



Cryptosporidiose : aspects actuels : cryptosporidiose et sida : étude de 30 cas

Pierre Ferrazzi

► To cite this version:

Pierre Ferrazzi. Cryptosporidiose : aspects actuels : cryptosporidiose et sida : étude de 30 cas. Sciences pharmaceutiques. 1996. dumas-01734844

HAL Id: dumas-01734844

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01734844>

Submitted on 15 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



1^{er} exemplaire

TE Joseph FOURIER - GRENOBLE I
Sciences Technologie Médecine

U.F.R. de PHARMACIE

Domaine de la Merci - LA TRONCHE

ANNEE : 1996

N° d'ORDRE : 7040

CRYPTOSPORIDIOSE

ASPECTS ACTUELS

CRYPTOSPORIDIOSE ET SIDA : ETUDE DE 30 CAS

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

M. Pierre FERRAZZI

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 30 Octobre 1996
Devant :

Madame le Professeur R. GRILLOT

Madame le Docteur C. PINEL

Madame le Docteur P. LECLERCQ

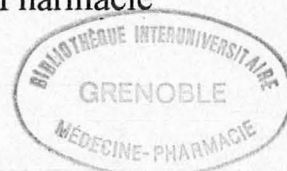
Madame le Docteur M.C. ALBERTO-GONDOUIN

Présidente du jury

Docteur en Pharmacie

Docteur en Médecine

Docteur en Pharmacie



UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I
Sciences Technologie Médecine

U.F.R. de PHARMACIE

Domaine de la Merci - LA TRONCHE

ANNEE : 1996

N° d'ORDRE :

CRYPTOSPORIDIOSE

ASPECTS ACTUELS

CRYPTOSPORIDIOSE ET SIDA : ETUDE DE 30 CAS

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

M. Pierre FERRAZZI

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 30 Octobre 1996

Devant :

Madame le Professeur R. GRILLOT

Madame le Docteur C. PINEL

Madame le Docteur P. LECLERCQ

Madame le Docteur M.C. ALBERTO-GONDOUIN

Présidente du jury

Docteur en Pharmacie

Docteur en Médecine

Docteur en Pharmacie

A Madame le Professeur R. GRILLOT.

Elle a su pendant toutes nos études nous faire partager sa passion pour la parasitologie. Elle est à l'origine de ce travail clinique peu ordinaire pour un pharmacien officinal et nous l'en remercions vivement.

Qu'elle reçoive ici toute notre gratitude.

A Madame le Docteur C. PINEL.

Elle nous a guidé dans ce travail avec toute sa gentillesse et sa disponibilité.

Que cet ouvrage lui témoigne toute notre reconnaissance.

A Madame le Docteur P. LECLERC.

C'est l'"enthousiasme" de ses visites dans le Service de Maladies Infectieuses qui nous a permis de nous passionner pour cette pathologie complexe qu'est le SIDA.

En espérant que ce travail lui apporte quelque chose, qu'elle y trouve toute notre gratitude.

A Madame le Docteur M.C. ALBERTO-GONDOUIN.

Elle a su relever le défi de participer à ce jury dans les toutes dernières semaines avant ce jour d'Octobre.

Nous lui sommes gré d'avoir bien voulu juger ce travail.

Qu'elle reçoive ici tous nos remerciements.

A mes parents,

pour leur soutien et leur amour,

A Véronique, ma soeur,

qui, malgré elle, a toujours été un
exemple à suivre...

A Marine,

le plus beau bébé du monde...

A ma grand-mère,

A toute ma famille,

chère à mon coeur,

A tous mes ami(e)s,

trop nombreuses et nombreux
pour ne pas en oublier,

Et à toutes celles et ceux qui, n'étant plus là aujourd'hui, sont toujours
très présents dans mon esprit...

A tous MERCI....

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE I

Le parasite opportuniste Cryptosporidium parvum

1

PARTIE I : GENERALITES

2

INTRODUCTION

3

I- TAXONOMIE

3

II- CYCLE BIOLOGIQUE

4

II-1- La phase schizogonique ou phase asexuée

6

II-2- La phase gamogonique ou sporogonique ou sexuée

7

III- EPIDEMIOLOGIE

8

III-1- Prévalence

8

III-2- Modalités de la contamination humaine

8

III-2-1- Transmission de l'animal à l'homme

8

III-2-2- Transmission interhumaine

9

III-2-3- Transmission hydrique

9

III-2-4- Autres modalités de contamination

9

III-3- Facteurs favorisants

10

III-4- Porteurs asymptomatiques

10

IV- ASPECT CLINIQUE DE LA CRYPTOSPORIDIOSE

11

IV-1- Chez les patients immunocompétents

11

IV-2- Chez les patients immunodéprimés

11

V- PATHOGENIE

12

VI- REPONSE IMMUNITAIRE

13

VI-1- Rôle de l'immunité cellulaire (ou I.C.)

13

VI-2- Rôle de l'immunité humorale (ou I.H.)

14



VII-	<u>DIAGNOSTIC</u>	14
VII-1-	Diagnostic parasitologique	14
VII-2-	Diagnostic anatomopathologique	16
VII-3-	Diagnostic sérologique	17

PARTIE II : DIAGNOSTIC 18

I-	<u>METHODES DE CONCENTRATION</u>	20
I-1-	Description de la méthode de concentration au FEA	20
I-2-	Résultats obtenus	20
I-3-	Comment éviter les pertes	22
I-3-1-	Modifications apportées à la méthode FEA	22
I-3-2-	Comparaison de cette nouvelle technique à la méthode FEA classique	24
I-4-	Conclusion	25
II-	<u>MISE EN EVIDENCE DES OOCYSTES</u>	25
II-1-	Méthodes de coloration	25
II-1-1-	Coloration de ZIEHL-NIELSEN modifiée par Henriksen et Poblentz	26
II-1-1-1-	Résultats	26
II-1-1-2-	Diagnostic différentiel	26
II-1-1-3-	Précautions générales	27
II-1-2-	Coloration à l'auramine	27
II-1-3-	Techniques de confirmation de diagnostic	27
II-1-3-1-	Technique de Heine	27
II-1-3-2-	Technique de Köster	27
II-1-3-3-	Coloration au May-Grumwald-Giemsa	27
II-2-	Autre technique	28

PARTIE III : TRAITEMENT 29

I-	<u>QUELQUES MOLECULES ETUDIEES</u>	30
I-1-	La spiramycine	30
I-2-	Concernant d'autres molécules	31
I-2-1-	Dérivé de l'acétonitrile de benzène : le diclazuril	31

1-2-2-	Le létrazuril (apparenté au diclazuril)	31
II-	<u>ETUDES IMMUNOLOGIQUES</u>	31
III-	<u>LA PAROMOMYCINE DANS LE TRAITEMENT DE LA CRYPTOSPORIDIOSE DU SIDA</u>	32
III-1-	Le choix des malades participant à l'étude	32
III-2-	Méthodologie	33
III-3-	Résultats obtenus	33
III-3-1-	La population de l'étude	33
III-3-2-	Concernant l'excrétion des oocystes	34
III-3-3-	Fréquence, volume et aspect des selles	35
III-4-	Conclusions	35

CHAPITRE II

	Cryptosporidiose et VIH : Physiopathologie	37
I-	<u>INTRODUCTION</u>	38
II-	<u>SITUATION DES PATIENTS DANS CHACUNE DES ETUDES</u>	39
II-1-	Dans l'étude américaine numéro 1 (ou EA1)	39
II-2-	Dans l'étude française (ou EF)	39
II-3-	Dans l'étude américaine numéro 2 (ou EA2)	39
III-	<u>LES OBSERVATIONS OBTENUES</u>	40
III-1-	Dans l'étude EA1	40
III-1-1-	Résultats de la quantification des oocystes	40
III-1-2-	Effets de la paromomycine sur l'excrétion des oocystes	42
III-1-3-	Limites de la quantification des oocystes	42
III-2-	Dans l'étude EF	43
III-2-1-	Résultats de la comparaison	43
III-2-2-	Intérêts de cette étude EF	44
III-3-	Dans l'étude EA2	44
III-3-1-	Observations faites dans EA2	45
III-3-2-	Résultats de l'étude EA2	46

CHAPITRE III

Etude clinique	48
I- <u>INTRODUCTION</u>	49
II- <u>MATERIELS ET METHODES</u>	49
III- <u>RESULTATS</u>	51
III-1- Cryptosporidiose et infection par le VIH	51
III-2- SIDA et perte de poids	51
III-3- Cryptosporidiose et lymphocytes CD ₄	51
III-4- Cryptosporidiose et symptomatologie	52
III-4-1- Diarrhées	52
III-4-2- Diarrhées et recherche de parasite	52
III-4-3- Cryptosporidiose et cholangite	53
III-4-4- Cryptosporidiose et bilan hépatique	54
III-4-5- Cholangite et bilan hépatique	55
III-4-6- Cryptosporidiose et fièvre	55
III-4-7- Cryptosporidiose et traitement	55
IV- <u>DISCUSSION</u>	56
IV-1- Résultats de l'étude et données de la littérature	57
IV-2- Résultats de l'étude à propos de la cholangite sclérosante à <i>Cryptosporidium</i>	59
CONCLUSION	62
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	64
ANNEXES	68
GLOSSAIRE	84
BIBLIOGRAPHIE	86

CHAPITRE I

Le parasite opportuniste :
Cryptosporidium parvum

PARTIE I

GENERALITES

INTRODUCTION

La cryptosporidiose est une zoonose cosmopolite causée par des protozoaires appartenant à la sous-classe des coccidies et au genre *Cryptosporidium*, signifiant "spores cachées" en grec [30].

Le parasite se développe dans les microvillosités des cellules épithéliales intestinales ou les cellules respiratoires. Elle est très répandue dans le monde animal (mammifères, oiseaux, reptiles, poissons) et atteint surtout les animaux jeunes (veaux, chevreux) et par voie de conséquence, l'homme fréquemment en contact avec les animaux : fermiers, vétérinaires [21].

Décrite la première fois chez l'homme en 1976, elle est considérée jusqu'en 1980 comme une infection opportuniste rare [52]. La cryptosporidiose humaine est devenue un problème clinique préoccupant à partir des années 1980 par la fréquence et la gravité des manifestations digestives qu'elle provoque au cours du Syndrome d'Immuno-Déficience Acquis (SIDA) et par la chimiorésistance habituelle du parasite [7] [81].

I - TAXONOMIE

Le genre *Cryptosporidium* appartient à l'embranchement des Apicomplexa, classe des sporozoaires, sous-classe des Coccidia, ordre des Eucoccidia, sous-ordre des Elmeriina et famille des Cryptosporidiidae.

Comme ceux des autres sporozoaires, les stades invasifs de *Cryptosporidium* possèdent un ensemble d'organites antérieurs spécialisés [8] [18] [28] constituant le complexe apical, probablement impliqué dans l'invasion de la cellule hôte selon un mécanisme commun à tous les parasites de ce groupe [22].

Le genre *Cryptosporidium* est donc biologiquement proche des coccidies humaines (comme *Toxoplasma gondii*) ou d'autres sporozoaires d'intérêt médical (comme *Plasmodium spp.*).

Il existe plusieurs espèces du genre *Cryptosporidium* d'intérêt médical et vétérinaire (tableau 1)

Mais on admet actuellement que *Cryptosporidium parvum* est, parmi toutes les espèces identifiées de cryptosporidies, celle impliquée dans la

cryptosporidiose humaine, dont la principale manifestation clinique est une diarrhée aiguë [7] [81].

	Mammlfères		Oiseaux	
	<i>C. muris</i>	<i>C. parvum</i>	<i>C. meleagridis</i>	<i>C. baileyi</i>
Site privilégié de développement	estomac	Intestin grêle	Intestin (1/3 inférieur)	bourse de Fabricius . cloaque . voies aériennes . conjonctives
Pathogénicité	associé à une diarrhée modérée (bétail)	diarrhée aiguë	diarrhée	manifestations respiratoires
Oocystes :				
forme	ovale	sphérique/ovale	sphérique/ovale	ovale
taille (microns)	7,4 x 5,6	5 x 4,5	5,2 x 4,6	6,6 x 5

Tableau 1 : Principales espèces du genre *Cryptosporidium* d'intérêt médical et vétérinaire [7].

II- CYCLE BIOLOGIQUE

Le cycle biologique de *Cryptosporidium parvum* est monoxène direct (Tableau 2) [7].

A la différence des autres coccidies, ce cycle comprend deux phases : schizogonique et gamogonique (ou sporogonique).

Déroulement du cycle :

La contamination a lieu par voie digestive :

- par ingestion d'OOCYSTES (1) directement infectieux présents dans l'eau et les aliments souillés,
- directe chez les homosexuels,
- exceptionnellement par jetage nasal chez le personnel manipulant des animaux infestés,
- la contamination par les crachats n'est pas prouvée [21].

Après ouverture d'une suture de la coque, sous l'action de sels biliaires et d'enzymes protéolytiques [81], chaque oocyste libère quatre SPOROZOITES dans la lumière intestinale.

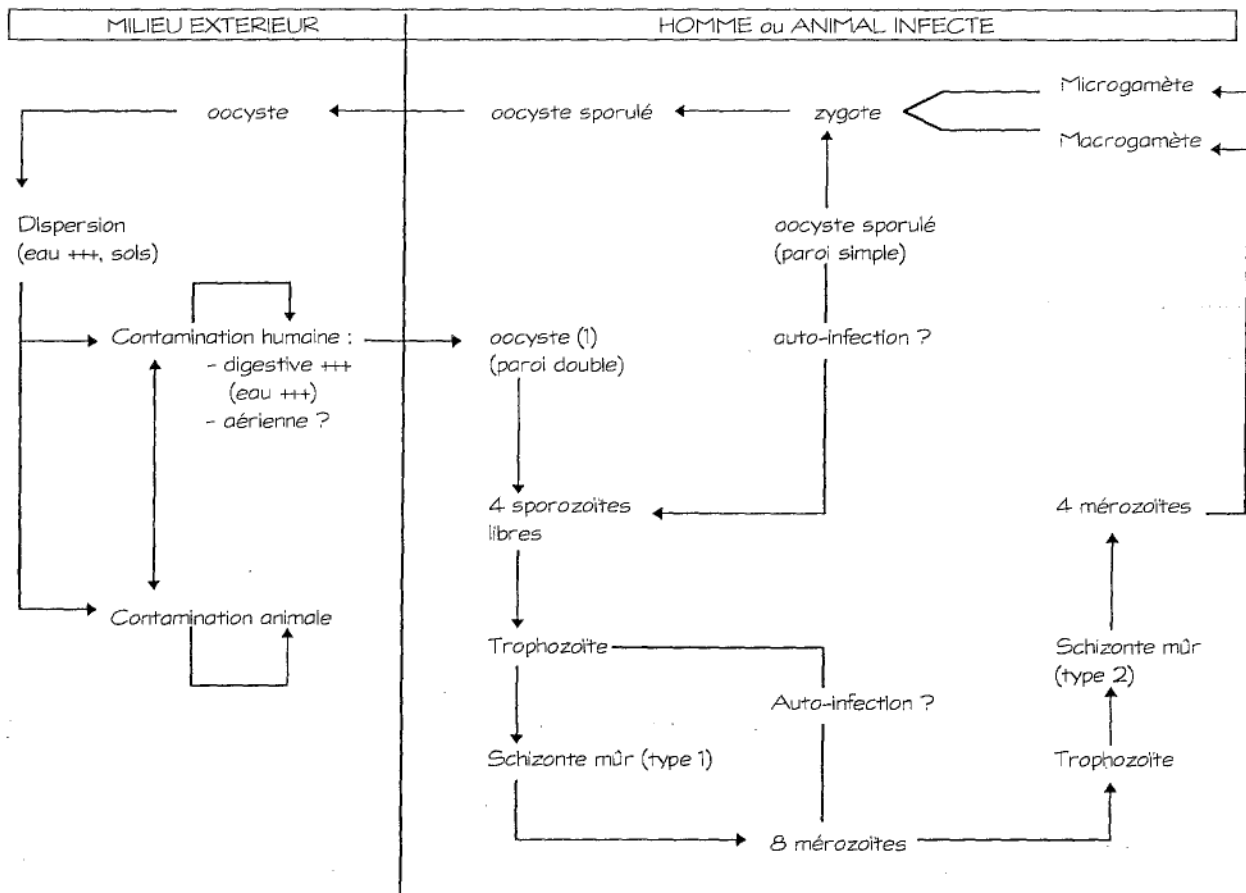


Tableau 2 : Cycle biologique de *Cryptosporidium parvum*

Comme pour les autres sporozoaires, le sporozoïte pénètre dans la cellule hôte par invagination de la membrane plasmique. C'est la phase d'internalisation dans la vacuole parasitophore (compartiment intracellulaire formé par l'invagination de la membrane microvillositaire) à l'apex entérocytaire (figure 1), séparée du cytoplasme par une membrane.

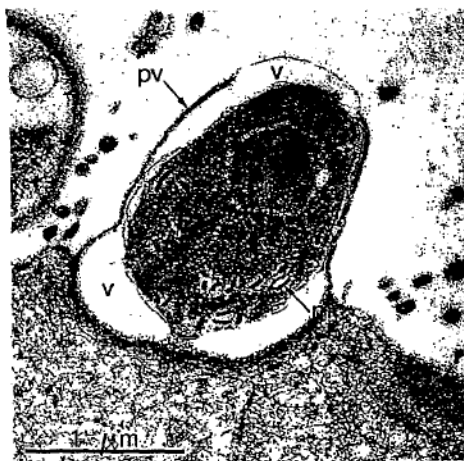


Figure 1 : Ultrastructure d'un trophozoïte après invasion de la région microvillositaire d'un entérocyte m=micronèmes (organites appartenant au complexe apical [8] [22]) ; n=noyau ; pv=paroi vacuolaire ; v=vacuole parasitophore.

La localisation superficielle de cette vacuole dans les microvillosités de la cellule hôte, est caractéristique du genre *Cryptosporidium*.

Le plasmalemme du jeune TROPHOZOITE fusionne alors avec la membrane de la cellule hôte internalisée pendant l'invasion. On obtient alors un complexe membranaire pentalaminaire. Puis les feuillettes de ce complexe, issus de la cellule hôte, disparaîtront pour laisser un contact direct entre le cytoplasme cellulaire et le parasite [81].

II-1- La phase schizogonique ou phase asexuée

La phase asexuée comprend deux types de générations schizogoniques successives qui aboutissent à des SCHIZONTES matures contenant chacun huit (type 1) puis quatre (type 2) MEROZOITES (Figure 2).

Ceux-ci, libérés dans la lumière intestinale par éclatement des schizontes, envahissent les microvillosités des entérocytes de la même façon que pour les sporozoïtes.

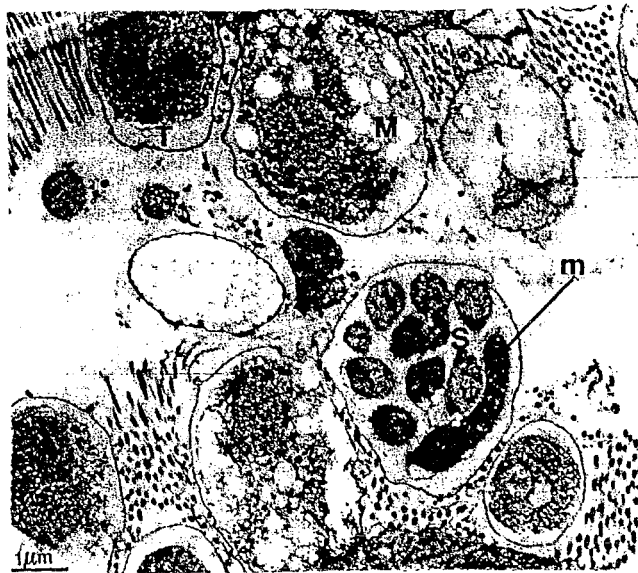


Figure 2 : Etude ultrastructurale d'une muqueuse intestinale parasitée par *Cryptosporidium parvum*. m=mérozoïte en coupe longitudinale ; M=macrogamète ; S=schizonte ; T=trophozoïte [7]

Un développement cyclique des mérozoïtes type 1 pourrait pérenniser l'infection.

