



*Centre René Labusquière*  
*Médecine et hygiène tropicales*



## Capacité de Médecine Tropicale

---

### Place de la biologie moléculaire dans le diagnostic d'*Angiostrongylus cantonensis* à MAYOTTE

---

Présenté par  
Docteur Claire Cadix  
Née le 8 septembre 1967

Directeur  
Docteur Pascal MELIANI

Rapporteur  
Docteur Marie-Catherine Receveur

#### JURY

---

Président	Pr D Malvy
Membres	Dr K Ezzedine Dr Th Pistone Dr MC Receveur

---

Année 2012 - 2013

## **Remerciements**

A Mr de Professeur Denis MALVY pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Aux membres du jury, les Dr EZZEDINE, Dr PISTONE et Dr RECEVEUR pour avoir accepté de le juger.

A Mme le Docteur Marie-Catherine RECEVEUR pour avoir accepté de lire ce mémoire et d'en être le rapporteur.

A Mr le Docteur Pascal MELIANI pour m'avoir proposé ce sujet et avoir accepté de m'aider dans sa réalisation.

A Mr le Docteur Louis COLLET pour l'intérêt et l'aide apportée à la réalisation de ce mémoire.

A Mr le Docteur Loïc EPELBOIN pour ses conseils.

A Murielle ESTAGER pour sa disponibilité et sa gentillesse.

## Résumé

*Angiostrongylus cantonensis* est le principal agent de méningite à éosinophiles dans le monde.

A Mayotte, les premiers cas sont décrits à la fin des années quatre vingt dix. Il s'agit essentiellement de nourrissons.

Nous décrivons cinq cas de méningite à éosinophiles survenus à Mayotte entre janvier 2011 et mai 2013.

Initialement, le diagnostic d'angiostrongylose a pu être posé pour une seule observation. L'étude par méthode PCR d'échantillons de LCR a pu confirmer le diagnostic. Bien que cette méthode ne soit pas encore validée pour un diagnostic de « routine », les résultats sont encourageants.

## Sommaire

Abréviations	5
Introduction	6
1. Mayotte	6
1.1. Situation géographique	6
1.2. Démographie	7
1.3. Infrastructure de santé	8
1.3.1. Secteur public	8
1.3.2. Secteur libéral	9
2. Méningites à éosinophiles	9
2.1. Définition	9
2.2. Etiologies	9
2.2.1. Infectieuses	10
2.2.2. Non infectieuses	10
2.3. Angiostrongylose	10
2.3.1. Epidémiologie	10
2.3.2. Cycle biologique	11
2.3.3. Clinique	13
2.3.4. Diagnostic	13
2.3.5. Traitement	15
3. Observations	15
3.1. Cas clinique	16
3.2. Résultats étude par PCR	22
3.2.1. Matériel et méthode	22
3.2.2. Résultats	23
4. Discussion	23
4.1. Épidémiologie et mode de contamination à Mayotte	23
4.2. Clinique	25
4.3. Examen paraclinique	25
4.3.1. Sérologie	25
4.3.2. Biologie moléculaire	25
4.4. Diagnostics différentiels	26
5. Conclusions	27
6. Annexe	28
7 Bibliographie	30

## **Abréviations :**

ELISA : Enzyme Linked dosage immunoenzymatique

PCR : Polymerase Chain Reaction

LCR : liquide-céphalo-rachidien

UHCD : unité d'hospitalisation de courte durée

CHM : centre hospitalier de Mamoudzou

ECBU : examen cyto-bactériologique des urines

SNC : système nerveux central

CTs : cycle seuil

CDC : Centers of Disease Control and Prevention

ADN : acide désoxyribonucléique

IRM : imagerie par résonance magnétique

°C : degrés Celsius

## Introduction :

L'*Angyostrongylus cantonensis* est le principal agent de la méningite à éosinophiles dans le monde. Cette pathologie est émergente à Mayotte. Le premier cas a été rapporté en 1997 [11]. D'autres publications font état d'angiostrongylose à Mayotte [12-31]. En 2010 Madame A. Chrisment réalise sa thèse : « *Méningites à éosinophiles et Angiostrongyloïdose à Mayotte* » [5] et y décrit 8 autres cas. Nous poursuivons ce travail en recensant les cas de méningite à éosinophiles hospitalisés au CHM entre janvier 2011 et mai 2013.

Nous évaluerons la pertinence de la biologie moléculaire dans le diagnostic d'angiostrongylose.

## 1 Mayotte :

### 1.1 Situation géographique :

Mayotte, l'île au lagon,

Située dans l'hémisphère sud, entre l'équateur et le tropique du Capricorne, à l'entrée du Canal du Mozambique, à mi-chemin entre Madagascar et l'Afrique, Mayotte est un petit archipel volcanique de 374 km<sup>2</sup> (figure 1). Il forme lui-même la partie orientale de l'archipel des Comores. Mayotte comprend deux îles principales et une trentaine de petits îlots parsemés dans un lagon étendu sur plus de 1 500 km<sup>2</sup>. L'île principale, Grande-Terre, découpée et pentue, est formée de 6 massifs érodés dont le point culminant est le Mont Bénara (660 m).

L'îlot de Pamandzi et le rocher de Dzaoudzi, reliés par une digue appelée le Boulevard des Crabes, constituent Petite-Terre. Le chef-lieu administratif est situé à Dzaoudzi, mais l'activité économique est concentrée autour de Mamoudzou, en Grande-Terre. Petite-Terre et Mamoudzou sont les zones les plus urbanisées. [24]

Mayotte est le 101<sup>ème</sup> département français et le 5ème département d'outre-mer (depuis mars 2011).

Le climat, de type " tropical humide " (moyenne annuelle des températures : 25,6 °C) alterne deux saisons :

- La saison des pluies, d'octobre à mars, pendant laquelle la mousson venant du nord arrose l'île. Les températures sont élevées et le taux d'humidité très important. 80 % des précipitations surviennent pendant cette période. C'est également la saison des cyclones et des dépressions tropicales, même si Mayotte, protégée à l'est par Madagascar, est peu exposée au risque cyclonique.
- La saison sèche, d'avril à septembre, pendant l'hiver austral. Les alizés venant du sud-est rafraîchissent l'atmosphère, le taux d'humidité est moins important, et la pluie se raréfie. [24]



Figure 1 : carte de Mayotte

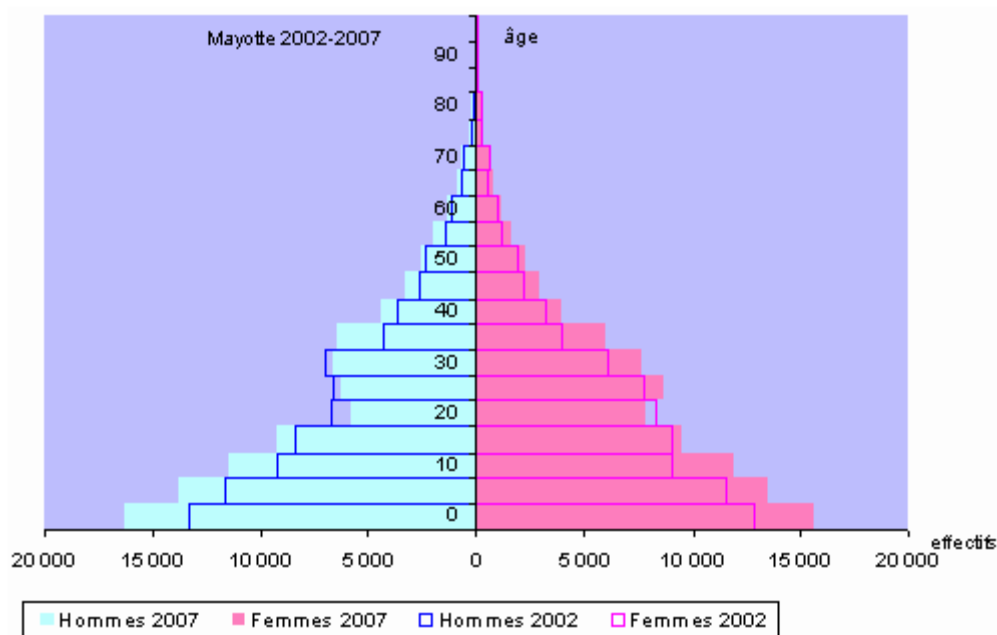
## 1.2 Démographie :

La population mahoraise est issue d'un métissage entre les populations d'origine bantoue et les différentes vagues d'immigration, principalement malgache. En 10 ans, cette population a connu une croissance de 42% pour atteindre 186 452 habitants en 2007. L'île se caractérise par une très forte densité : 511 habitants au km<sup>2</sup>, faisant de Mayotte la seconde île la plus peuplée du sud-ouest de l'Océan Indien, après l'île Maurice. La population est de plus en plus concentrée autour d'un pôle urbain, Mamoudzou, chef lieu de l'île qui absorbe plus de 53 000 habitants (28% de la population totale).

