adulte par un ictère franc, cutanéomuqueux, régressant en dix à vingt jours. Les symptômes suivants peuvent être observés au cours d'une hépatite A aiguë non compliquée. Leur fréquence est variable selon les études⁸¹ :

- Ictère, une coloration jaune de la peau ou des muqueuses (bien visible au niveau de la conjonctive)
- Fatigue
- Fièvre
- Céphalée
- Perte d'appétit

- Perte de poids
- Douleur (s) abdominale (s)
- Nausées ou vomissements
- Diarrhée ou constipation
- Dépression
- Hépatomégalie
- Splénomégalie
- Sensibilité hépatique (douleurs dans le quadrant supérieur droit de l'abdomen)
- Bradycardie

L'évolution est habituellement favorable. Beaucoup plus rarement, on peut observer des formes prolongées (15 % des cas) se caractérisant par une évolution sur plusieurs semaines ou mois, des formes avec rechutes dans 1 à 2 % des cas, survenant après une guérison apparemment complète ou une rémission partielle. Il n'y a pas de passage à une forme chronique. Les réinfections par le VHA sont fréquentes, surtout dans les zones d'endémie, mais restent infra-cliniques en raison du haut niveau de l'immunité acquise après primo-infection. La sévérité de la maladie augmente avec l'âge, avec une évolution possible vers une hépatite fulminante (léthalité entre 0,1 % et 0,3 % ; 1,8 % parmi les plus de 50 ans) dont le pronostic reste très défavorable malgré le recours possible à une transplantation hépatique.

Complications

Les complications sont rares, le patient peut développer une hépatite fulminante.

5.10.1.7 Diagnostic

Bien que le virus soit excrété dans les selles seulement à la fin de la période d'incubation, le diagnostic précis peut être fait avant cette date par la détection dans le sang des anticorps IgM spécifiques du virus de l'hépatite A. Les anticorps IgM sont spécifiques de la présence du virus de l'hépatite A. Ils sont décelables une à deux semaines après l'infection initiale et persistent jusqu'à 14 semaines. La présence d'anticorps IgG dans le sang signifie que la phase aiguë de la maladie est terminée et que la personne est à l'abri d'une nouvelle infection. Les anticorps IgG contre le VHA sont également retrouvés dans le sang après vaccination et les tests d'immunité contre le virus sont fondés sur la détection de cet anticorps⁸².

Pendant la phase aiguë de l'infection, les enzymes hépatiques dont l'alanine aminotransférase (ALAT) sont présents dans le sang à des niveaux beaucoup plus élevés que la normale. Les enzymes proviennent des cellules hépatiques qui ont été endommagées par le virus⁸³. Le virus de l'hépatite A est présent dans le sang (virémie), et les selles des personnes infectées jusqu'à deux semaines après l'apparition de la maladie clinique.

5.10.1.8 Traitement

Il n'existe pas de traitement spécifique de l'hépatite A. Il est conseillé aux patients de se reposer, d'éviter les aliments gras et l'alcool, d'avoir une alimentation équilibrée, et de bien s'hydrater. Environ 15 % des personnes chez qui on a diagnostiqué une hépatite A, présentent un ou plusieurs symptômes de rechute pendant une période de 24 mois après avoir contracté la maladie.

5.10.1.9 Prévention

La sécurité sanitaire des aliments et de l'eau est indispensable dans les zones à risques, et la vaccination sont les moyens les plus efficaces d'éviter la maladie.

Il existe plusieurs vaccins contre l'hépatite A dans le monde. Ils offrent tous une protection comparable contre le virus et ont des effets secondaires analogues.

Près de 100 % des sujets vaccinés ont présenté des concentrations d'anticorps protectrices contre le virus dans le mois suivant l'administration d'une dose unique de vaccin. Même après exposition au

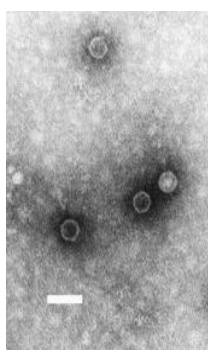
virus, une dose de vaccin administrée dans les deux semaines suivant le contact a des effets protecteurs. Une deuxième injection après 6 à 12 mois confère une protection à vie.

Des millions de personnes ont été vaccinées dans le monde sans qu'il n'y ait jamais eu de manifestations indésirables graves. Ce vaccin peut être administré dans le cadre des programmes ordinaires de vaccination infantile et avec les vaccins couramment administrés avant un voyage.

Remarque : Les hépatites B, C, D, ont des contaminations exclusivement parentérales ou sexuellement transmissibles et ne présentent pas de risque spécifique au cours des activités de canyionisme et de spéléologie. Cependant sortez couverts....

5.10.2 Poliomyélite

5.10.2.1 Virus de la poliomyélite



Groupe Groupe IV (virus à ARN)

Famille Picornaviridae

Genre Entérovirus

Espèce Poliovirus

Les poliovirus sont les agents responsables de la poliomyélite. À la suite de nombreuses études dont il a fait l'objet depuis les années 1930 et particulièrement dans les années 1950, le poliovirus humain est devenu un modèle de choix pour l'étude de la biologie moléculaire des virus animaux à ARN⁸⁴. Ce sont des virus à ARN simple brin linéaire de polarité positive, c'est-à-dire que leur génome est sous forme d'une molécule d'ARN de même polarité que l'ARN messager. Il a la faculté d'être fortement mutagène.

Photo : en 2000 James Hogle⁸⁵ de l'Université de Harvard obtient une photographie en 3-D du poliovirus.

La poliomyélite, également appelée maladie de Heine-Medin, paralysie spinale infantile ou simplement polio, est une maladie infectieuse aiguë et contagieuse spécifiquement humaine causée par le poliovirus sauvage, dont il existe trois types : PV1, PV2 et PV3. L'infection, transmise par voie digestive, est inapparente chez 90 à 95 % des sujets et se traduit dans le reste des cas par des symptômes le plus souvent bénins et non spécifiques⁸⁶

Sérotypes

Chaque sérotype contient de nombreuses sous-souches. Par exemple, chez le type 1 (qui regroupe 80 % des souches), on compte entre autres :

- Mahoney (isolée en 1941), qui est très virulente. De plus, elle a pour caractéristique de causer une paralysie aux singes après une injection musculaire (ce que ne produisent pas toutes les autres souches), paralysie qui est provoquée même après de très fortes dilutions de la souche (injectée en intramusculaire, à une dilution de 1/10 000, elle peut encore être active.
- MEF2, Brunhilde (isolée en 1939)
- Frederick

Chez le type 2, (10 % des souches) :

- Lansing (isolée en 1938)
- MEF1, Wilfred et YSK

Chez le type 3, (10 % des souches) :

- Leon (isolée en 1937)

5.10.2.2 Mode d'action

Les poliovirus sont transmis par voie orale et se multiplient dans les amygdales et dans le tissu lymphoïde du tractus digestif. Le virus non enveloppé est résistant aux solvants digestifs. L'incubation est de 10 à 14 jours.



L'adsorption du poliovirus à la surface de la cellule-hôte se fait par l'intermédiaire du récepteur PVR (Récepteur Par Voie orale), récepteur spécifique de ce virus. Ce récepteur est présent dans les membranes de nombreux types cellulaires, mais le poliovirus ne peut se multiplier que dans les cellules de la corne antérieure de la moelle épinière. Le virus pénètre dans la cellule-hôte par injection de son génome directement dans celle-ci. Chez l'homme, le poliovirus limite sa multiplication au niveau des cellules du pharynx, de l'intestin et des cellules nerveuses alors qu'il se reproduit pourtant dans d'autres tissus en laboratoire. Mais il épargne les cellules intestinales qui pourtant sont favorables à la multiplication du virus polio⁸⁷.

L'expression et la réplication du génome viral ont lieu au sein du cytoplasme et permettent la formation de nombreuses particules virales. Au cours de ces processus, il y a détournement de la machinerie cellulaire au profit du virus. Les particules virales seront libérées à la faveur d'une lyse cellulaire.

Les poliovirus sont des virus relativement stables : ils sont inactivés par la pasteurisation. Le seul réservoir naturel connu pour les poliovirus est l'homme.

5.10.2.3 Épidémiologie et facteurs de risque

En 1988, la 41^{ème} Assemblée mondiale de la Santé, a lancé une initiative mondiale en vue d'éradiquer la poliomyélite avant la fin de l'an 2000. Depuis le lancement de cette initiative, le nombre des cas, estimé à 350 000, a reculé de plus de 95 %. Le nombre des pays où sévit la poliomyélite est passé de 125 à 30 à la fin de 1999. En 1994, les Amériques ont certifié que la maladie a disparu du Pacifique occidental, qui comprend la Chine, ainsi que de l'Europe. Alors qu'elle était largement endémique sur les cinq continents en 1988, la poliomyélite ne sévit plus désormais que dans certaines zones de l'Afrique subsaharienne et du sous-continent indien.

À la fin de 1999, 7 094 cas de poliomyélite avaient été déclarés. Tous les cas n'étant pas notifiés, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) estime que le nombre total des cas ne dépassait pas 20 000 en 1999. Des dizaines de milliers d'autres enfants sont porteurs du virus et, sans être paralysés, ils peuvent néanmoins contaminer d'autres enfants.

Période de contagion et transmission

À l'instar des autres entérovirus, la transmission est principalement interhumaine féco-orale (elle peut également être transmise par les postillons émis lors de toux ou d'éternuements). Les personnes infectées peuvent transmettre l'infection tant que le virus produit des sécrétions. La présence du virus persiste dans la gorge pendant une semaine, et dans les fèces pendant 3 à 6 semaines, ou même davantage.

Facteurs influençant le développement de la maladie :

- l'âge : la poliomyélite touche plus fréquemment les sujets jeunes et les enfants ;
- le sexe : la poliomyélite touche plus les hommes que les femmes ;
- la grossesse ;
- l'exercice musculaire et fatigue musculaire ;
- les injections intramusculaires ;
- les déficits immunitaires congénitaux ;
- l'amygdalectomie ;
- des facteurs génétiques (chromosome 19).

5.10.2.4 Symptomatologie

La poliomyélite antérieure aiguë se traduit par une symptomatologie précoce qui associe fièvre élevée, céphalées, raideur cervicale et dorsale, myalgies, faiblesse asymétrique de plusieurs muscles, sensibilité au toucher, troubles de la déglutition, disparition des réflexes ostéotendineux,



paresthésies^w, irritabilité, constipation, difficultés mictionnelles^x. La paralysie survient en général de un à dix jours après le début des symptômes, progresse durant deux ou trois jours, et cesse de s'étendre au moment de la défervescence⁸⁸.

Poliomyélite spinale (localisation dans les motoneurones^y dans la corne antérieure du cordon médullaire)

La poliomyélite spinale est la forme la plus courante de poliomyélite paralytique. Elle résulte de l'invasion par le poliovirus des motoneurones de la corne antérieure de la moelle épinière (partie ventrale de la substance grise), qui véhiculent l'ordre transmis par le cortex moteur^z. Les nerfs moteurs spinaux innervent les muscles du tronc (dont les muscles intercostaux et le diaphragme) et des membres⁸⁹. L'infection virale cause une inflammation des cellules nerveuses, conduisant à la destruction partielle ou totale du ganglion des motoneurones. La mort des motoneurones entraîne leur dégénérescence wallérienne^{aa}. Les cellules musculaires ne recevant plus de signaux en provenance du cortex moteur ni de la moelle épinière s'atrophient, s'affaiblissent et deviennent rapidement inactives⁹⁰. La destruction partielle ou totale de l'innervation d'un muscle détermine l'intensité de sa paralysie. L'évolution vers une paralysie maximale est rapide (de deux à quatre jours) et s'associe généralement à une fièvre et des myalgies⁹¹. L'arc du réflexe ostéotendineux étant interrompu, les réflexes sont abolis. En revanche, l'intégrité des nerfs sensitifs permet la préservation de la somesthésie^{bb}.

La distribution de la paralysie spinale dépend de l'étage médullaire atteint, qui peut être cervical, thoracique, lombaire ou combiné⁹². L'atteinte peut être bilatérale, mais elle est toujours asymétrique. La paralysie est souvent plus marquée pour les muscles proximaux (proches de la racine des membres) que pour les muscles distaux (doigts et orteils)⁹³.

Poliomyélite bulbaire

La poliomyélite bulbaire représente 2 % des cas de poliomyélite paralytique. Elle est la conséquence de l'invasion et de la destruction par le poliovirus des motoneurones de la région bulbaire du tronc cérébral qui entraîne la paralysie des muscles innervés par les nerfs crâniens, des signes d'encéphalite, des difficultés respiratoires, des troubles de la phonation et de la déglutition⁹⁴. Les trois nerfs crâniens les plus critiques sont le nerf glossopharyngien^{cc} (IX^e paire), qui contrôle les mouvements de l'oropharynx^{dd} et la déglutition, le nerf vague^{ee} (X^e paire) qui jouent notamment un rôle majeur dans la phonation et le nerf accessoire (XI^e paire) qui innerve le sterno-cléido-mastoïdien

w/ paresthésie: est un trouble de la sensibilité tactile, regroupant plusieurs symptômes, dont la particularité est d'être désagréable mais non douloureux : fourmillements, picotements, engourdissements, etc.

x/ miction (du latin [*mingere*], uriner), l'action d'**uriner**, désigne l'élimination d'urine par la vidange de la vessie.

y/ motoneurones : ils constituent la voie de sortie du système nerveux central ou la voie finale de tout acte moteur. Les corps cellulaires des motoneurones sont situés soit dans le tronc cérébral, soit dans la corne ventrale de la substance grise de la moelle épinière.

z/ cortex moteur désigne l'ensemble des aires du cortex-cérébral qui participent à la planification, au contrôle et à l'exécution des mouvements volontaires des muscles du corps. D'un point de vue anatomique, le cortex moteur est situé dans la partie postérieure du lobe frontal, au niveau de la région caudale de la circonvolution frontale ascendante en avant du sillon central. Le cortex moteur est en interaction constante avec d'autres structures nerveuses impliquées dans le mouvement comme le système des ganglions de base et le cervelet.

aa/ dégénérescence wallérienne : lorsqu'une fibre nerveuse est sectionnée ou écrasée, la partie distale à la lésion (c'est-à-dire la portion de l'axone séparée du corps cellulaire contenant le noyau) va dégénérer selon un processus appelé Les axones et leurs gaines de myéline sont digérés par les macrophages et les cellules de Schwann. Il en résulte une atrophie des fibres musculaires cibles du nerf lésé.

bb/ somesthésie : désigne un ensemble de différentes sensations (pression, chaleur, douleur...) qui proviennent de plusieurs régions du corps (peau, tendons, articulations, viscères,...).

cc/ nerf glossopharyngien : neuvième nerf crânien, son rôle est mixte moteur et sensitif, il innerve plusieurs parties supérieures du corps.

dd/ oropharynx : partie du pharynx située derrière la bouche.

ee/ nerf vague : également appelé **nerf pneumogastrique** ou **nerf cardio-pneumo-entérique**, dixième nerf crânien ; c'est une voie très importante de la régulation végétative (digestion, fréquence cardiaque...) mais aussi du contrôle sensorimoteur du larynx et donc de la phonation.



et le trapèze^{ff}. L'atteinte du nerf trijumeaux (V^e paire) et du nerf facial (VII^e paire) expose à des troubles de la mastication et à une paralysie faciale. L'atteinte des nerfs oculomoteurs (III^e et VI^e paires) entraîne une diplopie^{gg}.

Poliomyélite spinobulbaire

Forme combinée des deux précédentes, la poliomyélite spinobulbaire représente 19 % des cas de poliomyélite paralytique. Elle est parfois qualifiée de « poliomyélite respiratoire ». Le virus s'attaque à la partie supérieure de la moelle cervicale (de C2 à C5) exposant à la paralysie diaphragmatique par atteinte du nerf phrénique. Cette forme redoutable peut ainsi nécessiter le recours à la ventilation mécanique. Elle peut conduire également à la paralysie des membres, à des troubles de la déglutition et de la fonction cardiaque⁹⁵.

Évolution

- La guérison est la règle chez les sujets porteurs d'une poliomyélite abortive.
- En cas de méningite aseptique, les symptômes peuvent persister de deux à dix jours mais l'évolution est presque toujours favorable⁹⁶.
- En cas de poliomyélite spinale, la paralysie est définitive si l'innervation motrice^{hh} du muscle est entièrement détruite. Les cellules endommagées mais survivantes peuvent récupérer une partie de leur fonctionnement quatre à six semaines après les premiers signes. La moitié des patients atteints de poliomyélite spinale récupère totalement, un quart récupère avec des séquelles modérées et un quart présente un handicap sévère⁹⁷. Le degré de paralysie à la phase aiguë et de paralysie résiduelle semble proportionnel à l'intensité de la virémie, et inversement proportionnel au degré d'immunité⁹⁸. La poliomyélite spinale est rarement mortelle. En l'absence d'assistance respiratoire, les formes s'accompagnant d'atteinte respiratoire évoluent vers les pneumopathies d'inhalation et vers l'asphyxie.

Au total, de 5 à 10 % des poliomyélites paralytiques évoluent vers la mort par paralysie des muscles respiratoires. Le taux de mortalité varie selon l'âge : de 2 à 5 % des enfants et de 15 à 30 % des adultes décèdent des suites de la maladie. La poliomyélite bulbaire est la plus meurtrière, constamment mortelle en l'absence de traitement et d'assistance respiratoire et étant à l'origine de 25 à 75 % de décès des patients pris en charge. La réanimation permet de réduire la mortalité à 15 %⁹⁹.

Syndrome post-poliomyélite

Trente à quarante ans après la phase aiguë de la maladie, alors que leur état général est depuis longtemps stabilisé, les malades peuvent ressentir une grande fatigue, une faiblesse musculaire progressive et des douleurs articulaires. Parfois ces symptômes s'accompagnent de difficultés respiratoires ou d'atrophie musculaire : il toucherait un survivant sur deux. En 2002, 55 000 personnes auraient des séquelles de poliomyélite en France, 700 000 en Europe et plus d'1 million aux États-Unis d'Amérique¹⁰⁰.

ff/ muscle trapèze : est un muscle de la loge postérieure de l'épaule, de la nuque, et du tronc, appartenant aux muscles de la ceinture du membre thoracique. Il est très vaste et occupe toute la région supérieure du dos à la manière d'un losange, d'où son nom. On le divise habituellement en trois faisceaux : supérieur, moyen et inférieur.

gg/ diplopie (ou **double vision** ; du grec [*diploos*], double et [*ôps*], vue) : perception simultanée de deux images d'un simple objet qui peuvent se déplacer horizontalement, verticalement ou en diagonale.

hh/ innervation motrice-somatique : mouvement de la gorge (oropharynx)

- Innervation motrice viscérale : Innervation parasympathique de la glande parotide
- Innervation sensitive viscérale : Sensibilité de la glande parotide, du glomus et du sinus carotidiens, du pharynx et de l'oreille moyenne
- Innervation sensitive somatique : Oreille externe
- Innervation sensorielle : Gustation (V lingual et tiers postérieur de la face dorsale de la langue)



5.10.2.5 Diagnostic

L'analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) recueilli par ponction lombaire révèle un liquide clair, une hypercytose (nombre élevé de cellules dans un liquide organique) modérée à prédominance de lymphocytes, une glycorachieⁱⁱ normale, une protéinorachie^{jj} normale ou modérément augmentée, traduisant une méningite aseptique. Répété 15 jours plus tard, l'examen montre généralement une régression du nombre de cellules et une majoration de la protéinorachie. Le recours à la ponction lombaire n'est toutefois pas dénué de risque, notamment en période épidémique avérée¹⁰¹.

La sérologie poliomyélitique est sensible et précoce¹⁰², mais le diagnostic de certitude nécessite la mise en évidence directe du poliovirus sur un écouvillonnage pharyngé, dans les selles ou dans le liquide céphalo-rachidien. Celle-ci n'est pratiquée que de façon exceptionnelle en zone d'endémie car coûteuse et non indispensable. Elle s'avère nécessaire en revanche dans les cas douteux, et particulièrement dans les régions où la maladie a disparu. L'identification du matériel génétique viral par réaction en chaîne par polymérase permet en outre de distinguer les souches sauvages des souches vaccinales utilisées pour la vaccination orale. Cette distinction est importante puisque pour chaque cas rapporté de poliomyélite paralytique, on estime qu'il existe 200 à 3 000 autres cas asymptomatiques mais contagieux.

Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel est très difficile dans les formes non paralytiques, cette maladie passant souvent pour une infection banale rhino-pharyngée ou digestive. La poliomyélite paralytique est cliniquement suspectée devant la survenue aiguë de paralysies flasques d'un ou de plusieurs membres avec diminution ou abolition des réflexes ostéo-tendineux, sans atteinte sensitive ni trouble des fonctions cognitives, et après exclusion d'une autre cause notamment inflammatoire (syndrome de Guillain-Barré^{kk}, myélite aiguë transverse) ou mécanique (compression médullaire ou radiculaire, traumatisme). Le diagnostic est évoqué facilement chez les autochtones des zones endémiques, plus rarement chez les sujets voyageurs non immunisés.

Selon Sabin, d'autres types d'entérovirus pourraient causer une paralysie de type poliomyélitique¹⁰³. Le virus du Nil occidental peut aussi générer des paralysies flasques aiguës. On parle alors de *West Nile poliomyelitis*^{104,105}.

5.10.2.6 Prévention et traitement

La maladie se transmettant essentiellement par voie oro-fécale, les principales mesures de prévention tiennent au développement de l'hygiène. Comme il n'existe pas de traitement de la maladie (seuls les problèmes liés aux handicaps sont pris en charge par la rééducation), la seule action médicale préventive est constituée par le vaccin qui, administré à plusieurs reprises, confère à l'enfant une protection.

Pour les expéditions à l'étranger, il est indispensable de connaître les risques épidémiques du pays concerné avant tout départ et d'être à jour dans les vaccinations.

ii/ glycorachie : taux de glucose présent dans le liquide céphalorachidien. Une glycorachie normale est à peu près égale à la moitié de la glycorachie (60 % de la glycémie).

- **hypoglycorachie** si ce taux est insuffisant, se présente entre autres dans plusieurs pathologies infectieuses.
- **hyperglycorachie** si ce taux est excessif, presque toujours liée à une hyperglycémie.

jj/ protéinorachie : concentration en protéines dans le liquide céphalo-rachidien. Elle ne doit pas être confondue avec l'albuminorachie qui est la concentration de la seule albumine. Sa valeur normale est de 0,20 à 0,40 g/l et l'on parle d'hyperprotéinorachie en présence d'une protéinorachie supérieure à 0,40 g/l.

kk/ syndrome de Guillain-Barré (SGB) ou syndrome de Guillain-Barré-Strohl : maladie auto-immune inflammatoire du système nerveux périphérique. Il s'agit aussi de l'une des maladies neuromusculaires les plus fréquentes. Elle comporte plusieurs formes cliniques distinguées par les tests électrophysiologiques. La forme habituelle est myélinique et guérit le plus souvent en quelques semaines sans séquelles.



Vaccin

Il existe à l'heure actuelle deux types de vaccins :

- **Vaccin Poliomyélitique Inactivé Injectable (VPI)** développé par Jonas Salk, contenant les trois sérotypes de virus inactivés et qui induit une protection due à une bonne immunité générale. Ce vaccin nécessitant plusieurs injections et des rappels réguliers, il doit être utilisé dans des conditions d'asepsie contrôlées. De plus, son coût limite sa diffusion aux pays les plus développés.
- **Vaccin Poliomyélitique Oral (VPO)** développé par Albert Sabin, contenant les trois sérotypes de virus vivants, atténués à la suite de mutations. Ce vaccin possède de multiples avantages ce qui explique qu'il ait été jusqu'à maintenant l'outil privilégié du programme d'éradication : il est facile à utiliser car il ne nécessite pas d'injection, il confère rapidement une bonne immunité générale et une immunité locale au niveau de l'intestin, réduisant par conséquent la transmission du poliovirus sauvage. Ce vaccin est de plus d'un coût très abordable. Ses principaux inconvénients sont sa mauvaise conservation aux températures ambiantes et l'existence de cas extrêmement rares de « poliomyélite paralytique associée au vaccin » apparaissant quelques jours après la vaccination chez les sujets vaccinés ou leurs proches non vaccinés.

CHAPITRE 6

MICROBIOLOGIE ATMOSPHÉRIQUE DU KARST

6.1 INTRODUCTION

Après avoir passé en revue les risques potentiels rencontrés dans les milieux telluriques et aquatiques, nous allons examiner les contaminations possibles par voie aérienne. Pour cela nous allons nous appuyer sur la thèse présentée par Michel LUQUET¹⁰⁶ en 1969, qui a eu la patience et la minutie d'avoir identifié les bactéries par variétés, sans avoir les techniques actuelles d'identification ; un travail bien mené, même si l'on peut, au vu des connaissances actuelles, émettre quelques réserves...

