



PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LES MALADIES DIARRHEIQUES

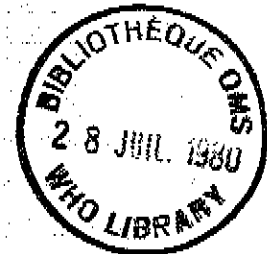
INDEXED

CHOLERA ET AUTRES DIARRHEES ASSOCIEES A DES VIBRIONS

Rapport¹ d'un sous-groupe du groupe scientifique de travail
sur l'épidémiologie et l'étiologie.

(Genève, 24-27 septembre 1979)

Sommaire



	<u>Pages</u>
LISTE DES PARTICIPANTS	3
1. INTRODUCTION	4
2. QUELQUES DEFINITIONS	4
3. RAPPEL DES ACQUISITIONS RECENTES CONCERNANT L'EPIDEMIOLOGIE ET LA BACTERIOLOGIE DES VIBRIONS	5
3.1 Signification épidémiologique des vibrions	5
3.1.1 <u>Vibrio cholerae</u> sous-groupe O1	5
3.1.2 <u>Vibrio cholerae</u> O1 atypique	7
3.1.3 <u>Vibrio cholerae</u> non-O1	10
3.1.4 <u>Vibrio parahaemolyticus</u>	12
3.1.5 Vibrions du groupe F (EF6)	13
3.1.6 Autres espèces de vibrions et micro-organismes apparentés	14
3.2 Surveillance environnementale de <u>V. cholerae</u> O1	14
3.2.1 Survie de <u>V. cholerae</u> O1 hors de l'intestin humain	14
3.2.2 Méthodes utilisées en surveillance environnementale	15
3.2.3 Le rôle de la surveillance environnementale dans la lutte contre le choléra	16
3.3 Typage de <u>V. cholerae</u> par les phages et par les vibriocines	17
3.3.1 <u>V. cholerae</u> O1	17
3.3.2 <u>V. cholerae</u> non-O1	18
3.3.3 Typage de <u>V. cholerae</u> O1 par les vibriocines	18
4. L'ENTEROTOXINE CHOLERIQUE ET SES RAPPORTS AVEC LA PATHOGENESE, L'IMMUNITE ET L'ELABORATION DES VACCINS	18

¹

Ce rapport exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts et ne représente pas nécessairement les décisions ou la politique officiellement adoptées par l'Organisation mondiale de la Santé.

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que leurs auteurs.

1. INTRODUCTION

La septième pandémie de choléra, qui a débuté il y a près de 20 ans, continue de s'étendre. Huit nouveaux pays ont été atteints en 1978 et des recrudescences marquées ainsi que des extensions de la maladie ont été observées dans plusieurs pays d'Asie et d'Afrique précédemment touchés, posant de graves problèmes aux autorités nationales de la santé publique. Cette pandémie a suscité ces vingt dernières années des recherches extensives et intensives sur le choléra et les problèmes qui lui sont associés. Les résultats obtenus ont sensiblement enrichi notre connaissance de l'étiologie, de l'épidémiologie, de la pathogenèse, du traitement clinique et de l'immunologie de toutes les diarrhées aiguës et ont permis de ramener à moins de 1 % le taux de mortalité par choléra dans les centres de traitement bien équipés. Ces acquisitions, en particulier la simplification du traitement du choléra, ont conduit à la création du Programme OMS de lutte contre les maladies diarrhéiques.

Le but de la réunion du sous-groupe était de faire le point des principales acquisitions récentes concernant l'épidémiologie et la bactériologie des maladies diarrhéiques dues au genre Vibrio et à des micro-organismes apparentés, d'identifier les lacunes qui subsistent dans nos connaissances et de recommander des secteurs de recherche prioritaires. La question connexe de l'élaboration de vaccins a elle aussi fait l'objet d'un bref examen qui constitue de ce fait une remise à jour du rapport du groupe scientifique de travail sur l'immunité et l'élaboration des vaccins.

2. QUELQUES DEFINITIONS

Le groupe a reconnu que la nomenclature et la taxonomie du genre Vibrio sont relativement imprécises et que des modifications s'imposent. Jusqu'à une époque récente, les noms Vibrio cholerae ou vibriion cholérique étaient généralement réservés au micro-organisme responsable des épidémies de choléra et des termes tels que vibrions non agglutinables (NAG) ou vibrions non cholériques (VNC) désignaient de façon plutôt ambiguë, soit tous les vibrions, halophiles compris, qui ne sont pas agglutinés par le sérum anti-sous-groupe O1 (immunsérum polyvalent O1) soit seulement le groupe des vibrions qui sont analogues aux souches de choléra épidémique par leurs caractères biochimiques. L'imprécision du sens exact donné à ces termes a compliqué les communications entre scientifiques et freiné le développement des connaissances sur les vibrions autres que les souches épidémiques. Lorsque les taxonomistes ont récemment cherché à clarifier la nomenclature du genre Vibrio, ils ont malheureusement rangé dans une même espèce, V. cholerae, tous les vibrions proches de la souche épidémique par leurs caractères biochimiques et la structure de l'ADN. Les souches épidémiques ont ensuite été classées comme V. cholerae sous-groupe O1, les autres étant considérées comme différents sérotypes de la même espèce.

Le groupe s'est déclaré fermement opposé à l'inclusion de ces autres vibrions, dont beaucoup de souches ont un pouvoir pathogène soit nul soit douteux, dans l'espèce V. cholerae qui, pour le public, les microbiologistes, les médecins et les personnels de santé publique, sous-entend un potentiel d'épidémie. A son avis, il aurait été préférable de choisir un autre nom ne possédant pas déjà de signification bien établie et à fort contenu affectif. Comme en témoigne le présent rapport, il existe d'importantes différences épidémiologiques et biologiques entre les souches épidémiques et ces autres vibrions. Toutefois, faute d'une solution plus satisfaisante, le groupe a décidé d'utiliser la nomenclature recommandée par les taxonomistes, avec quelques modifications, en soulignant néanmoins qu'il ne fallait pas en conclure que l'OMS approuve la nomenclature en question.

En conséquence, les définitions suivantes seront utilisées aux fins du présent rapport :

- 1) La souche épidémique sera désignée comme V. cholerae sous-groupe O1 (souches épidémiques) ou V. cholerae O1.
- 2) Comme on le verra plus loin, on a isolé quelques souches qui sont agglutinées par un ou plusieurs lots d'immunsérum polyvalent O1 mais qui ne sont apparemment pas pathogènes dans la mesure où elles ne produisent pas d'entérotoxines dans des systèmes d'épreuves in vivo et/ou in vitro. Certaines de ces souches présentent également quelques caractères biochimiques atypiques. Elles seront désignées ici comme V. cholerae atypique sous-groupe O1

ou V. cholerae atypique O1 pour tenir compte du fait qu'elles ont en commun avec les vibrions responsables du choléra épidémique une mosaïque antigénique qui devrait être reconnue par pratiquement tous les immunsérums V. cholerae polyvalents de qualité raisonnable.

3. Les micro-organismes qui sont analogues aux souches épidémiques du point de vue biochimique mais ne sont pas agglutinés en présence d'immunsérum polyvalent O1 seront désignés par l'appellation V. cholerae non sous-groupe O1 (souches non épidémiques), ou V. cholerae non-O1. Ces micro-organismes ne semblent pas être à l'origine d'épidémies de diarrhée grave bien qu'ils soient parfois associés à des cas individuels et à de petites poussées et que certains paraissent produire une entérotoxine évoquant le choléra.

4. Les autres vibrions, tels V. parahaemolyticus, V. alginolyticus, et les "vibrions du groupe F" appartiennent à des espèces nettement distinctes et seront donc considérés comme tels.

On trouvera au tableau 1 un résumé de certaines des caractéristiques de ces micro-organismes.

3. RAPPEL DES ACQUISITIONS RECENTES CONCERNANT L'ÉPIDÉMIOLOGIE ET LA BACTÉRIOLOGIE DES VIBRIONS

3.1 Signification épidémiologique des vibrions

3.1.1 Vibrio cholerae sous-groupe O1

3.1.1.1 Situation mondiale du choléra

L'augmentation du nombre des pays atteints au cours de la présente pandémie s'est faite en deux étapes, soit une augmentation progressive entre 1961 et 1966 et une augmentation brutale en 1970 lorsque la maladie a touché des pays d'Afrique. Depuis, le nombre des pays touchés s'est stabilisé bien que celui (8) des pays nouvellement infectés en 1978 corresponde au chiffre annuel le plus élevé enregistré depuis l'extension du choléra au continent africain. D'autre part, si le choléra devait atteindre un pays quelconque d'Amérique latine, qui est considérée comme "réceptive", on pourrait craindre une nouvelle augmentation spectaculaire du nombre des pays infectés.

A partir de 1961, le biotype El Tor de V. cholerae O1 s'est mis à remplacer le biotype classique à un rythme si rapide qu'au cours des années 70, il était devenu responsable de la quasi-totalité des cas de choléra dans le monde; quelques cas isolés dus au biotype classique continuent néanmoins de se produire, par exemple en Inde en 1978 et 1979 et au Bangladesh en 1979, pour des raisons qui n'ont pas encore été éclaircies. Le biotype El Tor manifeste apparemment une tendance plus marquée à l'endémicité que V. cholerae O1 classique. En outre, dans le choléra El Tor, le rapport infection/cas est plus élevé, ce qui complique virtuellement les opérations de surveillance, de dépistage des poussées et de lutte.

Les souches responsables de la pandémie actuelle ont été définies comme appartenant au biotype El Tor à cause de leur aptitude à lyser les érythrocytes du mouton. Il a également été démontré que contrairement au biotype classique, elles provoquent l'agglutination des érythrocytes du poulet et du mouton et sont résistantes au phage classique IV ainsi qu'à la polymyxine B (disque à 50 unités) - la réaction de Voges-Proskauer n'a pas donné de résultats aussi fiables. A mesure que progressait la pandémie, la proportion de souches hémolytiques isolées a progressivement diminué de sorte que d'un point de vue pratique, les souches El Tor ne peuvent plus être différenciées par cette épreuve du biotype classique. D'une manière générale cependant, ces souches continuent de se comporter comme le biotype El Tor dans les autres épreuves de détermination des biotypes bien que ces dernières exigent d'être faites avec le plus grand soin pour donner des résultats cohérents.

3.1.1.2 Etat de porteur

Il est généralement admis que le véritable état de porteur à long terme est extrêmement rare dans le choléra. Certains cholériques - tels "Cholera Dolores" aux Philippines - deviennent des porteurs à long terme mais aucune poussée secondaire n'a jamais été observée en liaison avec ces sujets. On ignore si une inflammation préexistante de la vésicule biliaire peut prédisposer à l'état de porteur ou si une vésicule normale peut être infectée. Le biotype de *V. cholerae* O1 ou l'état immunitaire antérieur de l'hôte peuvent jouer un rôle important dans la prédisposition à l'état de porteur; lorsque le biotype El Tor de *V. cholerae* O1 a réenvahi l'Iran au cours de la présente pandémie et que des malades convalescents dont les selles avaient donné des cultures négatives ont été purgés avec du sulfate de magnésium, des cultures de la dernière fraction des selles obtenues après l'administration du purgatif se sont fréquemment révélées positives. Toutefois, lorsque ces mêmes méthodes ont été appliquées à des malades convalescents dans une zone d'endémicité (le Bangladesh) à une époque où le biotype classique était encore prédominant, les cultures ont dans l'ensemble été négatives.