En août 2012, 212 645 personnes vivent à Mayotte. La population de Mayotte a augmenté de 26 200 habitants depuis 2007, soit 5 240 habitants de plus en moyenne chaque année.

En très forte croissance depuis plusieurs décennies, la population mahoraise a triplé depuis 1985. Bien que cette croissance reste soutenue depuis 2007 (+ 2,7 % par an), elle ralentit comparativement aux périodes précédentes : + 5,7 % entre 1991 et 1997, + 4,1 % entre 1997 et 2002 et + 3,1 % entre 2002 et 2007. La natalité élevée et l'immigration, essentiellement clandestine, en provenance des îles voisines, sont à l'origine de cette croissance démographique très importante. La population mahoraise est jeune : 55 % de la population totale a moins de 20 ans, pourcentage le plus élevé de tous les territoires français (source *INSEE*). [15]

### Pyramide des âges de Mayotte



Source : Insee, recensements de la population.

## 1.3 Infrastructure de sante :

### 1.3.1 Le secteur public

Le secteur public comprend trois entités :

- Le Centre Hospitalier de Mayotte (CHM) établissement public de santé doté d'une autonomie administrative et financière depuis le 1er avril 1997.

Le Centre Hospitalier de Mamoudzou (CHM) comprend les services suivants : urgences, médecine (gastro-entérologie, cardiologie), pédiatrie, chirurgie (générale et orthopédique), psychiatrie, des consultations en ORL et en ophtalmologie, une maternité, un service de radiologie/ scanner et un laboratoire.

- Quatre hôpitaux intercommunaux, ou dispensaires de référence :



L'antenne du CHM de Petite-Terre (Dzaoudzi), hôpital Sud (Chirongui), hôpital Centre (Kahani), hôpital Nord (Dzoumogné). Ces sites intercommunaux, de niveau intermédiaire, assurent une permanence médicale pour traiter les premières urgences, fournissent des consultations avancées de médecine générale et spécialisée et disposent d'une « maison de naissances ».

- Les dispensaires

Un réseau d'une quinzaine de dispensaires médico-sociaux assure des soins primaires de proximité ainsi que des actions de prévention.

Les patients qui présentent des pathologies ne pouvant pas être prises en charge à Mayotte peuvent être transportés vers un établissement hospitalier de la Réunion ou de métropole si nécessaire. [25]

### ***1.3.2 Le secteur libéral :***

Le secteur libéral compte une vingtaine de médecins généralistes et spécialistes libéraux (pédiatre, gastro-entérologue, gynécologue, ophtalmologue). Plus de 100 infirmiers libéraux et quelques sages-femmes interviennent sur l'ensemble du territoire. Plusieurs cabinets dentaires, de masseurs/kinésithérapeutes, un laboratoire d'analyse, un centre de radiographie, ainsi que plusieurs pharmacies et plusieurs opticiens sont également présents dans l'île.

Au total, les secteurs publics et privés regroupent environ 200 médecins pour 200 000 habitants. [25]

## **2 Méningites à éosinophiles**

### **2.1 Définition :**

Le diagnostic de méningite à éosinophiles est basé sur des manifestations cliniques et l'identification de polynucléaires éosinophiles dans le liquide céphalo-rachidien (LCR).

Le syndrome méningé est lié à une irritation pathologique des méninges. Il s'accompagne de modifications biologiques du LCR.

La méningite à éosinophiles se définit par la présence de plus de 10 polynucléaires éosinophiles par mm<sup>3</sup> dans le LCR ou plus de 10% de polynucléaires éosinophiles dans la formule leucocytaire du LCR. [13-21-30]

Il ne faut pas confondre méningite à éosinophiles et contamination du LCR par des polynucléaires éosinophiles sanguins suite à une hémorragie à la ponction lombaire, lorsqu'il existe une hyperéosinophilie sanguine.

### **2.2 Etiologies :**

La plus commune des causes est l'invasion du système nerveux central par des helminthes, particulièrement *Angiostrogylus cantonensis*, mais d'autres affections, qu'elles soient ou non d'origine infectieuse, peuvent se rencontrer.

### 2.2.1 Infectieuses :

- Parasitaires :

- Helminthes :

Nématodes : *Angiostrongylus cantonensis*, *Gnathostoma spinigerum*, *Bayliascaris procyonis*

Cestodes : *Taenia solium*

Trématodes : *Paragonimus westermani*, *Schistosoma japonicum*, *Fasciola hepatica*

Autres : *Toxocara* sp, *Ascaris lumbricoïdes*, *Trichinella spiralis*, *Echinococcus Granulosus*,  
*Dirofilaria imitis*,

- Protozoaires : *Toxoplasma gondii*,

- Bactériennes : tuberculose, syphilis,
- Fongiques : *Coccidioides immitis*, cryptocoque,
- Virales : virus de la chorioméningite lymphocytaire.

### 2.2.2 Non infectieuses :

Il existe d'autres étiologies non infectieuses qui sont:

- Malignes : lymphome de Hodgkin et non Hodgkinien, leucémie à éosinophiles,
- Inflammatoires : sarcoïdose, périarthrite noueuse,
- Médicamenteuses : ciprofloxacine, ibuprofène, vancomycine et gentamicine intraventriculaire,
- Iatrogènes : dérivation ventriculo-péritonéale et injection intra-thécale de produit de contraste.

Lorsqu'aucune étiologie n'est retrouvée, on parle de syndrome d'hyper éosinophilie idiopathique. [13-21]

## 2.3 *Angiostrongylus cantonensis*

C'est la cause la plus fréquente de méningite à éosinophiles.

### 2.3.1 Épidémiologie

Il s'agit d'un nématode méastrostrongylidé retrouvé en zone tropicale entre le 23e degré de latitude nord et le 23e degré de latitude sud et dispersé de Cuba jusqu'à Tahiti.

La répartition géographique de la maladie a intéressé d'abord le Sud-est asiatique, puis l'Australie (1945), le Pacifique (1948), l'océan Indien (1960), l'Afrique (Côte d'Ivoire, 1980), les Caraïbes (Cuba, 1973). Le parasite a une répartition plus large : Egypte, Nigéria, Madagascar et récemment les Canaries (Espagne).

La maladie est émergente au niveau des Iles de l'océan Indien (Mayotte, 1996), des Caraïbes (Jamaïque, 2000) et d'Hawaii (2000) [18]. Bien que la Chine soit son berceau, la maladie y a été oubliée avant d'être récemment réactualisée (épidémie à Beijing, 2006). [1-7] (figure 2)

La mondialisation, la généralisation des voyages et le réchauffement climatique favoriseraient la propagation d'*Angiostrongylus cantonensis*, car on observe des cas d'angiostrongylose dans des zones jusqu'à présent épargnées. [7]

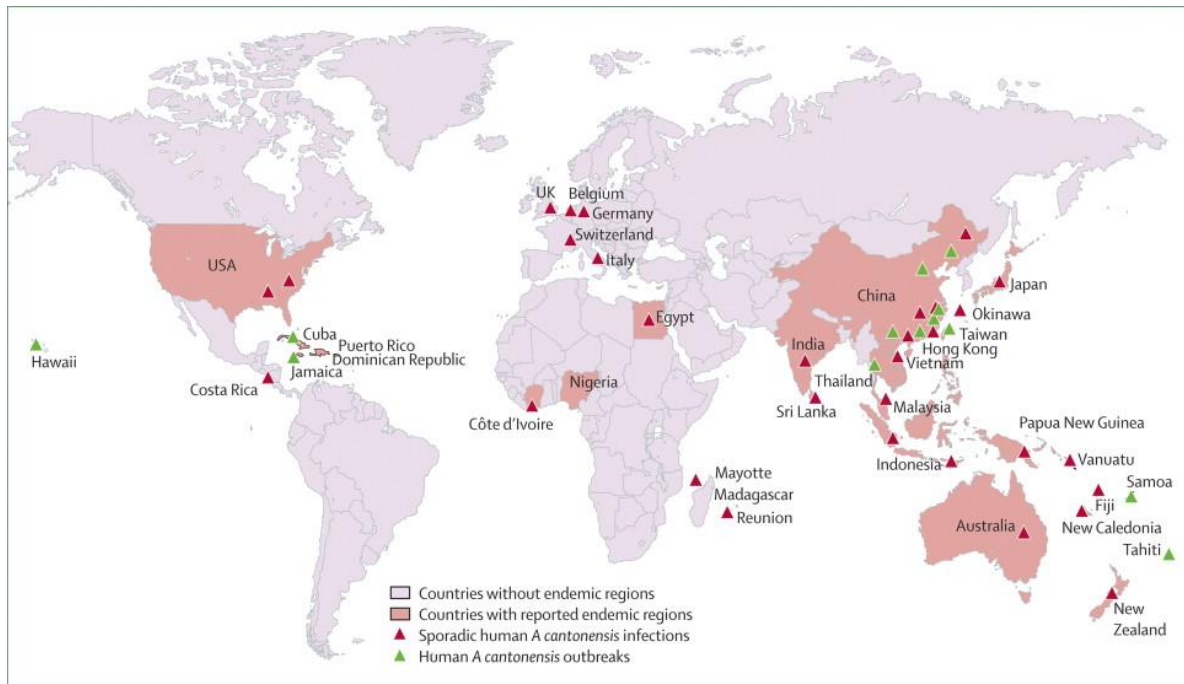


Figure 2 : répartition d'*Angiostrongylus cantonensis* et des cas d'angiostrongylose dans le monde [34]

### 2.3.2 Cycle biologique

Les vers adultes d'*Angiostrongylus cantonensis* vivent dans les artères pulmonaires des rats. Les femelles pondent des œufs qui éclosent, donnant des larves de premier stade (L1), dans les branches terminales des artères pulmonaires.