6.2 ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AIR DES CAVERNES

L'auteur de la thèse a effectué 103 prélèvements dans les 11 cavités citées ci-dessous. Ces prélèvements ont permis d'identifier 506 souches microbiennes par la technique des boîtes ouvertes et qui se répartissent de la façon suivante :

Quatre régions ont été inventoriées.

Zones	Sud-Ouest	Centre	Nord-Ouest	Pyrénées Atlantiques
Grottes ou avens	1_Orliac 2_Mortureux 3_Fond d'Anguillère	1_Ornac 2_Mont-la-Chapelle 3_Rey	1_Jacqueline 2_Pylône	1_Pierre St. Martin 2_Arphidia 3_Gezaltza Arrikruz (Espagne)

6.3 DÉNOMBREMENT DE LA FLORE BACTÉRIENNE

Il n'a pas été possible d'utiliser directement les résultats des prélèvements car les durées d'exposition des boîtes de Pétri n'ont pas été identiques. Nous avons dû faire une extrapolation, en ramenant toutes les observations sur la base de 15 mn d'ouverture, ce qui diminue la fiabilité des résultats.

Les mesures faites près des zones d'eau, des lacs ou rivières, n'ont pas été retenues dans les statistiques globales car la condensation de l'eau dans les boîtes semble avoir eu une action sur le comptage des colonies.

Résultat du nombre de colonies moyennes observées dans les différentes zones classées dans l'ordre du tableau ci-dessus avec un degré de liberté pour p = 0,975

Moyenne \pm erreur standard % = (n) m \pm t ($\sigma / \sqrt{(n-1)}$) [n = nombre éch. ; m = moyenne ; t ($\sigma / \sqrt{(n-1)}$) = d° erreur]

Zones	Sud-Ouest	Centre	Nord-Ouest	Pyrénées Atlantique
Grottes ou avens	1 (6) 25,6 \pm 9,3 2 (6) 34,1 \pm 9,7 3 (4) 10,9 \pm 13,9	1 (7) 4,7 \pm 2,2 2 (3) 24,6 \pm 11,6 3 (Gouffre Rey : envahissement de fongiques valeurs non mesurées)	1_(1) 3 2_Pylône 1_Une valeur mesurable (fongiques) 2_Valeurs non mesurées	1 (9) 0,6 \pm 0,3 2 (14) 7,9 \pm 3,3 3 (4) 24,7 \pm 12,1
Global	(16) 25,1 \pm 10,6	(10) 10,6 \pm 5	Sans résultat	(27) 7,9 \pm 3,6

(t = test de Student variables indépendantes pris pour p = 0,975)



Après analyse des résultats par cavité, nous avons les observations suivantes :

Mortureux qui a une moyenne de $34,1 \pm 9,7$ est significativement différent avec :

- Ornac $m = 4,7 \pm 2,2$ ($t = 2,32$) et Pierre Saint Martin $m = 0,6 \pm 0,3$ ($t = 3,76$)

Orliac, $m = 25,6 \pm 9,3$ est significativement différent avec :

- Pierre Saint Martin $m = 0,6 \pm 0,3$ ($t = 3,16$)

Ornac, $m = 4,7 \pm 2,2$ est significativement différent avec :

- Pierre Saint Martin $m = 0,6 \pm 0,3$ ($t = 3,16$)

Nous pouvons dire que la Pierre Saint Martin est différente des autres cavités en ce qui concerne la flore microbienne (ceci peut être expliqué par la température très basse de cette cavité). Si l'on prend les résultats par zone, nous pouvons dire que la zone Atlantique se différencie des autres zones, mais les variations entre les résultats individuels et le petit nombre d'échantillons observés ne permettent pas le rejet de l'hypothèse nulle (même pour une valeur de $p = 0,8$).

6.4 SUR-CONTAMINATION LIÉE À LA PRÉSENCE DE LA VAPEUR D'EAU

Sur les 12 boîtes étudiées, toutes zones confondues, nous avons un pourcentage moyen sur les parties humides de 243 ± 46 % comparativement à la moyenne de chaque grotte hors échantillons retenus. Nous pouvons constater que la présence d'eau augmente fortement la pression de vapeur saturante, ce qui accroît de ce fait la condensation des particules d'humidité ainsi que la contamination des boîtes examinées. Cette sur-contamination par la pression de vapeur saturante est amplifiée par la méthode de prélèvement qui est une méthode gravitationnelle. L'augmentation de la vapeur saturante augmente le volume des particules d'eau en suspension et diminue de ce fait le rapport surface/volume des particules, ce qui accélère la chute, donc augmentation de la contamination des boîtes...

6.5 IDENTIFICATION DE LA FLORE BACTÉRIENNE

Dans cette thèse, la flore extérieure a été estimée selon des normes nationales retenues pour ce type de prélèvements et non sur des prélèvements spécifiques à chaque cavité examinée.

L'étude des variations des classes bactériennes a été faite par zones. Ces variations peuvent varier en fonction des fréquentations des grottes ou provenir aussi de la répartition globale qui influe sur le pourcentage relatif dans la cavité (pourcentage en rapport à la flore totale observé).

La famille la plus souvent rencontrée est celle des *Bacillaceae* uniquement représentée par le genre *Bacillus*, puis viennent les *Micrococcus* avec les *Staphylococcus* et enfin les *Achromobacteriaceae*, représentés par le genre *Flavobacterium*. La répartition de ces souches (sans correction de durée d'ouverture) a donné sur l'ensemble les résultats suivants :

<i>Bacillus</i>	soit 249 souches	soit 49,03 %
<i>Micrococcus</i>	soit 135 souches	soit 26,56 %
<i>Staphylococcus</i>	soit 19 souches	soit 3,76 %
<i>Sarcina</i>	soit 1 souche	soit 0,11 %
<i>Flavobactérium</i>	soit 74 souches	soit 14,62 %

N'ont pu être identifiées 19 souches soit 3,76 %. Enfin il a été trouvé 10 souches de levures soit 1,97 % de la flore totale.

6.5.1 Bacilles *Pour l'air de surface pris pour référence => 61 à 65 % de Bacillus*

Les Bacilli forment des bactéries en bâtonnets aérobies de Gram(+), appartenant à l'embranchement des Firmicutes, la classe des Bacilli, l'ordre des Bacillales, à la famille des Bacillaceae.

Caractéristiques : peuvent avoir un endospore, nombreux sont thermophiles. Mobilité(+), coloration Gram(+), aérobies(±), fermentation du lactose(±), réduction sulfate(-), catalase(+), oxydase(-), nitrite réducteur(±), ADN (Guanine + Cytosine = 33 à 58 %). Milieux de culture : agar glucose peptone ; Agar Mossel...

La répartition par zone en pourcentage relatif :

Zone Nord-Ouest :	29,62 % Zone (Faible sur la flore extérieure)
Zone Centre :	49,33 % Zone
Zone Sud-Ouest :	67,44 % Zone (Proche de la flore externe)
Zone Atlantique :	47,98 % Zone

Moyenne sur globale observée = 49,28 ± 10,33 % sur la totalité

Pour les *Bacilli* nous avons une variation entre zones, qui nous donne une χ^2 de 9,8 (soit un degré de liberté 3 => pour p = 0,95 ; $\chi_t^2 = 7,81$) qui nous indique qu'il existe une variation restant toutefois faiblement significative. Cette variation est démontrée par les différences mesurées : la zone Sud-Ouest contient 67 % de la flore totale contre 30 % pour la zone Nord-Ouest. Il faut également tenir compte de l'effet relatif des mesures (une augmentation de l'une des classes entraîne une baisse des autres).

6.5.2 Microcoques *Pour l'air de surface pris pour référence => 22 à 30 % microcoques*

*Les Micrococcus sont de l'embranchement Firmicutes à coloration Gram(+), classe Actinobacteria, de l'ordre Actinomycetales, du sous-ordre des Micrococccineae, famille des Micrococccaceae. Ils sont représentés par des bactéries d'une morphologie en forme de coques, cellules sphériques de 0,5 à 2 µm de diamètre, souvent groupées en paires ou en tétrades, généralement immobiles (sauf le **M. agilis** qui est mobile) et mésophiles. Ce sont des bactéries aérobies strictes, à métabolisme oxydatif, possédant une catalase(+), ADH(-), acidité à partir des glucides(+), ADN du Micrococcus (Guanine + Cytosine = 64 à 75). Milieux : Agar Barnes, MK ; agar, bile, esculine, azide, D...*

La répartition par zone en pourcentage relatif :

Zone Nord-Ouest :	25,58 % Zone
Zone Centre :	33,33 % Zone
Zone Sud-Ouest :	35,18 % Zone
Zone Atlantique :	25,32 % Zone

Moyenne globale observée = 27,42 ± 4,25 % sur la totalité

Dans l'ensemble, le pourcentage de *Microcoques* observé est proche de la répartition retrouvée en surface, et présente une bonne régularité quelle que soit la zone (test $\chi^2 = 3$), ce qui montre une bonne homogénéité entre zones. Cette absence de différenciation peut être liée à la présence humaine, car les microcoques sont des germes commensaux à l'Homme.

6.5.3 Staphylocoques *Flore non signalée dans la thèse dans l'air de surface*

*Staphylocoques, famille des Micrococccaceae, qui sont des coques de Gram(+), aérobies facultatif, mobilité(-) catalase(+) et phosphatase(+), coagulase(±), fermentation des glucides(+), arginine-déshydrolyse(+), désoxyribonucléase(+), test à la Lysostaphiline(+), thermonucléase(+) sauf **St. lugdunensis**, ADN(Guanine + Cytosine = 30 à 39 %). Ils sont halophiles. Isolation : sur milieux (Baird-Parker, Chapman, gélose au sang, Tellurite glycine agar...).*

La répartition par zone en pourcentage relatif :

Zone Nord-ouest :	18,51 % Zone
Zone Centre :	10,16 % Zone
Zone Sud-Ouest :	0,00 % Zone
Zone Atlantique :	2,18 % Zone

Moyenne globale observée = 5,71 ± 5,35 % sur la totalité



Nous avons une forte variabilité significative de présence des staphylocoques dans les cavités en fonction des zones (avec une $\chi^2 = 3,56$) ce qui ne permet pas le rejet de l'hypothèse nulle. C'est la zone Nord-ouest qui est la plus touchée de l'ensemble des enregistrements. À noter que dans la zone centre, Mont-la-Chapelle présente une valeur élevée, sans que l'on puisse généraliser cette observation à la zone entière.

D'après l'analyse de l'auteur, pour la grotte Jacqueline et la grotte Pylône, la contamination viendrait de la forte fréquentation anthropique. L'Homme est en effet porteur sain de staphylocoques sur sa peau et ceux-ci sont des germes commensaux très répandus dans la nature.

6.5.4 Flavobactéries *Pour l'air de surface pris pour référence => 1 à 2 % Flavobactéries*

Les Flavobactéries sont du règne Bacteria, embranchement Bacteroidetes, classe Flavobacteria, ordre Flavobacteriales, famille Flavobacteriaceae. Ils rassemblent des bactéries en formes de bâtonnet, à coloration Gram(-), non fermentant et aérobie strict. Mobilité(-) sauf *Cytophaga* (glissement), oxydase(+), catalase(+), ADN-ase(+), non réducteur (nitrates et nitrites), aérobies et mésophiles (croissance entre 5 et 30°C pouvant atteindre 37°C pour l'origine humaine). Culture sur gélose au sang enrichie en facteurs de croissance, colonies incolores ou pigmentées en jaune à pâle orangée, sans hémolyse.

La répartition par zone en pourcentage relatif :

Zone Nord-ouest :	6,25 % Zone
Zone Centre :	10,66 % Zone
Zone Sud-Ouest :	6,20 % Zone
Zone Atlantique :	24,01 % Zone
<i>(Soit => 25 % P. St Martin ; 17 % Arphidias ; 29 % Arrikrutz)</i>	
Moyenne observée = 11,19 ± 5,29 %	

Les *Flavobactéries* qui représentent environ 2 % dans l'air extérieur, sont plus abondantes dans le milieu cavernicole, entre 6 et 25 %... La zone Atlantique semble significativement se détacher de l'ensemble des autres zones qui sont très régulières.

La valeur du $\chi^2 = 10$, mesurée sur cette zone, est très significative ; ceci s'explique par le fait que les cavités pyrénéennes ont une forte différenciation comparativement aux autres zones analysées.

Pour pouvoir comparer des valeurs relatives, nous allons mesurer la corrélation partielle de l'ensemble des prélèvements comparativement à une classe bactérienne déterminée afin de savoir si celle-ci se différencie de l'ensemble des autres classes.

Nous voyons que l'analyse des corrélations résiduelles partielles^{II}, en éliminant chaque fois une classe bactérienne et en comparant cette classe à l'ensemble restant, donne les valeurs suivantes : pour les *Bacilli* la valeur trouvée est de $(1-R^2) = 0,06$, pour une valeur moyenne pour les autres classes de $(1-R^2) = 0,25 \pm 0,07$. La classe des *Bacilli* semble se différencier des autres classes, ses variations de pourcentage semblent indépendantes des variations globales des autres germes.

6.6 INFLUENCE DES FACTEURS D'ENVIRONNEMENTS SUR LA FLORE MICROBIENNE

6.6.1 Température

Dans cette étude, les enregistrements de température et de ventilation n'ont pas été comptabilisés systématiquement dans tous les prélèvements. Mais du fait de la relative constance de la température souterraine, nous pouvons faire une approche entre celle-ci et le taux de contamination corrigé.

La corrélation entre les températures des grottes et le taux bactérien enregistré donne sur le global une valeur de $R = 0,69$ qui peut être estimée à 48 ± 4 % d'explication du lien des variations de la flore

II/ **corrélation résiduelle** : (résiduelle signifie qui n'est pas corrélée ou non analysée), c'est la formule mathématique qui donne la liaison des paramètres entre eux et les variations partielles sont les paramètres analysés (partielles par le fait que l'on substitue un paramètre à chacune des redondances)



et la variation de la température. Ceci peut nous faire comprendre le faible nombre de bactéries qui a pu être enregistré dans la cavité de la Pierre St Martin, compte tenu de la faible température observée dans cette grotte.

Le rôle de la température des cavités sur les différentes classes microbiennes est analysé par les corrélations suivantes :

- Pour les *Bacilli* : $R = 0,21$ soit 4,4 % de relation entre température et flore
- Pour les *Micrococcus* : $R = 0,29$ soit 8,4 % de lien
- Pour les *Staphylococcus* $R = 0,01$ soit 0 % pas de lien observé
- Pour les *Flavobacterium* $R = -0,68$ soit un lien négatif de 46,3 %

Le lien négatif observé pour les *Flavobacterium* vient principalement de l'adaptation au froid de cette famille bactérienne. Elle peut supporter des températures extrêmes aussi diverses que les sources froides ou chaudes, comme celles rencontrées dans les glaciers, les glaces polaires, ou les sédiments des sources chaudes. Pour survivre, ce genre microbien produit une variété d'enzymes permettant l'adaptation aux conditions du milieu.

L'observation des résultats nous montre que dans les grottes froides nous avons une diminution des *Bacilli* et des *Micrococcus*, ce qui augmente par effet relatif le nombre de *Flavobacterium* ; malgré cela nous pouvons constater que le nombre de *Flavobacterium* a une tendance à l'augmentation lorsque la température baisse. Les *Flavobacterium* sont en partie cryophiles et résistent bien aux basses températures.

Cela peut expliquer l'augmentation relative des *Flavobacterium* dans les grottes froides. L'effet transitif inversé dû à la part du relatif peut être corrigé et nous donnerait après correction une corrélation de $R = -0,30$, soit une variation inverse corrigée de cet effet de 9 % d'augmentation pour les *Flavobacterium* dans les cavités froides observées. Nous pouvons dire que les *Flavobactéries* et les *Staphylocoques* sont mieux adaptés aux variations de températures du milieu. Les *Bacilli* étant plus thermophiles, il y a plus de probabilité qu'ils soient sensibles aux basses températures ce qui expliquerait leur diminution et ce qui rejoindrait les observations du chapitre ci-dessus.

6.6.2 Ventilation

La ventilation ne résulte pas de mesures concrètes mais d'une estimation subjective de son intensité. Il faudra prendre ces résultats avec beaucoup de réserves. Les corrélations observées entre la flore microbienne et la ventilation sont :

Sur l'étude globale cette corrélation, on retient une valeur de $R = -0,48$ soit une liaison entre les variations de la flore microbienne et la ventilation estimée de $-23 \pm 6,78\%$, ce qui signifie des variations inversées de la ventilation et de la flore microbienne.

Sur la répartition par classes bactériennes nous obtenons :

- Pour les *Bacilli* : $R = -0,23$, soit -5,2 % de relation entre température et flore
- Pour les *Micrococcus* $R = -0,18$, soit -3,2 % de lien
- Pour les *Staphylococcus* $R = -0,09$, soit -0,8 %, très peu de lien observé
- Pour les *Flavobacterium* $R = 0,65$, soit un lien positif de 42,2 %

Nous pouvons observer qu'il y a une symétrie entre l'effet de la température et de la ventilation. Cette symétrie vient du fait que la liaison température et ventilation a une corrélation très forte de $R = -0,92$ ce qui signifie que lorsque la température est très basse, la ventilation est très forte. Cette étude mérite d'être reprise avec des mesures plus précises.

Il est donc important de mesurer les températures des cavités afin d'avoir une idée des déplacements d'air entre l'intérieur et l'extérieur.

6.7 IDENTIFICATION DES ESPÈCES BACTÉRIENNES

Le but est d'identifier les bactéries afin de connaître leur pathogénicité éventuelle. L'auteur ne donne aucune information sur les procédures d'identification qu'il a pratiquées, nous allons nous fier à ses résultats pour la suite de cette analyse.

La répartition sur l'ensemble des souches toutes zones confondues est la suivante :

<i>Bacilli</i>	=>	49,28 ± 10,33 % sur la totalité
<i>Micrococcus</i>	=>	27,42 ± 4,25 % sur la totalité
<i>Staphylococcus</i>	=>	5,71 ± 5,35 % sur la totalité
<i>Flavobacterium</i>	=>	11,19 ± 5,29 % sur la totalité
<i>Sarcina</i>	=>	0,11 % sur la totalité
Flore fongique	=>	1,97 % sur la totalité

6.7.1 Identification des *Bacilli* les plus fréquents



(Photo Bacilli anthracis)

Bacilli

Les Bacilli sont hétérotrophes, saprophytes et ubiquitaires. Ils sont fréquemment retrouvés dans le sol où certaines espèces ont un rôle dans le cycle du carbone et de l'azote. On peut trouver des Bacilli dans des denrées alimentaires.

Pourcentage relatif de *Bacilli* dans le nombre de colonies totales obtenues, par grotte examinée (valeurs données par l'auteur)

Zones	Sud-Ouest	Centre	Nord-Ouest	Pyr. Atlantiques
Grottes ou avens	1_Orliac (68,6%)	1_Ornac (51,28%)	1_Jacqueline (21,21%)	1_Pierre St. Martin (47,19 %)
	2_Mortueux (64,84%)	2_Mt-la-Chapelle (42,42%)	2_Pylône (39,13%)	2_Arphidia (47,82 %)
	3_Fond Anguillère (62,84%)	3_Rey (42,85%)		3_Gealtza Arrikruz (38,98 %)

Pour Jacqueline, Pylône et Rey, problème de comptage, prendre ces résultats avec des réserves

Si nous faisons abstraction des grottes qui ont posées des problèmes de comptage, nous voyons en première analyse que les grottes des Pyrénées Atlantique ont un pourcentage de *Bacilli* inférieur aux autres grottes.

Identification des 5 variétés de *Bacilli*, qui représentent 86,1 % des colonies des colonies de *Bacilli* dans l'étude globale

- *B. sphaericus* => (51 % B.) il est pathogène pour les moustiques.
- *B. pumilus* => (11 % B.) il inhibe le *Vibrio alginolyticus*, qui est présent dans le milieu marin et qui provoque des otites et des plaies. Ce *Vibrio* est présent dans le poisson globe. Cette bactérie a besoin de la biotine pour son développement (21 souches).
- *B. licheniformis* => (9 % B.) agents de toxi-infections alimentaires se traduisant chez l'Homme par des vomissements et des diarrhées. Bactérie thermophile qui dégrade les plumes des oiseaux. Elle provoque des avortements chez les bovins, caprins, porcins et est isolée dans les lésions purulentes des chevaux. Cette bactérie est dénitrifiante, elle transforme les nitrites et nitrates en azote gaz.



- **B. cereus** => (8 % B.) l'ingestion de ces bactéries, et en particulier de leurs toxines, peut entraîner deux types d'infections : l'une caractérisée par des vomissements (toxine émétisante) ou l'autre caractérisée par des diarrhées (toxine diarrhéigène). Infection peu fréquente et sans gravité chez l'Homme. Il peut provoquer des réactions cutanées par contact avec la peau.
- **B. circulans** => (7 % B.) bactérie présente dans les eaux usées, les eaux d'assainissement.

Identification des *Bacilli* peu abondants soit (13 % *Bacilli*)

- **B. laterosporus** => (3 % B.) action tueuse sur les *Salmonella*, les *Candida*, étudiée pour ses actions pro-biotiques et actions bénéfiques sur la croissance des plantes
- **B. pulvificiens** => (2 % B.) reclassés comme ***Paenibacillus larvae***, associée aux poudreuses des larves d'abeilles, isolée des larves d'abeilles mortes.
- **B. firmus** => (2 % B.) lutte contre les nématodes pathogènes des plantes, comprenant l'application à la dite plante d'une quantité nématocide.
- **B. lentus** => (1 % B.) fabrication industrielle de protéase.
- **B. brevis** => (1 % B.) capable d'oxyder le CO en CO₂.
- **B. polymyxa** => (1 % B.) fabrication de la polymyxine.
- **B. alvei** => (1 % B.) a été signalé pour provoquer des infections chez l'Homme et chez les insectes.
- **B. coagulans** => (1 % B.) pro-biotique pour les poulets, les porcs et chez les humains. Il est utilisé pour les problèmes de flore vaginale.
- **B. macerans** => (< 1 % B.) active la germination des plantes, biotique.
- **B. stearothermophilus** => (<1 % B.) utilisé dans les tests de contrôle de stérilisation.

Influence du biotope sur la diversité des *Bacilli* dans le karstique

Nous avons vu que les *Bacilli* étaient influencés par la température ambiante. Si nous classons les *Bacilli* en fonction de leurs caractéristiques par groupes phénotypiques, nous obtenons la classification suivante :

Classification phénotypiques % de germes *Bacilli* identifiés dans chaque groupe

Anaérobiose (±) Mésophiles Acidifiants des glucides Endospore ellipsoïdales renflant le sporange	Anaérobiose (±) Croissance possible sans oxygène Mésophiles Acidifiants (avec Nitrite) Spores ellipsoïdales non déformantes	Anaérobiose strictes Mésophiles Ne produisent pas d'acides à partir des glucides Acidifiants Spores ellipsoïdales déformantes le sporange	Aérobie Strict Thermophiles (±) Spores sphériques qui peuvent déformer me sporange Contiennent de l'ornithine ou de la lysine dans la paroi	Aérobie (±) Thermophiles (+) Température 50 C° ou plus. Spores ovales déformantes
Groupe (I)	Groupe (II)	Groupe (III)	Groupe (IV)	Groupe (V)
11,4 %	33,3 %	0,1 %	53,2 %	0,5 %

Nous pouvons constater qu'une forte majorité des *Bacillus* étudiés sont thermophiles. Si nous étudions la différence de diversité entre les cavités chaudes (10 à 12 °C) et les cavités froides (4 °C à la Pierre Saint Martin), nous pouvons constater que dans les premières cavités (chaudes) le ***Bacillus***

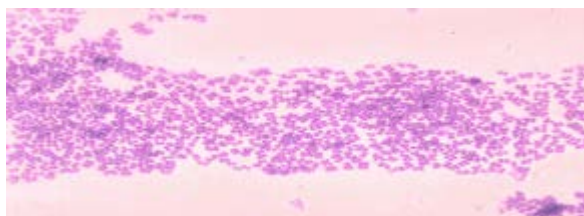


Sphaericus qui appartient au groupe (IV) représente 35 % sur la totalité et dans les cavités froides, ce germe n'est plus qu'à 11 %. **Nous pouvons dire que la température est un facteur de modification de la diversité bactériologique.**

(Cette différence ne permet pas de rejeter l'hypothèse nulle sur le χ^2 , en la raison des échantillons insuffisants).

6.7.2 Identification des *Microcoques*

Micrococcus



Les espèces du genre *Micrococcus* et d'autres genres étroitement apparentés sont généralement considérés comme étant des saprophytes inoffensifs qui habitent ou contaminent la peau, les muqueuses et possiblement l'oropharynx; cependant, elles peuvent être des pathogènes opportunistes chez les personnes immunodéprimées.