Après invasion cellulaire, les mérozoïtes type 2 se transforment en stades sexués ou MICRO- et MACROGAMETES.

II-2- La phase gamogonique ou sporogonique ou sexuée

L'éclosion de ces mérozoïtes libère, pour chacun d'eux, jusqu'à seize MICROGAMETES non flagellés et MACROGAMETES uninucléées (Figure 2).

La fécondation a lieu par attachement puis pénétration d'un microgamète dans un macrogamète et donne un ZYGOTE.

Durant cette phase, le zygote élabore la coque du futur oocyste où se différencient quatre sporozoïtes.

Deux types d'oocystes sporulés (donc d'emblée infectieux) sont observés [9] :

- les uns à paroi double, éliminés dans le milieu extérieur avec les fèces, assurant la dissémination du parasite et la contamination humaine,
- les autres à paroi simple, qui pourraient excyter dans la lumière intestinale de l'hôte et contribuer à l'auto-infestation.

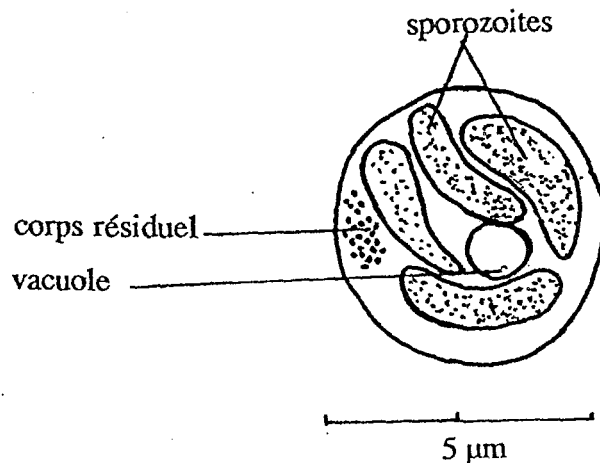


Figure 3 : Vue schématique d'un oocyste de *Cryptosporidium parvum* [23].

La durée totale du cycle, de la contamination digestive à la présence d'oocystes sporulés à la surface de la muqueuse, est d'environ trois jours [7] [81] et la période d'incubation dure de deux à quatorze jours.

III- EPIDEMIOLOGIE

III-1- Prévalence

En absence de déficit immunitaire, la fréquence d'isolement de *Cryptosporidium parvum* dans les fécès au cours d'épisodes de diarrhées est d'environ 1 à 3 % dans les pays industrialisés et de 5 à 20 % dans les pays en voie de développement [11].

Les enquêtes séroépidémiologiques soulignent la fréquence de la contamination : on a retrouvé des anticorps spécifiques chez 64 % des sujets vivant dans des conditions socio-économiques précaires dans de grandes agglomérations latino-américaines [78] et chez environ 30 % des nord-américains [79].

Au cours du SIDA, le chiffre global rapporté de 2 à 5 % de cryptosporidioses sous-estime certainement la réalité [17] [60]. En FRANCE, la cryptosporidiose est la pathologie indicatrice de SIDA dans 5,3 % des cas chez l'adulte [1] [11].

III-2- Modalités de la contamination humaine

La cryptosporidiose est transmise par les oocystes sporulés et infectieux dès leur excrétion fécale.

Ils perdent leur pouvoir infectieux en deux semaines à 15-20°C [81].

III-2-1- Transmission de l'animal à l'homme

Elle est illustrée par des cas de cryptosporidiose chez des éleveurs, les vétérinaires au contact de bovins infectés.

Les animaux d'élevage (veaux, porcs, chèvres, moutons) constituent le principal réservoir du parasite, les animaux domestiques (chats, chiens, rongeurs) étant beaucoup moins impliqués [7].

III-2-2- Transmission interhumaine

Elle est illustrée par des épidémies au niveau des crèches, au sein de la famille, par la transmission de malades à médecins. Elle est liée à l'excrétion fréquente d'oocystes par les patients infectés, et par la fréquence des porteurs.

III-2-3- Transmission hydrique

Des oocystes peuvent être isolés en aval de dispositifs de traitement des eaux usées, dans des rivières en particulier en aval d'aires d'élevages, ainsi que dans des eaux à usage domestique.

Des épidémies de cryptosporidiose à transmission hydrique ont été signalées aux Etats-Unis et en Grande-Bretagne [5].

La faible taille des oocystes (de diamètre d'environ 4,5 μm [81]) et leur résistance au chlore expliqueraient l'inefficacité des moyens de traitement des eaux [7]. Le pouvoir infectieux, malgré la résistance importante des oocystes, est cependant inactivé par :

- le formol à 10 %,
- l'ammoniac à 12 %,
- l'ozone à 1 mg/l pendant 5 min,
- la congélation à -20°C pendant trois jours,
- le chauffage à plus de 45°C pendant au moins 20 min [81].

III-2-4- Autres modalités de contamination [11]

On a signalé quelques rares cas de contamination par de la nourriture souillée par les oocystes (lait cru, saucisses, glace), par des habits souillés et par l'eau de piscine. Un seul cas de contamination par inhalation a été rapporté [40].

Un problème reste préoccupant : celui de la désinfection des endoscopes. La seule façon de détruire la totalité des oocystes contaminant l'appareillage serait l'immersion de l'outil dans le peroxyde d'hydrogène à 10% pendant 30 min. Mais ce traitement peut endommager l'enveloppe externe des endoscopes (annexe 1) [48]. Il est donc légitime de se poser la question d'une éventuelle contamination per-endoscopique.

Le rôle des mouches ou de certaines pratiques sexuelles (comme les rapports anobuccaux) est également évoqué [11].

La transmission interhumaine du parasite et sa résistance aux antiseptiques usuels permettent de classer la cryptosporidiose parmi les infections nosocomiales.

Quelques cas ont été rapportés chez des nouveaux-nés de mères infectées. Le passage transplacentaire de *Cryptosporidium parvum* n'a jamais pu être mis en évidence mais une contamination lors de l'accouchement ne peut être exclue [11].

III-3- Facteurs favorisants

La plupart des études effectuées soulignent la fréquence de la maladie chez l'enfant de 1 à 5 ans, insistant sur le rôle favorisant et aggravant de la malnutrition [63], d'infections virales ou d'une antibiothérapie préalable. Le rôle protecteur de l'allaitement maternel est signalé.

Par ailleurs, un second pic de fréquence a été mis en évidence entre 20 et 40 ans.

La prévalence varie également selon les régions, pouvant être liée au climat, au régime des pluies et aux activités d'élevage.

Enfin la cryptosporidiose est l'une des étiologies de la diarrhée du voyageur [7].

III-4- Porteurs asymptomatiques

La plupart des patients convalescents de cryptosporidiose éliminent le parasite de façon prolongée, et ce jusqu'à 21 jours après guérison clinique.

De plus, des oocystes ont été détectés dans le liquide duodénal de sujets diarrhéiques explorés par endoscopie pour troubles dyspeptiques [61].

A l'avenir la recherche d'antigènes solubles dans les selles [76] permettra peut-être le dépistage des porteurs asymptomatiques qui, bien qu'excrétant le parasite en faible quantité et de façon intermittente, constituent un danger sur le plan épidémiologique.

IV- ASPECT CLINIQUE DE LA CRYPTOSPORIDIOSE

IV-1- Chez les patients immunocompétents

C'est après une incubation de 3 à 12 jours qu'apparaît une diarrhée hydrique profuse, accompagnée ou non de douleurs abdominales, vomissements, fièvre, céphalées, myalgies, asthénie, anorexie, sueurs et perte de poids.

Plus rarement on note une diarrhée sanglante ou la présence de mucus dans les selles.

En général, chez le malade immunocompétent, les symptômes apparaissent de façon explosive [30] et ces manifestations disparaissent en moyenne en 3 à 15 jours. Mais chez certains patients, elles peuvent persister plus de deux semaines (notamment chez les enfants malnutris, présentant alors des troubles hydroélectrolytiques sévères nécessitant une réhydratation parentérale).

D'un point de vue biologique, on note :

- une augmentation importante des phosphatases alcalines (ou PAL) et de gamma-glutamyl-transférase (ou GGT),
- aucune perturbation de la bilirubine ni des transaminases.

On peut dire d'une façon générale que la sévérité et la durée de la maladie sont corrélées avec le degré d'immunodéficience [30].

IV-2- Chez les patients immunodéprimés

La symptomatologie est particulièrement fréquente, sévère et prolongée au cours du SIDA où elle contribue de façon indirecte au décès du patient.

Des formes a- ou pauci-symptomatiques ont cependant été observées au cours du SIDA.

Chez les patients porteurs du VIH, la maladie peut être relativement limitée quand le nombre de lymphocytes CD₄ est supérieur à 180/mm³ [24] [85].

La diarrhée de type cholériforme observée (jusqu'à 17 l/jour), accompagnée ou non de vomissements, de douleurs abdominales ou de fièvre,

est en effet prolongée pendant des semaines voire des mois avec un retentissement nutritionnel et hydroélectrolytique majeur : deshydratation, insuffisance rénale fonctionnelle, acidose métabolique, hypokaliémie, perte de poids (jusqu'à 50% du poids de base, qui peut apparaître à n'importe quel stade de la maladie et peut être soit le révélateur de l'immunodéficience, soit un facteur d'aggravation de la maladie) [15] [21].

Chez les malades infectés par le VIH, un traitement par les sulfamides dans le cadre de la prophylaxie de la pneumocystose ou de la toxoplasmose pourrait favoriser la survenue d'une cryptosporidiose.

Le second aspect de la cryptosporidiose des immunodéprimés est le risque de dissémination : des localisations sinusiennes, bronchiques et pulmonaires ont été rapportées [42]. Mais la fréquence d'isolement d'autres agents infectieux rend délicate l'interprétation du pouvoir pathogène de Cryptosporidium parvum au niveau des voies aériennes. La voie de dissémination serait apparemment hématogène [31].

Outre les malades atteints du SIDA, la cryptosporidiose est signalée également chez des patients transplantés, atteints de déficit en immunoglobulines, d'hémopathies, recevant un traitement immunosuppresseur ou une chimiothérapie anticancéreuse. Chez ces personnes, la restauration du système immunitaire permet le contrôle de l'infection.

V- PATHOGENIE

Le rôle pathogène de *Cryptosporidium* n'est pas encore aujourd'hui très bien connu.

Il apparaîtrait cependant, d'après des études récentes [12], que le parasite perturberait les échanges ioniques, notamment du sodium et du chlore, au niveau de l'intestin grêle.

La diarrhée de type sécrétoire provoquée aurait comme origine, entre autres, une augmentation de la différence de potentiel au niveau de l'épithélium intestinal, élévation due principalement à la sécrétion de l'ion chlorure (Cl^-).

En fait de diarrhées sécrétoires, elles seraient surtout provoquées par une malabsorption au niveau intestinal, malabsorption causée par des atteintes des cellules hautes des villosités intestinales. Une étude américaine du début de l'année 1996 montre une inhibition nette de l'absorption de l'ion sodium (Na^+) et une augmentation importante de la sécrétion de l'ion Cl^- .

Une hypothèse est avancée ; celle selon laquelle Cryptosporidium parvum pourrait sécréter une entérotoxine [12] [14] [28] [55]. Son activité serait calcium dépendante, réversible et saturable. Mais l'intervention d'une telle toxine est à prendre au conditionnel car on n'arrive toujours pas à déterminer si l'activité sécrétoire est due à cette toxine ou à un facteur humoral, sécrété par l'épithélium inflammé [37].

Quoiqu'il en soit, on est en mesure d'affirmer que l'intensité de l'infection à Cryptosporidium parvum est directement dépendante de l'état immunitaire du patient, et la valeur seuil de $180 \text{ CD}_4 / \text{mm}^3$ est une nouvelle fois mise en valeur [12], ce qui souligne la grande importance de l'immunité cellulaire dans la modulation de l'infection.

De même, il apparaît que plus l'intestin est lésé par ailleurs, plus la pathogénie de Cryptosporidium parvum est importante. Les patients n'ayant pas beaucoup de dommages au niveau de l'épithélium du grêle paraissent plus résistants.

VI- REPOSE IMMUNITAIRE

La fréquence de la pathologie chez les jeunes enfants, sa sévérité chez les immunodéprimés et sa guérison possible à l'arrêt d'un traitement immunosuppresseur, suggère que la réponse immunitaire de l'hôte joue un rôle déterminant dans le contrôle de la cryptosporidiose.

Mais les mécanismes mis en jeu ne sont pas connus avec précision.

VI-1- Rôle de l'immunité cellulaire (ou I.C.)

La fréquence et la gravité de la maladie au cours du SIDA souligne l'importance de l'I.C..

Des souris athymiques infectées développent une cryptosporidiose qui guérit après transfert de cellules spléniques ou ganglionnaires de souris immunes [77].

De même, des souriceaux infectés puis traités par un anticorps monoclonal anti- CD_4^+ développent une cryptosporidiose chronique réversible à l'arrêt du traitement.

VI-2- Rôle de l'immunité humorale (ou I.H.)

La maladie a été décrite chez des patients atteints de déficit en Ig G ou Ig A. Les guérisons rapportées après administration de colostrum de bovins hyperimmuns [80] suggèrent l'intervention d'un facteur humoral (immunoglobuline ou facteur non spécifique ?).

Du sérum ou du colostrum de bovins immuns et des anticorps monoclonaux spécifiques neutralisent le pouvoir infectieux des sporozoïtes *in vitro*.

En revanche, l'infection expérimentale de souris a montré que la sévérité de la maladie n'était pas corrélée avec la réponse humorale, et qu'elle ne différait pas entre un groupe de souris témoins et un groupe de souris déplétées en lymphocytes B [71].

Remarque : Il paraît évident que ces deux types d'immunité sont très imbriquées. C'est bien tout le système immunitaire, dans son intégralité, qui est sollicité dans cette pathologie.

VII- DIAGNOSTIC

VII-1- Diagnostic parasitologique

En général la recherche du parasite se fait dans les selles diarrhéiques mais on peut aussi en trouver dans les selles molles ou moulées. Plus rarement, on en trouve dans le liquide vésiculaire, les crachats, le liquide d'aspiration jéjunale et très rarement dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire [21].

Les oocystes étant très résistants, les prélèvements peuvent éventuellement être conservés à +4°C sans dommage [16].

En général, les oocystes de Cryptosporidium parvum sont éliminés dans les selles trois jours après contamination.

Leur élimination peut être intermittente, justifiant des examens répétés (trois contrôles successifs) et l'utilisation éventuelle de méthodes de concentration.

On utilise à ce titre la méthode de Ritchie simplifiée, dans laquelle l'échantillon à analyser est dilué directement dans de l'eau formolée à 10% avant centrifugation, méthode qui présente un double avantage :

- concentration des oocystes,
- protection du manipulateur.

A l'examen direct, les oocystes apparaissent comme des éléments arrondis ou ovalaires, réfringents de 4 à 6 μm et présentant un point noir bien visible correspondant au corps résiduel.

Cependant, l'identification directe est difficile : les oocystes peuvent en effet être confondus avec d'autres micro-organismes (levures, *Blastocystis hominis*, kystes de flagellés) et l'adjonction de lugol à 2%, qui colore les autres éléments en brun et respecte les oocystes, ne peut suffire à affirmer le diagnostic (à noter qu'en contraste de phase, les levures apparaissent plus réfringentes [16]).

Il est donc impératif de recourir à des techniques d'identification spécifiques.

Ainsi, le clinicien qui évoque une cryptosporidiose dans diverses situations cliniques ou épidémiologiques (tableau 3) devra l'indiquer au biologiste afin que celui-ci puisse mettre en oeuvre les méthodes appropriées [7].

Patient VIH $\oplus$:

- suivi systématique
- diarrhée aiguë ou chronique
- tableau hépatobiliaire.

Patient immunodéprimé (hors VIH $\oplus$) :

- diarrhée aiguë ou chronique.

Voyageur :

- diarrhée ou turista.

Collectivité d'enfants de moins de 5 ans (crèche) :

- diarrhée.

Collectivités urbaines ou rurales :

- diarrhée ou gastroentérite d'allure épidémique.

Contact individuel ou professionnel avec des animaux :

- diarrhée.

Entourage d'un patient et / ou d'animaux atteints :
- contrôle systématique.

Animaux familiers d'un patient immunodéprimé :
- contrôle systématique.

Tableau 3 : Indications du diagnostic biologique de la cryptosporidiose en médecine humaine.

Des techniques d'identification ont été mises au point depuis 1980 :

- immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques,
- la coloration de Heine,
- la coloration de Ziehl-Nielsen modifiée (annexe 2) [10].

Ces méthodes semblent conjuguer simplicité d'exécution, rapidité et fiabilité.

Les oocystes colorés suivant cette dernière méthode apparaissent comme des éléments arrondis, ovalaires de 4 à 6 μm de diamètre, colorés en rouge vif sur le fond vert du contre-colorant. L'examen à fort grossissement permet de distinguer le corps résiduel et les noyaux des sporozoïtes.

Les autres micro-organismes, pouvant prêter à confusion, sont colorés en vert avec cette technique.

VII-2- Diagnostic anatomopathologique

La muqueuse intestinale parasitée est le siège d'une réaction inflammatoire non spécifique ou parfois d'altérations plus importantes : atrophie villositaire, allongement des cryptes.

A l'examen de coupes colorées par l'hématoxyline-éosine ou le giemsa, les cryptosporidies apparaissent comme des organismes arrondis de 3 à 6 μm de diamètre accolés à la surface de la muqueuse.

Il est important de noter que la recherche de cryptosporidies doit se faire au pôle apical des cellules cylindriques de l'épithélium de revêtement ou des glandes de l'intestin ou de la vésicule biliaire [2].

L'identification peut être difficile pour un observateur non averti.

VII-3- Diagnostic sérologique

Des anticorps sériques de classe Ig G, Ig A, Ig M et Ig E apparaissent au cours de l'infection et peuvent être détectés par

- immunofluorescence,
- ELISA,
- western blot [78] [79].

Mais l'application de la sérologie en biologie clinique est limitée du fait de l'absence de standardisation des sources de parasites et des méthodes de préparation de l'antigène, la fréquence des porteurs d'anticorps dans la population générale et l'absence d'étude exhaustive des réactions croisées.

Le dépistage sérologique se limite donc aux enquêtes séroépidémiologiques et ne peut en aucun cas être utilisé à des fins diagnostiques.

PARTIE II

DIAGNOSTIC

Le parasite *Cryptosporidium parvum* a été rapporté la première fois en 1976 comme un agent pathogène pour l'homme. De par l'évolution pandémique du SIDA, la cryptosporidiose est maintenant considérée comme une cause de diarrhée pouvant causer la mort de malades immunodéprimés [20] [67].

Au départ, le diagnostic se basait sur la mise en évidence du parasite dans les tissus intestinaux obtenus par biopsie endoscopique. Mais dès la première identification d'oocystes dans les selles en 1980 [73], de nouvelles et nombreuses méthodes de concentration, de coloration et de détection ont été développées [4] [26] [27] [45] [57] [83] [87].

La coloration acide rapide (ou acid-fast staining AFS) est la technique la plus utilisée en laboratoire, mais elle nécessite, pour être fiable, un nombre assez élevé d'oocystes.

Les méthodes de concentration des éléments parasitaires permettent d'augmenter la sensibilité.