Les larves de premier stade migrent vers le pharynx, sont avalées et passent dans les fèces. Elles pénètrent ou sont ingérées par un hôte intermédiaire (escargots ou limaces).

Après deux mues, des larves de troisième stade (L3) sont produites, qui sont infectantes pour les hôtes mammifères. Lorsque le mollusque est ingéré par l'hôte définitif, les larves de troisième stade migrent vers le cerveau où elles se développent en jeunes adultes. Les jeunes adultes retournent dans le système veineux, puis les artères pulmonaires où ils deviennent sexuellement matures.

Divers animaux agissent comme hôtes paraténiques (de transport). Après avoir ingéré les escargots infectés, ils portent les larves de troisième stade qui peuvent reprendre leur développement lorsque l'hôte paraténique est ingéré par un hôte définitif. Ces hôtes (crabes, crevettes d'eau douce) ne sont pas

obligatoires dans le cycle biologique. Les larves ne peuvent ni s’y développer ni s’y reproduire. Ils peuvent infecter des hôtes accidentels ou définitifs.

Les humains (hôtes accidentels) peuvent contracter l’infection en mangeant des escargots ou limaces, crus ou insuffisamment cuits, infectés par le parasite. Ils peuvent également contracter l’infection en mangeant des produits bruts qui contiennent un petit escargot ou une limace, ou par l’ingestion d’animaux paraténiques contaminés.

Chez l’homme, les larves L3 suivent le même parcours que chez le rat. Elles migrent vers le cerveau, ou plus rarement vers les poumons. Lorsque les larves atteignent le stade jeunes adultes dans le cerveau, ils sont alors incapables de réintégrer le système circulatoire et ils meurent. Les lésions neurologiques semble être causées à la fois par les dommages physiques causés par le mouvement des vers dans le cerveau et par l’inflammation causée par la réaction immunitaire. [7]

Les humains sont des hôtes accidentels qui ne transmettent pas l’infection. Il s’agit d’une impasse parasitaire. [3-7-12-21-27] (figure 3)

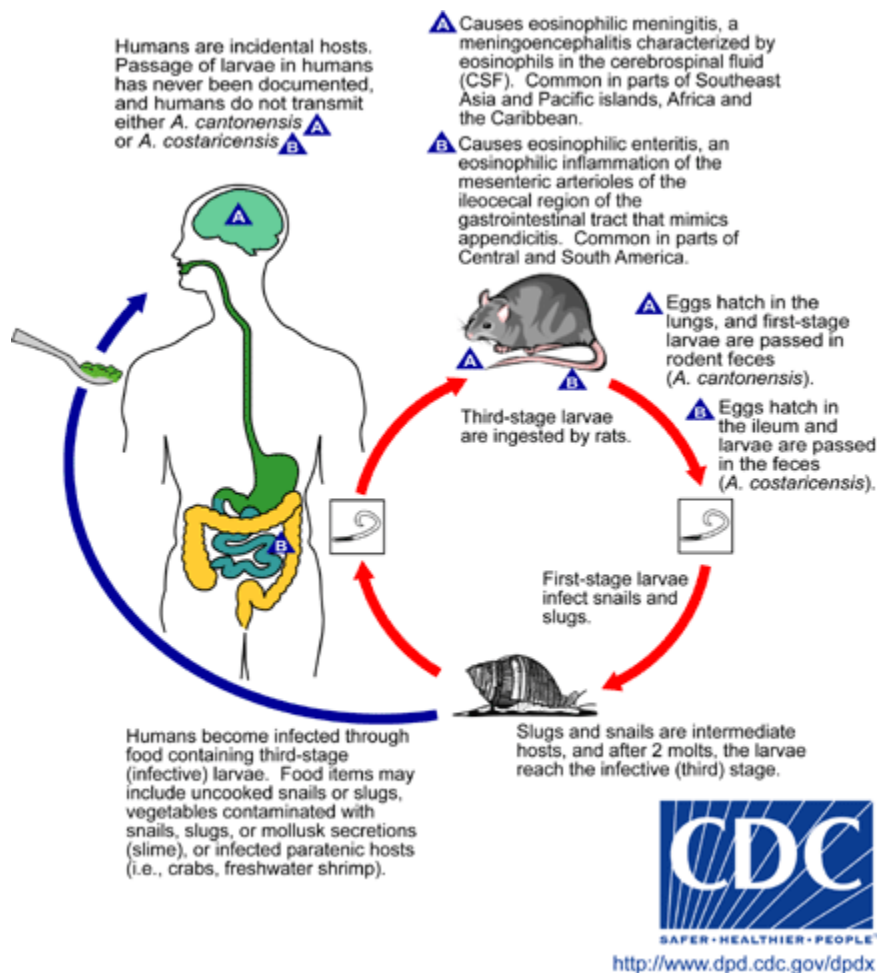


Figure 3 : cycle biologique d’*Angiostrongylus cantonensis* [3]

### 2.3.3 Clinique

La période d'incubation varie entre une à trois semaines. Les premiers symptômes débutent en moyenne au onzième jour. [22]

L'angiostrongylose se manifeste le plus souvent par un syndrome méningé inconstamment associé à une hyperthermie.

Les principaux symptômes peuvent être regroupés en 3 formes cliniques :

- méningite (photophobie, raideur de la nuque inconstante, céphalées) : 90% des cas.
- méningo-encéphalite (troubles de l'humeur, de la vigilance, troubles cognitifs et sensitifs, syndrome pyramidal, hypotonie axiale) : 10%.
- atteinte oculaire : identification d'une larve quelque part dans l'œil, œdème papillaire au fond d'œil (principalement chez l'enfant), décollement ou hémorragie rétinienne, flou visuel et baisse de l'acuité visuelle. 1%. [1]

En pratique, l'évolution spontanée de l'angiostrongylose nerveuse est habituellement bénigne chez l'adulte et la maladie se résout en 4 à 6 semaines. Elle peut être grave chez le petit enfant atteint de méningo-encéphalite avec risque vital ou lourdes séquelles (hydrocéphalie) [1-22].

### 2.3.4 Diagnostic

Le diagnostic parasitologique de certitude est rarement obtenu. Généralement il s'appuie sur les signes cliniques (céphalées sévères, raideur de nuque, paresthésies et troubles visuels) et la détection d'anticorps spécifiques contre *Angiostrongylus cantonensis* dans le LCR. [35]

- *Examen direct :*

L'observation d'*Angiostrongylus cantonensis* dans le LCR est rare. Des larves L3 peuvent être présentes dans le cerveau et le LCR, 1 à 3 semaines après l'infection. Elles peuvent être vues dans une biopsie cérébrale et également dans le vitré de l'œil.

L'étude morphologique des larves permet un diagnostic différentiel avec d'autres nématodes comme *Gnathostoma spinigerum*. [19-35]

- *Techniques sérologiques :*

Actuellement, le test de choix est la détection des anticorps dirigés contre la protéine de 31 kDa de vers adultes par méthode ELISA confirmée par un Western Blot. Ce test est disponible uniquement à l'université de Mahidol en Thaïlande. [9-18-35]

A Mayotte, jusqu'en 2011, les demandes de sérologie étaient transmises au laboratoire de Gonesse (25 rue Pierre de Theilley BP 71, 95503 Gonesse cedex). Ce laboratoire réalisait la sérologie

d'Angiostrongylose en utilisant l'immunofluorescence indirecte. Cependant, suite au décès du médecin réalisant le réactif, le laboratoire n'est plus en mesure de faire ces sérologies.

Le diagnostic sérologique a des limites car la production d'anticorps suit l'apparition des signes cliniques. Souvent les sérologies ne se positivent que tardivement (30 à 45 jours après l'apparition des symptômes). [8-35] De plus il manque de spécificité, par réaction croisée entre espèces voisines.

- *La détection moléculaire :*

La PCR est une technique de répllication ciblée in vitro. Elle permet d'obtenir à partir d'un échantillon, complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. [16]

La séquence à amplifier est déterminée par deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités en 3' pointent l'une vers l'autre.