Pourcentage relatif de *Micrococcus* dans le nombre de colonies totales obtenues, par grotte examinée (valeurs données par l'auteur)

Zones	Sud-Ouest	Centre	Nord-Ouest	Pyr. Atlantiques
Grottes ou avens	1_Orliac (21,56 %)	1_Orgnac (30,76 %)	1_Jacqueline (39,39 %)	1_Pierre St. Martin (17,97 %)
	2_Mortureux (28,07 %)	2_Mt-la-Chapelle (30,33 %)	2_Pylône (26,09 %)	2_Arphidia (27,17 %)
	3_Fond Anguillère (25,00 %)	3_Rey (42,85 %)		3_Gezaltza Arrikruz (28,80 %)

Pour Jacqueline, Pylône et Rey, problème de comptage prendre ces résultats avec des réserves.

Pour les *Micrococcus* la différence entre les grottes des Pyrénées Atlantiques et les autres grottes est moins évidente, l'aspect mésophile des *Micrococcus* peut être une raison à cette observation.

Indentification des 4 variétés de *Micrococcus*, représentant 67,40% des colonies totales de *Micrococcus* dans l'étude

- *M. flavus* => (29,62 % M) présence dans les bioréacteurs des stations d'épuration, effet antagoniste avec les cyanobactéries.
- *M. conglomeratus* => (16,29 % M) teste la synthèse de la tyrocidine.
- *M. roseus* => (12,59 % M) pathologie extrêmement rare chez les immunodéprimés, VIH. Malgré cela, les complications causées par cette forme de bactéries sont extrêmement rares. Il est présent dans l'eau, le sol, les poussières et la saleté.
- *M. denitrificans* => (8,88 % M) entre dans l'équilibre microbien de la peau. Il transforme l'azote nitrite et azote gaz et est utilisé dans les stations d'épuration pour la purification des eaux usées.

Autres *Microcoques* trouvés peu abondants

- *M. caseolyticus* => (7,40 % M) utilisé en fabrication fromagère et en production d'enzyme protéolytique
- *M. colpogenes* => (6,66 % M) sont présents dans la peau et les glandes de la peau.
- *M. cryophilus* => (6,66 % M) caractère psychrophile et cryorésistant, température de développement entre 0 et 20°C.



- **M. candidus** => (4,44 % M) Semble poser un problème d'identification et de différenciation avec le **Staphylocoque epidermidis**.
- **M. varians** => (2,96 % M) il est trouvé sur la peau humaine, ne provoque pas de maladie, sauf chez les personnes au système immunitaire affaibli.
- **M. luteus** => (1,48 % M) est connu comme agent responsable dans des cas d'abcès intracrâniens, de pneumonie, d'arthrite septique, d'endocardite et de méningite ; représente 0,3 % des prélèvements global de l'étude.
- **M. halodentificans** => (1,48 % M) halophile, utilisé en biotechnologie.
- **M. ureae** => (1,48 % M) qui transforme l'urée en ammoniac.

Dans l'ensemble il a été trouvé peu de germes pathogènes dans les *Micrococcus*.

6.7.3 Identification des Staphylocoques

Staphylococcus



Les Staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature, aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau. Ils sont fréquents sur la peau et dans les cavités naturelles de l'Homme et des animaux. L'identification des staphylocoques permet de distinguer un staphylocoque potentiellement pathogène (**St. aureus**) d'une espèce généralement saprophyte (**St. epidermidis**, **St. saprophyticus**).

Les staphylocoques relevés dans cette étude sont le **St. epidermidis** et **St. saprophyticus**. Dans les résultats, il n'a pas été signalé le **St. aureus**, qui est le principal incriminé dans la pathologie infectieuse (furonculoses, abcès, infections purulentes divers, septicémies, atteintes intestinales).

La littérature nous rapporte de multiples problèmes posés aux pathologistes par les staphylocoques :

- Le pouvoir pathogène est très différent d'un staphylocoque à l'autre pour les mêmes espèces. Certaines souches sont plus pathogènes que d'autres ce qui a conduit, pour leur identification, à la mise en place de nombreux critères de virulence.
- Les infections à staphylocoques sont souvent des surinfections et les germes de primo-infection ne sont pas toujours connus.
- Les staphylocoques acquièrent facilement une résistance aux antibiotiques (β Lactamine).
- Les staphylocoques peuvent être sécréteurs de leucocidines et d'endotoxines thermorésistantes, cinq variétés de A à E (contrôle test ELISA). Les endotoxines entraînent fréquemment des antibiorésistances.

Les personnes immunodéprimées sont plus réceptives aux pathologies dues au **St. epidermidis** bien qu'il soit habituellement non pathogène. C'est une cause importante d'infections chez les patients dont le système immunitaire est affaibli ou porteurs de cathéters ou de prothèses. Ce microbe est responsable d'infections cutanées, d'infections nasales (sinusites), d'infections urinaires chez les deux sexes. Ces bactéries ont la capacité de produire des biofilms qui leur permettent d'adhérer aux surfaces des prothèses médicales. Dans les maladies infectieuses nosocomiales, on considère le **St. epidermidis** comme un germe pathogène lorsqu'il passe les barrières naturelles de protection de l'organisme (la peau, les barrières digestives).



Pourcentage relatif de *Staphylococcus* dans le nombre de colonies totales obtenues, par grotte examinée (valeurs données par l'auteur)

Zones	Sud-Ouest	Centre	Nord-Ouest	Pyr. Atlantiques
Grottes ou avens	1_Orliac (RAS)	1_Orgnac (5,12 %)	1_Jacqueline (18,18 %)	1_Pierre St. Martin (1,12 %)
	2_Mortureux (RAS)	2_Mt-la-Chapelle (6,06 %)	2_Pylône (17,39 %)	2_Arphidia (4,34 %)
	3_Fond Anguillère (RAS)	3_Rey (RAS)		3_Gezaltza Arrikruz (RAS)

Pour Jacqueline, Pylône et Rey, problème de comptage prendre ces résultats avec des réserves.

L'auteur précise, que la présence de *Staphylococcus* semble être directement liée à une contamination récente par les visiteurs nombreux des cavernes où ils ont été trouvés.

Dans cette étude nous pouvons faire une corrélation positive entre la flore fongique (levures) et les *Staphylococcus*. Cette liaison, démontrée par une relation R^2 de 64 % peut avoir comme explication la contamination anthropique d'une flore fongique qui est très hétérotrophe (nécessitant des matières organiques pour se développer), et celle des *Staphylococcus epidermidis* qui est une flore commensale.

6.7.4 Identification des *Flavobactéries*

Flavobactéries



Les Flavobactéries ont pour habitat le sol et les eaux (eaux douces, eaux de mer, eaux usées). On peut les rencontrer dans les aliments (fruits, légumes), dans l'environnement hospitalier et dans différents prélèvements biologiques d'origine humaine. Très peu sont pathogènes. Les Flavobactéries sont des germes pathogènes pour les poissons. La seule espèce pathogène pour l'Homme et le nourrisson est *Flavobacterium meningosepticum*, qui est associée à la méningite néonatale et aux épidémies de méningites.

Pourcentage relatif de *Flavobacterium* dans le nombre de colonies totales obtenues, par grotte examinée (valeurs données par l'auteur)

Zones	Sud-Ouest	Centre	Nord-Ouest	Pyr. Atlantiques
Grottes ou avens	1_Orliac (3,92 %)	1_Orgnac (12,84 %)	1_Jacqueline (6,06 %)	1_Pierre St. Martin (24,70 %)
	2_Mortureux (5,26 %)	2_Mt-la-Chapelle (3,03 %)	2_Pylône (8,70 %)	2_Arphidia (4,34 %)
	3_Fond Anguillère (12,84 %)	3_Rey (14,28 %)		3_Gezaltza Arrikruz (0,00%)

Pour Jacqueline, Pylône et Rey, problème de comptage prendre ces résultats avec des réserves.

Flavobacterium les plus fréquentes retrouvées dans les cavités examinées

<i>Fl. lactis</i> (22,53 % FI)	<i>Fl. dormitator</i> (7,04 % FI)	<i>Fl. marinotypicum</i> (2,81 % FI)
<i>Fl. balustinum</i> (12,67 % FI)	<i>Fl. aquatile</i> (5,63 % FI)	<i>Fl. marinovisurum</i> (2,81 % FI)
<i>Fl. fucatum</i> (9,85 % FI)	<i>Fl. peregrinum</i> (5,63 % FI)	<i>Fl. arborescens</i> (2,81 % FI)
<i>Fl. lutescens</i> (8,45 % FI)	<i>Fl. oesnokoites</i> (4,22 % FI)	<i>Fl. invisible</i> (1,41 % FI)
<i>Fl. ferrugineum</i> (7,04 % FI)	<i>Fl. devorans</i> (4,22% FI)	<i>Fl. breve</i> (1,41 % FI)
		<i>Fl. halohydrium</i> (1,41 % FI)

Cette liste ne comprend pas de germes pathogènes pour l'Homme.

« Sur les 47 observations faites dans la grotte ornée de Magura en Bulgarie, il a été relevé la présence du genre **Myroides** qui fait partie de l'embranchement des **Bacteroidetes**, famille **Flavobacteriaceae**. Ce genre est connu dans les maladies nosocomiales sous l'espèce **M. odoratus**, avec une sensibilité variable aux bêtalactamines et une sensibilité réduite aux carbapénèmes. **Myroides spp.** était autrefois classé comme **Flavobacterium odoratum** et se compose de deux espèces distinctes, à savoir **M. odoratus** et **M. odoratimimus**. Ils forment des colonies pigmentées en jaune avec une odeur fruitée caractéristique. Ils sont saccharolytiques, en bâtonnets Gram(-) et sont oxydase, catalase, l'uréase et gélatinase (+). Il n'y a aucun test de routine pour leur différenciation et leurs différences se limitent aux tests d'assimilation et d'acides gras cellulaires.¹⁰⁷ »

6.8 CONCLUSION DE L'AUTEUR M. LUQUET

« L'identification des germes recueillis met en évidence une flore saprophyte de base constante. Nous avons été surpris du faible nombre d'espèces et du pourcentage relativement élevé de Flavobactéries en particulier dans les cavernes des Pyrénées Occidentales. Rappelons toutefois que les milieux utilisés ne permettent pas la culture de tous les germes et que nous avons exclu de notre étude les micro-organismes provenant du sol.

Une flore accidentelle extrêmement pauvre a été trouvée presque uniquement dans les grottes de forte fréquentation.

Cette flore saprophyte de base, ainsi mise en évidence dans l'air souterrain, se situe dans le cadre plus général des germes de l'air libre tels que les a définis le professeur Maissonnet. Les quelques différences constatées quant au pourcentage des espèces rencontrées sont probablement liées aux facteurs climatiques propres à chaque caverne. Nous pouvons espérer déterminer leurs influences respectives et une étude en ce sens est déjà commencée. »

6.9 ANALYSE MÉTHODOLOGIQUE DES PROCÉDURES UTILISÉES

L'analyse de cette étude nous amène à faire quelques critiques quant aux procédés et aux méthodes d'enregistrement, tout en respectant le travail colossal que cette étude a représenté.

6.9.1 Sur le plan pratique

- La méthode de prélèvement des bactéries par l'ouverture d'une boîte de Pétri, dans un temps donné, est valable dans une habitation, un laboratoire ou un lieu sain, sans risque de chutes de corps étrangers dans la boîte. Dans le milieu karstique, une telle opération est difficilement pensable. Il y a toujours des chutes de poussières, de particules d'eau ou d'insectes divers...
- Nous pouvons remarquer que les temps d'ouverture des boîtes n'ont pas été les mêmes dans tous les prélèvements. Les extrapolations de temps dans de telles conditions sont difficilement réalisables, lorsque l'on sait que dans l'étude, les temps d'ouverture ont varié de 10 mn à 4 heures. Dans un tel cas l'extrapolation est peu significative, pour ne pas dire impossible. Il aurait fallu faire plusieurs prélèvements au même endroit avec des temps d'exposition différents pour chaque cavité, afin d'éviter les inhibitions liées à la surpopulation bactérienne.
- L'auteur ne signale pas avoir fait ses manipulations avec un masque et/ou des gants ! S'il n'a pas pris cette précaution, il risque d'avoir lui-même contaminé les boîtes de prélèvements par sa seule présence.
- L'analyse de l'air extérieur à la cavité étudiée n'a pas été réalisée pour toutes les grottes examinées. Ce qui aurait dû faire l'objet d'une étude systématique et qui nous aurait permis de voir si l'air extérieur était significativement différent de l'air intérieur.
- Il en est de même pour l'hygrométrie, la ventilation, l'estimation de volume d'ambiance et de la présence d'une grotte ouverte ou fermée. La ventilation doit faire l'objet d'une mesure réelle et non estimée. Ces paramètres doivent aussi faire l'objet de mesures externes et internes à la cavité au moment du prélèvement.



- Il semble qu'il n'y ait pas eu d'étuvage pour la culture bactérienne, ce qui est une erreur. Il est difficile de penser que la température du laboratoire soit restée constante de nuit comme de jour.
- Les prélèvements auraient dû être réalisés sur des milieux sélectifs, au moins cinq à six milieux pour chaque prélèvement :
 - PCA pour les germes mésophiles et les thermophiles
 - Désoxycholate Lactose pour les entérobactéries
 - OGA pour les moisissures
 - Sabouraud agar pour les mycobactéries
 - Éventuellement Chapman pour les *Staphylocoques*.

Les moisissures se développent mal sur du PCA, leur présence dans une boîte peut fausser le dénombrement des germes bactériens par inhibition et vice et versa. Les germes thermorésistants comme les *Clostridies* ne peuvent pas être prélevés de cette manière.

- La thèse en question ne nous indique pas le mode d'identification des colonies observées. Les identifications optiques sont difficiles pour une bonne interprétation des espèces analysées.
- Les boîtes doivent être tenues renversées pour éviter toutes les chutes de spores, de moisissures et les repiquages naturels spontanés.

6.9.2 Sur un plan théorique

Comme l'auteur nous le signale, tous les germes n'ont pas été étudiés, notamment les germes telluriques qui sont les plus concernés. Il est à remarquer que la thèse ne parle pas des *Streptococcies* et des *Pseudomonas*, qui sont des germes commensaux.

Cette étude ne précise pas si les espèces extraites des boîtes ont été repiquées sur des milieux sélectifs avant d'être identifiés et si des recherches immunologiques ou autres identifications spécifiques ont été employées (galerie API).

La mesure des bactéries dans l'air doit être ramenée sur une base volumique pour être un objet comparatif...

6.9.3 Moyens actuels pouvant être mises en œuvre pour une étude similaire

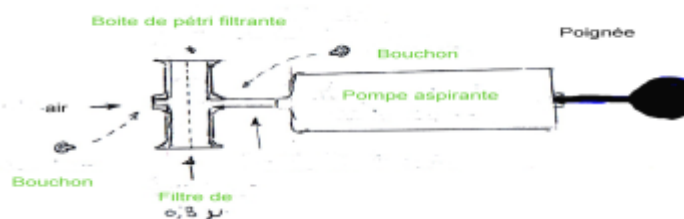
Mode de prélèvement

L'analyse microbiologique de l'air a fait de gros progrès depuis 1969. Elle s'est développée avec l'assurance qualité et les contrôles d'hygiène hospitalière. Des tests sont demandés aux entreprises agro-alimentaires et aux structures de soins suivant des cahiers des charges.

Il a donc été conçu du matériel de terrain pour l'analyse de l'air : système de filtration de l'air sur une membrane microporeuse filtrante l'air à 0,3 μ (ce type de membrane est commercialisé par la société *Millipore*) qui est une boîte de Pétri fermée (voir le schéma ci-dessous).

Les boîtes de Pétri sont rebouchées des deux côtés et le côté qui a retenu les germes est marqué dès la fin de la filtration. Les boîtes sont portées rebouchées au laboratoire dans une enceinte réfrigérée. Au laboratoire, il sera coulé à leur surface un milieu spécifique en fonction des objectifs recherchés.

La gélose est mise du côté où les bactéries ont été retenues par le filtre, puis les boîtes sont mises à l'étuve avant comptage. Cette façon de faire a été utilisée pour suivre l'évolution de la flore microbienne dans les étables en fonction de l'âge des animaux.



Pompe aspirante pour le prélèvement des bactéries dans l'air

Dans l'avenir, une telle étude devrait pour chaque point analysé avoir au moins trois pompages d'air de trois volumes différents (fort = 10 l ; moyen = 5 l ; faible = 1 l, ou moins si la flore est trop importante). L'analyse sera exprimée en germes par m³.

Dans le cas où on utilise six milieux de cultures, cela ferait 18 boîtes par point analysé... C'est pour cela qu'il est préférable de faire un ou deux points d'analyse par grotte surtout dans un premier temps, puis, dans le cas où un résultat intéressant se présente, faire une analyse sur le germe recherché, dans d'autres points de la grotte. Cela réduira à trois le nombre de boîtes par point analysé. Dans le cas d'une telle procédure, les remarques faites plus haut doivent être mises en application.

Analyses de sol et de surface

Les analyses microbiologiques du sol doivent être faites sur des parties de la cavité où il existe une couche de sol suffisante d'une épaisseur d'au moins 10 cm. On opère avec deux flacons stériles de 30 ml en plastique bouchés par des vis stériles ; l'un sera rempli à ras bord afin d'avoir une flore anaérobie et l'autre à moitié pour avoir une flore en aérobiose avec un peu d'air pour éviter l'anaérobiose. Il faudra éviter de faire des prélèvements dans les endroits très irrigués.

Pour le contact sur les rochers, il existe des systèmes de prélèvements sur gélose par contact. Mais vu l'importance de la flore qui sera supérieure aux normes que cette technique tolère (technique faite pour l'agro-alimentaire), il faudra se servir de cette technique en redispersant dans un solvant stérile les plaquettes au laboratoire, puis en faisant des dilutions afin d'obtenir une valeur en germes mesurables.



Prélèvement de surface sur gélose

Nous pouvons remarquer qu'une telle étude sera un investissement relativement important et nécessiterait un possible mécénat.

6.10 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES ACTUELLES POUVANT ÊTRE PRATIQUÉES POUR L'IDENTIFICATION DE LA FLORE MICROBIENNE ET FONGIQUE¹⁰⁸

6.10.1 Méthodes phénotypiques

Les techniques phénotypiques sont d'un usage ancien et ont aujourd'hui une utilité limitée en épidémiologie.

Il existe :

- **La biotypie** qui est l'étude sur l'activité des souches sur des substrats glucidiques ou divers milieux appropriés au développement bactérien recherché, avec identification sur galerie API de substrat, qui sont le révélateur du potentiel enzymatique de la bactérie recherchée.
- **La sérotypie** est l'étude à l'aide de sérums immuns des antigènes de surface bactériens. Il existe des galeries spécifiques pour les différents germes microbiens, fongiques.
- **L'antibiotypie** consiste à déterminer les profils de résistance à différents agents antibactériens, antibiotiques, sel de métaux lourds. La simplicité de cette technique est utilisée comme outil de contrôle.
- **La lysotypie** est déterminée par la sensibilité des souches à différents bactériophages. Cette sensibilité est due au fait que les souches possèdent les récepteurs spécifiques.
- **La bactériocinotypie** qui utilise des bactériocines, a surtout été utilisée pour les *Pseudomonas aeruginosa*.
- **L'électrophorèse des protéines de surface microbienne**, peut être un moyen de contrôle et d'identification des bactéries et des fongiques.

6.10.2 Méthodes génotypiques

- Étude du polymorphisme enzymatique par méthode électrophorétique ou **Multilocus Enzyme Électrophorèse (MEE)**.

La méthode électrophorétique des enzymes permet par la différenciation de la mobilité moléculaire des enzymes dans un parcours électrophorétique, celle-ci est fonction de la masse et de la charge de l'enzyme recherchée.

Cette méthode consiste à séparer les protéines par migration sur gel puis à détecter chaque enzyme par son activité vis-à-vis de son substrat spécifique. Pour chaque enzyme étudiée, les différents variants de mobilité de cette enzyme, appelés allozymes, sont mis en évidence. Une souche est caractérisée par une combinaison d'allozymes, appelée type électrophorétique ou zymotypes.

- Étude du polymorphisme de restriction de l'ADN total ou **Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)**

Des enzymes, les endonucléases de restriction, coupent l'ADN double-brin en des sites qu'elles reconnaissent spécifiquement et constitués généralement de 4 ou 8 paires de bases. L'analyse du nombre et de la taille des fragments produits par l'action de l'endonucléase indique le nombre et la localisation des sites de coupure reconnus par l'enzyme. Ils sont caractéristiques de chaque molécule d'ADN donc de chaque chromosome bactérien. Les fragments produits ont une taille variable en poids et en charges et peuvent être séparés en fonction de leur taille et de leur charge par électrophorèse sur gel d'agarose, visualisés par coloration au bromure d'éthidium et photographiés sous éclairage ultraviolet. Les profils de restrictions obtenus après digestion par l'endonucléase sont constitués par de nombreuses bandes électrophorétiques représentant le polymorphisme de taille des fragments d'ADN. Des souches différentes appartenant à la même espèce bactérienne montrent un polymorphisme de leur profil de restriction. Néanmoins, la comparaison de profils constitués de plusieurs centaines de bandes, est le point délicat qui limite l'utilisation de la méthode. Pour surmonter cette limite de l'interprétation, d'autres techniques ont été développées où le nombre de bandes est réduit à celles contenant des gènes que l'on hybride avec des sondes froides marquées.

6.11 DISCUSSION

Bien que le travail fait par Michel Luquet soit un exemple de recherche avec des moyens qui sont loin de ceux utilisés actuellement — ce qui honore d'autant plus la qualité du travail effectué dans cette thèse — nous pouvons penser qu'il soit utile de reprendre la suite de cette étude pour se pencher sur une analyse plus complète, qui incorporerait à la fois la microbiologie infectieuse et celle tellurique spécifique du karstique.

L'évolution des techniques bactériologiques et de prélèvements, nous permet d'aller plus loin dans cette investigation et d'avoir peut-être des ouvertures plus grandes sur la microbiologie du karst.



CHAPITRE 7

LA PATHOLOGIE HUMAINE ET LES CONDITIONS KARSTIQUES

Ce listing des pathologies microbiennes pourrait éveiller de fortes inquiétudes sur les risques potentiellement rencontrés lors de l'exploration spéléologique ou de la pratique du canyonisme. Mais nous pourrions dire que ces mêmes risques peuvent survenir dans la vie courante au niveau de la zone épigée pour des professions comme les agriculteurs, les terrassiers et autres. Car les sols de surface ont une pollution microbienne bien supérieure au milieu karstique.

D'OU VIENT LE FAIT, QUE NOUS NE SOMMES POINT CONTINUELLEMENT MALADES SUR CETTE PLANETE ?

Face à cette interrogation, nous pouvons répondre que notre organisme adopte des comportements de défense ou de repli en fonction des produits ou des micro-organismes ou insectes qui nous assaillent. Cette réaction de l'organisme sera essentiellement dépendante de l'état du système immunitaire.

Il serait long de décrire en détail tout l'arsenal du système immunitaire que notre corps peut mettre en action pour résister aux maladies ou incursion d'un corps étranger dans notre organisme. Nous allons simplement faire un rappel des différentes étapes mises déclenchées par le contact avec un antigène.

7.1 GÉNÉRALITÉS SUR LE SYSTÈME IMMUNITAIRE

Le système immunitaire inné comprend les cellules et les mécanismes permettant la défense de l'organisme contre les agents infectieux de façon immédiate¹⁰⁹, à l'inverse du système immunitaire adaptatif qui confère une protection plus tardive mais plus durable¹¹⁰.

- Défense immédiate : ce sont les mécanismes de défense non-spécifique ou innée ou naturelle, comme la protection de la peau et les muqueuses, l'acidité gastrique, les cellules phagocytaires ou les larmes, des alvéoles pulmonaires... ;
- Défense adaptative : ce sont les mécanismes de défenses spécifiques, comme l'action dirigée des lymphocytes et la production d'anticorps spécifiques (types vaccins, production d'anticorps spécifiques...).

L'organisme se défend contre les dysfonctionnements de ses cellules et contre les agressions, qui peuvent revêtir différentes formes :

- Agressions dites physico-chimiques :
 - Mécaniques : frottements, chocs, chutes, etc.
 - Facteurs climatiques : altitude, changement brusque de température, rayonnements, sécheresse, poussières, etc.
- Agression par des agents chimiques (acides, bases, etc.) ou autres éléments
- Agressions par d'autres êtres vivants : un organisme constitue en effet pour un autre organisme un endroit idéal pour le développement de ses propres cellules et aussi pour un certain nombre de micro-organismes qui pourraient y proliférer, il s'agit alors d'une infection. Les agresseurs dans ce cas peuvent être des virus, des bactéries, des champignons, des levures, des helminthes, des arthropodes, des prions...

Les principales fonctions du système immunitaire inné des vertébrés sont :

- la constitution d'une barrière physique et chimique contre les agents infectieux ;
- la détection des agents infectieux et le recrutement de cellules immunitaires sur le site de l'infection ;



- l'activation de la cascade du complément permettant l'activation des cellules et l'élimination de cellules mortes ou de complexes immuns ;
- l'identification et l'élimination de corps étrangers présents dans l'organisme, les tissus, le sang et la lymphe, par les globules blancs ;
- l'activation de l'immunité adaptative à travers la présentation antigénique.