Des études épidémiologiques ont révélé que certaines méthodes de coprodiagnostic présentent des lacunes dans la détection des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans les selles de patients effectivement infectés [44] [83], aussi bien chez des malades immunocompétents que chez des malades infectés par le VIH.

L'efficacité de la technique à l'acétate d'éthyle-formol (ou formalin-ethyl acetate FEA) pour cette concentration des oocystes, et pour définir le nombre minimum d'oocystes pouvant être détectés dans les prélèvements par les techniques diagnostiques de routine, a été définie à partir d'échantillons contenant un nombre connu d'oocystes concentrés par la méthode FEA ou méthode de Ritchie [83]. Nous résumons les données de la littérature concernant l'efficacité de ces techniques.

I - METHODES DE CONCENTRATION

I-1- Description de la méthode de concentration au FEA [83]

① on prend 4 ml d'une suspension de selles fécales fixées par le formol ou 8 ml d'une telle suspension de selles aqueuses.

② On lave par de l'eau désionisée à travers une gaze humidifiée dans des tubes coniques de centrifugation.

③ On centrifuge à 500 g pendant 2 minutes.

④ on récupère le sédiment que l'on remet en suspension dans 9 ml de formol à 10% et 3 ml d'acétate d'éthyle.

⑤ On agite vigoureusement pendant 30 secondes.

⑥ On centrifuge de nouveau à 500 g pendant 2 minutes.

⑦ On récupère 4 phases qui sont de haut en bas :

- acétate d'éthyle
- débris fécaux
- formol
- sédiment.

⑧ On récupère le sédiment qui contient les oocystes concentrés.

I-2- Résultats obtenus

Le seuil de détection des oocystes est différent selon que l'on a à faire à une diarrhée aqueuse ou non.

La détection par immunofluorescence sur des anticorps monoclonaux paraît plus sensible que la technique d'AFS pour les deux types de spécimens (tableau 4) [83].

NOMBRE D' OOCYSTES AJOUTES PAR GR D'ECHANTILLON	NOMBRE D' ECHANTILLONS POSITIFS / NOMBRE D' ECHANTILLONS OBSERVES			
	SELLES AQUEUSES		SELLES FORMEES	
	AFS	TECHNIQUE IF	AFS	TECHNIQUE IF
1 000	0 / 10	0 / 10	ND	ND
5 000	6 / 10	9 / 10	ND	2 / 10
10 000	10 / 10	10 / 10	0 / 10	6 / 10
50 000	10 / 10	10 / 10	0 / 10	10 / 10
100 000	ND	ND	6 / 10	10 / 10
500 000	ND	ND	10 / 10	ND

ND : non déterminé

Tableau 4 : Comparaison des méthodes d'AFS et d'IF pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans des prélèvements de selles aqueuses et fécales.

Pour les diarrhées aqueuses, les oocystes sont détectés dans 90 % des prélèvements contenant 5 000 oocystes / g d'échantillon par la technique d'IF, alors qu'ils ne le sont qu'à 60 % par la technique d'AFS. Les deux techniques détectent 100 % des oocystes pour une concentration supérieure à 10 000 oocystes / g d'échantillon.

En ce qui concerne les selles moulées, l'avantage de l'IF par rapport à l'AFS paraît plus évident [83].

Nous voyons donc que le nombre minimum d' oocystes pour que la détection soit efficace doit être assez élevé et que le fait de concentrer l'échantillon par la méthode FEA entraîne une perte importante en oocystes (tableau 5) [83].

NOMBRE D' OOCYSTES AJOUTES PAR GR D'ECHANTILLON	NOMBRE ATTENDU D' OOCYSTES ($\pm 2 \sigma$)	NOMBRE D' OOCYSTES DETECTES			
		SELLES AQUEUSES		SELLES FORMEES	
		AFS	TECHNIQUE IF	AFS	TECHNIQUE IF
1 000	2,5	0	0	ND	ND
5 000	12,5	1,1 (0-3)	2,9 (0-6)	ND	0,3 (0-2)
10 000	25 (± 10)	7,9 (1-16)	12,2 (4-16)	0	1,2 (0-3)
50 000	125 (± 22)	+++	+++	0	8,5 (5-14)
100 000	250 (± 32)	ND	ND	0,9 (0-3)	16,7 (11-26)
500 000	1 250 (± 71)	ND	ND	27,5 (18-49)	ND

+++ : 10 échantillons sur 10 sont positifs. Le nombre d' oocystes n'étant pas déterminé.

Tableau 5 : Comparaison entre le nombre attendu et le nombre observé d' oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

Pour les échantillons prélevés à partir de diarrhées aqueuses, on note que l'IF entraîne une perte de 51,2 % des oocystes (pour 10 000 oocystes / g) et 91,2 % par la méthode d'AFS (pour 5 000 oocystes / g), ce qui montre bien l'existence d'un seuil minimum de détection de ces oocystes. Pour les prélèvements de selles moulées, les pertes sont supérieures à 90 % pour les deux techniques.

1-3- Comment éviter les pertes

C'est pour ces raisons que des étapes de la méthode FEA ont été modifiées [83].

1-3-1- Modifications apportées à la méthode FEA (figure 4)

① Modification du temps de centrifugation : on peut varier ici de 1 à 10 minutes la centrifugation, contre 2 minutes pour la méthode standard.

② Une seule étape de centrifugation à 500 g

On a comparé l'efficacité de la centrifugation après 2, 5 et 10 minutes.

③ Utilisation de filtres métalliques de pores 600 µm de diamètre.

④ Utilisation d'un surfactant : le TRITON X-100 à 20% lors de la première centrifugation.

⑤ Variation de la force de centrifugation : comparaison des centrifugations à 100 g et 1 000 g avec celle à 500 g.

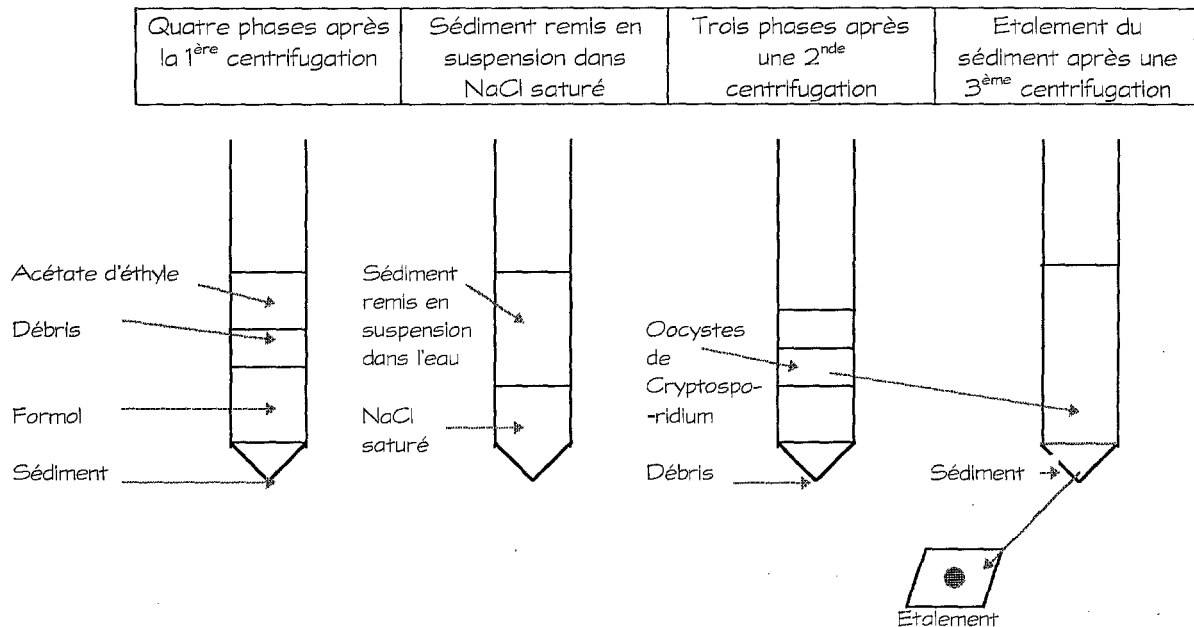


Figure 4 : Déroulement de la nouvelle méthode de concentration.

On utilise ici :

- 4 ml d'échantillon fixé par le formol
- 6 ml de formol à 40%
- 3 ml d'acétate d'éthyle
- 1 centrifugation à 500 g pendant 5 minutes.

On obtient les quatre phases de la figure 4.

Le sédiment est repris dans 5 ml d'eau désionisée et 5 ml de NaCl à saturation, puis centrifugé à 500 g pendant 10 minutes.

On obtient enfin quatre phases qui sont de haut en bas :

- eau désionisée,
- oocystes de *Cryptosporidium parvum*,
- NaCl saturé,
- le culot contenant la majorité des débris fécaux.

On prélève les oocystes à l'aide d'une pipette, on les lave avec 13 ml environ d'eau désionisée et on recentrifuge à 500 g pendant 10 minutes pour recueillir le sédiment contenant les oocystes.

1-3-2- Comparaison de cette nouvelle technique à la méthode FEA classique

Le fait d'augmenter le temps de centrifugation n'améliore pas beaucoup la détection des oocystes en grand nombre, et présente même l'inconvénient de rendre l'interprétation de la coloration plus difficile du fait d'une plus grande concentration du sédiment par rapport à la technique standard.

Mais, de façon générale, la détection des oocystes de *Cryptosporidium parvum* a été améliorée par cette nouvelle méthode (tableaux 6 et 7) [83].

CONC. EN OOCYS- TES	NOMBRE D' ECHANTILLONS POSITIFS / 10 ECHANTILLONS OBSERVES									
	ECH 1 (formées)		ECH 2 (formées)		ECH 3 (formées)		ECH 4 (mixtes)		ECH 5 (aqueuses)	
	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}
1 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 000	0	9	0	8	0	7	0	0	9	10
10 000	6	10	0	10	4	10	0	3	10	10
50 000	9	10	5	10	6	10	2	7	10	10

mixtes : selles formées et graisseuses.

Tableau 6 : Comparaison entre la nouvelle méthode de concentration et la méthode FEA standard. (1)

CONC. EN OOCYS- TES	NOMBRE D' ECHANTILLONS POSITIFS / NOMBRE OBSERVES									
	ECH 1 (formées)		ECH 2 (formées)		ECH 3 (formées)		ECH 4 (mixtes)		ECH 5 (aqueuses)	
	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}	FEA	N ^{elle}
1 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 000	0	2,3	0	1,5	0	1,2	0	0	2,9	4,1
10 000	1,0	2,6	0	3,3	0,4	4,9	0	0,3	12,2	18,3
50 000	2,8	40,9	1,0	12,6	0,7	19,5	0,3	2,4	-	-

mixtes : selles formées et graisseuses.

- : les 10 échantillons examinés sont positifs. Les oocystes ne sont pas comptés.

Tableau 7 : Comparaison entre la nouvelle méthode de concentration et la méthode FEA standard. (2)

Par cette nouvelle technique, on note une meilleure séparation des parasites et des débris fécaux qu'avec la technique classique.

Les échantillons ont moins de débris fécaux et une fluorescence des oocystes beaucoup plus nette [83].

De ce fait, la détection des oocystes peut se faire dans tous les échantillons.

I-4- Conclusion

Par l'examen des échantillons fécaux contenant une concentration connue d'oocystes de *Cryptosporidium parvum*, on pensait pouvoir déterminer la sensibilité de ce test de coprodiagnostic. Mais il n'existe pas encore de standard fiable pour la détection de ces oocystes [76].

Le seuil minimum de leur détection a pu être mis en évidence pour ces deux techniques : il faut au moins 5 à 10 000 oocystes / g d'échantillon si les selles sont aqueuses. Par contre si elles sont formées, une concentration minimale de 10 à 50 000 oocystes / g d'échantillon sera nécessaire pour une détection efficace.

Néanmoins, l'IF reste quand même plus sensible que la méthode d'AFS.

On a pu observer également qu'un échantillon de selles aqueuses est plus facilement analysable que s'il s'agit de selles formées.

Ceci confirme les résultats de certaines études déjà réalisées [4] [26] [61].

La détection des oocystes requière à la fois des techniques de coloration sensibles et spécifiques couplées aux méthodes efficaces de concentration des échantillons.

La diarrhée chronique d'origine inconnue chez un patient VIH⁺ est un problème diagnostique bien connu. Il est important de noter que des études rétrospectives ont montré que, quand on reprend les biopsies jéjunales de tels patients, dont l'examen s'était avéré négatif, 11% d'entre elles sont faiblement positives [83].

C'est pour éviter cela à l'avenir, que des modifications ont été apportées notamment au niveau de la séparation des parasites et des débris fécaux.

II- MISE EN EVIDENCE DES OOCYSTES

II-1- Méthodes de coloration

Les oocystes ne sont pas colorés par le Gram ni par le Lugol à 2%.

Ils peuvent être colorés par le Giemsa : le cytoplasme apparaît coloré en rose ou en violet. Il est granuleux avec un corps résiduel central, les sporozoïtes sont colorés en rouge foncé.

Le diagnostic différentiel avec les autres éléments fécaux est difficile, car ceux-ci sont également colorés.

II-1-1- Coloration de ZIEHL-NIELSEN modifiée par Henriksen et Poblentz

Il est préférable d'utiliser la technique de ZIEHL-NIELSEN modifiée (annexe 2) qui colore nettement les oocystes en rouge vif, alors que les levures et les débris fécaux ne prennent pas le ZIEHL [16].

Cette méthode est, par ailleurs, conseillée à tous les laboratoires qui commencent des recherches de *Cryptosporidium parvum*.

Différentes variantes ont été proposées : d'une manière générale, la coloration se fait par la fuschine phéniquée à froid, la décoloration seulement par un acide et la contre-coloration peut employer différents colorants : bleu de méthylène, vert malachite, vert lumière...

La lecture se fait à l'objectif X20 en parcourant toute la lame recouverte d'huile à immersion. Tout élément suspect sera examiné à l'objectif X100, à l'immersion.

II-1-1-1- Résultats

Les oocystes apparaissent donc en rouge vif sur fond bleu ou vert, selon le contre-colorant utilisé. Ils contiennent quatre sporozoïtes en forme de croissant et un corps résiduel qui sont exceptionnellement vus. Il y a souvent une zone centrale moins colorée, donnant un aspect de vacuole.

II-1-1-2- Diagnostic différentiel

- Les levures ne sont pas colorées en rouge et prennent bien le contre-colorant. Certaines spores végétales apparaissent parfois colorées en rouge sombre, elles sont plus grosses et leur paroi est épaisse.

- Les taches de colorants sont de taille variable et sans structure interne.

Rmq : La méthode avec le vert malachite a également l'intérêt de colorer en vert foncé les cristalloïdes d' Entamoeba histolytica et d' Entamoeba hartmanni ainsi que les oocystes d' Isospora belli.

II-1-1-3- Précautions générales

La manipulation des selles doit être effectuée avec des gants, car les oocystes sont directement contaminants et résistent à de nombreux détergents : plusieurs contaminations professionnelles ont déjà été publiées. En outre, les selles peuvent contenir du VIH. La verrerie utilisée devra donc être traitée avec de l'eau de javel à 10% [16].

II-1-2- Coloration à l'auramine (annexe 3) [16]

Les cryptosporidies se détachent par fluorescence. Certaines sont très facilement identifiables. Il s'agit donc d'éléments arrondis, réguliers dont la paroi est très nettement fluorescente, mais certains de ces éléments sont beaucoup plus difficiles à diagnostiquer, la fluorescence étant plus irrégulière, et peuvent être considérés comme un artéfact.

N.B. : A noter que les lames peuvent être conservées à l'abri de la lumière dans une boîte noire.

II-1-3- Techniques de confirmation de diagnostic [21]

D'autres techniques de coloration aident à l'affirmation du diagnostic (annexe 4) :

II-1-3-1- Technique de Heine

II-1-3-2- Technique de Köster

II-1-3-3- Coloration au May-Grumwald-Giemsa

Ces techniques de coloration permettent également de rechercher les oocystes de Cryptosporidium parvum dans :

- les liquides d'aspiration Jéjunale, après fixation au formol,
- les frottis de raclage de la muqueuse intestinale après homogénéisation,
- les crachats après une action enzymatique,
- les prélèvements d'aspiration bronchique,
- la bile, exceptionnellement.

N.B. : la coloration au May-Grumwald-Giemsa n'est pas conseillée car la lecture est difficile. Les cryptosporidies apparaissent colorées en rose ou en violet, le cytoplasme est granuleux avec un corps résiduel central. Les sporozoïtes sont colorés en rouge foncé [16].

II-2- Autre technique [DEL]

On peut aussi faire la recherche des oocystes de Cryptosporidium parvum en fluorescence, grâce aux anticorps monoclonaux, mais cette technique est très coûteuse et n'est intéressante que pour des laboratoires faisant beaucoup de recherches de Cryptosporidium.

On utilise en fait un anticorps monoclonal marqué à l'isothiocyanate de fluorescéine qui permet, par une réaction d'immunofluorescence directe, de faire le diagnostic de cryptosporidiose.

Cette méthode aurait une spécificité et une sensibilité supérieure à celle obtenue avec la coloration de ZIEHL-NIELSEN modifiée.

La technique d'immunofluorescence a aussi pour avantage d'être deux fois plus rapide que les méthodes de coloration classiques utilisées, et sa lecture est plus aisée pour un observateur non expérimenté : les oocystes de Cryptosporidium apparaissent vert fluorescent.

PARTIE III

TRAITEMENT

La cryptosporidiose est une des infections opportunistes du SIDA pour laquelle il n'y a pas de thérapeutique efficace.

Le développement de molécules efficaces a été sévèrement gêné par :

- l'absence d'une méthode de culture *in vitro* du parasite,
- l'absence de modèle animal de la maladie [30].

En l'absence de ce modèle, qui permettrait de caractériser la biologie et le métabolisme du parasite, il est donc difficile de mettre au point une thérapie efficace.

La nature dévastatrice de l'infection à Cryptosporidium parvum a eu comme conséquence l'administration, sans précédent, de beaucoup de molécules pharmaceutiques malgré l'absence d'études sérieuses à leur sujet. Mais la plupart des essais thérapeutiques chez l'homme sévèrement immunodéprimé ont abouti à un échec [46] [69].

I- QUELQUES MOLECULES ETUDIEES

Plus de soixante-quinze molécules ont été ainsi testées, sans beaucoup de succès. Beaucoup de ces agents thérapeutiques ont été essayé du fait de leur action sur d'autres protozoaires comme :

- la spiramycine sur Toxoplasma gondii,
- la chloroquine sur Plasmodium sp.,
- le triméthoprime-sulfaméthoxazole sur Pneumocystis carinii,
Isospora belli,
- le métronidazole sur Giardia lamblia,
Entamoeba histolytica.

D'autres molécules ont pu montrer une éventuelle efficacité, mais leur toxicité gastro-intestinale et médullaire ont limité leur utilisation [30].

I-1- La spiramycine

Certains succès ont été obtenus avec ce macrolide.

D'autres études ont été menées pour vérifier son efficacité, en aveugle, spiramycine contre placebo. Aucune différence n'a pu être mise en évidence significativement [30].

I-2- Concernant d'autres molécules

I-2-1- Dérivé de l'acétonitrile de benzène : le diclazuril

Son intérêt résulte de son action contre une autre coccidie : *Eimeria* *sp.*

Son efficacité a été mise en évidence au Zaïre sur un petit nombre de patients atteints de SIDA et sur un patient à New York. Cette relative faible activité serait due à sa médiocre absorption [33].

I-2-2- Le létrazuril (apparenté au diclazuril)

Il semblerait être mieux absorbé que le diclazuril [30].