La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique (amplification cyclique d'un fragment d'ADN, basée sur une réaction enzymologique) avec une amplification mesurée tout au long de la réaction, donc en temps réel.

A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits. Ceci permet d'obtenir une cinétique de la réaction et donc la quantification de l'ADN alors que la PCR classique ne donne que la mesure finale. [16]

Pour quantifier un échantillon par PCR en temps réel, on détermine le nombre de cycles à partir duquel le produit PCR est détectable. Le moment d'apparition de ce signal seuil est dénommé cycle seuil ou Ct (Cycle threshold).

Le concept du « cycle seuil » est à la base d'une quantification précise et reproductible pour les techniques fluorescentes en PCR. Les valeurs de fluorescence sont enregistrées au cours de chaque cycle et représentent la quantité d'amplicons produits en un point précis dans la réaction. Plus il y a de matrices (template) à amplifier au départ de la réaction PCR, moins élevé sera le nombre de cycle requis pour atteindre un point où le signal d'émission de fluorescence sera statistiquement et significativement plus élevé que le bruit de fond. Ce point est défini comme étant le cycle seuil (Ct) et apparaîtra toujours au cours de la phase exponentielle d'amplification. Par conséquent, la quantification n'est pas affectée par l'épuisement d'un des réactifs comme lors de la phase plateau, ce qui explique pourquoi le système en temps réel est si reproductible. La valeur du Ct peut être traduite en un résultat quantitatif en la comparant avec les valeurs du Ct générées avec des matrices de quantification connues. [6-23]

En raison de la facilité d'amplification avec une grande sensibilité et une spécificité atteinte par une PCR en une seule étape, les amorces AC dirigé contre le gène de la protéine 66-kA d'*Angiostrongylus cantonensis* pourrait être une approche potentielle pour la confirmation des résultats cliniques d'angiostrongylose. [9-27-35]

Ces méthodes utilisant l'amplification par PCR de séquences d'ADN spécifique ont été validées pour détecter *Angiostrongylus cantonensis* chez les hôtes intermédiaires (en particuliers les mollusques et les escargots) et évaluer le risque environnemental en réalisant une cartographie. [8-16-17-26-32] Elles ne sont pas encore validées pour leurs applications chez l'homme.

- *Imagerie médicale :*

L'imagerie cérébrale peut aider à distinguer une angiostrongylose des autres méningites à éosinophiles d'origine parasitaire telle une gnathostomose ou une neurocysticercose. [30]

### **2.3.5 Traitement**

Le traitement de l'infection par *Angiostrongylus cantonensis* est avant tout symptomatique. Les cas bénins peuvent régresser sans traitement spécifique.

L'absence de connaissance sur la physiopathologie de l'infection complique sa prise en charge thérapeutique. Une part de cette pathologie est liée à une hypertension intracrânienne. Cette augmentation de la pression intracrânienne pourrait être liée à la vasodilatation des artères et des veines méningées, à une diminution de l'absorption du LCR, ou à un œdème cérébral.

Les experts recommandent la réalisation de ponction lombaire «décompressive», pour soulager les maux de tête. Leur fréquence est fonction de l'amélioration clinique. Les AINS n'ont pas montrés leur efficacité. [18-22]

Le rôle du traitement avec des agents antihelminthiques et corticostéroïdes reste controversé [13-21-33]. Les agents antihelminthiques ne seraient pas recommandés en raison d'une possible aggravation des symptômes liée à la mort brutale des larves [22-33].

L'antihelminthique de choix serait l'albendazole en raison de sa plus forte biodisponibilité cérébrale.[18]

Les corticoïdes diminueraient la pression intracrânienne ainsi que la réaction inflammatoire liée à la mort des vers. Une cure de 2 semaines de prednisolone (0.5à1 mg/kg/j) soulagerait les céphalées sans diminuer la durée de l'affection [1-13-22-31-33].

La plupart des patients atteints d'une méningite à éosinophiles ne nécessitent pas de traitement spécifique et récupèrent complètement en 3 à 6 semaines.

Les séquelles de la maladie sont rares, et se caractérisent par des symptômes neurologiques (paresthésie, faiblesse cognitive ou déficits) qui peuvent persister pendant des mois.

Le taux de mortalité est inférieur à 1% chez l'adulte [21].

## **3 Observations**

Nous avons réalisé une étude rétrospective, nous avons recensé tous les cas de méningite à éosinophiles référencés au laboratoire du CHM entre janvier 2011 et mai 2013.

### 3.1 Cas cliniques

- *Cas N°1*

Bagdan K., un garçon de 2 ans est adressé par le médecin généraliste aux urgences de l'hôpital Mamoudzou de Mayotte en septembre 2011.

L'histoire de la maladie débute 3 semaines auparavant par un épisode fébrile associé à des maux de gorge. Après quelques jours de mieux, la fièvre réapparaît avec perte d'appétit et maux de tête.

L'enfant aurait alors consulté plusieurs médecins et reçu différents traitements antibiotiques, sans amélioration. Il consulte alors les urgences de Dzaoudzi sur Petite Terre.

L'examen clinique retrouve un enfant apyrétique, bien éveillé mais ronchon, légèrement hypotonique mais au comportement bien adapté. Il n'y a pas de syndrome méningé.

La biologie retrouve une hyperleucocytose avec 6% d'éosinophilie.

Les médecins concluent à une asthénie post infectieuse et l'enfant rentre à son domicile sans traitement.

Cependant bien qu'il se réalimente, il présente toujours des maux de tête et des myalgies.

Un nouveau bilan sanguin est alors réalisé, montrant une hyper éosinophilie sans syndrome inflammatoire. Le médecin consulté prescrit du Fluvermal.

Le père consulte internet et se souvient alors que son fils a joué avec des escargots trois semaines auparavant. Il consulte à nouveau et le médecin l'adresse au service des urgences de Mamoudzou pour suspicion d'angiostomylose.

A l'entrée, l'examen clinique est sans grande particularité et ne retrouve pas de syndrome méningé.

La recherche d'un paludisme est négative, l'ECBU est négative, la radio pulmonaire ne retrouve pas de foyer.

La ponction lombaire permet le diagnostic de méningite à éosinophiles et l'enfant est hospitalisé en pédiatrie.

Il bénéficiera d'un traitement par albendazol (Zentel) et corticoïde pendant 15 jours.

Le diagnostic d'angiostomylose est confirmé par les sérologies dans le sérum.

Le scanner cérébral est peu contributif. Il met en évidence toutefois une petite injection des vaisseaux méningés en regard du lobe temporal droit.

Une IRM est réalisée ultérieurement (2 mois après l'épisode). Elle met en évidence des micro-foyers hémorragiques bi-hémisphériques ainsi que de probables séquelles d'hémorragie méningée (iatrogène ?).

Au total l'enfant a été hospitalisé deux semaines. Il a récupéré sans séquelle et est entré à l'école cette année.



Résultats de la ponction lombaire :

	17 septembre 2011	22 septembre 2011
Glycorachie	2.20mmol/l	
Protéïnorachie	0.73g/l	
Aspect du LCR	Légèrement trouble	
Leucocytes	400/mm <sup>3</sup>	800
Poly. neutrophiles	5%	4%
Poly. éosinophiles	45%	50%
Lymphocytes	50%	44%
Hématies	30/mm <sup>3</sup>	20/mm <sup>3</sup>
Microbiologie	Cultures stériles	
Examen direct (coloration de Gram)	Absence de germes	

Résultats NFS

	5 septembre 2011	16 septembre 2011	22 septembre 2011
Hématies	4M150	4M240	3M81
Hémoglobine g/dL	11.7	11.4	10.7
Hématocrite %	32.70	34.9	30.3
VGM fl.	78.80	82	79.5
T.C.M.H pg/cellule	28.20	26	28.1
C.C.M.H g/dl	35.80	32.7	35.3
Leucocytes	14000	12500	19000
Poly. Neutro %	46	48	61.2
Poly. Eosino %	6	16	13.2
Poly. Baso %	0	0	1.1
Lymphocyte %	44	34	17.7
Monocyte %	4	2	6.8
Plaquettes	233000	379000	385000
CRP fl	9.90	négative	<5

Les sérologies *Angiostrongylus cantonensis* sont positives: le 29 septembre à 1/80

le 19 octobre à 1/320

Les sérologies cysticerose et toxocarose sont négatives.

- Cas N°2 :

Karim B., un garçon d'origine comorienne de 14 ans est adressé au service des urgences de l'hôpital de Mamoudzou pour suspicion de syndrome méningé en avril 2011.

Ses antécédents sont marqués par un retard psychomoteur acquis à l'âge d'un mois, dans les suites d'une méningo-ventriculite à *Haemophilus influenzae*, dont il garde des séquelles (convulsions et d'hémiplégie gauche).

Depuis sept jours, le patient présentait de la fièvre et des troubles du comportement. Il était algique à la mobilisation.