Formation du complexe immunitaire

Lors de l'intrusion d'un agent infectieux dans l'organisme, des cellules immunitaires, les lymphocytes B, sécrètent des anticorps en réponse à l'infection. Les différents anticorps se diffusent alors dans l'organisme à la recherche de l'agent infectieux. Lorsqu'un anticorps spécifique à l'antigène rencontre celui-ci, il se fixe sur ses récepteurs membranaires. Une fois cette fixation effectuée, le complexe immunitaire est formé.

Lors d'une infection, il y a d'abord une réponse immunitaire primaire que l'on qualifie d'innée. Cette première barrière est assurée par les monocytes et les phagocytes. Le complexe immunitaire, quant à lui, facilite ces mécanismes par sa spécificité à un seul antigène. Une fois que l'antigène a été reconnu par son anticorps grâce à ses chaînes légères spécifiques, il va y avoir mise en marche du complexe immunitaire : l'association anticorps/antigène va se fixer à un phagocyte. Ce phagocyte aura alors la capacité de digérer le couple anticorps/antigène et de l'éliminer. Ce processus s'appelle la phagocytose et s'effectue en quatre grandes étapes :

- La phase d'attraction : c'est le moment où une fois formé, le complexe immunitaire va se rapprocher de la cellule phagocytaire par chimiotactisme.
- La phase d'adhérence du complexe immunitaire : les chaînes lourdes non spécifiques de l'anticorps se fixent sur un récepteur de la membrane du phagocyte.
- Début de la digestion intracellulaire : après que le complexe immunitaire se soit fixé sur la cellule phagocytaire, il y a formation d'une vacuole digestive autour du complexe immunitaire et les lysosomes présents dans le phagocyte, qui contiennent des enzymes digestives, fusionnent autour du complexe immunitaire contre la vacuole. Il y a donc libération des enzymes digestives et le complexe immunitaire baigne dans les enzymes.
- Fin de digestion intracellulaire : lorsque les enzymes ont fini de digérer l'antigène, il y a élimination des déchets à l'extérieur du cytoplasme, c'est l'exocytose. Cependant il reste des lysés d'antigène à l'intérieur du phagocyte.

Il faut savoir que lorsque ce mécanisme n'arrive pas à éliminer la totalité des agents infectieux, la deuxième barrière, que l'on qualifie de spécifique, se met en marche ; cette dernière est plus longue que la réponse innée. Elle est effectuée par les Lymphocytes B, les Lymphocytes T et les Lymphocytes T cytotoxiques.

Dès ce dernier stade, l'élimination des déchets circulant à l'intérieur du sang sont éliminés grâce à l'intervention des composants contenus dans les organes lymphoïdes (système réticulo-histiocytaire). Cependant en réalité le phénomène est un peu différent et le complexe immunitaire peut se retrouver dans trois situations différentes c'est-à-dire évoluer de manière différente dans l'organisme ce qui peut avoir des conséquences variables.

Voici les trois cas possibles :

- Soit l'antigène et l'anticorps se neutralisent respectivement dans ce cas-là tout se passe normalement cela n'entraîne donc aucune complication.
- Soit l'anticorps est en excès et dans ce cas on constate la formation de complexes insolubles qui vont être rapidement détruits par l'organisme. Cette destruction se fait soit par précipitation (solidification et neutralisation) soit par phagocytose (absorption puis digestion par une variété particulière de globules blancs, le phagocyte).
- Soit l'antigène est en excès et dans ce cas les complexes sont solubles dans le sérum sanguin et restent en circulation. Ils sont alors susceptibles de provoquer des phénomènes morbides (à l'origine de maladie). Ces affections peuvent être « mineures » quand l'antigène possède un faible poids (moléculaire) dû au fait que les complexes se déposent tardivement de façon



morcelée susceptibles alors d'être détruits par les globules blancs grâce à la phagocytose. Dans certains cas l'antigène possède un poids (moléculaire) important associé une grande taille. Dans ces circonstances on constate une précipitation rapide (dépôt) et une mise en branle rapide de l'action du complément ce qui entraîne des altérations des petits vaisseaux et plus précisément de leurs parois concernant certains organes comme les reins. Ce type de phénomène constitue l'hypersensibilité de type III ou semi tardive. Chez certains patients on constate un emballement de ce phénomène ce qui aboutit à des lésions d'autres organes tels que la peau et les artères. C'est ce que l'on constate au cours de l'angéite allergique ou de la maladie à précipitines. Le complément est un facteur qui intervient en cascade pour activer une réaction immunitaire.

Rôle de la fièvre dans la maladie : ce phénomène physiologique provient principalement d'une réponse hypothalamique stimulée par des substances pyrogènes. Substances pyrogènes principalement libérées par les macrophages ou lors des phénomènes inflammatoires. D'un point de vue évolutif, ce processus apparaît, essentiellement, comme une réponse systémique des homéothermes aux infections. Le but étant de perturber les réactions biochimiques (cf. constantes d'équilibres) des micro-organismes pathogènes afin de diminuer leur virulence.

L'accès fébrile se caractérise par trois phases :

- la montée thermique
- le plateau d'hyperthermie
- la défervescence

Ce mécanisme est régulé tel un thermostat : tout se passe comme si les pyrogènes entraînaient un réglage de température corporelle plus élevé au niveau hypothalamique, avec mise en œuvre des mécanismes effecteurs qui produisent la chaleur (thermogenèse). Lorsque la température désirée est atteinte ou tend à être dépassée, des mécanismes de thermolyse sont déclenchés pour éviter une hyperthermie non contrôlée.

Cette température a des effets utiles, bien que sa fonction reste mal expliquée. L'hyperthermie produite par cette élévation de température peut être dans certain cas suffisante pour inhiber certains virus ou bactéries et semble activer la production d'anticorps pour combattre l'infection. Dans cette augmentation de la température l'hypothalamus va dans un premier temps au début de l'infection mettre le système nerveux végétatif en fonction pour le réchauffement du corps. Dans un deuxième temps l'hypothalamus va rétablir le système de régulation lorsque l'infection est finie.

7.2 PARAMÈTRES ENDOGÈNES (LIÉS À L'INDIVIDU)

L'évolution de la pathologie microbienne est fonction de l'état d'un individu au moment où il est en contact avec la flore incriminée. Nous pouvons résumer les principaux facteurs intrinsèques à l'individu favorisant l'infection ou la fixation parasitaire.

7.2.1 Altération des défenses immunitaires de l'organisme

La fatigue, les conditions de vie, les maladies immunodépressives, les maladies virales, les traitements anticancéreux, le stress de traumatismes et d'antécédents d'interventions chirurgicales... sont des causes favorisantes de l'implantation et de la fixation des germes pathogènes.

7.2.1.1 Immunodéficiences ou immunodépression

Elle est caractérisée par un état dans lequel une personne voit ses défenses immunitaires affaiblies. On distingue l'immunodéficiences d'origine génétique, ou *immunodéficiences innées*, dont le cas extrême est représenté par les enfants-bulles et l'*immunodéficiences acquises* dont l'exemple le plus connu est celui du SIDA ou VIH.

Une immunodéficiences favorise d'une part le développement de micro-organisme ordinairement non-pathogènes, responsables alors de maladies dites opportunistes, ainsi que le développement plus fréquent et plus grave d'infections à germes pathogènes et d'autre part permet dans certains cas l'apparition de cancers, dont le développement résulte de la multiplication anarchique de cellules



cancéreuses normalement éliminées entre autres par les cellules NK chez les personnes immunocompétentes.

Causes d'immunodéficience : au-delà de sa nature innée ou acquise, l'immunodéficience peut se manifester à différents degrés.

➤ **Causes innées**

L'immunodéficience innée existe dès la naissance. Elle a alors souvent une origine génétique. Certains acteurs de la défense immunitaire ne sont pas fabriqués correctement en raison d'une anomalie de la génétique. Ce manque s'exprime par un mauvais fonctionnement de la moelle osseuse, chargée de la fabrication des cellules de l'immunité. Ainsi, par exemple, la moelle osseuse d'un enfant atteint d'une telle immunodéficience ne pourra pas fabriquer de phagocytes ou de lymphocytes B (donc pas d'anticorps) ou T (lymphocytes activés par le thymus). Il ne possède donc pas les éléments nécessaires pour se défendre contre les infections. La moindre infection peut donc être fatale. Il est parfois possible de corriger une immunodéficience innée grâce à une greffe de moelle osseuse.

➤ **Causes acquises**

- Agents infectieux
 - Bactéries : Cyanobactéries.
 - Virus : virus de l'immunodéficience humaine causant le SIDA (VIH)
- La plupart des maladies inflammatoires chroniques et des maladies cancéreuses.
- Causes hormonales : certaines désordres hormonaux peuvent entraîner une diminution des défenses immunitaires.
- Causes iatrogènes
 - médicaments anti-inflammatoires : stéroïdiens (de la famille des corticoïdes) ou non stéroïdiens
 - médicaments anti-rejet (utilisés dans les greffes d'organes) ;
 - certains interférons ;
 - radiothérapie (si elle est pratiquée sur une grande surface corporelle). Sur le même principe, l'irradiation accidentelle peut être responsable d'une immunodéficience en cas de doses importantes.
- Intoxications

Drogues récréatives ou non : héroïne, cocaïne, ecstasy, etc.
- Causes alimentaires

La dénutrition (qui constitue la première cause d'immunodéficience dans le monde¹¹¹), la malnutrition¹¹² et la sous-nutrition entraînent un état immunodéprimé qui favorise les infections^{113,114}.

7.2.1.2 Fatigue

C'est une sensation d'affaiblissement physiologique ou psychique qui survient dans la durée de l'état de veille ou à la suite d'efforts physiques et qui en impose l'arrêt. La fatigue peut résulter de plusieurs causes physiologiques (accumulation d'efforts physiques ou psychiques), organiques (toutes les maladies : d'origines infectieuses, métaboliques, dégénératives, endocriniennes, toxiques, carentielles...), et fonctionnelles (pathologies psychiatriques, comme la dépression ou des troubles chrono-biologiques du sommeil : décalage horaire, travail de nuit, insomnie). La fatigue nerveuse se manifeste par une baisse de l'attention et de la concentration.

- **Fatigue physique :** elle nous concerne plus particulièrement dans les activités sportives, spéléologie et canyonisme. Elle est réversible avec la mise au repos, qui restaure un niveau normal de performances. Les principales causes métaboliques et physiologiques de la fatigue musculaire sont les suivantes :
- hypoglycémie faisant suite à une surconsommation de glycogène ;

- accumulation de corps cétoniques (produits chimiques issus de la dégradation incomplète des acides gras) suite à une consommation excessive de lipides ;
 - accumulation d'ammoniaque (provenant de la dégradation des protéines), éventuellement de toxiques ;
 - mauvaise vascularisation, généralement due à une déshydratation et à une perte de sels minéraux ;
 - alcalinisation du sang ;
 - microlésions des fibres musculaires (identiques à celles qu'on retrouve en cas de courbatures).
- **Fatigue fonctionnelle** : beaucoup de médecins la considèrent encore comme d'origine psychiatrique (troubles anxio-dépressifs, somatisations...) mais d'autres hypothèses insistent davantage sur les troubles chrono-biologiques du sommeil. Elles peuvent être aussi due à des dysfonctionnements endocriniens (thyroïdien, parathyroïdien, maladie Cushing,...).

7.2.2 Altération des barrières naturelles de l'organisme

Les plaies, le parasitisme, la perte des pilosités trachéales dans le système respiratoire, l'absorption et la fixation des germes sur les villosités du système digestif ou les zones de muqueuses qui sont plus vulnérables par leurs faibles défenses, cela permet aux bactéries de pénétrer dans l'organisme, de se disséminer.

Les études faites sur les observations du taux endémique de bactériémies nosocomiales dans cette dernière décennie montre des variations considérables d'un secteur hospitalier à l'autre. Wenzel¹¹⁵ et col. montrent que l'indice de bactériémie a augmenté ces dernières années dans la plupart des institutions... Alors que les bactéries Gram(-) étaient en 1982 les principaux germes de contamination tel que les *E. coli* et les *Klebsiella*, on a pu constater ces dernières années que l'augmentation a été essentiellement due aux bactériémies à Gram(+) et en particulier aux *Staphylocoques* à coagulase négative, tel que les *Staphylocoques épidermidis*, ainsi que la présence *St. aureus* et d'entérocoques ; il y a eu aussi une augmentation de *Candida spp.*, qui sont des fongiques de la peau. Cette observation nous montre que la flore commensale de l'épiderme peut devenir une flore infectieuse lors de sa pénétration dans l'organisme. Elle nous révèle aussi que l'utilisation des antibiotiques à large spectre provoque des facteurs de résistance qui sont un des vecteurs principaux de l'augmentation de ces bactériémies. Il sera important de prendre cette observation en compte dans le traitement de plaies et des fractures ouvertes en milieu karstique.

7.2.3 Affaiblissement par la sous-alimentation ou la déshydratation

La soif (déshydratation) et la faim (l'hypoglycémie) sont des causes favorisantes de l'implantation microbienne. L'exploration spéléologique souffre souvent du faible apport d'eau de consommation compte tenu de la recherche de diminution du poids des kits de portage. Dans le canyon on fait souvent le lien entre l'eau de baignade et l'eau de boisson. Le soleil et le vent sont des conditions aggravant l'état de déshydratation... La déshydratation reste donc un point important de l'activité spéléo/canyon.

7.2.3.1 Déshydratation

Besoin en eau : l'eau est filtrée par les reins – qui réabsorbe l'eau plasmatique à raison de 120 ml/min soit 172 l/jour... Sur cette quantité, 85 % sont réabsorbés au niveau proximal avec le sodium. Il reste 25 l au niveau distal dont la plus grande partie est réabsorbée sous l'influence de l'hormone antidiurétique (ADH^{mm}) d'origine post-hypophysaire. L'ADH déclenche ainsi suivant les

mm/ ADH ou AVP : *AntiDiuretic Hormone* ou Arginine VasoPressine", participe à la régulation de l'eau en agissant sur la résorption facultative de l'eau au niveau des reins. Le déficit entraîne un diabète insipide. L'excès réalise le syndrome de Schwartz-Bartter. La vasopressine est aussi un stimulant de l'ACTH.

ACTH : **hormone corticotrope**, ou **adrénocorticotrophine hormone (ACTH)**, hormone sécrétée par l'hypophyse de façon continue mais à des taux variables suivant les heures. Il existe un rythme nyctéméral, avec un minimum entre 22 heures et 2



besoins, une diminution de la diurèse... Dans ce bilan hydrique nous pouvons dire que les besoins en eau journalier diurne sont de 1,5 à 2 litres de boisson + 1,5 à 2 litres d'eau liée aux aliments. Le déficit en ADH entraîne un diabète insipide, un excès ADH provoque un syndrome de Schwartz- Bartter. D'autres hormones endocriniennes entrent dans le cycle hydrique comme le cortisol qui intervient dans la filtration granulaire et l'aldostérone qui intervient dans la régulation du NaCl.

Les activités sportives comme la spéléologie, le canyoning, les marches par temps chaud avec une exposition en plein vent, les périodes de vent froid sont des conditions possibles de déshydratation. La déshydratation est souvent sournoise, l'individu qui en est touché n'est pas toujours conscient de son état. Les besoins en eau sont variables selon les personnes, selon l'importance de leurs transpirations, de leurs possibilités de rétention en eau, leurs états de sécrétion hormonal (ADH), d'un diabète éventuel, de l'âge, du poids... Selon la gravité de ce déséquilibre, les symptômes peuvent être modérés ou sévères.

➤ **Déshydratation faible**

- La soif est souvent le premier signe de déshydratation.
- Vertige ou distraction
- Mal de tête
- Fatigue voire épuisement
- Sécheresse de la bouche
- Urine d'odeur forte, cétonique et colorée et sombre. La fréquence de la miction est réduite et il peut n'y avoir aucune miction pendant des durées prolongées avec un risque d'altération de la fonction rénale et développement de lithiase urinaire.

➤ **Déshydratation sévère**^{116,117,118}

C'est une urgence médicale avec un pronostic léthal qui impose une prise en charge hospitalière avec réhydratation par perfusion.

- Vertige et perte de conscience
- Confusion
- Absence d'urine pendant 8 heures ou plus
- Bouche sèche
- Renforcement des yeux
- Peau sèche avec perte de d'élasticité (retour lent de la peau étirée)
- Tachycardie et faiblesse du pouls
- Chute de la pression artérielle
- Irritabilité
- Hématémèse (sang dans les vomissements)
- Refroidissement des extrémités
- Perte du sens de la soif
- Perte de la conscience

7.2.3.2 Hypoglycémie

Les activités physiques intensives, les stress répétés, l'angoisse devant des lieux inconnus, les différences de température à compenser dans la progression spéléologique ou en canyon sont pour un individu sans pathologie particulière des causes pouvant entraîner de forte consommation d'énergie, qui lui demandera de puiser dans ses réserves glucidiques et lipidiques.

L'hypoglycémie apparaît lorsque la glycémie est anormalement basse c'est-à-dire inférieure à 0,60 g/l. Le niveau sanguin normal de glycémie doit se situer entre 60 et 110 mg/dl (0,6 à 1,10 g/l). La

heures du matin, les taux plasmatiques sont pratiquement indétectables, puis la sécrétion à un taux entre (60 à 80 pg/ml) dans le reste de la journée. L'ACTH agit sur les corticosurrénales. Elle stimule la cholestérol estérase par le biais d'un mécanisme AMPc-dépendant, augmente la synthèse et le transport du cholestérol intra-surrénal et donc les corticostéroïdes, la $\delta 5$ -prégnénolone.



glycémie est gérée et régulée par le système hormonal dont les hormones sont les suivantes :

- L'**insuline** qui va permettre de faire pénétrer le glucose dans les cellules qui en ont un besoin impérieux (foie sous forme de glycogène, muscle pour être transformé en énergie et tissus adipeux). En revanche le cerveau n'a pas besoin d'insuline pour utiliser le glucose. L'insuline est synthétisée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas.
- La mobilisation immédiate du glucose est assurée par deux hormones : l'**adrénaline** qui est sécrétée par les glandes médullo-surrénales et le **glucagon** sécrété par les cellules du pancréas, où il existe un équilibre en rétrocontrôle entre l'insuline et le glucagon.
- Le stockage et la mobilisation des glucides se fait par le **cortisol** produit par les corticosurrénales, qui est l'hormone du maintien de la glycémie (taux de glucose intracellulaire) d'où le non d'hormone glucocorticoïde.

Symptômes

Les symptômes varient selon la sévérité de l'hypoglycémie¹¹⁹. Multiples, ils se divisent en symptômes témoignant du mauvais fonctionnement du cerveau lié à la carence en sucre au niveau des neurones, cellules très sensibles au manque de sucre (neuro-glucopénie) et ceux de la réaction de l'organisme au stress lié à l'hypoglycémie : la sécrétion de catécholamines (adrénaline et noradrénaline), la réaction neurovégétative.

- **La neuro-glucopénie** : elle peut produire des symptômes survenant pour un seuil glycémique inférieur à 0.50 g/l.
 - Sensation de malaise avec asthénie importante, troubles de la concentration intellectuelle.
 - Sensation de dérobement des jambes, paresthésie des extrémités.
 - Céphalées, impressions vertigineuses, troubles psychiatriques multiples et trompeurs (confusion aiguë, agitation, troubles de l'humeur et du comportement, état pseudo-ébrio...), troubles neurologiques sévères (crises convulsives généralisées ou localisées).
 - Troubles moteurs déficitaires, troubles visuels à type de diplopie ou de vision trouble^{120,121}.

L'hypoglycémie sévère durable (glycémie inférieure à 0.20 g/l pendant plus de deux heures) peut induire une nécrose cellulaire responsable de séquelles¹²². Elle peut même entraîner un coma et un coma prolongé avec un risque de mort.

- **Les signes de la réaction neurovégétative** sont ceux de la sécrétion d'adrénaline, un moyen qu'utilise l'organisme dans les situations de danger imminent, ce sont aussi les symptômes qu'aurait un individu normal s'il était face à un danger.
 - Sueurs dites froides, tremblements, palpitation cardiaques, pâleur, etc. Dans le cadre des premiers secours, il n'est pas possible de distinguer l'hypoglycémie de toute autre cause de perte de connaissance.
 - Tout coma doit faire évoquer l'hypoglycémie.

La sensibilité à l'hypoglycémie diminue au fur et à mesure de la survenue des crises. Ainsi les diabétiques trop souvent en hypoglycémies ressentiront de plus en plus tard les symptômes de l'hypoglycémie et s'exposeront à la survenue d'une hypoglycémie plus graves : « *Lors de la répétition des épisodes d'hypoglycémie, en particulier chez le diabétique traité par insuline, les seuils de sécrétion des hormones de contre-régulation s'abaissent, les symptômes neurovégétatifs s'atténuent, ou sont retardés, de sorte que les symptômes de dysfonction cérébrale sont au premier plan.* »¹²³

Les symptômes d'hypoglycémie peuvent se manifester durant le sommeil. Des exemples de symptômes sont les draps humides ou les vêtements pleins de transpiration. Les cauchemars ou les pleurs peuvent être un signe d'hypoglycémie. Lorsqu'un individu est réveillé, il peut se sentir fatigué, irritable, ou confus ; il peut également s'agir de signes d'hypoglycémie. Une hypoglycémie significative peut accroître le risque de maladie cardiovasculaire¹²⁴.

Causes

Les hypoglycémies ont plusieurs étiologies :

- Soit un excès d'insuline ; soit un défaut de mobilisation du glycogène en glucose. L'excès d'insuline peut être endogène, le plus souvent tumoral, par une tumeur du pancréas, l'insulinome, une tumeur rare, moins d'un cas pour un million d'individus par an.
- Les hypoglycémies dues à un excès d'insuline ont une cause exogène : injection d'insuline chez le diabétique ou prise de médicament stimulant la sécrétion d'insuline.
- Certains médicaments sont responsables d'hypoglycémies, le plus souvent en activant la sécrétion d'insuline, c'est le cas en particulier des sulfamides hypoglycémisants utilisés dans le traitement du diabète, mais aussi des dérivés de la quinine. En Afrique et en Asie, les crises graves de paludisme peuvent s'accompagner d'hypoglycémie, de même que les infections bactériennes sévères.
- D'exceptionnelles tumeurs sécrétant un facteur de croissance, l'IGF-2 causent des hypoglycémies dont le traitement est particulièrement difficile.
- La production insuffisante de glycogénèse et de corps cétoniques peut être la conséquence d'un blocage du glucose du glycogène ou d'une maladie des organes producteurs de stockage du glucose (foie et reins).
- Production des hormones qui l'activent la consommation du glucose (catécholamines, cortisol, hormone de croissance et glucagon).
- Des insuffisances d'apport de glucose, comme dans la malnutrition extrême (famine, anorexie, maladies du tube digestif).
- La chirurgie de l'estomac peut être suivie d'épisodes d'hypoglycémies après les repas, liés à une vidange anarchique de l'estomac qui altère la sécrétion d'insuline.
- La prise d'alcool après un effort (l'alcool-déshydrogénaseⁿⁿ a besoin du glucose pour se régénérer et de ce fait crée une baisse de la glycémie).

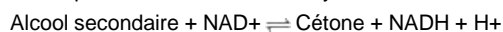
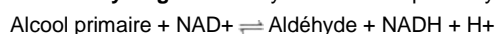
Diagnostic

L'hypoglycémie est un diagnostic biologique car elle se définit par un taux bas de sucre dans le sang (moins de 0,5 g/l). Dans le cadre des premiers secours, il est impossible de distinguer le malaise hypoglycémique d'un autre type de malaise ; tout malaise ou coma, doit faire évoquer l'hypoglycémie. Dans le cadre médical, la mesure de la glycémie (qui peut être faite par un colorimètre portatif pour le dosage du glucose que l'on appelle *Glucomètre*) doit faire partie du bilan de base de tout malaise, mais n'a de sens que si elle est obtenue au moment même du malaise. Il faut traiter une hypoglycémie le plus rapidement possible : la baisse d'attention qui l'accompagne pourrait en effet être mortelle lors de la conduite d'un véhicule ou de la pratique d'un sport (alpinisme en particulier...) ; pour cette raison les personnes hypoglycémiques doivent toujours avoir avec elles une dose leur assurant rapidement 15 grammes de glucides (trois sucres en morceau).

Traitement

Le traitement indispensable et suffisant de référence de l'hypoglycémie est le resucrage par voie orale chez un sujet conscient. Dans certains cas les pertes de connaissance hypoglycémique, peut se rétablir d'elle-même, car l'organisme du diabétique peut débloquent spontanément du glucose et le patient retrouve ses esprits. Dans un premier temps, le corps réagit à la baisse de la glycémie par une décharge d'adrénaline (par rétrocontrôle négatif car l'adrénaline est une hormone hyperglycémisante qui induit la glycogénolyse). La réponse hormonale adrénérergique, va être la sécrétion de

nn/ alcool déshydrogénase : oxydoréductase qui catalyse les réactions suivantes,



Il s'agit d'une famille d'enzymes qui permettent l'interconversion de certains alcools, et notamment l'éthanol, en aldéhydes et cétones, couplée la réduction du NAD⁺ en NADH. Chez l'Homme et de nombreux animaux, l'alcool déshydrogénase est hépatique et participe à la détoxification de l'organisme par l'élimination des alcools toxiques



catécholamine endogène par les glandes médullosurrénales, qui provoque : accélération cardiaque (d'où les palpitations), élévation de la pression artérielle (vasoconstriction), ou autres mécanismes de défense sont mis en jeu ; ils impliquent le glucagon, le cortisol et l'hormone de croissance (hormone somatotrope). Malgré cette contre réaction, le taux de glucose doit être mesuré et dans le cas où il est trop faible (inférieur à 0,50 g/l) il doit être rétabli par un apport approprié.

