



LA REVUE
**TUNISIENNE D'INFECTIOLOGIE
DE LA MICROBIOLOGIE À LA CLINIQUE**



LA REVUE TUNISIENNE D'INFECTIOLOGIE DE LA MICROBIOLOGIE À LA CLINIQUE

Rédactrices en chef: Lamia Thabet & Aïda Berriche

Rédacteur associé: Adnène Toumi

COMITÉ DE LECTURE

Rim Abdelmalek	Badreddine Kilani
Wafa Achour	Hela Karray
Lamia Ammari	Makrem Koubaa
Abir Aouem	Chaouki Loussaief
Karim Aoun	Chakib Marrakchi
Olfah Bahri	Manel Marzouk
Riadh Battikh	Salma Mhalla
Foued Bellazreg	Habiba Naija
Rim Ben Abdallah	Sourour Neji
Houda Ben Ayed	Hayet Sallami
Hajer Ben Brahim	Hanene Smaoui
Mounir Ben Jemaa	Houayda Trabelsi
Jalel Boukadida	Sonia Trabelsi
Aïda Bouratbine	Henda Triki
Ilhem Boutiba	Sonda Mezgheni
Asma Ferjani	Fezia Djenane (Algérie)
Saba Gargouri	Mounira Kourichi (Algérie)
Wissem Hachfi	Nabila Sorra (Maroc)
Adnene Hammami	Bernard Castan (France)
Neila Hannachi	Jean Paul Stahl (France)
Hela Hannachi	Yosra Kherabi (France)
Yosr Kadri	Pierre Tattevin (France)
Kalthoum Kallel	

SOCIÉTÉ TUNISIENNE DE PATHOLOGIE INFECTIEUSE

MEMBRES DU BUREAU

Président: Lamia Thabet

Vice-président: Adnène Toumi

Secrétaire général: Chakib Mallakchi

Secrétaire général adjoint: Sourour Néji

Trésorier: Selma Mhalla

Trésorier adjoint: Aïda Berriche

Membres: Manel Marzouk
& Nadia Belasfer



SOMMAIRE

Editorial	3
Le point sur le pneumocoque !	4
Activité in vitro de l'association ceftazidime-avibactam et aztréonam sur les souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénèmases chez le brûlé	8
Evaluation de la performance du test BD Phoenix NMIC 505 pour la détection et la classification des carbapénèmases	14
Le dépistage du paludisme chez les étudiants étrangers pour un meilleur contrôle de la maladie en Tunisie	21
Diagnostic et prise en charge pratique de la toxoplasmose chez le nouveau-né	28
No evidence of occult hepatitis C infection among long-term Tunisian hemodialysis patients: A single-center study	36
Le virus West Nile : synthèse et enjeux d'une virose émergente	44
Activité transversale d'infectiologie à l'hôpital Farhat Hached de Sousse	53



Editorial

Après une interruption de plusieurs années, la Revue Tunisienne d'infectiologie reprend sa parution sous une nouvelle appellation:

« la Revue Tunisienne d'Infectiologie : de la Microbiologie à la Clinique ».

Cette renaissance est le résultat d'une motivation collective et de la collaboration habituelle entre microbiologistes, parasitologues, mycologues et infectiologues comme en témoigne la variété et la multidisciplinarité des articles composant ce nouveau numéro.

Ce numéro traite de sujets divers et d'actualité comme le contrôle du paludisme d'importation, la vaccination anti-pneumococcique et l'infection occulte par le virus de l'hépatite C chez les hémodialysés.

L'antibiorésistance, problème majeur auquel sont confrontés cliniciens et microbiologistes, y est particulièrement développée. En effet, un diagnostic rapide et précis pour la détection des BMR est d'un grand apport pour optimiser l'antibiothérapie.

L'étude des associations d'antibiotiques représente également une solution thérapeutique dans la prise en charge de ces infections, telle l'association ceftazidime-avibactam et aztréonam.

Une revue sur le diagnostic et la prise en charge de la toxoplasmose chez le nouveau-né est aussi proposée. Elle permettra, nous l'espérons, de clarifier l'abord des situations délicates auxquelles sont confrontés plusieurs praticiens.

Une Synthèse des aspects virologiques et clinico épidémiologiques du Virus West Nile est également rapporté, tout en soulignant les défis actuels et futurs pour la santé humaine et vétérinaire dans une approche "one health"

Enfin, il y est rapporté l'expérience du service des maladies infectieuses à l'hôpital Farhat Hached de Sousse en terme d'activité transversale en infectiologie en vue d'aider au diagnostic, d'optimiser l'utilisation des anti-infectieux et de lutter contre la résistance bactérienne.

Nous tenons à remercier Pr Karim Aoun pour son aide précieuse, sa contribution à l'élaboration de ce numéro et au redémarrage de la revue.

Pr Lamia thabet, Pr Aida Berriche

Bonne Lecture





Le point sur le pneumocoque !

An update on *Streptococcus pneumoniae*

Hanan Smaoui^{1,2}, Samar Mhimdi^{1,2}

¹Laboratoire de microbiologie, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis

²Université Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, LR18ES39

Correspondance:

Hanan Smaoui

Laboratoire de microbiologie, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunisie

Email: hanan.smaoui@gmail.com

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*) ou pneumocoque est une bactérie commensale des voies respiratoires de l'Homme. Elle colonise le nasopharynx dans 20 à 40% des cas chez l'enfant et dans 5 à 10% des cas chez l'adulte (1). Cependant cette bactérie peut se comporter comme un pathogène responsable d'infections aussi bien invasives que non-invasives. La transmission est interhumaine par contact direct et étroit avec une personne infectée ou porteuse.

Une des problématiques des infections pneumococciques est l'émergence et la propagation mondiale de souches résistantes aux bêta-lactamines et à de multiples autres familles d'antimicrobiens, ce qui complique la prise en charge thérapeutique de ces infections (2). La prévalence des souches résistantes diffère selon les pays.

Les infections pneumococciques sont des pathologies évitables par la vaccination. Plusieurs vaccins antipneumococciques polysaccharidiques et conjugués sont disponibles dans le monde. Leur efficacité dépend de leur nature, leur composition, la couverture vaccinale globale dans le pays, l'âge du patient et son terrain.

S. pneumoniae se présente sous forme de diplocoques à Gram positif capsulés et regroupés en flamme de bougie ou en huit. C'est une bactérie exigeante qui nécessite pour sa culture un milieu gélosé enrichie de sang (GS) de mouton ou de cheval. Après 24h d'incubation sur GS, le pneumocoque donne de petites colonies alpha hémolytiques qui deviennent ombiliquées et présentent une dépression centrale provoquée par son autolyse partielle et rapide.

L'identification de *S. pneumoniae* se base essentiellement sur la coloration de Gram et la sensibilité à l'optochine (Fig 1). Cependant des souches de *S. pneumoniae*

résistantes à l'optochine ont été rapportées partout dans le monde ce qui nécessite l'utilisation d'autres tests d'identification comme la solubilité dans la bile ainsi que l'amplification génique par PCR spécifique (1,3) qui montrent une excellente sensibilité et une excellente spécificité. De telles souches ont été aussi rapportées dans plusieurs études tunisiennes (4–6). Les auteurs avaient conclu qu'une identification précise des souches de *S. pneumoniae* résistantes à l'optochine est très importante afin de les différencier des espèces très voisines des Streptocoques du groupe mitis notamment le *S. pseudopneumoniae* et de garantir un diagnostic et une prise en charge adéquate du patient (4,5).

Le traitement des infections à pneumocoque se base essentiellement sur la famille des bêta-lactamines. Cependant depuis les années 1970 *S. pneumoniae* résistant aux bêta-lactamines avait émergé, avec une augmentation importante des taux de pneumocoques de sensibilité diminuée aux pénicillines (PSDP) depuis les années 1990s et une diffusion mondiale de ces souches. Outre la résistance aux bêta-lactamines, *S. pneumoniae* est devenu de plus en plus résistant aux autres familles d'antibiotiques comme les macrolides, ce qui complique encore la prise en charge thérapeutique de ces infections. La Tunisie possède des taux élevés de PSDP et de pneumocoque résistant aux macrolides. En 2022, le réseau national de l'antibiorésistance (LART) avait rapporté un taux de PSDP de 66,4%, 8,9% des souches étaient résistantes. Par ailleurs et dans cette même étude de surveillance, 65,4% des souches étaient résistantes à l'érythromycine (7). Ces taux alarmants peuvent être expliqués essentiellement par la fréquence de l'automédication.



Le pneumocoque présente plusieurs facteurs de virulence qui interviennent dans sa pathogénicité comme la pneumolysine, les protéines de surface et la capsule polysaccharidique. Cette dernière est une structure composée de polysaccharides complexes enveloppant la bactérie et représentant son principal facteur de virulence en inhibant l'opsono-phagocytose (2). Selon la nature de ces polysaccharides, plus qu'une centaine de sérotypes sont définis dont l'importance est variable en pathologie humaine. Les types capsulaires les plus fréquents varient en fonction de l'âge et de la région géographique. Cependant une trentaine de sérotypes sont régulièrement reconnus partout dans le monde et entraînent la majorité des infections à pneumocoque chez l'homme. Ce polysaccharide capsulaire est à la base de la vaccination antipneumococcique dont la protection est spécifique au sérotype.



Figure 1. Culture de *S. pneumoniae* sur gélose au sang frais, les colonies sont alpha hémolytiques et sensibles à l'optochine

Il existe deux types de vaccins contre le pneumocoque préparés à partir de polysaccharides capsulaires ; polysaccharidique et conjugué. La composition de ces différents vaccins comprend un certain nombre de sérotypes qui représentent ceux qui sont les plus fréquemment isolés dans les infections invasives et non invasives ainsi que ceux qui présentent les taux les plus élevés de résistance aux antibiotiques.

Le vaccin le plus ancien est le vaccin pneumococcique polysaccharidique 23-valent (PPV23) qui peut être administré chez l'adolescent, l'adulte et l'enfant à partir de l'âge de deux ans (8). Le PPV23 contient les antigènes des 23 sérotypes de *S. pneumoniae* les plus virulents et les plus résistants aux antibiotiques (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19F, 19A, 20, 22F, 23F, 33F). Les polysides capsulaires du pneumocoque sont des antigènes T-indépendants, d'où un pouvoir immunogène faible du PPV23 chez les enfants âgés de moins de 2 ans. De plus, ils ne parviennent pas à induire une mémoire immunitaire efficace et durable. Le PPV23 induit une réponse immunitaire avec augmentation des titres d'anticorps qui diminuent ensuite au cours du temps. Bien que ce vaccin présente une certaine efficacité

pour prévenir les infections invasives à pneumocoque (IIP) chez la population cible, il n'a aucun effet sur le portage nasopharyngé de la bactérie et de ce fait il n'a pas d'effet sur l'immunité de groupe (8).

Les vaccins pneumococciques conjugués (PCV) sont composés de polysaccharides capsulaires conjugués à une protéine porteuse. Cette liaison chimique permet d'augmenter l'immunogénicité du polysaccharide et induit une réponse immune thymo-dépendante à l'origine de l'activation des cellules B avec production d'anticorps spécifiques et de cellules B mémoire (8). Les avantages des PCV, par rapport au PPV23, sont d'induire une réponse immune protectrice contre les IIP dès l'âge de 6 semaines et de mettre en place une mémoire immunitaire. De plus, les PCV induisent une immunité au niveau des muqueuses du rhinopharynx ce qui permet de réduire, significativement, le portage rhinopharyngé du pneumocoque, et d'induire une immunité de groupe. Plusieurs PCVs ont été mis sur le marché. Initialement, les sérotypes inclus dans ces vaccins étaient au nombre de sept pour le PCV7, premier vaccin conjugué antipneumococcique mis sur le marché en début des années 2000. Puis d'autres PCVs avec 10, 13, 15 et 20 valences ont été commercialisés. La composition de ces différents vaccins est précisée dans le tableau 1.

S. pneumoniae est responsable d'un large spectre d'infections invasives et non invasives. Il représente l'un des principaux agents responsables de pneumonie, bactériémie et méningite, et demeure l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde. Le pneumocoque est aussi une cause majeure d'otite moyenne aiguë et de sinusite (9). Les infections pneumococciques surviennent à tous les âges mais les personnes les plus touchées sont les enfants âgés de moins de 5 ans, les adultes âgés de plus de 65 ans, ainsi que les malades atteints de comorbidités (diabète, pathologies pulmonaires, pathologies cardiaques) et les immunodéprimés. Le pneumocoque représente le principal agent étiologique des pneumonies communautaires aiguës et des méningites purulentes malgré la généralisation de la vaccination dans de nombreux pays au monde notamment chez l'enfant et le sujet âgé (9–13).



dans aucun des PCVs commercialisés.

Par ailleurs, le développement de vaccins formés d'antigènes protéiques hautement conservés chez *S. pneumoniae* serait la meilleure stratégie préventive des infections pneumococciques. Plusieurs vaccins se basant sur des antigènes protéiques et offrant une protection indépendante du sérotype sont en cours d'étude. Les protéines les plus étudiées sont les PspA. Le choix du type et du nombre des antigènes à inclure dans ces vaccins reste à déterminer afin de prévenir au maximum un phénomène de remplacement comme le cas avec les vaccins polysaccharidiques (25).

RÉFÉRENCES

- Nagata M, Ueda O, Shobuike T, Muratani T, Aoki Y, Miyamoto H. Emergence of Optochin Resistance among *Streptococcus pneumoniae* in Japan. *Open J Med Microbiol*. 2012;02(01):8-15.
- Thadchanamoorthy V, Dayasiri K. Review on Pneumococcal Infection in Children. *Cureus* [Internet]. 9 mai 2021 [cité 1 mai 2025]; Disponible sur: <https://www.cureus.com/articles/55060-review-on-pneumococcal-infection-in-children>
- Yahiaoui RY, Den Heijer CD, Wolfs P, Bruggeman CA, Stobberingh EE. Evaluation of Phenotypic and Molecular Methods for Identification of *Streptococcus pneumoniae*. *Future Microbiol*. janv 2016;11(1):43-50.
- Mhimdi S, Meftah K, Bouafsoun A, Smaoui H. Accurate identification of *Streptococcus pseudopneumoniae* and other mitis group *Streptococci* identified as atypical *Streptococcus pneumoniae* in Tunisian pediatric population. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 7 déc 2023;70(4):325-30.
- Ktari S, Ben Ayed NEH, Maalej S, Mnif B, Rhimi F, Hammami A. Clinical optochin resistant *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pseudopneumoniae* strains in Tunisia. *J Infect Dev Ctries*. 31 mai 2021;15(05):672-7.
- Raddaoui A, Ben Tanfous F, Achour W, Baaboura R, Ben Hassen A. Description of a novel mutation in the atpC gene in optochin-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains isolates from Tunisia. *Int J Antimicrob Agents*. mai 2018;51(5):803-5.
- STPI. L'antibio-résistance en Tunisie LART données 2022: *Streptococcus pneumoniae* [Internet].2022. Disponible sur: <https://www.infectiologie.org.tn/resistance.php#collapse-Three18>
- Fritzell B. Les vaccins conjugués. *Therapies*. mai 2005;60(3):249-55.
- Feldman C, Anderson R. Recent advances in the epidemiology and prevention of *Streptococcus pneumoniae* infections. *F1000Research*. 7 mai 2020;9:338.
- Ouldali N, Levy C, Varon E, Bonacorsi S, Béchet S, Cohen R, et al. Incidence of paediatric pneumococcal meningitis and emergence of new serotypes: a time-series analysis of a 16-year French national survey. *Lancet Infect Dis*. sept 2018;18(9):983-91.
- Womack J, Kropa J. Community-Acquired Pneumonia in Adults: Rapid Evidence Review. *Am Fam Physician*. 1 juin 2022;105(6):625-30.
- Shoar S, Musher DM. Etiology of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review. *Pneumonia* [Internet]. déc 2020 [cité 1 mai 2025];12(1). Disponible sur: <https://pneumonia.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41479-020-00074-3>
- Chang B, Tamura K, Fujikura H, Watanabe H, Tanabe Y, Kuronuma K, et al. Pneumococcal meningitis in adults in 2014–2018 after introduction of pediatric 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. *Sci Rep* [Internet]. 23 févr 2022 [cité 1 mai 2025];12(1). Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-06950-w>
- WHO. Pneumococcal vaccines WHO position paper–2012. *Releve Epidemiol Hebd*. 6 avr 2012;87(14):129-44.
- Thabet F, Tilouche S, Tabarki B, Amri F, Guediche MN, Sfar MT, et al. Mortalité par méningites à pneumocoque chez l'enfant. Facteurs pronostiques à propos d'une série de 73 observations. *Arch Pédiatrie*. avr 2007;14(4):334-7.
- Dhraief S, Meftah K, Mhimdi S, Khiari H, Aloui F, Borgi A, et al. Epidemiological and bacterial profile of childhood meningitis in Tunisia. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2 juill 2024;71(2):148-54.
- Mezghani Maalej S, Kassis M, Mahjoubi Rhimi F, Damak J, Hammami A. Bactériologie des méningites communautaires dans la région de Sfax, Tunisie (1993-2001). *Médecine Mal Infect*. févr 2006;36(2):105-10.
- Oligbu G, Fry NK, Ladhani SN. The Pneumococcus and Its Critical Role in Public Health. In: Iovino F, éditeur. *Streptococcus pneumoniae* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2019 [cité 16 mai 2025]. p. 205-13. (Methods in Molecular Biology; vol. 1968). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-9199-0_17
- Charfi F, Smaoui H, Kechrid A. Non-susceptibility trends and serotype coverage by conjugate pneumococcal vaccines in a Tunisian paediatric population: a 10-year study. *Vaccine*. 31 déc 2012;30 Suppl 6:G18-24.
- Ktari S, Jmal I, Mroua M, Maalej S, Ben Ayed NE, Mnif B, et al. Serotype distribution and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains in the south of Tunisia: A five-year study (2012–2016) of pediatric and adult populations. *Int J Infect Dis*. déc 2017;65:110-5.
- Ben Ayed N, Ktari S, Jdidi J, Gargouri O, Smaoui F, Hachicha H, et al. Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Tunisian Healthy under-Five Children during a Three-Year Survey Period (2020 to 2022). *Vaccines*. 9 avr 2024;12(4):393.
- Ktari S, Ben Ayed N, Ben Rbeh I, Garbi N, Maalej S, Mnif B, et al. Antibiotic resistance pattern, capsular types, and molecular characterization of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the south of Tunisia from 2012 to 2018. *BMC Microbiol* [Internet]. 4 févr 2023 [cité 1 mai 2025];23(1). Disponible sur: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-023-02784-2>
- Alari A, Chaussade H, Domenech De Cellès M, Le Fouler L, Varon E, Opatowski L, et al. Impact of pneumococcal conjugate vaccines on pneumococcal meningitis cases in France between 2001 and 2014: a time series analysis. *BMC Med* [Internet]. déc 2016 [cité 1 mai 2025];14(1). Disponible sur: <http://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-016-0755-7>
- Balsells E, Guillot L, Nair H, Kyaw MH. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in the post-PCV era: A systematic review and meta-analysis. *Borrow R, éditeur. PLOS ONE*. 9 mai 2017;12(5):e0177113.
- Gonçalves VM. Novel processes to obtain pneumococcal surface proteins for vaccines. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 10 avr 2025 [cité 1 mai 2025];109(1). Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/s00253-025-13440-2>





Activité in vitro de l'association ceftazidime-avibactam et aztréonam sur les souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénèmases chez le brûlé

In vitro activity of ceftazidime-avibactam and aztreonam against carbapenemase producing Enterobacterales strains in burn patient

Chelbi Y^{1,2}, Dhraief S^{1,2}, Megdiche Z^{1,2}, Maamer B^{1,2}, Messaadi AA^{1,2}, Thabet L^{1,2}

¹ Laboratoire de biologie médicale, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, UR22SP03, Ben Arous, Tunisie

² Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunisie

Correspondance:

Chelbi Yasmine

Laboratoire de biologie médicale, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, UR22SP03, Ben Arous, Tunisie

Email: chelbiyasmine@gmail.com

RÉSUMÉ Les infections à entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC) constituent un défi thérapeutique majeur notamment chez le brûlé. L'association ceftazidime/avibactam et aztréonam (CZA-AZT) est proposée comme des alternative thérapeutique intéressante particulièrement chez les souches productrices de métallo-bétalactamases. L'objectif de ce travail était d'étudier l'activité in vitro de l'association CZA et AZT sur les EPC chez le brûlé.

Une étude prospective a été menée entre janvier et juin 2024 au laboratoire de biologie médicale du centre de Traumatologie et des Grands brûlés, incluant les souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénèmases isolées chez les brûlés. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM 2023. Le typage moléculaire des carbapénèmases a été réalisé par PCR multiplexe GeneXpert® (kit Xpert® Carba-R). Pour les souches résistantes à l'AZT et au CZA, l'étude de la synergie entre les deux antibiotiques a été effectuée par deux méthodes : ellipsométrie et méthode modifiée de diffusion. Quarante-deux souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénèmase ont été colligées. Toutes les souches étaient résistantes à l'ertapénème et à l'imipénème. La résistance au méropénème était de 88%. La fosfomycine conservait une activité sur 46% des souches. Une seule souche de *Klebsiella pneumoniae* était résistante à la colistine. Une résistance associée à l'amikacine et à la ciprofloxacine a été observée dans 88% et 95% des cas respectivement. Une résistance à l'AZT et au CZA à la fois était observée chez 66% des souches. Quarante et une souches étaient porteuses d'au moins un gène de carbapénèmase, majoritairement blaNDM (49%), suivi de bla_{NDM} et bla_{OXA48} (41%). Une résistance à l'AZT et au CZA à la fois était observée chez 27 souches. L'étude de l'activité de CZA-AZT a révélé une synergie pour l'ensemble des souches testées par les deux méthodes.

L'association CZA-AZT représente une molécule clé dans l'arsenal thérapeutique des infections à EPC chez le brûlé en Tunisie, vu leur activité synergique chez les souches productrices de métallo-bétalactamase.

Mots clés: Entérobactéries – Carbapénèmase – métallo-bétalactamase - Ceftazidime-avibactam – Aztréonam – Synergie

ABSTRACT Carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) infections present a major therapeutic challenge, especially in burn patients. Ceftazidime/avibactam and aztreonam (CZA-AZT) association is proposed as a promising therapeutic alternative, particularly for metallo-beta-lactamases producing. The aim of this study was to evaluate the in vitro activity of CZA and AZT against CPE in burn patients.

A prospective study was conducted between January and June 2024 at the Medical Biology Laboratory of the Trauma and Burn Center, including Enterobacterales strains potentially producing carbapenemases isolated from burn patients. Antibiotic susceptibility testing was performed according to CA-SFM 2023 guidelines. Molecular typing of carbapenemases was performed by GeneXpert® multiplex PCR (Xpert® Carba-R kit). For strains resistant to both AZT and CZA, synergy testing was carried out using two methods: ellipsometry and a modified diffusion method. Forty-two strains of Enterobacterales potentially producing carbapenemase were collected. All strains were resistant to ertapenem and imipenem, with 88% resistance to meropenem. Fosfomycin remained active against 46% of the strains. Only one *Klebsiella pneumoniae* strain was resistant to colistin. Resistance to amikacin and ciprofloxacin was observed in 88% and 95% of cases, respectively. Resistance to both AZT and CZA was found in 66% of strains. Forty-one strains harbored at least one carbapenemase gene, predominantly blaNDM (49%), followed by blaNDM and blaOXA48 (41%). Resistance to both AZT and CZA was observed in 27 strains. The CZA-AZT combination exhibited synergy against all tested strains using both methods.

The CZA-AZT combination represents a key therapeutic agent in the treatment of CPE infections in burn patients in Tunisia, given its synergistic activity against metallo-beta-lactamase-producing strains.

Key words: Enterobacteria – Carbapenemase – métallo-bétalactamase - Ceftazidime-avibactam – Aztreonam – Synergie



INTRODUCTION

Les complications infectieuses chez le patient brûlé constituent une cause majeure de morbidité et de mortalité (1). En effet, la rupture de la barrière cutanée favorise le passage des bactéries de l'état de colonisation à l'état d'infection puis vers la circulation systémique. Ces infections peuvent être causées par des bactéries multirésistantes (BMR) conduisant à des difficultés voire à des impasses thérapeutiques. La durée de séjour prolongé chez le brûlé, l'antibiothérapie préalable, et le recours aux dispositifs invasifs représentent des facteurs de risque de multirésistance aux antibiotiques (2). Parmi les BMR incriminées, les entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) constituent un défi thérapeutique majeur. Ces carbapénémases peuvent être de classe A, B ou D selon la classification d'Ambler. Les carbapénémases de classe A sont des sérine bêtalactamases hydrolysant souvent toutes les bêtalactamines. Celles de classe B, encore appelées métallobêtalactamase (MBL), agissent majoritairement sur toutes les bêtalactamines et les associations bêtalactamines/inhibiteurs de bêtalactamases, mais n'ont pas d'action sur l'aztréonam (AZT) (3). Quant aux carbapénémases de classe D, des sérines protéases, le spectre d'hydrolyse englobe les pénicillines et les carbapénèmes mais pas les céphalosporines de 3ème (C3G) et de 4ème génération (C4G). L'OXA-48 est la carbapénémase de classe D la plus fréquemment décrite en Tunisie (4). Peu de molécules d'antibiotiques visant ces EPC ont été développées ces dernières années. Parmi ces molécules, ceftazidime-avibactam (CZA) se présente comme une alternative thérapeutique intéressante, associant une C3G à un nouvel inhibiteur de bêtalactamase non bêtalactamine. L'avibactam peut inhiber les bêtalactamases de classe A, tel que les bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) et les carbapénémase de type KPC, les bêtalactamases de classe C (AmpC) et certaines de classe D tel que les carbapénémases de type OXA-48 (5). Cependant, cet inhibiteur n'a pas d'activité sur les MBL. La prédominance des MBL parmi les EPC isolées chez le patient brûlé dans notre centre, pourrait limiter ainsi l'intérêt du CZA seul (6). L'utilisation de l'AZT seul ne peut pas couvrir toutes les souches productrices de MBL étant donné la coproduction fréquente d'autres bêtalactamases (BLSE, céphalosporinases de haut niveau) (7). L'association de l'AZT avec CZA semble donc prometteuse dans notre contexte. A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée à étudier l'activité de l'association CZA avec AZT en Tunisie, particulièrement chez le patient brûlé. Le but de notre travail était d'étudier l'activité synergique in vitro de l'association CZA et AZT afin d'évaluer l'intérêt de leur introduction dans le centre de traumatologie et des grands brûlés (CTGB).

MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Une étude prospective a été menée entre janvier 2024 et juin 2024 au laboratoire de biologie médicale du CTGB.

Toutes les souches non redondantes d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénémase, ont été incluses. La bactérie était classée potentiellement EPC en cas de résistance à au moins un des trois carbapénèmes testés : Ertapénème (ERT), imipénème (IMP) et méropénème (MEM). Uniquement les souches, isolées de prélèvements cliniques, provenant de patients hospitalisés au service de réanimation des brûlés ont été incluses.

Pour chaque souche incluse, l'identification a été réalisée par les méthodes conventionnelles (API® 20e BioMérieux, France) ou automatisées (Vitek® 2, BioMérieux, France). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée selon les recommandations du CA-SFM 2023 (8). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des carbapénèmes ont été déterminées sur Vitek® 2, par la carte AST-357 pour ERT et IMP et XN-12 pour MEM. La CMI colistine a été déterminée par AST-357 et contrôlée en cas de résistance à la colistine par micro-dilution en milieu liquide (UMIC®, États-Unis). La détection et le typage moléculaire des carbapénémases ont été réalisés par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) multiplexe GeneXpert® (Cepheid) par le kit Xpert® Carba-R, détectant les principaux gènes codant pour les carbapénémases : blaNDM, blaOXA-48, blaVIM, blaIMP, blaKPC. Pour les souches catégorisées résistantes à l'AZT et au CZA, une étude de la synergie CZA-AZT a été réalisée selon deux méthodes. La première méthode, par ellipsométrie, consistait d'abord à appliquer une bandelette E-test sur une gélose Muller-Hinton (MH) ensemencée par un inoculum de 0,5 McFarland de la souche à étudier (9). La bandelette était retirée après cinq minutes, et une bandelette E-test CZA était appliquée exactement au même endroit. Par la suite, la bandelette AZT était replacée en dessus de celle de CZA. Après une incubation à 37°C pendant 24h, la lecture de la CMI de l'association s'est basée sur la bandelette E-test AZT placée en superposition à celle de CZA selon les concentrations critiques correspondantes. Les CMI de AZT seul et CZA seul ont également été déterminées par E-test. Une synergie CZA-AZT était considérée présente en cas de restauration de la CMI de l'AZT en association avec CZA. La deuxième méthode est une méthode modifiée de diffusion (10). Elle consistait à placer un disque AZT (30 µg) à 15 mm d'une bandelette E-test CZA, parallèlement à la concentration critique de 8 mg/L. Après une incubation de 16 à 18h, l'étude de la synergie CZA-AZT a été effectuée selon une approche qualitative, par la recherche d'une image en D inversé, et quantitative, par restauration du diamètre de l'AZT du côté de la bandelette CZA.

RÉSULTATS

Au total 42 souches non redondantes d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénémase ont été colligées dont 41 confirmées EPC par l'étude moléculaire (98%). Les bactéries les plus incriminées étaient *Klebsiella pneumoniae* (36% ; n=15) et *Proteus mirabilis* (36% ; n=15). Les autres germes incriminés étaient *Providencia*



stuartii (14% ; n=6), Enterobacter aerogenes (5% ; n=2) Enterobacter cloacae (5% ; n=2), Klebsiella oxytoca (2% ; n=1) et Proteus vulgaris (2% ; n=1). Ces bactéries étaient principalement isolées à partir d'hémocultures (55% ; n=23), suivies d'examen cyto bactériologique des urines (19% ; n=8), de prélèvements respiratoires (14% ; n=6), de pus (10% ; n=4) et de ponction articulaire (2% ; n=1). Le taux de résistance à l'ERT et à l'IMP des EPC était de 100% avec des CMI supérieures ou égales à 4 et à 8 mg/L respectivement (Tableau 1). La résistance au MEM était de 88% avec des CMI MEM supérieures ou égales à 16 mg/L. Cinq souches étaient catégorisées sensibles à forte posologie (SFP) au MEM (12%) et une souche était sensible.

Une résistance associée à la pipéracilline-tazobactam, à l'amikacine, à la ciprofloxacine et au triméthoprim-sulfaméthoxazole a été observée dans 78%, 88%, 95% et 78% des cas respectivement (Tableau 1). La résistance à l'AZT et au CZA était de 71% et 88% respectivement. Une résistance à l'AZT et au CZA à la fois était observée chez 66% des souches (n=27). La fosfomycine conservait une activité sur 46% des souches. La résistance à la colistine a concerné une seule souche de Klebsiella pneumoniae (2%). Cette souche était totorésistante aux antibiotiques avec une CMI colistine supérieure ou égale à 16 mg/L.

Tableau 1. Taux de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase isolées chez le brûlé

	R(N=)	R(%)
Pipéracilline-tazobactam	32	78%
Cefotaxime	41	100%
Ceftazidime	40	98%
Céfépime	35	85%
Aztréonam	29	71%
Ceftazidime-avibactam	36	88%
Ceftolozane-tazobactam	41	100%
Ertapénème	41	100%
Imipénème	41	100%
Méropénème	36	88%
Amikacine	36	88%
Gentamicine	40	98%
Ciprofloxacine	39	95%
Levofloxacine	40	98%
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	32	78%
Fosfomycine*	21	53%
Colistine	1	2%

* Une souche non testée

La recherche et le typage moléculaire des carbapénémases des souches isolées a montré que 98% (n=41) étaient porteuses d'au moins un gène de carbapénémase. Le gène blaNDM était le gène le plus fréquemment détecté (49% ; n=20), suivi de l'association blaNDM et blaOXA48 (41% ; n=17), de l'association blaNDM et blaVIM (5% ; n=2) et du gène blaOXA-48 (5% ; n=2). Un total de 39

souches (93%) étaient porteuses d'un gène blaNDM dont 92% (n=37) étaient résistantes au CZA.