Quinze jours plus tôt, il avait été hospitalisé pendant 4 jours à l'UHCD pour douleurs abdominales dans un contexte fébrile avec vomissement.

Hospitalisé en pédiatrie, le diagnostic de toxocarose a été posé. Il a reçu un traitement par albendazole (Zentel) pendant 15 jours

Résultats de la ponction lombaire :

	21 avril 2011
Glycorachie	2.70mmol/l
Protéïnorachie	0.80g/l
Aspect du LCR	Légèrement trouble
Leucocytes	750/mm <sup>3</sup>
Poly. Neutrophiles	0%
Poly. Eosinophiles	40%
Lymphocytes	60%
Hématies	2/mm <sup>3</sup>
Microbiologie	Cultures stériles
Examen direct (coloration de Gram)	Absence de germes

Résultats de la NFS :

	21 avril 2011
Hématies	4M820
Hémoglobine g/dl	13.5
Hématocrite %	39.7
VGM fl	82.4
T.C.M.H g/cellule	28.
C.C.M.H g/dl	34
Leucocytes	16900
Poly. Neutro %	43.3
Poly. Eosino %	31.2
Poly. Baso %	0.4
Lymphocyte %	14.2
Monocyte %	10.9
Plaquettes	471000
CRP mg/l	7.1

Les sérologies toxocaroses, les 26 avril et 20 mai sont positives, résultats confirmés par un western blot positif.

La sérologie *Angiostrogylus cantonensis* du 20 mai 2011 est négative.

La recherche de *plasmodium* est négative.

- *Cas N°3 :*

Ambdil-Kamal M., un nourrisson de 10 mois consulte au service des urgences pour fièvre depuis la veille et hémiparésie droite depuis le matin.

L'examen retrouve un syndrome méningé et une hypotonie des membres du coté droit (supérieur et inférieur).

Le scanner cérébral est sans particularité.

La radio pulmonaire montre une pneumopathie du lobe supérieur droit.

La ponction lombaire permet le diagnostic de méningite à éosinophiles et l'enfant est hospitalisé en pédiatrie.

Résultats de la ponction lombaire :

	11 mai 2011
Glycorachie	2.10mmol/l
Protéïnorachie	0.77g/l
Aspect du LCR	Légèrement trouble
Leucocytes	650/mm <sup>3</sup>
Poly. neutrophiles	14%
Poly. éosinophiles	76%
Lymphocytes	10%
Hématies	40/mm <sup>3</sup>
Microbiologie	Cultures stériles
Examen direct (coloration de Gram)	Absence de germes

La sérologie *Angiostrogylus cantonensis*, le 13 mai 2011 est négative.

La recherche de *plasmodium* est négative.

- *Cas N°4 :*

Islah A., un enfant de 21 mois est vu une première fois aux services des urgences du CHM pour douleurs abdominales, fièvre et vomissements. Il rentre à son domicile après la prescription d'un traitement symptomatique.

Il est revu 4 jours plus tard pour suspicion de syndrome méningé.

L'examen clinique retrouve un enfant fébrile et geignard, et objective une diplopie de l'œil gauche.

La ponction lombaire permet le diagnostic de méningite à éosinophiles et l'enfant est hospitalisé en pédiatrie.

Résultats de la ponction lombaire :

	13 octobre 2012	18 octobre 2012
Glycorachie	2.80mmol/l	
Protéïnorachie	0.28g/l	
Aspect du LCR	Légèrement trouble	
Leucocytes	213/mm <sup>3</sup>	154
Poly. neutrophiles	2%	6%
Poly. éosinophiles	12%	16%
Poly. basophiles	0%	1%
Lymphocytes	82%	65%
Monocytes	1%	12%
Hématies	60/mm <sup>3</sup>	5/mm <sup>3</sup>
Microbiologie	Cultures stériles	
Examen direct (coloration de Gram)	Absence de germes	

La sérologie *Angyostrongylus cantonensis* n'a pas été réalisée.

La recherche de *plasmodium* est négative.

#### Cas N°5

Krysdji M., un nourrisson de 13 mois est adressé par le dispensaire au service des urgences du CHM pour fièvre avec selles glaireuses.

L'histoire de la maladie débute 10 jours auparavant par une chute dans un bassin d'eau. Sa mère rapporte l'apparition alors des troubles de la marche et du comportement. Un épisode fébrile survient une semaine après puis une diarrhée.

L'examen au dispensaire retrouve une hyperthermie, des troubles oculomoteurs et des troubles de la conscience. Il est alors transféré au service des urgences du CHM.

A son arrivée, Krysdji est geignard, somnolent. Il présente un trouble oculomoteur transitoire (strabisme convergent).

La ponction lombaire permet le diagnostic de méningite à éosinophiles et l'enfant est hospitalisé en pédiatrie.

## Résultats de la ponction lombaire

	09 mars 2012
Glycorachie	1.7 mmol/l
Protéïnorachie	1.00g/l
Aspect du LCR	Légèrement trouble
Leucocytes	900/mm <sup>3</sup>
Poly. neutrophiles	3%
Poly. éosinophiles	56%
Poly. basophiles	0%
Lymphocytes	19%
Monocytes	22%
Hématies	200/mm <sup>3</sup>
Microbiologie	Cultures stériles
Examen direct (coloration de Gram)	Absence de germes

## Resultats NFS

	9 mars 2012
Hématies	4M31
Hémoglobine g/dl	9.9
Hématocrite %	30.3
VGM fl	70.3
T.C.M.H g/cellule	23
C.C.M.H g/dl	32.7
Leucocytes	12100
Poly. Neutro %	48
Poly. Eosino %	8
Poly. Baso %	0
Lymphocyte %	38
Monocyte %	6
Plaquettes	344000
CRP mg/l	39.8

Les sérologies toxocarose et salmonelles sont négatives.

La sérologie *Angiostrongylus cantonensis* n'a pas été réalisée.

La recherche de *plasmodium* est négative.

Tableau récapitulatif

	Cas 1 Bagdan K.	Cas 2 Karim B.	Cas 3 Amdil-Kamal M.	Cas Islahe A	Cas N°5 Krysdji M.
âge	24 mois	14 ans	10 mois	21 mois	13 mois
Origine géographique	Mayotte	Comores	Mayotte	Mayotte	Mayotte
Lieu d'habitation	Petite terre Labatoire	Grande terre Kawanie	Grande terre Bandraboua	Grande terre Mamoudzou	Grande terre Bandraboua
Durée des symptômes	5 semaines	4 semaines	Non précisé	Non précisé	Non précisé
Principaux symptômes	Episode fébrile Maux de tête asthénie	Episode fébrile Douleurs abdominales avec vomissements	Fièvre Hémi-parésie droite	Fièvre Douleurs abdominales avec vomissements	Fièvre Diarrhées glaireuses
Principaux signes cliniques			Syndrome méningé	Syndrome méningé Diplopie œil gauche	Troubles de la marche Strabisme convergent
Eosinophilie sanguine	2500/mm3 13.2%	5300/mm3 31.2%	8400/mm3 31.8%	2000/mm3 17.3%	1000/mm3 8%
Leucocytes dans le LCR	400/mm3	750/mm3	650/mm3	213/mm3	900/mm3
Eosinophilie rachidienne	180/mm3 45%	300/mm3 40%	494/mm3 76%	25/mm3 12%	504/mm3 56%
Protéïnorachie	0.73g/l	0.80g/l	0.77g/l	0.28g/l	1g /l
Sérologie toxocarose	négative	Positive confirmé par westen blot	négative	Non précisée	négative
Scanner	Petite injection des vaisseaux meninges en regard du lobe temporal droit	Non précisé	Pas de signe de méningite ni d'hypertension intracrânienne	Non précisé	Non précisé
IRM	Micro foyers hémorragiques bi - hémisphériques Probables séquelles d'hémorragies méningées	Non précisé	Non précisé	Non précisé	Non précisé
Traitement	Albendazol et corticoïdes	albendazol	Non précisé	Non précisé	Non précisé

## 3.2 Résultat de l'étude par PCR :

### 3.2.1 Matériel et méthode :

Il s'agit d'une méthode de PCR en temps réel.