Dans le cas de coma il faut pratiquer une injection intraveineuse de soluté glucosé à 30 %. Une alternative pratique chez le diabétique traité par insuline est l'injection (sous-cutanée ou intramusculaire) de glucagon. Le glucose sanguin peut augmenter en quelques minutes en ingérant (ou s'injectant) 10 à 20 grammes de glucides. Dans un second temps, la cause de l'hypoglycémie doit être analysée (bilan des prises médicamenteuses, alcoolémie, etc.) afin de prévenir sa récurrence.

Prévention

Chez le diabétique traité : apprendre à reconnaître sur soi les signes d'hypoglycémies ; avoir toujours 15 grammes environ de sucre sur soi, ou autre aliments contenant du glucose... ; savoir adapter traitement et alimentation aux situations qui nécessitent des ajustements : repas, activités physiques, stress, etc. ; adapter le traitement médicamenteux du diabétique avec le médecin traitant.

Les déséquilibres de la glycémie sont des facteurs favorisant les maladies soit par l'affaiblissement de l'organisme dans les moments de déficit glycémique, soit dans les sécrétions de sueur sucrée comme dans le cas des infections fongiques chez les diabétiques.

Remarque

Les trousse de secours en spéléologie et canyonisme devraient avoir toujours un glucomètre portatif pour le contrôle de la glycémie. Car les situations d'hypoglycémie sont relativement fréquentes vu le stress engendré par ces activités notamment dans les initiations.

7.2.4 Addictions (tabac, alcool, drogues)

Les sorties en spéléologie et en canyon sont parfois (souvent... ?) pour des raisons de réconfort devant le stress et l'angoisse, l'occasion de consommation d'alcool. Lorsque cela reste dans les limites d'une alcoolémie dite supportable et raisonnable, cela sera qu'un acte de convivialité et d'amitié. Mais lorsque cette pratique devient un besoin, elle risque de devenir une addiction. Et peut avoir des conséquences sur la concentration et les mesures de rigueur que nécessitent ces sports dits extrêmes.

La Classification Internationale des Maladies (CIM-10) présente la toxicomanie comme la manifestation d'au moins cinq des signes ci-après sur une période d'un an et ayant persisté au moins un mois ou étant survenus de manière répétée.

- un désir compulsif de consommer le produit ;
- des difficultés à contrôler la consommation ;
- l'apparition d'un syndrome de sevrage en cas d'arrêt ou de diminution des doses ou une prise du produit pour éviter un syndrome de sevrage ;
- une tolérance aux effets (augmentation des doses pour obtenir un effet similaire) ;
- une poursuite de la consommation malgré la conscience des problèmes qu'elle engendre.

Les données issues d'études familiales, de jumeaux ou encore d'adoption montrent une héritabilité significative de l'ensemble des addictions, variant de 30 % à 60 % selon les travaux (estimée à 55 % pour l'alcool-dépendance)¹²⁵. Les gènes précisément en cause, leur rôle et leur nombre restent toutefois à déterminer. Ces facteurs génétiques interagissent avec de nombreux facteurs environnementaux dans le déterminisme des addictions, processus étudié au travers du domaine de l'épigénétique. De nombreuses théories psychiques, neurologiques et biologiques tentent d'expliquer les mécanismes de l'addiction et celui des dépendances. L'explication simple du cycle défini par la régulation d'endorphines internes et externes est insuffisante. Toutes les études sont en



faveur d'un rôle central de la dopamine, au sein de la voie méso-limbique. Toutefois, ces mécanismes sont susceptibles d'être modulés par de nombreux autres.

D'après les travaux de Mark Rosenzweig des années 1950, à l'université de Californie (États-Unis d'Amérique) qui a réalisé une étude de psychologie expérimentale sur les souris, il a montré que les souris qui étaient élevées dans des cages où elles pouvaient avoir des activités physiques, qui comprenaient des éléments éducatifs, avaient moins de chance de devenir addictives à la cocaïne. Cette étude a été reprise par Michael Bardo en 2007, à l'université de Kentucky (États-Unis d'Amérique) avec les conclusions suivantes : l'environnement enrichi en activités n'a pas seulement des effets positifs sur l'addiction à la cocaïne. Il entraîne aussi une diminution des séquelles causées par l'héroïne, la morphine et la nicotine chez des souris et des rats. Toutefois l'effet, sur les amphétamines font l'objet d'une controverse entre Michael Bardo et Mohamed Jaber, à l'université de Poitiers¹²⁶.

Les liens entre les addictions — alcool, tabac et drogue — et les maladies bactériennes sont une constatation médicale bien connue : risques de SIDA et de maladies opportunistes par contamination parentérale, développement d'infections microbiennes et virales suite à la détérioration des organes de défense (foie, rein, pancréas...).

7.2.5 Perturbations endocriniennes et physiologiques

Les désordres endocriniens et les désordres physiologiques (déficits enzymatiques génétiques...) provoquent des modifications de l'organisme (comme le pH de la peau, des sécrétions gastriques, des défauts d'assimilations...) qui peuvent être un facteur favorisant la fixation microbienne ou fongique et de ce fait diminuer les défenses immunitaires.

Les différentes hormones sont produites par l'hypophyse, l'hypothalamus, les surrénales, les médullosurrénales, la thyroïde, le thymus, le pancréas, les ovaires et les testicules. Leurs dérèglements sont à l'origine du diabète, du syndrome de Cushing ou de la maladie d'Addison, de l'infertilité, de l'hypo ou hyperthyroïdie... Toutes ces maladies endocriniennes produisent un terrain favorable aux maladies microbiennes, fongiques, virales et sont impliquées même dans certains cancers.

Ces pathologies doivent être prises en compte dans l'engagement sportif mais ne doivent pas être automatiquement considérées comme une contre-indication à la pratique.

7.2.6 Rôle important de la flore intestinale

Il y a une dizaine d'années, on a constaté que la rate et les ganglions lymphoïdes des animaux dépourvus de flore intestinale étaient atrophiés et que la résistance aux maladies et aux affections allergiques étaient diminuées. L'équilibre de ce microbiote semble jouer un rôle important dans la résistance de l'individu aux maladies¹²⁷. La flore intestinale est aussi productrice de vitamine B12 et biotine qui entrent dans la formation des gammaglobulines et de l'érythropoïèse.

7.2.7 Rôle du climat sur l'organisme

Spéléologie ou canyonisme se pratiquent souvent dans des conditions climatiques extrêmes et nécessitent des réactions adaptées de l'organisme pour résister à ces agressions externes. Les cavités ont souvent des températures inférieures aux températures dites de confort et l'eau des rivières est souvent très froide. Le canyonisme en été amène également à maîtriser des différentiels thermiques important entre l'eau et la température de l'air...

Tout cela risque de diminuer les défenses immunitaires de l'organisme et peut être un facteur favorisant la maladie.

7.2.7.1 Hypothermie

La température du corps est assurée chez l'individu par le système nerveux végétatif. Des thermorécepteurs, neuronaux spécialisés dans l'hypothalamus, surveillent constamment la



température du sang et la comparent à un étalon interne ou point de réglage, qui est un élément critique du point de l'homéostasie, qui varie d'une personne à une autre dans une moyenne générale. Des légères modifications du point de réglage peuvent se produire en cours de journée. Lorsque la température s'éloigne du point de réglage l'hypothalamus active le système de réchauffement ou de refroidissement du corps.

Si la température tombe trop bas, les centres nerveux de l'hypothalamus ordonnent aux vaisseaux sanguins proches de la peau de se contracter. La réduction du flux sanguin en surface fait diminuer les pertes de chaleur radiante. Mais cette réduction va aussi entraîner une réduction de l'apport d'anticorps corporels en surface et de ce fait diminuer les défenses immunitaires. D'autres centres ordonnent aux muscles striés de trembler pour produire de l'énergie cinétique génératrice de chaleur. Cette action diminue le contrôle normal de ces muscles et augmente de ce fait la consommation des glucides et des lipides dans l'organisme (tendance à l'hypoglycémie). En cas d'hypothermie poussée l'apparition de la « chair de poule » entraîne un redressement des zones velues de l'organisme pour créer une couche d'air isolante. Les médullo-surrénales poussent l'organisme dans la consommation excessive en énergie (glucides et lipides) et les vaisseaux périphériques et les bronchioles se resserrent pour réduire les pertes de chaleur.

7.2.7.2 Hyperthermie

L'hypothalamus envoie les signaux opposés lorsque le corps doit être rafraîchi. Par exemple, les vaisseaux périphériques se dilatent pour augmenter la déperdition de la chaleur et le métabolisme du corps se ralentit pour réduire la production de chaleur. La transpiration corporelle va réaliser un refroidissement par évapotranspiration. Ce refroidissement peut entraîner une déshydratation, si elle n'est pas compensée par un apport approprié. Outre des points de réglage de la température, l'hypothalamus régule la production d'hormones et celle des taux de sel, de sucres sanguin et d'eau dans le sang qui sont des facteurs de l'homéostasie... Mais cette compensation ne peut se réaliser que si les réserves corporelles sont suffisamment approvisionnées.

Ce sont ces facteurs internes qui favorisent les risques de maladies microbiennes et virales, et qui sont aussi importants dans la vie normale que dans la vie karstique...

7.3 PARAMÈTRES EXOGÈNES (ACTION MICROBIENNE)

7.3.1 Transmission de l'infection d'une personne à une autre ou d'un animal à une personne (les porteurs sains)

Dans ce cas les bactéries qui deviennent contaminants ont produit des facteurs de virulence et des toxines avant la deuxième contamination. Les expéditions en spéléologie et canyonisme se font de plus en plus dans des pays lointains, où les conditions d'épizootie ne sont pas toujours connues ; il est important de s'informer avant le départ sur les risques d'épizootie dans les pays visités.

Épizootie : maladie frappant, dans une région plus ou moins vaste, une espèce animale ou un groupe d'espèces dans son ensemble. Si l'épizootie touche un continent ou le monde, on parlera de panzootie, alors que si elle frappe une région d'une façon constante (incidence stable) ou à certaines époques déterminées, on parlera d'enzootie.

Une épizootie peut se transformer en zoonose si elle se transmet à l'Homme : c'est par exemple le cas avec l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), issue de la « tremblante » ou « Scrapie » du mouton (apportée par les farines de viandes de moutons australiens) et qui a frappé la Grande-Bretagne puis s'est transmise à l'Homme sous le nom de maladie de Creutzfeldt-Jakob. Elle peut alors éventuellement évoluer en épidémie (le pendant humain de l'épizootie) ; c'est le cas de la grippe aviaire (une épizootie) qui pourrait devenir contagieuse pour l'Homme (une zoonose) et devenir très contagieuse entre les Hommes eux-mêmes (une épidémie), selon l'OMS.

Si l'infection épizootique est transmissible à l'Homme — cas de la tuberculose, de la peste, de la grippe aviaire, de la rage, la leptospirose, etc. —, on parle d'anthropo-épizootie. Certaines de ces anthropo-épizooties peuvent être bipolaires : l'Homme contamine l'animal puis l'animal contamine



l'Homme, etc. Les transferts bactériens entre espèces sont souvent un facteur d'augmentation de l'activité pathogène due aux mutations que la bactérie ou le virus a dû subir pour acquérir un pouvoir pathogène pour une autre espèce.

Liste des maladies animales à déclaration obligatoire établie par l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale) en vigueur en 2015¹²⁸

Pour s'aligner sur cette exigence, l'OIE a établi une liste unique fondée sur une série de critères approuvés en mai 2004. La liste est révisée annuellement et les éventuelles modifications entrent en application à partir du 1^{er} janvier de l'année suivante.

7.3.2 Modifications du milieu favorisant le déséquilibre de la flore commensale

La flore commensale est un ensemble complexe de bactéries et protozoaires, se situant sur la peau (le microbiote cutané), le microbiote intestinal et sur une grande partie des muqueuses¹²⁹. Elle est présente dès la naissance.

Fonction : elle assure un rôle primordial dans le contrôle des infections et le système immunitaire.

Composition : la nature de la flore commensale est différente selon les espèces, et dépend, entre autres, de l'alimentation. Il est difficile de connaître avec précision sa composition. Elle peut s'adapter au milieu ambiant : dans les études faites sur les maladies nosocomiales, il a été noté qu'une personne qui reste six heures dans un hôpital a une modification de sa flore cutanée, qui s'adapte au milieu ambiant. Dans cette flore on peut y trouver, entre autres, et selon les endroits :

- de nombreuses espèces anaérobies,
- des entérocoques,
- des pseudomonas dans les fosses nasales...

Il sera important dans le cadre du secours en spéléologie ou en canyon, de prendre en considération les possibilités d'adaptation de la flore ambiante dans le cas des plaies ouvertes, afin de définir les anti-infectieux et l'antibiothérapie adaptée.

7.3.3 Vecteurs microbiens

Les piqûres d'insectes, les morsures, les suctions sanguines sont à l'origine de la pénétration des germes dans l'organisme et favorisent l'activation de la virulence.

7.3.4 Surinfections virales

Elles sont souvent le point déclencheur de la fixation microbienne.

Surinfection : infection secondaire chez un individu affaibli par une première infection, dite « *infection primaire* », surajoutant ses conséquences à celles de la première infection. Elle caractérise parfois une infection se développant sur une blessure, une brûlure, un ulcère, un eczéma, une piqûre d'insecte, etc. L'agent infectieux peut être une mycose, une bactérie ou un virus.

Ce phénomène est fréquent chez les malades ou personnes dont l'immunité est affaiblie par la première infection ou par un traitement médicamenteux. Il est possible que certains microbes aient co-évolués en développant des stratégies de surinfections.

Cas particulier : la surinfection peut être causée par un pathogène résistant aux antibiotiques.

Surinfections et biofilms : la formation de biofilms peut entretenir une contamination pathogène sur la peau ou les muqueuses. 65 % des infections recensées chez l'Homme dans les pays développés sont causées ou entretenues par des biofilms, et plus de 80 % des infections bactériennes chroniques le sont¹³⁰. D'autres surinfections sont consécutives à une plaie ou une maladie virale (grippe par exemple).



Diagnostic et traitement : la surinfection peut compliquer le diagnostic et le traitement des deux maladies parce qu'un microbe ou un symptôme peut en cacher un autre ou parce que le traitement d'une maladie peut parfois favoriser la progression de l'autre (cas des mycoses et des bactériémies) ou que deux médicaments peuvent être incompatibles. Un malade peut être surinfecté par une variante d'un même pathogène (virus par exemple), éventuellement résistante à certains médicaments. On parle alors plutôt de surcontamination.

7.3.5 Déséquilibres entre bactéries et bactériophages

Il existe un équilibre bactérien entre les bactéries et les bactériophages, qui régularise la flore d'ensemble commensale et pathologique.

Formations et libérations de toxines bactériennes en fonction des conditions environnementales : (l'aW, le pH, la température, l'humidité, l'insuffisance de nutriments antibactériens, favorisent la formation de toxines et d'endotoxines lors de la mort des bactéries concernées).

Endotoxines : sont pour la plupart des lipopolysaccharides des membranes externe des micro-organismes qui passent dans la circulation sanguine, par exemple lors d'une bactériémie à bacilles Gram(-), et peuvent conduire à un état de choc, le MSOF (MSOF des auteurs anglo-saxons : *Multiple System Organ Failure* ou défaillance multi-viscérale), ou une CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée ou encore syndrome de défibrination ou coagulopathie de consommation), et peut dans certains cas entraîner la mort.

L'interaction des lipopolysaccharides avec différents types cellulaires va conduire à l'état de choc toxique par :

- la production de cytokines par les monocytes, macrophages et cellules endothéliales ;
- l'activation du complément ;
- l'activation du système de coagulation.

C'est la destruction de la bactérie qui va produire sa toxicité. Le choix de l'antibiothérapie soit bactériostatique soit bactéricide va être important selon les bactéries à traiter pour éviter ce type de toxicité.

Exotoxines : toxines protéiques bactériennes qui se différencient des lipopolysaccharides. Elles ont des cibles cellulaires spécifiques (exemple : exfoliatine de *Staphylococcus aureus*). Support génétique : chromosome ou éléments génétiques mobiles qui peuvent être échangés par le pilus ou un bactériophage (plasmides, prophages^{oo}). Elles agissent à distance du foyer de production (exemple : toxine du choc toxique staphylococcique dans le choc toxique menstruel; toxine tétanique de *Clostridium tetanii*). La dose toxique est très faible (10^{-9} g). La neurotoxine botulinique est le poison le plus violent dans la nature avec une dose minimale létale (DML) de 1 ng (pour comparaison DML endotoxine = 1 µg). Elles sont généralement thermolabiles (à l'exception des entérotoxines de *Staphylococcus aureus*). La toxine dénaturée perd ses propriétés fonctionnelles, mais conservent ses propriétés antigéniques et devient l'anatoxine (intérêt vaccinal pour l'anatoxine tétanique et diphtérique).

7.3.6 Fixation microbienne

Formation de biofilm, d'adhésines, du *slime*, de glycocalyx, qui permettent à la bio-flore microbienne de se fixer sur des supports vivant (sur des cellules, sur le collagène de la peau...) et sur du matériel organique et minéral. Cette fixation microbienne permet à ces organismes de résister aux traitements antibiotiques, même à certains antibactériens et antifongiques. Les bactéries dormantes : lors d'un traitement par les antibiotiques, certaines bactéries pathogènes survivent dans

oo/ prophages : ADN introduit pas un bactériophage dans la bactérie hôte.



l'organisme en ralentissant leur métabolisme et arrêtant de se multiplier. Mais elles ne perdent pas pour autant cette capacité. Il suffit qu'elles se réveillent pour provoquer des dégâts considérables : elles sont notamment responsables des rechutes comme celle de la tuberculose ou des ***Staphylocoque aureus***. Cette propriété de dormance est liée au fait qu'elles peuvent produire des microfilms, qui sont leur moyen d'isolement pour éviter les défenses immunitaires. La plupart des antibiotiques bloquent un stade du développement des bactéries afin de les rendre inefficaces, c'est pour cela qu'ils n'ont aucun effet sur les bactéries dormantes.

Lors de l'agression d'un staphylocoque doré, les défenses de l'organisme sont souvent prises en défaut, pas seulement parce que la bactérie a une enzyme bêta-lactamidase et dispose d'un système de contre-attaque immunitaire. Depuis 2004, on sait que des cellules immunitaires, les neutrophiles emprisonnent les bactéries infectieuses dans un filet ADN et de protéines, les macrophages englobent les bactéries ainsi emprisonnées. Or les staphylocoques dorés, ne répondent pas à cette stratégie car ils possèdent des enzymes qui dégradent le filet ADN et le transforment en un produit toxique pour les macrophages¹³¹.

Kim Lewis de l'université Northeastern à Boston a cherché un élément indispensable à la survie des bactéries en état de dormance. C'est le cas de l'enzyme nommée ClpP présente dans toutes les bactéries qui régule la dégradation des protéines (enzyme semblable aux cathepsines dans la cellule). Il montre que cette enzyme peut être sur activée par une famille de molécule acyldepsipeptides (ADEP) qui lui a donné de bons résultats sur la destruction des bactéries dormantes... Les recherches se poursuivent dans cette voie... Elle pourrait résoudre les problèmes de chronicité dus aux bactéries qui sont en état de veille dans des biofilms¹³².

Dans cette liste non exhaustive, nous observons que la résistance aux maladies a des étiologies multiples, qu'elle est marquée par l'équilibre entre virulence et résistance. Il est donc difficile de faire une liaison directe entre une présence de germes et une pathologie de ces germes.

7.4 STRESS

La notion de stress, si familière et si galvaudée, est utilisée largement dans la vie courante, personnelle et professionnelle. Lors d'opérations de secours, les sauveteurs sont naturellement confrontés à ce stress : urgence, souffrance, mort, risque d'erreur, culpabilité, etc.¹³³

Le stress est ressenti lorsqu'un déséquilibre est perçu entre ce qui est exigé de la personne et les ressources dont elle dispose pour répondre à ces exigences. Le stress, dont l'étymologie vient du latin *stringere* (serre, lien, détresse, étreinte, avec une notion d'impuissance, d'abandon et de résignation) se définit donc fondamentalement comme un phénomène d'adaptation à une situation donnée.

Ce concept né au début du siècle a été marqué par trois grands courants de pensée :

- le courant biologique et environnemental (Pavlov, Selye, Cannon, Laborit) : c'est l'environnement qui détermine le comportement. Le traitement, basé sur le conditionnement, passera donc par une modification de l'environnement (behaviourisme). On doit changer de stimulus pour changer la réponse ;
- le courant dispositionnel : les conduites dépendent essentiellement des particularités du sujet, de sa structure de personnalité, des traumatismes archaïques, des conflits psychiques (domaine de la psychanalyse et de la psychosomatique) ;
- le courant interactionniste (Lazarus, Folkman) : il considère comme fondamental les échanges entre l'environnement et l'individu, et établit que le sujet peut modifier son contexte, qu'il en est l'acteur. C'est le modèle transactionnel actuel, courant non déterministe contrairement aux deux autres.

Certes la part du psychologique a une importance majeure dans les réactions incontrôlées du stress anticipé. Pour cela je me permets de vous exposer une petite histoire de peur injustifiée : une personne qui avait une peur bleue de prendre l'avion, et qui a dû cependant le prendre pour un cas de force majeure pour se rendre à Marseille. À l'aller, elle a été malade faisant une crise proche de la



folie, devenant irascible et incontrôlable... Au retour, en entrant dans l'avion elle se trouve face avec un steward et elle lui dit « *Qu'elle a peur en avion* ». Celui-ci lui répond : « *Vous avez raison les avions ne sont pas sûrs, les dangers sont quotidiens, des avions s'écrasent et on ne peut rien faire...* », À cela il lui énumère tous les malheurs que les voyageurs en avion peuvent risquer... Il lui dit « *Mais nous avons l'habitude de supporter tous ces dangers.* ». À ma grande surprise elle s'est assise et a fait un voyage sans rien dire et sans peur particulière ! Voilà un exemple de la complexité psychique de l'intériorisation de l'anxiété, qui est le fruit de notre imagination.

Mais dans le cadre de notre étude sur les risques biologiques nous allons nous intéresser aux modifications physiologiques engendrées par les situations de stress et pouvant avoir une influence sur notre résistance à ces risques viraux, bactériens, fongiques ou parasitaires.

7.4.1 Réactions physiologiques en cas de stress

Pour bien comprendre cette partie nous allons faire un petit récapitulatif du cerveau humain (voir ci-dessous).

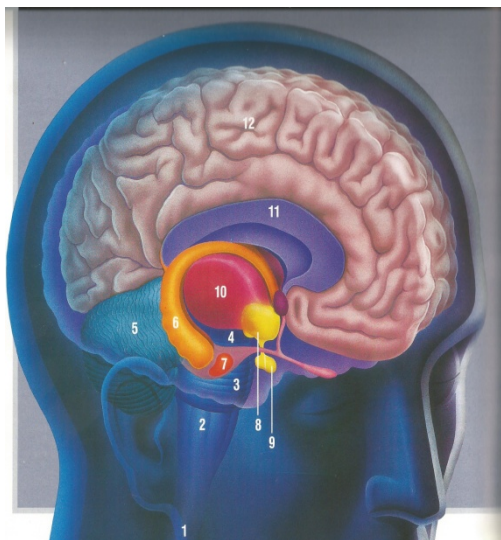


Photo : « *Cerveau et intelligence* », À la découverte de l'être humain, ed. Time-Life, Amsterdam

Cerveau humain

- 1 Moelle épinière** : elle transmet les influx nerveux.
- 2 Bulbe rachidien** : contrôle de la respiration, la déglutition, de la pression sanguine et des fonctions complexes.
- 3 Pont de Varole** : liaison du cortex au cervelet.
- 4 Mésencéphale** : il relaie les messages sensoriels de la moelle épinière vers les autres parties.
- 5 Cervelet** : maintient l'équilibre et de la posture grâce au sens de la position du corps dans l'espace.
- 6 Hippocampe** : intervient dans les relations émotionnelles et l'apprentissage. Il aide au traitement des informations et à leur stockage en mémoire.
- 7 Amygdale cérébelleuse** : collabore avec l'hippocampe pour créer des émotions à partir des perceptions et de la pensée.
- 8 Hypothalamus** : contrôle des paramètres tels que le rythme cardiaque et la thermorégulation corporelle.
- 9 Hypophyse** : sous la direction de l'hypothalamus, elle sécrète les hormones qui circulent dans le corps et contrôle la production des autres glandes endocrines.
- 10 Thalamus** : gouverne tous les sens sauf l'odorat. De nombreux types d'informations destinées au cortex cérébral transitent par cette structure.
- 11 Corps calleux** : bande de fibres qui relie les deux hémisphères du cortex cérébral, leur permettant d'échanger des informations.
- 12 Cortex Cérébral** : surface du cerveau qui ne fait que quelques millimètres d'épaisseur. Il est la base des processus compliqués tels que la pensée et le langage.