L'étude de l'activité de l'association CZA-AZT a révélé une synergie entre ces deux molécules pour l'ensemble des souches testées (n=27), et ceci par les deux méthodes (Tableau 2). En effet, la méthode modifiée de diffusion a révélé une restauration du diamètre de l'AZT et une image en D inversé pour l'ensemble des souches (Figure 1). Une restauration des CMI de l'AZT a été observée pour toutes les souches testées par ellipsométrie, passant de CMI entre 8 à 256 mg/L à des CMI entre 0,016 à 1 mg/L (Figure 1).

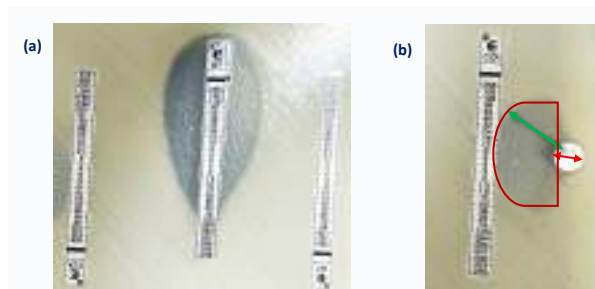


Figure 1. Synergie entre aztréonam et ceftazidime-avibactam par méthode d'ellipsométrie (a) et par méthode modifiée de diffusion (b)

DISCUSSION

Le choix de l'antibiothérapie visant les EPC particulièrement de type MBL a longtemps posé un problème thérapeutique (3). L'arsenal thérapeutique visant ces bactéries multirésistantes est peu développé, et était auparavant limité aux anciennes molécules telles que la colistine et la fosfomycine (5). De nouvelles associations de bêtalactamines avec des inhibiteurs de bêtalactamase ont vu le jour ces dernières années tel que CZA. Cette molécule, ayant eu l'autorisation de mise sur le marché en février 2022 en Tunisie, reste cependant inactive sur les MBL, en constante augmentation depuis des années à l'échelle nationale et internationale (3,11). La croissance des échanges de population au niveau mondiale et le support plasmidique des gènes de MBL associés au portage intestinal des BGN producteurs de MBL, ont facilité la propagation de ces carbapénémases, associées à un taux élevé de mortalité atteignant 30% particulièrement chez les patients de réanimation (3). Une prescription de l'AZT pourrait être envisagée dans ce contexte, en cas de sensibilité à cet antibiotique, mais la coproduction fréquente d'AmpC et/ou de BLSE atteignant un taux de plus de 50% limite son utilisation en monothérapie (3). Ceci justifie l'étude de l'activité de l'association CZA avec AZT, afin de déterminer sa place dans le traitement des infections à entérobactéries potentiellement productrices de carbapénémases particulièrement chez le brûlé.



Tableau 2. Étude de l'activité de l'association ceftazidime-avibactam/aztréonam sur les souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénémase isolées chez le brûlé et résistantes à ces deux bêta-lactamines

REF	Bactérie	Site	CMI_ERT	CMI_IMP	CMI_MER	Gx_carba	Ø AZT (mm)	Ø AZT association D-inversé (mm)	CMI AZT (mg/L)	CMI CZA (mg/L)	CMI AZT association (mg/L)	
1	<i>K.pneumoniae</i>	Respiratoire	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	6	30	+	256	256	0,19
2	<i>K.pneumoniae</i>	ECBU	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	9	32	+	256	256	0,094
3	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	12	26	+	256	256	1
4	<i>P.mirabilis</i>	HC	>=8	8	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	6	26	+	256	256	0,75
5	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	11	30	+	256	256	0,064
6	<i>E.aerogenes</i>	HC	>=8	8	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	8	30	+	256	256	0,125
7	<i>E.aerogenes</i>	HC	>=8	>=16	8	<i>bla_{NDM}</i>	12	26	+	32	256	0,094
8	<i>P.mirabilis</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	16	34	+	12	256	0,25
9	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	13	30	+	48	256	0,064
10	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	10	30	+	96	256	0,032
11	<i>K.oxytoca</i>	Respiratoire	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	6	30	+	256	256	0,38
12	<i>P.mirabilis</i>	ECBU	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	12	27	+	12	256	0,125
13	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	6	30	+	256	256	0,5
14	<i>P.mirabilis</i>	ECBU	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	18	34	+	12	256	0,047
15	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	10	32	+	18	256	0,064
16	<i>P.mirabilis</i>	HC	>=8	>=16	8	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	10	32	+	48	256	0,064
17	<i>P.mirabilis</i>	Pus	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	18	34	+	48	256	0,047
18	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	14	26	+	128	256	0,023
19	<i>P.mirabilis</i>	Pus	>=8	>=16	8	<i>bla_{NDM}</i>	10	27	+	32	256	0,032
20	<i>P.vulgaris</i>	Pus	>=8	>=16	8	<i>bla_{NDM}</i>	12	26	+	48	256	0,047
21	<i>K.pneumoniae</i>	ECBU	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	11	26	+	32	256	0,38
22	<i>P.mirabilis</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	14	30	+	8	256	0,016
23	<i>K.pneumoniae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	18	32	+	24	256	0,016
24	<i>P.mirabilis</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	14	26	+	48	256	0,023
25	<i>K.pneumoniae</i>	ECBU	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}</i>	16	30	+	24	256	0,016
26	<i>K.pneumoniae</i>	Respiratoire	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{VIM}</i>	16	32	+	12	256	0,023
27	<i>E.cloacae</i>	HC	>=8	>=16	>=16	<i>bla_{NDM}+bla_{OXA-48}</i>	6	26	+	256	256	0,38

ECBU : examen cyto-bactériologique des urines ; HC : hémoculture ; Ø : diamètre ; CZA : ceftazidime-avibactam ; AZT : aztréonam ; Gx : GeneXpert ; ERT : ertapénème ; IMP : imipénème ; MEM : méropénème

Dans notre étude, les Morganellaceae représentaient 52% du total des entérobactéries isolées chez le patient brûlé, suivis par *Klebsiella pneumoniae* (36%). Ceci était concordant avec les résultats des études antérieures réalisées chez le brûlé en Tunisie (11).

L'étude du profil moléculaire des souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénémases a objectivé une prédominance de blaNDM (49% ; n=20), suivi de l'association blaNDM et blaOXA48 (41% ; n=17). Le gène blaOXA-48 a été détecté chez 5% des souches. Ainsi, 93% des souches d'entérobactéries chez le brûlé étaient productrices d'une MBL de type NDM, taux nettement plus élevé que celui enregistré en 2017 (66,5%) par Maamar et al (11).

Cette recrudescence des MBL chez les entérobactéries isolées chez le brûlé dans notre centre explique les taux de résistance élevés au CZA (88%), mais aussi à la piperacilline-tazobactam (78%), au céfépime (85%) et aux carbapénèmes (supérieur à 88%)(12). Un taux de résistance élevé à 71% a été observé pour l'AZT dans notre série. D'autres auteurs ont également rapporté une sensibilité à l'AZT seulement dans un tiers des cas et ceci secondairement à la coproduction fréquente d'une BLSE ou d'une céphalosporinase de haut niveau hydrolysant cette molécule (3). Des taux de résistances élevés ont été notés pour les autres familles d'antibiotiques, notamment les aminosides, les fluoroquinolones et le triméthoprime-sulfaméthoxazole. Ces résistances



associées ont été rapportées par plusieurs auteurs et pourraient s'expliquer par un support plasmidique de résistance, commun entre le gène bla_{NDM} et les gènes codant pour la résistance à ces familles d'antibiotiques (13). Les molécules les plus actives demeurent la colistine (98%) et la fosfomycine (47%). Il faut noter que la prédominance des Morganellaceae, naturellement résistante à la colistine, dans notre écologie, limite l'utilisation de cette molécule dans l'antibiothérapie visant ces bactéries multirésistantes. Les effets indésirables de la colistine, notamment sa néphrotoxicité, constitue une limite supplémentaire à sa prescription, d'où son utilisation essentiellement comme traitement de secours (5). Concernant la fosfomycine, les problèmes liés à l'étude de la sensibilité à cet antibiotique d'une part et ses propriétés pharmacodynamiques suggérant une possibilité d'échec en monothérapie d'autre part, empêchent son utilisation comme antibiotique de choix contre ces organismes (5).

L'étude de l'activité in vitro du CZA avec AZT sur les souches d'entérobactéries potentiellement productrices de carbapénémases a révélé une synergie pour l'ensemble des souches étudiées, résistantes à ces deux antibiotiques (n=27). La méthode de diffusion modifiée et la méthode d'ellipsométrie ont montré une concordance totale des résultats. Ces résultats étaient similaires à ceux de la littérature. En effet, une bonne concordance de 81% entre la méthode du D inversé et la dilution en milieu liquide a été retrouvée par Rawson et al (10). Une étude américaine a également observée une concordance allant de 82% à 84% entre la méthode d'ellipsométrie et la méthode de référence (14).

La restauration de l'activité de l'AZT par l'association à l'avibactam a également été décrite. En effet, nombreuses études in vitro et in vivo ont démontré la place de l'association de l'AZT avec CZA ou avibactam dans le traitement des infections à EPC de type NDM permettant une évolution favorable dans la majorité des cas (3). Dans ce cadre, la société américaine d'infectiologie recommande dans son rapport de 2024, l'utilisation de l'association CZA et AZT comme traitement de choix des infections à entérobactéries productrices de MBL (15). Une introduction de l'AZT est donc cruciale en Tunisie pour diminuer la morbi mortalité lié aux infections à entérobactéries productrices de MBL chez le patient brûlé. Il est à noter que des études ont montré que la présence de CZA n'affecte pas l'activité in vitro de l'association AZT et avibactam (3). Une molécule associant aztréonam-avibactam a dans ce cadre eu l'autorisation de mise sur le marché en Europe en avril 2024. Des études supplémentaires, in vitro et in vivo, seraient intéressantes pour étudier la place de cette molécule dans le traitement des infections à entérobactéries productrices de MBL chez le brûlé.

Notre étude a souligné l'intérêt de l'association de l'AZT au CZA vu leur activité synergique in vitro sur les souches d'entérobactéries productrices de MBL, en nette recrudescence dans notre centre. Ceci démontre la place de cette association comme alternative thérapeutique de

choix dans le traitement de ces infections graves chez le patient brûlé. L'introduction de cette association s'avère donc nécessaire en Tunisie, particulièrement pour le brûlé. Son utilisation doit cependant être rationnelle, et réservée aux traitements des infections à EPC pour éviter l'émergence de résistance.

RÉFÉRENCES

- Ladhani HA, Yowler CJ, Claridge JA. Burn wound colonization, infection, and sepsis. *Surg Infect (Larchmt)*. 2021;22(1):44-8.
- Lachiewicz AM, Hauck CG, Weber DJ et al. Bacterial infections after burn injuries: impact of multidrug resistance. *Clin Infect Dis*. 2017;65(12):2130-6.
- Mauri C, Maraolo AE, Di Bella S et al. The revival of aztreonam in combination with avibactam against metallo- β -lactamase-producing Gram-negatives: a systematic review of in vitro studies and clinical cases. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(8):1012.
- Dziri O, Dziri R, Ali El Salabi A et al. Carbapenemase producing Gram-negative bacteria in Tunisia: history of thirteen years of challenge. *Infect Drug Resist*. 2020;13:4177-91.
- Tan X, Kim HS, Baugh K et al. Therapeutic options for metallo- β -lactamase-producing Enterobacterales. *Infect Drug Resist*. 2021;14:125-42.
- Maamar B, Abdelmalek R, Messadi AA et al. Étude épidémiologique des infections à entérobactéries productrices de carbapénémases chez les brûlés. *Ann Burns Fire Disasters*. 2019;32(1):10-6.
- Marshall S, Hujer AM, Rojas LJ et al. Can ceftazidime-avibactam and aztreonam overcome β -Lactam resistance conferred by metallo- β -lactamases in Enterobacteriaceae? *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(4):e02243-16.
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, recommandations 2023. Disponible sur: <https://www.sfm-microbiologie.org/boutique/comite-de-lantibiogramme-de-la-sfm-casfm/> [Consulté le 24 juin 2024]
- Davido B, Fellous L, Lawrence C et al. Ceftazidime-Avibactam and aztreonam, an interesting strategy to overcome β -Lactam resistance conferred by metallo- β -Lactamases in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9):e01008-17.
- Rawson TM, Brzeska-Trafny I, Maxfield R et al. A practical laboratory method to determine ceftazidime-avibactam-aztreonam synergy in patients with New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-producing Enterobacterales infection. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2022;29:558-62.
- Maamar B, Messadi AA, Thabet L. Profil moléculaire et résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases chez le brûlé. *Ann Burns Fire Disasters*. 2019;32(3):203-9.
- Zhang B, Zhu Z, Jia W et al. In vitro activity of aztreonam-avibactam against metallo- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae-A multicenter study in China. *Int J Infect Dis*. 2020;97:11-8.
- Bose P, Rangnekar A, Desikan P. NDM-beta-lactamase-1: Where do we stand? *Indian J Med Res*. 2022;155(2):243-52.
- Khan A, Erickson SG, Pettaway C et al. Evaluation of susceptibility testing methods for aztreonam and ceftazidime-avibactam combination therapy on extensively drug-resistant Gram-negative organisms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65(11):e0084621.
- IDSA. IDSA 2024 guidance on the treatment of antimicrobial resistant Gram-negative infections. 2024.



The NEW BD BACTEC™ FX40

Highest-quality Blood Culture results made available to all labs



Helping all people
live healthy lives

Enhance clinical outcomes by implementing a standardized and quality controlled Blood Culture System

- Proven superior fluorescent sensor technology
- Continuous monitoring of microbial growth
- Simple workflow
- User friendly touch screen
- Compact bench top modules that grows with lab testing volume needs, with 40 vials increments



Evaluation de la performance du test BD Phoenix NMIC 505 pour la détection et la classification des carbapénèmases

Performance evaluation of automated BD Phoenix NMIC 505 panel for carbapenemase detection and classification

B. Ben Della, S Dhraief, B. Maamar, L. Thabet

Laboratoire de Biologie Médicale, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés de Ben Arous, Tunisie

Correspondance:

B. Ben Della

Laboratoire de biologie médicale, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, Ben Arous, Tunisie

Email:

RÉSUMÉ Les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) constituent une menace pour la santé publique. Leur détection rapide et fiable est devenue un défi majeur en microbiologie. Certains systèmes automatisés proposent ainsi la détection et la classification des carbapénèmases chez ces EPC.

C'est dans ce cadre qu'on avait étudié la performance du BDPhoenix Emerge NMIC-505 panel dans la détection et la classification des carbapénèmases chez les entérobactéries en comparaison avec la méthode moléculaire par PCR multiplex.

Il s'agit d'une étude prospective menée sur une période de quatre mois (septembre- décembre 2022) incluant toutes les entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes isolées chez les brûlés. Nous avons procédé pour chaque souche à une étude moléculaire pour la détection des principaux gènes codant pour les carbapénèmases (blaKPC, blaNDM, blaVIM, blaIMP et blaOXA-48) par PCR multiplex en temps réel (type CepheidGeneXpertCarba-R) parallèlement à une étude de la performance de BDPhoenix Emerge NMIC-505 panel pour la détection et la classification de ces carbapénèmases.

Nous avons inclus 41 entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes. Selon l'étude moléculaire, 40 souches étaient productrices de carbapénèmases dont 31 souches NDM, trois OXA-48, six souches productrices à la fois de deux types de carbapénèmases : cinq NDM+OXA-48 et une NDM+VIM. Une seule souche avait une PCR négative.

Le BDPhoenix Emerge panel a montré une excellente performance pour la détection des carbapénèmases ; Nos 40 EPC ont été toutes catégorisées productrices de carbapénémase par cet automate. La souche ayant une PCR négative a été détectée comme productrice de carbapénémase de classe B par cette méthode.

La détermination de la classe des carbapénèmases par ce panel était concordante au génotype dans 65% des cas (26/40). Toutes les souches OXA-48 ont été correctement catégorisées (classe D) par le panel (3/3). Pour les souches NDM, 23/31 étaient correctement catégorisées (classe B), 7 étaient non classées (classe indéterminée) et une souche était faussement classée (classe D). Les 5 souches NDM+ OXA48 étaient classées appartenant à la classe D (4/5) ou à la classe B (1/5). En aucun cas, le panel BD Phoenix Emerge n'a spécifié les deux classes de carbapénèmases produites par la même souche. Au total, le panel avait une sensibilité de 100% et une spécificité de 86.8% pour classer les carbapénèmases de type OXA-48 comme appartenant à la classe D tandis qu'elles étaient de 66,6% et 77,7% respectivement pour catégoriser les carbapénèmases de type NDM comme appartenant à la classe B.

Notre étude a montré une bonne performance du BDPhoenix Emerge NMIC-505 panel pour la détection des carbapénèmases chez les entérobactéries. La classification des carbapénèmases était concordante au génotype pour les sérines-carbapénèmases (OXA-48), moins performante pour les métallob-lactamases (NDM) et pour les associations de deux types de carbapénèmases.

Mots clés: BD Phoenix NMIC 505, carbapénémase, OXA-48, NDM, VIM, EPC

ABSTRACT Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) are a threat to public health. Their rapid and reliable detection has become a major challenge in clinical microbiology. Some automated assays are now available to detect and classify carbapenemases produced by these EPCs. Here, we tested the performance of BDPhoenix Emerge NMIC-505 panel in identifying carbapenemase production and assignment to Ambler classes in comparison to a multiplex carbapenemase PCR assay.

This is a prospective study conducted over a four-month period (September-December 2022) including all Enterobacteriaceae with reduced susceptibility to carbapenems isolated from burn patients. For each strain, we performed a molecular study for the detection of the main genes coding for carbapenemases (blaKPC, blaNDM, blaVIM, blaIMP and blaOXA-48) by multiplex real-time PCR (CepheidGeneXpertCarba-R type) in parallel with a study of the performance of BDPhoenix Emerge NMIC-505 panel for the detection and classification of these carbapenemases.

We included 41 enterobacteria with reduced susceptibility to carbapenems. According to the molecular study, 40 strains were carbapenemase producers, including 31 NDM strains, three OXA-48 strains, six strains producing both types of carbapenemases: five NDM+OXA-48 and one NDM+VIM. Only one strain had a negative PCR.



The BDPhoenix Emerge panel showed excellent performance for the detection of carbapenemases; our 40 EPCs were all categorized as carbapenemase producers by this automated assay. The strain with a negative PCR was detected as class B carbapenemase producer. The determination of the carbapenemase class by this panel was correct in 65% of cases (26/40). All OXA-48 strains were correctly categorized (class D) by the panel (3/3). For the NDM strains, 23/31 were correctly categorized (class B), 7 were unclassified and one strain was misclassified (class D). The 5 NDM+ OXA48 strains were classified as class D (4/5) or class B (1/5) carbapenemase producers. In no case did the panel specify the two classes of carbapenemases produced by the same strain. Overall, the panel had a sensitivity of 100% and a specificity of 86.8% to classify carbapenemases of type OXA-48 carbapenemases as belonging to class D while they were 66.6% and 77.7% respectively for categorizing carbapenemases as belonging to class B. Our study showed a good performance of the BDPhoenix Emerge NMIC-505 panel for the detection of carbapenemases for Enterobacteriaceae. The classification of carbapenemases was genotype-matched for serine carbapenemases (OXA-48), but less effective for metallo- β -lactamases (NDM) and for combinations of two types of carbapenemases.

Key words: BD Phoenix NMIC 505, Carbapenemase, OXA-48, NDM, VIM, CPE

INTRODUCTION

Les infections causées par les entérobactéries productrices de carbapénèmes (EPC) représentent un défi majeur pour la santé publique en raison de leur forte prévalence et de leur association avec une mortalité importante [1], [2]. Au cours des dernières années, il y a eu une augmentation marquée de la prévalence des EPC dans le monde entier avec un taux de mortalité d'environ 50% [3]. Cette augmentation est particulièrement préoccupante pour les populations à haut risque telles que les patients traités dans les services d'hématologie et les unités de soins intensifs telles que les services de réanimation des brûlés, où les infections à EPC sont associées à une durée de séjour prolongée et à des taux de mortalité élevés [4], [5]. Les entérobactéries deviennent résistants aux carbapénèmes principalement par deux voies : la production de carbapénèmes ou l'expression de céphalosporinases et/ou de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) en combinaison avec des modifications de la perméabilité de la paroi cellulaire [6], [7]. Il est important de noter que les carbapénèmes sont classés en quatre classes moléculaires (A, B, C et D) selon la classification d'Ambler [8] et ont des profils hydrolytiques des β -lactamines spécifiques ainsi qu'une sensibilité à l'inhibition par différents inhibiteurs. Les options thérapeutiques pour le traitement des infections liées aux EPC sont limitées, mais de nouvelles options thérapeutiques telles que des combinaisons de β -lactamines et d'inhibiteurs de β -lactamase (par exemple, ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactam) présentent une activité spécifique contre les EPC en fonction du mécanisme de résistance sous-jacent [9] et de leur classification. En effet la combinaison ceftazidime/avibactam peut réduire la mortalité due aux infections à EPC de classe A. En revanche, cette association ceftazidime/avibactam n'a pas d'action sur les EPC de classe B.

Ainsi la détection rapide et précise des EPC est essentielle pour la lutte contre les infections à ces germes résistants et la minimisation de la sélection de cette résistance et sa propagation en milieu hospitalier.

Pour ce faire, l'identification rapide par les tests PCR moléculaires multiplex disponibles, limités aux gènes codant pour les carbapénèmes les plus fréquentes, demeure un test de détection fiable mais cette méthode reste coûteuse [10], [11]

A cet égard, le test BD Phoenix CPO detect (PCD) constitue

une alternative pour la détection des EPC. Actuellement, les tests phénotypiques rapides commercialisés ne classifient pas les carbapénèmes. Néanmoins, le test BD Phoenix CPO detect est un test investigational automatisé conçu pour détecter et classer les carbapénèmes des Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

En revanche, il existe peu d'informations sur la validation des systèmes automatisés pour déterminer de manière appropriée les données de sensibilité des isolats des EPC hautement résistantes.

Dans ce cadre, on propose par ce travail d'étudier la performance du panel BD Phoenix Emerge NMIC 505 dans la détection et la classification des carbapénèmes.

MÉTHODOLOGIE

Il s'agit d'une étude prospective menée sur une période de 4 mois (septembre-décembre 2022) portant sur les souches d'entérobactéries présentant une sensibilité diminuée aux carbapénèmes et isolées chez les patients hospitalisés à l'unité de réanimation des brûlés au Centre de Traumatologie et des grands brûlés.

La sensibilité des isolats bactériens aux carbapénèmes a été testée systématiquement par CMI à l'aide de tests de gradient de diffusion (E-test) sur milieu gélosé. Les résultats ont été interprétés en fonction des seuils des concentrations critiques du CA-SFM/EUCAST 2022.

Etude moléculaire des isolats

Les isolats d'entérobactéries ayant une sensibilité diminuée aux carbapénèmes ont été testés pour la présence de gènes spécifiques codant pour les carbapénèmes par une PCR multiplex en temps réel (type Cepheid GeneXpert Carba-R), capable de détecter blaKPC, blaIMP, blaVIM, blaNDM et blaOXA-48-like et donc les gènes codant pour les carbapénèmes les plus répandus en Tunisie.

Test de détection des EPC par BD Phoenix CPO detect (PCD)

Le test a été réalisé avec le panel AST BD Phoenix NMIC-505 conformément aux recommandations du fabricant. Les isolats ont été récupérés à partir de culture pure ne datant pas de plus de 24 heures sur gélose. Les plaques NMIC-505 ont été inocuées à l'aide de l'instrument Phoenix AP et analysées par le système AST semi-automatique Phoenix M50. Le panel NMIC-505 se



compose de puits contenant des agents antimicrobiens pour les tests de sensibilité aux antibiotiques et d'autres puits avec des tests pour détecter les carbapénèmases contenant divers inhibiteurs de β -lactamase. Les résultats sont fournis après 16 heures d'incubation.

Les isolats testés positifs pour l'activité carbapénèmase sont catégorisés par le BD Phoenix selon la classification d'Ambler mais peuvent ne pas être assignés à une classe d'Ambler spécifique et sont donc interprétés comme non typables.

La précision du test BD Phoenix Emerge pour détecter les carbapénèmases et leur catégorisation selon la classification d'Ambler a été comparée aux résultats de l'étude moléculaire des souches isolées.

RÉSULTATS

Détection des carbapénèmases

Sur un total de 41 souches recensées d'entérobactéries présentant une sensibilité diminuée aux carbapénèmes, la répartition des espèces identifiées montrait: *Klebsiella pneumoniae* (n=22), *Providencia rettgeri* (n=6), *Providencia stuartii* (n=5), *Proteus mirabilis* (n=5), *Escherichia coli* (n=1), *Klebsiella oxytoca* (n=1) et *Enterobacter cloacae* (n=1).

L'étude moléculaire par PCR multiplex de ces souches était positive chez 40/41 des isolats d'entérobactéries dont 31 métallobêta-lactamases de classe B et qui étaient toutes de type NDM et 3 carbapénèmases de classe D de type Oxa-48.

L'association de deux carbapénèmases était présente chez 6 souches de *Klebsiella pneumoniae* ayant présentés plus d'un gène codant pour les carbapénèmases : NDM + Oxa-48 (n=5), VIM+NDM (n=1). Une seule souche d'entérobactérie de sensibilité diminuée aux carbapénèmases montrait une étude moléculaire négative par PCR dont aucun gène de résistance n'avait été détecté.

La performance du panel BD-Phoenix Emerge NMIC-505 en matière de détection et de classification des carbapénèmases était analysée par rapport aux 41 souches collectées dont 40 catégorisés par biologie

moléculaire des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) et 1 souche non-EPC.

Le panel BD Phoenix Emerge avait détecté correctement les 41 souches en tant que bactéries productrices de carbapénèmase ce qui est concordant à l'antibiogramme de référence qui avait montré une sensibilité diminuée aux carbapénèmes de ces souches.

En comparaison avec la PCR multiplex de détection des carbapénèmases, le panel BD Phoenix Emerge n'avait documenté aucun faux négatif mais un seul faux positif, conduisant à une spécificité de 97,5 % et une sensibilité de 100 %. Le faux positif était une souche de *Providencia rettgeri* catégorisée EPC classe B par BD Phoenix Emerge et qui présentait une étude moléculaire négative pour les carbapénèmases et une sensibilité diminuée aux carbapénèmes sur l'antibiogramme de référence. Cette souche pourrait exprimer un type de carbapénèmase qui n'est pas détecté par la PCR multiplex du Genexpert.

Classification des carbapénèmases

La performance du BD Phoenix Emerge pour la classification des carbapénèmases était également évaluée. Parmi les 41 souches d'entérobactéries détectées productrices de carbapénèmase par le panel BD Phoenix Emerge, 34 isolats étaient attribués à une classe de carbapénèmase (82,9 %) selon la classification d'Ambler et 7 souches étaient détectées mais non attribuées à une classe précise selon la classification d'Ambler (17,1%).

Les entérobactéries non classées par le panel étaient toutes des souches porteuses de gènes codant pour la carbapénèmase de classe B de type NDM.

Parmi les 34 carbapénèmases classées par le panel, six erreurs de classification ont été observées, ce qui donne une précision de 82,4% (voir tableau 1). Les erreurs de classifications étaient majoritairement observées chez les souches présentant une association de 2 carbapénèmases : 5 NDM+Oxa-48 ont été catégorisées soit une carbapénèmase de classe D (n=4/5) soit une carbapénèmase de classe B (n=1/5) par BD Phoenix Emerge. Néanmoins une souche porteuse d'une carbapénèmase de classe B de type NDM était catégorisée une carbapénèmase de classe D par BD Phoenix.

Tableau 1.

	<u>Genexpert</u>	<u>BD Phoenix Emerge</u>		<u>Précision</u>	<u>Sensibilité</u>	<u>Spécificité</u>
		Vrai positif	Faux positif			
NDM	31	24	2	92,3%	66,6%	77,7%
Oxa-48	3	3	5	37,5%	100%	86,8%
NDM+Oxa-48	5	0	0	0%	0%	
NDM+VIM	1	0	0	0%	0%	

Ce panel BD Phoenix permet également une évaluation automatisée d'autres classes d'antibiotiques ainsi que les nouvelles combinaisons d'inhibiteurs de bêta-lactamases, telle que ceftazidime/avibactam (CAZ/AVI).

Les taux de résistance à l'association (CAZ/AVI) par

antibiogramme standard et le panel Phoenix étaient respectivement de 90,2% (37/41) et 92,7% (38/41). Ainsi une surestimation de la résistance de l'association (CAZ/AVI) était effectuée par le panel BD Phoenix.



Les souches testées étaient sensibles à l'association (CAZ/AVI) par antibiogramme standard dans 9,8% (4/41) des cas : 3 souches de *Klebsiella pneumoniae* présentant une carbapénémase de type OXA-48 et une souche de *Providenciaretgerri* dont l'étude moléculaire était négative.

DISCUSSION

Cette étude visait à déterminer l'utilité du panel BD Phoenix NMIC-500 pour détecter la production de carbapénémase (PCD) et à classer les enzymes respectives selon la classification d'Ambler [12]. Comme décrit précédemment par d'autres études[7], [13], [14], le test PCD fournit des résultats précis pour l'identification de la résistance aux carbapénèmes, avec des résultats disponibles en moins de 16 heures. En outre, le test PCD s'est avéré capable d'identifier la production de carbapénémase dans notre collection d'isolats avec une sensibilité globale élevée (100 %), ainsi qu'une très bonne spécificité (97,5 %).

Les résultats de notre étude étaient proches à celles de l'étude faite par Simon et al. au cours de laquelle la détection des producteurs de carbapénémases était sensible à 100% et spécifique à 55,3% dans l'évaluation de 57 Entérobactéries productrices de carbapénémases et 38 Entérobactéries non productrices de carbapénémases[14].

Une étude récente faite par Laura et al. avait classé 178/194 isolats résistants aux carbapénèmes par l'antibiogramme de référence comme organismes producteurs de carbapénémases EPC. Par rapport à la méthode de référence, pour les entérobactéries, la sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 100 % et de 17,65 %[15]. Ces résultats étaient conformes à une autre étude faite par Thomson et al., 2017 avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 15%[7].

L'étude de Park et al. a montré une capacité prometteuse du panel BD Phoenix NMIC-500 pour la détermination de la CMI et la détection des bactéries productrices de carbapénémase dans un grand nombre d'isolats cliniques de BGN[16].

Selon Hanwool Cho et al. la sensibilité de la détection de l'EPC par BD Phoenix était très élevée (97,9 %). Cependant, la spécificité, bien que de 100 % pour les isolats sensibles aux carbapénèmes, était faible pour les isolats résistants aux carbapénèmes (32,7 %)[17].

Une spécificité plus élevée a été observée selon l'étude de l'Ong 2018 ; la sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 89,4 % et de 66,7 % pour le panel BD Phoenix[13].

De ce fait, le panel BD Phoenix NMIC-500 a montré une grande concordance avec les méthodes de références conventionnelles.

Les différences observées dans les études disponibles concernant la spécificité du BD Phoenix peuvent être dues à un certain nombre de facteurs différents comme la taille globale de l'échantillon et le niveau d'expression des carbapénémases isolés.