Le laboratoire du CHM utilise :

- Pour l'extraction de l'ADN, l'automate MagNa Pure Compact (Roche Clinical Diagnostics). L'extraction sur 400 microlitres de LCR avec MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit 1 (Réf 03 730 964 001)[29] et obtention de 50 microlitres d'éluât.
- Pour l'amplification, le système de PCR en temps réel « Light Cycler 480 » (Roche Clinical Diagnostics), en utilisant les amorces et les sondes mises au point par le CDC [4-12,15,16]. Les 3 étapes de la PCR (dénaturation, hybridation et élongation) sont

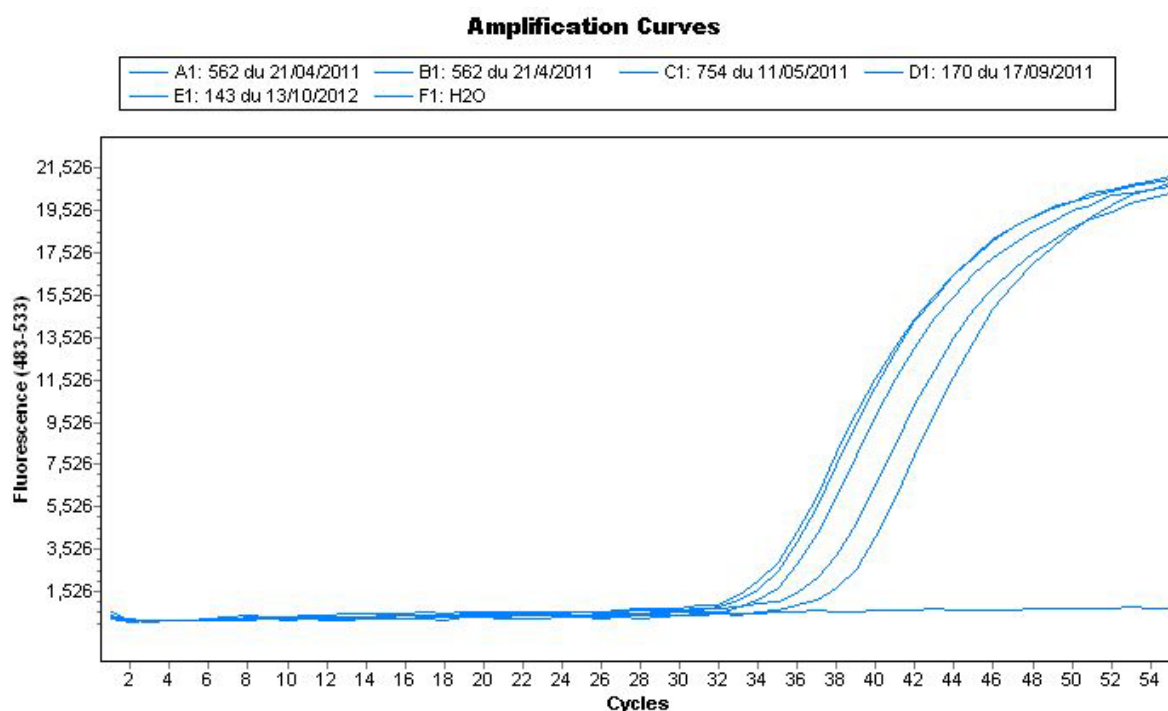
répétées à chaque cycle. Cinquante cinq cycles sont réalisés. Les modalités sont rapportées en Annexe

### 3.2.2 Résultats

Les quatre échantillons testés sont positifs avec un cycle seuil significatif.

Cas	courbe	Ct
Cas 1 Bagdan K	D1	35.88
Cas 2 Karim B.	A1	32.99
Cas 2 Karim B.	B1	30.48
Cas 3 Ambdil-Kamal M.	C1	31.93
Cas 4 Islahe A	E1	32.78

Le cas N°5 sera exploré en PCR ultérieurement.



## 4 Discussion :

### 4.1 Epidémiologie et mode de contamination à Mayotte

Dans le reste du monde, la revue de la littérature décrit essentiellement des cas chez des adultes [8]. En Thaïlande par exemple ou l'incidence en 2007 est de 0,78%, il s'agit essentiellement de cas adultes, localisés géographiquement tout au long de l'année. A Mayotte l'incidence est de 0.8%, les cas sont sporadiques, sur tout le territoire principalement à la saison des pluies. Les publications rapporte des

des affections de nourrissons à l'exception de notre cas N°2 (un garçon de 14 ans) et d'une publication concernant 3 adultes (âgés de 18 à 45 ans)[31]. Il n'y a pas de publication concernant des enfants de moins de 6 mois.

Y a-t-il un biais de recrutement, où seul les cas graves seraient diagnostiqués ?

L'escargot terrestre géant d'Afrique *Achatina fulicata* (photo 1) est un hôte intermédiaire reconnu pour *Angiostrongylus cantonensis*. Aucune étude n'a fait la preuve de l'infestation d'*Achatina fulicata* à Mayotte. On peut cependant suspecter la responsabilité de cet escargot dans la survenue des cas d'angiostrongylose à Mayotte.

Les nourrissons se contamineraient par la manipulation et /ou la succion d'*Achatina fulicata* ou de végétaux pollués par les déjections d'*Achatina fulica*.

Les conditions de vie mahoraises, souvent défavorables, la saison des pluies propice aux escargots, constituent des facteurs de risque supplémentaire pour les nourrissons vivants au contact du milieu naturel. [12] Enfin, *Achatina fulica* est utilisé dans la médecine traditionnelle mahoraise : il est tout d'abord broyé, le jus ainsi recueilli est utilisé dans le traitement de l'asthme, où il est avalé puis vomé par le patient. Il peut également être introduit dans le conduit auditif dans le traitement des otites, ou appliquer sur la peau pour permettre une bonne cicatrisation. Ces propos ont été recueillis auprès du «*fundi* » (le tradithérapeute), de la ville de Sada.[5]

Rappelons qu'en Asie, c'est la contamination de crustacés mal cuits qui est la source de cette maladie.[7] Les mahorais consomment les aliments bien cuits, ne mangent pas d'escargots crus et rares sont ceux qui consomment les hôtes paraténiques intervenant dans le cycle de *Angiostrongylus cantonensis*, tels les crabes des mangroves ou les crevettes d'eau douce (par exemple). Les mahorais ne mangent pas des êtres vivants à la fois sur terre et dans la mer comme les crabes qui représentent des *djinnns* (c'est à dire des mauvais esprits). Une contamination lors du repas par l'ingestion d'aliments contaminés ou par l'eau infestée, paraît moins probable dans la mesure où il y a peu, sinon pas de cas touchant les adultes. [5]

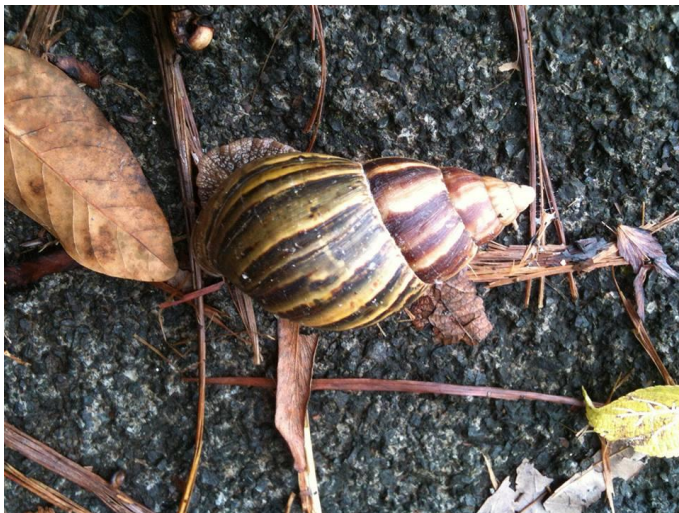


Photo 1 : l'escargot géant d'Afrique *Achatina fulica*

Notre cas N°2 est trompeur, mais cet adolescent de 14 ans présente des troubles psychomoteurs acquis depuis le premier mois de vie. Il passe du temps sur le sol et joue avec les escargots.



## 4.2 Clinique :

Dans notre série, la maladie s'est principalement manifestée par des signes peu spécifiques : troubles digestifs, maux de tête.

L'hyperthermie et les troubles neurologiques ne sont pas systématiques.

On note un retard du diagnostic pour 3 des 5 observations. Le tableau clinique initial était trompeur : maux de gorge (cas N°1), troubles digestifs (cas N°2 et 4). La ponction lombaire est réalisée secondairement lors d'une seconde consultation pour aggravation.

Le cas N°3 présente d'emblé des troubles neurologiques, le diagnostic de méningite à éosinophiles est fait précocement.

Dans d'autres séries, concernant des enfants de 7 à 12 mois, le tableau neurologique à type de méningo-encéphalite est prédominant [5-12].

Des décès ont été rapportés [1-11-33].

L'angiostrongylose est plus grave chez l'enfant.

Plusieurs hypothèses sont évoquées. La sévérité de l'infection serait liée à la quantité de larves ingérées et le mode de contamination des nourrissons serait à l'origine d'une plus forte infestation. La charge parasitaire par rapport à la surface corporelle est plus élevée chez le nourrisson, leur système immunitaire est encore immature avec une barrière hémato-méningée perméable et enfin le trajet de la migration larvaire pour atteindre le SNC est plus court chez l'enfant. [18-33]

## 4.3 Examens paracliniques :

### 4.3.1 Les sérologies

Le test de référence est la détection des anticorps dirigés contre la protéine de 31 kDa par méthode ELISA. Ce test est disponible uniquement à l'université de Mahidol en Thaïlande[9]. Le CHM utilisait jusqu'en 2011 une technique par immunofluorescence indirecte, mais c'est une technique moins sensible. Les sérologies réalisées lors de la phase aiguë de la maladie peuvent être négatives (cas N°2 et N°3). La détection d'anticorps spécifique d'*Angiostrongylus cantonensis* est le plus souvent obtenue sur un sérum tardif. Dans 2 cas (cas N°4 et N°5), les sérologies n'ont pu être réalisées faute de réactif.