II- ETUDES IMMUNOLOGIQUES

Depuis que l'on sait que la sévérité et la durée de la cryptosporidiose sont étroitement liées à l'immunocompétence de l'hôte, une des stratégies de lutte contre l'infection serait d'ordre immunologique.

Le transfert passif d'anticorps de la mère ne semble en rien gêner le développement de *Cryptosporidium* chez la souris ou le veau, mais certaines études montrent qu'il pourrait prévenir la cryptosporidiose chez l'enfant humain [51].

Le colostrum de bovin, utilisé de façon soit préventive, soit thérapeutique chez l'homme, le veau ou la souris, a permis d'obtenir des succès mais aussi des échecs [3] [38] [54] [57] [65] [74] [75]. On a pu reporter qu'un seul cas [80] de totale efficacité chez un patient atteint de SIDA. La plupart du temps, il s'agit plutôt d'amélioration des symptômes cliniques, mais sans faire disparaître le parasite.

III- LA PAROMOMYCINE DANS LE TRAITEMENT DE LA CRYPTOSPORIDIOSE DU SIDA

Une étude prospective en double-aveugle a été menée, destinée à mettre en évidence l'efficacité du traitement par la paromomycine sur une courte période (deux semaines) [85].

La paromomycine est un antibiotique de la famille des aminoglycosides qui n'est pas très bien absorbé per os.

On a pu mettre en évidence une certaine activité, *in vitro*, sur les cryptosporidies à certaines concentrations [50].

Des cas d'amélioration clinique de la cryptosporidiose associée au SIDA ont été rapportés, sous traitement par paromomycine [29] [34].

Tout au long de cette étude, le nombre d'oocystes excrétés est mesuré par immunofluorescence quantitative [34] et l'excrétion totale est calculée à partir de la concentration en oocystes et du poids total des selles.

III-1- Le choix des malades participant à l'étude

Les critères d'inclusion sont :

- une infection à VIH,
- un taux de lymphocytes CD₄ inférieur à 100 / mm³,
- des diarrhées chroniques (plus de 3 selles diarrhéiques par jour, pendant au moins 5 jours par semaine et sur au moins 3 semaines),
- des selles contenant des oocystes de Cryptosporidium parvum.

Les patients étaient exclus de l'étude s'ils avaient :

- des problèmes auditifs,
- une intolérance aux aminosides,
- une créatinine supérieure à 20 mg/l (valeurs normales : inférieur à 10 mg/l),
- une bilirubine et des enzymes hépatiques supérieures à trois fois la normale,
- une hémoglobine inférieure à 90 g/l (valeurs normales : 110 à 150 g/l),
- des globules blancs inférieurs à 0,5 G/l (valeurs normales : 4 à 10 G/l),
- d'autres infections opportunistes [85].

III-2- Méthodologie

Les patients étaient choisis au hasard pour recevoir un placebo ou de la paromomycine à 25-35 mg/kg/j (deux comprimés dosés à 250 mg, trois ou quatre fois par jour). Après les deux premières semaines de traitement, les malades passent à l'autre molécule pour deux semaines supplémentaires.

Le traitement antiviral est maintenu pendant l'étude.

On demandait à chacun de suspendre son traitement antispasmodique.

Les patients devaient tenir un registre de toutes les exonérations faites dans la journée et de les classer en selles aqueuses, molles, moulées ou dures.

Chaque semaine on enregistrerait le poids total des selles de chacune des personnes, le nombre de selles émises, la concentration en oocystes et l'excrétion totale sur 24 heures [85].

III-3- Résultats obtenus

III-3-1- La population de l'étude

Il s'agit de dix patients ayant le SIDA.

Tous étaient très immunodéprimés avec un taux de CD_4 inférieur à $100 / mm^3$.

Le choix des patients commençant l'étude par la paromomycine ou le placebo a été fait de façon aléatoire, quelque soit leur taux d'hémoglobine, d'albumine ou de CD_4 .

La population de cet essai figure dans le tableau 8.

Patient, âge (années)/race	CD ₄ cellules/mm ³	Albumine g/l	Hémoglobine g/l	Traitement antiviral	Substance testée
1. 30 / C	27	39	131	Aucun*	Paromomycine
2. 25 / C	38	39	117	AZT	Paromomycine
3. 37 / H	6	27	115	AZT	Placebo
4. 34 / A	2	39	94	AZT	Placebo
5. 38 / C	22	40	113	ddl	Placebo
6. 38 / C	11	40	111	AZT ^α	Paromomycine
7. 38 / C	83	41	127	AZT	Paromomycine
8. 25 / H	38	38	99	AZT	Paromomycine
9. 33 / A	66	42	148	AZT / ddC	Placebo
10. 34 / C	6	40	107	Aucun	Paromomycine

Note : C : Caucasilien, H : Hispanique, A : Afro-américain, AZT : zidovudine, ddl : didanosine, ddC : zalcitabine.

^α : Arrêt du ddl au début de l'étude pour troubles gastro-intestinaux et passage à l'AZT à faible dose (200 mg/jour).

* : Arrêt du traitement par AZT au début de l'étude à cause de troubles gastro-intestinaux.

Tableau 8 : Caractéristiques cliniques et démographiques des patients SIDA ayant une cryptosporidiose, initialement traités par paromomycine ou placebo [85].

Pendant, ou très peu de temps après l'étude, quatre des dix patients ont développés une infection opportuniste autre qu'une cryptosporidiose intestinale : parmi eux, deux ont reçu en premier de la paromomycine (ils ont développé une tuberculose pulmonaire et une microsporidiose intestinale), et les deux autres étaient initialement traités par le placebo (ils ont développé une infection pulmonaire à *Mycobacterium kansasii* et une infection disséminée à *Mycobacterium avium*).

III-3-2- Concernant l'excrétion des oocystes

Les modifications d'excrétion des oocystes ont été mesurées de deux façons : au regard de la concentration et de l'excrétion quotidienne totale.

Ces deux paramètres évoluaient parallèlement.

On a remarqué que certains échantillons devenaient négatifs pendant le traitement par la paromomycine, ce qui n'était pas le cas sous traitement avec le placebo.

Quand on passait de la paromomycine au placebo, on a même observé une augmentation de l'excrétion des oocystes, et inversement quand on passait du placebo à la paromomycine.

III-3-3- Fréquence, volume et aspect des selles

Pendant la période sous paromomycine, le nombre de selles par jour a chuté de 4,4 (en moyenne) à 2,0.

Ces résultats apparaissent dans le tableau 9.

	Moyenne	
	Avant traitement	Après traitement
Poids des selles en gramme	843	394
Nombre de selles par 24 h	4,4	2,0
Aspect des selles *	4	3
Nombre d'ocystes / 24h x 10 ⁶	314	109

* : Classification des selles selon leur aspect : 4=aqueuses, 3=molles, 2=moulées, 1=dures.

Tableau 9 : Données entre avant et après les quatorze jours de traitement par la paromomycine chez dix malades du SIDA [85].

Sept malades sur dix ont observés une amélioration de l'aspect de leurs selles (tableau 9).

III-4- Conclusions

Cette étude montre donc des améliorations cliniques et parasitologiques, lors du traitement par la paromomycine.

En comparant les six patients initialement traités par la paromomycine aux quatre sous placebo, on note une diminution importante de leur charge parasitaire, estimée par l'excrétion totale des ocystes sur 24 heures.

Par ailleurs, un seul patient a été totalement guéri pendant cette cure thérapeutique. La diarrhée s'est résolue chez sept personnes sur les dix de l'étude.

Quatre patients ont eu des problèmes biliaires que l'on a attribués à Cryptosporidium parvum.

Comme on le voit dans le tableau 8, toutes les personnes étaient fortement immunodéprimées ; la moyenne de leur taux de CD_4 se trouvait à $24,5 / mm^3$ (huit ont un taux inférieur à $40 CD_4 / mm^3$ et les deux autres ont d'autres infections opportunistes associées).

Cette étude a permis de démontrer l'efficacité de la paromomycine sur *Cryptosporidium* malgré un échantillonnage très petit. Mais d'autres essais, sur plus de 100 patients ont abouti aux mêmes conclusions [6] [29] [34] [82].

CHAPITRE II

Cryptosporidiose et VIH
- Physiopathologie -

I- INTRODUCTION

Les diarrhées chroniques constituent une complication fréquente au cours de l'évolution de l'infection par le VIH.

Une origine infectieuse est retrouvée dans 50 à 70 % des cas.

Depuis 1983, on observe le développement d'affections jusqu'alors rares : cryptosporidiose, isosporose, mycobactériose atypique [53].

Les cryptosporidies sont retrouvées dans les selles d'environ 10 % des patients VIH⁺ ayant des diarrhées [17] [66].

Chez certains malades, l'excrétion d'oocystes est associée à des diarrhées sévères et prolongées, pouvant menacer la vie du patient [14].

Par ailleurs, il existe aussi des porteurs asymptomatiques [41] [86] et pauci-symptomatiques [14] [64]. On a également vu des malades avec des diarrhées apparemment causées par un autre organisme, avoir des selles positives lors de la recherche d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* [34] [64].

Les agents étiologiques sont nombreux. Certains protozoaires peuvent être considérés comme spécifiques du tube digestif et correspondent à des infections intra-luminales ou intra-entérocytaires. Ils sont accessibles par l'examen des selles.

Le diagnostic est le plus souvent porté grâce à l'exploration endoscopique avec biopsie, pour une étude histologique et mise en culture [53].

Une étude française (que l'on appellera EF) a été effectuée dans le but de comparer les résultats de l'examen cytologique par apposition à ceux de l'histologie et de la microscopie électronique, sur une série de cinquante patients [53]. Ses résultats seront, en partie, développés dans ce chapitre.

Depuis que la diarrhée est devenue habituelle au cours du SIDA, il paraît très important de bien connaître la signification clinique exacte de selles positives à *Cryptosporidium parvum* [72] [86].

Bien qu'il apparaisse que la sévérité de l'infection à *Cryptosporidium* chez les immunodéprimés soit liée à la charge parasitaire [19], il n'y a pas eu d'étude systématique faite sur l'aspect quantitatif de ces infections chez l'homme. Une étude américaine (que l'on appellera EA1) [34] a essayé de quantifier les oocystes de *Cryptosporidium* des selles humaines, et de déterminer la reproductibilité de ce taux en fonction de l'infection ; cette mesure se faisant au quotidien, selle par selle. Le but de cette étude était de relier la charge parasitaire à l'histologie du duodénum et à la réponse à un agent thérapeutique, ceci chez cinquante patients VIH⁺. Ses résultats seront également développés dans ce chapitre.

Cette analyse étiopathogénique s'appuiera enfin sur une troisième étude, américaine elle aussi (que l'on appellera EA2), qui est une étude rétrospective destinée à établir des corrélations entre les modifications histopathologiques et/ou clinicopathologiques avec l'infection [33].

II- SITUATION DES PATIENTS DANS CHACUNE DES ETUDES

II-1- Dans l'étude américaine numéro 1 (ou EA1) [34]

Le choix des sujets s'est porté sur cinquante patients VIH⁺, ayant un taux de lymphocytes CD₄ inférieur à 80 / mm³, souffrant de diarrhées chroniques due à Cryptosporidium parvum, seul agent pathogène intestinal détecté.

II-2- Dans l'étude française (ou E.F.) [53]

Il s'agit d'une étude prospective portant sur cinquante malades, réalisée entre Janvier 1990 et Juin 1992, par endoscope haute.

Tous ces patients souffraient d'une diarrhée évoluant depuis au moins quatre semaines, d'origine indéterminée, même après examen parasitologique et bactériologique des selles chez trente-neuf d'entre eux. Chez les onze autres, on suspecte une poly-infection, avec parasitose et persistance ou aggravation de la symptomatologie sous traitement.

Tous ces patients avaient, au moment de l'examen, un déficit immunitaire sévère avec un taux sanguin de lymphocytes CD₄ inférieur à 200 / mm³.

II-3- Dans l'étude américaine numéro 2 (ou EA2) [33]

Cette étude, menée entre Janvier 1981 et Décembre 1989, repose sur l'examen *post-mortem* de 2927 personnes.

Chez quinze d'entre elles seulement on a pu identifier Cryptosporidium parvum.

Les autopsies ont été pratiquées dans une moyenne de 28 heures après le décès. Les tissus prélevés ont été conservés dans un tampon contenant 10 % de formol.

III- LES OBSERVATIONS OBTENUES

III-1- Dans l'étude EA1 [34]

On a essayé, ici, de déterminer les corrélations existant entre la charge parasitaire et la symptomatologie digestive.

Les oocystes sont comptés par observation au microscope à fluorescence, en utilisant des anticorps monoclonaux, technique sensible et spécifique de *Cryptosporidium parvum* [4].

Des biopsies duodénales ont été effectuées sur chaque patient.

Les échantillons ont été fixés dans de la paraffine, coupés puis colorés à l'hématoxyline-éosine.

Les lames ont ensuite été lues par un anatomopathologiste qui ne savait rien de l'état clinique du patient ni des résultats des observations des selles des malades.

Il a pu déterminer, pour chaque spécimen, un "score histologique" de l'intensité de l'infection, score à partir duquel l'observateur a estimé le pourcentage de la surface luminale couverte par *Cryptosporidium parvum*.

Tous les patients ont, en outre, reçu de la paromomycine (HUMAGEL® - HUMATIN®, Laboratoires PARKE-DAVIS) à 500 mg, quatre fois par jour sur quatorze jours. Pour juger de l'efficacité du traitement, chaque malade a collecté ses selles à la fin du traitement [13] [50].

III-1-1- Résultats de la quantification des oocystes

Les résultats obtenus de quantification des organismes sur les biopsies duodénales sont résumés dans le tableau 10.

Patient	Poids des selles (en g/jour)	Concentration quotidienne en oocystes (x 10 ³ oocystes/g)	Excrétion quotidienne totale (x 10 ⁶ oocystes/jour)	Pourcentage de muqueuse couverte
1	2794	4	6	20
2	807	173	148	30
3	956	249	195	10
4	903	468	395	30
5	572	518	268	0
6	ND	622	ND	100
7	1447	923	1140	90
8	2730	70	172	15
9	1417	31	44	10
10	389	24	10	0
11	592	3	3	0
12	531	0.04	0.02	0

Important : Le nombre d' oocystes est corrélé avec le nombre de parasites observés sur la biopsie mais pas avec le poids des selles.

ND : non disponible

Tableau 10 : Douze patients VIH⁺ avec une infection à *Cryptosporidium parvum* [34].

On notera que le pourcentage de muqueuse recouverte par les micro-organismes varie de 0 à 100 %.

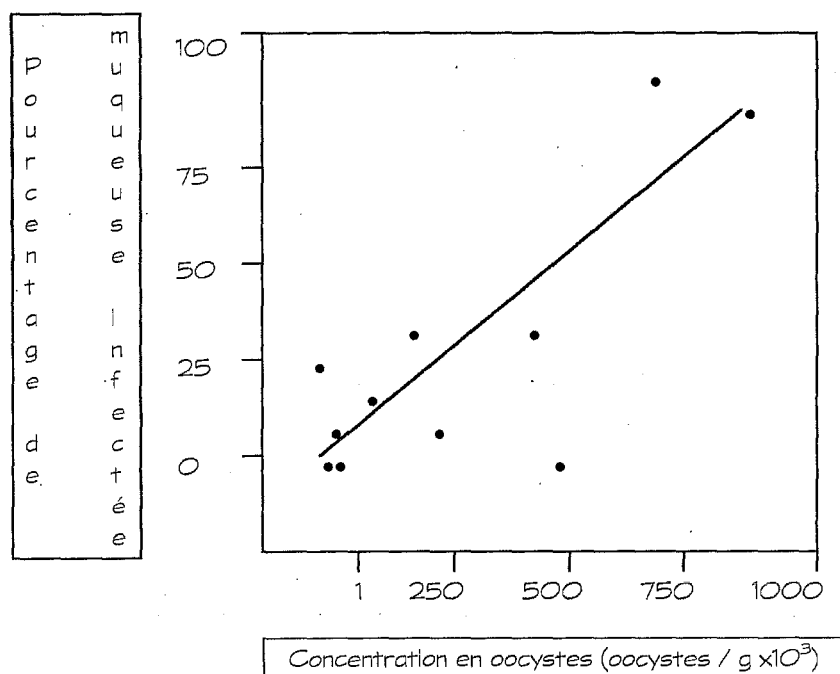


Figure 5 : Corrélation entre la concentration fécale en oocystes et le pourcentage de muqueuse intestinale recouverte de *Cryptosporidium parvum* (coefficient de corrélation de Spearman $r=0,64$ $p<0,03$) [34].

La relation entre l'excrétion fécale quotidienne d'ocystes et l'intensité de l'infection estimée par histologie (tableau 10) est représentée par la figure 5.

Il existe donc une corrélation significative entre l'intensité de l'infection et l'excrétion fécale des ocystes.

III-1-2- Effets de la paromomycine sur l'excrétion des ocystes

Les patients ayant été traités par HUMATIN® ou HUMAGEL®, on a pu juger de l'efficacité de la paromomycine après le traitement. Les résultats sont résumés dans le tableau 11.

Patient n°	Concentration en ocystes * (10 ³ ocystes/g)		Poids des selles (g/jour)	
	Avant traitement	Après	Avant traitement	Après
1	8 ± 8	0	1424	1200
4	468 ± 201	0	903	143
5	518 ± 183	21**	861	306
8	115 ± 29	26 ± 20	850	459

* : moyenne ± écart-type des échantillons de 24 heures

** : 1 seul échantillon de selles

Tableau 11 : Effets du traitement par la paromomycine sur l'excrétion des ocystes et le poids des selles [34].

N.B. : Seuls les quatre patients du tableau 11 donnent des résultats exploitables. Les autres ont tous introduit un biais soit dans la collecte de leurs selles, soit dans l'observance du traitement.

III-1-3- Limites de la quantification des ocystes

On a pu déterminer qu'en deçà d'une concentration en ocystes de 5×10^3 ocystes / g, des faux-négatifs étaient possibles [83].

Dans le cas de faible excrétion, la pathogénie ne s'expliquerait pas par la seule présence de *Cryptosporidium parvum*, mais par l'existence d'infections

associées, car on sait qu'il existe des agents pathogènes entériques non identifiés [32] [43].

III-2- Dans l'étude EF [53]

Il s'agissait, ici, de faire une comparaison entre les résultats obtenus par cytologie et ceux obtenus par histologie ou microscopie électronique.

Les biopsies sont faites au niveau du duodénum distal.

Avant fixation, chaque fragment a fait l'objet d'apposition sur lame, lame ensuite séchée, fixée dans du méthanol et colorée au Giemsa à 5 % pendant 10 minutes ; cette technique permettant une éventuelle décoloration de la préparation par un bain de méthanol et la réalisation, dans un second temps, de coloration complémentaire par la technique de ZIEHL-NIELSEN

Important : La lecture des lames est effectuée en aveugle dès l'arrivée des prélèvements au laboratoire.

L'étude histologique est faite sur des coupes de paraffine après fixation dans le liquide de Bouin. Les coupes sont colorées par hématoxyline-éosine-safran (HES), ZIEHL-NIELSEN ou Giemsa lent.

Une recherche complémentaire de cytomégalovirus (CMV) a été réalisée par histo-immunologie.

III-2-1- Résultats de la comparaison

Une origine infectieuse a été mise en évidence chez vingt-et-un malades. Dix sept d'entre eux étaient porteurs d'un agent pathogène unique, comme on peut le voir dans le tableau 12.