Un article de *La Recherche* de 2015¹³⁴ détaille la complexité du comportement physiologique que le stress peut engendrer. Comme le dit Sonia Lupien, directrice du centre d'étude sur le stress humain au Canada « *Le stress est la réponse du cerveau à une menace. Il donne la force de fuir ou de combattre.* »

Les principaux symptômes de l'anxiété ou du stress sont :

- Dilatation des pupilles pour augmenter la sensibilité visuelle.
- Pilosité qui s'érige afin d'augmenter la sensibilité du toucher.
- Rythme cardiaque qui s'accélère, pour transmettre plus de sang dans les muscles.
- Les narines, la gorge et les poumons qui s'élargissent pour donner plus d'air au sang.
- La respiration devient plus profonde, ce qui permet de crier plus fort.

Ce qui permet à l'organisme d'être prêt pour le combat ou la fuite...

L'explication physio-biologique de ce comportement ou de ce désordre est relativement récente. Le neurologue Muriel Koehl du neuro-centre de Magendie, à Bordeaux, explique que pour lui les réactions dues au stress visent à « *Préserver constantes les conditions de vie du milieu intérieur* », autrement dit le maintien de l'équilibre de notre organisme devant le danger virtuel ou réel. Cette



idée d'équilibre est affirmée au XX^e siècle par Walter Cannon, physiologiste à l'université Harvard (États-Unis d'Amérique). Pour lui l'équilibre est un état dynamique de l'organisme, il l'appelle « homéostasie » qui définit la capacité de l'organisme à conserver sa stabilité fonctionnelle en dépit des contraintes extérieures. Notre organisme a de nombreuses possibilités de régulation, de sa température corporelle, de son équilibre ionique sanguin, libération énergétique en fonction du besoin...

Nous pouvons examiner le stress comme un ensemble d'état consécutif qui va évoluer en fonction des faits extérieurs (adaptation aux faits), nous pouvons décomposer cette situation par des stades de réactions aux conditions rencontrées.

- Le premier stade vient du cortex préfrontal qui analyse la situation, cette analyse va prendre en compte les situations vécues et les situations que l'inconscient a enregistrées soit par des archétypes sociaux, soit par des tabous familiaux, soit par des faits refoulés... C'est de cette situation, que des informations vont être transmises à l'hippocampe, site de traitement de la mémoire et avec l'amygdale^{pp}, site de la gestion des émotions.

Comme l'a analysé Hans Selye physiologiste canadien, qui nous informe que pour lui la réponse correspond à une stimulation réflexe du cœur et des poumons par le système nerveux sympathique, qui contrôle un grand nombre d'activités de l'organisme (cardiaque, pulmonaire, vessie, parois vasculaires...). Cette liaison avec le cerveau va se faire par la moelle épinière, intervention du *locus coeruleus*^{qq} qui va activer le système sympathique donc une stimulation par la voie nerveuse des hormones médullosurrénales, qui produit les catécholamines (dont l'adrénaline) qui est surtout un α stimulant et plus faiblement β_1 et β_2 stimulant. Elle est impliquée dans l'accélération cardiaque, pression artérielle et volume des bronches.

- La deuxième activation provient du thalamus : cette réponse correspond à la cascade de stimulations hormonales que Selye nomme « l'axe corticotrope » et « l'axe sympathique ». À ce stade dans le cerveau l'hypothalamus sécrète la CRH (*Corticotrophin Releasing Hormone*) qui va faire sécréter une hormone hypophysaire ACTH (*Adreno-Corticotrophin Hormone*) qui va circuler dans le sang, qui va stimuler la glande corticosurrénale placée au-dessus des reins et donner des glucocorticoïdes et à nouveau de l'adrénaline. Cette sécrétion va libérer les acides gras stockés par les muscles, le tissu adipeux du foie et les sucres de glycogène hépatique, qui vont servir pour être transformés en énergie pour lutter contre les stimuli, qui ont été la source de la réaction. Pour Hans Selye cette réponse se déclenche d'elle-même lorsque l'homéostasie est perturbée. Elle serait identique pour toutes les réactions de stress, quelque soient leur intensités.

À ce stade deux voies s'ouvrent :

- **soit l'individu est capable de maîtriser le stress** : dans ce cas nous observons un rétrocontrôle hormonal, le taux des glucocorticoïdes (ex : le cortisol) sanguin agissent comme un frein. ils bloquent la stimulation de l'hypophyse et l'hypothalamus, ainsi les sécrétions de l'axe sympathique et corticotrope. L'axe sympathique est inhibé par le nerf vague, qui relie le cerveau au cœur. Cette action va ralentir la fréquence cardiaque. L'axe corticotrope est freiné par ce rétrocontrôle, au niveau de l'hypothalamus, il se trouve des récepteurs spécifiques des glucocorticoïdes, qui inhibent la stimulation de l'axe cérébral qui commande l'axe corticotrope avec arrêt de la sécrétion d'hormones surrénales (ACTH). Ce rétro-système permet

pp/ amygdale ou **complexe amygdalien** : noyau pair situé dans la région antéro-interne du lobe temporal au sein de locus, en avant de l'hippocampe et sous le cortex péri-amygdalien. Elle fait partie du système limbique et elle est impliquée dans la reconnaissance et l'évaluation de la valence émotionnelle des stimuli sensoriels, dans l'apprentissage associatif et dans les réponses comportementales et végétatives associées en particulier dans la peur et l'anxiété. L'amygdale fonctionnerait comme un *système d'alerte* et serait également impliquée dans la détection du plaisir.

qq/ locus coeruleus : « *locus caeruleus* », « *locus ceruleus* » ou LC (« la tache bleue », en latin) est un noyau sous-cortical du cerveau, situé dans le tronc cérébral. Il a beaucoup de relations avec l'amygdale mais aussi avec le noyau sensitif du nerf trijumeau et les noyaux limbiques.



normalement à individu de s'adapter au milieu en produisant l'énergie dont il a besoin dans l'immédiat pour résoudre la situation et en arrêtant le système en fin d'action.

- **soit cette maîtrise ne se produit pas** : nous avons dans ce cas une situation de stress à risque avec fuite ou lutte ou épuisement qui peut être contraignante pour l'individu. Dans cette dernière condition Hans Selye distingue trois phases :
 - **la fuite** : c'est l'alarme pour faire face à l'agression, cela se traduit par l'activation du système neuro-sympathique et l'axe corticotrope comme nous l'avons vu plus haut qui va déclencher immédiatement la voie d'action de fuite, pour que les forces musculaires ou les réflexes soient temporairement augmentés.
 - **la deuxième phase est la résistance ou combat** : l'organisme s'adapte à l'agent agresseur. Cela correspond à une activité soutenue de l'axe corticotrope. Durant cette phase les défenses de l'organisme se trouvent augmentées vis-à-vis de l'agent stresseur, mais diminuées vis-à-vis d'autres agressions. (Par exemple : en cas d'agression physique, le corps mobilise les muscles, le cœur, les poumons mais il diminue ses défenses immunitaires).
 - **la troisième phase est l'épuisement** : elle survient quand toute l'énergie immobilisée a été dépensée. Le rythme cardiaque et la respiration ralentissent, et les muscles se relâchent, dans ses études psycho-physiologiques Selye observe que les souris en état d'épuisement peuvent aller jusqu'à la mort.

La répétition des stress : le stress peut devenir pathologique quand le souvenir d'une agression réactive l'axe corticotrope de façon chronique. Les glandes surrénales produisent de façon répétée des glucocorticoïdes et de l'adrénaline, qui s'accumulent dans l'organisme. Les trop fortes concentrations de glucocorticoïdes dans le cerveau sont associées à des pathologies, comme la dépression ou des comportements addictifs. Dans l'organisme les répétitions du stress peuvent conduire à un dérèglement du métabolisme. Les fortes concentrations d'adrénaline peuvent être responsables d'accidents cardiovasculaires.

Une étude de psychologie expérimentale faite sur des singes par John Wayne Mason, médecin à l'institut de recherche Walter de l'armée américaine, a consisté à mettre en état de sous-alimentation deux groupes de primates dont un des deux avait la possibilité de voir des primates sur alimentés. Il a pu constater que le stress que ces derniers avait été aussi fort que les stress habituellement observés dans des conditions de menace réelle. On peut dire que le stress psychologique est aussi important que les stress physiologiques et qu'il est fonction de l'importance que l'individu lui donne. *« Ce n'est pas les faits qui comptent, mais l'importance que l'on leur donne ».*

Pour revenir à l'anecdote de *« notre personne, qui avait une peur bleue de prendre l'avion »*, nous pouvons analyser le fait qu'elle ait pu inhiber sa peur de la façon suivante : le steward consciemment ou inconsciemment a fait ce que l'on peut appeler en psychanalyse un « mimétisme » dans son discours, car il a pris le parti de l'inconscience de la personne, c'est-à-dire les critères que l'inconscient de celle-ci envoyait dans la partie consciente de son cerveau et qui avait pour effet de produire le stress. En faisant une telle action, la personne a réalisé que le steward exagérait et que les informations que son inconscient lui envoyait étaient aussi exagérées... Une position contraire du steward, qui aurait consisté à confirmer à la personne qu'elle n'avait aucun danger, aurait été rejetée par l'inconscient de la personne et n'aurait eu aucun effet.

Richard Davidson de l'université du Wisconsin-Madison (États-Unis d'Amérique) et Richard Davidson ont fait des statistiques sur les personnes qui pratiquaient la méditation d'origine bouddhiste. Ils ont constaté que ces personnes présentaient la possibilité de maîtriser les pensées répulsives, les émotions et le déclenchement de la peur¹³⁵... Sarah Lazar, de l'université de Harvard aux (États-Unis d'Amérique) a constaté une diminution des réactions hormonales du stress¹³⁶ et une baisse de l'activité de l'amygdale des personnes suivant cette technique méditative¹³⁷. Sur la respiration, la



méditation, la maîtrise de la pensée, voir aussi la méthode du Docteur Roger Vittoz^{rr}.

7.4.2 Perspectives

Le stress a été assez peu étudié à notre connaissance en milieu spéléologique et canyon. En 1996, Norbert Aumasson¹³⁸ en a fait son mémoire d'instructeur, assorti d'un certain nombre de conseils pratiques pour la gestion du stress par les cadres. Le stress est par contre abondamment étudié et cité dans les revues professionnelles et grand public. N'en retenons qu'un seul aspect, le risque de développement d'un stress post-traumatique. Environ 1 % des français subissent un stress, soit 600 000 cas par an. Le risque de développer un stress post-traumatique varie de 10 à 100 % selon la nature du stress.

En milieu naturel, où une part de risque est inhérente à l'activité et acceptée par le pratiquant (au moins dans le principe), ce chiffre sera peut-être moins élevé, mais il dépendra de la prise en charge dont bénéficiera la personne dans les suites de l'événement traumatisant. La prise en charge immédiate ou dans les semaines qui suivent pourra prévenir une évolution vers un syndrome post-traumatique, plus difficile à traiter une fois fixé.

L'enquête de la Commission médicale fédérale de la FFS, la CoMed, réalisée en 2010¹³⁹ auprès de 300 adhérents de la FFS, pratiquants en spéléologie ou canyonisme, a donné un aperçu sur le ressenti et les circonstances de survenue du stress dans nos activités. Une grande partie de ces situations a été finalement bien « digérée » par les protagonistes, autrement dit, les stratégies d'adaptation se sont mises en place spontanément, plus ou moins facilement. Si la majorité des pratiquants a eu des troubles immédiats ou retardés, et si deux personnes sur trois ont été amenées à changer leur pratique ensuite, on a été soulagé de voir que 70 % des personnes n'avaient pas eu de retombées dans leur vie personnelle de l'événement stressant.

Il est important de poursuivre la sensibilisation au stress dans les stages de formation des cadres, dans les stages secours et ASV et les stages de plongée. Ces activités sont très spécifiques et ont un niveau d'engagement très fort.

7.4 COMMENT SE PROTÉGER DE LA CONTAMINATION AMBIANTE ?

Il est important dans les explorations qui ont une durée très longue de tenir compte de la fatigue des participants et des conditions de temps de repos, d'alimentation et d'hydratation.

Dans l'exploration des cavités chaudes (tropicales où l'on a un risques d'histoplasmoses ou de mycoses) où le développement microbien est supérieur aux autres cavités, le port d'un masque est conseillé dans la partie de l'entrée de la cavité et dans toutes les zones qui peuvent héberger des vecteurs de maladies ou des moisissures (présence d'insectes, de chauves-souris, d'animaux morts...). Dans ces mêmes zones, le port de gant est aussi conseillé.

Étant donnée que la flore tellurique est en grande partie constituée d'anaérobies stricts (inhibés par la présence d'air), sporulés (les spores leurs donnent une résistance vitale de longue durée dans les sols et les parois des cavités), ceci lui confère des particularités épidémiologiques. Les études des infections nosocomiales de la flore des clostridies, nous informent que leur transmission se fait principalement par les mains et les ongles des porteurs sains. La voie *per os* reste une possibilité de contamination, mais le tube digestif des personnes immunocompétentes étant bien protégé par le système immunitaire (IgA, IgG, immunologie tissulaire, les lymphocytes B et T, et les macrophages), cela limite fortement cette pathologie.

Afin d'éviter les risques de contamination des spéléologues, le port de gant est conseillé pour les explorations qui demandent une pause repas à l'intérieur des cavités, qui ne sont pas irriguées et où l'on n'a pas la présence d'eau propre pour le lavage des mains avant la pause repas.

rr/ méthode Docteur Roger Vittoz : rééducation psychosensorielle, qui implique la répétition d'exercices pour une appropriation progressive ; ces exercices simples, faciles à intégrer dans la vie quotidienne, réhabilitent les perceptions sensorielles pour développer la présence à soi, à l'environnement et à l'autre. Elle exerce la maîtrise cérébrale. L'utilisation de la sensation consciente permet d'arrêter la rumination mentale ou la dispersion, et de vivre simplement le présent.



7.5 CONSIDÉRATION TRAUMATOLOGIQUE DANS LE CADRE DU SPÉLÉO-SECOURS

Il n'existe pas actuellement de protocoles spécifiques pour codifier l'utilisation d'antibiotiques afin de prévenir la survenue d'infections après une fracture ouverte survenue en milieu souterrain. Cependant les protocoles existants pour les milieux extérieurs peuvent être conseillés¹⁴⁰.

La fréquence des infections postopératoires en chirurgie traumatologique est plus élevée que pour la chirurgie programmée quel que soit le stade de gravité.

L'antibioprophylaxie chez le polytraumatisé relève de la ou des lésions nécessitant une intervention chirurgicale. Bactéries cibles : *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Propionibacterium*, *Streptococcus spp*, *E. coli*, *K.pneumoniae*, anaérobies telluriques.

Acte Chirurgical	Produit	Posologie	Réinjection et Durée
Fracture fermée nécessitant une ostéosynthèse extrafocale isolée	Pas d'ABP		
Fracture fermée nécessitant une ostéosynthèse intrafocale quel que soit le matériel mis en place	céfazoline	2g IV lente	1g si durée > 4h Limitée à la période opératoire (24h max)
Fracture ouverte de stade I de Cauchoix quel que soit le matériel mis en place	Céfamandole	1,5g IV lente	0,75g si durée > 2h Limitée à la période opératoire (24h max)
Plaie des parties molles non contuse et non souillée, avec ou sans atteinte de structures nobles (artère, nerf, tendon).	Céfuroxime	1,5g IV lente	0,75g si durée > 2h Limitée à la période opératoire (24h max)
Plaie articulaire	Allergie : clindamycine + gentamicine	600mg IV lente 5 mg/kg/j	600mg si durée > 4h
Fracture ouverte stade II et III de Cauchoix, quel que soit le matériel mis en place.	Péni A + IB *	2g IV lente	1g si durée > 2h 48h maximum
Large plaie des parties molles contuse et souillée avec ou sans atteinte des structures nobles	Allergie : clindamycine + gentamicine	600mg IV lente 5 mg/kg/j	600mg si durée > 4h 48h maximum 48h maximum

À l'arrivée aux urgences une fracture ouverte est contaminée par la flore microbienne dans 50 à 80 % des cas¹⁴¹. Six heures après le traumatisme les bactéries commencent à se multiplier et à partir de huit heures l'infection est acquise¹⁴².

Il faut savoir que l'incidence de l'infection chronique des fractures ouvertes est variable selon les auteurs¹⁴³. Elle dépend du type de fracture ouverte, de la qualité de l'excision et des soins apportés au foyer de fracture. Elle varie entre 20 et 40 % pour les fractures de (type III) et de 0 à 10 % des fractures de (type I et II)⁵⁵.

L'antibio-prophylaxie est indispensable et elle est d'autant plus efficace qu'elle est administrée précocement après le traumatisme. Mais cela n'est qu'une couverture sécuritaire et non thérapeutique¹⁴⁴.

L'antibiothérapie très précoce et l'excision chirurgicale sont les deux facteurs les plus importants capables de faire diminuer les risques d'infection due à des bactéries acquises lors du

ss/ type de fracture :

- **Type I** « fracture simple, ouverte punctiforme de dedans en dehors ».
- **Type II** « fracture simple, oblique, sans déplacement important et non comminutive, lacération cutanée de dehors en dedans de plus d'un centimètre sans lésion étendue des parties molles. »
- **Type III** « comprend différents types de fractures ouvertes associées à des lésions importantes des parties molles, avec ou sans perte de substance cutanée, avec ou sans lésions vasculaires et nerveuses associées déterminant des sous-types. »



traumatisme¹⁴⁵. L'antibio-prophylaxie doit être adaptée à la cible bactérienne qu'on cherche à détruire : les staphylocoques et les streptocoques de la peau (stade I), mais également les bacilles à Gram négatif et positif (aérobie et anaérobie strict) qui, dans notre cas, colonisent la plaie très rapidement dans les fractures ouvertes de stade II et III et les blessures profondes.

Les bactéries isolées dans la plaie au niveau du foyer de fracture dépendent du type de traumatisme et des circonstances de l'accident. Les germes anaérobies (*Clostridium tetani*, *C. perfringens*) doivent être considérés comme présents dans tout type de fracture ouverte. Dans les fractures de type I et II, les germes cutanés (microcoques, *Bacillus sp.* et *Corynébactéries*) prédominent par rapport aux bacilles Gram(-) de l'environnement.

Dans les fractures de type III et IV, la plaie est souillée par les bacilles à Gram(-) présents dans la terre et dans l'eau (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*), par les germes cutanés en particulier *Staphylocoque epidermidis*, et parfois déjà par le *Staphylocoque aureus*. Ces bactéries sont responsables des infections secondaires des fractures ouvertes et des parties molles puis des pseudarthroses^{tt}.

Dans les cas accidentels où il y a des plaies ouvertes, le risque de pathologies dues aux *Clostridies* ou d'autres germes comme les *Staphylocoques* (à coagulase ou non) augmentent. Il est à signaler que toutes les fois que nous avons une destruction de la protection épithéliale plus ou moins profondément souillée de terre, nous ouvrons une porte à la pénétration des *Clostridies* et nous devons prendre en considération l'éventualité d'une contamination spécifique à l'environnement.

La qualité de l'acte chirurgical est capitale : s'il existe des corps étrangers, de la terre, des tissus nécrotiques ou dévascularisés, l'antibiothérapie sera incapable de stériliser les lésions infectées. De même si la vascularisation artérielle est compromise, l'antibiothérapie sera inefficace parce qu'elle n'arrivera pas dans le site traumatique et infecté.

Il faut prendre en considération, que les traumatismes et les fractures ouvertes insuffisamment traités au moment de la pénétration des germes dans l'organisme, peuvent avoir des conséquences ultérieures graves pour les patients, suite à la fixation de germes et à la formation de films micro-bactériens qui rendent la flore résistante à l'antibiothérapie. La fréquence de l'antibiothérapie doit être calculée pour avoir une CMI approximativement constante en fonction de la période d'action de l'antibiotique et du temps d'attente dû à la durée des secours. Il en est de même dans le cas des plaies ouvertes profondes et dans tous ces cas nous devons penser à l'éventualité d'une infection tétanique.

7.6 PRISE EN CHARGE DES PLAIES, RAPPELS DE VACCINATION ANTITÉTANIQUE

Le calendrier vaccinal 2013 allonge les intervalles des rappels de vaccins diphtérie-tétanos-poliomyélite (DTPolio) chez l'adulte : ceux-ci sont désormais de vingt ans entre 25 et 65 ans. Un intervalle de dix ans est maintenu au-delà de cet âge.

Le Haut conseil de la santé publique considère que les données relatives aux durées de protection conférées par les vaccins antitétaniques autorisent une modification des recommandations relatives à la prévention du tétanos dans le cadre de la prise en charge des plaies. Devant une plaie, l'administration immédiate d'une dose d'anatoxine tétanique est recommandée lorsque la personne n'est pas à jour de ses vaccinations selon le calendrier vaccinal en vigueur. Si en outre, la plaie est majeure ou susceptible d'avoir été contaminée par des germes d'origine tellurique, l'administration d'une dose d'immunoglobulines tétaniques complètera cette prévention.

Le HCSP précise également, qu'outre la prévention immédiate du tétanos, l'administration d'anatoxine tétanique doit s'inscrire dans une optique de mise à jour du statut vaccinal de la personne concernée. Un tableau résumant les conduites à tenir en fonction du statut vaccinal du patient figure dans cet avis.

tt/ **pseudarthrose** : constitution d'une fausse articulation, pathologique, entre les fragments osseux d'une fracture mal consolidée, avec mobilité anormale à son niveau.



7.7 OBSERVATIONS SUR LA POSE ET LA COLONISATION HÉMATOGÈNE^{uu} DES CATHÉTERS

La colonisation de la portion intravasculaire du cathéter à partir d'un foyer infectieux à distance, en particulier lors des bactériémies, a été soulignée en réanimation, où elle pourrait être responsable de près de 15 % des Infections Liées aux Cathéters (ILC)^{146,147}. Cette colonisation est responsable de septicémies récurrentes, survenant alors que le foyer initial a été stérilisé. Elle pourrait être facilitée par l'existence du manchon fibrineux qui se forme constamment à l'extrémité des cathéters, voire la présence dans certains cas de véritables thrombus distaux. L'existence d'une corrélation précise entre l'incidence des ILC et de la thrombogénicité du matériel ou la présence de thrombophlébite est encore débattue¹⁴⁸, et pose le problème de la valeur de l'héparinisation des lignes veineuses centrales pour la prévention des ILC.

Signalons le rôle possible de la translocation intestinale des staphylocoques chez les malades immunodéprimés, aplasiques ou souffrant de pathologies intestinales aiguës, avec colonisation hématogène secondaire du cathéter^{149,150}.

Contamination observée sur les cathéters en milieu hospitalier

De 1970 à 1980, la contamination observée sur les cathéters était surtout représentée par des *Staphylocoques aureus* et des bacilles Gram(-) pathogènes. Cette dernière décennie il y a eu une diminution des germes Gram(-) et un développement rapide des infections de *Staphylocoques* à coagulase (-) comme le *Staphylocoque epidermidis* fréquemment isolés (50 à 70 %).

Voies et modes de contamination/colonisation des cathéters veineux centraux, conduisant à la diffusion de l'infection à partir du manchon fibrineux distal.

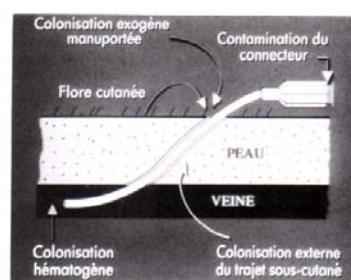


Photo extraite du livre de Jean-Loup AVRIL et Jean CARLET Les infections nosocomiales, éd. Ellipses

Bactéries les plus fréquemment isolées

Bactéries Gram(+)	Bactéries Gram(-)	Mycobactéries	Fongiques
<i>S. aureus</i> <i>S. à coagulase (-)</i> <i>Streptocoques</i> (Entérocoques)	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter sp.</i> (<i>E. cloacae</i>) <i>Serratia marcescens.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa et cepacia</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>E. coli.</i>	<i>Nocardia sp.</i>	<u>Levures</u> <i>Candida sp.</i> (<i>C. albicans</i>) <i>Malassezia furfur,</i> (agent du pityriasis versicolor) <u>Moisissures</u> <i>Aspergillus sp.</i>

Les anaérobies ne sont jamais en cause¹⁵¹.

Les *Staphylocoques* à coagulase (-) (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hémoliticus*, *S. hominis*, ces trois derniers étant plus rarement pathogènes) sont susceptibles d'entraîner un syndrome septicémique franc, avec manifestations locales et systémiques sévères (endocardite^{vv},

^{uu}/ hématogène : qui se fait par voie sanguine.