### 4.3.2 La biologie moléculaire

Le résultat d'une PCR dépend du choix du gène à amplifier, des amorces, de la quantité de LCR utilisées.

Dans notre étude, nous avons utilisé les amorces du CDC : AngioF1674 (5'-GTCGTAACAAGGTATCTGTAGGTG-3') et 58SR4 (5'-TAGCTGCGTTTTTCATCGATA-3') [26], commandées chez Sigma aldrich, et utilisé 400 microlitres de LCR pour la purification de l'ADN.

Dans la littérature d'autres amorces ont été utilisées :

Etudes	Amorces	Sujets	Résultats
Eamsobhana [9]	AC1: 5'CTCGGCTTAATCTTTGCGAC-3' AC2: 5'AACGAGCGGCAGTAGAAAA-3'	Humains 10 cas	4 positifs sur 10 (1)
Hollingsworth [14]	AngioF1: 5'ATCATAAACCTTTTTTCGAGTATCCAG-3' AngioR1 : 5'TCTCGAGACAGCTCAGTCCCGG-3'	limaces	Cartographie de l'infestation par <i>Angiostrongylus cantonensis</i> à Hawaï'i
Kwon [18]	AngioF1674 : 5'GTCGTAACAAGGTATCTGTAGGTG-3' 58SR4 : 5'TAGCTGCGTTTTTCATCGATA-3'	Humain 1 cas	Négatif sur sérum précoce Positif sur sérum tardif
Qvarnstrom [26]	AngioF1674 : 5'GTCGTAACAAGGTATCTGTAGGTG-3' 58SR4 : 5'TAGCTGCGTTTTTCATCGATA-3'	mollusques	Etude valide et spécificité des amorces

- (1) Les auteurs supposent que les 6 résultats négatifs sont des faux négatifs par manque de sensibilité de leurs amorces

#### 4.4 Diagnostics différentiels

Le diagnostic différentiel d'une angiostrongylose s'appuie sur trois facteurs principaux : les éléments cliniques, les antécédents d'exposition et les tests sérologiques [30].

		Angiostrongylose	Gnathotomiase	Toxocarose	Neurocysticercose
Eléments cliniques	Symptômes présents	Maux de tête aigus Troubles visuels Asthénie	Faiblesses musculaires Gonflements migrateurs Douleurs radiculaires Hémorragie méningée	Atteinte neurologique rare Céphalées, Convulsions	Maux de tête chroniques Syndrome méningé rare
	IRM cérébrale	Peu spécifique : Petits nodules linéaires en région periventriculaire	Spécifiques : Hémorragie intra cérébrale Hématome sous dural	Granulomes Lésions de vascularite	calcifications
Antécédents d'exposition	vecteurs	Escargots /limaces	Volailles crues/poissons	Contact avec chiens ou chats	Porc
	géographie	Sud est asiatique, océan pacifique, océan indien, caraïbes	Sud est asiatique (Thaïlande) bassin pacifique, Amérique du sud		
Test sérologiques		Plus disponible à Mayotte	Pas disponible à Mayotte	oui	oui

- Gnathotomiase

C'est dans le monde, le diagnostic différentiel le plus fréquent de l'angiostrongylose. Cette pathologie n'a pas encore été décrite à Mayotte.

- Toxocarose

Une infection à *Toxocara cati* est exceptionnelle chez l'homme [10]. La forme neurologique de *Toxocara canis* est rare, peu de cas ont été décrits dans la littérature. [10] Le cas N°3 témoigne de la possibilité d'une double contamination. Les résultats sérologiques (toxocarose positif et

angiostrongylose négatif) ont permis le diagnostic de toxocarose. Cependant, les éléments cliniques ne permettent pas de différencier une toxocarose d'une angiostrongylose. Ce diagnostic est infirmé par l'étude en biologie moléculaire faite secondairement. Chez cet enfant, les troubles neurologiques sont probablement liés à la présence de larves L3 d'*Angiostrongylus cantonensis* dans le SNC. [10-28]

- Neurocysticercose

Très présente dans l'île voisine de Madagascar, cette maladie n'est pas décrite à Mayotte, probablement parce que la population est en grande majorité de religion islamique et qu'il n'y a pas de porc sur l'île.

## 5 Conclusions

L'angiostrongylose est la première cause de méningite à éosinophiles à Mayotte. La maladie touche essentiellement les nourrissons, son diagnostic est avant tout clinique. Il doit être suspecté devant toute méningite à éosinophiles.

Les sérologies n'étant plus disponibles à Mayotte, le développement de test de PCR en temps réel pourrait permettre un diagnostic de certitude. Les premiers résultats sont encourageants. Le laboratoire du CHM poursuit cette étude et devrait réaliser prochainement l'étude de huit autres échantillons de LCR

Par ailleurs, de futures études de biologie moléculaire sur les escargots permettraient d'incriminer de façon plus certaine l'achantine dans la transmission de cette maladie.

## 6 Annexes

### Modalité de l'amplification

- La dénaturation :  
A 95°, les liaisons hydrogènes qui maintiennent ensemble la double hélice d'ADN sont rompues et 2 brins simples sont obtenus
- L'hybridation :  
La température est abaissée à 60°C. Les amorces (courtes séquences complémentaires d'ADN) peuvent se fixer aux brins d'ADN.  
C'est au cours de cette étape que s'exprime la fluorescence des sondes (figure).

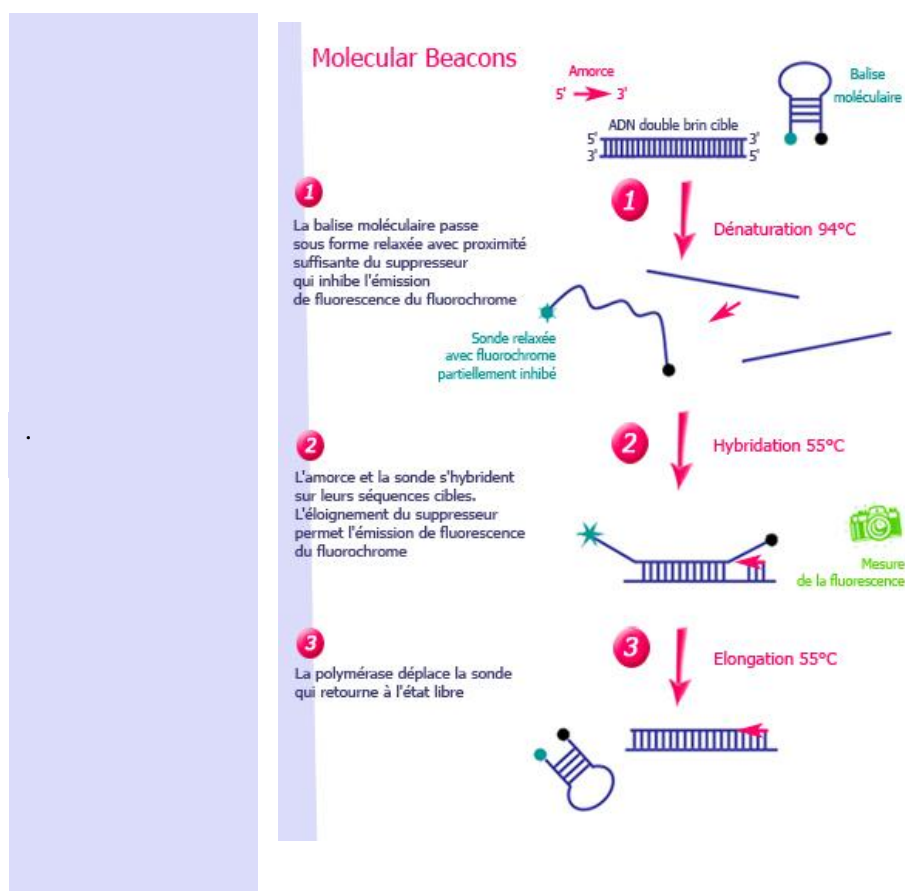


Figure : Sonde Beacons

Il s'agit de sondes d'hybridation en épingle à cheveux portant 2 fluorochromes, un reporter et un quencher. Etant repliées à l'état libre, elles n'émettent pas de fluorescence en raison de la proximité des 2 fluorochromes. Lorsque les sondes sont hybridées, l'éloignement suffisant des 2 fluorochromes libère le reporter permettant ainsi l'émission d'une fluorescence. La lecture de la fluorescence se fait au moment de l'hybridation. Les sondes restent intactes en fin de réaction. Ces sondes présentent une grande spécificité permettant de détecter une variation de l'ordre de un nucléotide. [16]

- L'élongation :  
A 40°, la Taq polymérase se fixe aux amorces servant de point de départ et ajoute des désoxyribonucléotides afin de synthétiser le brin complémentaire d'ADN.