Cas n°	Cytologie	Histologie
1	Microsporidiose	Microsporidiose, CMV, C. Néoformans
2	Microsporidiose	Microsporidiose
3	Microsporidiose	Microsporidiose
4	Microsporidiose	Microsporidiose
5	Microsporidiose	Microsporidiose, CMV
6	Microsporidiose	Microsporidiose
7	Microsporidiose	Microsporidiose
8	Microsporidiose	Microsporidiose
9	Cryptosporidiose	Cryptosporidiose, CMV
10	Cryptosporidiose	Cryptosporidiose

11	Cryptosporidiose	Cryptosporidiose
12	Cryptosporidiose	Cryptosporidiose, CMV
13	MAI	MAI
14	MAI	MAI
15	MAI	MAI
16	Candidose	
17	Candidose	
18	Négative	CMV
19	Négative	CMV
20	Négative	CMV
21	Négative	CMV

MAI : *Mycobacterium avium* atypique, CMV : cytomégalovirus.

Tableau 12 : Résultats de l'étude cytologique et histologique des biopsies duodénales [53].

L'étude cytologique a permis d'effectuer le diagnostic des infections parasitaires et des mycobactérioses.

III-2-2- Intérêts de cette étude EF

La réalisation douce des appositions n'entraîne pas d'altération significative des biopsies, examinées ensuite en histologie ou en microscopie électronique.

Elle permet le recueil d'entérocytes en couches mono- ou multicellulaires et d'éléments libres inflammatoires du chorion.

Le diagnostic de la plupart des protozooses est donc possible par cytologie par apposition, comme sur brossage [47] [68]. Ceci permet une identification rapide et précise des parasitoses intracellulaires, souvent difficile en histologie, surtout en cas d'infestation locale de faible intensité.

L'aspect cytologique de *Cryptosporidium* est caractéristique et nous retrouvons une bonne corrélation avec le contrôle histologique [25] [81].

III-3- Dans l'étude EA2 [33]

On cherche à mettre en évidence une corrélation entre l'histopathologie et la symptomatologie, et l'infection à *Cryptosporidium parvum*.

Des biopsies sur différents organes ont été effectuées et les échantillons ont été colorés dans le mélange hématoxyline-éosine [so-da-ho].

Chez les quinze personnes présentant une infection à *Cryptosporidium*, l'étude a révélé l'existence d'autres infections (tableau 7).

Patient n°	Age (années)	Sexe	Date du diagnostic *	Autres Infections découvertes à l'autopsie	Cause du décès
1	37	M	5 semaines	PPC, CMV	PPC
2	62	M	< 2 mois	CMV	CMV disséminé
3	34	M	5 mois	PPC, CMV, IMA	encéphalite à CMV
4	46	M	2 mois	PPC, CMV, IMA, SK	Pneumonie suppurée
5	39	M	< 1 mois	PPC, Candida	PPC
6	4 mois	F	29 jours	Aucune	Pneumonie à <i>Klebsiella</i>
7	47	M	10 mois	PPC, CMV, SK	PPC
8	40	M	3 mois	PPC, CMV	PPC
9	66	F	< 20 jours	PPC, CMV, LM	Pneumonie polymicrobienne, PPC
10	27	M	4 mois	PPC, CMV, SK, Candida	Pneumonie à <i>Serratia</i> , PPC
11	29	M	9 mois	CMV, IMA, SK, LM, Candida	SK pulmonaire
12	29	M	3 mois	CMV (rétinite à)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
13	45	M	Autopsie	CMV, LM, <i>Aspergillus</i>	Pneumonie à <i>Aspergillus</i>
14	46	M	10 mois	CMV, Candida	Pneumonie suppurée
15	44	M	2 mois	<i>Cryptococcus</i>	<i>Cryptococcose</i> disséminée

* : temps écoulé entre le diagnostic de cryptosporidiose et la mort.

Abbréviations : PPC, pneumonie à pneumocystis ; CMV, cytomégalovirus ; IMA, infection à mycobactérie atypique ; SK, sarcome de Kaposi ; LM, lymphome malin.

Tableau 7 : Caractéristiques clinicopathologiques [33].

III-3-1- Observations faites dans EA2

Chez tous ces patients, les canaux biliaires extra-hépatiques avaient des parois épaissies.

A l'autopsie, les oocystes de *Cryptosporidium parvum* ont été retrouvés de l'oesophage au rectum, sans oublier le pancréas et le système biliaire (tableau 8).

Le site le plus fréquemment infesté était l'intestin grêle (13 cas) suivi des canaux biliaires extra- puis intra-hépatiques, du gros intestin, du pancréas, de l'estomac et, enfin, de l'oesophage (1 cas).

Patient n°	Oesophage	Estomac	Intestin grêle	Gros Intestin	Canaux biliaires extra hépatiques	Vésicule biliaire	Canaux biliaires intra hépatiques	Pancréas
1	O	-	+	+	O	O	-	-
2	O	-	+	-	-	-	-	-
3	-	-	+	+	+	O	+	-
4	-	O	+	-	O	O	-	-
5 †	-	-	-	-	φ	φ	-	φ
6	O	O	+	+	+	O	-	-
7	O	O	+	-	O	φ	φ	φ
8	-	-	+	+	+	Absent*	+	+
9 †	-	-	-	-	O	O	-	-
10	-	-	+	-	+	-	+	-
11	-	-	+	O	+	φ	+	φ
12	O	O	+	O	O	O	-	+
13	+	+	+	-	+	-	+	+
14	-	+	+	-	+	-	+	+
15	-	+	+	O*	+	O	+	+

Symboles : +, présent ; -, absent ; O, tissu non examiné ; φ, tissu inadapté à l'examen dû à une autolyse ou à une ulcération extensive.

* : Identification sur des biopsies antémortem.

† : Identification sur des échantillons de selles prélevés en antémortem.

Tableau 8 : Distribution de *Cryptosporidium parvum*, observée après autopsie [33].

Au niveau de l'intestin grêle, les modifications histologiques de l'atteinte parasitaire pourraient être caractérisées par des villosités aplaties avec des cryptes hyperplasiques.

D'autres modifications existent : atténuation, voire perte, de la bordure en brosse, nécrose épithéliale, infiltration de cellules inflammatoires dans la lamina propria.

La présence et le nombre d'organismes sont approximativement corrélés avec l'intensité de l'infection [19].

Il est important de noter que la muqueuse iléale est plus fréquemment et plus sévèrement affectée, ayant le plus grand nombre d'organismes et les modifications épithéliales les plus sévères.

III-3-2- Résultats de l'étude EA2

L'étiologie des différentes modifications pathologiques observées, peut aussi être d'origine autre que cryptosporidiale [49].

Ce que l'on peut en déduire est que la distribution anatomique de Cryptosporidium parvum dans le corps humain n'a pas encore été très bien étudiée.

Les principaux sites anatomiques de la cryptosporidiose sont donc, dans un ordre décroissant :

- l'intestin [52] [56],
- l'estomac [36] [59],
- le tractus biliaire et la vésicule biliaire [35],
- le pancréas [42],
- le tractus respiratoire [35] [42].

Le modèle de distribution du parasite suggère que le site primaire d'infestation est l'intestin grêle, mais il n'existe aucune explication satisfaisante concernant le rôle particulier d'un organe.

Comme nous avons pu le constater dans le tableau 6 [53], la cryptosporidiose, dans le SIDA, est souvent associée avec des infections à CMV, bien qu'il n'y ait pas de mise en évidence de synergie entre les deux [70] [84]. Des comparaisons ont été établies sur des coupes histologiques [39] : les atteintes dues à Cryptosporidium parvum sont limitées à l'épithélium avec une inflammation associée, mais il n'y a pas, comme pour le CMV, de nécrose tissulaire.

On sait déjà que les principales manifestations cliniques de la cryptosporidiose intestinale sont de sévères diarrhées aqueuses, une perte de poids et souvent une malabsorption. Cette pathogénie, mal connue, est d'ailleurs probablement multifactorielle.

Les diarrhées apparaissant chez des malades atteints de SIDA ne sont pas forcément attribuables à des agents pathogènes connus, bien que la majorité de ces patients ait des modifications histologiques évidentes, découvertes suite à des biopsies intestinales [11] [43] [44].

Les étiologies sont nombreuses : infection à CMV, invasions bactériennes, déficience en zinc, infections entériques non identifiées et infection primaire à VIH.

Dans le cas de la cryptosporidiose, le rôle possible d'une entérotoxine, pour justifier l'hypersécrétion, a été favorisé par la description de l'infection, même en l'absence de phénomène inflammatoire [12] [14] [28] [55].

Par ailleurs, la fréquence et la sévérité des atteintes de la muqueuse de l'intestin grêle chez plusieurs malades de l'étude américaine EA2, laisse suggérer que ces dommages contribuent directement à la diarrhée et à la malabsorption.

CHAPITRE III

- Etude clinique -

I- INTRODUCTION

Cette étude a été réalisée au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de GRENOBLE (CHRU), au sein du service des Maladies Infectieuses du Pr MICOUD.

Il s'agit d'une étude rétrospective sur la pathologie provoquée par un parasite responsable d'une infection opportuniste, *Cryptosporidium parvum*, au cours du Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise ou SIDA.

Nous avons arrêté l'étude du 1^{er} Janvier 1992 au 30 Juin 1996. Elle porte sur trente dossiers de patients VIH⁺ et pour lesquels la recherche d'oocystes de cryptosporidies a été positive.

Le choix de l'étude de la cryptosporidiose au cours du SIDA s'est fait car il a été remarqué au Laboratoire de Parasitologie du Pr AMBROISE-THOMAS, au sein de l'unité de Médecine Interne du 4^{ème} C du Pr MICOUD ainsi qu'au CISH du Dr. LECLERCQ, une recrudescence très nette des cas de cryptosporidiose, associés à une pathologie marquée et très inquiétante pour le médecin puisque sans thérapeutique efficace.

Notre but était de corréler l'état du statut immunitaire associé à la survenue de la cryptosporidiose, de définir la gravité clinique de cette maladie opportuniste ainsi que son incidence sur la survie et d'étudier l'efficacité du traitement.

II- MATERIELS ET METHODES

Cette étude est réalisée sur une population de trente patients, tous VIH⁺. Parmi ces trente personnes, on compte quatre femmes et vingt-six hommes, tous âgés de plus de vingt-deux ans.

L'âge moyen de notre échantillon est, au moment du diagnostic de SIDA, de 37 ans ($\pm 9,9$ ans), 38 ans ($\pm 10,2$ ans) pour les hommes et 31 ans ($\pm 3,5$ ans) pour les femmes. Au moment du diagnostic de la cryptosporidiose, l'âge moyen de l'ensemble de cette population est de 38 ans ($\pm 9,6$ ans), 40 ans ($\pm 9,7$ ans) pour les hommes et de 31, ans ($\pm 3,20$ ans) pour les femmes.

Le mode de contamination par le virus VIH de ces trente est séparé en trois grandes catégories : dix-sept personnes (toutes de sexe masculin) auraient été contaminées par des rapports homo- ou bisexuels ; sept personnes (dont deux femmes) toxicomanes se sont contaminées par voie intra-veineuse et enfin six autres (dont deux femmes) auraient été contaminées par des rapports hétérosexuels.

Le diagnostic de cryptosporidiose a été porté dans 100 % des cas à partir de la découverte du parasite dans les selles de patients. La technique utilisée au CHRU de GRENOBLE (Laboratoire de Parasitologie) est :

- concentration par la méthode de Baillenger de tous les échantillons de selles,
- frottis à partir du culot,
- coloration par la technique de ZIEHL-NIELSEN modifiée (annexe 2).

Cette technique a d'ailleurs souvent permis un diagnostic plus précoce que l'anatomopathologie, qui a quelquefois besoin des résultats parasitologiques pour affirmer la présence de Cryptosporidium parvum, organisme pas toujours facilement identifiable.

Le dépistage se fait sur des prélèvements répétés à quelques jours d'intervalle, devant une symptomatologie évocatrice. Des confirmations diagnostiques ont été nécessaires dans quatre cas, confirmations faites sur des biopsies hépatique (1 cas), colique (1 cas) et duodénales (2 cas).

L'étude des trente dossiers a été appréhendée à partir d'une fiche base (annexe 5) complétée de différentes données telles :

- l'évolution du poids et du taux de CD_4 / mm^3 ,
- la température,
- les symptômes en rapport avec la pathologie étudiée (données extraites de la littérature),
- les taux enzymatiques des transaminases, γ -glutamyl-transférases (ou GGT) et des phosphatases alcalines (ou PAL),
- la date de recherche du parasite,

...

Les outils informatiques de traitement des données sont les logiciels WORD 6.0, EXCEL 5.0 et KALEIDAGRAPH 3.0 pour P.C.

III- RESULTATS

III- 1- Cryptosporidiose et infection par le VIH

Au cours de cette étude, la cryptosporidiose a été la pathologie indicatrice du SIDA chez six personnes (20 % de notre échantillon) dont trois femmes.

Par différentes complications (cholangite sclérosante, syndrome de malabsorption...) cette parasitose aura été la cause du décès de dix personnes (de moyenne d'âge 36 ans $\pm$ 6,7 ans) soit 33,33 %, dont deux femmes. Parmi ces dix personnes, on a attribué la cause du décès de sept patients à une cholangite sclérosante à Cryptosporidium parvum (dont deux femmes), les trois autres étant décédés d'autres complications de la pathologie

Au total vingt-et-une personnes de notre étude sont décédées ; Cryptosporidium parvum est donc l'agent responsable de la mort de 47,62 % de notre échantillon.

III-2- SIDA et perte de poids (annexe 6)

En observant l'évolution des courbes de poids au cours de l'infection par le VIH, on a pu observer dans notre population une perte de poids moyenne de 24,52 % ($\pm$ 14,23 %) par rapport au poids de base donné dans les dossiers cliniques, avec pour les hommes un amaigrissement moyen de 24,05 % ($\pm$ 14,23 %) et pour les femmes une perte de poids moyenne de 27,59 % ($\pm$ 16,01 %).

III-3- Cryptosporidiose et lymphocytes CD₄

En comparant les courbes d'interprétation des données cliniques de chaque malade (annexe 7), une chose est frappante : les courbes d'évolution du nombre de lymphocytes CD₄ / mm³ suivent les mêmes variations, ou presque, que celles du poids des patients, et ceci dans vingt-sept cas sur trente.

Au moment du diagnostic de cryptosporidiose, le taux moyen de CD_4 / mm^3 était inférieur à 180 chez des malades présentant de fortes diarrhées et chez deux patients sans diarrhées.

Trois autres personnes ayant des taux plus élevés sont celles pour qui les courbes de poids et de taux de CD_4 / mm^3 n'évoluaient pas parallèlement (parmi ces trois personnes une seule ne souffrait pas de diarrhées).

III-4- Cryptosporidiose et symptomatologie

III-4-1- Diarrhées

Vingt-sept patients ont présenté des épisodes diarrhéiques importants justifiant la recherche de *Cryptosporidium parvum*. Les trois autres, tous des hommes, présentaient d'autres symptômes.

Sur ces vingt-sept personnes, vingt-six perdent beaucoup de poids et un seul reste à un poids stable. La moyenne de perte de poids des trente personnes de l'étude, après diagnostic de cryptosporidiose, est de 14,94 % ($\pm 9,71$ %). Cette valeur est de 14,27 % ($\pm 9,34$ %) pour les hommes et de 19,31 % ($\pm 12,41$ %) pour les femmes.

Concernant les trois autres patients, on a évoqué une cryptosporidiose devant une symptomatologie de douleurs abdominales dans deux cas et l'orientation clinique n'est pas précisée pour le troisième. Les diagnostics se font sur des échantillons de selles des malades.

La perte de poids dans les trois cas est négligeable (1,94 % $\pm$ 2,92 %).

III-4-2- Diarrhées et recherche de parasite

Il semblerait que la cryptosporidiose soit restée pendant quelques années une notion clinico-pathologique qui n'a pas suscité l'intérêt immédiat des cliniciens.

Pendant longtemps, si un malade VIH⁺ présentait des diarrhées, le clinicien demandait un bilan bactériologique initial avec recherche de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* et secondairement, en

l'absence de positivité, un bilan parasitologique des selles était alors envisagé avec recherche de parasites intestinaux : Cryptosporidium parvum, Isospora belli, microsporidies, amibes. Actuellement, la prise en charge des patients a changé et les deux bilans sont effectués en parallèle, devant toute perte de poids importante, ceci même en l'absence de diarrhées.

C'est ainsi que dans notre population de vingt-sept personnes diarrhéiques, dix-huit diagnostic de cryptosporidiose ont été portés après un bilan bactériologique initial. La moyenne du délai de diagnostic par rapport au début de la symptomatologie est de 6,88 mois ($\pm 6,08$ mois). Pour les neuf autres personnes, le diagnostic a été fait très rapidement après le début des diarrhées (ces neuf dossiers étaient parmi les plus récents de notre étude).

En ce qui concerne les trois malades sans diarrhée, la recherche de Cryptosporidium parvum s'est faite au moment des symptômes évocateurs observés.

III-4-3- Cryptosporidiose et cholangite

La cholangite sclérosante est une pathologie du SIDA qui peut être due au cytomégalovirus ou à Cryptosporidium parvum.

Dans notre étude, huit patients ont fait un cholangite à Cryptosporidium parvum (de moyenne d'âge de 39,38 ans $\pm 8,96$ ans), soit 26,67 % de notre population. Cette pathologie a été à l'origine de la mort de sept de ces huit malades, sur vingt-et-un décès au total, soit 23,33 % de notre échantillon et 33,33 % du nombre de mort.

Le diagnostic de cholangite a été posé chez huit patients et confirmé par un diagnostic parasitologique dans tous les cas.

Une échographie des voies biliaires confirme le diagnostic, soit 37,50 % des diagnostics. Cette échographie montrait un épaissement des parois des canaux biliaires et/ou des anomalies de calibre de la lumière biliaire (avec des dilatations intrahépatiques). Cette détection a été effectuée pour trois des huit patients. Pour les cinq autres personnes, la symptomatologie et la détection du parasite au niveau hépatique a permis de confirmer la suspicion clinique. Le diagnostic parasitologique a été positif dans les huit cas de cholangite.

La cause du décès a, en outre, été attribuée à Cryptosporidium parvum dans dix cas sur vingt-et-un décès. La moyenne d'âge de la mort de ces personnes est de 36 ans ($\pm 6,7$ ans) ; elle est de 37 ans ($\pm 7,2$ ans) pour les hommes (huit patients) et de 34 ans ($\pm 4,2$ ans) pour les femmes (deux patientes).

Chez les sept malades décédés suite à une cholangite sclérosante, la moyenne d'âge est de 37 ans ($\pm 7,9$ ans) ; elle est de 39 ans ($\pm 9,0$ ans) pour les hommes (cinq personnes) et de 34 ans ($\pm 4,2$ ans) pour les femmes (deux personnes).

Quand aux trois autres personnes décédées de cryptosporidiose, il s'agit de trois hommes, la moyenne d'âge du décès est de 35 ans ($\pm 1,7$ ans).

Nous avons remarqué que la moyenne d'âge de décès de toute la population de cet échantillon est de 39 ans ($\pm 9,1$), donc bien supérieure à celles observées dans les cas de cryptosporidiose (cholangite ou autre).

Notons enfin que la moyenne d'âge de la mort des onze autres décès non imputables à la cryptosporidiose, est de 42 ans ($\pm 10,3$ ans) ; elle est de 45 ans ($\pm 9,0$ ans) pour les hommes (neuf malades) et de 29 ans ($\pm 0,7$ ans) pour les femmes (deux personnes).

La moyenne de survie des patients atteints du SIDA chute donc de presque six années si le diagnostic de cryptosporidiose est porté et ce, dans le cadre de cette étude..

III-4-4- Cryptosporidiose et bilan hépatique

Sur notre population de trente personnes, huit seulement avaient un bilan hépatique normal (soit 26,67 %). Les vingt-deux autres patients avaient un bilan très perturbé au niveau des transaminases (TGO et TGP), phosphatases alcalines (PAL) et γ -glutamyl-transférase (GGT).