3.1.1.3 Dose infectante chez l'homme

Il est de plus en plus manifeste que le nombre de vibrions requis pour provoquer une infection symptomatique est plus faible qu'on ne le pensait. Lorsqu'une souche du biotype classique est administrée dans de l'eau à des volontaires adultes, la DI_{50} est de 10^8-10^9 vibrions. L'administration préalable de bicarbonate de sodium ramène la dose infectante à environ 10^{4-6} . Toutefois, au cours d'études récentes avec une souche El Tor, l'administration de 10^3 vibrions accompagnée de bicarbonate a provoqué une infection symptomatique chez quatre des six volontaires éprouvés. Il ressort clairement de ces études sur des volontaires ainsi que d'autres travaux épidémiologiques et cliniques que l'acidité du suc gastrique joue un rôle important dans la résistance de l'hôte, la maladie étant plus fréquente chez les sujets atteints d'hypochlorhydrie. Il se peut aussi que la sensibilité augmente lorsque l'estomac se vide plus rapidement après l'ingestion de quantités importantes d'aliments et d'eau. Des études faites sur des volontaires avec le biotype El Tor ont montré que la dose infectante est plus faible lorsque les micro-organismes sont administrés avec des aliments que lorsqu'ils sont administrés dans une petite quantité d'eau. On ne sait pas encore si les aliments agissent en neutralisant l'acidité gastrique ou si les vibrions se protègent contre cette acidité en adhérant à des particules d'aliments. Il a été observé que des vibrions qui adhèrent à des particules de chitine (dans la carapace des crustacés) survivent plus longtemps dans un environnement acide. Il n'est pas déraisonnable de penser qu'une dose aussi faible que 10^2 ou 10^3 vibrions viables peut provoquer des infections symptomatiques et il ressort d'une étude effectuée dans des secteurs ruraux du Bangladesh que de telles doses peuvent provoquer des infections symptomatiques dans des conditions naturelles.

3.1.1.4 Mécanismes de transmission

Vibrio cholerae O1 peut survivre pendant des périodes de durée variable et même se multiplier dans différents aliments et dans l'eau. Des études épidémiologiques ont permis d'incriminer l'eau et différents aliments contaminés comme véhicules de la transmission du choléra. D'une manière générale, des efforts énergiques doivent être déployés pour déterminer le mode de transmission lors de poussées du choléra, en particulier dans les zones nouvellement infectées (voir la section 5). Dans certains cas, des épidémies ont pu être endiguées par des mesures rapides, rationnelles ou instinctives, de décontamination des véhicules suspects, telles la chloration immédiate des approvisionnements en eau.

L'homme est la principale source de l'infection et la propagation géographique de la maladie est généralement le fait de porteurs symptomatiques et asymptomatiques dont les excréments contaminent les aliments et l'eau. Il est également possible que des germes soient transportés d'une zone à l'autre dans des cours d'eau contaminés par des excréments infectés. On ne peut néanmoins exclure que d'autres réservoirs d'infection, par exemple des crustacés ou des eaux côtières infectées, puissent permettre la survie de vibrions pendant des périodes de longue durée (voir la section 3.2).

Plusieurs autres découvertes épidémiologiques récentes méritent d'être citées. A Bahreïn par exemple, on a constaté que l'incidence du choléra était plus élevée chez les nourrissons

nourris au biberon que chez ceux qui sont nourris au sein. On a également constaté à Calcutta, en Inde, et dans les zones rurales du Bangladesh que l'incidence saisonnière du choléra pouvait changer de façon spectaculaire en un bref laps de temps. Autrefois, la maladie était particulièrement fréquente pendant l'été à Calcutta et au début de l'hiver au Bangladesh; actuellement, sa fréquence est maximale à l'automne dans les deux endroits. Il ressort également d'études récentes dans les zones rurales du Bangladesh que l'accès à des approvisionnements adéquats en eau de boisson pure ne diminue pas nécessairement l'incidence du choléra dans certains secteurs, en particulier là où les conditions d'hygiène laissent à désirer, et où de l'eau impure est utilisée à d'autres fins (pour faire la cuisine par exemple).

3.1.1.5 Résistance aux antibiotiques et traitement

L'apparition d'une résistance de V. cholerae O1 aux antibiotiques a été très bien étudiée au cours d'une épidémie qui a débuté en Tanzanie en octobre 1977. Toutes les souches isolées dans le courant du mois qui a suivi le dépistage des premiers cas étaient parfaitement sensibles à la tétracycline mais au bout de 5 mois d'utilisation extensive du médicament à des fins thérapeutiques et prophylactiques (1788 kg au cours des six premiers mois), 76 % des souches isolées étaient devenues résistantes. Il est apparu que cette résistance était médiée par au moins 2 plasmides étroitement apparentés appartenant au groupe d'incompatibilité C, l'un des quelques groupes de plasmides intestinaux pouvant exister durablement chez V. cholerae O1. Ces deux plasmides confèrent une résistance multiple aux antibiotiques. Il s'agit semble-t-il de l'un des premiers exemples d'une poussée indépendante due à des souches de V. cholerae O1 porteuses de plasmides R. Bien que l'on ait sensiblement réduit le recours à la tétracycline après avoir détecté ce phénomène, des cas fréquents de résistance continuent d'être observés parmi les souches de V. cholerae O1 isolées en Tanzanie. Le risque d'une propagation de souches résistantes aux pays voisins est extrêmement inquiétant. Ce qui s'est passé en Tanzanie devrait conduire à une réévaluation de l'utilisation d'antibiotiques, notamment pour des traitements prophylactiques de masse, dans la lutte contre les épidémies de choléra.

3.1.2 Vibrio cholerae O1 atypique

Avant le début de la pandémie actuelle, en 1961, on pensait que les maladies diarrhéiques dues au vibriion El Tor sévissaient uniquement en Indonésie. Des vibrions El Tor avaient pourtant été isolés longtemps avant cette date dans des eaux de surface en Méditerranée orientale et en Inde. Ces "vibrions aquatiques" El Tor ont par la suite été isolés d'eaux superficielles et de puits à la fois dans des zones indemnes et dans des zones d'endémicité pendant des périodes marquées par l'absence de choléra. Certaines de ces souches ont été soumises, au début des années soixante, à des études approfondies entreprises pour la production éventuelle de vaccins et il est apparu qu'elles ne produisaient pratiquement pas d'entérotoxine cholérique.

Au cours des années 70, des souches atypiques de V. cholerae O1 ont été isolées dans au moins huit régions chez l'homme et/ou à partir d'autres sources. Les renseignements disponibles sur ces souches sont résumés ci-dessous.

3.1.2.1 Isolements récents

a) En 1974 à Guam, à l'occasion des investigations menées sur une petite poussée due à V. cholerae El Tor, sérotype Ogawa, sept souches de V. cholerae O1 atypique ont été isolées dans des eaux usées (1), des eaux de drainage (4), une rivière (1) et une baie (1). Malgré de nombreuses cultures d'échantillons provenant de personnes atteintes de diarrhée, aucune souche atypique n'a été isolée chez un être humain.

b) En avril 1977, un chauffeur routier de 61 ans vivant dans l'Alabama, aux Etats-Unis d'Amérique, a subi une cholécystectomie après avoir souffert pendant 12 jours de ce que l'on pensait être une cholécystite aiguë. V. cholerae El Tor, sérotype Inaba, a été isolé d'une culture de la bile provenant de la vésicule biliaire extraite lors de l'intervention chirurgicale. Le malade n'avait pas présenté de maladie diarrhéique récente et, à l'exception d'un petit voyage au Mexique 30 ans plus tôt, n'avait jamais quitté les Etats-Unis d'Amérique. Il présentait un titre d'anticorps anti-vibrions Inaba de 1/320. Les trois autres membres de sa famille ont donné des cultures négatives et n'ont pas accusé d'élévation du titre des anticorps vibriocides. Aucun des quatre membres de la famille ne présentait d'anticorps sériques anti-toxiques décelables à l'épreuve sur peau de lapin.

c) En 1977 au Bangladesh, on a cherché à déceler des souches atypiques de V. cholerae O1 chez l'homme et dans l'environnement. L'une des 82 souches isolées dans l'environnement était non toxigène alors que la totalité des 1275 isolements cliniques était toxigène.

d) En 1977, l'une des 65 souches de "Vibrio cholerae" isolées dans la Baie de Chesapeake, sur la côte est des Etats-Unis d'Amérique, s'est avérée être une souche de V. cholerae O1 atypique. L'un au moins des grands hôpitaux implantés à proximité de la Baie de Chesapeake utilise systématiquement la gélose thiosulfate-citrate-sel biliaire-saccharose (gélose TCBS) pour toutes les cultures de selles depuis au moins cinq ans et n'a obtenu aucun isolement de V. cholerae O1.

e) Depuis 1974, on opère au Brésil la recherche systématique de V. cholerae dans les réseaux d'égouts à l'aide d'écouvillons de Moore. Toutes les épreuves se sont révélées négatives jusqu'en mai 1978 lorsque deux souches de V. cholerae O1 ont été isolées dans les eaux usées du réseau d'égouts de Santos, ville proche de São Paulo. Bien que les activités de surveillance aient alors été intensifiées et que l'utilisation de la gélose TCBS ait été introduite pour les cultures de selles provenant de sujets atteints de diarrhée, aucune autre souche de V. cholerae O1 n'a été décelée. En octobre 1978, deux souches de V. cholerae O1 ont été isolées dans les eaux usées du réseau d'égouts de Rio de Janeiro. Là encore, aucun cas humain n'a été détecté.

f) Au moins 11 cas sporadiques de choléra dus à V. cholerae O1 El Tor, sérotype Inaba, se sont produits en Louisiane, Etats-Unis d'Amérique, en 1978. De nombreuses cultures d'échantillons provenant de sujets atteints de diarrhée, de crabes crus, de crevettes, d'huîtres, d'eaux usées et d'eaux de surface ont permis d'isoler quelques souches de V. cholerae El Tor, sérotype Inaba; toutes étaient toxigènes et appartenaient au même lysotype.