^{vv}/ endocardite : inflammation de l'endocarde. Elle est très localisée au niveau des valvules ou étendue aux parois.

médiastinite^{ww}, méningite, ostéo-arthrite^{xx}...). Ces germes sont responsables de la majorité des contaminations directes de la ligne veineuse à partir de la flore cutanée ou du raccord de perfusion. Les germes antibiorésistants, les mycobactéries et les fongiques ne fournissent aucune orientation car ils peuvent avoir pour origine toutes les sources d'infection potentielles, et sont d'autant plus fréquents que les malades sont immunodéprimés ou ont été soumis à une antibiothérapie prolongée.

Interaction biomatériaux – microorganismes - vaisseaux

Quelque soit les mécanismes par lesquels les bactéries s'implantent sur le matériel que constitue le cathéter, elles viennent coloniser le manchon fibrineux qui tapisse rapidement sa position intravasculaire, sur la lumière interne comme sur sa surface externe, et dont la présence est bien visible au microscope.

Adhérence initiale

Le processus d'adhérence initiale fait appel à des phénomènes électrostatiques non spécifiques (potentiel $[\zeta]$, liaisons de London^{yy}, loi d'action de masse, liaisons hydrogènes et hydrophobes...) créés par les forces hydrophiles et hydrophobes entre de l'eau, protéines des cellules corporelles et des parois microbiennes. Ces adhérences sont variables selon les bactéries et les supports d'adhésions.

Certaines adhésines et récepteurs spécifiques de la paroi bactérienne, tels que fibronectine, laminine, fibrine, collagène, immunoglobuline et divers intégrines, recouvrent l'extrémité du cathéter et réagissent avec le biofilm produit par de nombreuses souches bactériennes, individualisé sous le nom de *slime* ou de glycocalyx pour le cas des *Staphylocoques à coagulase (-)*. Ainsi est créé un microenvironnement susceptible d'altérer les défenses immunitaires de l'hôte à proximité du matériel étranger, avec diminution de l'activité antagonisme au plasma, rapidement associée à une perte des propriétés chimiotactiques des polynucléaires puis à un retard dans la clairance des bactéries par les cellules phagocytaires¹⁵². On a donc une diminution de l'activité bactéricide des macrophages et des polynucléaires, permettant la présence de l'inoculum bactérien en croissance rapide et une augmentation des risques d'infection.

Les bactéries adhèrent préférentiellement au niveau des altérations de la surface interne ou externe des cathéters, comme l'ont montré les travaux en microscopie électronique à balayage de fait par Peters et coll¹⁵³. C'est pourquoi il est important que les matériaux constituant les cathéters soient parfaitement lisses ce qui est actuellement l'objet de recherche.

Fleer et le groupe de Waldvogel ont montré que l'adhérence bactérienne est accrue par certains composants plasmatiques qui se comportent comme des adhésines dont le plus important semble être le fibrogène et la fibronectine, et le rôle des intégrines commence seulement à être bien perçu¹⁵⁴. Inversement, l'adhérence est diminuée par la pré-incubation du cathéter et surtout des bactéries en présence d'albumine et de concentrations subinhibitrices de certains antibiotiques¹⁵⁵.

Le *slime* diminuerait les principales fonctions des polynucléaires neutrophiles (chimiotactisme, phagocytose dépendante de l'opsonisation et bactéricide), ainsi que la blastogénèse des monocytes et des lymphocytes B et T et l'activité bactériostatique des antibiotiques antistaphylococciques.

Le *slime*, bactéries et glycoprotéines de l'hôte constituent le biofilm. Ce dernier laisse passer certaines substances qui permettent la survie bactérienne dans l'organisme de l'hôte.

La formation de biofilm est un mécanisme universel. Sa présence semble être déterminante dans la persistance des infections ostéo-articulaires et de leurs extensions, en présence ou en absence de

ww/ médiastinite : inflammation de la partie du médiastin région située au milieu de la cage thoracique entre les deux poumons

(le médiastin abrite le cœur, les poumons, les gros vaisseaux, l'œsophage, le canal thoracique...).

xx/ ostéo-arthrite : arthrite compliquée de lésions osseuses des extrémités articulaires.

yy/ liaisons de London : liaison vibrante qui crée alternativement une positivité et une négativité de l'atome ou le la molécule en jeu ; **potentiel $[\zeta]$** : charges électriques dues aux nuages électroniques moléculaires du milieu.



matériel étranger (le retrait du cathéter n'empêche pas sa formation).

Conseils pratiques pour la mise en place d'un cathéter

Caractéristiques	Mesures recommandées
Indications	Voie veineuse indispensable Système clos
Mise en place du cathéter	Asepsie la plus proche possible du chirurgical Territoire cave supérieur (Système cave inf. réservé à l'urgence, limité à 4 jours) <ul style="list-style-type: none"> ➤ Sous-clavière > jugulaire interne ➤ Opération expérimenté ➤ Crème dépilatoire > rasage Désinfection cutanée : <ul style="list-style-type: none"> ➤ > 30 sec. et répétée ➤ Chorhexidine ≥ Polyvidone iodée (ou Liqueur de Dakin) ➤ Tunnellisation simple > 10 °C
Entretien de la ligne veineuse	Réduction des manipulations, maintien d'un système clos Pansement occlusif stérile <ul style="list-style-type: none"> ➤ Date du pansement ➤ Gaze ≥ Pansements transparents ➤ Première réfection à 48 h (dans notre cas ce temps est beaucoup plus court et il est fonction des difficultés de brancardage et de manipulation du blessé) ➤ Intervalles de réfection > 48 h (peut être très inférieur selon les conditions du milieu) Changement des tubulures : <ul style="list-style-type: none"> • Toute les 48 h dans les meilleurs des cas (perfusion simple) ; (dans notre cas un changement dès la fin du spéléo-secours en milieu hospitalier)
Hygiène générale	Asepsie rigoureuse Lavage des mains et désinfection +++ Gants, masques, casaques lors des manipulations.
Politique générale	Information permanente des personnes (dans notre cas information des équipes ASV et brancardage). <ul style="list-style-type: none"> ➤ Protocoles écrits simples ➤ Surveillance clinique quotidienne (dans notre cas à tous les points chauds par l'équipe médicale) Changement du cathéter <ul style="list-style-type: none"> ➤ Systématique toutes les 72 h à 96 h ➤ Impératif en cas de phlébite ou d'infection.

Ces normes proviennent du livre *Infections nosocomiales* de Jean-Loup AVRIL et Jean CARLET¹⁵⁶. Elles sont données pour le milieu hospitalier. Dans le cas d'un spéléo-secours, elles doivent être adaptées aux conditions du milieu. Mais dans tous les cas nous devons nous approcher de cette référence, afin d'éviter des risques de séquelles post-hospitalières.

Observation : Dans les opérations de spéléo-secours, il serait judicieux de mettre en poches sous



vider les produits et le petit matériel médical avant de le départ de l'ASV et de l'équipe médicale, afin que ce matériel ne soit pas contaminé par l'eau, les poussières, la boue... dans la progression souterraine jusqu'au point de la victime. Cette précaution permettrait d'avoir du matériel dans l'état de propreté exigé dans de telles opérations.



CONCLUSION

À la lecture de ces deux tomes décrivant le plus exhaustivement possible l'incroyable vie invisible au sein des canyons et du monde souterrain, on pourrait avoir froid dans le dos à l'idée de replonger dans les vasques bleutées ou de s'engouffrer dans les ténèbres ; plus de cent espèces de virus, bactéries et parasites et autant de pathologies associées...

Si l'on conçoit volontiers que canyonisme et spéléologie nous amènent à côtoyer quelques êtres indésirables au cours des marches d'approche à travers prairies, bois, landes et maquis, on est surpris de découvrir l'intensité de la vie microbienne dans le monde souterrain où on ne s'attend qu'à croiser quelques insectes à l'entrée des cavités ou à partager le noir avec notre animal fétiche, la chauve souris.

La concentration de la flore microbienne de la zone épigée décroît très rapidement lorsque l'on s'enfonce dans la partie endogée. Les conditions thermiques, la luminosité, l'aération de l'environnement souterrain ne sont pas favorables au développement microbien. Malgré cela le monde souterrain n'est pas stérile, nous pouvons constater qu'il existe un microbiote bien acclimaté aux conditions spécifiques de ce milieu. La bio-flore microbienne a su s'adapter aux conditions que le karst lui a imposé.

Cette stérilité du monde souterrain est donc une idée reçue, on pourrait au contraire le qualifier d'enfer au vu des pathologies potentielles décrites au long des chapitres. Le mythe de l'enfer retrouve une certaine véracité quand on découvre les délabrements cutanés provoqués par les *Nocardia* (*Pied de Madura*, abcès du cerveau...), la puissante toxine des germes telluriques — les *Clostridium* —, et le grouillement d'insectes du guano de chauve-souris tous porteurs potentiels d'*Enterobacter*, de *Pseudomonas*, de *Serratia*... Les vieux mythes ont souvent un fondement historique ou scientifique.

De plus, une majorité de la flore autotrophe n'a pas été répertoriée — dans la littérature une valeur de 80 % de germes non-identifiés est relatée. Nous ignorons les conditions optimales de développement de cette flore, qui utilise presque exclusivement des minéraux pour son système nutritionnel. Cette flore doit être d'une importance majeure car le milieu est riche en minéraux et relativement faible en milieu organique.

Sur le plan pathologique, rien ne nous permet de dire que le karst présente un risque différent de l'épi-karst. Le risque de contamination en spéléologie peut être schématiquement évalué suivant quatre zones :

- Une première zone représentée par l'approche de l'entrée de la cavité ou du départ du canyon. C'est la zone des parasites (tiques, punaises, moustiques...) qui transmettent maladie de Lyme, typhus, maladie de Chagas...
- Une deuxième zone qui est l'entrée de la cavité ; zone des contaminations exogènes (rongeurs, oiseaux, contaminants par leur contact, leurs déjections ou leurs carcasses et des apports anthropiques) ; contaminations également endogènes (les chauves souris, espèce porteuse de multiples virus et parasites).
- Puis la troisième zone, quand on s'enfonce plus profondément ou plus loin dans la cavité ; c'est un milieu à risque par des pollutions anthropiques d'origine exogène (infiltration d'eaux usées avec risque d'*Enterobacters* et de virus des hépatites, apports de contaminants par les crues qui entraînent des pollutions diverses). Les chauves souris y représentent là-aussi un risque majeur, par leur guano, très riche en insectes porteurs microbiens et milieu favorable au développement fongique, l'histoplasme est en première ligne mais aussi d'autres formes d'allergies. Hors de cette présence animale, c'est le règne des germes telluriques, les *Clostridium* et les *Actinomycetes*, cités plus haut.



- Pour le canyon, le risque doit surtout être évalué en fonction des caractéristiques de l'eau. Des zones de faible profondeur, à faible renouvellement hydrique, feront craindre la présence de leptospires, voire un risque de bilharziose, mais aussi d'hépatites. La présence de cyanobactéries représente un risque toxicologique majeur.
- Bien entendu, ces risques doivent être réévalués à l'aune de la zone géographique, les régions tropicales ayant leurs pathologies spécifiques.

Mais fort heureusement notre pratique de spéléologue ou de canyoniste nous permet de relativiser ces inquiétudes. Si la rencontre fortuite de ces virus, bactéries ou parasites relève du domaine du possible, il semble que dans la réalité ces rencontres se déroulent sans dégâts. Cela a été bien décrit à de multiples reprises dans les deux ouvrages, l'être humain possède des barrières efficaces contre l'intrusion de ces êtres voraces : l'enveloppe corporelle, les défenses immunitaires, sans oublier nos combinaisons et gants...

Ces protections sont efficaces, mais que surviennent des effractions cutanées (plaies, griffures, morsures, brûlures...), ou une baisse des défenses immunitaires (d'origine virale ou médicamenteuse, voire déshydratation, hypoglycémie, fatigue intense...) et la pathologie peut s'exprimer.

La plupart du temps, de simples règles de bonnes pratiques suffisent à minimiser les risques :

- Connaissance du risque (Cavité à histoplasmoses, à charognes, insectes, eaux usées d'infiltration...)
- Protections adaptées (Combinaisons, gants, masques...)
- Règles d'hygiène (Lavage des mains avant toute prise d'aliments ou de boissons, éviter de porter les mains aux yeux et à la bouche, une bonne douche au retour...)
- Relever tout signe anormal au décours d'une sortie spéléo ou de canyon (Fatigue anormale ou persistante, fièvre, même peu élevée, rougeur de la peau, démangeaisons, troubles digestifs...)
- Consulter et informer le médecin de notre pratique sportive et des conditions du milieu
- Des vaccins sont fortement recommandés (Tétanos, hépatites A et B, leptospiroses, et autres suivant les régions du globe...)

Les virus, bactéries puis les parasites occupent la Terre depuis deux milliards d'années (germe *Gunflintia*), voire plus de trois milliards (stromatolithes du début du précambrien) et l'Homme depuis sept millions d'années (*Toumaï* le premier hominidé). Cette longue cohabitation nous a permis de développer des défenses immunitaires spécifiques mais si nos ancêtres du paléolithique se sont enfoncés sous terre il y a plus de 100 000 ans (Grotte de Bruniquel), ils ne se sont pas aventurés bien profond. La fréquentation régulière du monde souterrain par les spéléologues ne remonte qu'au 19^e s., pour atteindre des sites de plus en plus profonds et éloignés de la surface, où comme l'on dit trivialement « *La main de l'Homme n'a jamais mis les pieds* » ou plus sérieusement des lieux restés en dehors de toute présence humaine.

Rappelons-nous ce qui a quasiment éradiqué les indiens du Nouveau Monde ; ce ne sont pas uniquement les armes des conquistadors mais les nouveaux virus qu'ils avaient apportés avec eux, notamment celui de la rougeole, maladie infantile si bénigne. Le monde souterrain peut-il nous réserver des surprises similaires ?

Des spéléologues qui s'aventureraient dans des zones vierges restées coupées du monde se verraient-ils un jour décimés par une bactérie tueuse (film d'horreur, encore plus fort que *The Descent* !). Ce scénario n'est pas si farfelu, prenons par exemple les *Archaea*, dont la vie est bien expliquée dans le premier tome.

Ces *Archaea* vivent pour la plupart dans le biotope marin, mais une flore identique en espèces et en genre se retrouve dans les fosses marines océaniques, dans les cheminées marines riches en soufre et dans des grottes typiquement karstiques, dans des cavités qui sont sorties du milieu marin depuis des millions d'années. Ils ont donc pu s'adapter aux conditions particulières de la vie karstique



et passer des millions d'années dans des conditions complètement nouvelles sans perdre leur identité génétique.

La grotte de Lechuguilla a été complètement isolée du monde extérieur pendant plus de 4 millions d'années, ce qui en fait l'un des écosystèmes les plus vierges de la planète. Aucune forme de vie nouvelle n'a atteint la grotte jusqu'à sa découverte en 1984. Et pourtant, elle est remplie de bactéries qui sont résistantes aux antibiotiques modernes.

On y a relevé en effet la présence importante d'*Archaea*, classe de bactéries vers laquelle les chercheurs se sont orientés, étant donné que ceux-ci n'avaient encore jamais été en contact avec les antibiotiques. Contrairement à toute attente, cette étude a fait ressortir qu'une voie de biosynthèse créant des facteurs de résistances aux antibiotiques s'est développée au fil des millions d'années, ce qui suggère que la résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel qui existe sans l'intervention anthropique. En effet, on a démontré récemment que des éléments de résistance aux antibiotiques étaient abondants et diversifiés dans l'ADN datant du Pléistocène (il y a 30 000 ans).

Cette résistance à nos antibiotiques actuels peut avoir pour explication, que le sol est riche en ***Actinobacteria*** (*actinomycetes* et *steptomycetes*), bactéries les plus utilisées pour la production de nos antibiotiques actuels.

Cependant, la résistance à la plupart des antibiotiques se produit sous l'égide d'éléments (enzymes, protéines, systèmes de transport souvent très spécifiques) qui sont le résultat d'évolution par sélection naturelle. Cela implique que la résistance aux antibiotiques a un long passé évolutif. Certains chercheurs suggèrent que des organismes non-pathogènes sont un réservoir de gènes de résistance dont le potentiel peut être transféré aux agents pathogènes. Ce transfert de bactéries mères à bactéries filles peut se réaliser par des plasmides *via* le pili.

Dans la grotte de Lechuguilla, il a été constaté une multi-résistance aux antibiotiques identiques à celle des germes de surface. Cependant il y a des différences dans les profils de résistance, il y a peu de résistance aux antibiotiques synthétiques, tandis que la résistance aux antibiotiques de production naturelle est plus forte.

Outre cette résistance naturelle aux antibiotiques, une autre particularité de ces *Archaea* peut être inquiétante. Ils possèdent en effet la capacité de se développer dans des milieux hyperacides à pH 1 ou 2 et de s'attaquer à des composés celluloseux ou polyglucidiques.

Ceci amène à poser la question d'un éventuel devenir des *Archaea* en cas d'ingestion par un vertébré, le pH gastrique relativement bas entre 2 et 4 ne les gênerait nullement, et la muqueuse gastrique pourrait être à leur goût et *quid* d'un passage systémique ?

Toutes ces interrogations rendent ce règne intéressant à connaître et à étudier.

Merci à Albert Demichelis, microbiologiste et spéléologue de nous avoir permis de découvrir ce monde invisible, celui de l'infiniment petit, celui des micro-organismes : les virus, les bactéries, les parasites et les moisissures.

Tout au long de ces deux numéros thématiques de *CoMed-Infos*, vous avez découvert tous les secrets des bestioles que nous croisons sous terre ou dans l'eau sans les voir. Et c'est vraiment très impressionnant !

Comme le signalait le D^r Jean-Pierre Buch en introduction, certains rêvent de salamandres et autres crapauds qui sont peut-être des magiciennes ou des princes charmants... la réalité nous montre un autre visage. Soyons vigilants, ce ne sont pas toujours des amis qui nous veulent du bien, des pathologies, rares mais potentiellement graves, peuvent être occasionnées par ces microorganismes présents dans le milieu souterrain. Apprenons à vivre ensemble. Au plus profond de l'obscurité, la vie existe bel et bien ! Et d'une richesse que peu de gens soupçonnent ! Et le merveilleux est là.

D^r Jean-Noël Dubois

BIBLIOGRAPHIE

- 1- P.M KIRK, Guy Richard BISBY, and G.C AINSWORTH, C.A.B. International, (*Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*, Wallingford, Oxon, UK, CAB International, 2008
- 2- L. SCHÄRER, D. KNOFLACH, D. B VIZOSO, G.RIEGER, and U.PEINTNER, "Thraustochytridiens comme roman protistes parasites de marines flatworms libres : *Thraustochytrium caudivorum* sp.. Parasite *Macrostomum lignano*". *Biologie marine* 152 (5): 1095.2007
- 3- David S. HIBBETT, and al., "A higher-level phylogenetic classification of the Fungi", *Mycological Research*, no 111, 2 mars 2007, pp. 509-547
- 4- Gerald L. BENNY, "Current systematics of Zygomycota with a brief review of their biology", in J.K. MISHRA, J.P. TEWARI, and S.K. DESHMUKH (éditeurs), *Systematics and evolution of Fungi*, Science Publishers, 2012, pp. 55-106
- 5- Nicole WÜPPENHORST, Mi-Kyung LEE, Elfriede RAPPOLD, Gian KAYSER, Jan BECKERVORDERSANDFORTH, Katja DE WITH, and Annerose SERR, "Rhino-Orbitocerebral Zygomycosis Caused by *Conidiobolus incongruus* in an Immunocompromised Patient in Germany", *J. Clin. Microbiol.* november 2010, vol. 48 n° 11, pp. 4322-4325
- 6- H.T. LUMBSCH, and S.M. HUHDORF, "Outline of Ascomycota", *MycoNet*, vol. 13., pp. 1-58, 2007
- 7- K.J. CORTEZ, E. ROILIDES, F. QUIROZ-TELLES, and al., "Infections caused by *Scedosporium spp*". *Clinical Microbiology Reviews* 21(1): 157-97, 2008
- 8- Daniel ELAD, "Infections caused by fungi of the *Scedosporium/Pseudallescheria* complex in veterinary species", *The Veterinary Journal* 187 (1): pp. 33-41, 2011
- 9- Juan-Luis RODRIGUEZ-TUDELA, Juan BERENQUER, Josep GUARRO, A. SERDA KANTARCIOGLU, Regine HORRE, G. SYBREN DE HOOG, and Manuel CUENCA-ESTRELLA, "Epidemiology and outcome of *Scedosporium prolificans* infection, a review of 162 cases", *Medical Mycology* 47 (4): pp. 359-370, 2009
- 10- E. GUÉHO, G. SYBREN DE HOOG, "Taxonomy of the medical species of *Pseudallescheria* and *Scedosporium*", *Journal de Mycologie Médicale* 1: pp. 3-9, 1991
- 11- Monika MATLANI, Ravinder KAUR, and SHWETA, "A case of *Scedosporium prolificans* osteomyelitis in an immunocompetent child, misdiagnosed as tubercular osteomyelitis", *Indian journal of dermatology* 58 (1): pp. 80-81, 2013
- 12- N.P. Wiederhold, and R.E. Lewis, "Antifungal activity against *Scedosporium* species and novel assays to assess antifungal pharmacodynamics against filamentous fungi", *Medical mycology* 47 (4): 422-32, june 2009
- 13- Rodrigo Tinoco FIGUEIREDO, Vera Carolina BITTENCOURT, Livia Cristina LOPES, Guilherme SASSAKI, and Eliana BARRETO-BERGTER, "Toll-like receptors (TLR2 and TLR4) recognize polysaccharides of *Pseudallescheria boydii* cell wall", *Carbohydrate Research* 356: pp. 260-264, 2012
- 14- K.J. CORTEZ, E. ROILIDES, F QUIROZ-TELLES, J. MELETIADIS, C ANTACHOPOULOS, T. KNUDSEN, W BUCHANAN, J. MILANOVICH, D.A. SUTTON, A. FOTHERGILL, M.G. RINALDI, Y. R. SHEA, T. ZAOUTIS, S. KOTTILIL, and T. J. WALSH, "Infections Caused by *Scedosporium spp*", *Clinical Microbiology Reviews*, 21 (1): pp. 157-197, 2008
- 15- G. MANDELL, R. DOLIN, G.L. MANDELL, and J. BENNETT, *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases* (5th ed.), Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000
- 16- P. KERSHAW, R. FREEMAN, D. TEMPLETON, P.C. DEGIROLAMI, U. DEGIROLAMI, D. TARSY, S. HOFFMANN, G. ELIOPOULOS, and A.W. KARCHMER, "Pseudallescheria boydii Infection of the Central Nervous System", *Archives of Neurology* 47 (4): pp. 468-472, 1990
- 17- Sarah S. LONG Larry K. PICKERING, and Charles G. PROBER, *Principles and practice of pediatric infectious disease* (4th ed.), Edinburgh: Elsevier/Saunders, 2012
- 18- G. MANDELL, R. DOLIN, G.L. MANDELL, and J. BENNETT, *Op. cit.*