Parmi cette population de trente personnes, dix patients ont eu une augmentation nette des enzymes hépatiques associée à la cryptosporidiose.

Dans notre groupe de vingt-deux personnes, des pics enzymatiques étaient enregistrés à différents moments : décès (10 cas soit 45,6 %), douleur dans la fosse iliaque droite (1 cas soit 4,5 %), diagnostic de cholangite (2 cas soit 9,1 %), diagnostic de cryptosporidiose (3 cas soit 13,6 %), premières diarrhées (2 cas soit 9,1 %), autre diagnostic évoqué (1 cas soit

4,5 %) et enfin trois personnes avaient un bilan hépatique constamment perturbé (soit 13,6 %).

Remarque : Les valeurs normales des enzymes étudiées sont, pour le service d'enzymologie du CHRU de :

TGO : 0 à 14 UI/l

TGP : 4 à 21 UI/l

PAL : 20 à 76 UI/l

GGT : 0 à 35 UI/l.

III-4-5- Cholangite et bilan hépatique

Huit personnes ont donc fait une cholangite sclérosante à Cryptosporidium parvum.

Chez le patient toujours vivant au 30 Juin 1996, les valeurs enzymatiques allaient de 1 à 5 fois la normale pour les transaminases, jusqu'à 16 N pour les PAL et 31 N pour les GGT.

Chez nos sept autres patients, les valeurs des transaminase étaient certes élevées (de 1 à 19 N pour les TGO et de 1 à 13 N pour les TGP) mais celles des GGT et des PAL étaient particulièrement inquiétantes (respectivement de 1 à 74 N et de 1 à 42 N).

On notera que pour les trois autres personnes décédées de cryptosporidiose mais pas de cholangite, les bilans enzymatiques étaient moins perturbés (dans l'ensemble de 1 à 6 N pour chaque enzyme).

III-4-6- Cryptosporidiose et fièvre

Nous tenons à souligner que quatorze personnes de notre étude présentaient une température supérieure à 38°C au moment de l'apparition des premières diarrhées.

III-4-7- Cryptosporidiose et traitement

Le traitement symptomatique de la diarrhée à Cryptosporidium parvum est la paromomycine (HUMATIN[®], HUMAGEL[®]).

Dans notre étude, trois personnes ne présentaient pas de diarrhées, elles n'ont donc pas reçu de traitement.

Parmi les vingt-sept personnes ayant eu des diarrhées, seules seize (soit 59,26 %) ont reçu de la paromomycine à la dose de 25-35 mg/kg/j. Reste à savoir si le traitement a entraîné une diminution des diarrhées. Il apparaît que la réponse est oui seulement chez 50 % des personnes traitées, non chez 44 % et ceci n'a pas été précisé pour le dernier cas.

La réponse au traitement, dans les cas où il a été efficace, n'a été rapide (c'est-à-dire dans les quelques jours qui ont suivi) que pour une personne (soit 6,25 % des personnes traitées) et plus tardive pour les sept autres personnes (soit 43,75 % des personnes traitées) avec un délai moyen d'action de 57,85 jours ($\pm 25,14$ jours).

Pour cinq personnes, le traitement n'a pas du tout été efficace et ce critère d'efficacité n'apparaît pas dans les trois derniers dossiers.

Dans cette même sous-population, onze personnes n'ont pas reçu de traitement anti-cryptosporidial. Avons-nous pu mettre en évidence une résolution spontanée des diarrhées ? La réponse est positive dans deux cas (soit 18,18 %) et négative dans les neuf autres cas (soit 81,82 %).

Le fait que ces personnes n'aient pas reçu de traitement par la paromomycine pourrait s'expliquer comme ceci :

- ces patients ont eu un diagnostic de cryptosporidiose au cours de l'année 1992 et l'on n'avait pas encore prouvé l'efficacité de la paromomycine : 5 cas,
(les premiers articles relatant cette éventuelle efficacité ne datent que du premier semestre 1993)
- ces personnes étaient toutes à un stade très avancé du SIDA et en toute fin de vie : 6 cas,
(il s'est avéré que le diagnostic de cryptosporidiose n'a pu être porté que dans les tous derniers mois de la vie de ces six personnes avec un délai moyen de survie de moins de deux mois).

IV- DISCUSSION

Les observations effectuées après analyse des dossiers cliniques ne peuvent être que parcellaires étant donné l'échantillonnage restreint, le manque d'analyse comparative avec une population HIV sans cryptosporidiose, difficile à définir objectivement dans le cadre de ce travail rétrospectif.

Les ambitions sont donc modestes et nous sommes aussi très conscient du caractère subjectif de l'analyse des dossiers cliniques dans ce cadre très particulier des sujets VIH⁺.

Effectivement ces malades ont des dossiers importants, un suivi clinique et thérapeutique pas toujours homogène en particulier :

- plusieurs soignants se sont occupés de chaque malade au fil du temps (médecins hospitaliers ou généralistes, étudiants en médecine, personnels infirmiers, psychologues...) et ont eu à chaque fois une approche différente du malade et de la cryptosporidiose associée au SIDA (l'approche de cette pathologie s'est modifiée entre 1992 et 1996)
- la diarrhée étant un phénomène relativement fréquent chez le malade VIH⁺, des omissions ont été faites quant à leur report sur le dossier clinique,

L'intrication physiopathologique des multiples surinfections diagnostiquées ou non permet difficilement de reporter à une seule infection opportuniste les altérations cliniques observées.

En fonction de l'ensemble des précautions nécessaires à l'interprétation des données obtenues, nous avons cependant confronté nos observations à celles de la littérature scientifique et tenter d'obtenir de cette étude le maximum de renseignements.

IV-1- Résultats de l'étude et données de la littérature

Comme nous pouvons le voir dans l'annexe 8, la cryptosporidiose est une pathologie relativement fréquente chez les malades du SIDA au niveau du CHRU de GRENOBLE, et correspond sensiblement à l'incidence rapportée dans des villes comme PARIS ou LYON (environ 15 %).

Au niveau de la symptomatologie, on observe effectivement chez presque la totalité de nos patients des symptômes comme diarrhées, vomissements, douleurs abdominales, perte de poids jusqu'à 50 % du poids de base (annexe 6), déshydratation, insuffisance rénale fonctionnelle, hypokaliémie (présente chez dix-sept malades à des taux variant parfois de 1,5 à 3,0 mmol/l, pour des valeurs normales comprises entre 3,5 et 4,5 mmol/l)

Dans trois cas de personnes décédées de cholangite sclérosante, on a noté au moment de la mort une hyperkaliémie variant entre 7,0 et 7,8 mmol/l, ce qui représente un pourcentage très important de 42,85 % des décès secondaires à une cholangite.

Dans les cas particuliers, nous remarquons également que seul un patient sur les trente a pris du poids pendant l'évolution de sa pathologie (+ 13,89 %), même après le diagnostic de cryptosporidiose (+ 1,39 %). Ce malade (patient n° 30) ne présentait pas de diarrhées et son taux de CD₄ n'a jamais été inférieur à 400 / mm³.

On pourra, par ailleurs, souligner que les données bibliographiques indiquaient une valeur seuil du taux de CD₄ / mm³ en deçà de laquelle la pathologie menaçait le diagnostic vital des malades. Cette valeur seuil était de 180 CD₄ / mm³. Dans notre étude, vingt-sept malades sur les trente avaient un taux de CD₄ bien inférieur à 180 / mm³, soit 90 % de notre population. Les trois autres cas sont d'ailleurs ceux qui ne présentaient pas de diarrhées et étaient toujours vivants au 30 Juin 1996, date de la fin de cette étude. Ces trois personnes illustreraient ce que différents auteurs ont appelé formes a- ou pauci-symptomatiques (puisque, je le rappelle, deux souffraient de douleurs abdominales et pour le troisième rien n'était précisé clairement).

En ce qui concerne les formes symptomatiques, le caractère de priorité pour le clinicien est représenté par la cholangite sclérosante à *Cryptosporidium*. Notre étude confirme bien l'existence d'une cholestase importante, associée à ces signes cliniques puisque dans le cas de nos patients, la cholestase hépatique était majeure, ceci dans 87,5 % des cas (annexe 9).

Toutefois, il est important de signaler que les perturbations hépatiques ne peuvent être imputés à la cryptosporidiose. En effet, beaucoup de facteurs peuvent le perturber :

- certains pathogènes : hépatites, autres infections opportunistes (CMV, toxoplasmose, pneumocystose, mycobactériose, infection par le BK...),
- les traitements : AZT[®], DDI, BACTRIM[®], TRIFLUCAN[®], ..., et ces malades sont tous polymédicamentés.

Nous signalons également dans nos résultats la concordance entre l'apparition des premières diarrhées et de température supérieure à 38°C chez quatorze de nos patients. Or les diarrhées à *Cryptosporidium* sont classiquement décrites comme non fébriles ou sub-fébriles.

Mais il nous paraît trop étrange que ces deux phénomènes se produisent simultanément dans 46,67 % des cas de ce travail, pour ignorer ce fait et se plier aux résultats d'autres études. Nous pouvons regretter ici que ce travail soit rétrospectif, et il ne nous semble pas inintéressant d'y prêter attention dans les mois et années à venir.

Pour terminer cette comparaison avec la littérature, nous voudrions parler du traitement de la cryptosporidiose par la paromomycine. cet antibiotique appartient à la famille des aminoglycosides et il n'est pas très bien absorbé per os, ce qui explique l'importance des doses prescrites.

Notre étude montre également des cas d'amélioration clinique des patients traités, mais seulement dans 50 % des cas, ce qui semble peu.

On est amené à se demander si, dans les cinquante autres pourcents, il n'y aurait pas, et ce ne sont que des hypothèses, une variation génétique au niveau de chaque individu faisant que le parasite est plus facilement pathogène ou une mutation au niveau du parasite lui-même, le rendant résistant au traitement.

Ce même raisonnement est également valable pour nos deux patients non traités qui résolvent spontanément leurs diarrhées.

Cette notion de sensibilité individuelle est à mettre en avant en ce qui concerne également les critères de survenue de la cryptosporidiose. Dans les données bibliographiques en notre possession, il était précisé qu'une prophylaxie médicamenteuse de la toxoplasmose ou de la pneumocystose constituait un facteur favorisant à la survenue d'une cryptosporidiose ; or quel patient atteint de SIDA n'est pas sous chimioprophylaxie pour ces deux pathologies gravissimes, et tous ne font pas de cryptosporidiose...

IV-2- Résultats de l'étude à propos de la cholangite sclérosante à *Cryptosporidium*

Avant de nous attacher plus particulièrement à la complication majeure de la cryptosporidiose qu'est la cholangite sclérosante, voyons ce que notre étude apporte de nouveau sur la cryptosporidiose-maladie.

La première chose que nous observons est la chute importante de la moyenne d'âge de décès des dix personnes mortes des suites de leur cryptosporidiose (annexe 10).

Dans le cas des onze personnes décédées d'une autre affection, l'âge moyen au moment du décès était de 42 ans ($\pm 10,3$ ans) et il n'est que de 36 ans ($\pm 6,7$ ans) chez les dix personnes mortes des suites d'une cryptosporidiose.

De même, on notera que, dans ce travail, la durée moyenne de survie après l'entrée dans le SIDA est de 17,95 mois ($\pm 14,05$ mois) et qu'après le

diagnostic de cryptosporidiose, cette moyenne chute à 6,76 mois ($\pm 7,91$ mois) (annexes 11 et 12).

La cryptosporidiose paraît contribuer grandement à diminuer la survie des patients atteints mais elle survient souvent tardivement chez des patients sévèrement immunodéprimés et dont la survie à long terme est compromise.

La cryptosporidiose est considérée le plus souvent comme une pathologie opportuniste d'apparition tardive chez les sujets sidéens, cependant, dans notre étude, elle a été la première affection opportuniste pour six personnes. Le délai moyen d'apparition de la parasitose dans le reste de la population de cette étude est de 14,47 mois.

Le diagnostic de cholangite a donc été porté chez huit patients de notre échantillon. La question que l'on peut se poser est de savoir si chez ces personnes Cryptosporidium est bien l'agent responsable de la cholangite ou si l'on peut attribuer cette complication à un autre pathogène, le cytomégalovirus notamment. Voici dans le tableau ci-dessous les affections associées à la cryptosporidiose chez ces huit malades.

Patient N°	Candidose	Toxoplasmose	Pneumocystose	Myco- bactériose	Infection à CMV
2	x	x	x		rétinite
3	x			x	rétinite
12	x			x	digestive
13	x				
14	x			x	rétinite
16	x				
18	x		x		
20					non précisée mais présente

Le doute peut donc subsister quant à l'implication de Cryptosporidium parvum dans la cholangite sclérosante de deux de ces huit patients, un d'eux présentant une infection digestive à CMV (patient n° 12). Concernant le patient n°20, ce doute a été écarté par une biopsie confirmant la présence du parasite opportuniste au niveau des voies biliaires.

Nous avons également observé une plus grande sévérité de la cryptosporidiose dans la population féminine (quatre personnes). La moyenne de survie de ces quatre femmes à partir du diagnostic de SIDA n'est que de 8,00 mois ($\pm 4,83$ mois). Cette moyenne n'est plus que de 6,50 mois ($\pm 4,93$ mois) après le diagnostic de cryptosporidiose, et enfin la moyenne de survenue de la cryptosporidiose après l'entrée dans le SIDA chute à 1,75 mois ($\pm 3,50$ mois) contre 16,42 mois ($\pm 28,87$ mois) pour les hommes.

L'efficacité modérée de la paromomycine (50 % dans notre étude) ainsi que l'évolution souvent sévère de cette parasitose associée au SIDA ont aussi été sans conteste démontrées au cours de cette étude.

Malgré le faible échantillonnage, nous avons constaté des disparités importantes dans les manifestations cliniques qui peuvent être liées aux caractéristiques propres à l'hôte et très certainement aussi aux différences de virulence des cryptosporidies.

CONCLUSION

La cryptosporidiose est une maladie opportuniste qui mérite un intérêt tout particulier des équipes soignantes ainsi que des personnels des laboratoires concernés par son diagnostic (Parasitologie, Anatomopathologie...) puisque ce travail, comme d'autres auparavant, met bien en évidence le caractère létal de cette pathologie.

Il apparaîtrait que cette parasitose suscite à travers le monde un intérêt croissant, à la vue du nombre de plus en plus important de publications à son sujet.

Malheureusement, à l'heure actuelle, la physiopathologie de la cryptosporidiose reste assez mal connue et relativement complexe.

Plusieurs questions restent cependant sans réponse :

- par quels médiateurs Cryptosporidium parvum stimule-t-il la sécrétion de Cl^- et inhibe-t-il la réabsorption de Na^+ ?
- quel rôle joue le système immunitaire de l'hôte dans les dommages causés à la muqueuse intestinale ? Quelles sont les interactions hôte-parasite ?
- existerait-il des souches de Cryptosporidium parvum plus virulentes que d'autres ou des espèces différentes à potentialité pathogène plus atténuée ?
- comment rechercher des molécules efficaces, voire peut-être un jour un vaccin protecteur ?
- comment lutter efficacement pour diminuer les risques de contamination ?

...

Si l'on arrivait à résoudre ces questions, cela permettrait peut-être le développement de thérapeutiques efficaces pour combattre cette parasitose, à l'heure actuelle toujours incurable chez le malade immunodéprimé.

LISTE DES FIGURES
ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES :

	<u>Page</u>
- Figure 1 : Trophozoïte après invasion de la région microvillositaire d'un entérocyte (ultrastructure).	5
- Figure 2 : Etude ultrastructurale d'une muqueuse intestinale parasitée par <u>Cryptosporidium parvum</u> .	6
- Figure 3 : Vue schématique d'un oocyste de <u>Cryptosporidium parvum</u> .	7
- Figure 4 : Déroulement de la nouvelle méthode de concentration.	23
-Figure 5 : Corrélation entre la concentration fécale en oocystes et le pourcentage de muqueuse intestinale recouverte de <u>Cryptosporidium parvum</u> .	41

LISTE DES TABLEAUX

	Page
- Tableau 1 : Principales espèces du genre <i>Cryptosporidium</i> d'intérêt médical et vétérinaire	4
- Tableau 2 : Cycle biologique de <u><i>Cryptosporidium parvum</i></u> .	5
- Tableau 3 : Indications du diagnostic biologique de la cryptosporidiose en médecine humaine.	15-16
- Tableau 5 : Comparaison entre le nombre attendu et le nombre observé d'oocystes de <u><i>Cryptosporidium parvum</i></u> .	21
- Tableau 6 : Comparaison entre la nouvelle méthode de concentration et la méthode standard. (1)	24
- Tableau 7 : Comparaison entre la nouvelle méthode de concentration et la méthode standard. (2)	24
- Tableau 8 : Caractéristiques cliniques et démographiques des patients SIDA ayant une cryptosporidiose, initialement traités par paromomycine ou placebo.	34
- Tableau 9 : Données entre avant et après les quatorze jours de traitement par la paromomycine chez dix malades du SIDA.	35
- Tableau 10 : Douze patients VIH ⁺ avec une infection à <u><i>Cryptosporidium parvum</i></u> .	41
- Tableau 11: Effets du traitement par la paromomycine sur l'excrétion des oocystes et le poids des selles.	42
- Tableau 11: Effets du traitement par la paromomycine sur l'excrétion des oocystes et le poids des selles.	42

- Tableau 12:	Résultats de l'étude cytologique et histologique des biopsies duodénales.	43-44
- Tableau 13:	Caractéristiques clinico-pathologiques.	45
- Tableau 14 :	Distribution de <u>Cryptosporidium parvum</u> , observée après autopsie.	46

ANNEXES

ANNEXE 1

Décontamination des endoscopes [48]I- Technique manuelle

- 1- Après chaque utilisation : le fibroscope est essuyé avec une compresse non stérile imbibée de solution décontaminante.
- 2- Les canaux internes sont nettoyés par aspiration de la solution décontaminante en chassant l'air pour permettre le contact parois / solution.
- 3- Immersion pendant 5 minutes du fibroscope (norme AFNOR NF T 72-170 (171)).
- 4- Il est ensuite écouvillonné, brossé dans la solution décontaminante et rincé à l'eau courante ou dans un bac de rinçage contenant l'eau du réseau renouvelée à chaque endoscope.
- 5- On trempe le fibroscope 15 minutes dans une solution désinfectante.
- 6- On le rince par de l'eau courante ou dans un bac.
- 7- On sèche les canaux par aspiration puis insufflation d'air ambiant à la seringue.
- 8- le séchage externe est effectué à l'aide d'une compresse non stérile.

Les produits décontaminants et désinfectants utilisés sont :

- FENOLINE® 2% à base de dérivés phénoliques,
- SOLUCIDE® à 1% de glutaraldéhyde,
- HEXANIOS G+® à 0,5% d'ammonium quaternaire et de biguanide,
- SEKUCID® à 2% de glutaraldéhyde.

Ces quatre produits répondent aux normes AFNOR.

... / ...

II- Technique semi-automatique

- 1- Le fibroscope est rincé à l'eau courante, écouvillonné et brossé environ 1 minute puis placé dans l'ETD (machine OLYMPUS) où il subit un cycle de 30 minutes contenant : une décontamination interne et externe, un rinçage à l'eau, une désinfection thermochimique (50-60°C) avec un produit à base de glutaraldéhyde et un rinçage à l'eau.
- 2- Le séchage des canaux se fait par insufflation d'air sec obtenu après passages successifs sur un filtre à charbon puis sur un filtre HEPA à une température de 50-60°C pendant 15 minutes.
- 3- le séchage externe se fait à l'aide d'une compresse non stérile.

Les endoscopes sont ensuite rangés, suspendus dans une armoire spécifique ou à plat dans un plateau individuel.