Au cours de 1979, la surveillance des cas de diarrhée et des réseaux d'égouts s'est poursuivie dans toute la moitié sud de la Louisiane et des échantillons d'huîtres obtenues dans le commerce ont été soumis à des cultures systématiques. Au 17 septembre 1979, 11 souches apparemment atypiques de V. cholerae O1 avaient été isolées mais aucune n'appartenait au même lysotype que les souches toxigènes de 1978. L'une de ces souches provenait d'un canal contenant une forte proportion de coliformes fécaux et huit provenaient d'huîtres ramassées dans des zones apparemment propres. Les deux isolements restants, qui provenaient de La Nouvelle-Orléans, représentaient peut-être la même souche dans la mesure où ils ont réagi de façon identique à toutes les épreuves de laboratoire, y compris à l'épreuve de sensibilité aux phages. L'un de ces isolements avait été obtenu à partir d'un ulcère étendu et nécrotique à la jambe d'un vagabond. Cet homme jetait tous les jours son pansement souillé dans les W.C. et le deuxième isolement provenait d'une canalisation qui desservait un secteur comprenant les W.C. du malade. C'est la seule fois où V. cholerae O1 a été isolé dans le réseau d'égouts de La Nouvelle-Orléans au cours de plus de huit mois de surveillance de routine à l'aide d'écouvillons de Moore.

g) En Angleterre, en 1977, des souches atypiques de V. cholerae O1, sérotype Ogawa, ont été isolées continuellement pendant cinq semaines dans une tranchée de drainage à fins agricoles contenant de l'eau saumâtre pour laquelle le risque de contamination était jugé négligeable.

h) En 1978, V. cholerae El Tor, sérotype Inaba, a été isolé d'une rivière près du port de Yokohama au Japon. Il est apparu après examen que cet isolement provenait d'une fosse septique d'un hôpital servant à l'évacuation des dialysats d'un rein artificiel. Aucun cas de choléra et aucun porteur n'a été décelé. D'après les résultats des épreuves auxquelles ils ont été soumis jusqu'ici, ces isolements ne sont pas toxigènes.

Enfin, des chercheurs en URSS ont signalé avoir constaté que 270 souches de V. cholerae O1 El Tor isolées en l'espace de 11 années à partir de diverses sources pouvaient être subdivisées en trois groupes à l'aide de l'épreuve sur lapereau à la mamelle. Les souches du premier groupe, fortement entérotoxiques (choléragènes) se sont montrées incapables de lyser les érythrocytes du mouton. Celles du deuxième groupe ont manifesté une activité hémolytique et ont entraîné la mort des animaux éprouvés sans effets choléragènes. Les souches du troisième groupe, également hémolytiques, se sont révélées avirulentes chez des lapereaux à la mamelle, même à fortes doses.

Il ressort de ce qui précède que des souches de V. cholerae atypique O1 ont été isolées essentiellement dans l'environnement et que, bien que l'on ait activement recherché la présence de ces souches dans les selles de malades atteints de diarrhée (par exemple à Guam, au Brésil et en Louisiane) pendant et/ou immédiatement après l'isolement de souches atypiques dans l'environnement, de tels isollements n'ont jusqu'ici été obtenus chez l'homme qu'en association avec des maladies extra-intestinales (cholécystite, blessure). Il est également manifeste que ces souches atypiques de V. cholerae O1 se rencontrent dans le monde entier (Asie, Iles du Pacifique, Amérique du Nord, Europe et Méditerranée orientale). Il semblerait enfin que ces souches soient autonomes; celles qui ont été isolées en Angleterre et à partir d'huîtres en Louisiane provenaient apparemment de zones où il n'y avait pas de contamination des eaux usées.

3.1.2.2 Caractéristiques bactériologiques

L'établissement du sérotype de certaines de ces souches, en particulier l'utilisation d'un immunosérum polyvalent, a soulevé des difficultés. Des résultats variables ont été obtenus avec quatre lots d'immunosérum polyvalent anti-O1.

Les réactions biochimiques de certaines souches se sont également révélées atypiques. La plus grande partie des souches isolées à Guam ont fermenté le saccharose lentement et sept des huit isollements obtenus en Louisiane à partir d'huîtres n'ont pas fermenté le mannitol; au regard des critères établis par Hugh et Sakazaki, ces souches n'appartiennent pas en fait au genre Vibrio même si elles en présentent certaines caractéristiques.

Si toutes les souches récentes appartenaient au biotype El Tor, nombre d'entre elles étaient atypiques. Celles du Brésil étaient toutes sensibles à la polymyxine B. La souche d'Alabama et 3 souches de Louisiane se sont révélées sensibles au phage IV classique dans un laboratoire; toutefois, on a observé dans un autre laboratoire que la souche d'Alabama était résistante à ce phage. Les résultats de l'agglutination des hématies de poulet et de l'épreuve de Voges-Proskauer variaient également d'une souche à l'autre.

La plupart de ces souches atypiques ne présentaient pas de sensibilité marquée à l'un quelconque des phages classiques au El Tor. Elles étaient presque uniformément résistantes aux phages 13, 14, 16 et 24 du Public Health Laboratory, Maidstone, Kent, Angleterre. En revanche, toutes les souches connues de V. cholerae O1 associées à des infections chez l'homme se sont jusqu'ici révélées sensibles à un ou plusieurs de ces phages (voir section 3.3).

3.1.2.3 Pathogénicité¹

A l'exception de l'épreuve de mortalité de la souris (injection intra-péritonéale de germes vivants), qui est d'une applicabilité douteuse, les résultats des épreuves de pathogénicité effectuées sur ces souches atypiques se sont révélés presque uniformément négatifs. Dans le cas de l'épreuve sur anse iléale de lapin ligaturée, la seule indication d'activité s'est produite dans quelques cas où l'on avait utilisé des micro-organismes vivants; tous les filtrats de culture (non concentrés) se sont révélés négatifs. Certaines des souches ont produit des lésions hémorragiques dans l'épreuve intracutanée sur lapin.

Dans l'épreuve sur cellules surrenaliennes Y-1, les deux souches de Santos, Brésil, ont donné une réaction faiblement positive, mais elles se sont révélées non toxigènes dans le titrage ELISA et l'épreuve intracutanée sur lapin. Ces souches produiraient la fraction A mais non pas la fraction B de la toxine cholérique. Les deux souches ont été administrées par voie

¹ Il n'existe pas de méthode normalisée et admise sur le plan international pour mesurer la pathogénicité. Certains facteurs tels que la taille de l'inoculum, la durée de l'incubation, l'origine des animaux de laboratoire et la définition de ce que l'on entend par réponse positive, qui peuvent profondément modifier les résultats observés, varient d'un laboratoire à l'autre. Dans ces conditions, les résultats qui sont récapitulés ici doivent être interprétés avec prudence.

orale à des volontaires. La souche 1074-78 a été administrée à sept volontaires avec du bicarbonate à la dose de 10^6 micro-organismes : aucun d'entre eux n'est tombé malade et les coprocultures ont été négatives. La souche 1196-78 a été administrée à huit volontaires avec du bicarbonate à la dose de 10^6 micro-organismes : les coprocultures ont été positives dans six cas mais aucun des sujets n'est tombé malade. Des sérums prélevés sur ces volontaires n'ont pas encore été examinés à la recherche d'anticorps antitoxines. Dix isolements provenant de chacun des six volontaires qui avaient excrété la souche 1196-78, soit un total de 60 isolements, ont été soumis à l'épreuve sur cellules surrénales. Un seul isolement était toxigène à faible titre, mais un clone produit à partir de cet isolement s'est révélé non toxigène. A quatre des volontaires qui avaient excrété le germe, on a administré une dose d'épreuve d'une souche toxigène de V. cholerae O1 provenant de Bahreïn, qui a déterminé une maladie chez la totalité d'entre eux. On peut donc en déduire que la colonisation par la souche brésilienne ne confère pas de protection. A la lumière de cette observation et du fait, antérieurement constaté, que l'administration orale de vibrions cholériques vivants atténués ou de vibrions tués confère une protection contre une dose d'épreuve ultérieure de V. cholerae virulents, on peut penser qu'il existe des différences importantes entre les souches de V. cholerae O1 atypiques et les souches O1 toxigènes en ce qui concerne les antigènes somatiques. La souche 1196-78 a été également administrée à plus forte dose (10^8 germes) avec du bicarbonate à 5 volontaires : le micro-organisme a été isolé dans les selles de 2 d'entre eux, mais aucun n'était tombé malade.

3.1.3 Vibrio cholerae non-O1

3.1.3.1 Caractères cliniques

Ces vibrions ont été mis en cause lors de flambées et de cas sporadiques d'infections gastro-intestinales mais leurs caractères cliniques ne peuvent pas être définis avec certitude. Les descriptions des cas sporadiques ne permettent pas d'attribuer à coup sûr la maladie au micro-organisme isolé. Le tableau clinique des flambées épidémiques était variable, peut-être en raison de différences dans les caractères des souches responsables. En général, les malades sont atteints de diarrhée, de nausées et de vomissements. Certains ont de la fièvre et des douleurs abdominales et quelques-uns du sang ou des mucosités dans leurs selles. La maladie dure généralement moins de trois jours.

Lors d'une étude exhaustive menée au Bangladesh, on a constaté que les patients dont on avait obtenu des isolements produisant une entérotoxine du type de la toxine cholérique étaient plus gravement atteints que ceux dont les isolements étaient non toxigènes. Dans les deux groupes, on a pu mettre en évidence une augmentation significative des titres agglutinants sériques vis-à-vis de la souche homologue, tandis qu'on observait une augmentation sensible du titre des anticorps antitoxines chez certains patients dont les isolements étaient toxigènes.

Des infections extra-intestinales à V. cholerae non-O1, dont certaines mortelles, ont été rapportées chez des hôtes affaiblis ou dont les défenses immunitaires étaient déprimées.

3.1.3.2 Epidémiologie

V. cholerae non-O1 a été isolé sur les selles de sujets atteints d'infections diarrhéiques en Asie (Bangladesh, Hong Kong, Inde, Malaisie), en Afrique (Afrique du Sud, Soudan), en Europe (Angleterre, Bulgarie, Hongrie, République fédérale d'Allemagne, Suède, Tchécoslovaquie, URSS), en Amérique du Nord (Etats-Unis d'Amérique, Mexique) et en Amérique du Sud (Brésil) ainsi que de passagers de navires et d'avions. La fréquence des infections dues à ces germes n'a pas été étudiée de manière complète. Ces micro-organismes peuvent sans aucun doute être isolés dans d'autres pays où l'on ne les a pas recherchés jusqu'ici. Aucune grande épidémie ou pandémie analogue à celles causées par V. cholerae O1 n'a été signalée.

On sait peu de chose sur le caractère saisonnier des infections dues à V. cholerae non-O1. Aux Etats-Unis d'Amérique, la plupart des infections se déclarent pendant les mois chauds. Au Bangladesh, c'est au printemps et en été que la plupart des cas apparaissent, avant le pic annuel des infections à V. cholerae qui se produit en automne.

La transmission s'effectue probablement exclusivement par des aliments ou de l'eau contaminés. Des études ont montré que V. cholerae non-O1 pouvait se multiplier dans diverses denrées alimentaires. Aux Etats-Unis d'Amérique, les malades déclarent souvent avoir consommé des coquillages, en particulier des huîtres crues, dans les 48 heures précédant le début de la diarrhée. En Tchécoslovaquie et en Australie, la transmission avait été assurée par des aliments (des pommes de terre dans le premier cas et un oeuf et une salade d'asperges dans le second). Les périodes d'incubation étaient respectivement de 20 à 30 heures et de 5 à 37 heures. Lors d'une vaste flambée au Soudan en 1968, c'est l'eau d'un puits pollué qui était en cause; quatre jours après la fermeture du puits suspect, on n'a plus enregistré de cas. Malgré le nombre important de personnes exposées, on n'a observé aucune infection secondaire et on n'a pu mettre en évidence aucune transmission de personne à personne.