Aux cycles suivants, les fragments synthétisés aux cycles précédents servent à leur tour de matrice.



**ANGIO 14112013**

**Experiment**

Creation Date	14/11/2013 13:08:21	Last Modified Date	14/11/2013 15:02:04
Operator	System Admin	Owner	System Admin
Start Time	14/11/2013 13:12:38	End Time	14/11/2013 14:55:59
Run State	Completed	Software Version	LCS480 1.5.0.39
Macro		Macro Owner	
Macro Status			
Templates	lepto-Run Protocol	Plate ID	03607636
Test ID		Lot ID	
Color Comp ID			
Run Notes			

**Programs**

Program Name Amperase							
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
37	None	00:05:00	4,40		0	0	0

Program Name Pre-incubation							
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:05:00	4,40		0	0	0

Program Name Amplification							
Cycles	55	Analysis Mode	Quantification				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:10	4,40		0	0	0
60	Single	00:00:50	2,20		0	0	0

Program Name Cooling							
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
40	None	00:00:10	1,50		0	0	0

## 7 Bibliographie

- [1] Aubry P., *Angiostrongyloïdose nerveuse Actualités 2013*. Disponible sur le site: [http://medecinotropicale.free.fr/cours/angiostrongylose\\_nerveuse.pdf](http://medecinotropicale.free.fr/cours/angiostrongylose_nerveuse.pdf) (consulté le 11/11/13)
- [2] Casadevall M. et col. Meningite à éosinophiles liée à *Angiostrongylus canonensis*. Abstracts/la revue de médecine interne 30S (2009) S435-436
- [3] Centers for Disease Control and Prevention .parasites angiostrongyliasis [en ligne] disponible sur : <http://www.cdc.gov/parasites/angiostrongylus/> (consulté le 12/11/13)
- [4] Centers for Disease Control and Prevention <http://www.cdc.gov/laboratory/specimen-submission/cdc-lab-tests.pdf>
- [5] Chrisment A. Méningites à éosinophiles et Angiostrongyloïdose à Mayotte. These de médecine 2010 Bordeaux
- [6] S. Collot et col. Quantification par PCR en temps réel, technologie TaqMan et applications en virologie. virologie (2001 vol5 (6) .439-48
- [7] Cowie R. Biology, Systematics, Life Cycle, and Distribution of *Angiostrongylus cantonensis*, the Cause of Rat Lungworm Disease. Hawaii J Med Public Health. 2013 June ; vol 72 (6 Supp 2) 6-9
- [8] Eamsobhana P. Angiostrongyliasis in Thailand : Epidemiology and Laboratory Investigations. Hawaii J Med Public Health. 2013 June ; vol 72 (6 Supp 2) 28-32
- [9] P. Eamsobhana et col Molecular diagnosis of eosinophilic meningitis due to *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongyloidea) by polymerase chain reaction-DNA sequencing of cerebrospinal fluids of patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 2013 February ; Vol. 108(1): 116-118,
- [10] Eberthard O. Eosinophilic Meningomyelitis in toxocariasis : case report and review of the literature. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2005 ; 107 ;432-438
- [11] GRABER D, *et al.* - L'angiostrongylose chez le nourrisson à La Réunion et à Mayotte. A propos de 3 méningites à éosinophiles dont 1 radiculomyéloencéphalite fatale avec hydrocéphalie. *Arch Pediatr*, 1997, 4, 424-429
- [12] GRABER D, *et al* Formes graves de méningites à éosinophiles chez le nourrisson à Mayotte. A propos de 3 observations.
- [13] Graeff-Teixeira C, Arambura da Silva A C et Yoshimura K. 2009. Update on éosinophilie Meningoencephalitis and Its Clinical Relevance. *Clinical Microbiology Reviews* , 22 (2)p.322-348
- [14] Hollingsworth R. et col. Distribution of *Parmarion cf. martensi* (pumonata : Helicarionidae), a New Semi-Slug Pest on Hawai'i Island, and Its Potential as a Vector for Human Angiostrongyliasis . *Pacific Science* (2007), vol 61 n°4 :457-467

- [15]INSEE [en ligne] disponible sur : [http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref\\_id=19214](http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref_id=19214) (consulté le 12/11/2012)
- [16]Institut Louis Malardé [ en ligne] disponible sur :<http://www.ilm.pf/PCRtempsreel> (consulté le 19/10/2013)
- [17]Jarvi S.et col.Quantitative PCR estimates *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm) infection levels in semi-slugs (*Parmarion martensi*) Molecularand BiochemicalParasitology 185 (2012)174-176
- [18]Kwon E. et col. A Severe Case of Angiostrongylus Eosinophilic Meningitis whit Encephalitis and Neurologic Sequelea in Hawai'i, Hawaii J Med Public Health. 2013 June ; vol 72 (6 Supp 2) 41-45
- [19]Li Z-Y. et col.Cloning and characterizationof a novel gene encoding 16kDa (Ac16) from *Angiostrogylus cantonensis* . Parasitol Res (2012) 110 ;2145-2153
- [20]Lima et col. Alicantadiseaseat Recife,Brazil :Angyostrogylus cantonensis ; Arq Neuropsiquiatr 2009 ;67 (4)1093-1096
- [21]Lo Re V, GLuckman S-J. Eosinophilic Meningitis.2003. Am J Med 114 ,217-223
- [22]Murphy et col. Clinical aspect of Eosinophilic Meningitis and Meningoencephalitis caused by *Angiostongylus cantonensis*, the Rat Lungworm Hawaii J Med Public Health. 2013 June ; vol 72 (6 Supp 2) 35-40
- [23]Poitras E., Houde A. La PCR en temps réel : principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2002 Dec, 2(2): 2-11.
- [24]Portail de l'état Mayotte [en ligne] disponible sur : <http://www.mayotte.pref.gouv.fr/Decouvrir-Mayotte/Geographie> (consulté le 12/11/13)
- [25]Portail de l'état Mayotte [en ligne] disponible sur : <http://www.mayotte.pref.gouv.fr/Les-Actions-de-l-Etat/Sante-et-Protection-sociale> (consulté le 12/11/13)
- [26] Qvarnstrom Y. et col Improved Molecular Detection of *Angiostrongylus cantonensis* in Mollusks and Other Environmental Samples with a Species-Specific Internal Transcribed Spacer 1-Based TaqMan Assay . Appl Environ Microbiol. 2010 August; 76(15): 5287–5289
- [27] Qvarnstrom Y. et col PCR-Based Detection of *Angiostrongylus cantonensis* in Tissue and Mucus Secretions from Molluscan Hosts. Appl Environ Microbiol. 2007 March; 73(5): 1415–1419.
- [28]Robinson et col. Meningo-radiculite à *Toxocara canis* RevNeurol (Paris) 2001 ;158 : 3 ,351-353
- [29] Roche Clinical Diagnostics. MagNa Compact Nucleid Acid Isolation Kit I –large volume [en ligne] , consulté le (15/11/2013)  
[https://cssportal.roche.com/LFR\\_PublicDocs/ras/03730972001\\_en\\_06.pdf](https://cssportal.roche.com/LFR_PublicDocs/ras/03730972001_en_06.pdf)
- [30] Senthong V. et col. Differential Diagnosis of CNS Angiostrongyliasis: A Short Review. Hawaii J Med Public Health. 2013 June ; vol 72 (6 Supp 2) 52-54

[31]Souvignet et col. Méningites à éosinophiles et angiostrongylose aux Comores, une réalité à ne pas sous estimer. A propos de six nouveau cas. Disponible sur le site Médecine Tropicale : <http://medecinetropicale.free.fr/spe/souvignet.htm> ,consulté le 24/11/2013

[32] Thaenkham et col.Populatio structure of Angiostrongylus cantonensis(nematoda :metastrongylidae) in Thailandbased on PCr-RAPD markers. Southeast Asian J Trop Med Public Health, may 2012; 43 (3) 567-573

[33] Tseng Y-T et col. Clinical manifestations of eosinophilic meningitis caused by Angiostrongylus cantonensis: 18 years'experience in a medical center in southern. Taiwan. Journal of Microbiology, Immunology and Infection (2011) 44, 382—389

[34]Wang Q.P. et col. Human Angiostronglyasis. The Lancet Infectious Diseases ; 2008 ,8 (10) 621-630

[35] P. Wilkins PhD; et col.The Current Status of Laboratory Diagnosis of Angiostrongylus cantonensis Infections in Humans Using Serologic and Molecular Methods. Hawaii J Med Public Health. 2013 June ; vol 72 (6 Supp 2), 55-56