ANNEXE 2

Technique de coloration de ZIEHL-NIELSEN modifiée [16]

Réactifs :

Fuschine phéniquée

- Solution A : 15 g de fuschine basique dans 100 ml d'éthanol 95°.

Dissoudre en broyant dans un mortier.

- Solution B : Eau phéniquée à 5%.

Fuschine de ZIEHL : 100 ml de solution A + 900 ml de solution B

Laisser reposer quelques jours. Filtrer. Dater le flacon.

N.B.: Pour vérifier la stabilité dans le temps, il convient d'utiliser des lames témoins positives.

Bleu de méthylène à 0,3% ou vert malachite à 5% dans l'eau distillée.

Matériel : 4 bacs de coloration :

- méthanol,
- fuschine phéniquée,
- acide sulfurique à 2%,
- contre-colorant.

Technique :

- ① Frottis mince de selles fraîches diluées ou culot de Ritchie (une goutte) étalée sur lame.
- ② Laisser sécher sur platine chauffante.
- ③ Fixer 10 minutes à l'alcool méthylique.
- ④ Sécher sur platine.
- ⑤ Colorer la lame dans la fuschine phéniquée pendant une heure.
- ⑥ Rincer à l'eau du robinet.
- ⑦ Différenciation dans l'acide sulfurique à 2% pendant 30 secondes à deux minutes.
- ⑧ Rincer.
- ⑨ Contre-coloration au bleu de méthylène (ou au vert malachite) pendant une minute et rincer.
- ⑩ Laisser sécher.

ANNEXE 3

Technique de coloration à l'auramine [16]

Nécessité d'un microscope à fluorescence.

Observation à grossissement X25

Réactifs :

Rouge thiazine ou auramine :

- | | | |
|----------------|----------------------------|--------|
| - Solution 1 : | chlorure de magnésium | 2g |
| | eau distillée | 500 ml |
| - Solution 2 : | acide phéniqué | 10 g |
| | eau distillée | 500 ml |
| | rouge thiazine ou auramine | 1 g. |

Verser la solution 2 lentement dans la solution 1 et filtrer.

A renouveler chaque semaine.

Acide alcool : à changer tous les jours.

- | | |
|------------------|--------|
| Alcool éthylique | 200 ml |
| HCl | 1 ml |
| NaCl | 1 g. |

Technique :

- | | |
|------------------------------|--------------------|
| ① Fixer à l'alcool éthylique | 5 min. et sécher |
| ② Auramine | 20 min. |
| ③ Deux passages à l'eau | |
| ④ Acide alcool | 4 min. |
| ⑤ Passage à l'eau | |
| ⑥ Rouge thiazine phéniqué | 4 min. |
| ⑦ Acide alcool | quelques secondes. |
| ⑧ Deux passages à l'eau | |
| ⑨ Sécher à l'obscurité. | |

ANNEXE 4

Techniques de confirmation de diagnostic [21]

I- Technique de HEINE :

- faire un mélange soigneux des selles avec un volume égal de fuschine phéniquée.
- étaler en frottis minces sur plusieurs lames ; laisser sécher.
- déposer une goutte d'huile sur la préparation et recouvrir d'une lamelle.
- lire au grossissement X400 en lumière blanche ou en contraste de phase, dans les 10 minutes qui suivent la fin de la préparation.

En microscopie à fond clair, les oocystes apparaissent non colorés et très réfringents sur le fond rose de la préparation. En microscopie à contraste de phase, ils apparaissent, sur fond noir, très brillants avec un point rouge central.

II- Technique de KÖSTER

- faire un étalement de la selle à étudier.
- fixer au méthanol 3 à 5 minutes.
- laisser sécher à température ambiante.
- colorer 5 minutes avec le réactif suivant :
 - solution aqueuse de safranine à 2,5% : 2 volumes
 - solution de potasse à 5 ou 6% : 5 volumes.
- rincer à l'eau.
- différencier dans l'acide sulfurique à 0,1% pendant 10 secondes.
- rincer à l'eau.
- contre-colorer avec une solution de vert malachite à 5% pendant 10 à 15 secondes.
- laver à l'eau.
- sécher.

Les oocystes apparaissent colorés en rose orangé, brillants, dans un halo clair, sur un fond vert pâle.

... / ...

III- Coloration au Giemsa

- faire un ou deux frottis des selles à examiner.
- recouvrir d'alcool méthylique et laisser sécher.
- recouvrir de la solution de Giemsa.
- laisser agir 10 minutes pour le Giemsa rapide ou 20 minutes si on emploie le Giemsa lent.
- rincer à l'eau neutre.

Les oocystes apparaissent colorés en rose ou en violet plus ou moins foncés ; le cytoplasme est granuleux avec une zone centrale plus claire. Le corps résiduel est en général très apparent ; les sporozoïtes sont colorés en rouge foncé ; mais certaines formes se colorent mal et rendent le diagnostic très difficile.

Solution de Giemsa :	- Giemsa R A L	15 gouttes
	- eau neutre	10 ml.

Eau neutre :

Solution I : phosphate disodique anhydre	9,5 g‰
--	--------

Solution II : phosphate monosodique	9,2 g‰.
-------------------------------------	---------

Pour obtenir une solution à pH 7,2 mélanger :

Solution I	72 ml
------------	-------

Solution II	28 ml
-------------	-------

Eau distillée	900 ml.
---------------	---------

ANNEXE 5

Exemple de fiche ayant servi à la base de l'étude des dossiers cliniques

FICHE MALADE

Dossier n°:

SEXE :

Date de naissance :

POIDS initial :kg

SIDA depuis : an(s) et mois

Mode de contamination : Rapports sexuels eau nosocomiale autre

EPIDEMIOLOGIE :

- Séropositif depuis :

- Pathologie faisant entrer dans la maladie :

Cryptosporidiose	Autre

- Taux de CD₄ / mm³ :

- Traitement antiviral : Date de début du traitement Date de fin

- Autre infection associée : CMV ...

- Si décès, cause :

CRYPTOSPORIDIOSE :

- Diarrhée depuis :

Volume des selles : 1 / j

et traitement prescrit :

... / ...

... / ...

- Si diarrhée : recherche de cryptosporidies effectuée ?

OUI	NON

- Cryptosporidies détectées mois après le début des diarrhées
(Nombre de mois entre la maladie et le diagnostic)

- Perte de poids : - kg
- %

- Troubles hydroélectrolytiques
Deshydratation
Insuffisance rénale
Acidose métabolique
Hypokaliémie et taux en mmol / l
Malabsorption
Augmentation des PAL
Augmentation des GGT

OUI	NON

- Signes accompagnateurs :

Vomissements	
Douleurs abdominales	
Fièvre	

- Traitement anticryptosporidial éventuel :

Dose / j :

- Localisation / dissémination :

Intestinale	Cholédoque	Pulmonaire	Canaux biliaires	Sinusienne	Pancréas

ANNEXE 6

SIDA, cryptosporidiose et perte de poids

Patient N°	Poids de base (Kg)	Pendant l'évolution de l'infection à VIH (en %)	Après le diagnostic de cryptosporidiose (en %)
1	62	-30.65	-19.35
2	69	-24.64	-17.39
3	65	-24.62	-16.92
4	71	-32.39	-21.13
5	85	-21.18	-8.24
6	67	-20.90	-10.45
7	70	-28.57	-28.57
8	70	-28.57	-14.29
9	56	-30.36	-14.29
10	67	4.48	0.00
11	70	-21.48	-8.57
12	59	-42.37	-27.12
13	75	-38.67	-20.00
14	60	-26.67	-31.67
15	75	-44.00	-24.00
16 [#]	55	-45.45	-21.82
17	84	-45.24	-4.76
18	86	-33.72	-24.42
19	85	-37.65	-7.06
20 [#]	62	-35.48	-33.87
21 [#]	53	-9.43	-3.77
22	67	-28.36	-16.42
23	79	-21.52	-16.46
24 [#]	45	-20.00	-17.78
25	75	-10.67	-4.00
26	66	-9.09	-9.09
27	69	-4.35	-1.45
28	62	-14.52	-3.23
29	55	-23.64	-23.64
30	72	13.89	1.39

Moyenne globale :

-24.52

-14.94

± 14.23

± 9.71

Hommes

-24.05

-14.27

± 14.23

± 9.34

Femmes [#]

-27.59

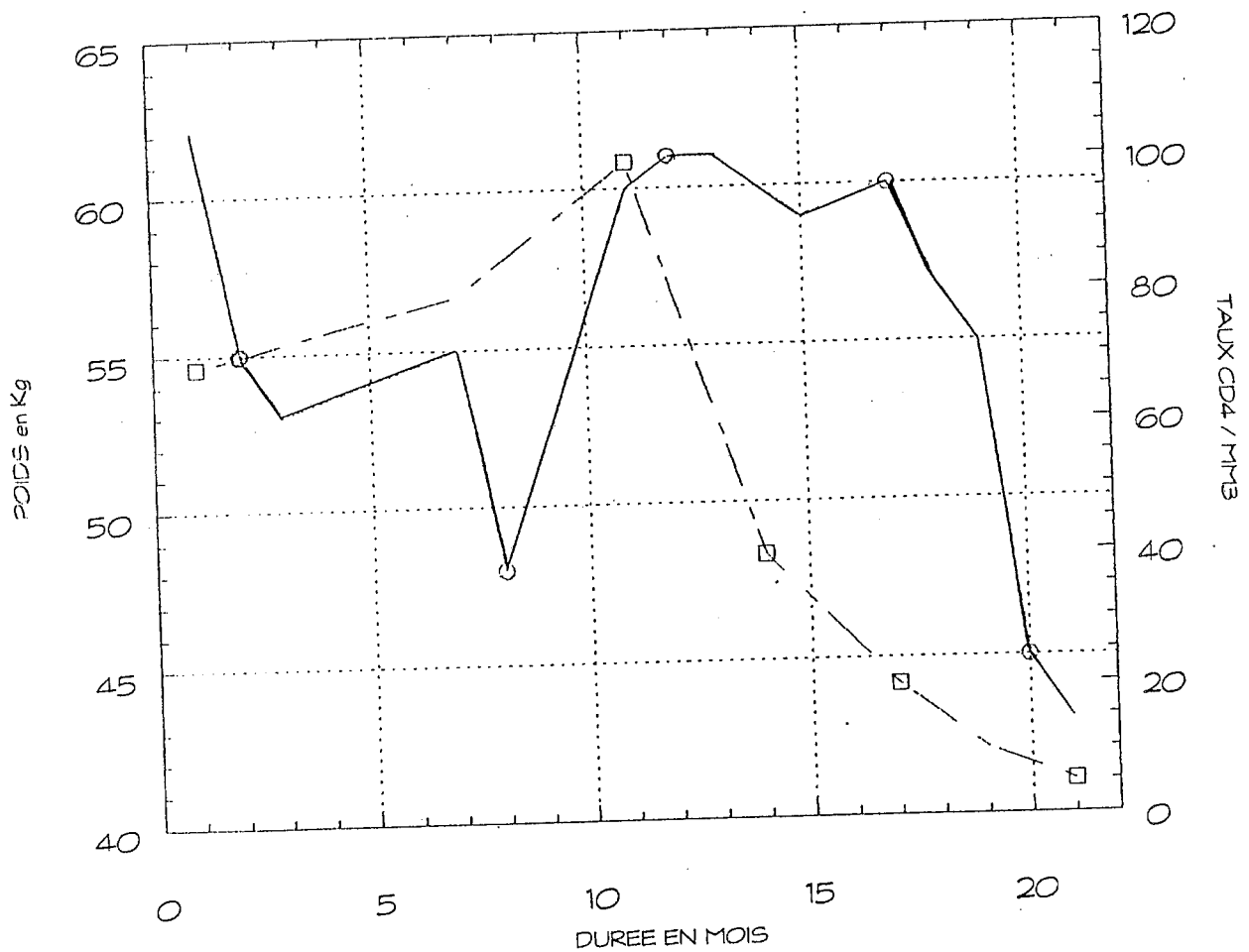
-19.31

± 16.01

± 12.41

ANNEXE 7

Exemple de courbes d'interprétation des données cliniques pour un malade



—○— POIDS

-□- TAUX CD4/MM3

ANNEXE 8

Cryptosporidiose et SIDA pour les années 1994, 1995 et 1996

	1994	1995	1er semestre 1996
Nombre de recherche de <u>Cryptosporidium parvum</u> chez des patients VIH ⁺	239	133	51
Nombre de recherches positives	34	9	14
Pourcentage	14,22 %	10,52 %	17,64 %

En réalité les pourcentages de prévalence de la cryptosporidiose dans la population VIH⁺ de notre étude est résumée dans le tableau ci-dessous. C'est à ceux-ci que nous devons comparer les données de la littérature.:

	1994	1995	1er semestre 1996
Nombre de patients VIH ⁺ testés	102	69	34
Nombre de patients VIH ⁺ positifs à la recherche de <u>Cryptosporidium parvum</u>	14	14	5
Pourcentage	13,73 %	20,29 %	14,71 %

ANNEXE 9

Bilan hépatique et cholangite

Valeurs des enzymes hépatiques en N (nombre de fois la normale)

Les taux normaux des enzymes étudiées sont :

- TGO : 0 à 14 UI/l
- TGP : 4 à 21 UI/l
- PAL : 20 à 76 UI/l
- GGT : 0 à 35 UI/l.

Les valeurs indiquées sont celles observées à partir du moment où le diagnostic de cholangite a été fait, et ce, jusqu'à leur décès ou jusqu'au 30 Juin 1996.

Le diagnostic de cholangite a été porté chez huit personnes :

- Sept en sont mortes :

Patient N°	TGO	TGP	PAL	GGT
3	1 à 19	1 à 13	1 à 15	1 à 31
12	2 à 5	1 à 4	1 à 19	1 à 28
13	3 à 12	2 à 9	1 à 10	1 à 13
14	1 à 5	1 à 3	4 à 13	1 à 37
16	1 à 6	1 à 5	1 à 25	6 à 52
18	2 à 17	1 à 9	1 à 42	1 à 74
20	1 à 4	1 à 2	3 à 6	1 à 3

- Une est toujours vivante au 30 Juin 1996 :

Patient N°	TGO	TGP	PAL	GGT
2	1 à 5	1 à 4	2 à 16	14 à 31

ANNEXE 10

Conséquences de la cryptosporidiose sur l'âge du décès des patients

- Patients pour qui le diagnostic de cholangite a été posé :

patients n° : 2-3-12-13-14-16-18-20

Moyenne d'âge : 39,38 ans $\pm$ 8,96 ans

Pour les hommes : 42,20 ans $\pm$ 10,43 ans

pour les femmes : 34,00 ans $\pm$ 4,24 ans.

- Patients décédés de cryptosporidiose :

patients n° : 3-9-12-13-14-15-16-18-20-29

Moyenne d'âge : 36,80 ans $\pm$ 6,66 ans

Pour les hommes : 37,50 ans $\pm$ 7,19 ans

pour les femmes : 34,00 ans $\pm$ 4,24 ans.

- Patients décédés de cholangite :

patients n° : 3-12-13-14-16-18-20

Moyenne d'âge : 37,57 ans $\pm$ 7,95 ans

Pour les hommes : 39,00 ans $\pm$ 9,02 ans

pour les femmes : 34,00 ans $\pm$ 4,24 ans.

- Patients décédés de cryptosporidiose mais pas de cholangite :

patients n° : 9-15-29

Moyenne d'âge : 35,00 ans $\pm$ 1,73 ans.

(tous des hommes)

- Patients pas décédés de cryptosporidiose :

patients n° : 1-6-7-8-17-19-21-22-23-24-26

Moyenne d'âge : 42,63 ans $\pm$ 10,34 ans

Pour les hommes : 45,55 ans $\pm$ 9,00 ans

pour les femmes : 29,50 ans $\pm$ 0,71 an.

ANNEXE 11

Dates et écarts (en mois) entre différents événements

Patient N°	A Cryptosporidiose	Ecart B - A	B SIDA	C Mort en Juin 96	Ecart C - A	Ecart C - B
1	11.93	13	10.92	12.93	1	14
2	09.94	0	09.94			
3	09.92	0	09.92	05.95	32	32
4	06.95	93	09.87			
5	03.95	-7	10.95			
6	01.94	24	01.92	03.94	2	26
7	09.93	6	03.93	11.93	2	8
8	12.95	1	11.95	03.96	3	4
9	01.93	0	01.93	05.93	4	4
10	11.94	0	11.94			
11	04.93	0	04.93			
12	11.92	9	02.92	04.94	18	26
13	03.95	-9	01.96	06.96	15	5
14	02.94	20	06.92	05.94	3	22
15	02.95	5	09.94	11.95	9	14
16 [#]	12.93	0	12.93	09.94	9	9
17	03.93	44	07.89	03.93	0	44
18	07.94	0	07.94	01.95	6	6
19	07.94	28	03.92	08.94	1	29
20 [#]	01.93	0	01.93	01.94	12	12
21 [#]	06.95	7	12.94	10.95	4	10
22	01.96	12	01.95	02.96	1	13
23	03.93	41	10.89	06.94	15	56
24 [#]	10.93	0	10.93	11.93	1	1
25	09.95	-4	01.93			
26	05.93	15	02.92	08.93	3	18
27	04.96		01.87			
28	03.95	0	03.95			
29	03.93	26	04.91	04.93	1	24
30	04.94	-1	05.94			

Moyenne	14,47 ± 27,30	6,76 ± 7,91	17,95 ± 14,05
Hommes	16,42 ± 28,87	6,82 ± 8,58	20,29 ± 14,55
Femmes [#]	1,75 ± 3,50	6,50 ± 4,93	8,00 ± 4,83

ANNEXE 12

Age (en années) au moment de différents évènements

Patient N°	D SIDA	E Mort	30/06/96	Cryptosporidiose		
				Diagnostic	Entré	Mort
1	28	29		29		
2	50		52	50	X	
3	33	36		33	X	Xc
4	30		39	38		
5	57		58	57		
6	58	60		60		
7	50	50		50		
8	49	50		49		
9	33	33		33		Xc
10	27		29	27	X	
11	34		37	34		
12	31	33		31		Xc
13	48	48		47		Xc
14	27	29		29		Xc
15	35	36		36		X
16 [#]	30	31		30	X	Xc
17	39	43		43		
18	48	49		48		Xc
19	48	50		50		
20 [#]	36	37		36	X	Xc
21 [#]	28	29		29		
22	43	44		44		
23	34	36		35		
24 [#]	30	30		30	X	
25	47		47	46		
26	47	48		48		
27	25		34	34		
28	27		28	27		
29	34	36		36		X
30	27		29	27		

Moyenne	37,76 ± 9,93	39,86 ± 9,08	38,86 ± 9,59
Hommes	38,80 ± 10,22	49,24 ± 8,96	40,04 ± 9,73
Femmes [#]	31,00 ± 3,46	31,75 ± 3,59	31,25 ± 3,20

Moyenne de l'écart E - D pour les 10 morts de cryptosporidiose : 1,30 ± 0,95

GLOSSAIRE

CD ₄	Type de lymphocyte sanguin (Cluster de Différenciation)
CHRU	Centre Hospitalier Régional et Universitaire
Cl ⁻	Ion chlorure
CMV	Cytomégalovirus
GGT	Gamma-Glutamyl-Transférase
HIV	Human Immunodeficiency Virus
N	Nombre de fois la normale (pour les enzymes)
Na ⁺	Ion sodium
PAL	Phosphatases Alcalines
SIDA	Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis
TGO (ou ASAT)	ASpartate Amino-Transférase
TGP (ou ALAT)	ALanine Amino-Transférase
Xc	Mort suite à une cholangite sclérosante
VIH	Virus de l'Immunodéficiency Humaine

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ANONYME 1. Surveillance du SIDA en France. Situation au 31 Décembre 1989. *Bull. Epidémiol. Hebdo.* 1990 ; 8 : 20-24.
- 2- ANONYME 2. Le diagnostic histo-pathologique des parasitoses et mycoses du SIDA. *Rev. Franc. Lab.* 1990 ; Nov. 215 : 37-41.
- 3- ARROWOOD M.J., MEAD J.R., MAHRT J.L. et al. Effects of immune colostrum and orally administered antisporezoite monoclonal antibodies on the outcome of Cryptosporidium parvum infection in neonatal mice. *Infect. Immun.* 1989 ; 57 : 2283.
- 4- ARROWOOD M.J., STERLING R.C. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for Cryptosporidium oocysts detection. *J.Clin.Pathol.* 1985 ; 38 : 1337-1341.
- 5- BARER M.R., WRIGHT A.E. Cryptosporidium and water. *Lett. Appl. Microbiol.* 1990 ; 11 : 271-277.
- 6- BISSUEL F., COTTE L., RABODONIRA M. et al. Paromomycin therapy for cryptosporidial diarrhoea in AIDS patients [abstract WS-B13-6]. In : Program and Abstract : IX International Conference on AIDS/IV STD World Congress (Berlin). London : Wellcome Foundation. 1993.
- 7- BONNIN A., CAMERLYNCK P. Cryptosporidies-Cryptosporidioses. Editions Techniques-Encycl. Med. Chir. (Paris, France), Maladies Infectieuses 8-501-A-10. 1992 ; 6p.
- 8- BONNIN A., DUBREMETZ J.F., CAMERLYNCK P. Characterisation and immunolocalization of an oocyst wall antigen of Cryptosporidium parvum (protozoa, apicomplexa). *Parasitology.* 1991 ; 103 : 171-177.
- 9- BONNIN A., DUBREMETZ J.F., CAMERLYNCK P. Characterisation of microneme antigens of Cryptosporidium parvum (protozoa, apicomplexa). *Infect. Immun.* 1991 ; 59 : 1703-1708.
- 10- BONNIN A., HARLY G., PETRELLA T. et al. Diagnostic biologique de la cryptosporidiose . *Rev. Franc. Lab.* 1991 ; 223 : 64-72.
- 11- CASEMORE D.P. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiol. Infect.* 1990 ; 104 : 1-28.