Partout où on les a recherchées, notamment dans certains pays d'Europe et aux Etats-Unis, on a constaté que les souches de V. cholerae non-O1 étaient largement disséminées dans l'environnement. On en a trouvé dans des eaux usées, dans des eaux superficielles contaminées par des effluents, dans des eaux estuariennes (qu'elles soient contaminées par des eaux d'égouts ou apparemment exemptes de pollution fécale), dans des fruits de mer et chez des animaux. Lors d'études écologiques effectuées en République fédérale d'Allemagne, aux Etats-Unis et en Angleterre, les micro-organismes ont généralement été découverts dans des eaux superficielles saumâtres (cours d'eau, marais, baies et régions côtières); ils y étaient plus nombreux au cours de la saison chaude et leur présence n'était pas due à une contamination par des eaux usées. On les considère donc en général comme des micro-organismes aquatiques, vivant de manière autonome dans le milieu. Toutefois, on ignore si ces souches autonomes peuvent être à l'origine d'infections humaines; il se pourrait que seules soient pathogènes les souches adaptées à l'intestin humain.

3.1.3.3 Pathogénicité

A l'aide d'une batterie d'épreuves (anse iléale de lapin, lapin nouveau-né, perméabilité de la peau de lapin, souriceau à la mamelle, cellules ovariennes de hamster chinois), on a dégagé quatre types d'activité biologique chez les souches de V. cholerae non-O1, qui peuvent se révéler utiles pour la description, la classification et la comparaison de ces micro-organismes : 1) production d'une entérotoxine du type de la toxine cholérique; 2) production d'une toxine thermostable; 3) "entérite" (épreuve positive sur lapin nouveau-né et/ou sur anse iléale de lapin avec culture bactérienne entière, sans signe de production de toxines); et 4) aucune activité dans aucun de ces systèmes d'épreuve. Lors de l'étude effectuée au Bangladesh (voir section 3.1.3.1), 98 % des 43 souches provenant de patients atteints de diarrhée présentaient une certaine activité dans au moins un de ces systèmes d'épreuve, alors que seules 33 % des 18 souches isolées dans des eaux superficielles à faible teneur en coliformes présentaient une telle activité. On a également constaté la production d'une entérotoxine du type de la toxine cholérique dans des isollements effectués lors de flambées au Soudan et en Tchécoslovaquie et des études menées en URSS et au Japon donnent fortement à penser que certaines souches de V. cholerae non-O1 produisent d'autres toxines que l'entérotoxine du type de la toxine cholérique.

Malgré ces résultats, il convient de ne point perdre de vue qu'il n'existe pas d'épreuve (autres que des expériences d'administration orale à l'homme) ou de groupes d'épreuves permettant de déterminer de façon sûre le potentiel pathogène d'une souche donnée pour l'homme.

3.1.3.4 Détermination du sérotype

On utilise deux systèmes pour la détermination du sérotype des V. cholerae non-O1 : l'un a été mis au point par Sakazaki et l'autre par Smith et Goodner. Ces deux systèmes reposent sur l'antigène O (antigènes somatiques) et dans chacun d'eux les biotypes classiques et El Tor de V. cholerae appartiennent au groupe dit "groupe O1". En 1979, le système mis au point par Sakazaki et al. comportait 60 sérotypes, alors que 72 sérotypes ont été identifiés par Smith et Goodner. Malgré des différences dans les méthodes de préparation des immunosérums et d'exécution des réactions d'agglutination, un grand nombre de sérotypes correspondent dans les deux systèmes, bien que chaque système comporte des sérotypes qui lui soient propres. Aucun des deux systèmes n'a permis de relever de différences sensibles entre les sérotypes d'isollements d'origine humaine ou non humaine ou dans le potentiel diarrhéogène de ces souches. Les groupes

d'experts américains et japonais du programme coopératif en science médicale Etats-Unis-Japon s'efforcent actuellement de mettre au point un système unique pour la détermination du sérotype.

En Union soviétique, on s'est efforcé de déterminer le sérotype de 2008 souches de V. cholerae non-O1 isolé de prélèvements chez l'homme et dans l'environnement entre 1968 et 1975 dans 18 territoires du pays. Seulement 40,5 % des souches d'origine humaine et 16 % des souches d'origine environnementale ont pu voir leur sérotype déterminé par la méthode de Sakazaki. Les chercheurs ont identifié 15 sérotypes qui ne figurent pas dans le système Sakazaki. C'est le sérotype Sakazaki 5 qui prédominait chez les sujets atteints d'affections gastro-intestinales aiguës alors que le sérotype 8 dominait parmi les souches provenant de l'environnement.

3.1.4 Vibrio parahaemolyticus

3.1.4.1 Tableau clinique

V. parahaemolyticus, vibrion marin halophile, a été identifié pour la première fois au Japon au début des années 1950 en tant que cause d'intoxication alimentaire. On a décrit deux syndromes cliniques. Le plus communément observé se caractérise essentiellement par une diarrhée aqueuse mais il peut y avoir également des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements et de la fièvre. L'autre est un syndrome dysentérique qui a été observé dans plusieurs pays; à Calcutta par exemple, dans 60 % des cas rapportés, il y avait une dysenterie. Dans le cas du syndrome à diarrhée aqueuse, la durée modale d'incubation est de 15 heures. Toutefois, dans certains cas de syndrome dysentérique, cette période peut être plus courte (quelquefois pas plus de deux heures et demie). La raison de cette différence apparente n'est pas élucidée. Dans les deux types de syndrome, la maladie s'éteint d'elle-même au bout d'une période médiane d'environ trois jours. Bien que des cas graves d'infection intestinale par V. parahaemolyticus nécessitent une hospitalisation et puissent même quelquefois entraîner la mort, la maladie est en général de gravité légère ou modérée.

On a signalé une infection à V. parahaemolyticus par blessure en Australie, au Canada et aux Etats-Unis chez des personnes dont les plaies avaient été contaminées par de l'eau de mer.

3.1.4.2 Epidémiologie

Au cours de la dernière décennie, des infections intestinales à V. parahaemolyticus ont été signalées en Amérique du Nord (Etats-Unis), en Amérique centrale (Panama), en Afrique (Togo), en Europe (Roumanie, URSS et Royaume-Uni) et en Asie (Bangladesh, Corée, Inde, Indonésie, Japon, Malaisie, Philippines, Singapour, Thaïlande, Viet Nam). La fréquence des isoléments de micro-organismes sur des sujets atteints de diarrhée varie largement selon les pays : Inde (Calcutta) 11 %; Indonésie 2,6 à 3,7 %; Thaïlande 10,7 %; Viet Nam 8,5 à 15 % et Corée 1,5 %. Au Japon, environ 24 % des cas notifiés d'intoxication alimentaire sont attribués à V. parahaemolyticus. Dans de nombreux pays, on ignore quelle est l'importance de la maladie car la plupart des laboratoires n'utilisent pas de milieux de culture comme le TCBS permettant d'isoler ces vibrions des selles.

La maladie présente un caractère saisonnier marqué dans plusieurs pays, la plupart des cas se produisant au cours des saisons chaudes. Cet état de choses peut s'expliquer tant par la plus grande possibilité qu'a alors V. parahaemolyticus de se multiplier dans les denrées alimentaires non réfrigérées que par la prévalence plus forte de ces germes dans l'environnement au cours des saisons chaudes. A Calcutta où on note une moindre variation de la température ambiante, il n'y a pas non plus de forte variation de l'incidence. A Calcutta, 65 % des cas se produisent chez des femmes, la plupart du temps âgées de plus de 15 ans. Bien que l'on ait observé des infections asymptomatiques, il n'a pas été signalé d'état de porteur à long terme.

L'entérite à V. parahaemolyticus semble transmise exclusivement par les aliments, plus particulièrement les fruits de mer encore que d'autres denrées contaminées par des fruits de mer ou des eaux superficielles soient susceptibles d'intervenir dans la transmission. A Calcutta, on a trouvé V. parahaemolyticus dans les selles, les denrées alimentaires et l'eau dans des foyers strictement végétariens; en outre, de nombreux malades ont affirmé n'avoir pas

consommé de produits de la mer ou avoir été autrement exposés à un environnement marin. On a rapporté pour V. parahaemolyticus un temps de génération aussi court que 9 minutes dans les conditions idéales, c'est-à-dire celles qui permettent au micro-organisme de se multiplier très rapidement dans des denrées manipulées sans précaution et d'atteindre rapidement la dose infectieuse, qui est élevée; la DI_{50} a été déterminée chez des volontaires et se situe aux environs de 10^5 - 10^7 micro-organismes chez des personnes recevant des anti-acides. La croissance de V. parahaemolyticus est inhibée aux températures inférieures à 15°C et le micro-organisme ne survit guère au-dessous de cette température. Il est très sensible également à la chaleur puisqu'il succombe à une exposition de 10 minutes à 65°C.

V. parahaemolyticus fait partie de la flore normale des eaux estuariennes et autres eaux côtières dans la plupart des régions du monde. On l'a isolé dans l'eau de mer, dans la boue marine, ou dans des fruits de mer en Asie (Corée, Hong Kong, Japon, Singapour, Sri Lanka), en Amérique du Nord (Canada, Etats-Unis), en Océanie (Australie, Hawaï, Nouvelle-Zélande), en Afrique (Togo) et en Europe (mer Baltique, mer Noire, mer Méditerranée, mer du Nord, Danemark, Espagne, Grèce, Italie, Pays-Bas, Royaume-Uni, Turquie, Yougoslavie). En Inde, on l'a isolé d'eaux courantes et de poissons, de crabes et de crevettes frais. On a constaté que, dans les eaux estuariennes des régions tempérées, V. parahaemolyticus passe l'hiver dans les sédiments, s'en libère au printemps pour se fixer au zooplancton puis prolifère à mesure que s'élève la température de l'eau.

3.1.4.3 Pathogénicité

Presque tous les isollements de V. parahaemolyticus provenant de patients atteints de diarrhée, mais seulement environ 1 % de ceux qui provenaient d'eau de mer ou de fruits de mer, sont Kanagawa-positifs sur gélose de Wagatsuma. Toutefois, il n'est pas certain que toutes les souches Kanagawa-positives soient pathogènes. La réaction de Kanagawa est due à une hémolysine directe thermostable dont la masse moléculaire est d'approximativement 42 000 daltons. Cette hémolysine est cytotoxique pour les cellules humaines FL en culture et cardiotoxique pour la souris. Bien que des modifications mineures de l'électrocardiogramme aient été signalées chez des patients présentant une infection aiguë, l'importance clinique de l'hémolysine thermostable reste inconnue.