Cependant, 65/79 (82,28 %) des isolats carbapénémase-négatifs ont également été identifiés comme productrices de carbapénémase par le BD Phoenix (faux positifs ; Entérobactéries, n = 14, *P. aeruginosa*, n = 51)[13].

Selon Simon et al., les résultats faussement positifs proviennent d'isolats non producteurs de carbapénémases, mais non sensibles aux carbapénèmes[14]. Un autre mécanisme de résistance aux carbapénèmes, comme l'imperméabilité à ces antibiotiques, peut être incriminé. Une autre limite de l'étude est la restriction de la méthode de référence à ne détecter que les gènes identifiés par PCR codant pour les carbapénémases les plus courantes, notamment les carbapénémases de classe A (KPC, GES, NMC-A/IMI, BIC, SME), de classe B (VIM, NDM, IMP), et de classe D (Oxa-48, Oxa-23, Oxa-24)[18], [19].

La présence de carbapénémases non couvertes par le test PCR utilisé ne peut pas être exclue.

Néanmoins, une preuve concluante ne peut certainement être obtenue que par le séquençage du génome entier.

Ce nouveau panel BD fournit une évaluation automatisée de la sensibilité à la ceftazidime/avibactam (CAZ/AVI), ce qui pourrait aider le clinicien à administrer un traitement efficace contre les isolats à Gram négatif résistants aux carbapénèmes[20]. Comme prévu, tous les organismes producteurs de métallo- β -lactamases étaient résistants au CAZ/AVI[20].

Pour Laura et al. la classification des carbapénémases de classes A, B et D, a été correctement effectuée par le BD Phoenix dans 79,17 % des cas ce qui est proche des résultats obtenus dans notre étude au cours de laquelle la catégorisation des souches selon la classification d'Ambler a été correcte chez 82,9% des isolats[15].

Ces résultats contrastent peu avec ceux publiés récemment, qui montrent que 94,6 % des isolats ont été correctement classés dans une classe d'Ambler[21].

D'autres avaient cependant rapporté une précision globale similaire de 85,0 %, 68,99 % et 78,95% pour la classification des carbapénémases par le BD Phoenix[7], [13], [14].

Pour la classe D, la classe de carbapénémase était correctement catégorisée dans tous les isolats. Cependant, ce résultat est limité par le fait que le nombre d'isolats était trop faible. D'après la littérature, le taux de classification correcte des carbapénémases de classe D était similaire à la nôtre : >95% chez Simon et al, Croxatto et al, Park et al.[14], [16], [21], 92,3% au cours de l'étude faite par Ong et al et 88,6 % de concordance dans le travail de Thomson et al.[7], [13].

Quant aux métallo-B-lactamases de classe B, des études ont observé un taux de classification correcte de cette classe d'Ambler par le BD Phoenix d'environ 70%[7], [16], [21].

Cependant, d'autres études ainsi que notre enquête avaient rapporté une meilleure sensibilité de la classification de la classe B d'Ambler ; > 90% des isolats hébergeant des carbapénémases de classe B présentaient des résultats de classification corrects par le BD Phoenix [13], [14], [17].

Cette différence des taux de classification correcte entre



les études pourrait avoir pour origine les variations des types de carbapénèmases, des espèces des isolats et des mécanismes de résistance sous-jacents.

Il convient de noter qu'aucun des producteurs de carbapénèmases de classe B ou D n'a été classé à tort comme carbapénémase de classe A, ce qui est conforme à l'étude de Thomson et al et Hanwool et al[7], [17]. Ce résultat est important en ce qui concerne le traitement avec de nouvelles combinaisons d'inhibiteurs de β -lactamase telles que la (CAZ/AVI). En effet, selon la Haute Autorité de Santé (HAS), ceftazidime-avibactam est un traitement de dernier recours réservé aux patients atteints d'infections à entérobactéries sensibles au ceftazidime-avibactam et pour lesquels le recours aux carbapénèmes n'est pas envisageable en cas de résistance, notamment avec un mécanisme de résistance de type KPC ou OXA-48[22]. Néanmoins, association (CAZ/AVI) n'a pas d'action sur les carbapénèmases de la classe B.

Dans la présente étude, 7/41 souches n'ont pas été assignés à une classe spécifique d'Ambler.

Ceci était également observé dans l'étude de Laura et al[15].

En effet, le test BD Phoenix n'est pas en mesure de distinguer les carbapénèmases, si plusieurs carbapénèmases sont présentes[14]. Dans la littérature ainsi que dans la présente étude, la plupart des isolats présentant des carbapénèmases doubles ont été déterminés comme positifs sans fournir de classification d'Ambler ou en attribuant seulement une des carbapénèmases impliquées à l'organisme respectif[14], [15], [23].

Pour remédier à cette situation, on peut effectuer des tests supplémentaires de confirmation pour les résultats positifs par le BD Phoenix, si aucune classification d'Ambler n'est fournie.

Ainsi le test BD présente l'avantage, par rapport aux méthodes traditionnelles basées sur les inhibiteurs, d'une détection plus facile assistée par ordinateur et basée sur un algorithme. Le test est non seulement moins coûteux que les méthodes moléculaires, mais aussi abordable et facile à réaliser avec un temps d'intervention réduit (~1-2 min) et les résultats sont disponibles dans les 18 h à partir d'une croissance bactérienne cultivée[24].

Cependant notre étude n'avait pas inclus suffisamment d'isolats carbapénèmases négatifs. Bien que certaines études indiquent que les résultats carbapénèmases négatifs peuvent être rapportés sans test de confirmation, et que les résultats carbapénèmases positifs indiquent que l'isolat est hautement suspect d'EPC.

Enfin, notre étude n'avait inclus qu'un répertoire limité d'EPC dans notre évaluation. Par exemple, les souches avec des enzymes KPC et IMI de la classe A d'Ambler manquaient.

Comme tous les organismes testés ont démontré une résistance aux carbapénèmes, ces données ne sont pas applicables aux isolats sensibles aux carbapénèmes.

CONCLUSION

En conclusion, les données présentées ici démontrent que le test BD Phoenix PCD est un outil fiable pour la détection des EPC avec une sensibilité et spécificité élevées.

De ce fait, le Phoenix NMIC 505 test représente probablement un nouvel outil de diagnostic à valeur ajoutée pour la détection et la gestion de l'infection et de la colonisation par les EPC.

Enfin, la mise en œuvre du test dans les flux de travail de routine permet une réduction significative des délais du rendu des résultats, du temps de travail et des coûts par rapport à l'approche conventionnelle. Dans l'ensemble, la mise en œuvre du test Phoenix NMIC 505 pourrait avoir un impact positif sur les flux de travail des laboratoires, mais aussi sur les décisions thérapeutiques et le contrôle des infections.

RÉFÉRENCES

- H. Grundmann et al., « Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE): a prospective, multinational study », *Lancet Infect Dis*, vol. 17, no 2, p. 153-163, févr. 2017, doi: 10.1016/S1473-3099(16)30257-2.
- J. Ho, P. A. Tambyah, et D. L. Paterson, « Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective », *Curr Opin Infect Dis*, vol. 23, no 6, p. 546-553, déc. 2010, doi: 10.1097/QCO.0b013e32833f0d3e.
- L. K. Logan et R. A. Weinstein, « The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: The Impact and Evolution of a Global Menace », *J Infect Dis*, vol. 215, no suppl_1, p. S28-S36, févr. 2017, doi: 10.1093/infdis/jiw282.
- J. Hughes, S. D. Goldenberg, O. Tosas, J. D. Edgeworth, et J. A. Otter, « Recent emergence of carbapenem-resistant organisms in a low prevalence UK setting in London », *J Infect Prev*, vol. 17, no 3, p. 130-134, mai 2016, doi: 10.1177/1757177415622693.
- B. Cai et al., « Prevalence of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Infections in the United States Predominated by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* », *Open Forum Infect Dis*, vol. 4, no 3, p. ofx176, août 2017, doi: 10.1093/ofid/ofx176.
- F. S. Codjoe et E. S. Donkor, « Carbapenem Resistance: A Review », *Med Sci (Basel)*, vol. 6, no 1, p. 1, déc. 2017, doi: 10.3390/medsci6010001.
- G. Thomson, D. Turner, W. Brasso, S. Kircher, T. Guillet, et K. Thomson, « High-Stringency Evaluation of the Automated BD Phoenix CPO Detect and RapidecCarba NP Tests for Detection and Classification of Carbapenemases », *J Clin Microbiol*, vol. 55, no 12, p. 3437-3443, déc. 2017, doi: 10.1128/JCM.01215-17.
- R. P. Ambler, « The structure of beta-lactamases », *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, vol. 289, no 1036, p. 321-331, mai 1980, doi: 10.1098/rstb.1980.0049.
- D. Wong et D. van Duin, « Novel Beta-lactamase Inhibitors: Unlocking Their Potential in Therapy », *Drugs*, vol. 77, no 6, p. 615, avr. 2017, doi: 10.1007/s40265-017-0725-1.
- J. Monteiro, R. H. Widen, A. C. C. Pignatari, C. Kubasek, et S. Silbert, « Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR », *J Antimicrob Chemother*, vol. 67, no 4, p. 906-909, avr. 2012, doi: 10.1093/jac/dkr563.
- L. Poirel, T. R. Walsh, V. Cuvillier, et P. Nordmann, « Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes », *Diagn Microbiol Infect Dis*, vol. 70, no 1, p. 119-123, mai 2011, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002.
- B. G. Hall et M. Barlow, « Revised Ambler classification of {beta}-lactamases », *J Antimicrob Chemother*, vol. 55, no 6, p. 1050-1051,



- juin 2005, doi: 10.1093/jac/dki130.
13. C. H. Ong, L. Ratnayake, M. L. T. Ang, R. T. P. Lin, et D. S. G. Chan, « Diagnostic Accuracy of BD Phoenix CPO Detect for Carbapenemase Production in 190 Enterobacteriaceae Isolates », *J Clin Microbiol*, vol. 56, no 12, p. e01043-18, nov. 2018, doi: 10.1128/JCM.01043-18.
 14. M. Simon, S. Gatermann, Y. Pfeifer, U. Reischl, A. Gessner, et J. Jantsch, « Evaluation of the automated BD Phoenix CPO Detect panel in combination with the β -CARBA assay for detection and classification of carbapenemase-producing Enterobacterales », *J Microbiol Methods*, vol. 156, p. 29-33, janv. 2019, doi: 10.1016/j.mimet.2018.11.024.
 15. L. Berneking et al., « Performance of the BD Phoenix CPO detect assay for detection and classification of carbapenemase-producing organisms », *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 40, no 5, p. 979-985, mai 2021, doi: 10.1007/s10096-020-04094-1.
 16. B. Y. Park et al., « Performance Evaluation of the Newly Developed BD Phoenix NMIC-500 Panel Using Clinical Isolates of Gram-Negative Bacilli », *Ann Lab Med*, vol. 39, no 5, p. 470-477, sept. 2019, doi: 10.3343/alm.2019.39.5.470.
 17. H. Cho et al., « Performance evaluation of automated BD Phoenix NMIC-500 panel for carbapenemase detection in carbapenem-resistant and carbapenem-susceptible Enterobacterales », *J Microbiol Methods*, vol. 177, p. 106042, oct. 2020, doi: 10.1016/j.mimet.2020.106042.
 18. A. van der Zee, L. Roorda, G. Bosman, et J. M. Ossewaarde, « Screening Rectal Swabs for Carbapenemase Genes », *J Clin Microbiol*, vol. 52, no 12, p. 4401-4403, déc. 2014, doi: 10.1128/JCM.02256-14.
 19. K. S. Thomson, « Extended-Spectrum- β -Lactamase, AmpC, and Carbapenemase Issues », *J Clin Microbiol*, vol. 48, no 4, p. 1019-1025, avr. 2010, doi: 10.1128/JCM.00219-10.
 20. I. Saad Albichr, A. Anantharajah, M. Dodémont, M. Hallin, A. Verroken, et H. Rodriguez-Villalobos, « Evaluation of the automated BD Phoenix CPO Detect test for detection and classification of carbapenemases in Gram negatives », *Diagn Microbiol Infect Dis*, vol. 96, no 2, p. 114911, févr. 2020, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114911.
 21. A. Croxatto, A. T. Coste, T. Pillonel, C. Bertelli, G. Greub, et G. Prod'homme, « Evaluation of the BD PhoenixTM CPO Detect Test for the detection of carbapenemase producers », *Clin Microbiol Infect*, vol. 26, no 5, p. 644.e9-644.e15, mai 2020, doi: 10.1016/j.cmi.2019.10.002.
 22. « Haute Autorité de Santé - ZAVICEFTA (avibactam/ ceftazidime) ». Consulté le: 4 juin 2024. [En ligne]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3152692/fr/zavicefta-avibactam/-ceftazidime
 23. D. Jonas et al., « Evaluation of the BD Phoenix CPO detect panel for prediction of Ambler class carbapenemases », *Sci Rep*, vol. 11, no 1, p. 13150, juin 2021, doi: 10.1038/s41598-021-92336-3.
 24. P. D. Tamma et P. J. Simner, « Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates », *J Clin Microbiol*, vol. 56, no 11, p. e01140-18, nov. 2018, doi: 10.1128/JCM.01140-18.





Experience the modularity of the new BD Phoenix™ M50

Discover how the BD Phoenix™ M50 system can be combined with other BD microbiology solution modules to help:

- Detect current and emerging resistances accurately
- Adapt to various organizations and cope with changes in activity
- Accelerate ID/AST results reporting
- Increase laboratory efficiency





Le dépistage du paludisme chez les étudiants étrangers pour un meilleur contrôle de la maladie en Tunisie

Screening of Malaria among foreign students for a better control of the disease in Tunisia

Emna Siala^{1,3}, Soumaya Benna¹, Nada Boulehmi¹, Aïda Bouratbine^{1,3}, Karim Aoun^{2,3}

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

² Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaires, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

³ Laboratoire de recherche LR 20-IPT-06 «Parasitologie médicale, Biotechnologies et Biomolécules», Institut Pasteur de Tunis, Tunisie. Université de Tunis El Manar.

Correspondance:

Emna Siala

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Laboratoire de recherche LR 0-IPT-06 « Parasitologie médicale, Biotechnologies et Biomolécules », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.

Email: emnasiala99@gmail.com

RÉSUMÉ Le dépistage des cas importés de paludisme est un axe majeur du programme de maintien de l'élimination de la maladie en Tunisie. L'objectif de cette étude était d'établir la prévalence du paludisme chez les étudiants étrangers asymptomatiques et de discuter les modalités biologiques de leur surveillance.

Il s'agit d'une étude rétrospective concernant 2132 étudiants originaires de zones d'endémie palustre adressés pour dépistage du paludisme entre septembre 2021 et juin 2024. Chaque individu a eu un prélèvement sanguin sur lequel ont été réalisés un frottis sanguin, une goutte épaisse et un test de diagnostic rapide.

Cinquante-huit étudiants se sont révélés porteurs de *Plasmodium* (2,7%) à la microscopie. Les parasitémies étaient faibles inférieures à 500 parasites/ μ l dans 89,7% des cas. *Plasmodium falciparum* était l'espèce prédominante (98,3%). Les sujets parasités étaient principalement originaires de la République démocratique du Congo (36,2%), de Côte d'Ivoire (20,7%) et du Cameroun (12,1%). Les tests rapides avaient une sensibilité et une spécificité respectives de 79,31% [Intervalle de confiance (IC) : 68,89-89,73] et de 99,85% [IC : 99,69-100].

Ces résultats confirment l'importance de la surveillance des sujets à risque même ceux asymptomatiques. L'introduction de la PCR serait utile pour améliorer la détection des faibles parasitémies observées.

Mots-clés : Paludisme d'importation, examen microscopique, test de diagnostic rapide, dépistage, Tunisie

ABSTRACT Screening imported Malaria cases is crucial for maintaining Tunisia free of the disease. This study aimed to establish the prevalence of Malaria among asymptomatic students originated from endemic countries and to discuss the biological strategy of their surveillance.

This retrospective study included 2132 students referred for malaria screening between September 2021 and June 2024. Each individual had a blood sample which was used to prepare a blood smear, a thick drop and to perform a rapid malaria diagnostic test.

Fifty-eight students (2.7%) revealed carriers of *Plasmodium* by microscopy. Parasitemia was less than 500 parasites/ μ l in 89.7% of cases. *Plasmodium falciparum* was the predominant identified species (98.3%). The parasitized subjects were mainly from the Democratic Republic of Congo (36.2%), Ivory Coast (20.7%) and Cameroon (12.1%). The rapid tests had a sensitivity and specificity of 79.31% (Confidence Interval [CI]: 68.89-89.73) and 99.85% (CI: 99.69-100), respectively.

These results highlight the need for a rigorous surveillance of individuals at risk of Malaria including asymptomatic ones. The use of PCR should be considered to improve the detection of low parasite loads observed.

Key words: Imported malaria, microscopic examination, rapid diagnostic test, screening, Tunisia



INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie infectieuse causée par un parasite du genre *Plasmodium* (P.), transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique vecteur l'anophèle [1]. Le spectre clinique de cette infection s'étend de formes asymptomatiques à des accès graves potentiellement mortels [2]. Le paludisme demeure un problème majeur de morbidité et de mortalité et ce malgré les efforts déployés pour réduire son incidence. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 263 millions de cas et 597 000 décès ont été recensés dans le monde en 2023 [3]. En Tunisie, la transmission autochtone du paludisme a été interrompue en 1980 grâce au programme d'élimination entrepris avec l'aide de l'OMS [4]. Cependant, devant la persistance de l'anophélisme à travers le pays [5], les cas importés constituent une menace de réintroduction de la parasitose justifiant une surveillance rigoureuse [6]. Pour cela, un programme de dépistage a été instauré chez les sujets à risque de portage de *Plasmodium* [7]. La surveillance s'avère utile particulièrement chez les étudiants originaires d'Afrique subsaharienne (ASS) de loin la région la plus touchée par la maladie [3]. Il est à signaler que cette population est en augmentation régulière ces dernières années. Le dépistage systématique du paludisme repose sur l'examen microscopique du frottis sanguin (FS) et de la goutte épaisse (GE), qui sont exigeants en expertise et en temps de lecture assez long [8]. Depuis quelques années, les tests de diagnostic rapides (TDR) basés sur le principe de l'immunochromatographie sont de plus en plus utilisés [9]. Ils détectent les antigènes parasitaires spécifiques, principalement la protéine riche en histidine de *P. falciparum* (HRP-2) ainsi que la lactate déshydrogénase (pLDH) et l'aldolase produites par les 5 espèces plasmodiques pathogènes pour l'homme [10]. Les performances de ces tests sont variables selon les études et les contextes épidémiologiques [11].

L'objectif de cette étude était d'établir la prévalence du paludisme chez les étudiants asymptomatiques originaires des pays endémiques et de discuter les modalités de leur dépistage afin de mieux contrôler l'élimination de cette parasitose dans notre pays.

MATERIEL ET METHODES

Population étudiée

Il s'agissait d'une étude rétrospective colligeant des étudiants étrangers originaires des zones d'endémie palustre. Ces derniers étaient inscrits dans des universités de la région de Tunis et ont été adressés au laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis de septembre 2021 à juin 2024 pour dépistage du paludisme. Pour chaque individu, une fiche de renseignements a été remplie précisant l'âge, le sexe, le pays d'origine, les antécédents de paludisme, une éventuelle symptomatologie clinique ou prise de

médicaments antipaludiques. Les étudiants ayant signalé des antécédents de paludisme, de la fièvre ou l'utilisation de médicaments antipaludiques dans le mois précédant le dépistage n'ont pas été inclus.

Méthodes

Tous les étudiants ont eu un prélèvement sanguin périphérique sur un tube d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). La recherche du *Plasmodium* a été effectuée par l'examen microscopique du FS et de la GE colorés avec une solution de Giemsa à 10% et par la réalisation d'un TDR du paludisme. Deux TDR détectant respectivement l'antigène HRP2 (histidine-rich protein 2) spécifique de *P. falciparum* (test ABON Plus®) et l'antigène Aldolase des différentes espèces plasmodiales (test I-Test®) ont été utilisés selon la disponibilité. La parasitémie a été calculée sur le FS, en supposant une moyenne de 5 000 000 globules rouges par µl de sang [12].

Considérations éthiques

Les étudiants ont été adressés par leurs universités dans le cadre du programme national de lutte contre le paludisme (PNLP, Ministère de la santé). L'anonymat a été respecté avec l'attribution d'un code à chaque individu avant la saisie des données. Chaque étudiant a reçu un résultat personnel des analyses réalisées. En cas de positivité, les sujets concernés ont été orientés vers des centres de soins spécialisés pour une prise en charge (PEC) gratuite.

Analyse statistique

Les données ont été analysées avec le logiciel EpiInfo version 6,04. La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative des TDR ont été calculées avec un intervalle de confiance (IC) à 95% en considérant la microscopie comme méthode de référence.

RÉSULTATS

Description de la population étudiée

Au total, 2123 étudiants ont été inclus dans l'étude. Tous étaient originaires d'ASS. La République démocratique du Congo (29,4%), la Côte d'Ivoire (21,3%), l'Union des Comores (13,1%) et le Cameroun (11,1%) ont été les pays les plus représentés (Figure 1).



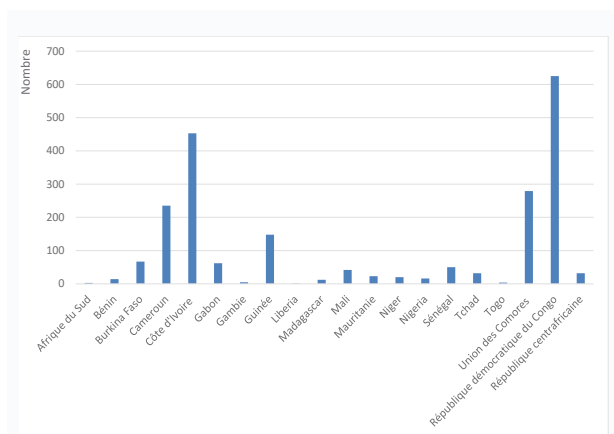


Figure 1. Répartition des étudiants selon le pays d'origine

Le sex-ratio était de 1,7 avec une prédominance masculine (63,4%). La moyenne d'âge était de $26,4 \pm 5,7$ ans.

Résultats parasitologiques

Résultats de la microscopie

Cinquante-huit parmi les étudiants dépistés étaient porteurs de *Plasmodium* soit une prévalence de 2,7%. Ils avaient un âge moyen de $25,9 \pm 7$ ans et un sex-ratio H/F de 1,3. Ils étaient principalement originaires de la République démocratique du Congo (36,2%), la Côte d'Ivoire (20,7%), le Cameroun (12,1%) et la Guinée (10,3%) (Tableau I). Les prévalences les plus élevées du portage asymptomatique de *Plasmodium* concernaient les étudiants originaires du Nigeria (7,7%), du Gabon (6,5%), de la Guinée (4,1%) et

Tableau I. Prévalence du paludisme chez les étudiants originaires des pays endémiques.

Pays	Nombre d'étudiants examinés	Nombre d'étudiants parasités	Prévalence*	%**
Nigeria	13	1	7.7%	1.7%
Gabon	62	4	6.5%	6.9%
Guinée	148	6	4.1%	10.3%
Sénégal	50	2	4.0%	3.4%
Cameroun	235	7	3.0%	12.1%
RD Congo	625	21	3.4%	36.2%
Côte d'Ivoire	453	12	2.6%	20.7%
Comores	279	4	1.4%	6.9%
Centre Afrique	32	1	3.1%	1.7%
		58		100.0%

**Prévalence par rapport au nombre d'étudiants examinés

**Pourcentage par rapport au nombre d'étudiants parasités

P. falciparum était l'espèce plasmodiale prédominante rencontrée chez 98,3% des sujets parasités. Une seule infection mixte à *P. falciparum* et *P. ovale* a été détectée. L'espèce plasmodiale n'a pu être identifiée chez un individu à cause de la rareté des trophozoïtes observés uniquement sur la GE. Les parasitémies étaient inférieures à 0,01% (500 parasites/ μ l) dans 89,7% (52/58) des cas. Neuf individus (15,5%) étaient porteurs de gamétocytes.

Résultats des TDR

Les TDR ont détecté 46 positifs parmi les 58 cas révélés infectés en microscopie, soit une sensibilité de 79,31% [IC : 68,89-89,73]. Les 12 faux négatifs (FN) en TDR correspondaient tous à des infections par *P. falciparum* et avaient tous des parasitémies faibles (<500 Parasites/ μ l). La sensibilité des TDR était corrélée et augmente avec la parasitémie. Ainsi, elle était de 76,92% [IC:65,47-88,37] pour des parasitémies ≤ 500 parasites/ μ l et atteint 100% pour celles supérieures à ce seuil. Trois prélèvements sanguins positifs au TDR étaient négatifs en microscopie ce qui donne une spécificité des TDR de 99,85% [IC : 99,69-100]. Les valeurs prédictives positive et négative des TDR étaient respectivement de 93,88% [IC : 87,17-100] et de 99,42% [IC : 99,1-99,75]. La comparaison des

résultats des TDR à ceux de la microscopie est rapportée dans le tableau II.

Tableau II. Comparaison des TDR et de la microscopie dans le diagnostic du paludisme chez les étudiants originaires des pays endémiques

	Microscopie		
	+	-	Total
+	46	3	49
TDR -	12	2062	2074
Total	58	2065	2123

DISCUSSION

Cinquante-huit étudiants asymptomatiques originaires d'ASS parmi 2132 testés se sont révélés infectés par *Plasmodium*. La prévalence trouvée de 2,7% est proche de celle observée dans notre laboratoire lors d'une étude antérieure comparable réalisée en 2015 (3,5%) [13]. Elle est cependant supérieure à celle rapportée par Belgacem dans la région de Monastir (0,8%) [14]. Dans le monde, les prévalences du paludisme chez



des migrants asymptomatiques arrivant dans des pays non endémiques variaient de 3% à 31,8% selon le pays d'origine et les modalités de diagnostic utilisées[15]. Le portage asymptomatique de *Plasmodium* chez les immigrants de zones d'endémie serait lié à l'immunité partielle, appelée prémunition, entretenue chez ces individus par les infections répétées dont ils étaient victimes dans leurs pays d'origine [16]. Cette prémunition contrôle et limite la multiplication du parasite réduisant ainsi l'apparition des signes cliniques et leur gravité [17–19]. Chez les individus prémunis, *Plasmodium* peut persister longtemps jusqu'à 28 mois après le départ du pays d'origine d'où l'importance du dépistage régulier chez cette population [20,21].

Les étudiants parasités de notre série provenaient principalement de la République démocratique du Congo (36,2%) et de Côte d'Ivoire (20,7%). La prévalence du portage de *Plasmodium* était plus élevée chez ceux du Nigéria (7,7%), du Gabon (6,5%) et de Guinée (4,1%). Ces résultats concordant avec la répartition mondiale du paludisme incitent à la vigilance par rapport au parasitisme de la population étudiée de plus en plus nombreuse dans notre pays. En effet, son effectif est passé de 4644 en 2018-2019 à 6187 en 2022-2023.

Plasmodium falciparum était l'espèce plasmodiale majoritaire, retrouvée dans 98,3% des cas, concordant avec sa prédominance en ASS [22]. Parmi les étudiants infectés, neuf (15,5%) étaient porteurs de gamétocytes constituant ainsi une source potentielle d'infection pour les anophèles locaux. En conséquence, la surveillance épidémiologique, ainsi que celle entomologique, doivent être maintenues et renforcées en Tunisie. Il est à rappeler que plusieurs situations de reprise de la transmission autochtone du paludisme ont été signalées dans des pays ayant éliminé la maladie [23–25]. Le risque de résurgence du paludisme ne peut donc être exclu dans notre pays vu la persistance des anophèles vecteurs et la disponibilité d'un réservoir potentiel de parasites [26]. Le réchauffement climatique observé ne peut qu'exacerber ce risque d'une part en allongeant la période d'activité des vecteurs et d'autre part en créant des conditions favorables à l'introduction d'anophèles tropicaux plus compétents pour la transmission du parasite[27].

Les TDR utilisés pour le diagnostic du paludisme chez les étudiants asymptomatiques ont montré une sensibilité nettement inférieure (79,31%) à celle de la microscopie. Cette sensibilité était cependant supérieure à celle du test OptiMAL-IT® (DiaMed, Suisse) (68,8%) rapportée dans l'étude de Siala et al. réalisée en 2013 auprès de 308 étudiants asymptomatiques [28]. Dans le monde, peu de travaux ont évalué les performances des TDR par rapport à la microscopie chez les sujets asymptomatiques. Au Cameroun, le test Hexagon Malaria Combi® détectant l'antigène pLDH, a montré une sensibilité de 85,33% et une spécificité de 95,05% [29]. Dans l'étude de Tiono et al., la sensibilité du test First Response® Malaria Ag détectant l'HRP2 utilisé à 3 reprises a varié de 77,8% à 92,4% [30].

Les 12 FN du TDR de notre série correspondaient tous

à des infections avec de faibles parasitemies, inférieures à 500 parasites/ μ l (0,01%), qui induisent des taux d'antigènes en dessous du seuil de détection du test [10]. En effet, la sensibilité de ces tests est de l'ordre de 100 à 200 parasites/ μ l alors que celle de la GE est de l'ordre de 20 à 50 parasites/ μ l de sang [10,31]. La sensibilité des TDR était d'ailleurs meilleure de 100% lorsque les parasitemies dépassent les 500 parasites/ μ l. Par conséquent, l'examen microscopique demeure indispensable en cas de négativité des TDR. Il est par ailleurs à signaler que d'autres facteurs peuvent engendrer des FN des TDR comme la mutation/délétion du gène codant l'antigène HRP2 et la présence de complexes immuns circulants ou d'anticorps bloquants [32]. Les TDR peuvent également être pris à défaut en présence de stade sexué de *P. falciparum* à cause d'une faible ou absence de sécrétion d'Ag pLDH par les gamétocytes âgés [10].

Trois TDR étaient faussement positifs. Ceci pourrait s'expliquer par les réactions croisées avec des facteurs rhumatoïdes ou des anticorps faisant suite à d'autres infections bactériennes, parasitaires ou virales [33]. Les faux positifs peuvent être également dus à la persistance d'antigènes plasmodiaux après traitement [34]. En effet, de tels antigènes ont été détectés plusieurs jours voir jusqu'à 4 semaines après un traitement antipaludique efficace avec élimination de parasites viables dans le sang [35]. Pour cela, un interrogatoire rigoureux doit être toujours mené afin d'assurer une interprétation fiable des TDR.

La détection et le traitement des infections palustres asymptomatiques représentent un défi fondamental pour notre stratégie de contrôle et d'élimination de la maladie. En effet, comme l'ont montré nos résultats, ces cas sont nombreux avec une proportion non négligeable porteuse de gamétocytes potentiellement infectants pour nos anophèles. Ces infections sont caractérisées par des parasitemies très faibles pouvant échapper à l'examen microscopique et aux TDR [36]. Il est fort utile dans ces situations d'utiliser les techniques moléculaires nettement plus sensibles dont les seuils de détection sont estimés jusqu'à moins d'un parasite/ μ l [37]. D'ailleurs, deux études tunisiennes ont rapporté la supériorité de la PCR nichée comparativement à la microscopie dans la détection des plasmodiums chez les étudiants migrants, avec 5% de positivité versus 3,5% dans celle de Siala et al. et 10,2% versus 0,8% dans celle de Belgacem et al [13,14]. De même, Mendez a chiffré l'apport de la PCR chez les migrants d'ASS dans une méta-analyse en montrant une prévalence de 8% contre seulement 3% en microscopie [38]. Les techniques moléculaires sont également contributives dans la différenciation des espèces et le diagnostic des coinfections plasmodiales [37]. Actuellement, la PCR en temps réel, très sensible et adaptée à un grand nombre de prélèvements, serait la technique de choix pour détecter les faibles parasitemies observées chez les porteurs asymptomatiques[39]. Néanmoins, son coût élevé et la nécessité d'une plateforme technologique spécialisée demeurent des contraintes à son application en pratique courante dans



les pays à moindre ressources.