- 19- E.L. HINTIKKA, "The genus *Stachybotrys*", pp.91-98 in: *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses: An Encyclopedic Handbook*. Vol I *Mycotoxic Fungi and Chemistry of Mycotoxins*. Marcel Dekker, New York, 1977
- 20- M.G. LEE, S. LI, B.B. JARVIS, and J.J. PESTKA, 1999, "Effects of satratoxins and other macrocyclic trichothecenes on IL-2 production and viability of EL-4 thymoma cells" *J. Toxicol. Environ. Health*, 57: pp. 459-474
- 21- C.D. MASON, T.G. RAND, M. OULTON, J.M. MACDONALD, and J.E. SCOTT, "Effects of *Stachybotrys chartarum* (atra) conidia and isolated toxin on lung surfactant production and homeostasis", *Nat. Toxins* 6: pp. 27-33, 1998
- 22- B.B. JARVIS, "Macrocyclic trichothecenes", pp. 361-421 in: *Mycotoxins and Phytoalexins in Human and Animal Health*, R. P. Sharma, and D. K. Salunkhe, eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1991
- 23- C.Y. RAO, J.D. BRAIN, and H.A. BURGE, "Reduction of pulmonary toxicity of *Stachybotrys chartarum* spores by methanol extraction of mycotoxins" *Appl. Environ. Microbiol.* 66: pp. 2817-2821, 2000
- 24- Myriocin, *Lipid Maps*, october 27, 2010
- 25- Tetsuro FUJITA, Kenichiro INOUE, Satoshi YAMAMOTO, Takeshi IKUMOTO, Shigeo SASAKI, Ryousuke TOYAMA, Kenji CHIBA, Yukio HOSHINON and Takeki OKUMOTO, "Fungal metabolites. Part 11. A potent immunosuppressive activity found in *Isaria sinclairii*", 1994
- 26- T.H. LUMBSCH, and S.M. HUHDORF, "Outline of Ascomycota", *Myconet* (Chicago, USA: The Field Museum, Department of Botany) 13: pp. 1-58, 2007
- 27- P.M. KIRK, P.F. CANNON, D.W. MINTER, and J.A. STALPERS, *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). Wallingford: CABI. p. 627, 2008
- 28- David BLEHERT, and al., "Bat White Nose Syndrome: An Emerging Fungal Pathogen", *Brevia. Science Mag*, 2009
- 29- David S. HIBBETT, and al., "A higher-level phylogenetic classification of the Fungi", *Mycological Research*, n° 111, 2007, pp. 509-547
- 30- H.T. LUMBSCH, and S.M., HUHDORF, "Outline of Ascomycota - 2007", *Myconet*, 13, pp. 1-58
- 31- Olivier LORTHOLARY, *Cours sur Histoplasmoses*, Service des maladies infectieuses et tropicales, hôpital Necker
- 32- Yvonne GRÄSER, "Microsatellite markers reveal geographic population differentiation in *Trichophyton rubrum*", *Journal of medical microbiology*, vol. 56, n° Pt 8, 2007-08, pp. 1058-1065.
- 33- Françoise DROMER et OLIVIER LORTHOLARY, « Physiopathologie de la méningoencéphalite à Cryptococcique », *EMC - Maladies Infectieuses* Volume 1, Issue 1, 2004, p. 21-37
- 34- John POSTGATE, "The Outer Reaches of Life", pp. 132-134, Cambridge University Press, 1994
- 35- Fernanda WIRTH, and Luciano Z. GOLDANI "Epidemiology of *Rhodotorula*: An Emerging Pathogen", *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2014
- 36- D.J. DIDIER, B. PETROELJE, and S.A. MESSER, "Other activities of antifungal agents available and experimental against *Rhodotorula* species", *J. Clin. Microbiol.*, 2005; 43: pp. 476-478
- 37- Aimee K. ZAAS, "Risk of Fungemia Due to *Rhodotorula* and Antifungal Susceptibility Testing of *Rhodotorula* Isolates", *J. Clin. Microbiol.*, 2014
- 38- Françoise DROMER et OLIVIER LORTHOLARY, *Op. cit.*
- 39- Jean-Pierre REGNAULT, *Immunologie Générale*, Éd. Décarie Vigot - Montréal, Québec, 1992
- 40- Bulletin sur les risques allergiques sur l'ensemble de la France, *Registre National de Surveillance Aérobiologie (RNSA)*
- 41- <http://perso.numericable.fr/keratos/francais/allergies-oculaires.htm>
Keratos est enregistrée auprès de Orphanet (association travaillant sur les pathologies orphelines)
- 42- 1996-2014 _MediResource_ Canadiennes
- 43- SWEETMAN S., *Martindale : "The Complete Drug Reference"*, 2004
- 44- WHO, *Model List of Essential Medicines*, Archive avril 2013



- 45- F. BURKI, K. SHALCHIAN-TABRIZI, M. MINGE, A. SKAEVELAND, S.I. NIKOLAEV, K.S. JAKOBSEN, and J. PAWLOWSKI, "Phylogenomics reshuffles the eukaryotic supergroups" *PLoS ONE*. 8: pp. 790-795, 2007
- 46- T. CAVALIER-SMITH, "The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa", *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 52: pp. 297-354, 2002
- 47- *Op. cit.* (réf. 46)
- 48- T. CAVALIER-SMITH, "A revised six-kingdom system of life", *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, vol. 73, pp. 203-266, 1998
- 49- Éric GILLI, Christian MANGAN et Jacques MUDRY, *Hydrogéologie*, éd Dunod éd. 3^{ème}, 2012
- 50- Jean-Noël SALOMON, *Précis de Karstologie*, éd. PUB, 2000
- 51- Martine VALO, « Après les algues vertes, les algues bleues : un problème d'environnement majeur », *Journal Le Monde*, du 29 août 2012
- 52- C. SVRCEK, and D.W. SMITH, "Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review", *J. Environ. Eng. Sci.* 3 : pp. 155-184, 2004
- 53- NCF (2009), *Facts about cyanobacteria and cyanobacterial harmful algal blooms* by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (From www.cdc.gov/hab/cyanobacteria/facts.htm)
- 54- <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/cyano/cyanobacteries.html>
- 55- J.B. WATERBURY, S.W. WATSON, F.W. VALOIS, and D.G. FRANKS, "Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*", *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Science*; vol. 214, 1986
- 56- Page du Génoscope/CNRS consacrée à ce genre
- 57- J.B. WATERBURY, S.W. WATSON, R.R.L. GUILLARD, and L.E. BRAND, "Wide-spread occurrence of a unicellular, marine planktonic, cyanobacterium". *Nature*, 277:293-4, 1979
- 58- R.Y. STANIER, and G. COHEN-BAZIRE, "Phototrophic procaryotes : cyanobactéries", *Annal Review of Microbiology*, vol. 31, pp. 255-274, 1977
- 59- F. PARTENSKY, J. BLANCHOT et D. VAULOT, « Distribution différentielle et l'écologie de *Prochlorococcus* et *Synechococcus* dans les eaux océaniques », Ed. Charpy L, *Bulletin de l'Institut océanographique de Monaco*, NS vol. 19, publié par le Musée océanographique de Monaco, pp. 457-475, 1999
- 60- R.M. GARRUTO, D.C. GAJDUSEK, and K.M. CHEN, "Amyotrophic lateral sclerosis among chamorro migrants from Guam", *Ann. Neurol.*, 1980;8: 612-9. PMID 7212649, DOI:10.1002/ana.410080612
- 61- K.J. VYAS, and J.H. WEISS, "BMAA - an unusual cyanobacterial neurotoxin", *Amyotroph. Lateral Scler.*, 2009; 10 Suppl 2:50-5. PMID 19929732
- 62- D. LOBNER, P.M. PIANA, A.K. SALOUS, and R.W. PEOPLES, "Beta-N-methylamino-L-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms", *Neurobiol. Dis.*, 2007 Feb; 25(2):360-6. Epub 2006 Nov 13
- 63- M.L. CUCCHIARONI, M.T. VISCOMI, G. BERNARDI, M. MOLINARI, E. GUATTEO, and N.B. Mercuri, "Metabotropic glutamate receptor 1 mediates the electrophysiological and toxic actions of the cycad derivative beta-N-Methylamino-L-alanine on *substantia nigra pars compacta* DAergic neurons", *J. Neurosci.*, 2010 Apr 14; 30(15):5176-88. PMID 20392940
- 64- X. LIU, T. RUSH, J. ZAPATA, and D. LOBNER. "Beta-N-methylamino-l-alanine induces oxidative stress and glutamate release through action on system Xc(-)", *Exp. Neurol.* 2009 Jun;217(2):429-33. Epub 2009 Apr 15
- 65- *Ibidem*
- 66- *Ibidem*
- 67- S.A. BANACK, T.A. CALLER, and E.W. STOMMEL, "The cyanobacteria derived toxin Beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis", *Toxins (Basel)*. 2010 Dec;2(12):2837-50. Epub 2010 Dec 20
- 68- W.G. BRADLEY, and D.C. MASH, "Beyond Guam: the cyanobacteria/BMAA hypothesis of the cause of ALS and other neurodegenerative diseases", *Amyotroph. Lateral Scler.*, 2009; 10 Suppl 2:7-20
- 69- E.L. HINTIKKA, *Op. cit.*



- 70- V.T. KARAMYAN, and R.C. SPETH, "Animal models of BMAA neurotoxicity: a critical review" *Life Sci.*, 2008 Jan 30;82(5-6):233-46. Epub 2007 Dec 7
- 71- P. RAMADASS and al.; "Génétic characterization of pathogenic leptospira species by DNA hybridation", *Int. J. Syst. Bacteriol*, 42, 1992, pp. 215-219
- 72- F. ROSS, P. HERNÁNDEZ, W. PORCAL, and al., "Identification of thioredoxin glutathione reductase inhibitors that kill cestode and trematode parasites" *PLoS One* 7 (4), e35033, 2012
- 73- « Aspects cliniques », Université de Tsukuba. L'école de médecine. Récupérée le 14 juin 2014
- 74- "Partnership for parasite control", second meeting Rome, april 2002
- 75- K.J. RYAN, C.G. RAY (editors), *Sherris Medical Microbiology*, New York, McGraw Hill, 2004, 4^e éd., 541-4 p.
- 76- "Hepatitis A vaccination", *Am. Fam. Physician*, vol. 57, n^o 7, 1998, p. 1500
- 77- S.C. BRUNDAGE, AN Fitzpatrick, "Hepatitis A", *Am. Fam. Physician*, vol. 73, n^o 12, 2006, p. 2162-8
- 78- D. LEES, "Viruses and bivalve shellfish", *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 59, n^o 1-2, 2000, pp. 81-116
- 79- J.A. CUTHBERT, "Hepatitis A: old and new", *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, n^o 1, 2001, p. 38-58
- 80- B.A. CONNOR, "Hepatitis A vaccine in the last-minute traveler", *Am. J. Med.*, vol. 118 suppl 10A, 2005, p. 58S-62S
- 81- M.G. LEE, S. LI, B.B. JARVIS, and J.J. PESTKA, *Op. cit.*
- 82- J.T. STAPLETON, "Host immune response to hepatitis A virus", *J. Infect. Dis.*, vol. 171, n^o suppl 1, 1995, S9-14
- 83- K.A. MUSANA, S.H. YALE, and A.S. ABDULKARIM, "Tests of liver injury", *Clin. Med. Res.*, vol. 2, n^o 2, 2004, p. 129-31
- 84- virologyhistory.wustl.edu
- 85- techtransfer.harvard.edu
- 86- J.I. COHEN, "Enteroviruses and Reoviruses", in Dennis L. KASPER, Eugene BRAUNWALD, Stephen HAUSER, Dan LONGO, J. Larry JAMESON, and Anthony S. FAUCI, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, McGraw-Hill Professional, 23 july 2004
- 87- post-polio.asso.fr
- 88- A. SILVERSTEIN, V. SILVERSTEIN, and L. S. NUNN, *Polio*, Berkeley Heights, NJ, Enslow Publishers, 2001, p. 12
- 89- H. W. Frauenthal, and J. V. V. Manning, *Manual of infantile paralysis, with modern methods of treatment.*, Philadelphia Davis, 1914, p. 79-101
- 90- *Ibidem*
- 91- Gregory S. WALLACE, and M. Steven OBERSTE, "Poliomyelitis", in Sandra W. ROUSH, Lynne MCINTYRE, and Linda M. BALDY, *Vaccine Preventable Disease Surveillance Manual*, Centers for Disease Control and Prevention and Department of Health and Human Services, 2012, 5^e éd, chap. 12, p. 12-1.
- 92- *Professional Guide to Diseases*, M. D HAGERSTOWN, Lippincott WILLIAMS, and WILKINS, coll., "Professional Guide Series", 2005, p. 243-5.
- 93- M. YIN-MURPHY, and J. W. ALMOND, "Picornaviruses: The Enteroviruses: Polioviruses", in Samuel Baron, *Baron's Medical Microbiology*, University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996, 4^e éd
- 94- Charlotte LEOEUF, *The Late Effects of Polio: Information For Health Care Providers.*, Commonwealth Department of Community Services and Health, 1992
- 95- Paul W. BRAZIS, and Neil R. MILLER, "Viruses (except Retrovirus) and Viral Diseases", in Neil R. MILLER, Nancy J. NEWMAN, Valérie BIOUSSE, and John B. KERRISON, *Walsh and Hoyt's clinical neuro-ophthalmology*, M. D HAGERSTOWN, Lippincott Williams, and Wilkins, 2005, 6^e éd.
- 96- Donald A. NEUMANN, "Polio: Its Impact on the People of the United States and the Emerging Profession of Physical Therapy", *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, vol. 34, n^o 8, 2004, p. 479-92
- 97- S. J. CUCCURULLO, *Physical Medicine and Rehabilitation Board Review*, New York, Demos Medical Publishing, 2004.



- 98- S. MUELLER, E. WIMMER and J. CELLO, "Poliovirus and poliomyelitis: a tale of guts, brains, and an accidental event", *Virus Res*, vol. 111, no 2, août 2005, p. 175–93
- 99- Gers WACKERS, *Constructivist Medicine*, Maastricht, Universitaire Pers Maastricht, 1994.
- 100- Laurent THEFENNE, *Le Syndrome post--poliomyélite : mythe ou réalité ?*, Université Paris Descartes, 22 avril 2008, p. 25
- 101- O. G. GAUDIN et R. SOHIER, Poliomyélite dans *Encycl Med Chir. Maladies Infectieuses* (Éditions scientifiques et médicales, Elsevier SAS, Paris), 08-058-A-10, 1988, 7 p.
- 102- William ATKINSON, Charles (Skip) WOLFE, and Jennifer HAMBORSKY, "Poliomyelitis", *Pink Book*, Center for Diseases Control et National Center for Immunization and Respiratory Diseases (CDC/NCIRD), 8 mai 2012), p. 249
- 103- Albert B. SABIN, "Paralytic poliomyelitis: old dogmas and new perspectives", *Reviews of Infectious Diseases*, vol. 3, n° 3, mai-juin 1981, p. 543
- 104- *West Nile Virus Poliomyelitis*, Centers for Disease Control and Prévention, consulté en Juin 2014.
- 105- James J. SEJVAR, "West Nile virus and "poliomyelitis", *Neurology*, vol. 63, n° 2, 27 juillet 2004, p. 206-207
- 106- Michel LUQUET, Thèse de Doctorat de Médecine (diplôme d'État), *Les germes de l'air des cavernes*, Faculté de médecine et pharmacie de Rouen, 1969
- 107- W.C. Jr WINN, S.D. ALLEN, W.M. JANDA, E.W. KONEMAN, G.W. PROCOP, P.C. SCHRECKENBERGER, and al., rédacteurs. Chapitre 7, in *De Koneman Atlas couleur et montant pour manuels de microbiologie diagnostique*, 6^{ème} ed . Lippincott Williams et Wilkins : Baltimore ; 2006. 348-9.
- 108- Jean-Loup AVRIL, « Les marqueurs épidémiologiques bactériens », *Les infections nosocomiales et leur prévention*, Ed. Ellipses, p. 100-114
- 109- Paul GRASSO, *Essentials of Pathology for Toxicologists*, CRC Press
- 110- Bruce ALBERTS, Alexander JOHNSON, Julian LEWIS, Martin RAFF, Keith ROBERTS, and Peter WALTERS, *Molecular Biology of the Cell*; Fourth Edition, New York and London, Garland Science, 2002
- 111- « *Malnutrition et infection* », Corrigé au QCM n°3 ; Santé mère-enfant, médecine interne dans les pays en développement — Site de l'institut de la francophonie pour la médecine tropicale (AUF) p. 4
- 112- *Ibidem*
- 113- Ph. CHEVALIER « *Malnutrition et infection par le VIH* », Alimentation, nutrition et agriculture, Sur le site des documents de la FAO.
- 114- D^{rs} AMPHONG et TUNG « *Malnutrition infantile sévère et conséquences* », Cas clinique, Hôpital Mahosot, service de pédiatrie (Vientiane, Laos), p. 17
- 115- R.P. WENZEL "Expanding roles of hospital epidemiology: quality assurance", *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 1989 ; 10; pp. 255-256
- 116- <http://www.nhs.uk/Conditions/dehydration/Pages/introduction.aspx>
- 117- http://www.ct.gov/dds/lib/dds/factsheets/fs_dehydration.pdf
- 118- web2.aabu.edu.jo/tool/course_file/lec_notes/1001221_dehydration.pdf
bbch.org/.../Dehydration_Oral_Rehydration_Guideline.pdf
- 119- "What Is Hypoglycemia? What Causes hypoglycemia?", in *Medical News Today*, 9 août 2009
- 120- <http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.>Chp.15.1.1.html>, sur *Faculté de médecine Pierre et Marie Curie*
- 121- Hypoglycémie, sur *Société Française d'Endocrinologie, site certifié par la Haute Autorité de Santé*
- 122- Hypoglycemia- National Diabetes information Clearinghouse, Diabetes.niddk.nih.gov
- 123- *Ibidem*
- 124- Atshushi GOTO, "Severe hypoglycaemia and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis with bias analysis", *BML*, 2013



- 125**– M. REYNAUD, D. BAILLY et J-L. VENISSE, *Médecine et addictions : Peut-on intervenir de façon précoce et efficace ?*, Elsevier Masson, 2005 ; p. 109.
- 126**– Lise LOUME, « Addiction », *La Recherche*, n°6, novembre 2013, p.58-60
- 127**– Philippe LANGELLA, directeur de recherche à l'INRA, *La Recherche* N° 41, novembre 2010
- 128**– « *Maladies, infections et infestations de la liste de l'OIE en vigueur en 2015* », OIE (Organisation mondiale de la santé animale)
- 129**– Encyclopédie Medservice, 2001, modifié en 2009
- 130**– L. HALL-STOODLEY, J.W. COSTERTON, and P. STOODLEY, "Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases", *Nat. Rev. Microbiol.* 2(2): 2004, pp. 95-108
- 131**– Marie-Laure THEODULE, « Top 10 découvertes », *La Recherche*, n° 483, janvier 2014, p.14-12
- 132**– *Ibidem*
- 133**– Jean-Michel OSTERMANN, « *Éléments de bibliographie spéléologique médicale* », 2^e édition 2003, CoMed
- 134**– Mathias GERMAIN, « Le Stress, Mécanisme d'adaptation au danger », *La Recherche*, n°497, mars 2015, 31, p. 30-41
- 135**– *Ibidem*
- 136**– A. LUTZ, and al., *Journal of Neuroscience*, 29,13, 2009
- 137**– B. HÖLZEL, and al., *Psychiaty Res.*, 191, 36, 2011
- 138**– Norbert AUMASSON, « *Le stress et la gestion du stress dans les pratiques de spéléologie et de descente de canyon* », Mémoire instructeur EFS, 1996
- 139**– Jean-Pierre BUCH, « Le Stress en spéléologie et canyonisme », *CoMed Infos* n°46, décembre 2012, p. 2-3
- 140** – *Antibioprophylaxie en chirurgie et médecine interventionnelle (patients adultes). Actualisation 2010*, Société française d'anesthésie et de réanimation, C. MARTIN (coordonnateur), C. AUBOYER, H. DUPONT, R. GAUZIT, M. KITZIS, A. LEPAPE, O. MIMOZ, P. MONTRAVERS, J.-L. POURRIAT ; https://www.google.fr/search?q=Antibioprophylaxie+en+chirurgie+interventionnelle&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=9o8sWMWRFYfca6yRh7gN
- 141**– Michael J. PATZAKIS, J.P. HARVEY, and D. IVLER, "The role of antibiotics in the management of open fractures", *J. Bone Joint Surg.*, 56A, 1974, pp. 532-541
- 142**– R.B. GUSTILO, and J.T. ANDERSON, "Prevention of infection in the treatment of one thousand and twenty-five open fractures of long bones : retrospective and prospective analyze", *J. Bone Joint Surg.*, 58A, 1976, pp. 453-458
- 143**– Michael J. PATZAKIS, and J. WILKINS, "Factors influencing infection rate in open fracture wound", *Clin. Orthop.*, 243, 1989, pp. 36-40
- 144**– J. Paul HARVEY Jr, and Daniel IVLER, *J. Bone Joint Surg Am*, 56(3), 1974 Apr, pp. 532-541
- 145**– E.P. DELLINGER, S.D. MILLER, M.J. WERTZ, M. GRYPMA, B. DOPPERT, and P.A. ANDERSON, "Risk of infection after open fracture of the arm or leg", *Arch. Surg.*, 123, 1988, pp. 1320-1327
- 146**– C. BRUN BUISSON, F. ABROUK, P. LEGRAND, Y. HUET, S. LARABI, and M. RAPIN, "Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures", *Arch. Intern. Med.*, 147, 1987, pp. 873-877
- 147**– L.A. MERMEL, R.D. MC CORMICK, S.R. SPRINGMAN, and D.G. MAKI, "The pathogenesis and epidemiology of catheter infection with pulmonary artery Swan-Ganz catheter: a prospective study utilizing molecular subtyping.", *Am. J. Med.*, 91(3B), 1991, pp. 197S -205S
- 148**– I.I. RAAD, M. LUNA, M. SAYED-AHMED, J. COSTERTON, L. CHAU, and G. BODEY, "The relationship between the thrombotic and infectious complications of central venous catheters", *JAMA*, 271 (13), 1994, pp. 1014-1016
- 149**– G. NITENBERG, S. ANTOUN, B. ESCUDIER, B. LESCUDIER et B. LECLERCQ, *Complications infectieuses liées aux abords veineux centraux dans G. NITENBERG et C. CORDONNIER, Infections graves en oncohématologie*, Paris Masson, 1991, pp. 55-73
- 150**– M.A. PFALLER, and L.A. HERWALDT, "Laboratory clinical, and epidemiological aspects of coagulase negative staphylococci", *Clin. Microbiol. Rev.*, 1 (3), 1988, pp. 281-99



- 151– A. WIDMER, “IV – Related infections”, *Prevention and control of Nosocomial infections*, Wenzel R.P. (ed), Baltimore, Williams and Wilkins, 1993, pp. 555-579
- 152– A. FLEER, J. VERHOEF, and H.A. PASCUAL, “Coagulase negative staphylococci as nosocomial pathogens in neonates. The role of host defense artificial devices, and bacterial hydrophobicity”, *Am. J. Med.*, 80(6B), 1986, 161-5
- 153– A. BISNO and F.A. WALDOGEL, “Infections associated with indwelling medical devices”, Second ed, Washington, DC, ASM Press, 398 p., 1994
- 154– M. HERRMANN, and G. PETER, “New concepts in the pathogenesis of staphylococcal central venous catheter infections”, *Rean. Urg.*, 3(3bis), 1994, pp. 355-358
- 155– C.P. TIMMERMANN, L. MARTINEZ–MARTINEZ, A. FLEER, and J. VERHOEF, “The role of subinhibitory concentrations of antimicrobial agents on the adherence of coagulase negative staphylococci: perspectives in prevention of catheter-related infections”, *Nut. Clin. Metabol.*, 1991, pp. 309-346
- 156– J.-L. AVRIL et J. CARLET, *Les infections nosocomiales et leur prévention*, Ellipses, 1998, p. 201-277

BIBLIOGRAPHIE ADDITIONNELLE SUR CYANOBACTERIES

- AFSSA/AFSSET : *Rapport commun sur les risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans l'eau*, juillet 2006
- Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France du 6 mai 2003 relatif aux recommandations pour la gestion des situations de contamination d'eau de baignades et de zones de loisirs nautiques par prolifération de cyanobactéries.
- Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France du 6 juillet 2004 relatif aux recommandations pour la gestion des situations de contamination d'eau de baignades et de zones de loisirs nautiques par prolifération de cyanobactéries. Bilan national de la surveillance des proliférations de cyanobactéries lors de la saison balnéaire 2003.
- S. BLAIS, « La problématique des cyanobactéries (algues bleu-vert) à la baie Missisquoi en 2001 », *Agrosol.*, 13 (2) : pp. 103-110, 2002
- CHORUS and J. BARTRAM, *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*, ed. by E&FN Spon on behalf of the World Health Organisation, pp.1-416, 1999
- Groupe scientifique sur l'eau, « Cyanobactéries et cyanotoxines (eau potable et eaux récréatives) », Dans : *Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine*, Institut national de santé publique du Québec, 18 p., 2004
- J.P. JAEG, « Microcystines : intoxication des animaux domestiques et sécurité des aliments d'origine animale ». *Revue Méd. Vét.*, 158, 2, pp.46-58, 2007
- LAVOIE, I. LAURION, A. WARREN et W.F. VINCENT, *Les fleurs d'eau de cyanobactéries, revue littéraire*, INRS rapport n°916, xiii, 124 p. 2007
- J.L. LEFEUVRE, L. BRIENT et L. MARION, « *Dégradation de la qualité des eaux douces et marines : des risques pour la santé et la biodiversité.* », 2^{ème} Journée de l'Institut français de la biodiversité 2004. Session III, p. 54-62.
- T.A. MSAGATI, B.A. SIAME, and D.D. SHSHU, “Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins.” *Aquat Toxicol*, Jul 20;78(4):382-97, 2006

BIBLIOGRAPHIE ADDITIONNELLE SUR BILHARZIOSE

- <http://www.google.fr/url?url=http://umvf.univ-nantes.fr/parasitologie/enseignement/bilharzioses/site/html/cours.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&a=U&ei=OFrXU-HaLuKx0QW3soEQ&ved=0CBQQFjAA&usg=AFQjCNHEqvCrF9seKJeUvRiQO-59WQDivQ>
- Claude COMBES, Annie FOURNIER et Xia MINGYI, « Les schistosomes », dans *Pour la science*, n°116, juin 1987, p.80
- RA WILSON et PS COULSON (septembre 2009). « Mécanismes effecteurs immunitaires contre la schistosomiase : à la recherche d'une faille dans l'armure du parasite ». *Tendances en*



parasitologie 25 (9), 423 – 31.