Les micro-organismes Kanagawa-positifs et Kanagawa-négatifs ont fait l'objet d'études intensives et ils présentent une activité qui varie considérablement selon les différentes épreuves de laboratoire. La positivité à la réaction de Kanagawa est liée à la pénétration de l'épithélium intestinal chez le lapin nouveau-né, à une cytotoxicité rapide en culture de cellules HeLa, à une adhésion rapide aux cellules HeLa et aux cellules intestinales du fœtus humain ainsi qu'à la production d'un facteur thermolabile qui produit une réaction analogue à celle de la toxine cholérique sur les cellules CHO.

Malgré les très nombreuses études consacrées aux mécanismes pathogènes de V. parahaemolyticus, on ignore encore comment se produisent les deux syndromes gastro-intestinaux décrits sous 3.1.4.1.

3.1.4.4 Détermination du sérotype

En 1976, 12 antigènes O (antigènes somatiques thermostables) et 59 antigènes K (antigènes capsulaires ou de l'enveloppe) avaient été identifiés. Jusqu'ici, il n'y a pas eu d'association nette et universellement répandue entre un ou des sérotypes particuliers et le phénomène de Kanagawa ou les infections humaines, encore qu'à Calcutta un tiers des cas ait été associé à l'isolement du sérotype O1 K56. Il semble donc que la détermination des sérotypes soit intéressante pour les enquêtes épidémiologiques mais non à des fins diagnostiques.

3.1.5 Vibrions du groupe F (EF6)

Un groupe de micro-organismes évoquant les vibrions, désigné sous le nom de groupe F par le Public Health Laboratory de Maidstone, constitue probablement une nouvelle espèce (tableau 1). Ces micro-organismes sont identiques à ceux désignés sous le nom de groupe EF6 par le Center for Disease Control des Etats-Unis d'Amérique. Ils sont souvent identifiés à tort

comme Aeromonas, mais peuvent être distingués de ces derniers par leur sensibilité au vibriostatique O/129 (disque à 150 µg) et leur aptitude à se multiplier en NaCl à 6 %. Les vibrions de groupe F peuvent se diviser en deux biotypes : le biotype 1 ne comprend que les souches anaérogènes d'origine clinique et environnementale, tandis que le biotype 2 comprend des souches qui sont généralement aérogènes et qui n'ont été trouvées que dans l'environnement. Des souches de biotype 1 ont jusqu'à présent été isolées chez des malades souffrant de diarrhée dans les pays suivants : Arabie saoudite, Bahreïn, Bangladesh, Égypte, Espagne, Inde, Indonésie, Iran, Iraq, Jordanie, Kenya, Philippines, Tanzanie et Tunisie.

Le tableau clinique et l'épidémiologie de la maladie associée à l'isolement de ce groupe de micro-organismes ne sont pas encore bien définis, mais on possède certains renseignements en provenance du Bangladesh où, en 1976-1977, on a noté une augmentation des isolements de micro-organismes du groupe F chez des malades fréquentant un centre rural de traitement. Avant et après cette période, très peu d'isolements de ce micro-organisme ont été réalisés. La moitié environ des isolements ont été faits chez des enfants de moins de 5 ans. Dans l'étude des membres de la famille de personnes infectées à Dacca, des micro-organismes du groupe F ont été trouvés dans les selles de moins de 1 % des sujets. Les symptômes cliniques rappelaient ceux du choléra, à cette exception près que certaines personnes présentaient des selles contenant du sang et du mucus, des douleurs abdominales ou de la fièvre. Il n'a pas été détecté d'anticorps agglutinants contre les micro-organismes homologues. Neuf souches isolées ont été examinées au Center for Disease Control des Etats-Unis d'Amérique et ont donné des résultats négatifs dans les épreuves sur cellules surrénales et sur souris à la mamelle, ainsi que dans l'épreuve de Serény. Toutefois, une autre institution a signalé que des cultures entières et des filtrats de cultures de la plupart des souches examinées provoquaient une accumulation de liquide dans l'anse iléale de lapin ligaturée, quelle que soit la source de l'isolement (selles, égouts ou environnement).

Bien que l'augmentation sensible du nombre de ces micro-organismes dans les selles de cas de diarrhée soit notable, on est obligé de conclure d'après les données épidémiologiques et les résultats de laboratoire disponibles qu'on n'est pas certain à l'heure actuelle que ce micro-organisme soit diarrhéogène.

3.1.6 Autres espèces de vibrions et micro-organismes apparentés

On ne pense pas que les autres espèces de vibrions parfois isolées chez l'homme - V. alginolyticus, V. metschnikovii (groupe 16 de micro-organismes entériques), et V. vulnificus ("vibrions" fermentant le lactose) - provoquent des maladies diarrhéiques chez l'homme. V. anguillarum n'a pas été isolé chez l'homme, mais est un pathogène des salmonidés et autres poissons de mer important du point de vue économique; il a été démontré que les souches virulentes hébergeaient des plasmides non rencontrés dans les souches avirulentes.

Aeromonas hydrophila et Plesiomonas shigelloides ont été isolés des selles d'enfants et d'adultes présentant de la diarrhée, et leur éventuel rôle causal a été suggéré par un certain nombre de travaux. Il a été démontré que des souches d'Aeromonas produisent diverses toxines, et les cultures comme les filtrats provoquent une accumulation de liquide dans l'anse iléale du lapin.

3.2 Surveillance environnementale de V. cholerae O1

Au cours des dix dernières années, on s'est intéressé de près au comportement de V. cholerae O1 dans l'environnement et à l'emploi de la surveillance environnementale comme moyen de détection précoce des micro-organismes dans une zone non infectée, et d'importants travaux de recherche ont été réalisés en ce sens. On trouvera ci-dessous un résumé des données récentes.

3.2.1 Survie de V. cholerae O1 hors de l'intestin humain

La plupart des résultats suggèrent que V. cholerae O1 a besoin de l'intestin humain comme site de multiplication primaire et comme réservoir, et qu'il est étranger au milieu aquatique d'où il est finalement éliminé. Apparemment, plusieurs exceptions indiquent que ceci n'est

toutefois pas toujours la règle : a) lors de la flambée de choléra en Louisiane en 1978 (voir section 3.1.2.1 f)), le micro-organisme incriminé était une souche El Tor Inaba hémolytique, qui avait le même tableau inhabituel de sensibilité aux phages que la souche El Tor Inaba hémolytique isolée chez un cas de choléra au Texas en 1973. Bien que des cas aient facilement pu passer inaperçus, rien ne prouve que d'autres infections humaines par le choléra se soient produites entre 1973 et 1978, ce qui tend à montrer que des micro-organismes auraient subsisté dans l'environnement; b) en Australie, depuis 1977, des vibrions El Tor Inaba ont été isolés à plusieurs reprises sur une période de 25 mois à partir d'une rivière à débit normal. Les pics d'incidence coïncident avec la période la plus chaude de l'année. Aucune source humaine de contamination n'a été trouvée, et seuls deux cas d'infection humaine ont été détectés, tous deux avant la découverte des vibrions dans l'eau. Des micro-organismes ont également été isolés dans 2 cas sur 60 à partir du contenu intestinal de mulets communs pêchés dans la rivière. Les isolements examinés paraissent en général toxigènes, bien qu'un certain nombre soient négatifs dans l'épreuve en cellules surrénales Y-1 et dans l'épreuve de l'anse iléale; c) en URSS, après une flambée de choléra à Astrakhan en 1970, des *V. cholerae* O1 El Tor ont été isolés dans deux petits bassins aquatiques proches de la Volga pendant des périodes allant jusqu'à 14 mois. Ces eaux n'avaient subi aucune contamination fécale humaine connue. En 1975, des vibrions El Tor ont été isolés de sources sulfureuses de la région. Une contamination pourrait avoir été due à des touristes visitant la région en provenance de zones infectées par le choléra, mais ceci n'est pas prouvé.

En outre, une surveillance environnementale extensive réalisée au Bangladesh dans le but d'identifier un habitat extra-intestinal pour *V. cholerae* O1 a révélé que ces micro-organismes étaient quelquefois associés à la surface radiculaire des plantes, notamment de la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*). Des travaux de laboratoire effectués dans des réservoirs indépendants contenant de l'eau douce de marais ont montré que les vibrions El Tor et de nombreuses autres bactéries hétérotrophes se concentraient à la surface radiculaire de ces plantes quelques heures après l'immersion. Les vibrions adhérant aux plantes restaient viables plus longtemps que ceux qui restaient libres dans l'eau.

3.2.2 Méthodes utilisées en surveillance environnementale

3.2.2.1 Echantillonnage

Il a été démontré que les écouvillons de Moore constituent un moyen efficace de surveillance des eaux courantes et des eaux d'égouts pour la recherche de *V. cholerae* et représentent la technique la plus sensible lorsque les numérations donnent des résultats inférieurs à 1 micro-organisme par litre. Dans les eaux stagnantes, il est habituellement nécessaire de recueillir des échantillons multiples d'un litre ou plus. De tels échantillons doivent être enrichis directement ou après filtration sur Celite. Comme on a quelquefois trouvé *V. cholerae* O1 dans les plantes flottantes et le plancton alors que la colonne d'eau sous-jacente n'en contenait aucun, le prélèvement de tels organismes aquatiques peut augmenter les chances de détecter les vibrions.

Il est important de traiter les échantillons le plus tôt possible après leur collecte et de les conserver à la température ambiante pendant le transport au laboratoire. La culture d'enrichissement peut débiter sur le terrain. Quelquefois, les *V. cholerae* O1 isolés de l'eau paraissent avoir subi des lésions sublétales qui augmentent leur sensibilité au froid. Si les échantillons doivent être refroidis en vue de leur transport, on utilisera un refroidissement par air immobile (sans contact direct avec le réfrigérant).

3.2.2.2 Enrichissement

L'eau peptonée alcaline sans NaCl constitue le meilleur milieu d'enrichissement même si elle permet la croissance de trop d'espèces compétitrices pour être optimale. Les cultures peuvent être striées au bout de 6-8 heures et au bout de 18-20 heures; on peut encore, et cela est préférable, effectuer un repiquage au bout de 6-8 heures puis strier l'original et le repiquage au bout d'une nuit d'incubation. L'incubation de 6-8 heures peut être faite à 35-37°C ou à la température ambiante; la température optimale pour l'incubation nocturne est de 35-37°C. Divers autres bouillons d'enrichissement ont été proposés, mais aucun ne présente d'avantages réels.

3.2.2.3 Culture en milieu solide

La gélose TCBS est recommandée pour l'ensemencement des cultures enrichies. L'efficacité de ce milieu est très variable selon les marques et les lots, la marque Eiken semblant être la plus fiable. Les V. cholerae O1 toxino-gènes soumis à une pression environnementale ne se multiplient que très médiocrement sur ce milieu hautement sélectif et l'ensemencement direct d'échantillons d'eau sur la gélose TCBS est déconseillé.