- 12- CLARK D.P., SEARS C.L. The pathogenesis of cryptosporidiosis. *Parasitology Today*. 1996 ; 12 (6) : 221-225.
- 13- CLEZY K., GOLD J., BLAZE J. et al. Paromomycin for the treatment of cryptosporidial diarrhea in AIDS patients. *AIDS*. 1991 ; 5 : 1146-7.
- 14- CONNOLLY G.M., DRYDEN M.S., SHANSON D.C. et al. Cryptosporidial diarrhea in AIDS and its treatment. *Gut*. 1988 ; 29 : 593-597.
- 15- CONNOLLY G.M., GAZZARD B.G. Tonic megacolon in cryptosporidiosis. *Postgrad Med. J.* 1987 ; 63 : 1103-1104.
- 16- CONTROLE DE QUALITE (Formation continue conventionnelle des Directeurs de Laboratoires Privés d'Analyses de Biologie Médicale). *Bonnes feuilles des annales du contrôle de qualité ; parasitoses, mycoses et SIDA*. 1992 ; 20-43.
- 17- CURRENT W.L., GARCIA L.S. Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 1991 ; 4 : 325-358.
- 18- CURRENT W.L., REESE N.C. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *J. Protozool.* 1986 ; 33 : 98-108.
- 19- CURRENT W.L., REESE N., ERNST J. et al. Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons : studies of an outbreak and experimental transmission. *N. Engl. J. Med.* 1983 ; 308 : 1252-7.
- 20- D'ANTONIO R.G., WINN R.E., TAYLOR J.P. et al. A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal hosts. *Am. Intern. Med.* 1985 ; 103 : 886-888.
- 21- DELUOL A.M. *Cryptosporidium*. *ATLAS DE PARASITOLOGIE* (Guide pratique du diagnostic au microscope. Flagellés, infusoires et coccidies). Tome 2 : 34-45.
- 22- DUBREMETZ J.F. Caractéristiques communes de l'invasion de la cellule hôte par les sporozoaires. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1990 ; 65 (suppl 1) : 23-25.

- 23- DUHAMEL C., BARBIER D., MOREL C. et al. Parasitologie de selles : études de quelques opportunistes. Aspects pratiques, pièges à éviter. *Feuillets de Biologie*. 1995 ; vol XXXVI n° 204 : 31-37.
- 24- FLANIGAN T.P., WHALEN C., TURNER J. et al. Cryptosporidium infection and CD₄ count. *Ann. Intern. Med.* 1992 ; 116 : 840-842.
- 25- FLOCH J.J., LAROCHE L., KADENDE. et al. Les parasites, agents étiologiques des diarrhées du SIDA. Intérêt de l'examen du liquide d'aspiration duodénale. *Bull. Soc. Pathol. Exp.* 1989 ; 82 : 316-20.
- 26- GARCIA L.S., BREWER T.C. et al. Fluorescence detection of Cryptosporidium oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1987 ; 25 : 119-121.
- 27- GARCIA L.S., BRUCKENER D.A., BREWER T.C. et al. Techniques for the recovery and identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1983 ; 18 : 185-190.
- 28- GARCIA L.S., CURRENT W. Cryptosporidiosis : clinical features and diagnosis. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1989 ; 27 : 439-460.
- 29- GATHE J., PIOT D., HAWKINS K. et al. Treatment of gastrointestinal cryptosporidiosis with paromomycin [abstract 2121]. In : Program and Abstract : VI International Conference on AIDS (San Francisco). San Francisco : University of California. 1990.
- 30- GELLIN B.G., SOAVE R. Coccidian infections in AIDS (toxoplasmosis, cryptosporidiosis and Isosporiasis). *Med. Clin. North Am.* 1992; Jan 1976 ; 1 : 205-234.
- 31- GENTILE G., BALDASSARI L., CAPRIOLI A. Colonic vascular invasion as a possible route of extraintestinal cryptosporidiosis. *Am. J. Med.* 1987 ; 82 : 574.
- 32- GILLIN J., SHIKE M., ALCOCK N. et al. Malabsorption and mucosal abnormalities of the small intestine in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 1985 ; 102 : 619-622.
- 33- GODWIN T.A. Cryptosporidiosis in the Acquired Immunodeficiency Syndrome : a study of 15 autopsy cases. *Hum. Pathol.* 1991 ; 22 (12) : 1215-24.

- 34- GOODGAME R.W., GENTA R.M., WHITE A.C. et al. Intensity of infection in AIDS-associated cryptosporidiosis. *J. Infect. Dis.* 1993 ; 167 : 704-9.
- 35- GROSS F.L., WHEAT J., BARTLETT M. et al. AIDS and multiple system involvement with *Cryptosporidium*. *Am. J. Gastroenterol.* 1986 ; 81 : 456-458.
- 36- GUARDA L.A., STEIN S.A., CLEARY K.A. et al. Human cryptosporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1983 ; 107 : 562-566.
- 37- GUARINO A. et al. Human intestinal cryptosporidiosis : secretory diarrhea and enterotoxic activity in *Caco-2* cells. *J. Infect. Dis.* 1995 ; 171 : 976-983.
- 38- HARP J.A., WOODMANSEE D.B., MOON H.W. Effects of colostral antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *Am. J. Vet. Res.* 1989 ; 50 : 2117.
- 39- HINNANT K., SCHWARTZ A., ROTTERDAM H. et al. Cytomegaloviral and cryptosporidial cholecystitis in two patients with AIDS. *Am. J. Surg. Pathol.* 1989 ; 13 : 57-60.
- 40- HOJLYNG N., HOLTEN-ANDERSEN W., JEPSEN S. Cryptosporidiosis : a case of airborne transmission. *Lancet.* 1987 ; 2 : 271-272.
- 41- JANOFF E., LIMAS C., GEBHARD R. et al. Cryptosporidial carriage without symptoms in the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *Ann. Intern Med.* 1990 ; 112 : 75-6.
- 42- KOCOSHIS S.A., CIBULL M.L., DAVIS T.E. et al. Intestinal and pulmonary cryptosporidiosis in an infant with severe combined immuno deficiency. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1984 ; 3 : 149-157.
- 43- KOTLER D.P., GAETZ H.P., LANGE M. et al. Enteropathy associated with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Arch. Intern. Med.* 1984 ; 101 : 421-428.

- 44- KOTLER P., FRANCISCO D.A., CLAYTON F. et al. Small intestinal injury and parasitic disease in A.I.D.S. *Ann. Intern. Med.* 1990 ; 113 : 444-449.
- 45- KRZYSZTOF Z.A., MASON P.A., RIGGS M.W. et al. Detection of Cryptosporidium parvum oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 1990 ; 28 : 2770-2774.
- 46- LAUGHON B.E., ALLAUDEEN H.S., BECKER J.M. et al. Summary of the workshop on future directions in discovery and development of therapeutic agents for opportunistic infections associated with AIDS. *J. Infect. Dis.* 1991 ; 164 : 244.
- 47- LEARMONTH G.M., MURRAY M.M. Helminths and protozoa as an incidental finding in cytology specimen. *Cytopathology.* 1990 ; 1 : 163-70.
- 48- LUU DUC D., SHUM CHEONG SING J., MALLARET M.R. et al. Evaluation de la contamination bactérienne des fibroscopes bronchiques et digestifs après entretien. *Med. Mal. Infect.* 1996 ; 26 : 99-104.
- 49- MARCIAL M.A., MADARA J.L. Cryptosporidium : cellular localization, structural analysis of absorptive cell-parasite membrane-membrane interactions in guinea pigs, and suggestion of protozoan transport by M cells. *Gastroenterology.* 1986 ; 90 : 583-594.
- 50- MARSHALL R.J., FLANIGAN T.P. Paromomycin inhibits Cryptosporidium infection of a human enterocyte cell-line. *J. Infect. Dis.* 1992 ; 165 : 772-774.
- 51- MATA L., BOLANOS H., PIZARO D. et al. Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rican rural and urban areas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1984 ; 33 : 24.
- 52- MEISEL J.L., PERERA D.R., MELIGRO C. et al. Overwhelming watery diarrhea associated with a Cryptosporidium in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology.* 1976 ; 70 : 1156-1160.
- 53- MICHIELS J.F., SAINT-PAUL M.C., HOFMAN P. et al. Etude cytologique de la muqueuse duodénale au cours des diarrhées

chroniques chez le sujet VIH positif. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 1993 ; 17 : 277-282.

- 54- MOON H.W., WOODMANSEE D.B., HARP J.A. et al. Lactéal immunity to enteric cryptosporidiosis in mice : Immune dams do not protect their sucking pups. *Infect. Immun.* 1988 ; 56 : 649.
- 55- NAVIN T.R., JURANEK D.D. Cryptosporidiosis : clinical, epidemiologic and parasitologic review. *Rev. Infect. Dis.* 1984 ; 6 : 313-327.
- 56- NIME F.A., BUREK J.D., PAGE D.L. et al. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 1976 ; 70 : 592-598.
- 57- NORD J., MA P., DUJOHN D. et al. Treatment with bovine hyperimmune colostrum of *Cryptosporidium* diarrhea in AIDS patients. *AIDS*. 1990 ; 4 : 581.
- 58- PERRY J.L., MATTHEWS J.S., MILLER G.R. Parasite detection efficiencies of five stool concentration systems. *J. Clin. Microbiol.* 1990 ; 28 : 1094-1097.
- 59- PITLIK S.D., FAINSTEIN V., GARZA D. et al. Human cryptosporidiosis : spectrum of disease-report of six cases and review of the literature. *Arch Intern. Med.* 1983 ; 143 : 2269-2275.
- 60- RENE E., MARCHE C., REGNIER B. Intestinal infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome.. A prospective study in 132 patients. *Dig. Dis. Sci.* 1989 ; 34 : 773-780.
- 61- ROBERTS W.G., GREEN P.H., MA J. et al. GINSBERG A.M. Prevalence of cryptosporidiosis in patients undergoing endoscopy : evidence for an asymptomatic carrier state. *Am. J. Med.* 1989 ; 87 : 537-539.
- 62- RUSNAK J., HADFIELD T.L., RHODES M.M. et al. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by an indirect immunofluorescence assay with monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1989 ; 27 : 1135-1136.

- 63- SALLON S., DECKELBAUM R.J., SCHMID I.L. et al.
Cryptosporidium, malnutrition and chronic diarrhea in children. *Am. J. Dis. Child.* 1988 ; 142 : 312-315.
- 64- SALTZBERG D., KOTLOFF K., NEWMAN J. et al. Cryptosporidium infection in Acquired Immunodeficiency Syndrome : not always a poor prognosis. *J. Clin. Gastroenterol.* 1991 ; 13 : 94-7.
- 65- SAXON A., WEINSTEIN W. Oral administration of bovine colostrum anti-cryptosporidia antibody fails to alter the course of human cryptosporidiosis. *J. Parasitol.* 1987 ; 73 : 413.
- 66- SEWANKAMBO N., MUGERWA R., GOODGAME R. et al.
Enteropathic AIDS in Uganda. An endoscopic, histological and microbiological study. *AIDS.* 1987 ; 1 : 9-13.
- 67- SHEPHERD R.G., REED C.L., SINHA G.P. Shedding of oocysts of Cryptosporidium in immunocompetent patients. *J. Clin. Pathol.* 1988 ; 41 : 1104-1106.
- 68- SILVERMAN J.F., LEVINE J., FINLEY J.L. et al. Small-intestinal brushing in the diagnosis of cryptosporidiosis in AIDS. *Diagn. Cytopathol.* 1990 ; 6 : 193-6.
- 69- SOAVE R. Treatment strategies for cryptosporidiosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1990 ; 616 : 442.
- 70- SOAVE R., DANNER R.L., HONING C.L., et al. Cryptosporidiosis in homosexual men. *Ann. Intern. Med.* 1984 ; 100 : 504-511.
- 71- TAGNI-KILIANI R., SEKLA L., HAYGLASS K.T. The role of humoral immunity in Cryptosporidium spp infection. Studies with B cell-depleted mice.. *J. Immunol.* 1990 ; 145 : 1571-1576.
- 72- TAYLOR D., ECHEVARRIA P. When does Cryptosporidium cause diarrhea ? [letter]. *Lancet.* 1986 ; 1 : 320.
- 73- TZIPORI S., ANGUS K.W., GRAY E.W. et al. Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. *N. Engl. J. Med.* 1980 ; 303 : 818.

- 74- TZIPORI S., ROBERTSON D., CHAPMAN C. Remission of diarrhea due to cryptosporidiosis in an immunodeficient child treated with hyperimmune bovine colostrum. *Br. Med. J.* 1986 ; 293 : 1276.
- 75- TZIPORI S., ROBERTSON D., COOPER D.A. et al. Chronic cryptosporidial diarrhea and hyperimmune cow colostrum. *Lancet.* 1987 ; 2 : 344.
- 76- UNGAR B.L. Enzyme-linked Immunoassay for detection of *Cryptosporidium* antigens in fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1990 ; 28 : 2491-2495.
- 77- UNGAR B.L., BURRIS J.A., QUINN C.A. et al. New mouse models for chronic *Cryptosporidium* infection in immunodeficient hosts. *Infect. Immun.* 1990 ; 58 : 961-969.
- 78- UNGAR B.L., GILMAN R.H., LANATA C.F. et al. Seroepidemiology of *Cryptosporidium* infection in two latin american populations. *J. Infect. Dis.* 1988 ; 157 : 551-556.
- 79- UNGAR B.L., MULLIGAN M., NUTMAN T.B. Serologic evidence of *Cryptosporidium* infection in U.S. volunteers before and during Peace Corps Service in Africa. *Arch. Intern. Med.* 1989 ; 149 : 894-897.
- 80- UNGAR B.L., WARD D.J., FAYER R. et al. Cessation of *Cryptosporidium* associated diarrhea in an acquired immunodeficiency syndrome patient after treatment with hyperimmune bovine colostrum. *Gastroenterology.* 1990 ; 98 : 486-489.
- 81- VERDON R., BELLAHSEN D., RENE E. La cryptosporidiose . *Gastroenterol. Clin. Biol.* 1992 ; 16 : 351-358.
- 82- WALMSLEY S., PHILIPS J., LOEB M. et al. Effectiveness of paromomycin in cryptosporidiosis in AIDS [abstract PO-B10-1472]. In : Program and Abstract : IX International Conference on AIDS/IV STD World Congress (Berlin). London : Wellcome Foundation. 1993.
- 83- WEBER R., BRYAN R.T., BISHOP H.S. et al. Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stool specimens : evidence for low density of current diagnostic methods. *J. Clin. Microbiol.* 1991 ; 29(7) : 1323-1327.

- 84- WEINSTEIN LM., EDELSTEIN S.M., MADARA J.L. et al. Intestinal cryptosporidiosis complicated by disseminated cytomegalovirus infection. *Gastroenterol.* 1981 ; 81 : 584-591.
- 85- WHITE A.C., CHAPPELL C.L., HAYAT C.S. et al. Paromomycin for cryptosporidiosis in AIDS : a prospective, double-blind trial. *J. Infect. Dis.* 1994 ; 170 : 419-424.
- 86- ZAR F., GEISELER P., BROWN V. A symptomatic carriage of *Cryptosporidium* in the stool of a patient with Acquired Immunodeficiency Syndrome [letter]. *J. Infect. Dis.* 1985 ; 151 : 195.
- 87- ZIERDT W. Concentration and Identification of *Cryptosporidium* sp. by use of a parasite concentration. *J. Clin. Microbiol.* 1984 ; 20 : 860-861.

NOM Prénom : FERRAZZI Pierre

Titre de la THESE : CRYPTOSPORIDIOSE, ASPECTS ACTUELS.
CRYPTOSPORIDIOSE ET SIDA : ETUDE DE 30 CAS

Nature de la thèse : Thèse de Doctorat en Pharmacie

Grenoble - Année 1996

RESUME

La cryptosporidiose est une zoonose causée par un protozoaire du genre *Cryptosporidium*.

Le développement de ce parasite se fait surtout dans les cellules épithéliales intestinales et la pathologie associée se caractérise principalement par des diarrhées très profuses.

Cette parasitose est très préoccupante chez le malade immunodéprimé, notamment chez le patient atteint du Syndrome d'Immuno-Déficience Acquis, puisqu'elle peut mettre en jeu le pronostic vital.

L'étude rétrospective réalisée dans ce travail porte sur trente patients VIH positifs, porteurs du parasite opportuniste.

Son but a été d'essayer de mettre en évidence les conséquences physiopathologiques d'une telle infection et leur retentissement sur la durée de vie des malades touchés.

Mots clés

CRYPTOSPORIDIOSE,
PAROMOMYCINE.

CRYPTOSPORIDIES,

SIDA,

CHOLANGITE,

Jury

Madame R. GRILLOT, Présidente

Madame C. PINEL

Madame P. LECLERCQ

Madame M.C. ALBERTO-GONDOUIN

Date de soutenance : 30 Octobre 1996

Adresse de l'auteur :

[Données à caractère personnel]

AUTORISATION D'IMPRESSION
ET DE
SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

Cryptosporidiose
Aspects actuels
Cryptosporidiose et SIDA : étude de 30 cas

CANDIDAT : M FERRAZZI Pierre

Vu

GRENOBLE, le 7 Octobre 86

Le Président du Jury

Pr. René GRILLOT
U.F.R. Pharmacie

Vu

GRENOBLE, le 3/10/86

P/ Le Président de l'Université
Joseph FOURIER - GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'U.F.R.
Pharmacie



A. FAVIER