CONCLUSION

En Tunisie, le dépistage du paludisme chez les personnes à risque, ressortissants et voyageurs dans les pays d'endémie, est fondamental pour détecter les sujets parasités, les traiter rapidement et éviter ainsi une circulation potentielle du parasite. La prévalence relativement élevée du portage de *Plasmodium* chez les étudiants asymptomatiques d'ASS incite à renforcer cette surveillance et à l'améliorer par la généralisation des techniques moléculaires plus sensibles dans ces situations caractérisées par de très faibles parasitémiés.

REFERENCES

- Fikadu M, Ashenafi E. Malaria: An Overview. *Infect Drug Resist* 2023;16:3339–47. <https://doi.org/10.2147/IDR.S405668>.
- White NJ. Severe malaria. *Malar J* 2022;21:284. <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04301-8>.
- World malaria report 2024 n.d. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240104440> (accessed May 27, 2025).
- Chadli A, Kennou MF, Kooli J. [Malaria in Tunisia: history and present status]. *Bulletin de La Societe de Pathologie Exotique et de Ses Filiales* 1985.
- Tabbabi A, Boussès P, Rhim A, Brengues C, Daaboub J, Ben-Alaya-Bouaffif N, et al. Larval Habitats Characterization and Species Composition of Anopheles Mosquitoes in Tunisia, with Particular Attention to *Anopheles maculipennis* Complex. *Am J Trop Med Hyg* 2015;92:653–9. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0513>.
- Aoun K, Siala E, Tchibkere D, Ben Abdallah R, Zallagua N, Chahed MK, et al. [Imported malaria in Tunisia: consequences on the risk of resurgence of the disease]. *Med Trop (Mars)* 2010;70:33–7.
- Organisation mondiale de la Santé. Élimination du paludisme et prévention de sa réapparition en Tunisie : une réussite exemplaire. Genève: Organisation mondiale de la Santé; 2015.
- Siahaan L. Laboratory diagnostics of malaria. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* 2018;125:012090. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/125/1/012090>.
- Goodman C, Tougher S, Shang TJ, Visser T. Improving malaria case management with artemisinin-based combination therapies and malaria rapid diagnostic tests in private medicine retail outlets in sub-Saharan Africa: A systematic review. *PLoS One* 2024;19:e0286718. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286718>.
- Kavanaugh MJ, Azzam SE, Rockabrand DM. Malaria Rapid Diagnostic Tests: Literary Review and Recommendation for a Quality Assurance, Quality Control Algorithm. *Diagnostics* 2021;11:768. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11050768>.
- Calderaro A, Piccolo G, Chezzi C. The Laboratory Diagnosis of Malaria: A Focus on the Diagnostic Assays in Non-Endemic Areas. *International Journal of Molecular Sciences* 2024;25:695. <https://doi.org/10.3390/ijms25020695>.
- Organization WH. Malaria parasite counting 2016.
- Siala E, Essid R, Smiri M, Doggui A, Ben Sghaier I, Aoun K, et al. Contribution of Polymerase Chain Reaction for detection of malaria in Tunisia. *Tunis Med* 2015;93:766–70.
- Belgacem S, Bettaieb M, Houas N, Chouchène S, Mastouri M, Babba H. Dépistage du paludisme: Quel est l'apport de la biologie moléculaire ? *Tunis Med* 2024;102:491–5.
- Wängdahl A, Bogale RT, Eliasson I, Broumou I, Faroogh F, Lind F, et al. Malaria parasite prevalence in Sub-Saharan African migrants screened in Sweden: a cross-sectional study. *Lancet Reg Health Eur* 2023;27:100581. <https://doi.org/10.1016/j.lanpe.2022.100581>.
- Galatas B, Bassat Q, Mayor A. Malaria Parasites in the Asymptomatic: Looking for the Hay in the Haystack. *Trends Parasitol* 2016;32:296–308. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.11.015>.
- Chen I, Clarke SE, Gosling R, Hamainza B, Killeen G, Magill A, et al. "Asymptomatic" Malaria: A Chronic and Debilitating Infection That Should Be Treated. *PLoS Med* 2016;13:e1001942. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001942>.
- Barnett ED, Wheelock AB, MacLeod WB, McCarthy AE, Walker PF, Coyle CM, et al. Infections with long latency in international refugees, immigrants, and migrants seen at GeoSentinel sites, 2016–2018. *Travel Medicine and Infectious Disease* 2023;56:102653. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2023.102653>.
- Ju T, Vander Does A, Ingrassi G, Norton S a., Yosipovitch G. Tropical parasitic itch in returned travellers and immigrants from endemic areas. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2022;36:2279–90. <https://doi.org/10.1111/jdv.18408>.
- Monge-Maillo B, Norman F, Pérez-Molina JA, Díaz-Menéndez M, Rubio JM, López-Vélez R. *Plasmodium falciparum* in Asymptomatic Immigrants from Sub-Saharan Africa, Spain. *Emerg Infect Dis* 2012;18:356–7. <https://doi.org/10.3201/eid1802.111283>.
- Schindler T, Jongo S, Studer F, Mpina M, Mwangoka G, Mswata S, et al. Two cases of long-lasting, sub-microscopic *Plasmodium malariae* infections in adults from coastal Tanzania. *Malar J* 2019;18:149. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2787-x>.
- Daily JP, Parikh S. Malaria. *New England Journal of Medicine* 2025;392:1320–33. <https://doi.org/10.1056/NEJMr2405313>.
- Velasco E, Gomez-Barroso D, Varela C, Diaz O, Cano R. Non-imported malaria in non-endemic countries: a review of cases in Spain. *Malar J* 2017;16:260. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1915-8>.
- Olaso A, Ramos JM, López-Ballero MF, Olaso I. Malaria in Europe: Follow-up of autochthonous malaria in Greece and new risks. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2017;35:543–4. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.11.003>.
- Delamare H, Tarantola A, Thellier M, Calba C, Gaget O, Consigny P-H, et al. Locally acquired malaria: a retrospective analysis of long-term surveillance data, European France, 1995 to 2022. *Euro Surveill* 2024;29:2400133. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.41.2400133>.
- Tabbabi A, Alkhishe AA, Samy AM, Rhim A, Peterson AT. Malaria in North Africa: A Review of the Status of Vectors and Parasites 2020. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-55.1.25>.
- Anikeeva O, Hansen A, Varghese B, Borg M, Zhang Y, Xiang J, et al. The impact of increasing temperatures due to climate change on infectious diseases. *BMJ* 2024;387:e079343. <https://doi.org/10.1136/bmj-2024-079343>.
- Siala E, Foudhaili H, Doggi A, Gamara D, Ben Alaya N, Ben Abdallah R, et al. Évaluation et apport du test OptiMAL-IT® dans le diagnostic du paludisme d'importation en Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot* 2013;106:233–8. <https://doi.org/10.1007/s13149-013-0311-z>.
- Wanji S, Kimbi HK, Eyong JE, Tendongfor N, Ndamukong JL. Performance and usefulness of the Hexagon rapid diagnostic test in children with asymptomatic malaria living in the Mount Cameroon region. *Malar J* 2008;7:89. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-89>.
- Tiono AB, Ouédraogo A, Diarra A, Coulibaly S, Soulama I, Konaté AT, et al. Lessons learned from the use of HRP-2 based rapid diagnostic test in community-wide screening and treatment of asymptomatic carriers of *Plasmodium falciparum* in Burkina Faso. *Malar J* 2014;13:30. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-30>.
- Bousema T, Okell L, Felger I, Drakeley C. Asymptomatic malaria infections: detectability, transmissibility and public health relevance. *Nat Rev Microbiol* 2014;12:833–40. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3364>.
- Apinjoh TO, Tangi LN, Oriero EC, Drammeh S, Ntui-Njock VN, Etoketim B, et al. Histidine-rich protein (hrp) 2-based RDT false-negatives and *Plasmodium falciparum* hrp 2 and 3 gene deletions in low, seasonal and intense perennial transmission zones in Cameroon: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2024;24:1080.



- <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09935-4>.
33. Aninagyei E, Deku JG, Yemofio KT, Quainoo E, Ntiri KA, Yaro E, et al. Comparative evaluation of the diagnostic accuracies of four different malaria rapid diagnostic test kits available in Ghana. *PLoS One* 2024;19:e0302840. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0302840>.
 34. Dalrymple U, Arambepola R, Gething PW, Cameron E. How long do rapid diagnostic tests remain positive after anti-malarial treatment? *Malar J* 2018;17:228. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2371-9>.
 35. Prah JK, Amoah S, Yartey AN, Ampofo-Asiama A, Ameyaw EO. Assessment of malaria diagnostic methods and treatments at a Ghanaian health facility. *Pan Afr Med J* 2021;39:251. <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.39.251.28996>.
 36. Pérez-Ugarte A, Oliveira-Souto I, Nadal-Baron P, Zarzuela F, Serre-Delcor N, Treviño B, et al. High malaria PCR positivity in asymptomatic migrants from sub-Saharan Africa. *Journal of Travel Medicine* 2024;31:taae087. <https://doi.org/10.1093/jtm/taae087>.
 37. Fitri LE, Widaningrum T, Endharti AT, Prabowo MH, Winaris N, Nugraha RYB. Malaria diagnostic update: From conventional to advanced method. *J Clin Lab Anal* 2022;36:e24314. <https://doi.org/10.1002/jcla.24314>.
 38. Requena-Méndez A, Cattaneo P, Bogale RT, Marti-Soler H, Wångdahl A, Buonfrate D, et al. Malaria parasite prevalence among migrants: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection* 2023;29:1528–37. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.09.010>.
 39. Haanshuus CG, Mørch K, Blomberg B, Strøm GEA, Langeland N, Hanevik K, et al. Assessment of malaria real-time PCR methods and application with focus on low-level parasitaemia. *PLoS One* 2019;14:e0218982. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218982>.





Point-of-Care RT-PCR Solutions

Fully Automated Detection System

**4
Z
01
PCR**



**1 Sample upto
20 Targets**



**50+ Detection
Assays available**

Five channel fluorescence
based detection system

Automated Analysis
& Reporting

Ready-to-use cartridge
based assays



SAMPLE IN



RESULT OUT



Special Modules



www.genes2me.com



Diagnostic et prise en charge pratique de la toxoplasmose chez le nouveau-né

Diagnosis and practical management of toxoplasmosis in newborns

Maroua Jebari, Rym Ben Abdallah, Ines Bouhaoula, Karim Aoun, Aida Bouratbine

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Laboratoire de recherche Parasitoses Médicales, Biotechnologies et Biomolécules LR20-IPT-06, Institut Pasteur de Tunis, Université Tunis El Manar

Correspondance:

Rym Ben Abdallah

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Laboratoire de recherche Parasitoses Médicales, Biotechnologies et Biomolécules LR20-IPT-06, Institut Pasteur de Tunis, Université Tunis El Manar

Email: rym.benabdallah@fmt.utm.tn

RÉSUMÉ La toxoplasmose congénitale peut entraîner des complications sévères, notamment des anomalies neurologiques et ophtalmiques. Le diagnostic précoce et la prise en charge adéquate sont essentiels pour prévenir l'apparition de ces complications. A la naissance, le diagnostic biologique est essentiellement sérologique. Il repose sur la recherche des anticorps IgG, IgM et IgA chez le nouveau-né par les techniques conventionnelles et par le western blot IgG/IgM en profil comparatif mère-nouveau-né puis en suivi chez le nouveau-né. Si le diagnostic sérologique est négatif à la naissance, le suivi doit être maintenu jusqu'à disparition des IgG maternelles. Le traitement standard de la toxoplasmose congénitale comprend la pyriméthamine et la sulfadiazine en association avec l'acide folinique. La surveillance clinique, ophtalmologique et sérologique au cours du traitement est primordiale.

Mots clés : Toxoplasma gondii, Toxoplasmose congénitale, nouveau-né, sérologie, western blot, Tunisie

ABSTRACT Congenital toxoplasmosis can lead to severe complications, including neurological and ophthalmic abnormalities. Early diagnosis and appropriate management are essential to prevent the onset of these complications. At birth, the biological diagnosis is primarily serological. It involves the detection of IgG, IgM, and IgA antibodies in the newborn using conventional techniques and the IgG/IgM western blot in a comparative mother-newborn profile, followed by monitoring in the newborn. If the serological diagnosis is negative at birth, monitoring should continue until the disappearance of maternal IgG. The standard treatment for congenital toxoplasmosis includes pyrimethamine and sulfadiazine in combination with folic acid. Clinical, ophthalmological, and serological monitoring during treatment is crucial.

Key words: Toxoplasma gondii, congenital toxoplasmosis, new born, serology, western blot, Tunisia



INTRODUCTION

La primo-infection toxoplasmique chez une femme enceinte est un événement à risque. En effet, le toxoplasme peut passer la barrière placentaire et infecter le fœtus (1). En Tunisie, la toxoplasmose congénitale (TC) n'est pas exceptionnelle, son incidence varie de 0,39 à 4,8 pour 1000 grossesses selon les séries (2, 3). L'expression clinique de la TC est variable. Elle peut se traduire par des conséquences graves (mort fœtale in utero, malformations neurologiques) ou rester longtemps asymptomatique, se manifestant dans certains cas, dans l'enfance ou l'adolescence, par une chorioretinite (4, 5). L'institution d'un traitement précoce pendant la grossesse, ou à la naissance chez le nouveau-né (NN) infecté, permettrait de prévenir l'apparition de ces complications. Par conséquent, une suspicion de TC impose une conduite optimale qui comporte un diagnostic prénatal consistant à rechercher l'ADN parasite dans le liquide amniotique (LA) par PCR (Polymerase Chain Reaction) et à un suivi échographique afin de déceler d'éventuelles fœtopathies (6). Cependant, la sensibilité de la PCR n'étant pas absolue, les faux négatifs ne sont pas rares et une TC reste systématiquement recherchée à la naissance chez tout NN dont la mère a présenté une infection toxoplasmique au cours de la grossesse avec un diagnostic prénatal négatif ou non pratiqué (7).

La mise au point présente vise à détailler les différentes techniques biologiques utilisées dans le diagnostic néonatal de la TC ainsi que le suivi clinique et le traitement des NN atteints.

LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

A la naissance, le diagnostic biologique de la TC est essentiellement sérologique. Il repose sur la recherche des Immunoglobulines (Ig) M, IgA, et IgG anti-toxoplasmiques dans le sang du NN. Cette recherche doit permettre de confirmer que ces anticorps proviennent d'une néosynthèse par l'enfant, car une certaine quantité d'IgG (transfert passif des IgG maternelles à travers le placenta), et parfois d'IgM et IgA (passage occasionnel d'anticorps maternels au moment de l'accouchement uniquement), peuvent être d'origine maternelle dans les premières semaines de vie. Ces anticorps maternels disparaissent après la naissance selon des demi-vies de l'ordre de trois-quatre semaines, sept jours et dix jours pour les IgG, IgM et IgA respectivement (8- 11).

Les prélèvements

Plusieurs prélèvements peuvent être réalisés chez la mère au moment de l'accouchement notamment le prélèvement de LA, le prélèvement de placenta et le prélèvement sanguin. Chez le NN, le prélèvement sanguin peut être fait soit à partir du sang de cordon ou à partir du sang périphérique. Auparavant, vu sa facilité et les bonnes quantités obtenues, le prélèvement de sang de cordon était recommandé (7). Actuellement, devant

le risque de contamination de ce prélèvement par le sang maternel et les problèmes de spécificité induits, le sang périphérique prélevé dans les trois premiers jours de vie est privilégié (12).

La recherche des IgG anti-toxoplasmiques

Le suivi du titre des IgG, en utilisant des techniques immuno-enzymatiques de type ELISA (Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay) ou d'immunochemiluminescence (CLIA : Chemiluminescenceimmunoassay), en période néo et postnatale est primordial. En effet, toute modification de la cinétique d'évolution des anticorps, qu'il y ait stabilisation ou augmentation, est en faveur d'une TC. Autrement, les titres diminuent jusqu'à disparaître avant l'âge d'un an. Dans tous les cas, la persistance d'anticorps anti-toxoplasmiques à l'âge de 12 mois fait poser le diagnostic de TC. Il a été cependant rapporté que les IgG peuvent disparaître chez les enfants atteints qui reçoivent un traitement spécifique (8, 9, 13).

La recherche des IgM anti-toxoplasmiques

La détection des anticorps IgM anti-toxoplasmiques dans le sérum du NN peut être faite par les techniques immuno-enzymatiques ou de chimiluminescence et/ou par la technique d'immunocapture ISAGA (Immuno-Sorbent-Agglutination-Assay). Cette dernière est consensuellement la technique la plus sensible pour la recherche des IgM chez le jeune enfant (14). Toutefois, l'arrêt de sa commercialisation depuis 2024 conduit à privilégier les autres techniques disponibles pour garantir la fiabilité du diagnostic sérologique. La demi-vie d'élimination des IgM spécifiques étant très courte, leur persistance ou leur présence au-delà de J10 de vie permet d'affirmer le diagnostic de TC (7). En effet, le sang du NN peut être "contaminé" avec le sang maternel dans 2 à 20% des cas, à cause d'une éventuelle effraction placentaire, rendant une confirmation de la positivité des IgM nécessaire au-delà de J10 de vie (14).

Les IgM sont le plus souvent détectées en cas de séroconversion maternelle tardive au cours de la grossesse (dernier trimestre) ; la sensibilité de cette recherche est beaucoup plus faible en cas de séroconversion au cours des deux premiers trimestres de la grossesse (15). Chez les NN atteints de TC, les IgM peuvent manquer. Ceci ne doit pas empêcher la poursuite de la surveillance. En effet, dans 30 à 50% des cas, la détection des IgM anti-toxoplasmiques par la sérologie conventionnelle est négative (16, 17).

La recherche des IgA anti-toxoplasmiques

Les IgA peuvent être recherchées par la méthode ELISA. Toutefois, l'apport de leur détection pour retenir le diagnostic est controversé. Certaines études affirment que la recherche des IgA peut être aussi sensible que celle des IgM, et même supérieure (18). Lebech M. et al. affirment que la combinaison de la recherche des deux isotypes A et M augmenterait significativement la sensibilité globale sans perte de spécificité, permettant ainsi de détecter 5 à 10% de cas supplémentaires de NN infectés (19). Tandis



que d'autres études ont conclu que la détection des IgA n'améliorait pas le diagnostic de TC (20). Par ailleurs, les IgA peuvent être absentes naturellement chez 6% de la population limitant leur apport dans le diagnostic biologique (21). Une étude rétrospective multicentrique a comparé deux groupes de NN, 289 NN atteints de TC versus 220 NN non infectés (22). Elle a conclu que les IgA ont une sensibilité plus faible que les IgM (56,52% versus 82,35%, $P < 0,001$) et que la recherche simultanée des deux isotypes M et A en diminue significativement la spécificité (90,96% à 83,51%, $P < 0,001$). Toutefois, malgré ces divergences, la présence des IgA chez le NN au-delà de J10 de vie reste un argument suffisant pour retenir le diagnostic de TC même en l'absence d'IgM.

La recherche d'IgG et d'IgM par la technique Western Blot

Le western blot (WB) permet la recherche qualitative des IgM et des IgG spécifiques. Il est pratiqué à la naissance en confrontant le profil du sang du NN prélevé entre J1 et J3 de vie à celui de la mère. Lors du suivi, il compare le sang du NN à la naissance à celui prélevé à des moments ultérieurs (J+N). Le profil comparatif mère/NN peut mettre en évidence la présence de bandes supplémentaires chez le NN ce qui témoigne d'une néosynthèse d'anticorps anti-toxoplasmiques (Figure 1). De même, l'étude du profil comparatif NN/NN, peut révéler la présence des bandes nouvelles à J+N témoignant d'une néosynthèse par le NN d'anticorps anti-toxoplasmiques.

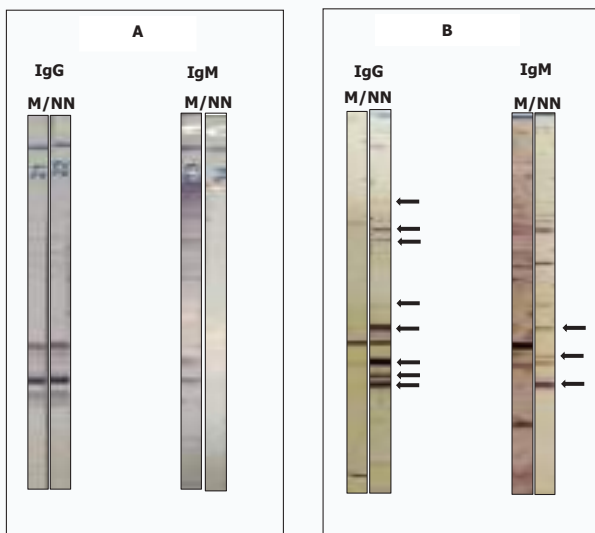


Figure 1. Comparaison des profils immunologiques révélés par western blot pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale

A : Profil comparatif mère (M)/ nouveau-né (NN j1) négatif

B : Profil comparatif M / NN (j3) montrant des bandes supplémentaires chez le NN en IgG et en IgM

L'apport du WB dans le diagnostic précoce de la TC est indéniable (23, 24). En effet, cette technique a une sensibilité qui avoisine 95% et peut atteindre 100% si elle est combinée à la sérologie standard (16).

Toutefois, cette technique n'est réalisable que jusqu'à l'âge de trois mois pour les IgG, et seulement jusqu'à un mois

pour les IgM, délais au-delà desquels l'interprétation peut être perturbée par la présence possible de bandes non spécifiques (23).

Le diagnostic moléculaire néonatal

A l'accouchement, la recherche de l'ADN parasitaire peut être faite sur le sang du cordon ou le sang périphérique avec cependant une sensibilité plutôt faible de l'ordre de 20 à 36% (25). Dans le LA prélevé à la naissance, cette recherche permet dans certains cas un diagnostic plus précoce que la sérologie (26). En effet, une étude a évalué le diagnostic moléculaire de la TC sur 488 LA à la naissance et a conclu que cette analyse a une sensibilité globale de 54% et une spécificité de 100% (26). La sensibilité est de 33 % lorsque le diagnostic prénatal est positif et de 68% lorsque le diagnostic prénatal est négatif ou inexistant. Cette différence de sensibilité peut être due au traitement des cas diagnostiqués en période anténatale. Selon ces résultats, et en la comparant à la sérologie, l'analyse du LA néonatal a permis de poser un diagnostic plus précoce dans 26% des cas (26).

La recherche de l'ADN parasitaire peut être réalisée également sur le placenta avec une sensibilité de l'ordre de 51% avec cependant la possibilité de résultat positif sans contamination fœtale (placentite isolée) (25, 27). En cas de signes neurologiques chez le NN notamment une encéphalite, la recherche de l'ADN parasitaire peut être faite sur le liquide cérébro-spinal (18).

Le dosage de l'Interféron gamma

L'infection à *T. gondii* entraîne une immunité à médiation cellulaire de longue durée qui dépend fortement de l'activité effectrice des lymphocytes T (29- 31). La sécrétion de l'interféron gamma par ces cellules suite à une stimulation par les antigènes de *T. gondii* a été mise au point par certaines équipes pour détecter une exposition récente au parasite (30, 31). Une évaluation a été faite sur des NN infectés et non infectés pour le diagnostic néonatal de la TC et a conclu à une sensibilité variant de 93,75% à 96% et à une spécificité entre 91% et 98,75% (30, 31).

Algorithme pratique

Sur le plan pratique, la démarche diagnostique doit être adaptée à notre contexte tunisien et aux moyens des familles, vu le coût élevé des kits utilisés. Il faut cependant faire pour le mieux pour que les possibilités diagnostiques ne soient pas entravées.

A la naissance, il est recommandé de prélever le sang périphérique du NN dans les trois premiers jours de vie ainsi que le sang de la mère afin de pratiquer systématiquement et simultanément les techniques conventionnelles et le WB en profil comparatif mère-NN à la recherche d'IgG et d'IgM anti-toxoplasmiques.

Si les IgM sont présentes à la naissance par WB (anticorps néosynthétisés par le NN), la TC est confirmée. Leur présence uniquement par les techniques conventionnelles nécessite un contrôle entre J7 et J10 de vie pour confirmer l'infection. En l'absence d'IgM, un



contrôle est recommandé à un mois de vie. Si les IgG sont présentes à la naissance par WB (anticorps néosynthétisés par le NN), la TC est confirmée. Si le profil comparatif mère/NN en IgG est identique, le suivi sérologique s'impose. Devant le coût élevé du kit WB, la recherche des IgG jusqu'à l'âge de trois mois n'est pas systématique. Elle n'est justifiée que devant une stabilité du titre des IgG par les techniques conventionnelles. Si les titres des IgG diminuent au cours du suivi et les IgM restent négatives, les contrôles seront réalisés mensuellement ou chaque deux mois jusqu'à disparition des IgG maternelles. Le diagnostic de TC sera écarté devant la négativité de deux sérologies espacées d'un

mois d'intervalle. Au contraire, la persistance d'IgG jusqu'à l'âge de 12 mois de vie confirme l'atteinte congénitale (Figure 2). La recherche des IgA peut également être utile et est recommandée. Si elles sont présentes chez le NN avant J10 de vie et absentes chez la mère, ceci est le témoin d'une néosynthèse et le diagnostic de TC peut être retenu. Cependant, si les IgA sont présentes aussi bien chez la mère que chez le NN avant J10 de vie, un contrôle est souhaitable chez ce dernier au-delà de J10 pour pouvoir conclure. Néanmoins, en Tunisie, l'étude de cet isotype n'est pas de pratique courante vu le coût supplémentaire induit. Une centralisation de la recherche des IgA dans

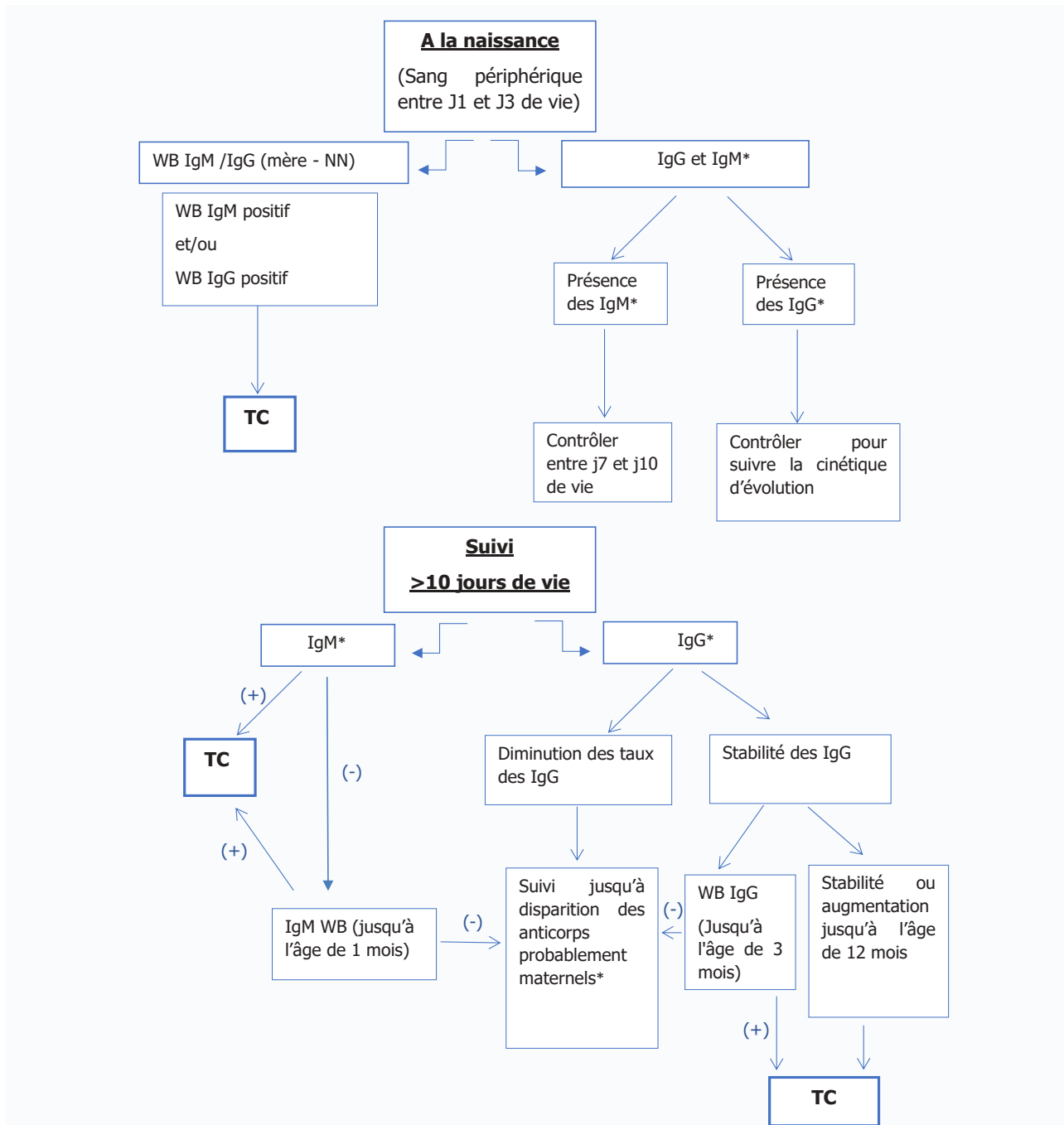


Figure 2. Algorithme pratique de la prise en charge diagnostique de la toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né

(+) : positive, (-) : négative, WB : western blot, NN : nouveau-né, TC : toxoplasmose congénitale

* Recherche des anticorps IgG et IgM par les techniques sérologiques conventionnelles



une structure hospitalo-universitaire permettrait de mieux maîtriser ce souci et offrirait davantage de possibilités en vue de l'amélioration de la prise en charge diagnostique des patients.

EXAMEN CLINIQUE, RADIOLOGIQUE ET FOND D'ŒIL

A la naissance, devant toute suspicion de TC, le NN doit bénéficier d'un examen clinique complet notamment le poids, la taille et le périmètre crânien. En effet, la toxoplasmose est une cause majeure d'accouchements prématurés (32). L'examen neurologique constitue une étape fondamentale comportant un bilan du tonus, du niveau d'éveil, des mouvements et des réflexes. Toute anomalie notée lors de cet examen dans un contexte évocateur doit faire évoquer la TC. La réalisation d'un fond d'œil (FO) à la recherche de chorioretinite avec des lésions actives ou cicatrisées et une échographie transfontanellaire (ETF) à la recherche de calcifications intracrâniennes et/ou de dilatations ventriculaires s'imposent. En cas de confirmation du diagnostic de TC, le FO sera refait tous les trois mois pendant la première année de vie puis tous les six mois durant la deuxième année puis tous les ans jusqu'à l'âge adulte (5, 9). Les données épidémiologiques suggèrent que l'incidence de la TC et son impact socio-économique pourraient être

sous-estimés. Les enfants atteints peuvent paraître en bonne santé sans présenter d'anomalies pendant les cinq premières années, mais développer des signes graves plus tard (32). Pour cela, il est nécessaire de sensibiliser les mères afin qu'elles respectent le rythme de surveillance et de consulter devant des signes oculaires tel qu'un flou visuel ou une baisse de l'acuité.

TRAITEMENT

L'association de la pyriméthamine et d'un sulfamide représente le traitement de référence de la toxoplasmose congénitale (33). Plusieurs molécules peuvent être utilisées. La pyriméthamine est un inhibiteur de la dihydro-folate réductase. Elle a une bonne activité parasiticide. Elle a une bonne efficacité et un bon passage transplacentaire. Les sulfamides (sulfadiazine et sulfadoxine) sont des inhibiteurs de la dihydroptéroate synthétase. Ils sont parasitostatiques, et agissent en synergie avec la pyriméthamine (33, 34).