3.2.2.4 Identification

On obtient une méthode efficace d'identification de V. cholerae O1 en transférant des colonies jaunes lisses (les souches atypiques O1 et non-O1 forment parfois des colonies vertes) de la gélose TCBS à de la gélose gélatinée peptonée sans NaCl. On étudiera dans les isoléments qui se développent et produisent des zones de gélatinase la réaction de l'oxydase et l'agglutination sur lame en présence d'immunsérum anti-V. cholerae O1 polyvalent; en cas de réactions positives, on fera l'agglutination en présence d'immunsérums spécifiques de type anti-Ogawa et anti-Inaba. Les isoléments non agglutinants peuvent être transférés sur de la gélose au fer de Kligler, et faire l'objet d'une recherche de lysine-décarboxylase, d'ornithine-décarboxylase et d'arginine-dihydrolase; on détectera ainsi les V. cholerae non-O1 (voir tableau 1). Certaines difficultés dans l'obtention de réactions d'agglutination typiques avec des colonies sélectionnées en dehors de la gélose TCBS ont été signalées.

3.2.2.5 Dénombrement

On obtiendra le meilleur dénombrement des V. cholerae O1 dans les échantillons d'eau par une méthode du nombre le plus probable à 3 tubes, en utilisant de l'eau peptonée alcaline et un ensemencement par striation sur gélose TCBS. La filtration sur membrane et l'incubation de la membrane sur TCBS ne constituent pas une méthode satisfaisante. La pré-incubation des membranes sur de la gélose à l'amidon pendant 2 à 3 heures avant transfert sur gélose TCBS s'est révélée aussi efficace que la technique du nombre le plus probable, mais seulement lorsque les échantillons d'eau contiennent de fortes concentrations ($\geq 10^2/100$ ml) de V. cholerae O1, ou lorsqu'il s'agit d'eau peu trouble et ne contenant que peu d'espèces compétitrices.

On n'a pas assez étudié l'influence sur le dénombrement de l'adhérence des micro-organismes sur les particules en suspension. Dans certains cas, il a été démontré que le mélange d'échantillons augmente la concentration apparente de V. cholerae O1 dans l'eau.

3.2.2.6 Le problème du dépassement de V. cholerae O1 par V. cholerae non-O1

Aucune méthode sélective ne permet à V. cholerae O1 de dépasser les souches non-O1 dans une population. Si, dans un échantillon contenant un grand nombre de micro-organismes non-O1, un petit nombre de O1 est présent (comme c'est fréquemment le cas), les souches O1 peuvent ne pas être décelables en pratique et subsistent pendant de longues périodes comme population "silencieuse".

3.2.3 Le rôle de la surveillance environnementale dans la lutte contre le choléra

La surveillance des égouts en utilisant uniquement les écouvillons de Moore (en Afrique du Sud et en Louisiane, Etats-Unis d'Amérique) et l'échantillonnage de latrines et du contenu groupé de tinettes (à Hong Kong) se sont révélés des indicateurs sensibles de la présence de V. cholerae O1 dans une collectivité. Dans les zones affectées par le choléra qui sont desservies par des réseaux d'égouts, l'échantillonnage au moyen d'écouvillons de Moore peut être un complément valable du point de vue du coût et de l'efficacité au dépistage des maladies diarrhéiques pour la surveillance de V. cholerae O1. Dans les régions exemptes de choléra, la surveillance de routine devra se limiter aux canalisations d'égouts principales. Si V. cholerae O1 est détecté, on placera d'autres écouvillons de Moore dans les canalisations secondaires, de façon à faciliter la localisation de la source. Dans les régions où le choléra fait des apparitions sporadiques, la surveillance aux points de décharge des égouts peut être le moyen le moins coûteux et le moins difficile de détecter la présence du choléra dans la collectivité.

3.3 Typage de *V. cholerae* par les phages et par les vibriocines

Ces deux modes de typage suscitent un intérêt croissant, bien que les renseignements disponibles, résumés ci-dessous, soient encore limités.

3.3.1 *V. cholerae* O1

Il est admis qu'un plan de lysotypie serait très utile pour l'étude épidémiologique des isollements de *V. cholerae* O1 toxinogènes et atypiques présents chez l'homme et dans l'environnement. L'intérêt pratique du plan original de Basu et Mukerjee¹ est limité du fait que des isollements récents se sont trouvés n'appartenir qu'à trois types. En fait, le seul travail publié démontrant l'utilisation épidémiologique de ce plan a été celui décrivant une flambée de choléra au Togo, au cours de laquelle il a été utilisé conjointement avec le plan de Gallut et Nicolle.²

Récemment, toutefois, un plan de lysotypie élargi a été mis au point au Public Health Laboratory de Maidstone, qui a commencé à constituer une collection de cultures témoins lyophilisées. Un certain nombre de phages ont été examinés et 14 se sont révélés utiles aux fins de lysotypie : les phages classiques I à IV de Mukerjee; les phages 4 et 5 de Basu et Mukerjee; le phage B de Nicolle; les phages 4996, 13, 14, 16 et 24 isolés au Bangladesh; et les phages 32 et 57 qui dérivent respectivement des phages 3 et 5 de Basu et Mukerjee. L'examen de 1135 souches a révélé 25 types de sensibilité à ces 14 phages (tableau 2). Ces types ont été numérotés de 1 à 25 aux fins de la présente discussion. Ils paraissent raisonnablement stables, bien que parfois des souches sensibles à 1 ou 2 phages seulement peuvent donner des variants de sensibilité plus large après des repiquages répétés. Ceci ne paraît pas poser de problème avec des souches fraîchement isolées et n'est pas assez significatif pour gêner l'emploi du plan pour les typages de routine.

Presque toutes les souches (99 %) étaient typables, mais 64 % d'entre elles se répartissaient entre 3 types seulement (11, 6 et 7). La sélection des souches était faussée : certains pays, surtout le Bangladesh, l'Inde et l'Indonésie, étaient beaucoup plus représentés que d'autres. Parmi les 1135 souches, 114 avaient déjà été étudiées et appartenaient au type 4 de Basu et Mukerjee en étant sensibles au phage B. Ces souches ont été choisies car des études antérieures avaient montré qu'il s'agissait du type le plus commun et on espérait qu'elles puissent être subdivisées à l'aide des nouveaux phages. En réalité, toutes ces souches sauf une appartenaient au type 11. La prédominance de quelques types, notamment le type 11, peut s'expliquer par le fait que la plupart des phages de typage ont été isolés à partir d'une seule zone d'endémie (le delta du Gange). Les phages isolés à partir de l'environnement se sont jusqu'à présent révélés plus utilisables que les phages obtenus à partir de souches lysogéniques. Ces résultats permettent de penser que de nouveaux phages de typage devraient être recherchés dans l'environnement d'autres régions où le choléra est endémique.

Les phages du Public Health Laboratory de Maidstone présentent apparemment un intérêt considérable comme outil épidémiologique, comme le montrent les trois exemples ci-dessous :

- a) Lors de la flambée de 1974 au Portugal, le type 16 prédominait au Portugal et dans les pays de l'Afrique australe, mais n'avait pas encore été détecté dans d'autres pays méditerranéens. Ceci est à rapprocher de l'hypothèse selon laquelle le choléra a été introduit au Portugal à partir de l'Afrique australe.
- b) Les souches de *V. cholerae* O1 isolées chez l'homme et dans l'environnement en Louisiane, États-Unis d'Amérique, en 1978, appartenaient toutes au type 17, de même que la souche isolée au Texas en 1974 (voir section 3.2.1); ce type n'a été détecté dans aucun autre pays.
- c) Les isollements de *V. cholerae* O1 dans l'environnement, que l'on sait atypiques (non toxinogènes) et/ou non associés à des cas cliniques ont jusqu'à présent résisté aux phages 13, 14, 16 et 24. La sensibilité à un ou plusieurs de ces phages peut donc être un indice de pathogénicité potentielle.

¹ Basu, S. et Mukerjee, S. (1968) *Experientia*, 24, 299-300.

² Gallut, J. et Nicolle, P. (1963) *Bull. Org. mond. Santé*, 28, 389-393.

En outre, deux groupes de chercheurs russes ont également isolé de nouveaux phages actifs contre les souches de V. cholerae O1, qui peuvent être utiles pour le typage. L'un de ces groupes, travaillant conjointement avec l'Institut national du Choléra et des Maladies entériques de Calcutta, a divisé les souches O1 en une vingtaine de types, en utilisant les phages classiques de Mukerjee, les phages El Tor de Basu et Mukerjee, le phage B de Nicolle et 3 nouveaux phages.

3.3.2 V. cholerae non-O1

L'usage d'un plan de lysotypie de V. cholerae non-O1 mis au point à Calcutta ne s'est pas répandu et semble maintenant abandonné. Sur 433 souches non-O1 récemment typées avec les phages du Public Health Laboratory de Maidstone, 15 % étaient sensibles à au moins un phage. Le tableau de sensibilité des souches non-O1 était analogue à celui de certaines souches de V. cholerae O1 atypiques (non toxigènes). Sur 54 souches non-O1 examinées, 16 étaient lysogènes. Certains de ces phages étant également actifs sur les souches de V. cholerae O1, les souches non-O1 peuvent être une source de nouveaux phages de typage pour les souches O1.

3.3.3 Typage de V. cholerae O1 pour les vibriocines

Un plan de typage par les vibriocines a été mis au point au début des années 1970, et des essais limités d'utilisation pour le typage de routine ont donné des résultats variables. Ce plan n'a pas été adopté pour les études épidémiologiques.

4. L'ENTEROTOXINE CHOLÉRIQUE ET SES RAPPORTS AVEC LA PATHOGENESE, L'IMMUNITE ET L'ELABORATION DES VACCINS¹

Il y a maintenant 20 ans que les résultats expérimentaux ont pour la première fois suggéré que le choléra pouvait être une maladie liée à une toxine. Actuellement, le choléra est considéré comme le prototype d'un certain nombre de maladies diarrhéiques autrefois non reconnues, également liées à des entérotoxines dont certaines s'apparentent du point de vue immunologique à l'entérotoxine cholérique. La plus importante de ces entérotoxines est peut-être la toxine thermolabile (LT) d'Escherichia coli. Prises dans leur ensemble, les autres entéropathies entérotoxiques dépassent de loin le choléra comme cause de morbidité et de mortalité dans le monde. Par conséquent, s'il est possible de mettre au point un moyen convenable d'induire une immunité antitoxique contre le choléra, ce moyen pourrait s'appliquer à la prévention de toutes ces autres maladies. De même, la compréhension du mécanisme d'action de l'entérotoxine cholérique au niveau moléculaire pourrait conduire à l'élaboration de méthodes rationnelles d'intervention pharmacologique qui pourraient également s'appliquer aux autres maladies diarrhéiques apparentées.