Le traitement est maintenu pendant 12 mois selon l'un des protocoles mentionnés dans le tableau I. L'association de pyriméthamine et sulfadiazine est considérée comme la plus active. En cas de chorioretinite évolutive ou hyperprotéinorachie >1 g/dl, la prednisone à 1mg/Kg/j est associée au traitement.

Tableau I. Les principaux traitements utilisés dans la toxoplasmose chez le nouveau-né(37)

Médicament	Posologie
Protocole 1 : Pyriméthamine (MALOCIDE®) + Sulfadiazine (ADIAZINE®) + Acide folinique (FOLICUM®)	1mg/ kg/ J pendant deux mois Puis 1mg/kg, un jour sur deux pendant le reste de l'année
Protocole 2 : Sulfadoxine + Pyriméthamine (FANSIDAR®) + Acide folinique (FOLICUM®)	50mg/ kg deux fois par jour pendant 12 mois une capsule de 25 mg 2 fois par semaine, à commencer le même jour du traitement 17,5 mg/ kg une fois par semaine 0,875 mg/ kg une fois par semaine une capsule de 25 mg deux fois par semaine, à commencer le même jour du traitement

En Tunisie, nous ne disposons pas des conditionnements pédiatriques des molécules suscitées. Les posologies administrées sont ainsi adaptées au poids de l'enfant tous les 2 mois.

La toxicité de la pyriméthamine est essentiellement hématologique due à son activité sur le métabolisme de l'acide folique pouvant engendrer une anémie macrocytaire, une thrombopénie, une neutropénie voire une agranulocytose. Pour prévenir ces effets indésirables, une supplémentation en acide folinique doit être instaurée dès le début du traitement. D'autres signes d'intolérance digestifs ou neurologiques peuvent être notés (35, 36). Les réactions dues aux sulfamides sont plutôt rares, d'ordre allergique (syndrome de Lyell, DRESS syndrome), mais plus graves. Les sulfamides sont contre-indiqués en cas de déficit en G6PD (35, 36).

La surveillance au cours du traitement consiste à

contrôler la NFS à J0 et J15, puis tous les 15 jours pendant la période du traitement intensif puis une fois par mois jusqu'à la fin du traitement. En cas de neutropénie (polynucléaires neutrophiles PNN < 1000/mm³), il faut arrêter le traitement anti-toxoplasmique et poursuivre l'administration d'acide folinique. La reprise du traitement est permise lorsque le taux des PNN dépasse 1000/mm³. La surveillance clinique, ophtalmologique et sérologique pendant la durée du traitement est primordiale. Après l'arrêt du traitement, il faut poursuivre la surveillance clinique et ophtalmologique.

En cas de mise en évidence de lésions actives ou de récidives au FO, il faut reprendre le traitement pendant 3 mois puis contrôler la cicatrisation des lésions. Un rebond sérologique sans manifestation oculaire associée ne justifie pas la reprise du traitement.



Il est à signaler, par ailleurs, que le suivi sérologique sous traitement est utile. Il constitue un bon indicateur de l'observance thérapeutique. Une diminution des titres des IgG et une disparition des IgM témoignent de l'efficacité thérapeutique. Autrement, une augmentation des titres des IgG et/ou une réapparition des IgM sous traitement font suspecter une mauvaise ou une absence de prise du traitement.

CONCLUSION

La prise en charge diagnostique et thérapeutique de la TC est assez lourde, et nécessite une coopération constante entre obstétriciens, biologistes et pédiatres. La motivation et la sensibilisation des mères doit être entretenue pour obtenir une meilleure compliance au suivi de leur enfant. Par ailleurs, et vu la fréquence de la toxoplasmose dans notre pays, l'établissement d'un programme national de dépistage chez la femme enceinte reste fondamental pour un meilleur contrôle et une meilleure prise en charge de la TC. Une couverture des frais engagés devrait être discutée afin d'encourager l'adhésion des familles concernées. Ceci limiterait les conséquences psychosociales pour les patients ainsi que les coûts élevés dus aux handicaps neurologiques et visuels induits.

Remerciements :

Rania Maatoug, Olfa Souissi, Emira Ben Hamida

RÉFÉRENCES

- Abbasi M, Kowalewska Grochowska K, Bahar MA, Kilani RT, Winkler Lowen B, Guilbert LJ. Infection of placental trophoblasts by *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis*. 2003 Aug;188(4):608-16.
- Sellami H, Amri H, Cheikhrouhou F, Sellami A, Makni F, Trabelsi H, et al. État actuel de la toxoplasmose dans la région de Sfax, Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot*. Fév 2010;103(1):37-40.
- Benabdallah R, Siala E, Bouafsoun A, Maatoug R, Souissi O, Aoun K, et al. Dépistage de la toxoplasmose materno-fœtale : étude des cas suivis à l'institut pasteur de Tunis (2007-2010). *Bull Soc Pathol Exot*. Mai 2013;106(2):108-12.
- Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brezin AP, Thulliez P, et al. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro Surveill*. 2010 Jun;15(25):1-26.
- Melamed J, Eckert GU, Spadoni VS, Lago EG, Uberti F. Ocular manifestations of congenital toxoplasmosis. *Eye*. 2010 Apr;24(4):528-34.
- Costa JM, Ernault P, Gautier E, Bretagne S. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by duplex real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer by hybridization probes. *Prenat Diagn*. 2001 Feb;21(2):85-8.
- Yera H, Paris L, Bastien P, Candolfi E. Diagnostic biologique de la toxoplasmose congénitale. *Rev Francoph Lab*. Oct 2015;470:65-72.
- Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. Recommendations from the French national reference center for toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016 Jan;84(1):22-33.
- Moncada PA, Montoya JG. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012 Jul;10(7):815-28.
- American Academy of Pediatrics. *Toxoplasma gondii* infections (toxoplasmosis). In: *Reb Book*. 2012 Report of the committee on infectious diseases. Elk Grove Village: AAP; 2015. p. 787-95.
- Remington J, McLeod R, Wilson C, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington J, Klein J, dir. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia: The WB Saunders Co; 2011. p. 918-1041.
- Rabilloud M, Wallon M, Peyron F. In utero and at birth diagnosis of congenital toxo-plasmosis: use of likelihood ratios for clinical management. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 May;29(5):421-5.
- Murat JB, Hidalgo HF, Brenier Pinchart MP, Pelloux H. Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013 Sep;11(9):943-56.
- Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E, Lebech M, et al. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A anti-bodies. *J Clin Microbiol*. 2001 Jun;39(6):2267-71.
- Paris L, Houzé S. Difficultés d'interprétation de la sérologie toxoplasmose. *Rev Francoph Lab*. Sept 2022;2022(545):33-9.
- Robert Gangneux F, Gavinet MF, Ancelle T, Raymond J, Tourte Schaefer C, Dupouy Camet J. Value of prenatal diagnosis and early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: retrospective study of 110 cases. *J Clin Microbiol*. 1999 Sep;37(9):2893-8.
- Fricker Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Bost M, Goullier Fleuret A, Ambroise Thomas P. Congenital toxoplasmosis: specific IgM in fetal blood, cord blood and in the newborn. *Ann Biol Clin*. 1996 Mar;54(3):165-8.
- Rodrigues IX, Castro AM, Gomes MF, Amaral WN, Avelino MM. Congenital toxoplasmosis: evaluation of serological methods for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgM and IgA antibodies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 May;104(3):434-40.
- Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, et al. Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. *Lancet*. 1999 May;353(9167):1834-7.
- Faure AK, Fricker Hidalgo H, Pelloux H, Bost Bru C, Goullier Fleuret A, Ambroise Thomas P. Lack of value of specific IgA detection in the postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Lab Anal*. 1999 Jan;13(1):27-30.
- Swain S, Selmi C, Gershwin ME, Teuber SS. The clinical implications of selective IgA deficiency. *J Transl Autoimmun*. 2019 Nov;2:1-6.
- Lévêque MF, Albaba S, Arrada N, Avignon M, Sasso M, Fillaux J, et al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis: no benefit of IgA antibody detection by platelia ELISA in a trivalent evaluation. *J Clin Microbiol*. 2022 May;60(5):1-7.
- Chumpitazi BF, Boussaid A, Pelloux H, Racinet C, Bost M, Goullier Fleuret A. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by immunoblotting and relationship with other methods. *J Clin Microbiol*. 1995 Jun;33(6):1479-85.
- Pinon JM, Chemla C, Villena I, Foudrinier F, Aubert D, Puygauthier Toubas D, et al. Early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: value of comparative enzyme-linked immunofiltration assay immunological profiles and anti-toxoplasma *gondii* immunoglobulin M (IgM) or IgA immunocapture and implications for postnatal therapeutic strategies. *J Clin Microbiol*. 1996 Mar;34(3):579-83.
- Ben Abdallah R, Ben Mahfoudh C, Ben Hamida E, Ben Hamouda S, Souissi O, Maatoug R, et al. La placentite à *Toxoplasma gondii* n'est pas toujours associée à une toxoplasmose congénitale. *J Biol*. Mai 2019;8(30):64-7.
- Filissetti D, Yera H, Villard O, Escande B, Wafo E, Houfflin Debarge V, et al. Contribution of neonatal amniotic fluid testing to diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2015 May;53(5):1719-21.
- Filissetti D, Cocquerelle V, Pfaff A, Villard O, Candolfi E. Placental testing for *Toxoplasma gondii* not useful to diagnose congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Jul;29(7):665-7.
- Dardé ML. Biodiversity in *Toxoplasma gondii*. In: Dardé ML, dir. *Toxoplasma gondii*. Heidelberg: Springer; 1996. p. 27-41.
- Yamamoto JH, Vallochi AL, Silveira C, Filho JK, Nussenblatt RB,



- Cunha Neto E, et al. Discrimination between patients with acquired Toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens. *J Infect Dis.* 2000 Jun;181(6):2018-22.
30. Ciardelli L, Meroni V, Avanzini MA, Bollani L, Tinelli C, Garofoli F, et al. Early and accurate diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J.* 2008 Feb ; 27(2):125-9.
 31. Chapey E, Wallon M, Debize G, Rabilloud M, Peyron F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by using a whole-blood gamma interferon release assay. *J Clin Microbiol.* 2010 Jan;48(1):41-5.
 32. Chuang YC, Chen JY, Ji DD, Su PH. Congenital toxoplasmosis in a neonate with significant neurologic manifestations. *J Formos Med Assoc.* 2012 Apr; 111(4):232-3.
 33. Derouin F. Anti-toxoplasmosis drugs. *Curr Opin Investig Drugs.* 2001 Oct;2(10):1368-74.
 34. Mandelbrot L. Congenital toxoplasmosis: what is the evidence for chemoprophylaxis to prevent fetal infection? *Prenat Diagn.* 2020 Dec;40(13):1693-702.
 35. Mandelbrot L, Kieffer F, Sitta R, Laurichesse Delmas H, Winer N, Mesnard L, et al. Prenatal therapy with pyrimethamine+sulfadiazine vs spiramycin to reduce placental transmission of toxoplasmosis: a multicenter, randomized trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Oct;219(4):386.
 36. Gilbert R, Gras L. Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of toxoplasma gondii. *Int J Gynaecol Obstet.* 2003 Feb;110(2):112-20.
 37. Peyron F, L'ollivier C, Mandelbrot L, Wallon M, Piarroux R, Kieffer F, et al. Maternal and congenital toxoplasmosis: diagnosis and treatment recommendations of a french multidisciplinary working group. *Pathogens.* 2019 Mar;8(1):24.





No evidence of occult hepatitis C infection among long-term Tunisian hemodialysis patients: A single-center study

Aucune infection occulte par le VHC détectée chez des hémodialysés chroniques tunisiens : Résultats d'une étude monocentrique

Y. Maatouk^{1,2}, S. Mhalla^{1,2,3}, Y. Kadri^{1,2}, W. Zidi^{1,2}, A. Nebli¹, M. Bhourri^{1,2}, M. Hamouda^{2,4}, R. May⁴, H. Skhiri^{2,4}, O. Haddad^{1,3,5}, M. Mastouri^{1,3,5}

¹ Department of Microbiology, Fattouma Bourguiba University Hospital, Monastir, Tunisia.

² Faculty of Medicine of Monastir, University of Monastir, Monastir, Tunisia

³ Laboratory of Contagious Diseases and Biologically Active Substances (LR99-ES27), Monastir, Tunisia.

⁴ Department of Nephrology, Dialysis and Kidney Transplantation, Fattouma Bourguiba University Hospital, Monastir, Tunisia.

⁵ Faculty of Pharmacy of Monastir, University of Monastir, Monastir, Tunisia

Correspondance:

Salma Mhalla

Department of Microbiology, Fattouma Bourguiba University Hospital, Monastir, Tunisia.

Email: smhalla@gmail.com

ABSTRACT **Introduction:** Occult hepatitis C infection (OCI) is a new concept, characterized by the presence of hepatitis C virus (HCV) RNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMC), hepatocytes, or ultra-centrifuged serum, with no RNA detectable in plasma. This study aimed to investigate occult hepatitis C infection in a vulnerable Tunisian population: chronic hemodialysis patients.

Methods: A retrospective study, including chronic hemodialysis patients of the Hemodialysis Unit of the University Hospital Fattouma Bourguiba of Monastir. Viral load was assessed by real-time RT-PCR on plasma and peripheral blood mononuclear cells, and chemiluminescent assay was used for HCV antibodies detection.

Results: A total of 53 chronic hemodialysis patients were enrolled. Three patients (5.7%) had a history of HCV infection with a sustained virological response. Multivariate analysis revealed that these patients had a longer median duration of hemodialysis (OR=1.33; [IC 95%=1.071-1.666]; p=0.01). HCV RNA was undetectable in both blood and peripheral blood mononuclear cells in all cases. Thus, no OCI was identified in any of our patients.

Conclusion: A low seroprevalence of HCV was observed in our study population and no OCI were detected. However, considering the restricted number of patients enrolled, this result should be confirmed in a larger population cohort.

Key words: HCV, Occult infection, Peripheral blood cells, Hemodialysis, Prevalence

RÉSUMÉ **Introduction :** L'infection occulte par le virus de l'hépatite C (OCI) est une nouvelle entité, caractérisée par la présence de l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC) dans les cellules mononuclées du sang (PBMC), les hépatocytes ou le sérum ultra-centrifugé, en l'absence d'ARN détectable dans le plasma. Cette étude avait pour but de rechercher l'OCI chez les hémodialysés chroniques (HDC).

Méthodes: Etude transversale, ayant inclus les HDC suivis à l'unité d'hémodialyse du CHU Fattouma Bourguiba de Monastir. La charge virale a été évaluée par RT-PCR en temps réel sur plasma et PBMC, et la technique de chimiluminescence a été utilisée pour la détection des anticorps anti-VHC.

Résultats : Un total de 53 HDC ont été inclus parmi lesquels 3 (5,7 %) présentaient un antécédent d'infection par le VHC avec une réponse virologique soutenue. L'analyse multivariée a révélé une durée médiane d'hémodialyse plus longue chez ces patients (OR=1,33; [IC95%=1,071-1,666];p=0,01). L'ARN du VHC était indétectable dans le sang et les PBMC chez tous les patients. Ainsi, aucune OCI n'a été identifiée.

Conclusion : Une faible séroprévalence du VHC chez les HDC était observée et aucune OCI n'a été détectée. Cependant, ce résultat devrait être confirmé dans une cohorte de population plus importante.

Mots-clés : Virus de l'hépatite C, infection occulte, cellules sanguines périphériques, hémodialyse, prévalence



BACKGROUND

The Tunisian general population has a low endemicity for HCV (less than 1%) [1]. However, some groups present a high risk of infection, including chronic hemodialysis patients (HDP) (7.3%) [2]. Tunisia, like many countries around the world, has followed a National Hepatitis C Elimination Program since 2016 [3]. The use of direct-acting antivirals (DAA) has substantially transformed the prognosis of HCV-infected patients, with sustained virological response rates exceeding 90% [4].

Occult hepatitis C infection (OCI) is a new concept, based on the detection of RNA in hepatocytes, PBMC, or ultra-centrifuged sera in patients with a negative plasmatic viral load (VL) [5,6]. PBMC has been recognized as an extra-hepatic reservoir of HCV replication since 1985, and confirmed by several subsequent studies [7–9]. In 1994, viral RNA was isolated from PBMC of patients with histological damages suggesting chronic hepatitis C infection (CH-C), and with undetectable VL in plasma [10]. It was only a decade later that occult HCV infection (OCI) was first described by Castillo et al [5].

Two types of OCI are currently acknowledged: seropositive OCI (patients with positive anti-HCV antibodies) and seronegative OCI (patients who have negative anti-HCV antibodies) [11].

OCI prevalence varies (from 1.2% to 57%) according to the considered populations, and is higher in some populations at high risk of hepatitis C, such as HDP, in whom it may reach 45% [12]. In patients with sustained virological response, it could reach 11.3%, which could represent an obstacle to the national virus elimination program [13]. In fact, OCI could be associated with a higher risk of developing chronic liver damage and hepatocellular carcinoma [14], and could potentially lead to viral spread [15].

One of the most high-risk populations for developing OCI would be HDP. Indeed, considering the great risk of viral transmission in hemodialysis units, this population would also be at risk of OCI and viral diffusion in this population [16]. Therefore, our study aimed to estimate the prevalence of OCI in Tunisian HDP.

METHODS

Study population and design

A descriptive cross-sectional study, conducted over 6 months, including HDP attending the Hemodialysis Unit of the Nephrology Department of the University Hospital Fattouma Bourguiba of Monastir. All participants were over 18 years old, undergoing hemodialysis for more than 2 months, and consenting to take part in the study. Patients with a history of other chronic liver diseases or positive VL in plasma were excluded.

Virological analyses were performed at the Microbiology Laboratory of the same hospital.

Sample Size Determination

The sample size was estimated using the Cochran's formula [17]:

$$[n = z^2 \times p \times (1-p) / d^2]$$

Where:

- n: Calculated final sample size
- z: Confidence interval (for a confidence interval of 95%, z = 1.96)
- p: estimated proportion of the population presenting the condition
- d: desired precision

To study OCI, which has a prevalence of 3% in HDP patients in Iran, a country that has a prevalence of HCV close to our national level [18] the sample size should be: $(n = 1.96^2 \times 0.03 \times 0.97 / 0.05^2 = 45)$ patients.

Data Collection

Demographic, clinical, and biological data were collected by interviewing patients and referring to their clinical records using a pre-established standard questionnaire.

Serological tests

The detection of anti-HCV antibodies was performed on serum using chemiluminescent microparticle immunoassay assay Architect (Abbott Diagnostics, USA) which has a sensitivity and a specificity of 99.6% and 99.1% respectively.

PBMC and plasma isolation and preservation

For each patient, two 5-ml blood samples were gathered in EDTA sterile tubes for viral RNA detection in plasma and PBMC.

The cell fraction was extracted from the first tube, using Ficoll-paque density gradients (Sigma-Aldrich) immediately once received. After diluting the blood with Phosphate-buffered saline (PBS) (1/2), the diluted blood was transferred to a conical tube above the Ficoll-Paque layer (1/3 Ficoll and 2/3 diluted blood). After centrifugation (400xg at room temperature: 18-25°C) for 30 minutes with brake off, the PBMC layer, at the interface between the Ficoll-Paque and the diluted plasma was obtained. The PBMC was then washed 3 times with PBS and cryopreserved at -80°C, in a solution of DMSO (dimethyl sulfoxide; 20%), RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium; 60%), and Fetal Calf Serum (20%), until further use. The second sample was centrifuged at 800xg for 20 minutes, and the resulting plasma was stored at -80°C.

A positive control (sample from a patient with CH-C) was included and was processed in the same way as the other samples.

After thawing plasma and PBMC in a 37°C water bath, viral RNA was extracted using the RNeasy Mini Kit (Qiagen), according to the manufacturer's instructions [19]. Real-time RT PCR was performed on Rotor-Gene using the kit (Artus HCV QS-RGQ kit). Four standards were included defining a linearity range of 15-108 IU/ml and a



sensitivity of 15 IU/ml. An internal control was added at the extraction step to detect any PCR inhibition.

Ethical Considerations

The project was approved by the Ethics Committee of the University of Medicine of Monastir on July 15, 2021, (IORG 0009738 N°106 / OMB 0990-0279). Each patient provided written informed consent.

Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted by SPSS 20.0 (Statistical Package for the Social Sciences). Categorical variables were compared using the chi2-test and Fisher-test with an error risk α of 0.05. Student's t-test was used to compare the means of quantitative variables. A comparison of medians was performed using the Mann-Whitney test.

RESULTS

A total of 53 HDP patients regularly hemodialyzed at the Hemodialysis Unit of University Hospital Fattouma Bourguiba were included. The average age of our patients was 47.9 ± 14 years. Our population consisted of 37 men and 16 women, giving a sex ratio M/F of 2.3. The background disease of patients was dominated by chronic glomerular nephropathy, observed in almost half the population (N=25; 47.2%), represented mainly by chronic glomerulonephritis (N=7; 13.2%) and diabetic nephropathy (N=7; 13.2%). The median duration of hemodialysis for our patients was 4 years IQ [2-7.7], and 22 patients (41.5%) were dialyzed for more than 5 years. All patients had normal levels of liver enzymes (AST/ALT), bilirubin, and Gamma-glutamyl transferase (GGT), and 8 (16%) had elevated alkaline phosphatase levels. They all had negative human immunodeficiency virus (HIV) serology and most of them had protective anti-HBs levels (70%). No one was co-infected with Hepatitis B virus (HBV).

Three patients had a history of HCV infection: The first patient had a spontaneously resolved hepatitis C. The 2 other patients were treated with DAA with a sustained virological response of 3 years. Both had genotype 1b.

In univariate analysis, significant factors associated with a history of CH-C were dyslipidemia ($p=0.021$), higher ALT levels ($p=0.042$), and a longer median duration of hemodialysis ($p=0.005$) (Table 1,2). In multivariate analysis, a longer median duration of hemodialysis was the only factor associated with HCV infection (OR=1.33; [IC 95%=1.071-1.666]; $p=0.01$).

All patients tested negative for HCV RNA in blood and PBMC by real-time RT-PCR. Thus, no cases of OCI were found in our study population.

Table 1. Biological markers associated with a history of HCV infection

Parameters		Anti-HCV		p-value
		Negative	Positive	
White blood cells	Mean	6168.9	6350	0.870*
	SD	1 772.3	3087.7	
Hemoglobin	Mean	8.5	10.3	0.114*
	SD	1.8	1.7	
Platelets	Mean	181 608.9	194 666.7	0.707*
	SD	58 800	35 809	
Alkaline phosphatases	Mean	147.85	64.6	0.211*
	SD	110	14	
Total bilirubin	Mean	4.93	3.5	0.605*
	SD	1.7	0.7	
AST	Mean	12	15.33	0.266*
	SD	4.9	5.6	
ALT	Median	11	18.3	0.042**
	IQR	7	6	

*: Means comparison by Student's T test, **: Median comparison by Mann-Whitney test; ALT: alanine transaminase; AST: aspartate transaminase; IQR: interquartile range; SD: standard deviation

DISCUSSION

OCI is a recently established entity, which has not yet been investigated in Tunisia. Since the prevalence of CH-C is low in the Tunisian general population (less than 1%)[1], we would expect a low prevalence of OCI in this population. However, high-risk HCV populations would be at greater risk of OCI. We therefore aimed in the present study to estimate the prevalence of OCI in a high-risk group, HDP.

HDP are 60 to 100 times more at risk of developing CH-C [20]. Nevertheless, this prevalence has decreased considerably in recent decades, thanks to periodic viral screening of patients, systematic screening of blood donations, and dialyzing infected patients on separate machines [2].

According to our study, three patients (5.6%) had positive HCV serology. In a national screening survey carried out on 11,653 Tunisian HDP (2021-2022), the overall HCV seroprevalence was 3.2%, from which 2 8.1% of patients had positive VL [21]. The prevalence of this disease among HDP varies around the world. According to a meta-analysis published in 2022 by Greeviroj et al, it was about 21%, with higher levels in Africa (28%) and in low-income countries (48.5%) [22].



Table 2. Demographic and clinical characteristics of patients according to their hepatitis C serology

Demographic / Clinical data	Variables	Univariate analysis		Multivariate- analysis			
		anti-HCV		p-value	p-value	OR	IC 95%
		positive	Negative				
Male	n (%)	2 (5.4%)	35 (94.6%)	1.000 *	-	-	-
Age >50 years	n (%)	1 (4.8%)	20 (95.2%)	1.000 *	-	-	-
Diabetes	n (%)	0	9 (100%)	1.000 *	-	-	-
Dyslipidemia	n (%)	1 (100%)	0%	0.021 *	-	-	-
Hypertension	n (%)	0	28 (100%)	0.098 *	-	-	-
Surgical history (other than the confection of an arteriovenous fistula)	n (%)	3 (14.3%)	18 (85.7%)	0.05 *	-	-	-
High-risk sexual behavior	n (%)	0	0	-	-	-	-
History of peritoneal dialysis	n (%)	0	0	1.000 *	-	-	-
Blood transfusion	n (%)	2 (10.5%)	17 (89.5%)	0.290 *	-	-	-
Tattooing/scarification	n (%)	1 (33.3%)	2 (66.7%)	0.163 *	-	-	-
Digestive endoscopy	n (%)	0	7 (100%)	1.000 *	-	-	-
History of drug addiction	n (%)	0	1 (100%)	0.500 *	-	-	-
Duration of hemodialysis (months)	Median (IQR)	24 (17-24)	4 (2 -7.7)	0.005 **	0.01	1.33	1.071-1.666

IC: Confidence interval; IQR: interquartile range; OR: odds ratio; *: Data analysis done by khi-2/ Fisher exact test; **: Median comparison by Mann-Whitney test

Since 2004, OCI, a new form of HCV infection has been identified, characterized by the presence of HCV RNA in hepatocytes, PBMC, or ultra-centrifuged serum, without any RNA detectable in plasma [8,9]. The consequences of this infection were reported by Wang et al [8], who described persistent hepatic inflammation and a more severe fibrosis score in patients with OCI when compared to patients without OCI. Furthermore, an association between hepatocellular carcinoma of undetermined etiology and OCI has been established [14]. Moreover, concerns were raised since the discovery of this infection, related to transmission risks, particularly due to fluctuations in the levels of viremia detected by ultracentrifugation in these patients [6]. Roque-Cuellar et al reported a large prevalence of OCI among seronegative heterosexual partners of patients with CH-C (13% of partners)[23]. In 2009, a study carried out on family members of patients with OCI and with CH-C found similar seroprevalence between the 2 groups. Phylogenetic analysis of viral sequences in patients and their families revealed a common source of infection within each family [15] which suggests a risk of transmission of this new form of HCV infection.

Our study is the first to investigate OCI among Tunisian HDP. No cases of OCI were detected among the 53 patients included despite the use of techniques of similar sensitivity as in international studies

In 1995, long before the first description of OCI in 2004, viral RNA had already been detected in PBMC, among 1.7% of Australian HDP [24]. This condition was subsequently investigated and its prevalence varied between 0 and 45% in the literature depending on the countries and populations considered (table 3) [12,25–33]. Two studies carried out in Iran did not detect any OCI [26,27], whereas in Spain, a 45% rate was reported

[12]. This significant difference between studies could be attributed to several reasons, including the different HCV prevalence in general populations, and the different technical procedures [12]. Moreover, in the study conducted in Spain, the main selection criteria for HDP patients was hepatic cytolysis. This patient selection strategy could explain the disparity in results.

Regarding methodology, there are still no precise VL thresholds or consensual methodology for OCI diagnosis [9], making it difficult to draw definitive conclusions about the true prevalence of this infection. RNA detection in hepatocytes remains the gold standard for OCI, however, less invasive alternatives can be used, particularly after proving viral replication in PBMC [6]. Several studies have confirmed the possibility of RNA detection in PBMC or ultra-centrifuged serum [6,34] as an alternative to liver biopsy (LB), which represents an invasive procedure. In the study conducted by Castillo et al, on 57 patients with OCI diagnosed by LB, HCV RNA was detected in 70% of cases also in PBMC. Another alternative to LB would be RNA detection in ultra-centrifuged sera. Indeed, Bartolomé et al measured the VL in 106 patients with abnormal liver function tests of undetermined etiology, from ultra-centrifuged serum and PBMC and did not find a significant difference between the 2 techniques since an OCI was found in 58.5% of patients in ultra-centrifuged serum, vs 65% from PBMC [34]. However, the effectiveness of these techniques could be improved if they are associated, increasing their sensitivity [34].

It also has been shown that viral RNA levels can fluctuate in PBMC and plasma [35]. Therefore, it has been suggested to get multiple repetitive PBMC and serum samples [23]. On the other hand, extraction and amplification methods (PCR, in situ hybridization) have a direct influence on OCI detection rate. Indeed, VL quantification closely depends



on the quality and quantity of the extracted RNA. Therefore, the choice of RNA extraction kit is crucial. In our study, we used the RNeasy Mini Kit (Qiagen), which is validated for RNA extraction from PBMC using silica columns [36]. Other kits are used for RNA extraction from PBMC, based on phenol-chloroform extraction, such as the RiboPure RNA Purification Kit-blood (Thermo Fisher Scientific) and the TRI Reagent (Sigma-Aldrich). Other extractions are based on the use of magnetic silica particles which capture nucleic acids, such as the NucliSENS easyMAG platform (bioMérieux) [37]. Several studies have compared the performance of these kits in the extraction of RNA from PBMC and concluded that they were comparable overall with a slight superiority to protocols using phenol-chloroform (RNeasy and RiboPure) [37].

For VL evaluation method, we used the Artus HCV QS-RGQ Kit[®], the sensitivity of which is within national and international recommendations (sensitivity threshold ≤ 15 IU/ml) [38] and which complies with statistical requirements. The majority of studies investigating OCI used nested RT-PCR or real-time RT-PCR [27]. Other more sensitive techniques have been developed with significantly lower detection limits (sensitivity threshold < 15 IU/ml), such as NAH (Nucleic Acid Hybridization) or in situ hybridization, particularly used for the detection of HCV in liver tissue [39].

In our study, no cases of OCI were observed in HDP. Several hypotheses could explain the difference between our results and those found in the literature. First of all, the difference in HCV prevalence between the countries could justify the huge difference between our results and those observed in Egypt for instance (Table III). Indeed, countries that had high rates of OCI among HDP were often those with high endemicity of HCV infection. Furthermore, the HCV genotypes that have been implicated in this condition (genotypes 1a,

2a, 2b, 3b, 4, and 6a) are rare in Tunisia where genotype 1b predominates [1,40]. Moreover, diagnosis of OCI on PBMC only could underestimate the detection of viral RNA compared to the gold standard which is on hepatocytes. Another plausible explanation would be the intermittent nature of viral RNA detection in PBMC during OCI. Thus, repeated analysis would have a better yield. Finally, the small size of our sample and its monocentric nature could also explain the absence of OCI in our series. Larger-scale multicenter studies, as well as targeting research to patients presenting risk factors for OCI (such as HDP with hepatic cytolysis, patients with a history of CH-C, intravenous drug users, etc.) [12,16], could result in higher rates of OCI.

Our study is the first to investigate OCI in the Tunisian population and this result comforts us about the absence of this disease, which would have been a real obstacle to the national HCV elimination program, with an increased concern for HDP.

Being in the midst of the HCV elimination program in our country, OCI investigation remains a challenge, but an essential step to ensure viral eradication.

CONCLUSION

HDP patients are particularly at risk of viral hepatitis, especially CH-C. In our study population, a low seroprevalence of HCV was observed and was correlated with the median duration of hemodialysis. Our study does not support the presence of OCI infection among Tunisian HDP despite the use of valid techniques already tested in several previous works. However, this result should be confirmed by a larger cohort, covering more dialysis units with a better representation of HCV risk factors; considering the risks of viral transmission and chronic histological consequences that OCI may have on this vulnerable population.

Table 3. Prevalence of occult hepatitis C in hemodialysis patients in different studies

Author/country	Year	Population	Serology	Sample type	Technique	OCI	
						N	%
Barril et al/ Spain [12]	2008	109 HDP with cytolysis	Negative	PBMC	Real-time PCR and hybridization in situ	49	45%
Baid-Agrawal et al/ Germany [25]	2014	407 HDP	Negative	PBMC	Versant HCV RNA qualitative TMA assay	1	0,25%
Ramezani et al [26]/ Iran	2014	30 HDP avec cytolysis	Negative	PBMC	Nested RT- PCR	0	0
Eslamifar et al/ Iran [27]	2015	70 HDP	Negative	PBMC	Nested RT- PCR	0	0
Abdelrahim et al/ Egypt [28]	2016	81 HDP	Negative	PBMC	Real-time PCR: Artus HCV-RG RT-PCR Kit	3	3,7%
Naghdi et al/ Iran[29]	2017	198 HDP	Negative	PBMC	Real-time PCR: High Pure Viral Nucleic Acid Kit	6	3,03%
Ali et al/ Egypt [30]	2018	39 HDP	Negative	PBMC	Real-time PCR: TaqMan PCR Master Mix Reagents Kit	9	23%
Alduraywish et al/Saudi Arabia[32]	2020	98 HDP	Negative	PBMC	Real time PCR: Artus HCV-RG RT-PCR Kit	8	8,16%
A Serwah et al / Egypt [33]	2021	204 HDP	Negative	PBMC	Real time PCR	14	7%
Our study / Tunisia	2022	53 HDP	50 Negative/3 positive	PBMC	Real-time PCR	0	0%

HDP: chronic hemodialysis patients, PBMC: peripheral blood mononuclear cells; OCI: occult hepatitis



REFERENCES

- Bettaieb J, Chouikha A, Khedhiri M, Kharroubi G, Badreddine M, Bel Hadj Hmda N, et al. Hepatitis C virus epidemiology in Central-West Tunisia: a population-based cross-sectional study. *Arch Virol* 2019;164:2243–53. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04308-8>.
- Mhalla S, Hammoud R, Frih A, Kadri Y, El Argoubi A, Elmay M, et al. Prevalence and risk factors of hepatitis B and C among hemodialysis patients in Tunisia. *Med Mal Infect* 2018;48:175–9. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.11.006>.
- World Health Organisation. Combating hepatitis b and c to reach elimination by 2030. Geneva: WHO; 2016. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/combating-hepatitis-b-and-c-to-reach-elimination-by-2030> (accessed December 31, 2023).
- Falade-Nwulia O, Suarez-Cuervo C, Nelson DR, Fried MW, Segal JB, Sulkowski MS. Oral Direct-Acting Agent Therapy for Hepatitis C Virus Infection: A Systematic Review. *Ann Intern Med* 2017;166:637–48. <https://doi.org/10.7326/M16-2575>.
- Castillo I, Pardo M, Bartolomé J, Ortiz-Movilla N, Rodríguez-Iñigo E, Lucas S de, et al. Occult Hepatitis C Virus Infection in Patients in Whom the Etiology of Persistently Abnormal Results of Liver-Function Tests Is Unknown. *J Infect Dis* 2004;189:7–14. <https://doi.org/10.1086/380202>.
- Castillo I, Bartolomé J, Quiroga JA, Barril G, Carreño V. Diagnosis of occult hepatitis C without the need for a liver biopsy. *J Med Virol* 2010;82:1554–9. <https://doi.org/10.1002/jmv.21866>.
- Hellings JA, van der Veen-du Prie J, Snelting-van Densen R, Stute R. Preliminary results of transmission experiments of non-A, non-B hepatitis by mononuclear leucocytes from a chronic patient. *J Virol Methods* 1985;10:321–6. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(85\)90048-5](https://doi.org/10.1016/0166-0934(85)90048-5).
- Wang J-T, Sheu J-C, Lin J-T, Wang T-H, Chen DS. Detection of Replicative Form of Hepatitis C Virus RNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *J Infect Dis* 1992;166:1167–9. <https://doi.org/10.1093/infdis/166.5.1167>.
- Barreacacute P. Hepatitis C virus and peripheral blood mononuclear cell reservoirs Patricia Barreacacute; *World J Hepatol* 2009;1:67–71. <https://doi.org/10.4254/wjh.v1.i1.67>.
- Muratori L, Giostra F, Cataleta M, Francesconi R, Ballardini G, Cassani F, et al. Testing for hepatitis C virus sequences in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic hepatitis C in the absence of serum hepatitis C virus RNA. *Liver* 1994;14:124–8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1994.tb00060.x>.
- Mbaga DS, Kenmoe S, Bikoï JN, Takuissu GR, Amougou-Atsama M, Okobalemba EA, et al. Global prevalence of occult hepatitis C virus: A systematic review and meta-analysis. *World J Methodol* 2022;12:179–90. <https://doi.org/10.5662/wjm.v12.i3.179>.
- Barril G, Castillo I, Arenas MD, Espinosa M, Garcia-Valdecasas J, Garcia-Fernández N, et al. Occult Hepatitis C Virus Infection among Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:2288–92. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008030293>.
- Wang Y, Rao H, Chi X, Li B, Liu H, Wu L, et al. Detection of residual HCV-RNA in patients who have achieved sustained virological response is associated with persistent histological abnormality. *EBioMedicine* 2019;46:227–35. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.07.043>.
- Comar M, Molin GD, D'Agaro P, Crocè SL, Tiribelli C, Campello C. HBV, HCV, and TTV detection by in situ polymerase chain reaction could reveal occult infection in hepatocellular carcinoma: comparison with blood markers. *J Clin Pathol* 2006;59:526–9. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.033050>.
- Castillo I, Bartolomé J, Quiroga JA, Barril G, Carreño V. Hepatitis C virus infection in the family setting of patients with occult hepatitis C. *J Med Virol* 2009;81:1198–203. <https://doi.org/10.1002/jmv.21483>.
- El-Moselhy EA. Prevalence and Risk Factors of Overt and Occult Hepatitis C Virus Infection among Chronic Kidney Disease Patients under Regular Hemodialysis in Egypt. *Egypt J Hosp Med* 2015;61:653–69. <https://doi.org/10.12816/0018768>.
- Ahmad H, Halim H. Determining Sample Size for Research Activities. *Selangor Business Review* [Internet]. 1Dec.2017 [cited 1Feb.2024];2(1):20-4. Available from: <https://sbr.journals.unisel.edu.my/ojs/index.php/sbr/article/view/12>
- Nakhaie M, Taheri E, Charostad J, Arefinia N, Kalantar-Neyestanaki D, Rezaei Zadeh Rukerd M, et al. Prevalence of Hepatitis C Virus and Its Occult Infection in Hemodialysis Patients. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2023;16(5):e136504. <https://doi.org/10.5812/jjm-136504>.
- QIAGEN. Isolation of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) and Purification of Total RNA from PBMC Using the RNeasy Micro or Mini Kit - QIAGEN n.d. <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=7efee36a-738e-494d-846b-e680abb46057&lang=en> (accessed January 8, 2023).
- Hajji M, Barbouch S, Manaa R, Ajimi K, Ben Hamida FB, Goucha R, et al. National Epidemiological Study about Hepatitis C Virus Infection among Dialysis Patients. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2021;32:1715. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.352433>.
- Bouaziz I, Mekki M, Faten H, Elmili N, laamouchi F, Zahi D et al. Prevalence of hepatitis C virus among hemodialysis facilities: national screening study in Tunisia, 2021-2022. *Population Medicine*. 2023;5(Supplement):A263. <https://doi.org/10.18332/popmed/163775>
- Greeviroj P, Lertussavavivat T, Thongsricome T, Takkavatakarn K, Phannajit J, Avihingsanon Y, et al. The world prevalence, associated risk factors and mortality of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: a meta-analysis. *J Nephrol* 2022;35:2269–82. <https://doi.org/10.1007/s40620-022-01483-x>.
- Roque-Cuéllar MC, Sánchez B, García-Lozano JR, Praena-Fernández JM, Núñez-Roldán A, Aguilar-Reina J. Cellular immune responses and occult infection in seronegative heterosexual partners of chronic hepatitis C patients. *J Viral Hepat* 2011;18:e541-549. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01464.x>.
- Cribier B, Schmitt C, Bingen A, Kirn A, Keller F. In vitro infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus. *J Gen Virol* 1995;76 (Pt 10):2485–91. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-76-10-2485>.
- Baid-Agrawal S, Schindler R, Reinke P, Staedtler A, Rimpler S, Malik B, et al. Prevalence of occult hepatitis C infection in chronic hemodialysis and kidney transplant patients. *J Hepatol* 2014;60:928–33. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.01.012>.
- Ramezani A, Eslamifar A, Banifazl M, Keyvani H, Razeghi E, Ahmadi F, et al. Occult HCV infection in hemodialysis patients with elevated liver enzymes. *Arak Med Univ J* 2014;16:34–40.
- Eslamifar A, Ramezani A, Ehteram H, Razeghi E, Ahmadi F, Amiri M, et al. Occult hepatitis C virus infection in Iranian hemodialysis patients. *J Nephropathol* 2015;4:116–20. <https://doi.org/10.12860/jnp.2015.22>.
- Abdelrahman SS, Khairy R, Esmail MA-M, Ragab M, Abdel-Hamid M, Abdelwahab SF. Occult hepatitis C virus infection among Egyptian hemodialysis patients: Occult HCV Among Egyptian Hemodialysis Patients. *J Med Virol* 2016;88:1388–93. <https://doi.org/10.1002/jmv.24467>.
- Naghdi, Reza et al. "Occult Hepatitis C Infection Among Hemodialysis Patients: A Prevalence Study." *Annals of hepatology* vol. 16,4 (2017): 510-513. doi:10.5604/01.3001.0010.0277
- Ali NK, Mohamed RR, Saleh BE, Alkady MM, Farag ES. Occult hepatitis C virus infection among haemodialysis patients. *Arab J Gastroenterol* 2018;19:101–5. <https://doi.org/10.1016/j.ajg.2018.09.001>.
- SNF, A. R. ., HA, H. ., & MIA, M. . (2019). Seronegative Occult Hepatitis C Virus Infection (OCI) in a Main Haemodialysis Centre In Pahang, Malaysia . *IJUM Medical Journal Malaysia*, 2019 : 18(3). <https://doi.org/10.31436/imjm.v18i3.188>
- Alduraywish A, Ragheb M, Taher I, Louis N, Aldossari K, Kishk R. Prevalence, risk factors and impact of occult HCV infection on liver morbidity among haemodialysis patients: hospital-based cross-sectional study. *Scand J Gastroenterol* 2020;55:963–9. <https://doi.org/10.1080/00365521.2020.1790649>.



33. Serwah MA, Omar SA, Khedr MS, Abdel-hamid AES. Occurrence and clinical characteristics of occult hepatitis C virus infection in hemodialysis units at Ismailia, Egypt. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2021;33:1009–14. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002075>.
34. Bartolomé J, López-Alcorocho JM, Castillo I, Rodríguez-Iñigo E, Quiroga JA, Palacios R, et al. Ultracentrifugation of Serum Samples Allows Detection of Hepatitis C Virus RNA in Patients with Occult Hepatitis C. *J Virol* 2007;81:7710–5. <https://doi.org/10.1128/JVI.02750-06>.
35. Radkowski M, Gallegos-Orozco JF, Jablonska J, Colby TV, Walewska-Zielecka B, Kubicka J, et al. Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:106–14. <https://doi.org/10.1002/hep.20518>.
36. Kamhawy A, Ahmed Said ZN, Abdelhamid SE, El-Sayed M, Eletreby R, Gareem HE, et al. Hepatitis C viral RNA in blood mononuclear cells of patients treated with directly acting antivirals. *Arab J Gastroenterol Off Publ Pan-Arab Assoc Gastroenterol* 2021;22:158–63. <https://doi.org/10.1016/j.ajg.2021.03.001>.
37. Rodríguez A, Duyvejonck H, Van Belleghem JD, Gryp T, Van Simaey L, Vermeulen S, et al. Comparison of procedures for RNA-extraction from peripheral blood mononuclear cells. *PLOS ONE* 2020;15:e0229423. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229423>.
38. Pawlotsky J-M, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol* 2020;73:1170–218. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.08.018>.
39. Li G, Li K, Lea AS, Li NL, Abdulla NE, Eltorkey MA, et al. In situ hybridization for the detection of hepatitis C virus RNA in human liver tissue. *J Viral Hepat* 2013;20:183–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2012.01642.x>.
40. An T, Dean M, Flower R, Tatzenko T, Chan HT, Kiely P, et al. Understanding occult hepatitis C infection. *Transfusion (Paris)* 2020;60:2144–52. <https://doi.org/10.1111/trf.16006>.





Analyseur nouvelle génération pour les sédiments urinaires

- Basé sur la technologie brevetée UriSed
- Images microscopiques complètes du sédiment urinaire
- Identification automatique des éléments urinaires par le module d'évaluation (AIEM)
- Temps d'analyse en moins d'une minute
- Coût analytique faible : aucune utilisation de réactifs liquides ou de calibrateurs
- Utilisation simple avec un minimum d'entraînement
- Analyseur adapté aux laboratoires et cabinets médicaux ou comme système de back-up pour automatiser l'analyse du sédiment urinaire
- Mode microscopie manuelle : vision en temps réel de tous les champs de la cuvette pour observer par exemple le déplacement des micro-organismes
- Logiciel d'utilisation flexible et convivial permettant le traitement des données, la validation des résultats et la création standard de rapports d'analyses.
- Connexion Middleware du laboratoire ou connexion directe au système intégré LIS

UriSed mini

UriSed mini est un système d'analyse professionnel semi-automatique de sédiments urinaires capable d'améliorer la précision, la reproductibilité, la sécurité et la productivité dans divers laboratoires et cabinets médicaux. Il effectue une mise au point automatique sur chaque cliché pour des images microscopiques nettes et précises du sédiment, puis compte et classe les divers particules urinaires présentes sur les images. L'UriSed mini utilise la méthode standard pour la détermination des sédiments urinaires, réduit le temps d'analyse et élimine les diverses étapes de préparation habituellement nécessaires lors d'une microscopie manuelle traditionnelle. De plus, l'instrument peut aussi être utilisé en tant que backup.

For professional Use

IVD



77 Elektronika Kft.



© 2010 77 Elektronika Kft.
All rights reserved.



Le virus West Nile : synthèse et enjeux d'une virose émergente

West Nile virus: summary and challenges of an emerging viral disease

Héla Hannachi^{1,2,3}, Henda Triki^{1,2,3}

¹Laboratoire de Virologie Clinique - Institut Pasteur Tunis

²Laboratoire de recherche Virus Vecteur Hôte LR01IPT

³Faculté de médecine de Tunis - Université Tunis ElManar

Correspondance:

Henda Triki

Laboratoire de Virologie Clinique - Institut Pasteur Tunis

Email: henda.triki@pasteur.tn

ABSTRACT Le virus west nile (VWN) est un arbovirus de la famille des Flaviviridae dont le cycle de vie primaire repose sur un réservoir aviaire et un vecteur culicidé. Il s'agit d'une zoonose à large répartition géographique, présente sur tous les continents L'homme est un hôte accidentel ainsi que certains animaux vertébrés tels que les équidés et les oiseaux ; ils peuvent se contaminer suite à une piqûre de moustique. La majorité des cas chez l'homme reste asymptomatique, toutefois des formes neuro-invasives peuvent être rencontrées chez moins de 1% des cas, associées à une mortalité élevée. La surveillance épidémiologique a démontré que le VWN circulait en Tunisie depuis plusieurs décennies, à l'instar des autres pays de la région méditerranéenne où l'expansion de ce virus est favorisée par le réchauffement climatique. En l'absence d'une vaccination efficace et d'un traitement antiviral spécifique, la lutte anti-vectorielle demeure le meilleur moyen de prévention et de contrôle.

Cette revue propose une synthèse des aspects virologiques et clinico-épidémiologiques du VWN, en soulignant les défis actuels et futurs pour la santé humaine et vétérinaire dans une approche «One-Health».

Key words: Virus West Nile - Infection - Diagnostic - Prévention- Santé unique

RÉSUMÉ West Nile virus (WNV) is an arbovirus belonging to the Flaviviridae family, whose primary transmission cycle involves an avian reservoir and culicid vectors. It is a zoonosis with a wide geographic distribution, reported on all continents except in the Arctic. Humans are incidental hosts, infected through mosquito bites. While most cases remain asymptomatic, fewer than 1% may develop neuroinvasive disease, which is associated with high mortality.

Epidemiological surveillance has demonstrated that WNV has been circulating in Tunisia for several decades, similar to other countries of the Mediterranean region, where its spread is due to climate change. In the absence of an effective vaccine or specific antiviral treatment, vector control remains the cornerstone of prevention and control strategies.

This review provides a synthesis of the virological and clinico-epidemiological aspects of WNV, highlighting current and future challenges for human and veterinary health within a One Health perspective.

Mots-clés : West Nile Virus - Infection - Diagnosis - Prevention - One health



BACKGROUND

Le virus West Nile (VWN) est considéré comme un virus émergent avec une large dispersion planétaire. C'est l'une des premières maladies vectorielles qui a été décrite chez l'homme ; sa découverte a été faite de façon fortuite en surveillant la maladie de la fièvre jaune en Afrique. En effet, le virus a été isolé pour la première fois chez une femme ougandaise présentant une symptomatologie fébrile bénigne [1]. Ce virus a pu se propager au-delà du berceau africain vers tous les continents touchant homme et animal. Il est considéré comme le 2ème flavivirus répandu dans le monde après le virus de la dengue et le 1er flavivirus neurotrope jamais isolé [2]. Il sévit au bassin méditerranéen depuis plusieurs décennies sous forme endémique avec des bouffées épidémiques d'intensité grandissante en terme de sévérité, de nombre de personnes atteintes et de localisation géographique. Cette expansion serait en rapport avec le réchauffement climatique et l'urbanisation, comme en le témoigne l'apparition de nouveaux cas en Allemagne et aux Pays Bas en 2018 et en 2020 respectivement [3]. Le nouveau monde a connu, pour la première fois, des cas d'infection à VWN en 1999 à cause de son introduction mystérieuse sur le sol américain [4]. Une épidémie particulièrement lourde en terme de mortalité humaine, notamment au district de New York a été décrite. En raison de la large gamme d'hôtes et de vecteurs, le virus s'est établi dans la plupart des régions du monde et il y a peu de chances qu'il soit éliminé. La Tunisie, de part sa localisation géographique et les changements climatiques qu'elle connaît, se voit de plus en plus menacée par l'expansion de cette virose.

RAPPEL VIROLOGIQUE

Sur le plan taxonomique, le VWN appartient à la famille des Flaviviridae et au genre des Orthoflavivirus, sous le séro-complexe des encéphalites japonaises qui comprend 12 virus dont le virus Usutu, le virus de l'encéphalite de Saint Louis et le virus de l'encéphalite de Murray Valley, connus pour leur neurotropisme et les atteintes encéphalitiques qu'ils provoquent chez l'homme [5].

Le VWN mesure 50nm de diamètre et partage avec les autres flaviviridae une structure sphérique enveloppée entourant une nucléo-capside icosaédrique. Le génome est représenté par une molécule non segmentée d'ARN simple brin de linéarité positive mesurant environ 12 000 paires de bases ayant un seul cadre de lecture flanqué de deux régions non codantes 5' et 3' [6].

Après son attachement à la surface cellulaire, le VWN est internalisé par endocytose. La fusion de son enveloppe avec la membrane endosomale, induite par l'acidification du contenu endosomal, entraîne une modification conformationnelle des protéines de l'enveloppe et la libération de la nucléocapside dans le cytoplasme. Les récepteurs impliqués dans ce processus peuvent varier selon le type cellulaire et font encore l'objet

d'investigations, parmi lesquels DC-SIGN et l'intégrine $\alpha\beta 3$ ont été identifiés comme candidats potentiels [7]. L'ARN viral est traduit dans le cytoplasme en une polyprotéine d'environ 3000 acides aminés laquelle est ensuite clivée par des protéases virales et cellulaires en dix protéines distinctes. Parmi ces protéines, sept sont non structurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B et NS5) et interviennent principalement dans la transcription et la réplication du génome viral [8,9]. Les trois protéines structurales comprennent la protéine de l'enveloppe (E), la protéine de la matrice prM/M et la protéine de capsid (C).

La protéine E est organisée en trois domaines, DI, DII et DIII ; ce dernier présentant une structure de type immunoglobuline impliquée dans l'attachement aux récepteurs cellulaires et dans l'entrée du virus [10]. La protéine prM, glycosylée, forme un hétérodimère avec la protéine E, facilitant l'assemblage des nouveaux virions. Son clivage génère la protéine M qui participe à l'activation du processus de fusion membranaire, étape clé du cycle viral [11]. Enfin, la protéine de capsid (C), qui protège l'ARN viral, joue un rôle essentiel dans la réplication ainsi que dans la pathogenèse du virus [12].

PATHOGENÈSE

L'infection humaine par le VWN se déroule en trois phases distinctes. La phase initiale débute après une piqûre par un moustique infecté ; le virus atteint les kératinocytes dermiques, puis les cellules dendritiques, qui facilitent sa propagation vers les tissus lymphoïdes. Dans ces tissus, le virus se réplique avant de passer dans la circulation sanguine, marquant ainsi la seconde phase correspondant à l'amplification virale. Les organes principaux impliqués sont la rate, le foie et les reins, avec une virémie transitoire et faible [13]. Le virus peut également être excrété dans les urines, où il est détectable.

La dernière phase concerne l'atteinte du système nerveux central. La neuropathogenèse dépend de la capacité du virus à envahir ce tissu et à se propager dans les neurones et les cellules myéloïdes, propriété liée à la glycosylation des protéines d'enveloppe qui favorise l'attachement cellulaire et l'entrée dans les cellules endothéliales. Cette pénétration est également facilitée par l'altération de la barrière hémato-encéphalique en contexte inflammatoire. La réponse immunitaire antivirale implique l'interféron de type I, les cellules NK, les lymphocytes T $\gamma\delta$ et les polynucléaires neutrophiles, limitant la propagation virale. La réponse adaptative, incluant la production d'immunoglobulines et l'action des lymphocytes T régulateurs, permet la clairance du virus et la protection contre les lésions neurologiques. Cependant, le VWN est capable d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte par divers mécanismes, tels que l'inhibition de la voie de l'interféron et le blocage des voies du complément via l'activité de la protéine NS1 [14]. L'invasion du SNC peut alors provoquer des lésions neuronales et induit l'apoptose, responsable des



manifestations neurologiques de sévérité variable selon le territoire touché. Ce processus est par ailleurs accentué par une réponse inflammatoire locale exacerbée.

ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Le VWN est un pathogène qui infecte un spectre large d'hôtes vertébrés comme les oiseaux qui sont considérés comme des réservoirs via la virémie intense et prolongée. Les autres hôtes comme les mammifères ou l'homme sont des culs de sac épidémiologiques [15].

Le virus évolue selon un cycle endozootique primaire qui fait intervenir une avifaune susceptible et un vecteur insecte où le virus suit un cycle de développement intrinsèque favorisé par une température élevée de l'air. Les oiseaux comme les pissiformes constituent les hôtes amplificateurs du virus et développent peu de symptômes cliniques tout en présentant une virémie prolongée et élevée. Ils représentent ainsi le réservoir principal du virus, favorisant sa transmission par les moustiques hématophages et, de manière accessoire, par voie oro-fécale ou lors de l'ingestion de proies chez les rapaces charognards. Les moustiques du genre *Culex*, vecteurs prédominants du VWN, sont préférentiellement ornitophiles et se développent particulièrement pendant les mois tardifs de l'été. Ils agissent comme des passerelles efficaces pour infecter les mammifères. L'espèce *Cx. pipiens* sévit surtout dans les milieux urbains [16] tandis que d'autres espèces comme *Cx. tarsalis* prédominent dans les zones agricoles et étaient incriminés principalement dans la diffusion du virus aux autres parties des Etats Unis à partir des années 2000 [17]. En Tunisie les espèces qui hébergent le VWN appartiennent aux espèces *Cx. pipiens* ou *Cx. perexiguus* [18,19]. Le VWN a été isolé aussi chez d'autres vecteurs hématophages comme les moustiques du genre *Aedes* ou anophèle et les tiques [20,21].

L'infection humaine survient principalement par piqûre de moustiques. Cependant, d'autres modes de transmission ont été rapportés, notamment par transfusion sanguine, transplantation d'organes solides [22], ainsi que par transmission verticale de la mère à l'enfant [23].

Neuf lignées du VWN ont été identifiées, divergeant entre elles de 10 à 26 % de nucléotides, et dont la plus représentée est la lignée I qui sévit principalement en Afrique, aux Etats-Unis et en Europe (Ia), en Asie (Ic) en Australie (Ib) connu aussi sous le nom de variant Kunjin. La lignée II est surtout retrouvée en Afrique de l'ouest et en Afrique du Sud et a pu être transmise par les oiseaux migrants vers de vastes territoires en Europe. Le reste des lignées du VWN sont moins répandues. Cette dispersion géographique est expliquée par les trajets migratoires des oiseaux qui introduisent le virus et sont à l'origine d'épidémies estivo-automnales d'envergure variable.

En Europe, le VWN circule chez les mammifères depuis les années 1960 et a été à l'origine d'épidémies équine dans le sud de la France [25]. L'expansion de la virose en 1996 a marqué une étape majeure, avec une

émergence particulièrement notable en Roumanie [26]. Le virus a ensuite poursuivi sa progression, provoquant des épidémies en Italie et en Russie, en 1998 et 1999, respectivement.

L'émergence du VWN en Amérique du Nord en 1999 a été particulièrement notable, avec une épidémie initiale comprenant 59 cas confirmés d'infection neuroinvasive, dont sept décès survenus à la fin de l'été, ainsi qu'une épizootie affectant principalement les corbeaux noirs dans le district de New York [27]. Depuis cette introduction, le virus s'est progressivement propagé sur l'ensemble du territoire américain, provoquant la plus importante épidémie de méningo-encéphalite virale jamais enregistrée dans le pays, avec 32162 cas et 3171 décès recensés jusqu'en Juin 2025 [28]. Cette expansion résulte de la circulation continue des souches initialement introduites, plutôt que de réintroductions successives, comme l'atteste la stabilité génétique des souches circulantes [29].

Actuellement il s'agit d'une zoonose à large répartition géographique, présente sur tous les continents à l'exception de l'Arctique [30].

En Tunisie, le virus circulerait depuis plusieurs décennies, comme en témoignent les enquêtes de séroprévalence effectuées 1970, et en 1977 avec un chiffre de 4,7 % de séropositivité chez l'homme [31] et 19,8 % chez les petits mammifères [32].

En 1997, la première épidémie a été signalée dans les régions du Sahel et de Sfax, marquant le début de l'émergence du VWN en Tunisie [33]. La première souche isolée, obtenue à partir d'une biopsie cérébrale, présentait une étroite parenté génétique avec les souches israéliennes et américaines détectées en 1998 et 1999, toutes appartenant au clade Ia. Depuis, plusieurs épidémies se sont succédées en 2003, 2007, 2012, 2018 et 2022, caractérisées par la circulation de multiples souches appartenant toutes au cluster méditerranéen du clade Ia différentes du Cluster américain [34,35]. Ces épisodes épidémiques se sont distingués par des niveaux variables de gravité clinique et d'extension géographique. Par ailleurs, l'étude de la séroprévalence, aussi bien chez l'homme que chez les grands ruminants, a confirmé que le virus circule de manière endémo-épidémique dans plusieurs régions du pays. Chez la population générale, les taux de séroprévalence présentent avaient d'importantes disparités régionales : le gouvernorat de Kairouan présentait le taux le plus élevé (27,7%), suivi de Sfax (7,5 %) et de Bizerte (0,7%) [36]. Chez les équidés, la séroprévalence atteignait 43 % [37], tandis qu'elle était de 25,8 % chez les camélidés dans le sud-ouest du pays, une zone considérée à haut risque de circulation du VWN [38].

En 2025, une extension des régions touchées par le VWN aussi bien chez l'homme que l'animal a été rapportée particulièrement en Italie. Toutefois, le nombre de cas humains reste moins important (168 cas confirmé) que celui enregistré pendant la même période des années 2024 et 2018 (382 et 385 cas confirmés respectivement) [39].



Le réchauffement climatique semble un facteur primordial favorisant l'extension de la circulation virale et l'augmentation de nombre de cas via plusieurs voies. Les températures élevées accélèrent le développement des moustiques à partir du stade larvaire ainsi que le taux de réplication virale. Les moustiques ont également tendance à avoir plus d'énergie lorsqu'il fait chaud et que les personnes passent plus de temps à l'extérieur, où ils sont susceptibles de se faire piquer.

PRÉSENTATION CLINIQUE

La majorité des cas présentent des formes asymptomatiques et 20% des patients contaminés présenteront un syndrome pseudogrippal, décrit comme une grippe estivale caractérisée par des céphalées fébriles avec des arthro-myalgies, des polyadénopathies. Une éruption cutanée morbilliforme généralisée peut se voir dans 25% des cas, des signes digestifs dans 48% des cas et des cas de conjonctivites ou de pharyngites dans moins de 5 % des cas [40].

Dans les zones endémiques, il s'agit d'une maladie bénigne de la petite enfance qui survient pendant la saison chaude (Aout-Novembre)[41] et des manifestations plus graves peuvent survenir dans moins d'un cas sur 150 patient avec une symptomatologie plus bruyante comme celle rapportée chez les colons israéliens à Haifa en 1957 [42].

Les formes neuroinvasives touchent le système nerveux central avec des encéphalites, des méningites aseptiques voire des myélites [43]. L'atteinte rétinienne a été fréquemment associée, parfois révélatrice de l'infection à VWN. Une guérison avec des séquelles neurologiques durables, allant d'une simple fatigue à une baisse de la dextérité, des troubles de concentration, des atteintes mnésiques voire un syndrome Parkinsonien [44,45]. La mortalité de ces formes graves peut varier de 1% en cas de méningite et jusqu'à 50% en cas de myélite [46].

Un syndrome polio-like a été signalé chez 10 à 15 % des patients atteints de formes neuro-invasives, un syndrome de Guillain Barré du à une polyradiculonévrite inflammatoire aigue pouvant entraîner une insuffisance respiratoire et la mort a été également décrit [47,48].

Des cas d'hépatite, de myocardite, de rhabdomyolyse, d'orchite ou de pancréatite aigue ont été aussi rapportés dans quelques séries [49]. Le suivi à long terme de patients atteints de ce virus a retrouvé un passage vers une insuffisance rénale chronique chez 40 % des survivants [50].

L'âge avancé, les maladies chroniques notamment le diabète, l'insuffisance rénale chronique, l'alcoolisme ou l'immunodépression constituent les facteurs de risque de ces formes sévères avec une mortalité qui peut atteindre 30 % [51,52].

Les résultats de l'imagerie cérébrale par résonnance magnétique peuvent corroborer la présomption clinique dans la moitié des cas avec des anomalies comme des signaux hyperintenses en T2 touchant électivement les noyaux gris centraux, les lobes temporaux ou le

mésencéphale [53].

Le VWN a été isolée également chez plusieurs mammifères dont les équidés qui sont les plus susceptibles et qui peuvent présenter une atteinte hémorragique de la substance grise et la moelle épinière avec une encéphalomyélite lymphoplasmocytaire et une dégénérescence neuronale inconstante. Le tableau clinique est fait d'une fièvre avec une hypotnie et des signes neurologiques comme une ataxie, une cécité voire une paralysie évoluant vers la mort de l'animal dans 10% des cas [54]. En 1996, le virus a causé une vaste épidémie au Maroc avec 94 cas chez les équidés et 44% de taux de mortalité. La souche isolée chez des chevaux était proche des souches qui circulaient en France et au Sénégal [55].

LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

L'orientation diagnostique vers une infection à VWN dépend de plusieurs facteurs comme les facteurs environnementaux, la saison et la notion d'exposition aux vecteurs. En effet, le recueil des habitudes et l'étude de la symptomatologie peuvent orienter le diagnostic pendant la saison estivale. La biologie standard peut montrer une hyperlymphocytose sanguine ou une lymphopénie, une thrombopénie ou une anémie avec une hyponatrémie surtout s'il y a une encéphalite associée. En cas d'atteinte neurologique, la présence d'une pléiocytose avec une réaction lymphocytaire est retrouvée dans le liquide cérébro-spinal (LCS) et qui peut être aussi associée à une réaction à polynucléaires neutrophiles, une hyperprotéinorrhachie quasiment constante qui peut atteindre 2g/dL avec une normoglucochorachie.

Pour confirmer ces présomptions, les tests virologiques doivent être prescrits en tenant compte de la chronologie des différentes phases l'infection.

L'incubation moyenne dure une semaine en moyenne et peut être plus prolongée en cas d'immunodépression. Le virus apparaît dans le sang à partir du deuxième jour jusqu'à deux semaines après l'infection. La réponse humorale joue un rôle capital dans la pathogenèse de l'infection par le VWN en limitant sa diffusion et en contribuant à sa clairance [56]. Elle est caractérisée par une synthèse des IgM deux semaines après l'infection, soit trois à huit jours après apparition des signes cliniques ; ces IgM peuvent persister jusqu'à trois mois [57]. Les IgG apparaissent quelques jours après les IgM, atteignant un maximum au bout de trois semaines et confèrent une immunité durable.

De nos jours la sérologie demeure un moyen diagnostique abordable et commode. La technique ELISA spécifiques des antigènes du virus permet d'orienter le diagnostic si le sérum est collecté entre le 8 et le 21ème jours suivant l'apparition des signes cliniques [58]. La présence isolée des IgG signe une cicatrice sérologique et impose la recherche d'une autre étiologie. L'absence des IgM ne permet toutefois pas d'écarter le diagnostic et impose un contrôle sérologique après quelques jours surtout si le premier prélèvement a été réalisé au tout début de la maladie. Une réaction faussement positive peut se voir



avec d'autre Flavivirus comme le virus Usutu, le virus de la dengue ou le virus de la fièvre jaune expliquant le recours à des tests sérologiques plus performants comme la séro-neutralisation [59,60] qui permet de spécifier le virus en cause. Cette technique reste toutefois réservée à des centres spécialisés vu la manipulation de cultures de souches virales vivantes et l'indication est restreinte aux suspicions d'une infection par d'autres arbovirus, une présentation clinique atypique ou sévère, une atteinte hors des saisons des épidémies voire de transmission inhabituelle comme une transplantation d'organe ou une transfusion sanguine [61]. En cas de neuroinvasion, les immunoglobulines peuvent être retrouvées dans le LCS suite à une synthèse intrathécale avec des taux très élevés en comparaison avec les taux sanguins [62].

Dans les formes neurologiques, le virus peut être détecté dans le LCS par PCR. Cette technique offre une bonne sensibilité avec une spécificité considérable en choisissant des amorces ciblant des régions conservées du génome viral. L'apport de la recherche du virus dans le LCS ou le plasma reste modeste étant donnée que la virémie et la viraémie sont faibles et brève [63]. La virurie demeure un moyen non invasif et fiable et permet la mise en évidence du virus dans plus de 75% des cas suspects notamment pendant les premiers jours de l'infection jusqu'à 41 jours après si le patient présente une forme sévère [64]. Des outils moléculaires comme la technique RT-LAMP ont été développés offrant une sensibilité et une spécificité de 87% et 90% respectivement [65]. Cette technique prometteuse peut être utilisée dans les pays aux ressources limitées ou sur terrain au lit du malade ou dans un laboratoire périphérique lors des périodes épidémiques.

Une sérologie du VWN (en l'absence d'une immunodépression) est préconisée en première intention et permet le diagnostic étiologique. En cas de présence des IgM dans le sérum, la pratique d'une PCR permettra de confirmer le diagnostic. L'absence des IgM au delà du huitième jour de la phase d'état permet d'écarter le diagnostic d'une infection à VWN [61].

Outre la chronologie du recueil, le respect des règles de l'acheminement des échantillons demeure capital pour garantir un résultat fiable. Ceci n'est possible qu'en sensibilisant les différents intervenants notamment les médecins de première ligne pour le diagnostic virologique et la nécessité de la complétude des prélèvements nécessaires : sérum, urines, sang total et LCS. En cas de négativité des marqueurs du VWN, la recherche d'un autre arbovirus qui peut être responsable d'une symptomatologie similaire, comme Toscana et Usutu Virus, est recommandée.

Le recours à de nouvelles technologies plus performantes dans la surveillance des pathogènes chez l'homme et l'animal comme les études métagénomiques par séquençage à haut débit permet actuellement de suivre l'évolution phylogénétique des lignées, la mise en évidence de l'introduction de nouveaux clusters mais aussi d'étudier les mutations responsables d'une virulence plus accrue [66].

OPTIONS THÉRAPEUTIQUES

La prise en charge thérapeutique pour les infections à VWN est limitée à des soins symptomatiques dans la majorité des cas. Le recours à la ribavirine, aux immunoglobulines polyclonales injectables par voie intraveineuse ou à l'interféron alpha a été préconisé chez les patients immunocompétents et chez les immunodéprimés avec des résultats non concluants [67,68].

Par ailleurs, des essais cliniques en phase II concernant l'utilisation des anticorps monoclonaux neutralisants n'ont pas été terminés à cause d'un nombre réduit des candidats [69].

Le nitazoxanide, thiazolide à large spectre, utilisé dans le traitement des diarrhées parasitaires et le teriflunomide, un immunomodulateur, sont considérés comme des molécules prometteuses avec une inhibition de l'infection aussi bien in vivo que in vitro [70]. Un anti-flavivirus a montré une efficacité in vitro : il s'agit d'un inhibiteur de la cycliphiline, une isomérase qui joue un rôle capital dans le cycle viral qui inhiberait l'action de la NS5A virale. Cette molécule pourrait être un antiviral à large spectre contre plusieurs Flavivirus [71].

LA PRÉVENTION

L'infection à VWN est une maladie à déclaration obligatoire du fait du risque d'épidémie et la nécessité d'une intervention urgente pour traiter les gîtes larvaires et les moustiques adultes dans les foyers épidémiques, étant donné l'absence d'un vaccin protecteur chez l'homme.

Bien que des vaccins anti VWN ont été approuvés chez les équins, plusieurs essais de vaccins humains demeurent dans les phases précliniques comme les vaccins à ADN où l'antigène de structure (prM/M-E) est exprimé de support plasmidique [72].

La prévention non spécifique repose essentiellement sur la lutte anti-vectorielle, les mesures de protection individuelle qui limiteront les piqûres d'insectes en évitant toute activité en plein air inutile notamment pour les sujets à risque ainsi que la surveillance entomologique et humaine.

En Tunisie, l'Observatoire National des Maladies Nouvelles et Emergentes (ONMNE) a mis un dispositif de surveillance intégrée du VWN depuis 2012, à l'instar des programmes développés à l'échelle mondiale. Le programme vise à détecter de façon précoce la circulation virale pour instaurer les mesures appropriées d'information et de prévention. Il est axé sur un volet de surveillance passive des cas humains et vétérinaires mais aussi une surveillance active via des volailles sentinelles et les vecteurs adultes [73].



CONCLUSION

L'infection par le virus West Nile est une maladie aux multiples facettes, tant épidémiologiques que cliniques, qui a suscité un intérêt croissant depuis la fin du siècle dernier, aussi bien à l'échelle mondiale que dans notre pays. Ce dernier est confronté à des enjeux spécifiques liés à divers facteurs environnementaux, tels que l'urbanisation, le réchauffement climatique et le relâchement des efforts des instances publiques.

Son contrôle nécessite un renforcement de la vigilance en santé publique, dans le cadre d'une approche « One Health » intégrant le diagnostic et la recherche scientifique.

En l'absence de traitement antiviral efficace, une collaboration multisectorielle est indispensable, associant la surveillance de la santé humaine et animale, ainsi que le développement des capacités en matière de diagnostic au laboratoire. Ces éléments sont essentiels pour élaborer des stratégies efficaces de prévention et de contrôle de l'infection par le WNV, ainsi que d'autres arboviroses émergentes.

RÉFÉRENCES

- Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. A Neurotropic Virus Isolated from the Blood of a Native of Uganda. *The American Journal of Tropical Medicine*. 1940;5(1-20(4)):471-492.
- Ciota AT, Kramer LD. Vector-virus interactions and transmission dynamics of West Nile virus. *Viruses*. 2013 Dec 9;5(12):3021-47. doi: 10.3390/v5123021.
- Lu L, Zhang F, Oude Munnink BB, Munger E, Sikkema RS, Pappa S, Tsioka K, et al. West Nile virus spread in Europe: Phylogeographic pattern analysis and key drivers. *PLoS Pathog*. 2024 Jan 25;20(1):e1011880.
- Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. *Clin Lab Med*. 2010 ;30(1):47-65. doi: 10.1016/j.cll.2009.10.006.
- Calisher CH, Karabatsos N, Dalrymple JM, Shope RE, Porterfield JS, Westaway EG, Brandt WE. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J Gen Virol*. 1989 ;70 (Pt 1):37-43. doi: 10.1099/0022-1317-70-1-37.
- Castle E, Nowak T, Leidner U, Wengler G, Wengler G. Sequence analysis of the viral core protein and the membrane-associated proteins V1 and NV2 of the flavivirus West Nile virus and of the genome sequence for these proteins. *Virology*. 1985 ;145(2):227-36. doi: 10.1016/0042-6822(85)90156-4.
- Chu JJ, Ng ML. Interaction of West Nile virus with alpha v beta 3 integrin mediates virus entry into cells. *J Biol Chem*. 2004;279(52):54533-41. doi: 10.1074/jbc.M410208200. Epub 2004 Oct 7.
- Wilson JR, de Sessions PF, Leon MA, Scholle F. West Nile virus nonstructural protein 1 inhibits TLR3 signal transduction. *J Virol*. 2008;82(17):8262-71. doi: 10.1128/JVI.00226-08. Epub 2008 Jun 18.
- Laurent-Rolle M, Boer EF, Lubick KJ, Wolfenbarger JB, Carmody AB, Rockx B, et al. The NS5 protein of the virulent West Nile virus NY99 strain is a potent antagonist of type I interferon-mediated JAK-STAT signaling. *J Virol*. 2010 ;84(7):3503-15. doi: 10.1128/JVI.01161-09. Epub 2010 Jan 27.
- Acharya D, Bai F. An Overview of Current Approaches Toward the Treatment and Prevention of West Nile Virus Infection. *Methods Mol Biol*. 2016;1435:249-91. doi: 10.1007/978-1-4939-3670-0_19.
- Zhang Y, Kaufmann B, Chipman PR, Kuhn RJ, Rossmann MG. Structure of immature West Nile virus. *J Virol*. 2007;81(11):6141-5. doi: 10.1128/JVI.00037-07. Epub 2007 Mar 21.
- Mason PW, Shustov AV, Frolov I. Production and characterization of vaccines based on flaviviruses defective in replication. *Virology*. 2006 ;351(2):432-43. doi: 10.1016/j.virol.2006.04.003. Epub 2006 May 18.
- Frasca F, Sorrentino L, Fracella M, D'Auria A, Coratti E, Maddaloni L, et al. An Update on the Entomology, Virology, Pathogenesis, and Epidemiology Status of West Nile and Dengue Viruses in Europe (2018-2023). *Trop Med Infect Dis*. 2024 Jul 20;9(7):166. doi: 10.3390/tropicalmed9070166.
- Suthar MS, Diamond MS, Gale M Jr. West Nile virus infection and immunity. *Nat Rev Microbiol*. 2013 ;11(2):115-28. doi: 10.1038/nrmicro2950.
- Saiz JC, Martín-Acebes MA, Blázquez AB, Escribano-Romero E, Poderoso T, Jiménez de Oya N. Pathogenicity and virulence of West Nile virus revisited eight decades after its first isolation. *Virulence*. 2021;12(1):1145-1173. doi: 10.1080/21505594.2021.1908740.
- Savage HM, Aggarwal D, Apperson CS, Katholi CR, Gordon E, Hassan HK, et al. Host choice and West Nile virus infection rates in blood-fed mosquitoes, including members of the *Culex pipiens* complex, from Memphis and Shelby County, Tennessee, 2002-2003. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2007 ;7(3):365-86. doi: 10.1089/vbz.2006.0602.
- Thiemann TC, Lemenager DA, Kluh S, Carroll BD, Lothrop HD, Reisen WK. Spatial variation in host feeding patterns of *Culex tarsalis* and the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) in California. *J Med Entomol*. 2012;49(4):903-16. doi: 10.1603/me11272.
- Wasfi F, Dachraoui K, Cherni S, Bosworth A, Barhoumi W, Dowall S et al. West Nile virus in Tunisia, 2014: First isolation from mosquitoes. *Acta Trop*. 2016 ;159:106-10. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.03.037. Epub 2016 Mar 31.
- M'ghirbi Y, Mousson L, Moutailler S, Lecollinet S, Amaral R, Beck C et al. West Nile, Sindbis and Usutu Viruses: Evidence of Circulation in Mosquitoes and Horses in Tunisia. *Pathogens*. 2023 Feb 21;12(3):360. doi: 10.3390/pathogens12030360.
- Fontenille D. Etude des circuits de vection d'arbovirus, à Madagascar [Arbovirus transmission cycles in Madagascar]. *Arch Inst Pasteur Madagascar*. 1989;55(1):1-317.
- Lwande OW, Venter M, Lutemiah J, Michuki G, Rumberia C, Gakuya F et al. Whole genome phylogenetic investigation of a West Nile virus strain isolated from a tick sampled from livestock in north eastern Kenya. *Parasit Vectors*. 2014 Nov 28;7:542. doi: 10.1186/s13071-014-0542-2.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Investigations of West Nile virus infections in recipients of organ transplantation and blood transfusion. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2002 Sep 20;51(37):833-6.
- O'Leary DR, Kuhn S, Kniss KL, Hinckley AF, Rasmussen SA, Pape WJ et al. Birth outcomes following West Nile Virus infection of pregnant women in the United States: 2003-2004. *Pediatrics*. 2006 Mar;117(3):e537-45. doi: 10.1542/peds.2005-2024.
- Fall G, Di Paola N, Faye M, Dia M, Freire CCM, Loucoubar C et al. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Nov 8;11(11):e0006078. doi: 10.1371/journal.pntd.0006078.
- Castillo-Olivares J, Wood J. West Nile virus infection of horses. *Vet Res*. 2004 Jul-Aug;35(4):467-83. doi: 10.1051/vetres:2004022. PMID: 15236677.
- Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis*. 2002 Sep;2(9):519-29. doi: 10.1016/s1473-3099(02)00368-7. PMID: 12206968.
- Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, Huang A, Rosenberg A, Greenberg A, Sherman M, Wong S, Layton M; 1999 West Nile Outbreak Response Working Group. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med*. 2001 Jun 14;344(24):1807-14. doi: 10.1056/NEJM200106143442401. PMID: 11407341.
- https://www.cdc.gov/west-nile-virus/data-maps/historic-data.html#cdc_data_surveillance_section_2-explore-human-data



- for-1999-2024
29. Kramer LD, Li J, Shi PY. West Nile virus. *Lancet Neurol.* 2007 Feb;6(2):171-81. doi: 10.1016/S1474-4422(07)70030-3. PMID: 17239804.
 30. Huang YJ, Higgs S, Horne KM, Vanlandingham DL. Flavivirus-mosquito interactions. *Viruses.* 2014;6(11):4703-30.
 31. Nabli B, Chippaux-Hyppolite C, Chippaux A, Tamalet J. Enquête sérologique en Tunisie sur les arbovirus [Serological study of arboviruses in Tunisia]. *Bull World Health Organ.* 1970;42(2):297-303. PMID: 5310141; PMCID: PMC2427449.
 32. Chastel C., Rogues G. & Beaucournu Saguez F. 1977. Enquête séroépidémique mixte arbovirus arénavirus chez les petits mammifères de Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*, 70 (5), 471-479.
 33. Murgue B, Murri S, Triki H, Deubel V, Zeller HG. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann N Y Acad Sci.* 2001 Dec;951:117-26. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb02690.x. PMID: 11797769.
 34. Monastiri A, Mechri B, Vázquez-González A, Ar Gouilh M, Chakroun M, Loussaief C, Mastouri M, Dimassi N, Boughzala L, Aouni M, Serra-Cobo J. A four-year survey (2011-2014) of West Nile virus infection in humans, mosquitoes and birds, including the 2012 meningoencephalitis outbreak in Tunisia. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):28.
 35. Fares W, Gdoura M, Dhrif H, et al. Genetic characterization of West Nile Virus strains during neuroinvasive infection outbreak in Tunisia, 2018. *Transbound Emerg Dis.* 2021; 68: 2414–2421.
 36. Bahri O, Dhifallah I, Ben Alaya-Bouaffif N, Fekih H, Gargouri J, Triki H. Étude séroépidémiologique de la circulation du virus West Nile chez l'Homme en Tunisie [Sero-epidemiological study of West Nile virus circulation in human in Tunisia]. *Bull Soc Pathol Exot.* 2011;104(4):272-6.
 37. Ben Hassine, T., De Massis, F., Calistri, P., Savini, G., BelHaj Mohamed, B., Ranen, A., Di Gennaro, A., Sghaier, S. and Hammami, S. (2014), First Detection of Co-circulation of West Nile and Usutu Viruses in Equids in the South-west of Tunisia. *Transbound Emerg Dis*, 61: 385-389.
 38. Hassine TB, Amdouni J, Monaco F, Savini G, Sghaier S, Selimen IB, Chandoul W, Hamida KB, Hammami S. Emerging vector-borne diseases in dromedaries in Tunisia: West Nile, bluetongue, epizootic haemorrhagic disease and Rift Valley fever. *Onderstepoort J Vet Res.* 2017 Mar 31;84(1):e1-e3. doi: 10.4102/ojvr.v84i1.1316. PMID: 28397519; PMCID: PMC6238681.
 39. <https://wnv-monthly.ecdc.europa.eu/>
 40. Muzumdar S, Rothe MJ, Grant-Kels JM. The rash with maculopapules and fever in adults. *Clin Dermatol.* 2019 Mar-Apr;37(2):109-118. doi: 10.1016/j.clindermatol.2018.12.004. Epub 2018 Dec 5. PMID: 30981291.
 41. Taylor, R.M. Work T. H., Hurlbut H. S., Rizk F. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am. J. Trop. Med.* 1956. 5: 579–620.
 42. Sejvar JJ. West Nile virus: an historical overview. *Ochsner J.* 2003;5(3):6-10.
 43. Tyler KL. West Nile virus encephalitis in America. *N Engl J Med.* 2001 Jun 14;344(24):1858-9.
 44. Hughes JM, Wilson ME, Sejvar JJ. The Long-Term Outcomes of Human West Nile Virus Infection. *Clin Infect Dis* 2007;44:1617–24.
 45. Watson J.T., Pertel P.E., Jones R.C., Siston A.M., Paul W.S., Austin C.C., Gerber S.I. Clinical characteristics and functional outcomes of West Nile Fever. *Ann. Intern. Med.* 2004;141:360–365.
 46. Chowers MY, Lang R, Nassar F, Ben-David D, Giladi M, Rubinshtein E, Itzhaki A, Mishal J, Siegman-Igra Y, Kitzes R, Pick N, Landau Z, Wolf D, Bin H, Mendelson E, Pitlik SD, Weinberger M. Clinical characteristics of the West Nile fever outbreak, Israel, 2000. *Emerg Infect Dis.* 2001;7(4):675-8.
 47. Sejvar JJ, Bode AV, Marfin AA et al. West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerging Infect. Dis.* 11(7), 1021–1027 (2005).
 48. Ahmed S, Libman R, Wesson K, Ahmed F, Einberg K. Guillain-Barré syndrome: an unusual presentation of West Nile virus infection. *Neurology* 55(1), 144–146 (2000).
 49. Sejvar JJ. Clinical manifestations and outcomes of West Nile virus infection. *Viruses.* 2014 Feb 6;6(2):606-23.[21] Davis L.E., DeBiasi R., Goade D.E., Haaland K.Y., Harrington J.A., Harnar J.B., Pergam S.A., King M.K., DeMasters B.K., Tyler K.L. West Nile virus neuroinvasive disease. *Ann. Neurol.* 2006;60:286–300.
 50. Nolan MS, Podoll AS, Hause AM, Akers KM, Finkel KW, Murray KO. Prevalence of chronic kidney disease and progression of disease over time among patients enrolled in the Houston West Nile virus cohort. *PLoS ONE* 7(7), e40374 (2012)
 51. Diamond M.S., Shrestha B., Marri A., Mahan D., Engle M. B cells and antibody play critical roles in the immediate defense of disseminated infection by West Nile encephalitis virus. *J. Virol.* 2003;77:2578–86.
 52. Mbonde AA, Gritsch D, Harahsheh EY, Kasule SN, Hasan S, Parsons AM, Zhang N, Butterfield R, Shiue H, Norville KA, Reynolds JL, Vikram HR, Chong B, Grill MF. Neuroinvasive West Nile Virus Infection in Immunosuppressed and Immunocompetent Adults. *JAMA Netw Open.* 2024 Mar 4;7(3):e244294.
 53. Robertson HJ, Sejvar JJ. The need for a West Nile virus MRI registry. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003 Oct;24(9):1741-2. PMID: 14561595; PMCID: PMC7976293
 54. Ostlund EN, Andresen JE, Andresen M. West Nile encephalitis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2000 Dec;16(3):427-41.
 55. Benjelloun, A., El Harrak, M. and Belkadi, B. (2016), West Nile Disease Epidemiology in North-West Africa: Bibliographical Review. *Transbound Emerg Dis*, 63: e153-e159.
 56. Diamond M.S., Shrestha B., Marri A., Mahan D., Engle M. B cells and antibody play critical roles in the immediate defense of disseminated infection by West Nile encephalitis virus. *J. Virol.* 2003;77:2578–86.
 57. <https://www.cdc.gov/west-nile-virus/hcp/diagnosis-testing/index.html> Consulté le 15-09-2025
 58. Petersen LR, Marfin AA. West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann Intern Med.* 2002 Aug 6;137(3):173-9.
 59. Simonin Y. Circulation of West Nile Virus and Usutu Virus in Europe: Overview and Challenges. *Viruses.* 2024 Apr 12;16(4):599
 60. Girl P, Euringer K, Coroian M, Mihalca AD, Borde JP, Dobler G. Comparison of Five Serological Methods for the Detection of West Nile Virus Antibodies. *Viruses.* 2024 May 15;16(5):788.
 61. https://www.cdc.gov/west-nilevirus/media/pdfs/West_Nile_Virus_Diagnostic_Algorithm_Print-Only.pdf Consulté le 15-09-2025
 62. Pelz JO, Mühlberg C, Friedrich I, Weidhase L, Zimmermann S, Maier M, Pietsch C. A Specific Pattern of Routine Cerebrospinal Fluid Parameters Might Help to Identify Cases of West Nile Virus Neuroinvasive Disease. *Viruses.* 2024 Feb 22;16(3):341.
 63. Cvjetković IH, Radovanov J, Kovačević G, Turkulov V, Patić A. Diagnostic value of urine qRT-PCR for the diagnosis of West Nile virus neuroinvasive disease. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2023 Sep;107(1):115920.
 64. Gdoura M, Fares W, Bougatef S, Inoubli A, Touzi H, Hogga N, et al. The value of West Nile virus RNA detection by real-time RT-PCR in urine samples from patients with neuroinvasive forms. *Arch Microbiol.* 2022 Apr 3;204(5):238.
 65. Khedhiri M, Chaouch M, Ayouni K, Chouikha A, Gdoura M, Touzi H, et al. Development and evaluation of an easy to use real-time reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay for clinical diagnosis of West Nile virus. *Journal of Clinical Virology* 2024;170:105633.
 66. Varghese J, De Silva I, Millar DS. Latest Advances in Arbovirus Diagnostics. *Microorganisms.* 2023 Apr 28;11(5):1159.
 67. Chan-Tack KM, Forrest G. Failure of interferon alpha-2b in a patient with West Nile virus meningoencephalitis and acute flaccid paralysis. *Scand J Infect Dis.* 2005;37(11-12):944-6.
 68. Lewis M, Amsden JR. Successful treatment of West Nile virus infection after approximately 3 weeks into the disease course. *Pharmacotherapy.* 2007 Mar;27(3):455-8.

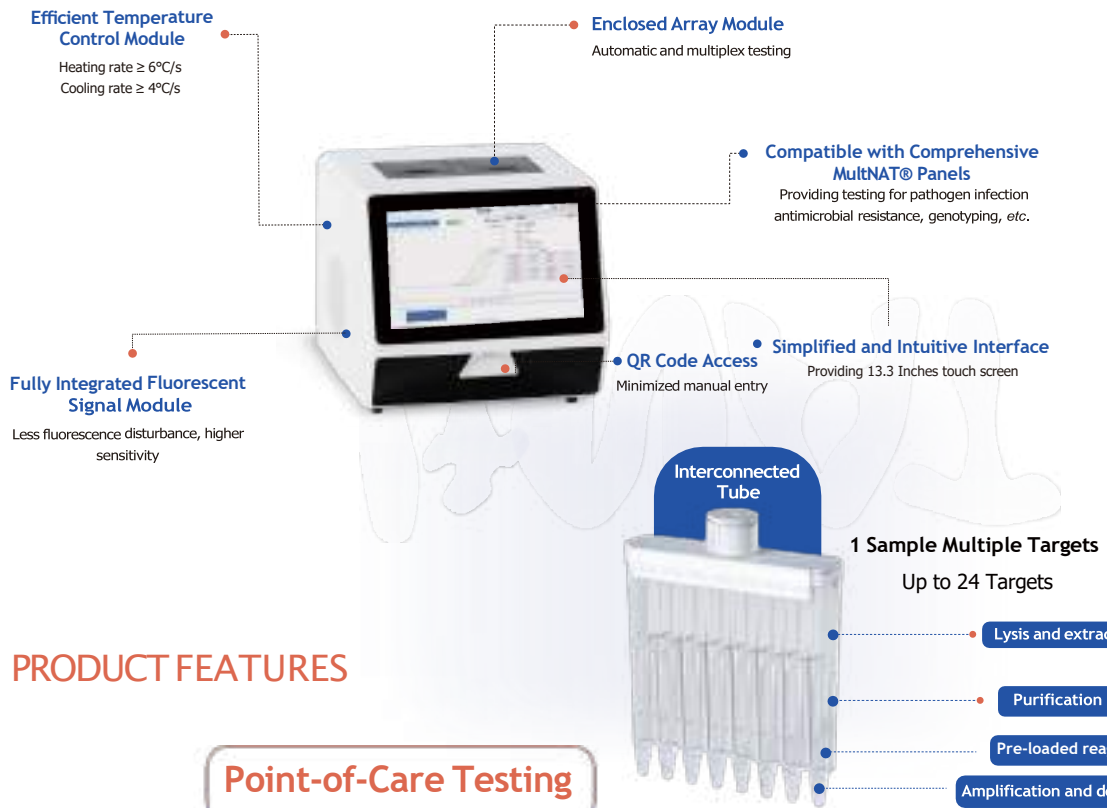


69. <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT00927953?intr=%20MGAWN1&rank=2> Consulté le 10-09-2025
70. Tang H, Liu Y, Ren R, Liu Y, He Y, Qi Z, et al. Identification of clinical candidates against West Nile virus by activity screening in vitro and effect evaluation in vivo. *Journal of Medical Virology* 2022;94:4918–25.
71. Nevers Q, Ruiz I, Ahnou N, Donati F, Brillet R, Softic L, Chazal M, Jouvenet N, Fourati S, Baudesson C, Bruscella P, Gelin M, Guichou JF, Pawlotsky JM, Ahmed-Belkacem A. Characterization of the Anti-Hepatitis C Virus Activity of New Nonpeptidic Small-Molecule Cyclophilin Inhibitors with the Potential for Broad Anti-Flaviviridae Activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018 Jun 26;62(7):e00126-18.
72. Davis BS, Chang GJ, Cropp B, Roehrig JT, Martin DA, Mitchell CJ, Bowen R, Bunning ML. West Nile virus recombinant DNA vaccine protects mouse and horse from virus challenge and expresses in vitro a noninfectious recombinant antigen that can be used in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Virol.* 2001 May;75(9):4040-7. doi: 10.1128/JVI.75.9.4040-4047.2001. PMID: 11287553; PMCID: PMC114149.
73. Davis BS, Chang GJ, Cropp B, Roehrig JT, Martin DA, Mitchell CJ, Bowen R, Bunning ML. West Nile virus recombinant DNA vaccine protects mouse and horse from virus challenge and expresses in vitro a noninfectious recombinant antigen that can be used in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Virol.* 2001 May;75(9):4040-7. doi: 10.1128/JVI.75.9.4040-4047.2001. PMID: 11287553; PMCID: PMC114149.



MultNAT® System

Molecular Diagnostic PCR System



PRODUCT FEATURES

Point-of-Care Testing

MultNAT Molecular Diagnostic PCR System





Activité transversale d'infectiologie à l'hôpital Farhat Hached de Sousse

Mobile Infectious Diseases Team activity at Farhat Hached University Hospital, Sousse

M. Amamou¹, S. Rouis^{2,3}, M. Ben Ticha^{1,3}, M. Ben Selma^{1,3}, H. Knani^{1,3}, M. Abid^{1,3}, F. Bellazreg^{1,3}, N. Ben Lasfar^{1,3}, W. Hachfi^{1,3}

¹Service de Maladies infectieuses, CHU Farhat Hached Sousse

²Service de Maladies infectieuses, CHU Ibn El Jazzar Kairouan

³Faculté de Médecine Ibn El Jazzar de Sousse, Université de Sousse

Correspondance:

Wissem Hachfi

Service de Maladies infectieuses, CHU Farhat Hached Sousse

Email: wissemhachfi@gmail.com

RÉSUMÉ

Contexte : L'activité transversale en infectiologie revêt une importance cruciale pour aider au diagnostic, optimiser l'utilisation des anti-infectieux et lutter contre la résistance bactérienne. L'hôpital Farhat Hached de Sousse s'est doté depuis 2016 d'une équipe mobile d'infectiologie (EMI), dont l'activité nécessite une réévaluation régulière, afin d'apporter les améliorations nécessaires. L'objectif de cette étude est de décrire l'activité actuelle de l'EMI et de discuter de son évolution au fil du temps.

Méthodes : Une étude descriptive a été menée sur six mois (janvier-juin 2024) à partir des données collectées à travers l'activité de l'EMI. Les appels des services d'urgence n'ont pas été inclus. Les experts de l'EMI sont représentés par un médecin spécialiste en infectiologie et un résident en formation. Les données étaient saisies sur un fichier Excel, de façon simultanée à la dispensation de l'avis. Les données recueillies comportaient les caractéristiques des demandes, les infections suspectées et les interventions de l'EMI.