L'entérotoxine cholérique (appelée choléragène dans les premiers travaux) a pu être isolée sous forme de toxine homogène, sa structure est maintenant connue, et son mode d'action a été défini au niveau moléculaire. Il s'agit d'une protéine de poids moléculaire 84 000 formée de deux régions immunologiquement distinctes, la région A (active) et la région B (de liaison). La région B (antérieurement nommée choléragénoïde) a un poids moléculaire d'environ 56 000, se compose de sous-unités B associées de façon non covalente, d'environ 11 500 de poids moléculaire. Cette région de la toxine est responsable de la liaison de l'holotoxine aux récepteurs membranaires de la cellule hôte, qui contiennent un glycolipide particulier, le ganglioside GM1. Cette liaison permet à la région A de poids moléculaire 28 000 de pénétrer dans la cellule hôte où elle agit par voie enzymatique en coupant le NAD et en transférant l'ADP-ribose à la protéine liant le GTP associée à l'adénylate-cyclase de la cellule hôte. Cette ADP-ribosylation de la

¹ Cette section met à jour les renseignements fournis dans le rapport du groupe scientifique de travail sur l'immunité et l'élaboration des vaccins, publié sous le titre "Intestinal immunity and vaccine development": Memorandum, Bull. Org. mond. Santé, 1979, 57 (5), 719-734 (précédemment document OMS non publié WHO/DDC/78.2) (version française à paraître). Pour plus de renseignements, en particulier sur la mise au point d'un vaccin anticholérique tué, le lecteur se reportera à ce rapport.

protéine liant la GTP empêche la décomposition du GTP en GDP, et bloque efficacement l'adénylate-cyclase dans son état actif. Ce blocage se traduit par la formation continue de quantités excessives d'AMP cyclique (AMPc), laquelle entraîne une succession d'événements, encore mal connus, qui provoquent une hypersécrétion d'électrolytes puis de liquide par les cellules épithéliales de l'intestin, d'où la diarrhée cholérique.

Du fait de l'ubiquité du ganglioside G_{M1} dans les membranes des cellules eukaryotes, la toxine cholérique peut activer l'adénylate-cyclase dans une grande variété de cellules et de tissus avec lesquels la toxine n'entre normalement jamais en contact. L'entérotoxine cholérique est ainsi devenue largement utilisée comme outil de recherche de l'adénylate-cyclase/AMPc par des chercheurs s'intéressant à divers effets médiés par l'AMPc, sans rapport avec le choléra. Un certain nombre d'épreuves sensibles pour l'entérotoxine cholérique, basés sur cette propriété, ont été mis au point. En culture, l'ovaire de hamster chinois ou les cellules tumorales des surrénales de la souris Y-1 répondent à des quantités de l'ordre du picogramme d'entérotoxine, avec des modifications morphologiques caractéristiques. La toxine cholérique provoque également une réaction cutanée caractéristique chez le lapin et le cobaye, cette réaction servant de base à d'autres épreuves. Les entérotoxines apparentées sont également actives, mais des exceptions peuvent être observées. Il importe de noter qu'une activité apparemment analogue chez des organismes d'autres espèces ou genres peut être due à des facteurs tout à fait différents, et qu'il est nécessaire de faire preuve de jugement dans l'interprétation de ces épreuves.

L'entérotoxine cholérique est un antigène très efficace. Outre leur réponse sérologique aux antigènes somatiques des vibrions cholériques, les malades souffrant de choléra présentent habituellement des réponses anticorps antitoxiques. Dans de nombreuses études sur l'animal, il a été démontré que l'immunité antitoxique était protectrice. Les anticorps stimulés par l'entérotoxine cholérique sont principalement dirigés contre la fraction B de la molécule. La région A, immunologiquement différente de la région B, est, par rapport à cette dernière, un antigène relativement faible. On peut prévoir qu'une souche de *V. cholerae* O1, qui ne produirait que la région B de la toxine (un mutant $A^- B^+$), ou qui produirait la région B avec une région A inactive (un mutant $A^X B^+$), pourrait, sans provoquer de diarrhée, tromper efficacement l'hôte en entraînant une réponse immunitaire analogue à celle induite par la maladie elle-même; une telle réponse immunitaire, telle qu'elle a été démontrée dans des études sur des volontaires, possède un important pouvoir protecteur.

Un mutant hypotoxinogène mis au point il y a plusieurs années s'est révélé avirulent chez des volontaires ayant reçu des doses de 10^{10} vibrions vivants (après administration de bicarbonate de sodium). Ces volontaires ont résisté à une réinfection par la souche sauvage parente de *V. cholerae* O1, virulente. Toutefois, la résistance n'étant pas aussi solide que celle induite par la convalescence, et du fait que le mutant a) était apparemment instable en ce que, chez un des volontaires, on a isolé une colonie produisant de plus grandes quantités de toxine cholérique; b) ne colonisait pas très efficacement; et c) ne permettait pas de supposer qu'il puisse induire une bonne immunité antitoxique extensible aux entéropathies entérotoxiques apparentées au choléra, l'évaluation ultérieure de cette souche comme vaccin n'a pas été faite.

Récemment, un mutant $A^- B^+$ a été isolé à partir d'une souche de *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa. Des épreuves réalisées dans plusieurs laboratoires indiquent que ce mutant forme des colonies mais est avirulent chez des modèles animaux expérimentaux après de nombreux passages en série d'un inoculum important. Ce mutant induisait une immunité vis-à-vis de la réinfection par des vibrions cholériques virulents au bout de trois semaines chez le modèle chinchilla, mais on ne sait pas encore exactement si une réponse anticorps anti-B était induite. L'évaluation de cette souche du point de vue de son innocuité et de son efficacité comme vaccin vivant chez des volontaires est imminente. Un autre mutant récent ($A^+ B^-$) est aussi prêt à l'essai chez des volontaires. Si ces souches mutantes se révèlent induire une immunité efficace contre le choléra, des essais ultérieurs chez des volontaires permettront de démontrer si elles induisent aussi une immunité significative contre les autres entéropathies entérotoxiques, notamment dues à des *E. coli* produisant l'antigène LT.

On pourrait envisager d'autres approches pour une immunisation efficace contre le choléra en utilisant des antigènes non viables, seuls ou en association, administrés par voie orale ou parentérale. D'après des études sur des volontaires, l'immunisation strictement orale pourrait être efficace. Un vaccin composé de l'anatoxine naturelle de la seule région B a été mis au point et est en cours d'évaluation.

On ne sait que peu de chose des autres facteurs de virulence capables de jouer un rôle dans l'immunité. Le ou les facteurs responsables de l'adhérence n'ont pas été bien caractérisés. La motilité des vibrions cholériques semble être un facteur de virulence dans certains modèles animaux, et il a été postulé qu'elle aiderait les vibrions à pénétrer dans la couche muqueuse de l'intestin grêle. Le rôle, s'il existe, d'autres facteurs tels que la mucinase, la neuraminidase, la protéase, etc., n'est pas connu. On a récemment isolé une hémolysine d'une souche de *V. cholerae* O1 El Tor, qui est cytotoxique et mortelle pour la souris. Comme le choléra provoqué par les vibrions El Tor hémolytiques est cliniquement identique à celui provoqué par les biotypes classiques et les vibrions El Tor non hémolytiques, cette hémolysine ne joue probablement aucun rôle dans la pathogénèse.

5. LA LUTTE CONTRE LE CHOLERA, PARTIE INTEGRANTE D'UN PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LES MALADIES DIARRHEIQUES

Dans le passé, les activités de lutte contre le choléra étaient entreprises dans de nombreux pays sous forme d'un ensemble d'opérations approprié, uniquement lorsque le choléra menaçait ou avait déjà frappé. Un certain nombre de pays ayant eu des cas de choléra ces dernières années et connaissant les possibilités scientifiques actuelles mettent actuellement au point des programmes de lutte contre toutes les maladies diarrhéiques. Les principales stratégies de tels programmes ont été décrites dans un autre document.¹ Le groupe recommande l'adoption d'un tel programme dans toutes les régions infectées ou menacées d'infection par le choléra, car il offre les meilleures chances de lutter contre cette maladie. Si un tel programme est entrepris, on pourra sauver la vie des malades et empêcher la panique qui se déclenche souvent après les premiers décès dans les régions nouvellement infectées.

La surveillance épidémiologique constitue l'une des principales stratégies; si un programme de surveillance fonctionne correctement, les flambées de choléra et d'autres maladies diarrhéiques peuvent être détectées précocement et les mesures de recherche et de lutte peuvent être déclenchées avant que la flambée ne s'étende. Une surveillance efficace exige non seulement la collecte systématique de toutes les données sur les cas, mais aussi l'analyse et l'interprétation de ces données de façon à constituer une base rationnelle pour les interventions sanitaires et également de permettre aux autorités sanitaires de déterminer les priorités lorsque les ressources à allouer sont limitées.

Les fournisseurs de données (les personnes notifiant les cas) peuvent être toutes personnes délivrant des soins de santé primaires, telles qu'agents de village, guérisseuses traditionnelles, pharmaciens, chefs de village et chefs religieux, enseignants, ainsi que les médecins des installations de soins secondaires et tertiaires. On utilisera des formulaires de notification simples et une définition simple des cas. Par exemple, pour la surveillance du choléra dans les régions non endémiques, l'apparition d'un nombre anormalement élevé de cas de diarrhée avec déshydratation chez les sujets âgés de plus de dix ans suffit probablement pour faire penser à la présence éventuelle du choléra. Une notification de tels cas par les fournisseurs de données doit déclencher une action immédiate, à savoir : renforcer les installations de traitement, confirmer la présence du choléra, déterminer le ou les véhicules de transmission et mettre en œuvre les mesures de lutte de façon à empêcher toute extension de la maladie.

Les laboratoires de diagnostic sont importants mais ne sont pas absolument indispensables. Les laboratoires existants ne doivent pas être surchargés par des envois massifs d'échantillons; au contraire, il faut insister sur la sélectivité dans la collecte d'échantillons ayant un intérêt épidémiologique. Dans une épidémie localisée, il ne doit pas être nécessaire de recueillir plus de quelques échantillons pour l'analyse de laboratoire et quelques échantillons de denrées alimentaires et d'eaux qu'on soupçonne impliqués dans la transmission.

¹ Pour plus de détails, le lecteur se reportera à la résolution WHA31.44 adoptée par l'Assemblée mondiale de la Santé en mai 1978, et au document OMS non publié "Elaboration d'un programme de lutte contre les maladies diarrhéiques", WHO/DDC/78.1.

Il est indispensable de mettre au point un plan d'action dûment réfléchi pour la surveillance épidémiologique et la lutte contre l'épidémie, et il est également indispensable de disposer du personnel et des installations nécessaires pour réaliser ce plan. La surveillance des maladies diarrhéiques devra chaque fois que possible être intégrée dans un autre programme national de surveillance des maladies transmissibles.

6. RECOMMANDATIONS EN MATIERE DE RECHERCHE

Compte tenu des connaissances et des méthodes de laboratoire actuelles, et en gardant à l'esprit l'objectif général du programme, à savoir la lutte contre le choléra et les diarrhées provoquées par des vibrions apparentés, le groupe a formulé des recommandations relatives aux recherches ultérieures. Etant donné les aspects forts différents examinés lors de la réunion, on n'a pas tenté de dresser une liste générale de priorités pour la recherche. Les recommandations sont au contraire énumérées séparément pour chaque sujet discuté.

6.1 Epidémiologie et bactériologie

6.1.1 V. cholerae O1

Les modes de transmission du choléra à l'échelon de la collectivité doivent être étudiés avec plus de précision, en utilisant conjointement les techniques les plus efficaces de l'épidémiologie et de la microbiologie de l'environnement. De telles études devront permettre d'identifier des méthodes d'intervention spécifiques dont l'efficacité dans la lutte contre le choléra sera probable.