Résultats : Au total, 496 interventions ont été réalisées, dans 99,4 % des cas pour des patients hospitalisés dans le secteur public. La majorité des sollicitations provenaient de l'hôpital Farhat Hached (62,3 %), tandis que le reste était réparti entre l'hôpital de Sahloul (34,1 %) et d'autres structures (3,6 %). Les demandes provenaient de services à vocation médicale dans 63,5% des cas. Les principaux demandeurs d'avis étaient des médecins en formation (97%). L'avis était considéré comme urgent par les demandeurs dans 66,7 % des cas. Le motif de la demande était une aide à l'antibiothérapie dans 73,2 % des cas. Des prélèvements microbiologiques ont été effectués dans 80,6 % des cas, ayant permis une documentation microbiologique dans 38,5 % des cas. Il s'agissait d'une infection associée aux soins dans 38,9% des cas. Les principaux sites infectieux étaient urinaires (19,8 %), pulmonaires (19,4 %) et cutanés (15,3 %). L'intervention de l'équipe mobile d'infectiologie (EMI) s'est traduite par une modification du traitement en cours dans 192 cas (38,7%). Il s'agissait d'une désescalade dans 62 cas, d'un arrêt du traitement anti-infectieux dans 61 cas, d'un ajustement posologique dans 12 cas et d'un élargissement du spectre dans 40 cas. Pour les situations où les patients n'étaient pas déjà sous traitement anti-infectieux (226 cas), l'instauration de ce dernier a été indiquée dans 119 cas. Par ailleurs, le maintien de la même antibiothérapie en cours était la conduite conseillée par l'EMI dans 78 cas (15,7%).

Conclusion : Cette étude met en évidence le rôle central de l'EMI dans l'optimisation et la rationalisation de l'usage des anti-infectieux. L'augmentation du volume d'activité ainsi que les limites identifiées soulignent la nécessité d'une réorganisation, en intégrant des solutions numériques telles que la télé-expertise. Le développement d'outils interactifs et interopérables, enrichis par des données locales pour entraîner des algorithmes adaptés, constitue une perspective stratégique pour améliorer la réactivité, renforcer la pertinence des interventions et soutenir la lutte contre l'antibiorésistance.

Mots-clés : infectiologie transversale, équipe mobile en infectiologie, bon usage des antibiotiques, maladies infectieuses, résistance aux antimicrobiens, télémédecine, Tunisie.

ABSTRACT

Background: Consultative infectious diseases (ID) activity is essential to support diagnosis, optimize antimicrobial use, and address antimicrobial resistance. Since 2016, Farhat Hached University Hospital in Sousse has established a Mobile Infectious Diseases Team (MIDT), whose activity requires regular evaluation to ensure continuous improvement. The objective of this study was to describe the current activity of the MIDT and to assess its evolution over time.

Methods: A descriptive study was carried out over six months (January–June 2024) using data collected during the MIDT's daily practice. Emergency department requests were excluded. The team consisted of one infectious disease specialist and one resident. Data were entered into an Excel file concurrently with the consultations. The dataset included request characteristics, suspected infections, and MIDT interventions.

Results: A total of 496 consultations were recorded, almost exclusively for hospitalized patients (99.4%) in the public sector. Most requests originated from Farhat Hached Hospital (62.3%), followed by Sahloul Hospital (34.1%) and other institutions (3.6%). Medical wards accounted for 63.5% of requests. The majority of consultations were initiated by residents (50%) and interns (47%). Requests were classified as urgent in 66.7% of cases. The main reason for consultation was therapeutic guidance (73.2%). Microbiological samples were obtained in 80.6% of cases, leading to microbiological documentation in 38.5%. Healthcare-associated infections accounted for 38.9% of suspected cases. The most frequent infection sites were urinary (19.8%), pulmonary (19.4%), and skin/soft tissue (15.3%). MIDT interventions most often involved modification of ongoing therapy (38.7%), including



de-escalation (62 cases), treatment discontinuation (61 cases), dose adjustment (12 cases), and broadening of spectrum (40 cases). For patients not receiving antimicrobial therapy at the time of consultation (226 cases), initiation of treatment was recommended in 119 cases. In 78 cases (15.7%), continuation of the same regimen was advised.

Conclusion: This study highlights the pivotal contribution of the MIDT in promoting rational antimicrobial use. The increasing volume of consultations and the limitations identified emphasize the need for reorganization, including the integration of digital solutions such as tele-expertise. The development of interactive, interoperable tools, enriched with locally generated data to train context-specific algorithms, represents a strategic avenue to enhance responsiveness, strengthen the relevance of interventions, and sustain the fight against antimicrobial resistance.

Keywords: Infectious diseases consultation, mobile infectious diseases team, antimicrobial stewardship, infectious diseases, antimicrobial resistance, telemedicine, Tunisia.

INTRODUCTION

L'activité transversale en infectiologie occupe une place croissante dans le système de soins(1,2), portée par la fréquence des pathologies infectieuses dans les disciplines médico-chirurgicales et par l'essor de la résistance aux anti-infectieux, qui complexifie la prise en charge thérapeutique(3). Elle consiste à mettre à disposition des professionnels de santé une expertise en infectiologie afin d'aider au diagnostic et d'optimiser les prescriptions d'anti-infectieux. Cette activité s'inscrit dans la stratégie nationale de rationalisation de l'usage des antibiotiques(4), pilier de la lutte contre l'antibiorésistance et enjeu majeur de santé publique en Tunisie(5). En effet, des données tunisiennes récentes ont mis en évidence de multiples corrélations, directes et indirectes, entre la consommation d'antibiotiques et l'augmentation des résistances bactériennes — notamment chez *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii* — soulignant l'impact des pratiques de prescription sur la dynamique de l'antibiorésistance(6). Pour lutter contre ce fléau, plusieurs interventions ont été tentées et ont montré leur efficacité dans notre contexte africain(7), à travers des programmes d'Antimicrobial Stewardship (AMS), des programmes de formation continue, de surveillance, d'évaluation et de rétroactions.

L'un des piliers de ces différentes stratégies est l'infectiologie transversale, dont les activités sont le plus souvent assurées par une équipe mobile d'infectiologie (EMI), composée d'experts en la matière. Les avis dispensés par cette équipe reposent sur des informations cliniques et paracliniques recueillies directement auprès du patient et/ou délivrées par le médecin traitant, parfois sans aucun contact avec le patient, surtout dans le cadre des sollicitations venant d'autres établissements de santé. L'infectiologie transversale se prête ainsi particulièrement à la télémédecine, d'autant plus que le nombre d'experts demeure relativement limité dans notre pays.

L'hôpital Farhat Hached de Sousse s'est doté d'une EMI depuis 2016, composée d'un médecin sénior référent et d'un médecin résident en maladies infectieuses. L'activité de cette équipe a fait l'objet d'une première évaluation à travers une analyse rétrospective en 2020, mettant en évidence la diversité des situations rencontrées(8). Cette étude avait également souligné plusieurs obstacles, en particulier la difficulté pour les demandeurs d'avis à joindre l'équipe. Pour y remédier, un numéro de téléphone portable fonctionnant 24 h/24 a été mis en place en 2021. Par ailleurs, la collecte des données reposait

jusqu'en 2020 sur les résumés des cas transcrits dans un cahier. Le recueil était donc incomplet et hétérogène. Une première amélioration a été introduite en 2021 par l'adoption d'une fiche standardisée avec des variables prédéfinies, élaborée et validée par les infectiologues de l'équipe. En janvier 2024, cette fiche a été numérisée et a été remplie à chaque fois de façon simultanée à la dispensation de l'avis, permettant ainsi une centralisation et une homogénéisation des données.

Ces différents changements structurels et organisationnels, progressivement intégrés, justifient actuellement la réalisation d'une nouvelle évaluation de l'activité de l'EMI. Notre étude s'inscrit donc dans une démarche qualité et a pour objectif de décrire l'activité transversale en infectiologie à l'hôpital Farhat Hached de Sousse.

MÉTHODOLOGIE

Cadre de l'étude

Cette étude a été réalisée par l'équipe du service de Maladies Infectieuses de l'Hôpital Farhat Hached à Sousse, en Tunisie. La ville dispose de deux hôpitaux universitaires: celui de Farhat Hached, où se trouve le seul service de Maladies Infectieuses dans la région, et l'hôpital de Sahloul. L'expertise en infectiologie peut également être sollicitée par les hôpitaux relevant du district annexé à la faculté de médecine de Sousse, notamment ceux de Kasserine et de Sidi Bouzid. L'hôpital universitaire de Kairouan dispose, depuis 2020, d'un service de Maladies Infectieuses.

Type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale descriptive, menée sur une période de six mois, de janvier 2024 à juin 2024, analysant les données collectées par l'EMI. Cette équipe est composée d'un médecin spécialiste en maladies infectieuses et d'un résident de spécialité en cours de formation dont le travail est de répondre aux demandes d'avis en les consignants de façon méthodique. En effet, les données relatives à chaque intervention (origine de la demande, spécialité, motif, site infectieux, examens microbiologiques, type d'intervention) étaient saisies, en même temps que leur recueil, sur des tableaux Excel®. Cette méthode a remplacé la consignation manuscrite antérieure.

Critères d'inclusion

Ont été incluses toutes les demandes d'avis pendant la



période d'étude.

Critères d'exclusion

Ont été exclues de l'analyse les demandes émanant des services d'urgence.

Collecte des données

Les médecins demandeurs se voyaient poser des questions prédéfinies pour le remplissage du tableau numérique. Pour chaque demande, les données suivantes ont été recueillies: la date de la demande ; l'établissement d'origine (Farhat Hached, Sahloul, Kasserine, Sidi Bouzid) ; la spécialité et le type de service demandeur (médical, chirurgical ou réanimation) ; le statut du médecin demandeur (interne, résident, hospitalo-universitaire et médecin libéral); le niveau d'urgence de la demande (extrême urgence, urgente ou non urgente) ; le motif de la demande (aide au diagnostic, aide thérapeutique, transfert ou conseil de prévention) ; la nature de l'infection suspectée (communautaire ou associée aux soins) ; le site infectieux présumé (urinaire, pulmonaire, cutané, etc.); la réalisation ou non d'examen microbiologiques ainsi que les micro-organismes identifiés. De plus, ont été enregistrés le type d'intervention proposé par l'équipe mobile concernant l'antibiothérapie : initiation, modification (désescalade, élargissement du spectre, changement de molécule ou ajustement posologique), arrêt ou maintien ; ainsi que d'autres actions telles que l'absence d'indication à débiter un traitement, la demande d'examen complémentaires ou d'avis spécialisés supplémentaires. Enfin, le nombre de suivis ou mises à jour effectués pour chaque demande a été noté.

Analyse statistique

Les données ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel SPSS® (version 26). Les variables qualitatives ont été exprimées en pourcentages. Aucune inférence statistique comparative n'a été réalisée pour cette étude descriptive.

RÉSULTATS

Au total, 496 interventions ont été réalisées pendant la période d'étude. Il s'agissait d'avis dispensés pour des patients hospitalisés dans 493 cas (99,4 %), répartis entre l'hôpital Farhat Hached (62,3 %, n=309), l'hôpital de Sahloul (34,1 %, n=169) et les hôpitaux de Kasserine (1,2 %, n=6), de Sidi Bouzid (1 %, n=5), de Medenine (0,8 %, n=4). Trois avis ont été dispensés pour des patients non hospitalisés (0,6%). Les demandeurs d'avis étaient majoritairement des médecins en formation : des résidents (50 %, n=248) et des internes (47 %, n=233). Les autres demandeurs d'avis étaient des médecins titulaires hospitalo-universitaires dans 2,4% des cas (n=12) et des médecins libéraux dans 0,6 % (n=3). Le mode de communication principal était le téléphone portable dédié à l'EMI. Un déplacement pour une évaluation directe du patient a été effectué dans 126 cas (25,4 %). Un complément d'information par un deuxième appel

téléphonique était nécessaire dans 324 cas (65,3%). Les services demandeurs d'avis étaient répartis en services à vocation médicale (63,5 %, n=313), services à vocation chirurgicale (33,9 %, n=167) et services de réanimation (2,6 %, n=13). Les spécialités qui ont sollicité le plus l'EMI étaient la cardiologie (n=77, 15,5%), la chirurgie orthopédique (n=42,8,5%), l'oto-rhino-laryngologie (n=39, 7,9%), la gynécologie (n=37, 7,5%), l'hépatogastro-entérologie (n=35, 7,1%) et la neurologie (n=34, 6,9%). La réponse à la demande d'avis était qualifiée d'urgente par les demandeurs dans 331 cas (66,7 %), extrêmement urgente dans 21 cas (4,2 %) et non urgente dans 144 cas (29,1 %). Le motif principal indiqué par les demandeurs était une aide thérapeutique dans 363 cas (73,2 %), une aide au diagnostic dans 122 cas (24,6 %), des conseils de prévention dans six cas (1,2 %), et une demande de transfert au service dans cinq cas (1 %).

Les infections présumées étaient considérées comme d'origine communautaire dans 303 cas (61,1 %) et associées aux soins dans 193 cas (38,9 %). Les sites infectieux prédominants étaient urinaires dans 98 cas (19,8 %), pulmonaires dans 96 cas (19,4 %) et cutanés dans 76 cas (15,3 %). Les examens microbiologiques étaient réalisés chez 400 patients (80,6%). Les germes isolés étaient *Escherichia coli* dans 39 prélèvements (9,75 %), *Klebsiella pneumoniae* dans 24 prélèvements (6 %) et *Staphylococcus aureus* dans 18 prélèvements (4,5 %). Les autres microorganismes retrouvés étaient des champignons dans sept cas, des virus dans cinq cas et des parasites dans deux cas.

L'intervention des infectiologues sur la thérapie anti-infectieuse consistait le plus souvent en une modification du traitement en cours (38,7 %, n=192). Parmi celles-ci, la désescalade représentait 32,3 % (n=62), l'arrêt du traitement 31,8 % (n=61), l'élargissement du spectre 20,8 % (n=40), et l'ajustement posologique 6,2 % (n=12). Le traitement initial a été maintenu dans 78 cas (15,7 %). Chez les patients n'ayant pas encore reçu de traitement anti-infectieux (n=226), une antibiothérapie a été indiquée dans 119 cas (24 %) (Tableau I).

Tableau I. Répartition des décisions thérapeutiques suite à l'intervention de l'EMI.

Intervention thérapeutique	N	%
Modification du traitement anti-infectieux en cours	192	38,7
Désescalade	62	32,3
Arrêt de l'antibiothérapie	61	31,8
Élargissement de spectre	40	20,8
Changement de spectre	17	8,8
Ajustement de la posologie	12	6,2
Maintien du traitement initial	78	15,7
Pour les patients qui n'étaient pas sous traitement anti-infectieux	226	45,6
-Initiation d'une antibiothérapie	119	
-Pas d'indication à débiter un traitement anti-infectieux	107	
Total	496	100

N = nombre d'interventions



DISCUSSION

Évolution du volume d'activité et qualité de la traçabilité

Cette étude conduite à Sousse sur une période de six mois met en évidence l'importance de l'activité de l'équipe mobile d'infectiologie (EMI) et l'intérêt de la numérisation des données pour optimiser la prise en charge. On note tout d'abord une augmentation significative du volume d'activité de l'EMI. Le nombre moyen des interventions recueillies, à travers cette étude, pendant la période entre janvier et juin 2024 (496 interventions en 6 mois) est largement supérieur au nombre des interventions consignées par la même EMI avant 2020 (628 interventions en une année) (8). Ceci pourrait témoigner d'un recours de plus en plus fréquent à l'expertise des infectiologues, mais ça pourrait aussi être expliqué par une meilleure traçabilité ou une meilleure technique d'archivage des données relatives à cette activité, à travers une saisie instantanée des données sur un tableau numérique.

Profil des demandeurs d'avis en infectiologie

La majorité des demandeurs d'avis de l'EMI étaient des jeunes médecins en formation, les résidents et les internes représentaient respectivement 50% et 47% des demandeurs d'avis. Cette prédominance ne reflète pas une autonomie décisionnelle propre, mais s'explique par la délégation de cette tâche par les médecins séniors. Les résidents et internes deviennent ainsi les principaux opérateurs et utilisateurs du processus de demande d'avis. Par ailleurs, la faible proportion de sollicitations provenant directement des médecins hospitalo-universitaires (2,4 %) pourrait s'expliquer par leur recours plus fréquent à des démarches informelles pour solliciter l'expertise en infectiologie. En effet, les avis peuvent être dispensés directement par d'autres infectiologues ne faisant pas partie de l'EMI. Ainsi, ces interventions non consignées peuvent sous-estimer le volume d'activité de l'infectiologie transversale. Cette proportion élevée d'avis informels dans l'activité quotidienne des infectiologues est une réalité bien documentée, comme en témoigne l'étude de Rameau et al.(9) réalisée au CHU de Dijon. Celle-ci a quantifié 1972 demandes de conseils informels traitées sur une période de 32 mois, représentant un volume d'activité considérable avec une moyenne de 84 demandes par mois. Cette charge de travail représentait environ une heure dédiée chaque jour par le spécialiste pour cette seule activité, ce qui souligne son importance quantitative dans la routine du service (10).

Élargissement de l'activité de l'EMI et défis liés à la coordination interdisciplinaire

Une proportion importante des demandes d'avis provenait de l'hôpital universitaire de Sahloul (34,1 %), traduisant une nette augmentation par rapport à la période 2016-2020 où cette proportion n'était que de 20 % (8). Cette évolution souligne l'élargissement du champ d'activité de l'équipe mobile d'infectiologie

au-delà de son hôpital de rattachement, confirmant le besoin croissant d'expertise spécialisée dans d'autres structures. Par ailleurs, la majorité des demandes était classées comme urgentes par les prescripteurs (66,7 %), ce qui met en évidence l'importance d'une réponse rapide et adaptée. Dans ce contexte, la mise en place d'outils numériques apparaît comme une solution incontournable pour assurer une accessibilité optimale à l'expertise, réduire les délais d'échanges et améliorer la coordination entre les soignants. Ce besoin est d'autant plus important que le nombre de spécialistes en Maladies Infectieuses est limité. Cette pénurie d'infectiologues n'est pas propre à la Tunisie. En effet, aux États-Unis, près de 45 % des hôpitaux ne disposent pas de spécialiste sur place (1). D'un autre côté, plusieurs études ont démontré l'importance d'une intervention spécialisée en infectiologie dans la réduction de la mortalité (11,12).

Dans notre étude, 99,4% (n=493) des interventions concernaient des patients hospitalisés, dont la majorité était dans des services à vocation médicale (n=313, 63,5 %). Cette répartition était équivalente à celle de l'activité de la même EMI avant 2020. (8). La principale différence concernait le nombre de sollicitations émanant des services de réanimation, où nous avons recensé 13 avis en 6 mois contre seulement 4 sur 4 ans dans l'étude de Bellazreg et al.(8). Cette progression pourrait s'expliquer d'une part par une meilleure concertation entre réanimateurs et infectiologues face à des situations cliniques complexes, notamment celles liées aux bactéries multirésistantes (BMR), et d'autre part par une méthode de consignation plus systématique adoptée dans notre travail. En effet, la saisie numérique des données a permis de documenter plus finement l'activité de l'EMI, mettant en évidence des informations qui échappaient auparavant aux anciennes méthodes de recueil des données. Ainsi, nous avons pu recenser la proportion des infections associées aux soins, représentant 38,9 % des cas, un paramètre qui n'avait pas été rapporté dans l'étude de Bellazreg et al.(8).

De nombreuses études ont souligné l'intérêt de la collaboration entre infectiologues et réanimateurs, montrant une amélioration significative de la pertinence des prescriptions d'antibiotiques et de l'adhésion aux recommandations dans les services de réanimation (13). Par ailleurs, on a noté un très faible recours à l'EMI de la part des médecins de première ligne (0,6 %). Ceci souligne un potentiel axe d'amélioration d'autant plus pertinent que l'on observe une augmentation des situations de difficultés thérapeutiques en médecine de ville, en rapport avec l'émergence d'infections à BMR d'origine communautaire (14). L'ouverture de l'activité de télé-expertise aux médecins généralistes et aux médecins de famille constituerait donc une perspective stratégique, compte tenu de leur rôle central dans la prescription d'antibiotiques et, par conséquent, dans la lutte contre l'antibiorésistance (15).

Caractéristiques cliniques et microbiologiques

La saisie numérique des avis est une approche qui a probablement facilité l'exploitation des données,



notamment en matière de microbiologie, où 80,6 % des cas étaient étayés par des prélèvements, contre 36 % dans l'étude de Bellazreg (8). Néanmoins, il n'est pas exclu qu'au fil des années, les praticiens aient changé leur comportement et accordent désormais plus d'importance à l'intérêt de la documentation microbiologique. L'analyse des agents pathogènes isolés a mis en évidence une prédominance des entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) et de *Staphylococcus aureus*. Ceci est en concordance avec les tendances internationales et les données tunisiennes récentes (15,16).

Impact sur l'antibiothérapie

Les motifs principaux de recours à l'EMI étaient une aide thérapeutique (73,2 %) et diagnostique (24,6 %).

Dans la littérature, la modification de l'antibiothérapie constitue l'une des interventions les plus fréquentes et les plus marquantes des équipes d'infectiologie. Cassettari et al. rapportaient des ajustements thérapeutiques dans 58 % des cas, principalement par changement de molécule (40 %) ou arrêt du traitement (7 %)(16). De façon similaire, Al-Tawfiq et al. retrouvaient un taux de modification des prescriptions initiales de 58,7 %, avec 14,7 % d'arrêts (17), tandis que Fourcade et al. notaient 38 % de modifications et 14 % d'arrêts (18). Malgré les proportions variables, toutes ces études convergent vers un même constat : l'implication des infectiologues permet d'améliorer de manière significative la pertinence des prescriptions, en favorisant la désescalade et en limitant la consommation inutile d'antibiotiques (13).

Nos résultats s'inscrivent dans cette même tendance. En effet, dans plus d'un tiers des situations (38,7 %), l'EMI a procédé à une modification de l'antibiothérapie initiale, correspondant à une désescalade thérapeutique dans 32,3 % des cas, un ajustement de la posologie dans 6,2% des cas et un arrêt de l'antibiothérapie dans 31,8 % des cas. Un élargissement du spectre était jugé nécessaire dans 40 interventions.

Ainsi, nos résultats corroborent les observations internationales, en soulignant l'intérêt des activités de l'EMI dans la rationalisation et l'optimisation du traitement anti-infectieux, répondant pleinement aux objectifs fondamentaux de l'AMS (19).

Limites de l'étude

Notre étude présente plusieurs limites qu'il convient de souligner. Premièrement, l'absence de données exhaustives sur l'issue clinique des patients (telles que la mortalité, la durée d'hospitalisation ou la survenue de complications). Ce qui constitue un obstacle à une évaluation fiable de l'impact des interventions de l'EMI sur le pronostic des patients. Deuxièmement, un biais de sélection est à considérer : seuls les avis formellement enregistrés ont été inclus, ce qui exclut les nombreuses consultations informelles qui constituent une part significative de l'activité infectiologique et pourraient sous-estimer le volume total d'interventions. Enfin, nous avons noté un manque de consignation précise des profils de sensibilité et de résistance des bactéries isolées, une

lacune partagée avec des études antérieures Bellazreg et al.(8), ce qui limite notre analyse épidémiologique des résistances aux antimicrobiens.

Perspectives numériques

À la lumière de nos résultats, du contexte national d'émergence d'infections à BMR et devant la pénurie relative en experts d'infectiologie, le développement et l'intégration de solutions numériques, notamment une plateforme de télé-expertise, paraît essentielle pour améliorer l'accessibilité à l'EMI et la réactivité de celle-ci. Ces outils pourraient inclure des fonctionnalités interactives, potentiellement enrichies par l'intelligence artificielle (20,21), notamment pour la saisie et l'analyse des antibiogrammes. Des algorithmes d'aide à la prescription d'antibiotiques, adaptés à notre contexte tunisien, pourraient ainsi être générés, afin de les intégrer dans la plateforme de télé-expertise et dans le dossier médical informatisé.

CONCLUSION

Cette étude met en évidence la place centrale qu'occupe actuellement l'EMI du service de Maladies Infectieuses de l'hôpital Farhat Hached de Sousse dans le système de santé dans la région. Cette expertise en infectiologie apporte une aide précieuse au diagnostic et au traitement, s'inscrivant dans le cadre de la stratégie nationale de rationalisation de l'usage des anti-infectieux.

Au fil des années, une augmentation du volume de cette activité a été observée, soulignant la nécessité d'une réévaluation régulière du fonctionnement de l'EMI. Cette réévaluation a mis en évidence plusieurs limites, qui peuvent être résolues en partie grâce à l'utilisation des outils technologiques modernes. Le développement des solutions numériques intégrant l'intelligence artificielle pourrait faciliter l'accès à l'expertise en infectiologie. En effet, une plateforme numérique interactive et interopérable, enrichie par des bases de données tunisiennes servant à entraîner des algorithmes intelligents adaptés au contexte local, constituerait une perspective stratégique d'une importance extrême.

RÉFÉRENCES

1. McQuillen DP, MacIntyre AT. The value that infectious diseases physicians bring to the healthcare system. *J Infect Dis*. 2017 Sep 15;216 Suppl 5:S588–93.
2. Perut V, Aumaître H, Pichard E, Patey O, Andre P, Welker Y, et al. Transversal infectious disease activity in French hospitals. *Med Mal Infect*. 2017 Feb;47(1):50–7.
3. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*. 2013Dec;13(12):1057–98.
4. Ministère de la santé publique. Plan d'action national de lutte contre la résistance aux antimicrobiens en Tunisie 2019–2023 [Internet]. [cited 2025 Aug 25]. Available from: <https://santetunisie.rns.tn/fr/toutes-les-actualites/1036-plan-d-action-national-de-lutte-contre-la-r%C3%A9sistance-aux-antimicrobiens-en-tunisie-2019-2023>



5. Société Tunisienne d'Infectiologie. Résistance bactérienne [Internet]. [cited 2025 Mar 6]. Available from: <https://www.infectiologie.org.tn/resistance.php>
6. Kasbi Y, Sellami F, Ferjani A, Abbassi A, Boutiba Ben Boubaker I. Pharmaco-epidemiological study and correlation between antibiotic resistance and antibiotic consumption in a Tunisian teaching hospital from 2010 to 2022. *Antibiotics (Basel)*. 2025 Feb;14(2):135.
7. Alhassan JAK, Abdallah CK. Health system interventions and responses to anti-microbial resistance: a scoping review of evidence from 15 African countries. *PLOS Glob Public Health*. 2024 Sep 18;4(9):e0003688.
8. Bellazreg F, Ben Lasfar N, Abid M, Rouis S, Hachfi W, Letaief A. Antibiotic stewardship team in a Tunisian university hospital: a four-year experience. *Tunis Med*. 2022 May;100(5):403–9.
9. Rameau C, Mahy S, SimonetLamm AL, Fillion A, Buisson M, Waldner A, et al. Informal consultation at a teaching hospital infectious diseases department. *Med Mal Infect*. 2014 Mar;44(3):107–11.
10. Leblebicioglu H, Akbulut A, Ulusoy S, Sunbul M, Aydin K, Geyik MF, et al. Informal consultations in infectious diseases and clinical microbiology practice. *Clin Microbiol Infect*. 2003 Jul;9(7):724–6.
11. WHO EMRO. Epidemiological profile of health-care-associated infections in the central-east area of Tunisia [Internet]. [cited 2025 Aug 20]. Available from: <https://joomla.emro.who.int/emhj-volume-17/issue-6/article4.html>
12. Radkowski P, Derkaczew M, Mazuchowski M, Moussa A, Podhorodecka K, Dawidowska-Fidrych J, et al. Antibiotic–drug interactions in the intensive care unit: a literature review. *Antibiotics (Basel)*. 2024 Jun;13(6):503.
13. Pulcini C, Botelho-Nevers E, Dyar OJ, Harbarth S. The impact of infectious disease specialists on antibiotic prescribing in hospitals. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Oct;20(10):963–72.
14. van Duin D, Paterson DL. Multidrug-resistant bacteria in the community: trends and lessons learned. *Infect Dis Clin North Am*. 2016 Jun;30(2):377–90.
15. Chua KP, Fischer MA, Linder JA. Appropriateness of outpatient antibiotic prescribing among privately insured US patients: ICD-10-CM-based cross-sectional study. *BMJ*. 2019 Jan 16;364:k5092.
16. Cassettari V, Novato N, Onuchic MHF. Antimicrobial stewardship in the outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT) setting: the impact of prescription assessment by an infectious diseases specialist. *Braz J Infect Dis*. 2021;25(2):101560.
17. Al-Tawfiq JA. The pattern and impact of infectious diseases consultation on antimicrobial prescription. *J Glob Infect Dis*. 2013 Jun;5(2):45.
18. Fourcade C, BicartSee A, Labau E, Bonnet E. L'informatique au secours des équipes mobiles d'infectiologie: exemple au sein d'un réseau d'établissements de soins privés. *Med Mal Infect*. 2017 Jun;47(4):S43–4.
19. Schuts EC, Hulscher MEJL, Mouton JW, Verduin CM, Stuart JWTC, Overdiek HWPM, et al. Current evidence on hospital antimicrobial stewardship objectives: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jul;16(7):847–56.
20. Glöckner S, Schindler D, Karch A. Interactive feedback of data quality in clinical research: a case study from an infectious diseases cohort. In: *German Medical Data Sciences: A Learning Healthcare System*. IOS Press; 2018. p. 23–7.
21. Aytan-Aktug D, Clausen P T L C, Bortolaia V, Aarestrup F M, Lund O. Prediction of acquired antimicrobial resistance for multiple bacterial species using neural networks. *mSystems*. 2020;5(1):e00774-19.



BACT/ALERT® VIRTUO®

Harness the power of full
blood culture automation.



Get results up to **20% faster**
than similar alternatives



Receive **real-time notifications**
as soon as results are available

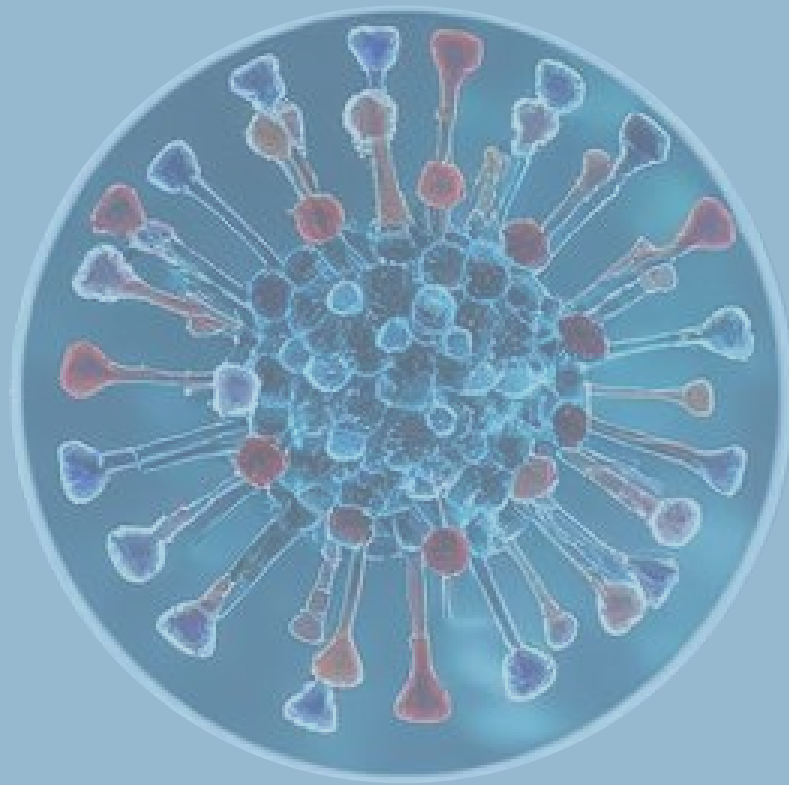


Comprehensive reporting and
analytics provide the information
you need for **clinical success**



Loading area accommodates
up to **40 bottles** simultaneously,
optimizing throughput and scalability





La Société Tunisienne de Pathologie Infectieuse
STPI