Des études épidémiologiques, microbiologiques et sociologiques coordonnées devront être réalisées de façon à identifier les déterminants de l'endémicité du choléra, de sa persistance dans l'environnement et de ses variations saisonnières.

Les programmes pour la surveillance continue de la résistance des souches de V. cholerae O1 aux antibiotiques et pour la recherche de la nature des facteurs R impliqués doivent être accélérés.

Il est nécessaire d'effectuer des études sur des volontaires pour définir plus en détail la dose infectieuse des biotypes de V. cholerae O1 et pour déterminer l'influence des aliments et de l'eau sur cette dose.

Les raisons de la faible incidence du choléra chez les nourrissons doivent être expliquées par des études détaillées dans différentes zones d'endémicité, y compris plusieurs zones où l'allaitement au sein est de règle.

Des recherches portant sur la base génétique des différences entre les biotypes classiques et les biotypes El Tor doivent être encouragées de façon à pouvoir définir des marqueurs plus stables que ceux actuellement utilisés pour différencier ces biotypes.

6.1.2 V. cholerae O1 atypique

Il est nécessaire de déterminer s'il existe une association entre l'absence de production de toxine in vitro par V. cholerae O1 atypique et d'autres réactions biochimiques.

On devra réaliser davantage d'études sur des volontaires pour chercher si les souches atypiques de V. cholerae qui ne produisent pas de toxine dans les conditions de laboratoire - comme il a été mesuré par diverses épreuves - peuvent provoquer la maladie chez l'homme.

On devra s'efforcer de rechercher la production de toxine chez des V. cholerae O1 isolés à partir de cas et isolés dans l'environnement en l'absence de cas, de façon à déterminer la fréquence des souches atypiques de V. cholerae O1.

La structure antigénique de V. cholerae O1 et de V. cholerae O1 atypique devra être examinée en vue de la préparation d'un meilleur immunosérum pour V. cholerae O1 utilisable comme étalon international.

6.1.3 V. cholerae non-O1, vibrions du groupe F, et espèces apparentées

Il importe d'identifier les membres pathogènes de ces groupes et les facteurs liés à la pathogénicité. Les résultats des études chez l'animal et autres modèles de laboratoire destinés à déterminer les variations du potentiel virulent devront en dernier lieu être confirmés chez des volontaires. Les caractéristiques de ces isollements qui peuvent être utilisées pour leur identification en laboratoire devront ensuite être déterminées.

On devra rechercher les membres pathogènes de ces groupes lors de flambées épidémiques et dans des études prospectives sur la diarrhée de façon à obtenir des renseignements sur leur incidence, leur mode de transmission et leurs aspects cliniques.

On devra mettre au point un système unique de sérotypage accepté au niveau international pour V. cholerae non-O1, de façon à faciliter la communication internationale en vue d'une meilleure compréhension de l'écologie, de l'épidémiologie, de la pathogénicité et des aspects cliniques de ce groupe.

6.1.4 V. parahaemolyticus

Il est nécessaire d'élucider la nature des déterminants de la virulence chez V. parahaemolyticus et la relation du phénomène de Kanagawa à l'entéropathogénicité pour l'homme.

Des études destinées à déterminer la pathogénèse de la gastro-entérite à V. parahaemolyticus, et en particulier du syndrome à courte période d'incubation, devront être réalisées.

Le mode de transmission dans les cas sporadiques et dans les flambées dans lesquelles les fruits de mer ne sont pas impliqués doit être élucidé, ainsi que l'écologie des souches de V. parahaemolyticus indigènes dans les eaux douces. On devra également entreprendre des recherches complémentaires pour définir les conditions ou les moyens de traiter les fruits de mer de façon à empêcher la multiplication de V. parahaemolyticus.

6.2 Surveillance environnementale

L'écologie de V. cholerae O1 dans les eaux superficielles devra être mieux caractérisée. Si ces micro-organismes sont réellement indigènes dans certains habitats, ce caractère devra être mis en évidence. S'ils sont étrangers dans les milieux aquatiques, on devra multiplier les travaux de façon à identifier les facteurs qui influencent leur aptitude à survivre dans ces environnements.

Il est nécessaire d'améliorer la méthodologie de l'isolement de V. cholerae à partir de l'eau et des égouts, notamment les techniques d'enrichissement, qui en général ne réussissent pas à supprimer les nombreux compétiteurs aquatiques de V. cholerae. Il est encore plus urgent de mettre au point une technique destinée à faciliter l'isolement de V. cholerae O1 en présence de V. cholerae non-O1. Une méthode immunologique constituerait une approche réalisable, mais il convient également d'encourager les efforts visant à identifier des différences physiologiques exploitables.

Des études fondamentales sont nécessaires en ce qui concerne les différences physiologiques entre les différents types de V. cholerae (classique, El Tor, atypique, non-O1), qui influencent leur aptitude à survivre dans les milieux aquatiques. Ces études devront comprendre des expériences de survie in situ.

6.3 Méthodes de laboratoire et lysotypie

On manque de méthodes simples, définies avec précision, pour déterminer le potentiel pathogène des espèces de vibrions isolées à partir de diverses sources. On devra rechercher un accord international sur la ou les épreuves qui seront acceptées comme critère minimum de mise en évidence de la pathogénicité d'une espèce.

La valeur du système de lysotypie de Maidstone comme outil épidémiologique devra être vérifiée par des études sur le terrain. L'isolement de nouveaux phages à partir de diverses régions géographiques peut améliorer la sensibilité de ce système et devra être encouragé. La faisabilité de l'extension de ce système comme base d'un système standard international devra être également examinée.

On devra encourager et multiplier les études destinées à déterminer si la lysotypie permet de distinguer les souches de V. cholerae O1 atypique des souches de V. cholerae O1.

On manque encore de méthodes plus simples et plus rapides pour le diagnostic en laboratoire du choléra et des infections apparentées. L'établissement d'une norme minimale de qualité pour la gélose TCBS devra être encouragé.

6.4 Pathogénèse, immunité et élaboration des vaccins¹

Il est nécessaire d'entreprendre de nouvelles études pour définir les facteurs indispensables à la virulence de V. cholerae, dans l'espoir que leur connaissance conduira à de nouveaux moyens d'intervention pharmacologique. A cet égard, la recherche des facteurs et mécanismes impliqués dans la colonisation, et dans la synthèse et le transport des toxines, pourrait être très utile. Les bases génétiques de la virulence doivent être élucidées, et en particulier le rôle d'éléments extra-chromosomiques, de plasmides et de phages lysogènes dans la médiation des facteurs spécifiques de virulence.

Les agents immunisants (par exemple l'anatoxine de sous-unité B, un mutant A⁻ B⁺ et un mutant A⁺ B⁻) récemment mis au point, devront être expérimentés du point de vue de l'innocuité, de la stabilité et de l'aptitude à induire une protection notable contre les sérotypes et biotypes de V. cholerae O1 et, si cette protection existe, contre les entéropathies entérotoxiques apparentées au choléra.

De nouvelles recherches fondamentales sont nécessaires afin d'aboutir à une meilleure compréhension du mécanisme d'action de l'entérotoxine cholérique, notamment de la succession d'événements suivant l'activation de l'adénylate-cyclase et conduisant à la diarrhée.

L'ampleur de la parenté antigénique entre les entérotoxines de diverses espèces d'entéropathogènes doit être définie. De nouvelles études devront être axées sur l'isolement et la caractérisation des facteurs liés à la production d'entérotoxines chez des micro-organismes autres que V. cholerae O1.

¹ Ces recommandations complètent celles données dans le rapport du groupe scientifique de travail sur l'immunité et l'élaboration des vaccins, Bull. Org. mond. Santé, 1979, 57 (5), 719-734 (précédemment document non publié WHO/DDC/78.2) (version française à paraître).

TABLEAU 1. CARACTERES DES ESPECES DE VIBRIO ET DES MICRO-ORGANISMES APPARENTES SUSCEPTIBLES D'ETRE RENCONTRES AU LABORATOIRE CLINIQUE

	<u>V. cholerae</u> O1	<u>V. cholerae</u> non-O1	<u>V. parahaemolyticus</u>	<u>V. alginolyticus</u>	Groupe F biotype 1	Groupe F biotype 2	<u>Aeromonas</u>	<u>Plesiomonas shigelloides</u>	<u>V. anguillarum</u>	<u>V. metschnikovii</u>
Oxydase (Kovac)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Lysine décarboxylase	+	+	+	+	-	-	d	+	-	d
Ornithine décarboxylase	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Sensibilité à 0/129 10 µg	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S
150 µg	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Ferm. gazeuse du glucose	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-
VP	d	d	-	+	-	-	d	-	+	+
Indole	+	+	+	+	-/+	-/+	+	+	+	d
Fermentation : arabinose	-	-	d	-	+	+	d	-	d	-
inositol	-	-	-	-	-	-	-	+	d	d
mannose	+	d	+	+	+	+	+	-	+	+
saccharose	+	d	-	+	+	+	+	-	+	+
Hydrolyse de l'esculoside	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-
Célatinase	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Croissance à 43°C	+	+	+	+	-	-	d	+	-	d
Croissance en NaCl : 0 %	+	+	-	-	d	d	+	+	-	-
3 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 %	d	d	+	+	+	+	-	-	d	+
8 %	-	-	+	+	d	d	-	-	-	d
10 %	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Croissance en TCBS	+	+	+	+	+	+	d	-	+	+

+ ou - = réaction présente dans ≥ 80 % des souches.

d = la réaction diffère d'une souche à l'autre.

Toutes les souches sont Gram-, motiles et fermentatives.

TABLEAU 2. LYSOTYPIC DE V. CHOLERAE O1

Type selon Basu et Mukerjee	N° du type	Sensibilité au bactériophage à la dilution de routine														Nombre par type	% de ce type
		I	II	III [±]	IV	e4	e5	B	32	57	4996	13	14	16	24		
3	1	V	V	V	V	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	20	2
	2	V	V	V	V	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	5	
	3	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	4	
	4	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	14	1
	5	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	4	
2	6	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	137	12
	7	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	122	
	8	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	38	3
	9	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	9	
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-*	-	5	
4	11	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	465	41
	12	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-*	-*	49	
	13	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	13	1
	14	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	6	
	15	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	6	
	16	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	16	1
	17	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	50	
	18	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	7	
	19	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	14	1
	20	-	-	-	-	-	-	-*	-*	-*	-	-	+	-	-	15	
21	-	-	-	-	-	-	-*	-*	+	-	-	-	+	-*	-	33	3
22	-	-	-	-	-	-	-*	-*	+	-	+	-	+	-*	-	10	
23	-	-	-	-	-	-	-*	-*	-	-	+	-	-	-*	-	23	2
24	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8		
															Autres	58	5
															Total	1135	

+ = sensible.

± = le bactériophage III donne des réactions faibles et variables avec de nombreuses souches El Tor des types courants. Ces réactions n'ont pas été observées.

* = peut parfois donner des réactions faibles avec seulement quelques phages.